

VERBALE N. 3 DEL CONSIGLIO DI DIPARTIMENTO DEL GIORNO 26/3/2008

Il giorno 26/3/2008 alle ore 11:00 nell'Aula IV della Facoltà di Agraria, si è riunito il Consiglio del Dipartimento di Biologia e Chimica Agro Forestale ed Ambientale per discutere e deliberare sul seguente Ordine del Giorno:

1. Comunicazioni

2. Ratifica decreti

3. Assegni per la collaborazione ad attività di ricerca

4. Borse di studio per attività di ricerca post-dottorato

5. Valutazione dell'attività scientifica della dott.ssa Cinzia Montemurro per la conferma nel ruolo di ricercatore, settore scientifico-disciplinare AGR/7: Genetica Agraria

6. Nomina Coordinatore Sezione Entomologia e Zoologia

7. Autorizzazione alla stipula di contratti

8. Varie ed eventuali

Sono presenti: Senesi N., Blanco A., Nuzzaci G., Ruggiero P., Triggiani O., Brunetti G., de Lillo E., Ippolito R., Loffredo E., Pizzigallo M.D.R., Porcelli F., Provenzano M.R., Simeone R., Tarasco E., Cocozza C., D'Orazio V., Gadaleta A., Montemurro C., Spagnuolo M., Carella N..

Sono assenti giustificati: Monaco R., Ricciardi L., Creccchio C., De Giovanni C., Terzano R., Padovano G., Pizza M..

Sono assenti ingiustificati: Fanizza G., Miano T., Addante R., Della Gatta C., Resta P..

Segretario verbalizzante: rag. Attilio Davide Mazzacane, segretario amministrativo.

Assume la presidenza il Direttore, prof. N. Senesi che, dopo aver constatata la presenza del numero legale, alle ore 11:15, dichiara aperta la seduta.

Si apre la discussione sul primo punto all'O.d.G.:

1. Comunicazioni

Nota prot. n. 21045 del 7/3/2008 del Dip. per gli studenti, le innovazioni didattiche,

diritto allo studio e servizi agli studenti, riguardante la proroga al 30.6.08 del termine ultimo per lo svolgimento dell'attività part-time presso le strutture di questa Università, per l'a.a. 2006/2007.

Nota prot. 21424 del 10/03/2008 del Dip. Risorse Umane, riguardante l'assegnazione di giornate di lavoro per operai agricoli anno 2008.

Si passa a discutere il secondo punto all'O.d.G.:

2. Ratifica decreti

Il Presidente dà lettura dei decreti n. 2,3,5,6 dallo stesso adottati in via d'urgenza, comportante variazioni al bilancio di previsione dell'esercizio appena trascorso. Quindi invita il Consiglio a deliberare in ordine alla ratifica dei suddetti provvedimenti.

IL CONSIGLIO

VISTI i decreti di variazione di bilancio n. 2,3,5,6 adottati in via d'urgenza dal Direttore del Dipartimento;

RITENUTO di approvare le relative variazioni di bilancio per le motivazioni riportate nel decreto medesimo;

VISTO l'art. 84 del Regolamento di Amministrazione, Finanza e Contabilità,
con voti favorevoli unanimi

DELIBERA

di ratificare i decreti di variazione di bilancio n. 2,3,5,6 allegati al presente atto sub A), sub B), sub C), sub D) per costituirne parte integrante e sostanziale.

Si passa a discutere il terzo punto all'O.d.G.:

3. Assegni per la collaborazione ad attività di ricerca

Il Direttore introduce l'argomento ricordando di aver già fatto circolare, per conoscenza, tra i colleghi, la Nota Prot. 20572 del 06/03/2008 del Dipartimento Gestione Risorse Umane – Area Personale Docente – Settore II per la richiesta di assegni di ricerca. Il termine per la

presentazione, al predetto Ufficio, delle richieste è fissato alle ore 12.00 del giorno 1 aprile 2008. Viene ricordato anche che, per disposizione normativa, l'importo delle annualità degli assegni è di € 18.096,00.

Oggi vengono sottoposte a questo Consiglio sei richieste di nuovi assegni per la collaborazione ad attività di ricerca. Il Direttore le illustra di seguito:

è pervenuta dal prof. Nicola Senesi la richiesta di un assegno biennale sulla ricerca dal titolo: "Effetti della qualità di composts ed altri ammendanti organici e delle loro frazioni umiche e fulviche sulla germinazione e sulla crescita di Slickspot Peppergrass (*Lepidium Papilliferum*) in varie condizioni sperimentali."

Il prof. Senesi chiede che l'assegno sia finanziato dall'Ateneo per una annualità mentre l'altra graverà sui fondi Contract n.1251-EN-01-US Army – London Office, di cui è responsabile.

E' pervenuta dal prof. Carmine Crecchio la richiesta di un assegno biennale sulla ricerca dal titolo: "Metodi sostenibili per il sequestro del carbonio organico nei suoli agrari: valutazione degli effetti sulla qualità biologica dei suoli".

Il prof. Crecchio chiede che l'assegno sia finanziato dall'Ateneo per una annualità mentre l'altra graverà sui fondi FISIR – MESCOSAGR, di cui è responsabile il prof. P. Ruggiero.

E' pervenuta dal prof. Antonio Blanco la richiesta di rinnovo di un assegno di ricerca biennale dal titolo: "Sviluppo di una mappa molecolare-funzionale di frumento duro e mappatura di geni per la resistenza e/o tolleranza a stress idrici e salini".

