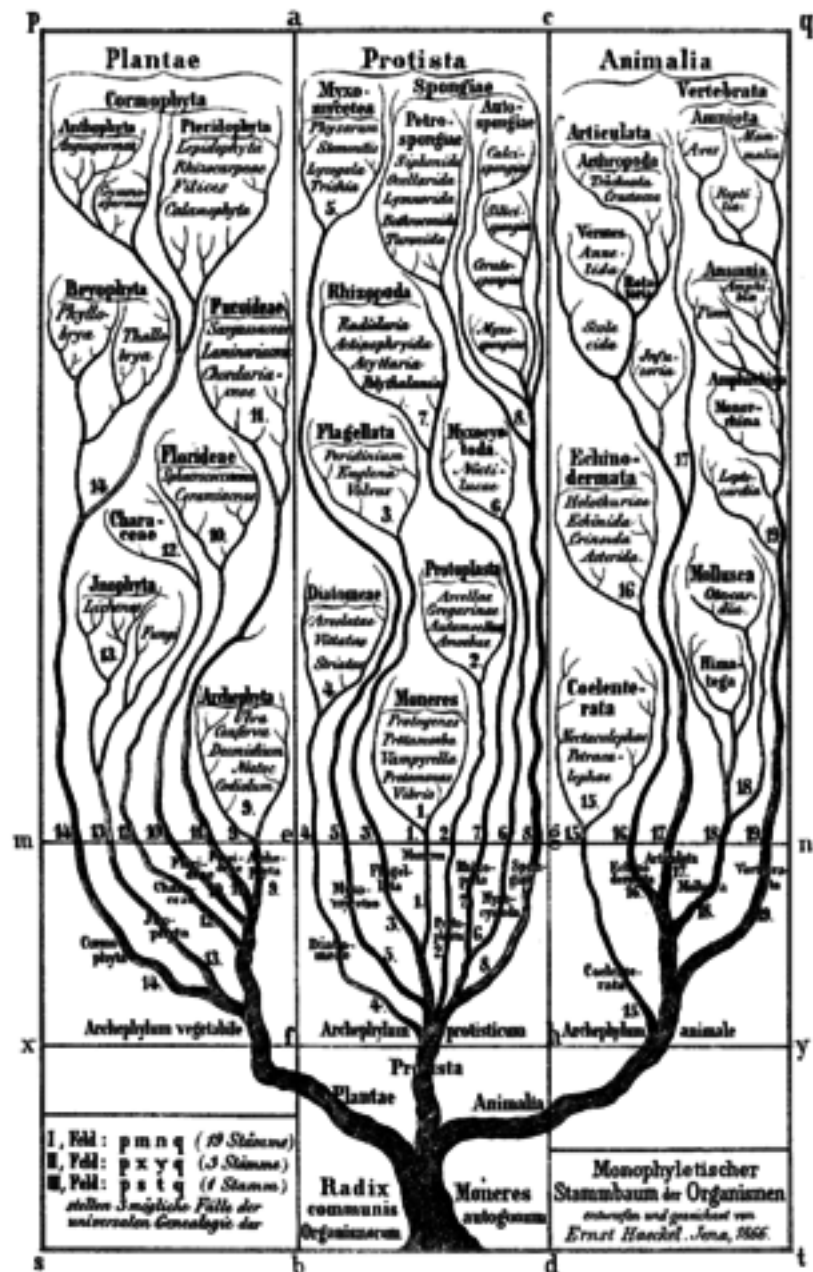


# Biologia molecolare applicata in micologia



Ernst Haeckel, 1866: l'Ontogenesi ricapitola la Filogenesi.

