



Regione Toscana

AGROBIODIVERSITÀ

CICLO DI INCONTRI SULLA BIODIVERSITÀ

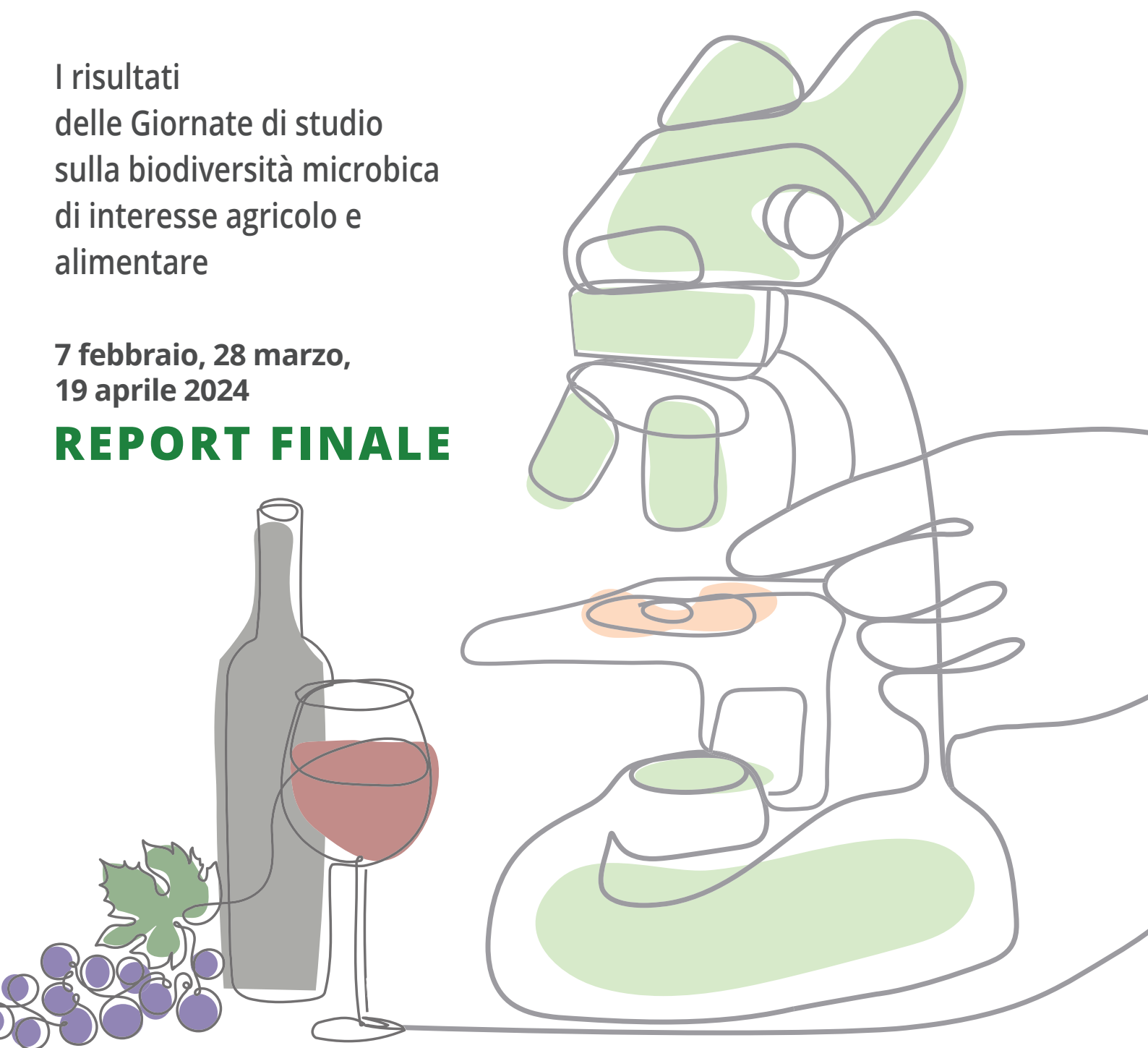
MICROBICA DI INTERESSE AGRICOLO E

ALIMENTARE

I risultati
delle Giornate di studio
sulla biodiversità microbica
di interesse agricolo e
alimentare

7 febbraio, 28 marzo,
19 aprile 2024

REPORT FINALE





Ciclo di incontri sulla biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare

7 febbraio, 28 marzo, 19 aprile 2024

LA PAROLA A

**I Nuclei di valutazione e alle Commissioni tecnico-scientifiche
delle Regioni e PP.AA. d'Italia**

**I risultati delle Giornate di studio sulla biodiversità
microbica di interesse agricolo e alimentare**

REPORT FINALE

Evento

Agrobiodiversità

Ciclo di incontri sulla biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare

7 febbraio 2024, Incontro preliminare tra le Regioni e PP.AA. dotate di Nuclei di Valutazione o di Commissioni tecnico-scientifiche (artt. 4 e 5 del DM 1862 del 18/01/2018, L. 194/2015).

Videoconferenza.

28 marzo 2024, La parola ai Nuclei di Valutazione e alle Commissioni tecnico-scientifiche delle Regioni e PP.AA. d'Italia - Giornata studio. Videoconferenza.

19 aprile 2024, I risultati finali delle Giornate di studio sulla biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare - Sala Pegaso, Palazzo Guadagni Strozzi Sacratì, piazza Duomo n. 10 - Firenze

Evento realizzato da Regione Toscana

Assessorato Agricoltura e Sviluppo rurale

Direzione Agricoltura e Sviluppo Rurale, Regione Toscana

A cura di Rita Turchi e Daniele Visconti, Regione Toscana

Coordinamento editoriale e progetto grafico di

Settore Comunicazione, Cerimoniale ed Eventi

Regione Toscana

Direttore Paolo Ciampi

Edito da

Regione Toscana

Catalogazione nella pubblicazione (CIP) a cura della

Agrobiodiversità : ciclo di incontri sulla biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare, i risultati delle giornate di studio sulla biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare, 7 febbraio, 28 marzo, 19 aprile 2024 : report finale / a cura di Rita Turchi e Daniele Visconti ; presentazione di Eugenio Giani ; prefazione di Stefania Saccardi. - Firenze : Regione Toscana, 2024
1. Turchi, Rita 2. Visconti, Daniele 3. Giani, Eugenio 4. Saccardi, Stefania
333.9516

Biodiversità - Tutela - Atti di congressi – E-book

ISBN 09788870401646

Si ringraziano

per il prezioso contributo offerto, tutte le **Regioni e le Province Autonome d'Italia** che hanno permesso il realizzarsi dell'iniziativa attraverso il coinvolgimento dei relatori intervenuti, autori dei testi riportati.

Un particolare ringraziamento

al **Ministero dell'agricoltura, della sovranità alimentare e delle foreste** per la concessione del **Patrocinio** all'iniziata.