Il prof. Blanco chiede che l'assegno sia finanziato dall'Ateneo per una annualità mentre l'altra graverà sui fondi FAR-AGROGEN, di cui è responsabile.

E' pervenuta dal prof. Girolamo Fanizza la richiesta di un nuovo assegno di ricerca biennale dal titolo: "Identificazione e caratterizzazione di cultivar di olivo mediante analisi

molecolare con marcatori SSR e AFLP”.

Il prof. Fanizza chiede che l’assegno sia finanziato dall’Ateneo per una annualità mentre l’altra graverà sui fondi ENICHEM, di cui è responsabile il prof. A. Blanco.

E’ pervenuta dal prof. Luigi Ricciardi la richiesta di un nuovo assegno di ricerca biennale dal titolo: “Identificazione e mappatura di QTL per l’elevato contenuto di proteine di riserva delle cariossidi di frumento duro”.

Il prof. Ricciardi chiede che l’assegno sia finanziato dall’Ateneo per una annualità mentre l’altra graverà sui fondi ENICHEM, di cui è responsabile il prof. A. Blanco.

E’ pervenuta dalla prof. Rosanna Simeone la richiesta di un nuovo assegno di ricerca biennale dal titolo: “Caratterizzazione e mappatura di geni per la sintesi di carotenoidi in frumento duro”.

La prof. Simeone chiede che l’assegno sia finanziato dall’Ateneo per una annualità mentre l’altra graverà sui fondi FAR-AGROGEN, di cui è responsabile il prof. Antonio.

Il Consiglio approva, all’unanimità, le suddette richieste formulate utilizzando l’apposita modulistica, sottolineando in particolare la coerenza dei progetti di ricerca proposti rispetto alla programmazione scientifica del Dipartimento effettuata con l’approvazione del Piano Annuale delle ricerche approvato da questo Consiglio nella seduta del 4 luglio 2007 nel quale tutte le ricerche suddette erano ricomprese.

Si passa a discutere il quarto punto all’O.d.G.:

4. Borse di studio per attività di ricerca post-dottorato

Il Direttore dà lettura della nota prot. 20706-III/9 del 7 marzo 2008 dell’Area Formazione post-laurea, Settore II, con la quale i Consigli di Dipartimento vengono invitati ad avanzare eventuali richieste di borse di studio post-dottorato. Il termine per la presentazione, al predetto Ufficio, delle richieste è fissato alle ore 12.00 del giorno 31 marzo 2008.

Il Direttore comunica di aver ricevuto una richiesta di borsa di studio post-dottorato da parte della D.ssa V. D'Orazio, partecipante al Collegio dei docenti del Dottorato di Ricerca in Chimica Agraria, avente sede amministrativa presso il Dipartimento, per sviluppare un programma di ricerca le cui finalità vengono di seguito descritte.

Il programma di ricerca che si intende svolgere per il periodo della fruizione della borsa di studio si inserisce nei progetti del Dipartimento ed è in linea con i curricula del Dottorato di Ricerca in Chimica Agraria afferente allo stesso.

Scopo del presente progetto di ricerca è quello di valutare la composizione della sostanza organica (SO) presente in suoli forestali opportunamente selezionati, ed in particolare investigare la qualità biochimica della sostanza organica in funzione della sua posizione lungo i vari profili. Studi precedenti hanno evidenziato importanti differenze nella composizione della SO isolata dai diversi strati di un suolo forestale e come tali differenze siano valutabili soprattutto negli strati di suolo sottostanti l'orizzonte organico (Rovira e Vallejo, 2007). In particolare, in ambiente mediterraneo la SO meno stabile, e quindi meno recalcitrante, è stata riscontrata in maggior quantità nell'orizzonte B, ossia nello strato più profondo.

La presente ricerca sarà articolata in più fasi, in modo da poter procedere valutando volta per volta gli aspetti ritenuti particolarmente importanti ai fini degli obiettivi preposti. La prima fase sarà rivolta all'individuazione di uno o più siti, con definiti lineamenti geologici e morfologici, sottostanti due diverse coperture forestali, possibilmente un bosco di conifere ed uno di latifoglie. Saranno quindi prelevati i campioni dei suoli alle diverse profondità in corrispondenza dei vari orizzonti, e su di essi verranno eseguite le analisi consuete di caratterizzazione secondo i metodi ufficiali.

La fase successiva sarà rivolta alla caratterizzazione della composizione della SO in tre frazioni principali: composti refrattari (lignine, suberine, acidi grassi), frazione labile (pool I e

pool II, corrispondenti, rispettivamente, la prima alle cellulose e la seconda ai polisaccaridi sia di origine vegetale che microbica), ed infine frazione inerte (carbone).

Il frazionamento della SO nelle tre frazioni sarà realizzato mediante un'idrolisi acida in due tempi. Il primo idrolizzato costituisce il pool I labile, il secondo idrolizzato costituisce il pool II labile, il residuo finale rappresenta la frazione recalcitrante. La frazione inerte, che è costituita essenzialmente da carbonio sotto forma di grafite, sarà determinata anch'essa mediante idrolisi acida in più tempi, con calcinazione finale ad alta temperatura. Tutte le frazioni così ottenute saranno analizzate mediante un analizzatore elementare per la determinazione dei contenuti in C ed N.