---

## Indice

<b>PROGRAMMA</b> .....	<b>2</b>
<b>MATERIALE NECESSARIO</b> .....	<b>2</b>
<b>ALCUNE DEFINIZIONI</b> .....	<b>3</b>
<b>COME DEFINIRE UN GENERE?</b> .....	<b>7</b>
<b>LETTERATURA RACCOMANDATA</b> .....	<b>8</b>
<b>SOFTWARE PER ANALISI FILOGENETICHE</b> .....	<b>8</b>

## Programma

09:30 – 11:00	<b>Biologia molecolare e genetica</b> DNA e sequenze L'orologio molecolare e le mutazioni Genomica e proteomica Genomica e proteomica in micologia Filogenia e morfologia
11:30 – 12:30	<b>Tassonomia polifasica</b> Introduzione alla filogenia
14:30 – 16:30	<b>Analisi filogenetiche e fenetiche</b> Analisi fenetiche - analisi filogenetiche Dendrogrammi - cladogrammi - alberi filogenetici Indici di similarità Analisi filogenetiche - regole di base Lettura di un albero filogenetico Tecniche di base per le analisi filogenetiche Esercizi di comprensione Come definire un genere
16:30 – 17:30	<b>Biologia molecolare e tassonomia – domande e risposte</b>

## Materiale necessario

- Dispense e pubblicazioni distribuite
- Materiale per prendere appunti

## Alcune definizioni\*

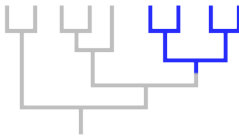
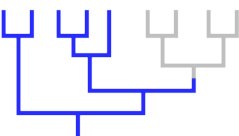
Adattamento	Adeguamento (morfologico e fisiologico) degli esseri viventi alle condizioni ambientali.
Albero filogenetico	Diagramma che mostra le relazioni fondamentali di discendenza comune di gruppi tassonomici di organismi. La rappresentazione delle relazioni in questa forma è tipica della visione evoluzionistica espressa secondo i suoi concetti iniziali, secondo la quale lo sviluppo delle forme di vita è avvenuto a partire da un progenitore comune (il tronco o la base dell'albero, altrimenti detta radice), il quale ha dato origine per speciazione a diverse linee di discendenza, fino ad arrivare alle specie attualmente esistenti (le cime dell'albero, altrimenti dette ramificazioni terminali). In un albero filogenetico, ciascun nodo (o biforcazione) rappresenta l'antenato comune più recente dei soggetti che si trovano ai nodi successivi e la lunghezza delle ramificazioni può essere correlata al tempo o ai cambiamenti genetici che intercorrono tra di essi.
Barcoding	Metodica molecolare per l'identificazione di organismi, basata sull'analisi della variabilità di un marcatore molecolare (funghi: spesso ITS, ma anche calmodulina, beta-tubulina, ecc.).
Bayes (statistica Bayesiana)	La statistica Bayesiana è un campo della statistica in cui l'evidenza su uno stato vero del mondo è espressa in termini di gradi di credibilità o più specificamente di probabilità Bayesiana.
Bayesiana (inferenza)	L'inferenza Bayesiana utilizza probabilità antecedenti e posteriori per misurare la qualità della filogenia ottenuta.
Bootstrap	Il bootstrap è una tecnica statistica di ricampionamento con reimmissione per approssimare la distribuzione campionaria di una statistica. Permette perciò di approssimare media e varianza di uno stimatore, costruire intervalli di confidenza e calcolare i valori p (probabilità) di test quando, in particolare, non si conosce la distribuzione della statistica di interesse.
Clade	Gruppo di organismi costituito da un antenato singolo comune e da tutti i discendenti di quell'antenato. Qualsiasi gruppo che corrisponde alla definizione viene considerato monofiletico e può essere rappresentato o da un'analisi filogenetica o da un cladogramma.

---

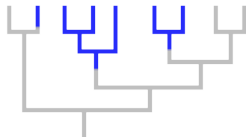
\* In parte tratte da Wikipedia e modificate quando necessario.