Sommario

PRESENTAZIONE	7
PREFAZIONE	8
INTRODUZIONE	9
Lo scenario di questo Ciclo di incontri	9
Quale è il problema?	11
Finalità e obiettivi di questo Ciclo di incontri	12
Modalità di lavoro	12
LE TRACCE DI LAVORO DEI 3 INCONTRI SULLA BIODIVERSITÀ MICROBICA DI INTERESSE AGRICOLO E ALIMENTARE	13
7 febbraio 2024 - Incontro preliminare tra le Regioni e PP.AA.	13
28 marzo 2024	13
19 aprile 2024 – convegno finale	15
LE RELAZIONI DELLE REGIONI E PROVINCE AUTONOME ATTIVE NELL'ATTUAZIONE DELLA L. 194/2015, 7 febbraio e 28 marzo 2024	17
ABRUZZO	17
Agostino Sacchetti, Regione Abruzzo su testi rivisti dall'Università dell'Aquila, Sezione di Scienze Ambientali e Università di Teramo, Dipartimento di Bioscienze e Tecnologie Agroalimentari e Ambientali	17
Rosanna Tofalo, Dipartimento di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo	21
Maddalena Del Gallo, Dipartimento di Medicina clinica, Sanità pubblica, Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università degli Studi dell'Aquila	26
CAMPANIA	29
Massimo Zaccardelli, CREA Centro di ricerca Orticoltura e Florovivaismo, sede di Pontecagnano (SA)	29
LAZIO	33
Alessandra Bianchi, Regione Lazio	33
Gianluigi Mauriello, Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Napoli	33
LOMBARDIA	34
Laura Ronchi e Patrizia Riccobene, Regione Lombardia	34
Milena Brasca, CNR Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari	35
MARCHE	42
Ambra Micheletti, Agenzia per l'Innovazione nel Settore Agroalimentare e della Pesca "Marche Agricoltura Pesca" (AMAP)	42

PIEMONTE	43
Nadia Ansaldi, Regione Piemonte	43
Giovanna Cristina Varese, Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi, Università di Torino	44
PUGLIA	52
Anna Maria Cilardi, Regione Puglia	52
Antonio Moretti, Direttore del CNR – Istituto di scienze delle produzioni alimentari (ISPA) di Bari e Giancarlo Perrone, responsabile scientifico della collezione ISPA.....	52
SARDEGNA	55
Roberta Comunian, AGRIS Sardegna.....	55
UMBRIA	66
Mauro Gramaccia, Parco 3A Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria (3APTA)	66
Gianluigi Cardinali, Dipartimento di Scienze Farmaceutiche- Microbiologia- Università degli Studi di Perugia.....	70
VENETO	79
Andrea Squartini, Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente, DAFNAE, Università di Padova	79
Paola De Dea, Istituto per la Qualità e le Tecnologie Agroalimentari di Thiene (VI) di Veneto Agricoltura, componente del Nucleo di Valutazione della Regione Veneto	81
DISCUSSIONE	87
Antonio Moretti, Direttore del CNR – Istituto di scienze delle produzioni alimentari (ISPA) di Bari	87
Giovanna Cristina Varese, Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi, Università di Torino	87
Gianluigi Mauriello, Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Napoli	88
Roberta Comunian, AGRIS Sardegna.....	88
Rosanna Tofalo, Dipartimento di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo	90
Giovanna Cristina Varese, Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi, Università di Torino	90
Antonella Rocchi, Regione Sardegna	91
Gianluigi Cardinali, Dipartimento di scienze farmaceutiche, Corso di Dottorato in Biotecnologie, Università degli Studi di Perugia	92
PRIME SINTESI - INTERVENTI DEL CONVEGNO FINALE, 19 aprile 2024	93
Mauro Gramaccia, Parco 3A Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria (3APTA)	93
Antonio Moretti, Direttore del CNR – Istituto di scienze delle produzioni alimentari (ISPA) di Bari e Giancarlo Perrone, responsabile scientifico della collezione ISPA.....	97

Giovanna Cristina Varese, Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi, Università degli Studi di Torino.....	108
Gianluigi Cardinali, Dipartimento di Scienze Farmaceutiche- Microbiologia- Università degli Studi di Perugia.....	121
ALTRI INTERVENTI E DISCUSSIONE.....	131
Roberta Comunian, AGRIS Sardegna.....	131
Gianluigi Cardinali, Dipartimento di Scienze Farmaceutiche - Università degli Studi di Perugia.	133
I PRINCIPALI RIFERIMENTI NORMATIVI E SITOGRAFIA	134

PRESENTAZIONE

Spesso si parla di biodiversità in relazione all'attività agricola, soprattutto dell'erosione genetica delle piante coltivate e del rischio di scomparsa di animali allevati, utili all'uomo; è raro invece, parlare di perdita di biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare. Un tema che sta emergendo negli ultimi tempi, legato alla scomparsa dei metodi tradizionali di produzione agricola (biodiversità del suolo), ma anche dei metodi tradizionali di trasformazione agroalimentare dei prodotti enologici, lattiero-caseari, dolciari, della panificazione, salumi, birra, ecc.

L'attuale necessità dell'industria agroalimentare di adottare processi produttivi sempre più veloci, costanti, di qualità elevata e con attrezzature e metodi giustamente rispettosi delle attuali norme igienico-sanitarie, ha imposto l'utilizzo sempre maggiore di starter microbici, selezionati e commerciali, a discapito di quelli autoctoni, locali. Pertanto si sta facendo sempre più strada l'uso massiccio di starter commerciali per l'avvio dei loro processi di trasformazione agroalimentare (vino, birra, latte, farina, ecc.).

Questo è un problema particolarmente sentito dai Consorzi di tutela (DOP, IGP e PAT) i quali ricorrono sempre più spesso alle strutture scientifiche abilitate, per la conservazione delle cosiddette "paste madri" capaci di attivare il processo di trasformazione necessario per ottenere i prodotti tipici tutelati con le caratteristiche qualitative che li hanno da sempre caratterizzati nel tempo.

Il ciclo di incontri oggetto di questo Report, che ha visto la partecipazione di dieci Regioni d'Italia già impegnate nella tutela della biodiversità animale e vegetale di interesse agricolo e alimentare, si è rivelato uno strumento importante sia per l'individuazione degli obiettivi della tutela dell'agrobiodiversità microbica nell'ambito degli obiettivi posti dal Piano Strategico della PAC 2023/2027, sia per la definizione del futuro Piano Nazionale della Biodiversità di interesse Agricolo e Alimentare della L. 194/2015.

In coerenza con gli obiettivi di questa Amministrazione il presente lavoro risulta un interessante approfondimento dei meccanismi che naturalmente facevano parte della cultura e della tradizione della trasformazione dei prodotti della Toscana e dei quali dobbiamo garantire la specificità e la qualità attraverso una tradizione che si rinnova con la conoscenza.

