

Barcoding del DNA e ricostruzione d'antiche comunità vegetali utilizzando campioni di permafrost

Pierre Taberlet ed il Consorzio EcoChange
Laboratoire d'Ecologie Alpine, Grenoble, Francia
Pierre.taberlet@ujf-grenoble.fr

La ricostruzione di comunità vegetali passate si basa principalmente su dati riguardanti pollini e macrofossili. Con lo sviluppo di nuove tecnologie di sequenziamento, è ora anche possibile ricostruire antiche comunità vegetali a partire dal DNA contenuto nei sedimenti. Il lavoro pionieristico di Willerslev et al. (2003)¹ ha dimostrato che paleo-ambienti possono essere efficacemente analizzati utilizzando brevi frammenti di DNA conservati in campioni di permafrost.

Presentiamo qui un studio di larga scala di DNA barcoding (da intendersi *sensu lato* secondo l'accezione di Valentini et al. 2009)² condotto con l'obiettivo di ricostruire comunità vegetali passate della regione artica. Con il termine DNA barcoding si intende l'identificazione di qualsiasi livello tassonomico a partire da un breve frammento di DNA. Anche l'identificazione di generi e famiglie a partire da campioni ambientali utilizzando un frammento di DNA molto corto può essere considerato barcoding in senso lato. Nel presente studio, l'identificazione di gruppi vegetali tassonomici è basato sull'approccio "trnL", ovvero sull'amplificazione di un frammento molto corto ma altamente variabile dell'introne cloroplastico *trnL* (UAA). La lunghezza di questo frammento è solitamente compresa tra 20 ed 80 bp.

I primi esperimenti condotti su suoli artici moderni sono stati condotti con successo. Dopo l'estrazione del DNA, il frammento corto *trnL* è stato amplificato con primers universali, e sequenziato con strumentazione di nuova generazione (454 o Solexa). Per ciascun campione abbiamo ottenuto diverse migliaia di reads, che hanno permesso l'identificazione di specie, generi, o famiglie. I risultati sono estremamente incoraggianti: il DNA dei suoli riflette veramente diversità funzionali e strutturali. Tutte le specie presenti con una frequenza maggiore dell'1% in relevés botaniche si trovano sempre nelle analisi basate sul DNA.

Uno studio pilota condotto su 8 campioni di permafrost ha dato anch'esso risultati incoraggianti. E' stato infatti possibile ricostruire correttamente antiche comunità vegetali presenti più di 20000 anni fa nella Siberia dell'Est. Sulla base di questi primi risultati positivi, il prossimo passaggio sarà quello di analizzare più di 500 campioni datati di permafrost. Questo studio di larga scala permetterà di descrivere antiche comunità vegetali con una precisione che non ha precedenti rispetto alle ricostruzioni basate su pollini e macrofossili. Ai fini di implementare la precisione d'identificazione a livello di specie, una parte dell'ITS 1 rDNA sarà inoltre analizzata per le Asteraceae, Cuperaceae e Poaceae. Un approccio di questo tipo è possibile unicamente utilizzando sequenziatori di nuova generazione.

Bibliografia

1. Willerslev E, Hansen AJ, Binladen J, Brand TB, Gilbert MTP, Shapiro B, Bunce M, Wiuf C, Gilichinsky DA, Cooper A (2003) Diverse plant and animal genetic records from Holocene and Pleistocene sediments. *Science*, **300**, 791-795.
2. Valentini A, Pompanon F, Taberlet P (2009) DNA barcoding for ecologists. *Trends in Ecology and Evolution*, **24**, 110-117.