I dati finali saranno utilizzati per ricavare degli indici che potranno indicare il tipo e l'entità di degradazione che la SO subisce lungo il profilo, ed inoltre risulterà possibile la valutazione della qualità biochimica della SO stessa in funzione degli orizzonti lungo il profilo stesso.

I risultati attesi potranno fornire utili ed aggiuntive informazioni sull'influenza che la diversa copertura vegetale esercita sulla composizione della SO presente nei suoli sottostanti, e potranno trovare un utile impiego in studi paesaggistici e di ricostituzione ambientale.

Il Direttore comunica, di aver ricevuto una richiesta di borsa di studio post-dottorato da parte del prof. T.M. Miano, partecipante al Collegio dei docenti del Dottorato di Ricerca in Chimica Agraria, avente sede amministrativa presso il Dipartimento, per sviluppare un programma di ricerca le cui finalità vengono di seguito descritte.

Il programma di ricerca che si intende svolgere per il periodo della fruizione della borsa di studio si inserisce nei progetti del Dipartimento ed è in linea con i curricula del Dottorato di Ricerca in Chimica Agraria afferente allo stesso.

Il suolo rappresenta la maggior riserva di carbonio (C) tra gli ecosistemi terrestri; infatti, il *pool* di C del suolo è circa il doppio di quello presente nell'atmosfera e due volte e

mezzo quello nella biomassa vegetale. La sostanza organica del suolo (SOM), elemento centrale nel ciclo del C, è un complesso di frazioni caratterizzate da proprietà fisiche, composizione chimica, accessibilità ai microrganismi e tempi di turnover diversi tra loro, ed è in grado di influenzare tutte le funzioni del terreno. Infatti, si è ormai raggiunta la consapevolezza che il suolo non debba essere considerato un semplice substrato per le attività agronomiche, ma un vero e proprio ecosistema inserito nei delicati equilibri della biosfera terrestre.

Il ciclo biogeochimico del C è strettamente interconnesso a quello dell'azoto (N) poiché, come risultato dei processi di mineralizzazione, entrambi questi elementi sono liberati dalla sostanza organica e possono essere persi dal suolo sia in forma liquida che gassosa (greenhouse gases, GHG).

I Paesi di tutto il mondo sono oggi impegnati nell'analisi del bilancio netto dei GHG sul proprio territorio, calcolato come differenza fra emissioni (suolo come *source*) ed assorbimenti (suolo come *sink*), e tale valutazione riveste una grande importanza soprattutto nelle aree mediterranee, già caratterizzate da bassi contenuti di SOM.

In generale, i suoli agricoli rappresentano una sorgente continua di GHG. Essi possono subire forti perdite di C e N come conseguenza di attività antropiche legate al cambiamento di uso del suolo, alla deforestazione, agli incendi di biomasse, alla conversioni da suoli naturali ad agricoli, al drenaggio di zone umide, ecc. Si stima, infatti, che la sola agricoltura sia responsabile del 9% delle emissioni di gas serra totali poiché essa necessita di energia che deriva da combustibili fossili (per i macchinari, per la fabbricazione di fertilizzanti ed insetticidi, ecc), provoca l'emissione di metano (CH₄) dal suolo (per esempio, a causa del prosciugamento di suoli torbosi, o per la sommersione dei terreni nella produzione del riso), e, in alcuni casi, fa sì che il suolo rilasci N₂O. Proprio per questo motivo, nel contesto del Protocollo di Kyoto e del post-Kyoto, la Commissione europea richiede che il settore agricolo

contribuisca alla diminuzione di emissioni di gas serra. Al contrario, molti modelli biogeochimici sembrerebbero dimostrare che i suoli forestali rivestono un'azione mitigante poiché agiscono come un lento ma continuo *sink* di C e N.

Come si può dedurre, quindi, molta incertezza esiste ancora circa l'entità con la quale i suoli rappresentano un *sink* o una *source* di GHG in funzione dei differenti ecosistemi, degli usi, dei fattori di disturbo e, di conseguenza, circa l'influenza che essi hanno sui cambiamenti climatici (effetto serra, buco nell'ozono, ecc). Di conseguenza, per far sì che i suoli continuino a ricoprire il ruolo di riserve di C e N, diventa particolarmente importante sia il proteggere alcuni ecosistemi indisturbati (quali zone umide e foreste), sia individuare tipi di suolo e pratiche di gestione per i quali i cambiamenti di tali stock si potrebbero verificare più verosimilmente e, di conseguenza, indirizzare eventuali politiche per il sostegno dei cambiamenti che stakeholder ed amministratori del settore agro-forestale dovranno affrontare nei processi gestionali.

Obiettivo del presente progetto di ricerca è lo studio: (i) di come gli stock di C e N cambiano nell'ambito di un particolare uso del suolo, (ii) dell'entità dei cambiamenti di tali stock come conseguenza di un cambiamento di uso del suolo, (iii) dell'impatto di eventuali applicazioni (compost, fanghi, ecc) sui cambiamenti di tali stock, e (iv) dell'influenza di tali cambiamenti sui flussi di GHG.

Le misure ed il monitoraggio dei flussi di CO₂, CH₄ e N₂O verranno condotti in pieno campo attraverso l'incubazione del suolo in apposite "camere"; essi saranno accompagnati sia dalla misurazione delle variabili micro-meteorologiche (temperatura, precipitazioni, ecc), sia da rilievi continui dell'umidità e della temperatura del suolo.