Il Presidente della Regione Toscana
Eugenio Giani

PREFAZIONE

“Biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare” o “agrodiversità microbica”: sembra una nuova frontiera da raggiungere. Eppure la nostra vita è molto condizionata dai microbi, termine che non ha solo un’accezione negativa, presenti nel nostro corpo e nell’ambiente circostante, così come sono presenti nei vegetali e negli animali di interesse agricolo e alimentare. Ma perché occuparsi anche dell’agrodiversità microbica. E poi cosa sono questi “microbi buoni” che dovremmo tutelare, dove li troviamo: questi punti hanno rappresentato il filo conduttore che hanno seguito le Regioni e le Province Autonome durante i tre incontri (7 febbraio, 28 marzo e 19 aprile 2024) organizzati dalla Regione Toscana per affrontare la materia insieme a 18 esperti del settore.

A confronto, 11 scienziati di tutti i più importanti Centri Universitari, del CNR e del CREA e tutti gli esperti tecnici delle Regioni e delle Province Autonome d’Italia.

Batteri, lieviti, funghi filamentosi, microalghe e virus: per la maggior parte invisibili ad occhio nudo, tutti sono importanti per la vita sul pianeta ed occorre distinguere quelli pericolosi da quelli “buoni”. Tra questi ultimi, ci sono quelli che attivano le fermentazioni permettendo di avere prodotti alimentari di eccellenza come le DOP, le IGP e i Prodotti Tradizionali Agroalimentari, espressione anche culturale dei vari territori. Dunque le principali caratteristiche organolettiche e nutraceutiche di un alimento sono caratterizzate anche dalla presenza di un particolare “bioma” rispetto ad altri.

Le industrie agroalimentari ricorrono sempre più spesso all’uso di starter commerciali per l’attivazione dei processi produttivi dei propri prodotti trasformati (vino, prodotti lattiero-caseari, birra, pane, dolci, salumi, pasta, aceto, ecc.) abbandonando le “paste madri” che richiedono impegno, attenzione, tempo e particolare cura di esperti, nella conservazione e nel mantenimento.

Gli starter commerciali, selezionati appositamente perché funzionino in qualsiasi luogo e in modo veloce ed efficiente, rischiano la standardizzazione delle produzioni a discapito della tipicità e della tradizione agroalimentare di un territorio. Ecco perché numerosi Consorzi di tutela delle maggiori DOP e IGP hanno attivato, presso centri scientifici specializzati, la conservazione dei propri starter locali, tipici.

Anche la biodiversità microbica del suolo è molto importante per la qualità delle produzioni e la quantità: un terreno fertile è ricco di biodiversità microbica.

E’ dunque una nuova frontiera quella della tutela della biodiversità microbica, in particolare per un territorio ricco di prodotti di alta qualità come è la Toscana, una frontiera da guardare con attenzione e che forse richiederà strumenti appositamente definiti allo scopo, soprattutto a livello nazionale.

La Vicepresidente e
Assessora all’Agro-alimentare, caccia e pesca
Stefania Saccardi

INTRODUZIONE

Rita Turchi, Regione Toscana

Lo scenario di questo Ciclo di incontri

A partire dal 1997 alcune Regioni italiane hanno legiferato in materia di tutela del proprio patrimonio di razze e varietà locali, con la seguente scansione temporale:

1. Legge regionale della Toscana n. 50/1997 sostituita dalla n. 64/2004;
2. Legge regionale del Lazio n. 15/2000;
3. Legge regionale dell'Umbria n. 25/2001;
4. Legge regionale del Friuli Venezia Giulia n. 11/2002;
5. Legge regionale delle Marche n. 12/2003;
6. Regolamento della Campania n. 6/2012 di attuazione dell'articolo n. 33 della legge regionale n. 1/2007;
7. Legge regionale dell'Emilia Romagna n. 1/2008;
8. Legge regionale della Basilicata n. 26/2008;
9. Legge regionale Sicilia n. 19/2013;
10. Legge regionale della Puglia n. 39/2013;
11. Legge regionale della Sardegna n. 16/2014;
12. Legge regionale della Calabria n. 14/2018.

Dal 1° dicembre 2015 è entrata in vigore la Legge dello Stato n. 194 *Disposizioni per la tutela e la valorizzazione della biodiversità di interesse agricolo e alimentare*. Lo schema n. 1 che segue riporta la rappresentazione del sistema nazionale istituito dalla Legge.

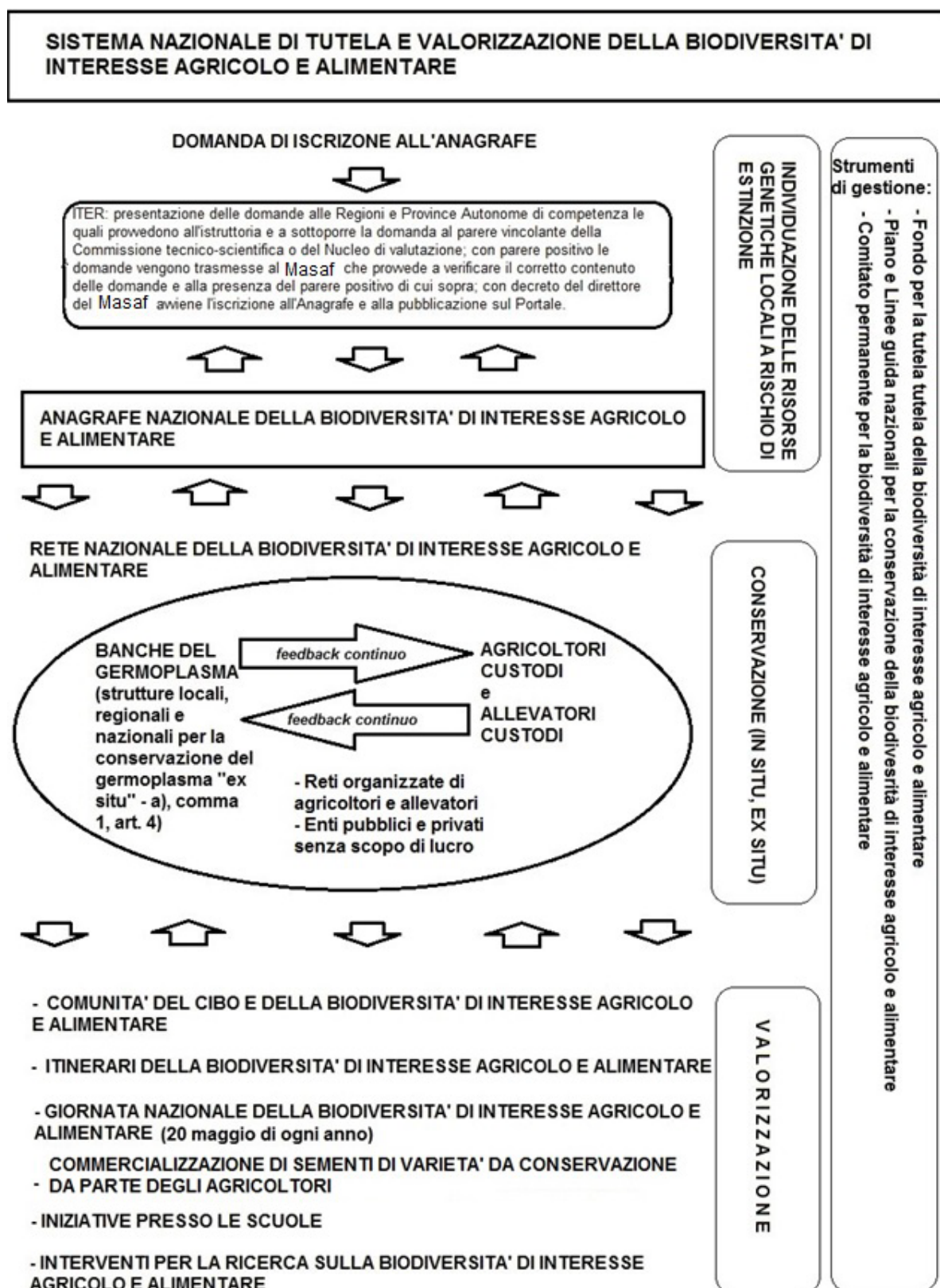
Molte Regioni, come Abruzzo, Liguria, Lombardia, Piemonte e Veneto, si sono avvalse direttamente della legge nazionale per attivare un sistema regionale di tutela e valorizzazione dell'agrobiodiversità del proprio territorio.

