

## TASSONOMIA INTEGRATA PER LA SALVAGUARDIA DELLA BIODIVERSITÀ VEGETALE DELLA SARDEGNA: L'APPROCCIO DNA BARCODING

P. CORTIS<sup>1</sup>, F. DE MATTIA<sup>2</sup>, A. SCRUGLI<sup>1</sup>, A. COGONI<sup>1</sup>, I. BRUNI<sup>2</sup>, S. FEDERICI<sup>2</sup>, M. LABRA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Università degli Studi di Cagliari Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente Macrosezione Botanica ed Orto Botanico Viale S. Ignazio 13, 09123 Cagliari; <sup>2</sup> ZooPlantLab, Università degli Studi di Milano-Bicocca, Piazza della scienza 2, 20126 Milano.

L'obiettivo del presente progetto è quello di sviluppare un approccio tassonomico integrato che permetta l'identificazione di specie vegetali della flora della Sardegna mediante analisi morfologiche e molecolari. La prima fase della ricerca è stata diretta allo sviluppo di un sistema di identificazione molecolare basato sull'approccio DNA barcoding. Tale metodologia si basa sull'analisi di una (o poche) regioni di DNA in grado di contraddistinguere in modo univoco una determinata specie. Tale regione dovrebbe essere amplificabile mediante primer universali, avere dimensioni modeste (non superiori a 700 bp) e presentare un alto livello di variabilità genetica capace di discriminare taxa filogeneticamente affini. Sebbene siano stati proposti numeri marcatori candidati, sia di origine nucleare sia plastidiale, i dati oggi disponibili non hanno permesso di identificare un marker universale. Sulla base di queste premesse il lavoro si è inizialmente concentrato sull'analisi di diversi marcatori su un gruppo di specie campione provenienti dal territorio sardo. Dopo la prima fase di reperimento dei campioni vegetali e la loro analisi morfologica si è proceduto all'estrazione del DNA da un gruppo di 30 specie appartenenti a diverse famiglie. Il DNA ottenuto è stato utilizzato per eseguire l'amplificazione di due geni plastidiali; *matK* (Maturasi K) e *rbcL* (ribuloso bifosfato carbossilasi) e dello spaziatore *trnH-psbA*. Per quanto riguarda i marcatori nucleari si è proceduto all'amplificazione e sequenziamento della regione ITS e all'analisi di alcuni geni COS (conserved Orthologous genes) come *sqd1* e *at103*. Nella scelta dei marcatori più idonei per il progetto è stato necessario valutare inizialmente il successo di amplificazione dei marcatori scelti e la qualità delle sequenze ottenute. Dalle prime indagini si evince che i marcatori plastidiali sono in grado di produrre il maggior numero di amplificazioni e forniscono sequenze di buona qualità, tra questi il più variabile risulta lo spaziatore genico *rhH-psbA* mentre il più universale sembra essere il marcatore *rbcL*. Nel caso dei marcatori nucleari, sebbene la regione ITS sia stata ampiamente utilizzata in studi filogenetici tale marcatore presenta spesso forme paraloghe che disturbano la qualità degli amplificati e delle sequenze. Per quanto riguarda le analisi dei nuovi marcatori nucleari basati su geni presenti in singola copia vi è la necessità di mettere a punto un sistema di amplificazione universale oltre che di verificare la loro variabilità intra ed interspecifica. Questo lavoro sarà oggetto delle future analisi da svolgere sulle specie della flora sarda.

Ringraziamenti. La borsa di Ricerca di Pierluigi Cortis è stata finanziata coi fondi a valere sul PO Sardegna FSE 2007-2013 sulla L.R.7/2007 "Promozione della ricerca scientifica e dell'innovazione tecnologica in Sardegna".

INDICE