Il Direttore comunica, di aver ricevuto una richiesta di borsa di studio post-dottorato da parte del prof. E. de Lillo, partecipante al Collegio dei docenti del Dottorato di Ricerca in Chimica Agraria, avente sede amministrativa presso il Dipartimento, per sviluppare un

programma di ricerca le cui finalità vengono di seguito descritte.

Il programma di ricerca che si intende svolgere per il periodo della fruizione della borsa di studio si inserisce nei progetti del Dipartimento ed è in linea con i curricula del Dottorato di Ricerca in Chimica Agraria afferente allo stesso.

La capacità di valutare il rischio ambientale è oggi una competenza sempre più richiesta da enti pubblici e privati per far fronte alla crescente necessità di fornire informazioni e riferimenti, talora richiesti per legge, circa la salubrità degli ecosistemi.

Presso la sezione di Entomologia e Zoologia è stata già acquisita una buona conoscenza sull'utilizzazione dei lombrichi (phylum Annelida, classe Oligochaeta) come bioindicatori e biomonitori limitatamente al comparto ambientale suolo (Bari, 2005; Vernile, 2007). I bioindicatori sono organismi animali o vegetali sensibili agli inquinanti, in presenza dei quali modificano più o meno marcatamente il proprio metabolismo; i biomonitor, invece, tendono ad accumulare l'inquinante nel corpo (Bargagli *et al.*, 1998; Reinecke & Reinecke, 2004). In entrambi i casi, si dispone di procedure atte a mettere in relazione la condizione di stress con l'effetto dello stesso sull'organismo sensibile.

Obiettivo primario del presente progetto di ricerca è il tentativo di trasferire agli insetti le metodologie già acquisite e messe a punto sui lombrichi, prevedendo anche la possibilità di acquisire altre procedure. La scelta di queste entità come oggetto di indagine si origina dalla considerazione che gli ecosistemi offrono una notevole consistenza e bio-varietà delle faune entomologiche, e che l'approccio metodologico previsto risulta decisamente innovativo per gli insetti. Pertanto, si intende individuare quegli insetti che, entrando in contatto direttamente con alcuni xenobiotici dispersi nell'ambiente, risultino più idonei alla valutazione ecotossicologica di tutti i comparti ambientali, suolo in particolare, mediante l'applicazione di appropriati e affidabili biomarkers. I biomarkers consistono in alterazioni osservabili e misurabili a livello molecolare, biochimico, cellulare, fisiologico o comportamentale rivelando un'esposi-

zione dell'individuo ad una sostanza inquinante (Lagadic *et al.*, 1997) o altro fattore di stress.

In una prima fase, si provvederà alla valutazione delle specie di insetto più adatte alle indagini eco-tossicologiche fra quelli appartenenti agli ordini Hymenoptera, Lepidoptera, Diptera, Coleoptera e Orthoptera. Altri gruppi di ricerca hanno già utilizzato le api (Hymenoptera) in qualità di bio-indicatori per rilevare condizioni di stress ambientali di varia origine (agricola, urbana, industriale) (AA.VV., 2000). Lo studio si orienterà dapprima verso la comprensione e l'analisi del sistema immunitario delle specie di insetto ritenute più adatte, caratterizzando morfologicamente e funzionalmente gli elementi figurati (emociti ed altri) dell'emolinfa (anche in base alla fase di sviluppo dell'insetto), individuandone i tipi più idonei per l'analisi con i biomarkers. Sugli elementi figurati si intende stimare il danno a livello della membrana lisosomiale e il danno genotossico a livello del DNA nucleare mediante l'applicazione, rispettivamente, del Neutral Red Retention Time e del Comet assay. Per valutare l'efficienza dei saggi testati, inoltre, esemplari delle specie scelte saranno recuperati in zone altamente antropizzate e i risultati confrontati con quelli di individui allevati in condizioni controllate.

Si intende, in una seconda fase del progetto, estendere l'applicazione di questi biomarkers, ed eventuali altri, su altre componenti dell'organismo bersaglio non limitandosi alle strutture implicate nella funzione immunitaria. A riguardo, studi recenti hanno evidenziato come le ghiandole salivari siano sensibili agli IPA (Idrocarburi Policiclici Aromatici) presenti nell'atmosfera e nel suolo. Pertanto, si rende necessario procedere alla selezione a) delle strutture sensibili in alternativa agli elementi figurati dell'emolinfa e b) dei biomarkers idonei allo scopo tra quelli attualmente di maggiore utilizzazione (analisi dei fattori antimicrobici, di enzimi coinvolti nella detossificazione da inquinanti, attività della fenolossidasi, della colinesterasi, dell'esterasi, della profenolossidasi, delle metallotioneine, del lisozima, dello spettro proteico delle cellule dell'emolinfa, ecc.).

Prodotto atteso del progetto di ricerca potrà dunque essere una preliminare messa a punto di una linea guida di analisi ambientale mediante l'utilizzo di insetti.

Le attività del presente progetto verranno svolte presso la sezione di Entomologia e Zoologia per le competenze entomologiche con il supporto delle esperienze e delle strumentazioni dei ricercatori presso la sezione di Chimica agraria del Di.B.C.A.

Il Direttore comunica, di aver ricevuto una richiesta di borsa di studio post-dottorato da parte del prof. Pacifico Ruggiero, partecipante al Collegio dei docenti del Dottorato di Ricerca in Chimica Agraria, avente sede amministrativa presso il Dipartimento, per sviluppare un programma di ricerca le cui finalità vengono di seguito descritte.