Il sistema nazionale si pone in modo complementare ai sistemi regionali già vigenti, facendo intravedere una coesistenza non solo possibile, ma con importanti sinergie. Infatti, la prossimità al territorio del sistema regionale rispetto a quello nazionale garantisce una migliore conoscenza delle risorse genetiche ad esso legate, mentre la possibilità di accedere ad una visione più ampia di quella locale offerta dal sistema nazionale potrebbe, se ben coordinato e gestito, portare ad importanti risultati a tutti i livelli.

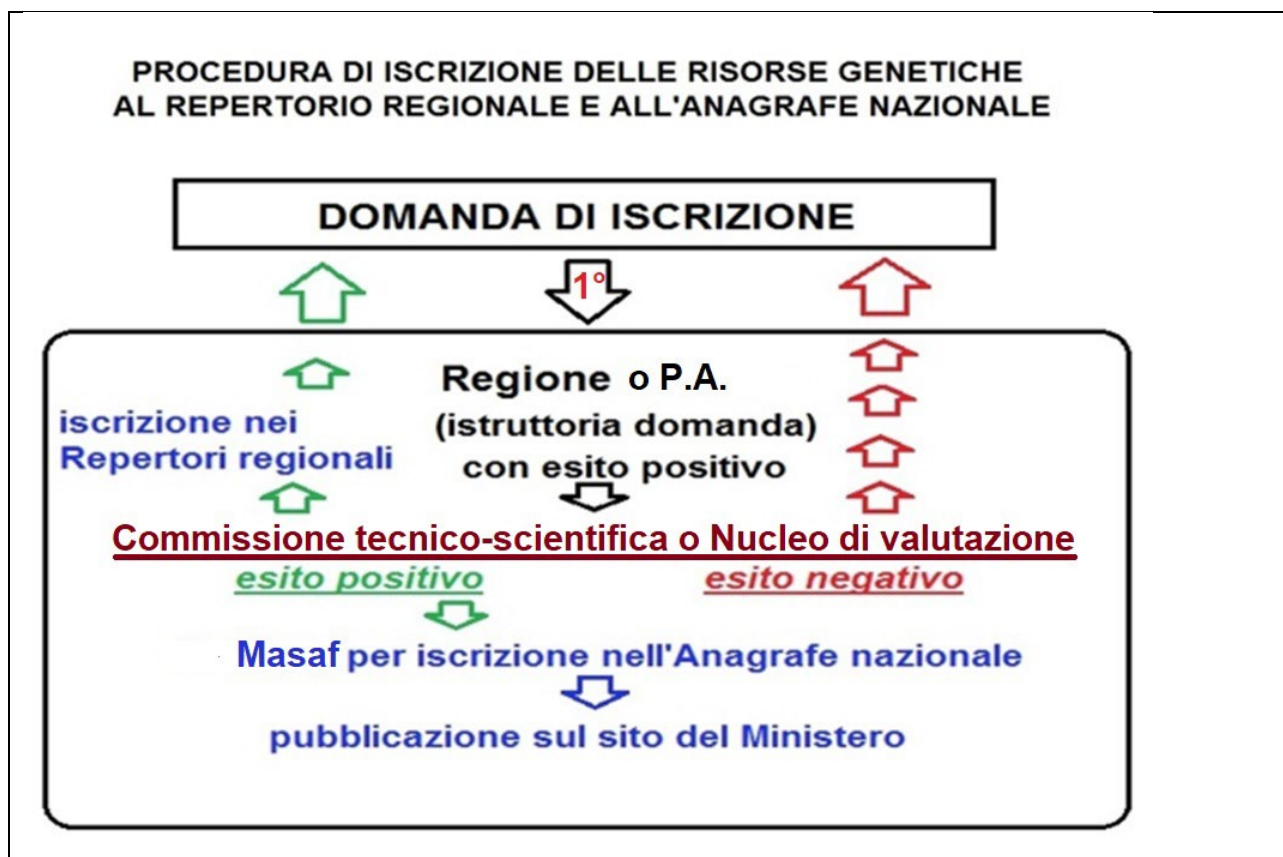
Lo strumento centrale del sistema nazionale, del tutto simile ai registri/repertori regionali là dove esistono, è l'*Anagrafe nazionale della biodiversità di interesse agricolo e alimentare* (art. 3, L. 194/2015). Le risorse genetiche locali a rischio di estinzione vi accedono per iscrizione, il cui procedimento è illustrato nello schema 2.

Per l'iscrizione delle risorse genetiche all'Anagrafe nazionale occorre che le stesse vengano sottoposte a valutazione di una Commissione tecnico-scientifica (per le Regioni che ne sono dotate) o da un Nucleo di valutazione, così come previsto dall'art. 5 del DM n.1862/2018 che stabilisce le modalità di funzionamento dell'Anagrafe nazionale.

Schema 1 – Il sistema istituito dalla L. 194/2015.



Schema 2 – Procedimento per iscrizione di una risorsa genetica all'Anagrafe nazionale.



Quale è il problema?

Il problema della biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare è stato sollevato principalmente dal comma 2 dell'Articolo 3 della Legge 194/2015 che istituisce l'“*Anagrafe nazionale della biodiversità di interesse agricolo e alimentare*” e che prevede che nell'Anagrafe stesso siano iscritte “...*tutte le risorse genetiche di interesse alimentare ed agrario locali di origine vegetale, animale o microbica soggette a rischio di estinzione o di erosione genetica*”. Questo punto, che rappresenta una novità nel campo dell'attuale normativa, sia nazionale che regionale, solleva 3 importanti problematiche:

1. la tutela della biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare: un tema che deve essere affrontato per la prima volta a livello nazionale e in quasi tutte le Regioni e PP.AA. d'Italia;
2. le risorse genetiche *microbiche* (quali?: ceppo, consorzio, bioma) di interesse alimentare ed agrario locali di origine microbica possono essere iscritte nell'Anagrafe nazionale, la quale è nata fondamentalmente per le risorse genetiche vegetali e animali, cioè per risorse genetiche visibili, distinguibili da tutti e stabili almeno per un certo periodo di tempo; queste sono tutte caratteristiche che non sono peculiari dei microbi, che invece sono invisibili ad occhio nudo, per cui occorre un esperto scientifico che adotta anche particolari precauzioni per poterli vedere e distinguere; si riproducono in poche ore anche in quantità molto elevata; sono instabili anche a basse temperature, fino a -80°C circa. Quindi che presentano molte difficoltà ad essere catalogate in un sistema come l'Anagrafe nazionale o peggio conservate come lo si può fare con delle risorse genetiche vegetali.

