

Monitoraggio delle Comunità Batteriche e Microalgali in Refluo Zootecnico Mediante Approccio Metagenomico

Monitoring of biocenosis consortia in zootechnical wastewater by metagenomic approach

Alessia Bani^{1,2}, Micol Bellucci³, Cristina Previtali¹, Anna Pozzi¹, Sabina Arabi¹, Andrea Pizzera³,
Elena Ficara³, Katia Parati¹

¹ Istituto Spallanzani, katia.parati@istitutospallanzani.it – Loc La Quercia – 26027 – Rivolta d'Adda (CR)

² Dipartimento di Scienze agrarie e ambientali - Produzione, Territorio, Agroenergia (DISAA) – Università degli Studi di Milano, Via Celoria, 2 – 20133 Milano

³ Dipartimento di Ingegneria Civile e Ambientale (DICA) - Politecnico di Milano, elena.ficara@polimi.it - P.zza L. da Vinci 32, 20133 Milano

Le microalghe sono microrganismi autotrofi, unicellulari in grado di crescere su flussi di scarto come reflui zootecnici e acque civili e pertanto possono essere utilizzate quale biotecnologia per ridurre gli impatti ambientali ed i costi operativi. Diversi studi hanno dimostrato che esistono interazioni tra batteri e microalghe che potrebbero contribuire al miglioramento della produzione microalgale stessa. Uno studio dettagliato dei meccanismi che favoriscono la selezione di combinazioni ottimali fra i due tipi di microrganismi è quindi fondamentale per l'ottimizzazione delle varie applicazioni.

L'obiettivo del lavoro è stato il monitoraggio del microbiota di una coltura microalgale cresciuta su digestato al fine di valutare le dinamiche di popolazione delle comunità microalgali e batteriche nel corso del tempo, interazioni fra i due gruppi di microrganismi e le correlazioni con i parametri chimico-fisici.

L'esperimento è stato condotto in due reattori, un Raceway pond e un fotobioreattore a colonna, inoculati con lo stesso consorzio di microalghe appartenenti al genere *Chlorella* sp. e *Scenedesmus* sp. Il monitoraggio è durato 6 mesi (primavera-estate-autunno) per un totale di 11 campionamenti per la colonna e 12 per il raceway pond. Sono stati inoltre rilevati numerosi parametri chimico-fisico (irradianza, temperatura, forme azotate, fosfati.. ecc). Da ogni campione di biomassa microalghe/batteri, è stato estratto il DNA ed è stata sequenziata la regione variabile V3+V4 del gene 16S rDNA per i batteri e della regione ITS per le microalghe utilizzando piattaforma Illumina-MiSeq.

La comunità batterica è risultata essere dominata dal genere *Pseudomonas*, costantemente presente in tutti i campionamenti, seguita da *Rhodobacter*, *Cyanobacteria*, *Alkanindiges* e *Opitus*. La composizione è risultata piuttosto simile nei due fotobioreattori, ad eccezione dei mesi di luglio ed agosto dove, nella colonna, si è registrata una marcata presenza del genere *Calothrix*, assente nel race-way. La comunità delle microalghe è risultata estremamente variabile e dominata da differenti generi nei differenti campionamenti, con forti contaminazioni da parte di Vorticelle (protozoi) soprattutto nella colonna durante i mesi invernali. I generi più comuni trovati sono *Chlorella*, *Tetrademus* e *Coelastrum*. Mettendo a confronto microalghe e batteri e i due tipi di fotobioreattori risulta che i parametri chimico-fisico che influenzano maggiormente le comunità sono ben distinti: la comunità batterica della colonna risulta essere influenzata dal fosforo mentre il raceway pond è influenzato principalmente da dall'irradianza e concentrazione di azoto. La comunità algale, in entrambi i reattori, è stata marcatamente influenzata sia dall'azoto che dall'irradianza.

Lo studio dimostra che i parametri ambientali e la configurazione del reattore influenza in modo marcato le dinamiche temporali delle comunità batteriche e microalgali. Per quanto riguarda i parametri ambientali, l'irradianza risulta essere il fattore che maggiormente influenza sia le microalghe che i batteri mentre l'azoto è risultato il parametro maggiormente influenzante la comunità microalgale.