Il trasferimento genico orizzontale (Horizontal Gene Transfer, HGT) da piante transgeniche a batteri del suolo è uno degli aspetti più dibattuti nell'ambito dell'impatto ecologico delle coltivazioni GM sull'ambiente. Lo studio relativo a tale problematica è reso particolarmente complesso per ragioni legate: alle frequenze estremamente basse che caratterizzano tali eventi, all'impossibilità di esaminare grossi volumi di suolo e all'impossibilità attuale di isolare e coltivare oltre il 99% delle specie batteriche del suolo. Gran parte delle ricerche condotte fin ora in questo campo, hanno valutato l'acquisizione di geni marker per la resistenza ad antibiotici inseriti nelle piante GM. Tali geni, essendo spesso già presenti a livello dei microrganismi del suolo, rendono l'individuazione dei batteri effettivamente trasformati particolarmente difficile.

Lo studio qui proposto si basa sul principio "Genefish", tecnica che permette di non limitare la ricerca dei trasformanti basandosi sul solo gene marker, ma anche a qualsiasi transgene della pianta. La tecnica si basa sull'utilizzo di un ceppo "ricevente" di *Escherichia coli* contenente un plasmide su cui sono state clonate due piccole sequenze omologhe al DNA vegetale transgenico. Tali sequenze consentono l'integrazione di uno o più transgeni vegetali dopo contatto del batterio ricevente con il DNA ricombinante. Queste sequenze omologhe

sono clonate sui due lati di una cassetta genica che codifica prodotti tossici per la cellula di E.coli in particolari condizioni indotte dallo sperimentatore. Quando il fenomeno di ricombinazione interessa le due sequenze omologhe inserite, la cassetta suicida viene persa e i cloni di E.coli ricombinati possono svilupparsi su un mezzo di cultura specificamente elaborato per indurre i geni tossici.

Il progetto prevede dunque una prima fase in cui verranno definite, a partire dalla sequenza del transgene del mais OGM Bt176, differenti regioni di DNA come siti di ricombinazione. Queste regioni di DNA saranno quindi amplificate tramite PCR e clonate sul plasmide da una parte e dall'altra della cassetta suicida. Il plasmide ottenuto sarà poi inserito in E.coli per la creazione del ceppo ricevente. In seguito verranno condotti esperimenti atti a rilevare gli eventi di trasferimento genico orizzontale a livello del DNA metagenomico batterico estratto da campioni di suolo coltivato per 10 anni con mais OGM Bt176 (campi sperimentali di Bazièges, Francia). L'isolamento del metagenoma batterico avverrà in seguito all'isolamento della frazione batterica del suolo tramite la tecnica della centrifugazione su gradiente "nycodenz". La presenza di cellule di E.coli trasformanti (verificata tramite tecniche di PCR e sequenziamento) indicherà l'avvenuto HGT pianta-batteri in campo. I campioni di suolo e il materiale biologico necessario all'applicazione della tecnica "genefish" sono disponibili presso l'istituto di ricerca Ampère, Equipe Microsystèmes et Microbiologie gruppo di ricerca Génomique Microbienne Environnementale, situato presso l'Ecole Centrale di Lione, Ecully, Francia.

Gli esperimenti di trasformazione del ceppo ricevente con il metagenoma batterico saranno condotti in vitro tramite elettroporazione, ed in vivo tramite "elettrotrasformazione". Quest'ultima tecnica prevede l'inoculo della specie ricevente e del metagenoma batterico in suolo sterile o non sterile, e successiva emissione di impulsi elettrici (Demanèche et al., 2001).

Nel caso fosse rilevato un evento ricombinativo pianta-batteri si cercherà di isolare e caratterizzare gli eventuali trasformanti tramite tecniche culturali.

Il Direttore comunica, di aver ricevuto una richiesta di borsa di studio post-dottorato da parte del prof. Antonio Blanco, partecipante al Collegio dei docenti del Dottorato di Ricerca in Miglioramento genetico e patologia delle piante agrarie e forestali, avente sede amministrativa presso il Dipartimento, per sviluppare un programma di ricerca le cui finalità vengono di seguito descritte.

Il 98% della produzione d'olio d'oliva e l'80% delle olive da mensa si ottengono nei Paesi mediterranei. L'Italia è al terzo posto per estensione delle superfici olivetate con 1.129.900 ettari, preceduta dalla Spagna (2.280.000 ha) e dalla Tunisia (1.624.000 ha.). La regione Puglia è la principale regione produttrice in Italia rivestendo una quota del 38,89% della produzione nazionale con 352.500 ettari in produzione che garantiscono l'ottenimento in media di 211.224 tonnellate d'olio (Fonte: Ismea).

L'olivicoltura è una risorsa di primo piano per l'Italia che ospita un vastissimo e antico patrimonio varietale in gran parte da caratterizzare e valorizzare per garantire un valore aggiunto alle produzioni d'olio e olive da mensa. Il settore dell'olio d'oliva è da tempo al centro dell'attenzione del mercato. Il comparto è vitale e il prodotto sempre più rivalutato grazie alle acquisizioni scientifiche che gli assegnano un ruolo primario nella prevenzione di patologie cardio-circolatorie e tumorali. L'evoluzione dei comportamenti d'acquisto evidenzia un considerevole aumento della richiesta di un prodotto di qualità.

