



PIANO NAZIONALE DELLE LAUREE SCIENTIFICHE PER LE SCIENZE NATURALI E AMBIENTALI (PNLS-32); CORSO DI LAUREA IN Sc. NATURALI DELL'UNIVERSITA' DI FIRENZE.

Azione 1 e 4. "LABORATORI DI BIODIVERSITA': IDENTIFICARE LE SPECIE PER STIMARE LA BIODIVERSITA'"

INTRODUZIONE

Il termine "Biodiversità" è divenuto di uso comune e la crisi della biodiversità è considerata un'emergenza a livello mondiale. Le api selvatiche (Apoidea) sono uno dei gruppi tassonomici che per il loro declino destano maggiore preoccupazione, soprattutto per l'importante ruolo che svolgono nell'impollinazione.

Sebbene il termine Biodiversità sia apparentemente intuitivo, la sua stima richiede conoscenze approfondite e l'applicazione di metodi rigorosi. L'attività proposta ha l'obiettivo di esemplificare, nel corso di un'esperienza di laboratorio di circa 6 ore, oppure in due incontri successivi di circa 4 ore ciascuno, i diversi passaggi che portano dalla raccolta di dati sul campo alla misura della biodiversità delle api in due ambienti diversi. Un passaggio imprescindibile per la stima della biodiversità è il riconoscimento delle specie, che può essere effettuato tramite metodiche tradizionali, basate su un'accurata analisi dei caratteri e tramite metodi molecolari, e fra questi sull'analisi della sequenza del gene mitocondriale COX-I (DNA barcoding) che risulta essere distintiva di ogni specie. Le sequenze di DNA così acquisite possono essere confrontate con quelle già presenti nelle banche così da determinare la specie di appartenenza.

La lista delle specie presenti e la loro abbondanza sono i dati usati per calcolare indici ecologici che servono a stimare la biodiversità degli ambienti studiati.

ARGOMENTI

Biodiversità

Impollinatori

Analisi di esemplari raccolti in campo

Identificazione delle specie tramite chiavi dicotomiche

PCR

DNA

Barcoding

Analisi di dati

Indici di Biodiversità

PREREQUISITI

Concetto di Specie biologica; organizzazione della cellula eucariotica, struttura del DNA, Polymerase Chain Reaction

OBIETTIVI

-comprendere come si stima la biodiversità tramite un'esperienza pratica basata sull'osservazione attenta di organismi e su metodi biomolecolari

-rafforzare informazioni acquisite durante lo studio della Biologia a Scuola, spesso durante anni diversi

-integrare fra loro conoscenze che spaziano dalla biologia cellulare, alla biologia molecolare, alla tassonomia, all'ecologia

-operare all'interno di un laboratorio biologico acquisendo familiarità e manualità con strumentazione di facile uso (micropipette, strumentazione per PCR e elettroforesi)

-identificare specie di api selvatiche attraverso metodi tradizionali e tramite molecolari (DNA Barcoding)

-usare i dati acquisiti per stimare la biodiversità delle api in determinato ambiente.

METODI

L'attività di laboratorio sarà introdotta da una breve introduzione; per il resto l'esperienza è interamente "hands-on".

STUDENTI COINVOLTI

Il progetto PNLS-32 UNIFI prevede di coinvolgere per l'Azione 4, "Laboratorio per l'insegnamento delle Scienze di Base" 150 studenti e 12 docenti. L'attività descritta è stata progettata per studenti delle ultime due classi delle Scuole Medie Superiori, ma può essere adattata a piccoli gruppi di studenti (preferibilmente maggiorenni) interessati alle Scienze Naturali, che intendano svolgere l'alternanza scuola-lavoro. In questo caso l'attività sarà ampliata allo studio di una piccola collezione entomologica acquisita per scopi scientifici.

PERSONALE COINVOLTO

L'attività sarà svolta da personale universitario e da collaboratori che per ricerca si occupano di biodiversità di insetti. Tutte le persone coinvolte hanno esperienza di laboratori didattici. Studenti della Laurea Magistrale in Scienze della Natura e dell'Uomo potranno dare supporto nell'ambito dello svolgimento del Tirocinio Curriculare.

SEDE E PERIODO DI SVOLGIMENTO

L'attività sarà svolta nel laboratorio didattico del Dipartimento di Biologia in 2 incontri che si svolgeranno nei mesi di gennaio e febbraio e saranno preceduto da un breve corso sulla sicurezza in laboratorio.

Materiale:

- Campioni di insetti; due scatole che corrispondono a due ambienti diversi contenenti ciascuna 15 esemplari
- Chiavi dicotomiche elaborate dal dott. M. Quaranta (CREA; Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria)
- Cartellini
- Stereoscopi
- Polistirolo
- Lista predisposta per annotare la specie di ciascun esemplare
- Protocollo didattico per l'estrazione e amplificazione in inglese, da distribuire come promemoria alla fine (una zampa per coppia di ragazzo dentro un eppendorf)
- Guanti taglia S, M, L
- Micropipette e punte DA ORDINARE almeno 15 set da 10 e 100 (almeno una da 1000 ul)
- Vetreria (beute e cilindri)
- Eppendorf 1,5 µl
- Provette da PCR
- Coloranti alimentari
- Kit di estrazione
- Primers per gene COX-I
- Termociclatore
- Apparato per gel-elettroforesi
- Tampone 10X EDTA DA ORDINARE
- Agarosio DA ORDINARE
- Bilancia
- SYBR® Safe DNA Gel DA ORDINARE
- Loading Dye DA ORDINARE
- Lampada UV
- Centrifuga
- Shaker
- Contenitori per gli scarti (plastica, gel, liquidi)
- Computer e proiettore

ORGANIZZAZIONE DELL'ESPERIENZA

| | ATTIVITA' PRIMO INCONTRO INIZIO ORE 9:00 - TERMINE ORE 13:00 | Minuti |
|----|---|---------------|
| 1 | Accoglienza e introduzione (biodiversità; misura della biodiversità; biologia e ecologia delle api; determinazione con metodi tradizionali e con metodi molecolari) | 60 |
| 2 | Determinazione esemplari con chiavi dicotomiche e preparazione cartellini | 60 |
| | PAUSA MERENDA | 15 |
| 3 | Spiegazione protocollo estrazione e amplificazione | 20 |
| 4 | Prova micropipette | 15 |
| 5 | Estrazione | 20 |
| 6 | Preparazione PCR | 30 |
| | ATTIVITA' PRIMO INCONTRO INIZIO ORE 9:00 - TERMINE ORE 13:00 | |
| 7 | Spiegazione e preparazione gel | 20 |
| 8 | Prove di caricamento | 20 |
| 9 | Caricamento vero | 20 |
| 10 | Spiegazione sequenziamento e ricerca in banca dati | 40 |
| 11 | Completamento lista specie | 30 |
| 12 | Calcolo dell'indice di Shannon | 40 |
| 13 | Discussione dei risultati | 20 |