---

	<p>Il termine deriva dal greco antico κλάδος (kládos = ramo), ed è stato coniato nel 1958 dal biologo Julian Huxley.</p> <p>Se un clade è considerato solidamente attestato in svariate analisi, usando differenti insiemi di dati, può entrare a far parte della tassonomia e venire considerato un taxon. Non tutti i taxa considerati tali sono cladi. I rettili, per esempio, sono un gruppo parafiletico perché non includono gli uccelli, che sono considerati discendenti di un gruppo di rettili, gli arcosauri.</p>
Cladogramma	<p>Un diagramma rappresentante delle parentele. Rappresenta solo i legami di parentela tra le specie incluse nel cladogramma. Il tempo non è incluso nell'analisi né nel grafico e il grado di parentela è tanto più grande tanti più nodi due specie condividono. Le forme basali non sono antenate delle derivate, ma solo più lontane da queste ultime in termini di parentela. Il fattore tempo e le relazioni antenato-discendente non sono oggetto dell'analisi che produce il cladogramma: essi sono studiati in altri tipi di analisi (vedi albero filogenetico).</p>
Classificazione	<p>Il raggruppare delle unità tassonomiche in base alla loro similarità/dissimilarità.</p>
Cluster (analisi di)	<p>Procedura che permette di rappresentare graficamente dei raggruppamenti.</p>
Codice genetico	<p>Regole attraverso le quali viene tradotta l'informazione codificata nel materiale genetico (DNA) in proteine. Quasi tutti gli esseri viventi usano il medesimo codice genetico.</p>
Coevoluzione	<p>Insieme delle modificazioni adattive che si manifestano nel tempo in specie legate tra loro da rapporti di interdipendenza (ad es. simbiosi).</p>
Dendrogramma	<p>Strumento grafico per la visualizzazione dei coefficienti di similarità quantificato nel processo di "raggruppamento". Nelle tecniche di clustering, il dendrogramma è utilizzato per fornire una rappresentazione grafica del processo di raggruppamento delle istanze (o unità statistiche, o records, o elementi dell'insieme). Il dendrogramma dà una rappresentazione fenetica delle differenze, senza necessariamente fornire inferenze sul grado di parentela effettiva di due o più organismi.</p>
Fenetica (analisi)	<p>Si basa sulle similarità (dissimilarità) tra organismi e spiega quanto simili tra di loro siano due o più organismi. Rappresentazione grafica: il dendrogramma.</p>
Filogenesi	<p>Lo studio della storia evolutiva degli organismi viventi. L'analisi filogenetica molecolare si basa sulla distanza genetica tra coppie di sequenze (DNA o proteine) e spiega</p>

	quanto vicini tra di loro, da un punto di vista evolutivo, siano due o più organismi.
	Rappresentazione grafica: l'albero filogenetico (ev. cladogramma), che contiene i tempi e gli schemi temporali dei processi di divergenza.
Genoma	La totalità del DNA aploide di una cellula
Filogenesi molecolare	Tecnica per lo studio della storia evolutiva degli organismi viventi, basata sull'analisi delle sequenze molecolari (DNA o amminoacidi delle proteine).
Identificazione	Il processo di denominazione di un organismo.
Monofiletico	Un insieme che comprende almeno due taxa, il loro antenato comune e tutti i suoi discendenti.
	
Nodi	In un albero filogenetico rappresentano le unità tassonomiche.
Ontogenesi	L'insieme dei processi mediante i quali si compie lo sviluppo biologico di un organismo vivente dall'embrione allo stadio adulto: dipende sia dal genoma, che caratterizza l'organismo, sia dall'ambiente nel quale il processo si svolge.
Ordinazione	Il processo di ordinare un gruppo di punti nello spazio.
Orologio molecolare	Parte dall'ipotesi che mutazioni casuali, con le quali i geni si evolvono, si verificano con frequenze pressoché costanti nel tempo. Diventa quindi possibile stimare il tempo trascorso dal momento in cui si è verificata la divergenza tra due specie che discendono dallo stesso antenato comune valutando il numero delle differenze presenti in sequenze di DNA correlate o nelle corrispettive proteine.
Outgroup	Gruppo "esterno" alla filogenesi studiata, usato per produrre alberi filogenetici radicati.
Parafiletico	Un gruppo non naturale, incompleto, al cui interno è presente l'antenato comune ma non tutti i suoi discendenti.
	