Quello dell'olio d'oliva di qualità è un mercato giovane, con meno di 10 anni d'età. I consumi d'extravergine (76%) sono nettamente superiori a quelli dell'olio d'oliva (24%). In particolare nel segmento dell'extravergine si posizionano in maniera sempre più incisiva i prodotti a denominazione di origine (DOP e IGP), il biologico, l'olio extravergine di oliva 100% italiano e il prodotto tracciato. Una crescita significativa è dimostrata in particolare per

la famiglia degli oli extravergini a denominazione di origine protetta (DOP). Sono ormai oltre 30 le DOP riconosciute mentre altre 20 sono in avanzata fase di istruttoria. Il territorio italiano risulta quasi interamente coperto tra le DOP e le IGP riconosciute (Tabella 2.2).

Il consumatore sembra apprezzare il prodotto DOP ed è disposto a pagare un prezzo più alto in cambio della qualità. Qualità che però deve essere certificata e garantita attraverso una tracciabilità e rintracciabilità del prodotto e della filiera.

I prodotti DOP hanno sul mercato un prezzo più elevato dei normali prodotti commerciali, dovuto ai maggiori controlli, alle quantità limitate ottenute, e alla genuinità del prodotto garantita dal rispetto di rigidi disciplinari di produzione. In particolare garantire una tracciabilità e rintracciabilità degli oli DOP è importante per soddisfare le richieste del consumatore disposto a spendere cifre più alte in cambio di prodotti che possiedano caratteristiche di tipicità e genuinità.

I termini “tracciabilità” e “rintracciabilità” non indicano la stessa cosa anche se spesso sono usati in modo alternativo. Per tracciabilità si intende il processo informativo che segue il prodotto da monte a valle dell’iter produttivo che si svolge lungo la filiera. Nel caso della filiera olivicolo-olearia, il percorso che parte dall’azienda agricola e si conclude con la bottiglia di olio. Per “rintracciabilità” è da intendersi, invece, il processo inverso che permette di ricostruire la storia del prodotto da valle a monte del processo produttivo, ovvero, per la produzione di olio, dalla bottiglia al campo di origine delle olive. In altre parole la tracciabilità permette di eseguire la rintracciabilità. Mentre la prima è un problema più tecnico e utilizza un linguaggio e degli strumenti per addetti ai lavori, la rintracciabilità è soprattutto un problema di comunicazione e di trasparenza, e rappresenta l’aspetto che interessa il Consumatore e pertanto deve essere espressa attraverso un linguaggio comprensibile per il Consumatore stesso.

Un’accurata identificazione della materia prima (varietà di olivo) e di prodotto derivato

(olio) è lo strumento univoco per effettuare una tracciabilità di filiera del prodotto olio extravergine di oliva e soddisfare i requisiti di garanzia di qualità degli oli inseriti nei disciplinari di prodotti a denominazione di origine protetta (D.O.P.) che possiedono caratteristiche attribuibili essenzialmente o esclusivamente all'ambiente geografico comprensivo dei fattori naturali e umano, come riportato dal Regolamento Comunitario 2081/92. Questo strumento è rappresentato dall'analisi del DNA, estratto da foglia se partiamo dalle varietà in campo, e da olio se utilizziamo gli oli ottenuti. L'applicazione dei marcatori molecolari fornisce un'identificazione accurata del materiale vegetale di partenza e del prodotto finito, permettendo controlli incrociati su tutta la filiera con ulteriori garanzie sull'origine degli oli D.O.P.

In letteratura sono riportati dati riguardanti l'estrazione del DNA e l'applicazione dei marcatori molecolari in oli d'oliva. Affinché il DNA sia rilevabile ed analizzabile, occorre che esso sia presente in una forma sufficientemente integra e che sia estratto in modo idoneo, tale da non danneggiarlo e da purificarlo per le successive analisi. Indagini riguardanti oli vegetali di origine diversa dall'olivo quali l'olio di soia e l'olio di colza hanno dimostrato che in olio di soia grezzo, estratto con solventi dai semi dopo decorticazione e fiocatura degli stessi, il DNA è ancora rilevabile (Meyer e Jaccaud, 1997), sebbene non lo sia più in olio raffinato (Meyer e Jaccaud, 1997; Pauli et al., 1998). Anche nell'olio di colza grezzo, estratto per pressione a freddo, il DNA è analizzabile, mentre in quello raffinato si ottengono risultati dubbi (Hellebrand et al., 1998). Negli oli d'oliva vergini, ottenuti per pressione senza trattamenti di raffinazione, la presenza di residui cellulari è, quindi probabile.

In letteratura esistono pochi studi riguardanti la rilevabilità del DNA in olio di oliva e successiva analisi mediante marcatori molecolari. Cresti et al. (1996) in uno studio preliminare con i marcatori RAPD hanno dimostrato la possibilità di amplificare il DNA estratto dai residui cellulari ancora presenti nell'olio d'oliva, recuperati mediante lunga

centrifugazione ad elevata velocità. L'importanza dello stato d'integrità del DNA estratto risulta fondamentale per garantire un pattern di amplificazione RAPD ripetibile, che non è stato ottenuto in alcuni campioni. Un recente lavoro di Busconi et al. (2003), riporta il confronto tra due metodi d'estrazione del DNA da olio, entrambi basati su lunghe centrifugate ad elevata velocità, e la possibilità di estrarre una quantità di residuo sufficiente da oli monovarietali realizzati sperimentalmente e 4 oli commerciali. Il DNA estratto è stato successivamente analizzato con marcatori RAPD e AFLP.