3. le risorse genetiche microbiche devono essere “*a rischio di estinzione o di erosione genetica*” per potere essere prese in considerazione: ma come si fa a calcolare questo rischio per i microbi? Questo Ciclo di incontri ha dimostrato che non è possibile farlo.

Finalità e obiettivi di questo Ciclo di incontri

La Regione Toscana opera nel campo della tutela dell'agrobiodiversità dal 1997, anno di emanazione della prima legge regionale sul tema, ma ad oggi non ha praticamente mai affrontato il problema della tutela della biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare.

In questo periodo, in vista:

- dell'imminente attuazione degli Interventi di Sviluppo Rurale (SRA16 o ACA16) relativi al sostegno per la conservazione, l'uso sostenibile e lo sviluppo delle risorse genetiche in agricoltura a tutela e valorizzazione dell'agrobiodiversità, del Piano Strategico della PAC (PSP), programmazione dello sviluppo rurale 2023/2027;
- della scrittura del Piano Nazionale della Biodiversità di interesse Agricolo e Alimentare (PNBAA) della L. 194/2015, già attivata dal Ministero tramite la nomina dell'apposito Comitato Tecnico Scientifico e attualmente in fase di avvio dei lavori;
- del conseguente aggiornamento delle *Linee guida nazionali per la conservazione della biodiversità di interesse agricolo e alimentare* che furono approvate con il Decreto Ministeriale del 12 luglio 2012.

la Regione Toscana ha voluto organizzare un Ciclo di incontri dedicati all'agrobiodiversità microbica alla presenza dei maggiori esperti nazionali e internazionali della materia, proprio per tentare di dare una risposta ai quesiti che si sono posti con l'avvento della L. 194/2015.

Il Ciclo di incontri si è realizzato nei seguenti momenti:

- 7 febbraio 2024: incontro preliminare, in videoconferenza, tra le Regioni e le Province Autonome dotate di un Nucleo di valutazione o di una Commissione tecnico-scientifica di cui agli artt. 4, 5 e 6 del Decreto Ministeriale n. 1862 del 18/01/2018, L. 194/2015.
Scopo: condividere gli obiettivi e definire il metodo di lavoro per un confronto costruttivo, utile ed efficace per tutti;
- 28 marzo 2024: Giornata di lavoro, in videoconferenza tra gli esperti di biodiversità microbica, componenti dei Nuclei di valutazione o delle Commissioni tecnico-scientifiche delle 17 Regioni e della Provincia Autonoma di Trento che se ne sono dotate;
- 19 aprile 2024: Convegno finale (in presenza, in videoconferenza e diretta-streaming) di presentazione dei risultati finali dei lavori - Sala Pegaso, Palazzo Strozzi Sacratì, Piazza Duomo n. 10, Firenze.

Modalità di lavoro

I 3 incontri avevano come struttura portante una “Traccia di lavoro” a cui tutti i partecipanti ai lavori, sono stati invitati a seguire.

Il Report è organizzato per interventi distinti per Regioni e Province Autonome.

LE TRACCE DI LAVORO DEI 3 INCONTRI SULLA BIODIVERSITÀ MICROBICA DI INTERESSE AGRICOLO E ALIMENTARE

7 febbraio 2024 - Incontro preliminare tra le Regioni e PP.AA.

Regioni e PPAA dotate di Nuclei di valutazione o di Commissioni tecnico-scientifiche (N/C)
videoconferenza

Partecipanti

Solo Regioni e Province Autonome

Finalità

Organizzare al meglio le Giornate di studio del 28 febbraio 2024 sulle risorse genetiche animali e del 15 marzo 2024 per la biodiversità microbica, con i Nuclei di valutazione (N) e le Commissioni tecnico-scientifiche (C) affinché si verifichi un proficuo scambio e confronto di esperienze.

TRACCIA DEI LAVORI

a) SULLE RISORSE GENETICHE ANIMALI A RISCHIO DI ESTINZIONE

1. Quali e quante sono le razze autoctone animali a rischio di estinzione della propria regione o provincia autonoma? (solo elenco dei nomi, distinti in specie) e quali sono sostenute dall'Intervento SRA14?
2. La Regione/Provincia A. ha attivato in passato la Sottomisura 10.2 o l'attuale SRA16, per le razze animali? Se sì, quali progetti ha attivato e per quali razze? (solo enumerazione e obiettivi in breve)
3. Quali sono i principali problemi rilevati per il recupero, mantenimento, conservazione e valorizzazione delle razze autoctone animali a rischio di estinzione?
4. Quali sono i principali problemi che dovrebbero essere affrontati dalle Commissioni/Nuclei di valutazione in merito alle risorse genetiche autoctone animali a rischio di estinzione?
5. Quali principali progetti dovrebbero essere attivati, sia a livello della Vs. Regione/PA sia a livello nazionale, se del caso?

b) SULLE RISORSE GENETICHE MICROBICHE DI INTERESSE AGRICOLO E ALIMENTARE

1. La Regione/Provincia A. ha affrontato il problema? Se sì, quali iniziative ha preso?
2. Esiste o no il rischio di estinzione nelle risorse genetiche microbiche di interesse agricolo e alimentare? Se sì, come è stato calcolato? Se no, perché allora se ne parla tanto e che cosa realmente interessa?
3. Quali principali progetti dovrebbero essere attivati, sia a livello della Vs. Regione/PA sia a livello nazionale, se del caso?

28 marzo 2024

Ciclo di incontri sull'Agrobiodiversità

La parola ai Nuclei di valutazione e alle Commissioni tecnico-scientifiche delle Regioni e PP.AA. d'Italia

**Giornata di studio sulla biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare
in videoconferenza, registrata per permettere la sbobinatura successiva e la preparazione di un
report finale
28 marzo 2024**

Partecipanti

Regioni e PP.AA., componenti dei Nuclei di valutazione e delle Commissioni, tutti gli esperti che le Regioni e le PP.AA. hanno ritenuto opportuno far partecipare (responsabili di banche del germoplasma, ex-componenti delle Commissioni, ecc.) e i membri esperti per la materia, del

Comitato Tecnico-Scientifico nominato dal MASAF per la scrittura del Piano Nazionale della Biodiversità di interesse Agricolo e Alimentare della L. 194/2015.