Parsimonia (criterio di)	Tra diverse possibili spiegazioni di un fenomeno osservato, preferisce quella che richiede il numero minore di assunzioni/cambiamenti. Secondo questo criterio, una filogenia è ottimale (o più parsimoniosa) se la somma dei pesi degli archi di ogni percorso da un taxon all'altro è minima.
PCR	Reazione a catena della polimerasi ("Polymerase Chain Reaction"). Moltiplicazione (amplificazione) di frammenti di

Polifiletico



Proteoma

Rami

Radice (di un albero filogenetico)

Similarità (misure)

Sistematica

Speciazione

Tassonomia polifasica

acidi nucleici di cui si conoscono le sequenze iniziali e terminali. Per una PCR sono necessari dei cosiddetti primer ("innesco"), filamenti di acido nucleico (18-20 basi) che serve come punto d'innesco per la replicazione del DNA. La PCR produce sequenze di geni ben definiti che possono essere usate per lavori di filogenetica.

Un gruppo che comprende dei discendenti senza includere gli antenati comuni (perché questi non ci sono o non hanno le stesse caratteristiche che uniscono i discendenti).

Insieme delle proteine di un organismo

In un albero filogenetico uniscono i nodi e rappresentano le distanze tra due nodi

Un albero radicato (in inglese *rooted*) viene visualizzato tramite un grafo diretto, una struttura ad albero che si sviluppa a partire da un unico nodo, rappresentante il più recente antenato comune delle forme di vita che si trovano alle estremità dell'albero. In questo modo, un albero filogenetico radicato è in grado di fornire informazioni sia sulla correlazione genetica esistente tra gli organismi presenti sulle sue ramificazioni, sia sui rapporti evolutivi che intercorrono tra gli stessi (vedi figura 1).

Un albero non radicato (in inglese *unrooted*), al contrario, illustra le relazioni genetiche che intercorrono tra gli organismi che si trovano ai suoi apici, ma non fornisce alcuna informazione in merito alla loro evoluzione (vedi figura 2).

Indici (spesso arbitrari) della somiglianza tra due unità tassonomiche (non necessariamente organismi). Sono usati per la costruzione di alberi fenetici.

- Similarità simmetrica: assenza di un carattere è informativa;
- Similarità asimmetrica: l'assenza non è un dato certo.

Ramo della biologia che si occupa della classificazione. Spesso messa in sinonimia con tassonomia. Vi è però una sottile ma importante differenza tra i due termini:

- La sistematica studia e stabilisce le relazioni tra gli organismi per permetterne la classificazione;
- La tassonomia descrive, dà il nome e ordina gli organismi: fornisce quindi i mezzi necessari all'identificazione degli organismi.

Processo di formazione e differenziazione delle specie viventi.

Sistema di classificazione che combina e sintetizza tutta l'informazione disponibile sugli organismi studiati. Produce

---

	quindi una tassonomia completa, che necessariamente diventa multifattoriale. In micologia questa filosofia ha fatto il suo ingresso negli anni novanta.
Topologia	Struttura generale di un albero filogenetico.
Trascrizione	una sequenza di DNA, chiamata gene strutturale, è usata come stampo per la creazione di un filamento complementare di RNA (acido ribonucleico).
Traduzione	Una sequenza di RNA si compone di gruppi non sovrapposti di tre basi ciascuno, chiamati codoni. Ad ogni codone corrisponde uno specifico amminoacido. La sequenza di codoni (o triplette di basi) è tradotta in una sequenza di amminoacidi. Esistono 64 codoni.
Verosimiglianza (criterio di)	Tra diverse possibili spiegazioni di un fenomeno osservato, bisognerebbe preferire quella che ha una probabilità più alta di occorrere. Secondo questo criterio una filogenia è ottimale (o la più probabile) se ha la più alta probabilità di spiegare le relazioni tra i taxa osservati.