Con la recente disponibilità delle sequenze SSR, sarebbe auspicabile verificare un loro utilizzo negli oli d'oliva, giacché l'analisi può essere effettuata, grazie alla piccola dimensione dei frammenti ottenuti (100-350 bp), anche su DNA degradato, quale quello estraibile dall'olio. Inoltre essendo il pattern d'amplificazione più semplice di quello ottenibile con tecniche RAPD e AFLP, l'analisi dei microsatelliti sarebbe anche applicabile a miscele derivanti da 3-4 cultivar diverse, quali appunto quelle previste nei disciplinari degli oli DOP.

L'obiettivo della ricerca proposta è quello di realizzare un fingerprinting varietale in olivo e condurre una analisi di tracciabilità varietale in oli di oliva mediante marcatori molecolari SSR e AFLP. Particolare attenzione sarà rivolta alle varietà inserite nei disciplinari di produzione degli oli extravergine DOP "Terra di Bari" e "Terra d'Otranto".

Piano di attività

Sarà esaminato un set di varietà di olivo da olio, da mensa e a duplice attitudine, composto da alcune varietà di riferimento italiane e dalle principali varietà pugliesi. Il materiale, sarà opportunamente selezionato (cloni provenienti da campi di confronto con idonee caratteristiche agronomiche rispondenti allo standard varietale), le piante saranno contraddistinte e costituiranno il solo materiale di riferimento per la caratterizzazione genetica. Tra le varietà pugliesi saranno analizzate con particolare attenzione quelle inserite nei disciplinari di produzione degli oli DOP "Terra di Bari" e "Terra d'Otranto": Coratina,

Ogliarola Salentina e Cellina di Nardò. Dalle varietà selezionate sarà estratto il DNA ed analizzato con marcatori molecolari appositamente selezionati.

Le metodologie usate saranno basate sull'analisi di marcatori del DNA, in particolare gli SSR, al fine di rilevare un elevato numero di loci polimorfici. I marcatori SSR (Tautz, 1989) sono costituiti da sequenze ripetute di-trinucleotidiche di dimensioni generalmente comprese tra 200-300 bp disperse nel genoma, presentano un profilo di amplificazione piuttosto semplice e sono caratterizzati da una buona riproducibilità, da una discreta semplicità di utilizzo e da un buon livello di polimorfismo. Nell'ottica di uniformare i dati ottenuti e di consentire una diffusione ed una riproducibilità degli stessi sull'intero territorio nazionale, la rilevazione dei polimorfismi forniti dall'analisi molecolare sarà effettuata con l'analisi di frammenti realizzata con il Sequenziatore automatico disponibile presso questa Unità Operativa. L'adozione di un sistema automatico della lettura dei dati consentirà di ottenere informazioni più precise e attendibili. Gli elettroferogrammi ottenuti dall'analisi con il sequenziatore, saranno analizzati con il software Gene Mapper. Il peso molecolare dei frammenti amplificati verrà rilevato mediante confronto con un "size standard Rox 500". I dati ottenuti saranno elaborati con l'utilizzo di software statistici quali Genealex, Philip o Ntsys per la messa a punto di una chiave identificativa.

Ai fini del conseguimento di una tracciabilità di filiera e sulla base di esperienze precedentemente acquisite da questa Unità Operativa, sarà effettuata una identificazione molecolare con marcatori di tipo microsatellite di oli monovarietali e oli "DOP". Dieci chilogrammi di olive di 5 varietà pugliesi (Coratina, Ogliarola Barese, Cellina di Nardò, S. Agostino, Termite di Bitetto) saranno raccolti e franti. Il DNA sarà estratto dagli oli monovarietali, e analizzato con i marcatori di tipo microsatellite. Tra i marcatori disponibili, saranno utilizzati quelli a singolo locus, multiallelici e con alto potere di discriminazione.

I marcatori così individuati, saranno saggiati sugli oli monovarietali ottenuti al fine di

costituire una chiave identificativa basata sul minimo numero di marcatori. La scelta dei marcatori sarà effettuata anche in funzione della possibilità di condurre esperimenti in “multiplex PCR” sul DNA estratto da olio.

Parallelamente alla ricerca sugli oli monovarietali verranno analizzati anche oli a marchio DOP. In particolare saranno esaminati i due oli DOP “Terra di Bari” e “Terra d’Otranto”. Dal prodotto commerciale sarà estratto il DNA e verificata l’identità della cultivar principale riportata dal disciplinare di produzione con i marcatori microsatelliti precedentemente utilizzati per caratterizzare gli oli monovarietali. L’applicazione dei marcatori molecolari, fornirà un metodo di indagine accurato del materiale vegetale di partenza e del prodotto finito permettendo controlli incrociati su tutta la filiera olearia DOP.

Al termine, dopo breve discussione, il Consiglio approva all’unanimità.

Si passa a discutere il quinto punto all’O.d.G.:

5. Valutazione dell’attività scientifica della dott.ssa Cinzia Montemurro per la conferma nel ruolo di ricercatore, settore scientifico-disciplinare AGR/7: Genetica Agraria

Il Direttore, prima di avviare la discussione del presente punto all’O.d.G., fa rilevare che la dott.ssa Montemurro alle ore 11.45 esce dall’aula.