Obiettivo

Scambio di esperienze e di soluzioni alle varie problematiche riscontrate per rendere quanto più possibile condivisa ed omogenea l'applicazione dei criteri e le valutazioni in materia di biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare.

TRACCIA DI LAVORO

Quesiti di maggiore interesse messi a punto dalle Regioni presenti nel Comitato permanente per la biodiversità di interesse agricolo e alimentare della L. 194/2015 e dalle 18 Regioni e PP.AA. che sono dotate di una Commissione o un Nucleo di valutazione.

1. Biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare: terreno e trasformazione dei prodotti (enologici, lattiero-caseari, panificazione) e ... Lieviti, batteri e ... La risorsa genetica ovvero ceppi, popolazioni e cosa altro? Terminologia. Chi è e come si chiama il corrispondente "Agricoltore/Allevatore Custode"? E chi fa la conservazione? I protagonisti di un sistema di conservazione e tutela della biodiversità microbica: descrizione.
2. Le fasi di tutela dell'agrobiodiversità:
 - a. individuazione della risorsa genetica;
 - b. caratterizzazione;
 - c. conservazione;
 - d. valorizzazione e reintroduzione sul territorio.

Come queste fasi si realizzano nel caso dei microrganismi?

3. Rischio di estinzione o di erosione genetica: esiste anche per i microrganismi? "Rischio di sostituzione" o in senso positivo "Ceppi di interesse"? Perché?
4. Individuazione della risorsa genetica: quanto dipende dall'ambiente (terreno o ambiente di lavorazione) e quanto invece è oggettivamente espresso dai microrganismi oggetto di segnalazione?
5. Caratterizzazione di una risorsa genetica: quali sono i metodi più affidabili e i costi relativi?
6. Conservazione della risorsa genetica: come si fa? Quanto dura nel tempo? E' vero che alcuni microrganismi mutano anche in crioconservazione? Chi può fare conservazione? Come si possono controllare?
7. Valorizzazione e reintroduzione sul territorio: come si fa e con quali strumenti/azioni. Rischi e problematiche legate. La grande industria agroalimentare: una risorsa o anche un rischio per la biodiversità microbica?
8. Illustrazione in breve, di un caso studio emblematico, dei punti fin qui toccati.
9. Può essere utile al lavoro di tutti, realizzare in modo periodico, un momento di confronto con gli altri esperti di specie frutticole presenti nelle altre Commissioni/Nuclei di valutazione? Se sì, per quali tematiche in particolare?
10. Quali principali progetti dovrebbero essere attivati, sia a livello della Vs. Regione/PA sia a livello nazionale o interregionale?

19 aprile 2024 – convegno finale
Ciclo di incontri sull'Agrobiodiversità microbica

I risultati finali
delle Giornate di studio sulla biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare
Sala Pegaso, Palazzo Guadagni Strozzi Sacratì, piazza Duomo n. 10 - Firenze

Live: <https://www.youtube.com/watch?v=X7S8JiQUwMI>

La Regione Toscana, con il patrocinio del Ministero dell'agricoltura, della sovranità alimentare e delle foreste (MASAF) e grazie alla collaborazione delle Regioni presenti nel Comitato permanente per la biodiversità di interesse agricolo e alimentare (Calabria, Campania, Lazio, Piemonte, Puglia e Umbria), ha organizzato una Giornata di studio sulla biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare.

La biodiversità microbica sta avendo sempre maggiore interesse anche per l'agricoltura: microbiologia del suolo; i processi di vinificazione, panificazione, prodotti lattiero-caseari e le loro stagionature, salumi, ecc. ecc. Un argomento che non si può più trascurare visto il grande interesse delle grandi aziende di trasformazione e il sempre maggior ricorso ai prodotti starter di produzione industriale.

Un convegno finale realizzato anche in vista dell'attuazione degli interventi previsti dai vari Complementi di Sviluppo Rurale del Piano Strategico della P.A.C. 2023/2027 e della scrittura del prossimo Piano Nazionale della Biodiversità di interesse Agricolo e Alimentare (PNBAA – L. 194/2015).

PROGRAMMA

Ore 9,30 – registrazione partecipanti e apertura dei lavori
coordina Daniele Visconti, Dirigente Regione Toscana

Stefania Saccardi

Vicepresidente, Assessorato Agro-alimentare, caccia e pesca della Regione Toscana

Carmela Covelli,

Dirigente DISR III - Agricoltura e sostenibilità ambientale, Ministero dell'agricoltura della sovranità alimentare e delle foreste (MASAF)

Relazioni

- Rita Turchi, Regione Toscana

- Mauro Gramaccia, Parco 3A-PTA, Regione Umbria

- Antonio Moretti, Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari (ISPA), Bari

- Cristina Varese – Università di Torino, componente CTS per il PNBAA parte microbica, componente Nucleo di Valutazione della Regione Piemonte

- Gianluigi Cardinali - Università di Perugia, componente CTS per il PNBAA parte microbica, componente Commissione tecnico-scientifica della Regione Umbria

Discussione

Ore 13,00 - Conclusione dei lavori

RELAZIONI

LE RELAZIONI DELLE REGIONI E PROVINCE AUTONOME ATTIVE NELL'ATTUAZIONE DELLA L. 194/2015, 7 febbraio e 28 marzo 2024

Videoconferenze

in ordine alfabetico per Regione di appartenenza

ABRUZZO

Agostino Sacchetti, Regione Abruzzo su testi rivisti dall'Università dell'Aquila, Sezione di Scienze Ambientali e Università di Teramo, Dipartimento di Bioscienze e Tecnologie Agroalimentari e Ambientali

Sulla biodiversità microbica è stato realizzato dall'Università dell'Aquila un progetto dal titolo "Profili tellurici della biodiversità". Lo scopo è stato quello di esaminare la biodiversità e le differenze dello stato di salute dei suoli della regione Abruzzo come risultato delle pratiche agro-colturali. Sono stati campionati e analizzati terreni situati nelle maggiori aree produttive della regione Abruzzo – Chietino, Altopiano delle Cinque Miglia, Valle Peligna, Valle Subequana, Val Vomano, Montagna Aquilana, Altopiano di Navelli e Fucino – campionati sia nel periodo primaverile che autunnale. I terreni sono stati analizzati per la loro composizione fisico-chimica, per la struttura delle loro comunità microbica mediante l'analisi dell'rRNA 16s con tecniche di Next Generation Sequencing (NGS) e la qualità biologica dei suoli mediante campionamento di microartropodi. I risultati del progetto sono pubblicati all'indirizzo internet: <https://www.regione.abruzzo.it/content/biodiversita-agraria>

È stato realizzato anche il progetto "Sviluppo di protocolli colturali per la produzione di zafferano volti al miglioramento dello stato fisiologico delle piante e alla salvaguardia della coltura contro il fungo patogeno *Fusarium oxysporum*" ai sensi della Legge Regionale 53/1997, volto alla realizzazione di pratiche di gestione sostenibili per contenere gli appassimenti da fusariosi che colpiscono questa coltura molto importante per il territorio aquilano. I risultati del progetto sono disponibili al seguente indirizzo internet: <https://www.regione.abruzzo.it/content/lo-zafferano-dellaquila-dal-campo-ai-laboratori-di-ricerca-e-sviluppo-progetto-prozaff>

