**Titolo dell’assegno di ricerca: “Strategie innovative per stimolare la biodegradazione di idrocarburi aromatici in falde acquifere anaerobiche”**

**Progetto di ricerca e piano di attività.**

La recente scoperta del trasferimento diretto di elettroni interspecie (*direct interspecies electron transfer* - DIET) tra cellule microbiche ha rivelato una nuova possibilità per la cooperazione microbica in ecosistemi anaerobici a energia limitata. Questa scoperta ha cambiato il paradigma consolidato secondo il quale lo scambio di elettroni tra microrganismi avviene solo attraverso la diffusione molecolare di molecole solubili (redox-attive) come idrogeno o formiato. Analisi teoriche hanno indicato che il DIET (governato dalla conduttività elettrica) potrebbe essere sostanzialmente più veloce ed efficace del trasferimento di idrogeno interspecie, governato dalla legge di diffusione molecolare di Fick. Ciò suggerisce che il trasferimento diretto di elettroni tra specie microbiche possa essere molto più diffuso negli ambienti naturali di quanto precedentemente riconosciuto. Mentre negli ultimi anni il DIET è stato studiato come strategia per accelerare e stabilizzare il processo di digestione anaerobica, la sua rilevanza nel contesto del suolo, dei sedimenti e delle acque sotterranee è quasi completamente inesplorata. Un numero crescente di studi ha suggerito che i processi sintrofici svolgono un ruolo rilevante nella biodegradazione anaerobica degli idrocarburi sia alifatici che aromatici, in condizioni di solfato-riduzione e metanogenesi. Il miglioramento del DIET può pertanto rappresentare un nuovo approccio per stimolare la biodegradazione degli inquinanti negli ambienti anaerobici del sottosuolo.

L’attività di ricerca relativa al presente assegno sarà svolta nell’ambito del progetto di ricerca REACTIVE con l’obiettivo di sviluppare strategie innovative per il trattamento in situ di falde acquifere contaminate da idrocarburi aromatici. In particolare, verrà studiato l'effetto di diverse nanoparticelle (semi)conduttive, a base di ferro o carbonio, sul trasferimento diretto di elettroni interspecie e sulla biodegradazione anaerobica sintrofica degli idrocarburi in presenza di diversi accettori finali di elettroni.

La comunità microbica di un suolo saturo contaminato da idrocarburi petroliferi sarà coltivata e arricchita su idrocarburi modello mono e policiclici aromatici (ad esempio toluene e naftalene) in microcosmi anaerobici addizionati con diversi accettori di elettroni terminali (solfato, carbonato), in assenza e in presenza di diverse particelle (semi)conduttive. Verranno valutati gli effetti delle particelle (semi)conduttive sull’estensione e la velocità di biodegradazione degli idrocarburi target, nonché sulla formazione di intermedi di degradazione (ad esempio benzil succinato) o prodotti catabolici (ad esempio acidi grassi volatili, acetato, formiato, H2). In parallelo, verrà monitorata e caratterizzata l’evoluzione della comunità microbica tramite sequenziamento dei geni che codificano per l’rRNA 16S, al fine di identificare il concomitante arricchimento dei degradatori di idrocarburi, noti o presunti, e di loro potenziali partner sintrofici che catturano gli elettroni. L'identificazione dei degradatori di idrocarburi sarà ulteriormente confermata mediante l’utilizzo di idrocarburi marcati con 13C e DNA Stable Isotope Probing (SIP). Per studiare la stimolazione del DIET da parte delle nanoparticelle (semi)conduttive verranno applicati approcci di microbiologia e biologia molecolare. I primi includeranno incubazioni in presenza di intermedi interspecie (es. H2) per valutare la presenza di fenomeni di inibizione feedback sul metabolismo dei sintrofi, i secondi valuteranno variazioni nei livelli di espressione dei geni associati a processi di trasferimento di elettroni extracellulare (es. citocromi) mediante RT-qPCR. Verranno inoltre applicate tecniche microscopiche per visualizzare le interazioni spaziali di partner sintrofici funzionalmente diversi rispetto alle particelle elettricamente conduttive.