Il Direttore introduce l’argomento dando lettura della nota Prot. 18783 del 3/3/2008 del Dip. Gestione Risorse Umane – Settore I Ricercatori e del curriculum ed elenco di pubblicazioni presentato dal Dott. Spagnolo.

La dott.ssa Cinzia Montemurro è risultata vincitrice del concorso a n. 1 posto di ricercatore universitario del raggruppamento AGR07, preso la facoltà di Scienze Biotecnologiche dell’Università di Bari, con decreto rettorale n. 2122 del 25/02/05 e pubblicazione sulla GU 4a serie speciale n. 23 del 22/03/05.

La dott.ssa Cinzia Montemurro è stata nominata ricercatore in data 28/02/05 con D.R. 2196, ed ha assunto effettivo servizio il 7/03/05. Dal 31/03/05 è stata ufficializzata la sua

afferenza al Dipartimento di Biologia Agro-forestale ed Ambientale dell'università di Bari.

Durante il triennio 2005-2008, ha partecipato attivamente all'attività didattica e scientifica del Dipartimento e della Facoltà.

Per quanto riguarda l'attività scientifica ha svolto ricerche, attualmente in corso, inerenti diversi aspetti della genetica agraria:

- 1) Studio degli elementi trasponibili endogeni del mais (Ac/Ds) nei frumenti selvatici e coltivati.
- 2) Identificazione e caratterizzazione varietale in olivo mediante marcatori molecolari SSR ed AFLP.
- 3) Tracciabilità e rintracciabilità alimentare nella filiera cerealicola ed olivicola mediante tecnologie molecolari.
- 4) Applicazione delle tecniche di coltura in vitro di embrioni di olivo per l'ottenimento di popolazioni segreganti F1 utili per lo sviluppo di mappe genetiche.
- 5) Trasformazione genetica di varietà di frumento duro mediante l'utilizzo dell'*Agrobacterium tumefaciens*.
- 6) Analisi mediante marcatori AFLP della variabilità somaclonale in cloni di *Helicrysum italicum* indotta da rigenerazione diretta ed indiretta di meristemi in vitro.
- 7) Costituzione di una popolazione M2 di girasole per lo sviluppo di una piattaforma TILLING per la variazione della composizione in acidi grassi dell'olio vegetale.

I risultati dell'attività scientifica sinteticamente descritta sono documentati dall'elenco delle pubblicazioni a carattere sperimentale di seguito allegato.

La dott.ssa Cinzia Montemurro ha partecipato, in qualità di componente delle unità di ricerca a diversi progetti scientifici, nel triennio 2005-2008:

- 1) Programma Interregionale (Regione Puglia) per la Qualificazione del Vivaismo

Olivicolo (OLVIVA);

- 2) Programma ministeriale MIUR-FISR per la caratterizzazione valorizzazione della granella e degli alimenti derivati del frumento duro.
- 3) Programma ministeriale MIPA-AGROGEN per l'identificazione e mappatura di nuovi alleli per componenti della qualità della granella
- 4) Nel 2007 la dott.ssa Cinzia Montemurro ha ricevuto un finanziamento di ateneo come contributo per il Programma Prin 2006, del quale era responsabile scientifico di Unità di Ricerca dal titolo: "Strategie genetiche ed agronomiche per il miglioramento delle produzioni di specie oleaginose per fini energetici alternativi in ambiente Mediterraneo".

Da maggio 2005 al gennaio 2007 partecipa come "Italian Expert" al Progetto di Cooperazione Internazionale finanziato dal Ministero degli Affari Esteri Italiano dal titolo: "Technical Assistance for the Improvement of Olive oil Quality in Syria". Nell'ambito del progetto ha curato la formazione di personale siriano al fine di acquisire conoscenze di biologia molecolare dell'olivo. Sono stati realizzati numerosi stages in Italia e in Siria e si è provveduto alla realizzazione di un laboratorio di biologia molecolare in Siria presso il GCSAR di Aleppo.

Il Consiglio, unanime, valutando pienamente soddisfacente l'attività di ricerca svolta dalla dott.ssa Montemurro esprime parere favorevole alla sua conferma nel ruolo di ricercatore, settore scientifico-disciplinare AGR/07: Genetica Agraria.

Alle ore 11.55 rientra in aula la dott.ssa Cinzia Montemurro.

Si passa a discutere il sesto punto all'O.d.G.:

6. Nomina Coordinatore Sezione Entomologia e Zoologia

Il Direttore sottopone all'attenzione del Consiglio una nota del prof. Enrico de Lillo, con la quale, rimette il mandato di coordinatore della Sezione di Entomologia e Zoologia.

Il Consiglio unanime esprime apprezzamento per il lavoro fin qui svolto dal prof. de Lillo e individua nella persona del prof. Eustachio Tarasco il nuovo coordinatore della Sezione di Entomologia e Zoologia.

Si passa a discutere il settimo punto all'O.d.G.:

7. Autorizzazione alla stipula di contratti d'opera

Non ci sono proposte di stipula di contratti.

Si passa a discutere l'ottavo punto all'O.d.G.:

8. Varie ed eventuali

Non ci sono argomenti in discussione.

Non essendovi altri argomenti in discussione il Presidente dichiara conclusa la seduta. Il Consiglio si scioglie alle ore 12:00

Il presente verbale è letto, approvato e sottoscritto seduta stante.

Il Segretario
rag. Attilio Davide Mazzacane

Il Presidente
prof. Nicola Senesi