Per quanto riguarda la biodiversità microbica alimentare, i progetti sviluppati presso il Dipartimento di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali dell'Università degli Studi di Teramo, sotto la guida della responsabile scientifica Rosanna Tofalo, hanno riguardato lo studio e la conservazione della biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare, studiando la biodiversità e la trasformazione dei prodotti enologici, lattiero-caseari, e di panificazione. Le pubblicazioni sono sul sito <https://www.unite.it/UniTE/Docente/Doc/rtofalo>

Seguendo le domande poste dalla traccia di lavoro distribuita, la prima domanda riguarda:

biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare: terreno e trasformazione dei prodotti (enologici, lattiero-caseari, panificazione) e ... Lieviti, batteri e ... La risorsa genetica ovvero ceppi, popolazioni e cosa altro? Terminologia. Chi è e come si chiama il corrispondente "Agricoltore/Allevatore Custode"? E chi fa la conservazione? I protagonisti di un sistema di conservazione e tutela della biodiversità microbica: descrizione.

Conoscere e conservare la biodiversità microbica delle fermentazioni alimentari e dei suoli è una risorsa per il miglioramento degli alimenti dell'ambiente e delle produzioni agro-alimentari e, di conseguenza, anche per la salute e la nutrizione umana.

I microrganismi del suolo sono fondamentali per mantenerne la salute, per riciclare la sostanza organica e per il benessere delle piante. Presso il laboratorio di Microbiologia Agro-Ambientale, della sezione di Scienze Ambientali dell'Università dell'Aquila (ex Responsabile Maddalena Del Gallo, nuova responsabile Marika Pellegrini) si stanno conducendo da anni ricerche sulla biodiversità dei suoli abruzzesi, sono stati anche isolati ceppi batterici interessanti per la promozione della crescita delle piante agrarie, batteri produttori di ormoni vegetali, azotofissatori, solubilizzatori dei fosfati presenti nei suoli. La conservazione delle risorse genetiche autoctone (specie/ceppi) in collezioni microbiche all'interno delle Università e dei centri di ricerca grazie all'attività dei microbiologi è indispensabile per garantire la conservazione della biodiversità microbica, la promozione della ricerca, il trasferimento delle conoscenze e l'innovazione biotecnologica in accordo con le normative vigenti. Presso il medesimo laboratorio dell'Università dell'Aquila da anni si sta allestendo una collezione di microrganismi autoctoni associati alle piante di interesse agrario utilizzabili in sostituzione di agrochimici come agenti biostimolanti e di biocontrollo (Ceppi batterici per la promozione della crescita delle piante agrarie, batteri produttori di ormoni vegetali, azotofissatori, solubilizzatori dei fosfati presenti nei suoli, ceppi antagonisti di batteri e funghi fitopatogeni).

I microrganismi protecnologici come lieviti, batteri e funghi filamentosi hanno importanti ricadute nello sviluppo alimentare, ambientale, industriale e biotecnologico della regione. La caratterizzazione dei microrganismi autoctoni/indigeni associati alle fermentazioni spontanee per l'ottenimento di vini e vini spumanti, prodotti lattiero-caseari, prodotti carnei, prodotti da forno, olive da mensa (anche con indicazione geografica tipica) è fondamentale per rafforzare il legame con il territorio e la sua valorizzazione. La conservazione delle risorse genetiche autoctone (specie/ceppi) associate a questi prodotti in collezioni microbiche all'interno delle Università e dei centri di ricerca grazie all'attività dei microbiologi è indispensabile per garantire la conservazione della biodiversità microbica, la promozione della ricerca, il trasferimento delle conoscenze e l'innovazione biotecnologica in accordo con le normative vigenti. L'Università di Teramo (responsabile Rosanna Tofalo) da anni sta allestendo una collezione di microrganismi autoctoni (lieviti e batteri e funghi filamentosi) associati alle principali produzioni regionali (vino, formaggi, prodotti da forno e olive da mensa e prodotti carnei fermentati).

Le fasi di tutela dell'agrobiodiversità: a) individuazione della risorsa genetica; b) caratterizzazione; c) conservazione; d) valorizzazione e reintroduzione sul territorio

La relazione tra biodiversità, alimenti fermentati e mantenimento dei servizi agroecosistemici di un suolo agrario è molto stretta. La fermentazione è uno dei metodi più antichi di conservazione degli alimenti e da sempre l'uomo ha sfruttato anche inconsapevolmente la biodiversità microbica per le produzioni alimentari. Per quanto riguarda la biodiversità dei suoli, va sottolineato che con i metodi molecolari è possibile studiare la biodiversità di un suolo, le relazioni tra le diverse specie e le reti ecologiche, ma l'isolamento delle diverse specie microbiche è possibile solo in minima parte perché più del 90% dei microrganismi non sono coltivabili in laboratorio. La selezione/conservazione dei microrganismi diventa una strategia per l'innovazione del settore alimentare e agrario.

Individuazione della risorsa genetica: quanto dipende dall'ambiente (terreno o ambiente di lavorazione) e quanto invece è oggettivamente espresso dai microrganismi oggetto di segnalazione?

Batteri, lieviti e funghi filamentosi isolati da materie prime (es. latte, uve, cereali, cereali antichi, olive, ecc...), da fermentazioni spontanee e in particolar modo da aree scarsamente antropizzate. Le condizioni ambientali, come il clima, la composizione del suolo, la gestione delle acque, i venti e la qualità dell'aria, l'altitudine, la fauna, la flora determinano il "terroir microbico" degli alimenti fermentati della regione e contribuiscono alla creazione di nicchie ecologiche costituite da microrganismi con caratteristiche uniche dettate dalla pressione selettiva dell'ambiente. Per quanto riguarda il suolo, è strettamente necessaria l'individuazione della risorsa genetica in funzione delle variabili ambientali associate. La composizione fisico chimica del suolo e le variabili pedoclimatiche influenzano strettamente la composizione della comunità microbica di un suolo modulando il patrimonio genetico e la funzionalità dello stesso. In questo senso i microrganismi diventano il *genius loci*.

Caratterizzazione di una risorsa genetica: quali sono i metodi più affidabili e i costi relativi?

Ai microrganismi deve essere attribuita in maniera univoca la specie attraverso tecniche molecolari (amplificazione di regioni conservate all'interno della specie, sequenziamento del genoma, ecc...). All'interno della specie è necessaria la caratterizzazione della popolazione di ceppi che la costituiscono mediante tecniche di fingerprinting genetici (es. multi locus sequence typing, studi di genomica comparativa). Parallelamente è necessaria una caratterizzazione tecnologica in funzione del prodotto fermentato oggetto di studio e la determinazione del metaboloma dei ceppi. Nel caso della microbiologia del suolo è necessaria una caratterizzazione dei tratti funzionali delle comunità microbiche (ad esempio capacità degradative o legate alla messa a disposizione per la pianta dei nutrienti necessari)

Conservazione della risorsa genetica: come si fa? Quanto dura nel tempo? E' vero che alcuni microrganismi mutano anche in crioconservazione? Chi può fare conservazione? Come si possono controllare?