## Come definire un genere?

Riassunto del lavoro di Vellinga et al. Six simple guidelines for introducing new genera of fungi. IMA Fungus. 2015;6(2):65-8.

La descrizione di un nuovo genere dovrebbe sottostare a dei criteri precisi, miranti a definire all'interno della comunità micologica un concetto di genere universalmente accettato. A questo proposito si raccomanda di seguire i sei criteri qui elencati.

### 1. **Criterio di reciproca monofilia**

Tutti i generi di un gruppo dovrebbero essere monofiletici, sia nel gruppo da cui il nuovo genere è separato sia in quello cui il nuovo genere sarà assegnato

### 2. **Concetto di ampiezza**

L'albero filogenetico usato per stabilire il genere deve contenere

- Un grosso numero di specie
- Una distribuzione geografica di taxa abbastanza grande
- Tipi di tutte le specie dei generi studiati

### 3. **Concetto di stabilità statistica**

I rami dell'albero filogenetico devono avere un buon supporto statistico

### 4. **"In dubio contra reum"**

Altre opzioni, oltre alla definizione di un nuovo genere, devono essere esaminate e ponderate: anche in un albero filogenetico robusto si possono vedere diverse possibilità di interpretazione. *[A questo proposito io suggerisco anche un uso ponderato della tassonomia polifasica!]*

### 5. **Criterio genetico**

L'evidenza filogenetica non deve basarsi sulle sequenze di un solo gene (idealmente almeno 3 geni codificanti proteine oltre al "tipico" ITS)

## 6. Criterio del “peer-review”

Il lavoro deve essere pubblicato su una rivista “peer-reviewed” per permettere una critica da parte di esperti del gruppo (“controllo di qualità”)

## Letteratura raccomandata

1. Albertini E. filogenesi molecolare.  
(<http://www.emidioalbertini.com/pdf/Filogenesi%20molecolare.pdf>)
2. Dentinger BT, Ammirati JF, Both EE, Desjardin DE, Halling RE, Henkel TW, et al. Molecular phylogenetics of porcini mushrooms (*Boletus* section *Boletus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2010;57(3):1276-92.
3. Pinnoi A, Phongpaichit P, Jeewon R, Tang A, Hyde K, Jones E. Phylogenetic relationships of *Astrocystis eleiodoxae* sp. nov. (*Xylariaceae*). *Mycosphere*. 2010;1:1-9.
4. Tang AM, Jeewon R, Hyde KD. Phylogenetic relationships of *Nemania plumbea* sp. nov. and related taxa based on ribosomal ITS and RPB2 sequences. *Mycological Research*. 2007;111(Pt 4):392-402.
5. Vellinga EC, Kuyper TW, Ammirati J, Desjardin DE, Halling RE, Justo A, et al. Six simple guidelines for introducing new genera of fungi. *IMA Fungus*. 2015;6(2):65-8.

## Software per analisi filogenetiche

- BEAST – Bayesian estimation ([http://beast.bio.ed.ac.uk/Main\\_Page](http://beast.bio.ed.ac.uk/Main_Page)).
- FigTree (<http://tree.bio.ed.ac.uk>) per la grafica
- MEGA-7 (<https://www.megasoftware.net/megabeta.php>)
- MrBayes: Bayesian Inference of Phylogeny (<http://mrbayes.sourceforge.net/>)
- SeaView (<https://doua.prabi.fr/software/seaview>)
- Geneious (<https://www.geneious.com/>)