I microrganismi vanno conservati in collezioni microbiche o ceppoteche dopo essere stati caratterizzati. Ogni collezione è affiancata dalla creazione di un database (e catalogo) con le informazioni genetiche, fisiologiche delle risorse microbiche depositate (specie, codice del ceppo, origine geografica, anno di isolamento, dati fisiologici e metabolici e riferimenti bibliografici) I microrganismi vengono mantenuti in uno stato inattivo grazie a vari metodi al fine di essere conservate per un tempo indeterminato. I principali metodi di conservazione sono: impiego di basse temperature, disidratazione e liofilizzazione. Le diverse tecniche servono per ridurre al minimo i fenomeni di mutazione genica associate alle caratteristiche tecnologiche d'interesse.

Valorizzazione e reintroduzione sul territorio: come si fa e con quali strumenti/azioni. Rischi e problematiche legate. La grande industria agroalimentare: una risorsa o anche un rischio per la biodiversità microbica?

L'ottenimento della collezione microbica consente non solo la conservazione ma anche la distribuzione dei microrganismi alle aziende del territorio per assicurare la qualità del prodotto preservandone la tipicità e, nel caso di microrganismi del suolo, per assicurarne la salute e

promuovere uno sviluppo sostenibile delle colture agrarie dando nuovo impulso e saldando il legame anche con i territori rurali. L'individuazione di nuove risorse microbiche con attività convenzionali e non, potrebbero essere utili anche alla grande industria agro-alimentare e ambientale per lo sviluppo di nuovi prodotti e inoculanti microbici sostenibili.

Illustrazione in breve, di un caso studio emblematico, dei punti fin qui toccati.

Caso studio: biodiversità microbica in campo ambientale

Presso l'altopiano del Fucino sono state condotte numerose prove sperimentali di inoculazione di microrganismi sia autoctoni che isolati in altri ambienti, su piante di interesse agrario (carota, patata, cipolla, lattuga, canapa, spinacio, ecc.). I risultati sono stati ottimi, con la dimostrazione della possibilità di sostituire o, quanto meno ridurre, concimazioni chimiche e prodotti antiparassitari. Sono stati, inoltre, condotti studi sulla biodiversità dei suoli di alcuni vigneti a diversa conduzione: inerbimento, sovescio, inerbimento biennale e lavorazione tradizionale. I risultati hanno portato alla conclusione che inerbimento, sovescio e pratiche a minore impatto ambientale e che portano alla ricostituzione della sostanza organica e dell'umificazione, portano anche a un miglioramento della qualità del vino.

Caso studio: biodiversità microbica in campo alimentare

Il vino potrebbe essere un modello per comprendere le potenzialità della biodiversità microbica. Gli ambienti associati alla produzione del vino (vigneto, uva, cantina) rappresentano un reservoir di biodiversità microbica. Sono state descritte circa 100 specie di lieviti e milioni di ceppi associate a questo ambiente che vanno a costituire il "terroir microbico". Recenti evidenze scientifiche hanno evidenziato lo stretto legame tra consorzio microbico, clima e zona (e micro aree) di produzione evidenziando il ruolo dei microbiomi nella definizione delle caratteristiche sensoriali e tipiche dei vini. Il ricorso a tecniche agronomiche e di vinificazione a basso impatto ambientale, valorizza maggiormente il ruolo del terroir microbico sia in termini di qualità che di differenziazione dei vini. In definitiva, i microrganismi autoctoni svolgono un ruolo importante nella definizione della tipicità del vino, contribuendo alla sua complessità sensoriale e esaltando le caratteristiche della cultivar da cui proviene. Pertanto, la caratterizzazione, selezione e conservazione della biodiversità microbica nei vigneti è fondamentale per preservare l'autenticità e l'identità dei vini. Le pubblicazioni sono sul sito <https://www.unite.it/UniTE/Docente/Doc/rtofalo>

Può essere utile al lavoro di tutti, realizzare in modo periodico, un momento di confronto con gli altri esperti di specie frutticole presenti nelle altre Commissioni/Nuclei di valutazione? Se sì, per quali tematiche in particolare?

Si, sarebbe utile un confronto volto alla definizione di linee guida per la gestione delle collezioni e alla condivisione delle risorse microbiche nel rispetto della normativa vigente.

Quali principali progetti dovrebbero essere attivati, sia a livello della Vs. Regione/PA sia a livello nazionale o interregionale?

Si potrebbero attivare progetti volti alla migliore conoscenza del microbiota associato a prodotti fermentati di origine animale (prodotti carnei e lattiero-caseari) e vegetale (vino, olive da tavola, prodotti da forno) e alla caratterizzazione dei microrganismi sia in termini genetici che metabolici. Particolare attenzione dovrebbe essere data a quei prodotti provenienti da aree scarsamente

antropizzate, che offrono un'opportunità unica in termini di biodiversità, con la duplice finalità di conoscerne le caratteristiche compositive e di ottenere colture starter funzionali alla standardizzazione del processo con tutti i vantaggi di una fermentazione spontanea. Parimenti, sono importanti tutti i progetti orientati allo studio e alla conservazione della biodiversità dei suoli agrari, legati al mantenimento e all'incremento della sostanza organica dei suoli e ai processi di umificazione della stessa. Tali progetti possono essere rivolti sia al miglioramento della qualità dei suoli, sia alle produzioni agrarie a basso impatto ambientale, sia alla cattura della CO₂ nei suoli.

Rosanna Tofalo, Dipartimento di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo

Biodiversità microbica

- L'ingente patrimonio di biodiversità costituito dai microrganismi è essenziale per la vita sulla terra e rappresenta un'illimitata risorsa per lo sviluppo di un gran numero di applicazioni biotecnologiche e, il suolo in particolare, per la produzione del cibo per la sopravvivenza dell'umanità.
- Lo studio della biodiversità microbica è uno dei temi chiave della ricerca scientifica.
- Numerosi progetti volti alla caratterizzazione e alla conoscenza di questo patrimonio.

Biodiversità microbica di interesse alimentare e agricolo

- Conoscere e conservare la biodiversità microbica è una risorsa per il miglioramento degli alimenti e dell'ambiente, ma anche per la salute e la nutrizione umana.
- I microrganismi protecnologici hanno importanti ricadute nello sviluppo alimentare, ambientale, industriale e biotecnologico della regione.
- La caratterizzazione dei microrganismi autoctoni/indigeni associati alle fermentazioni spontanee è fondamentale per rafforzare il legame con il territorio e la sua valorizzazione.
- L'individuazione e la caratterizzazione delle comunità microbiche dei suoli è fondamentale per il mantenimento della loro fertilità.

Le fasi di tutela della biodiversità microbica

- Individuazione della risorsa genetica: Batteri, lieviti, funghi filamentosi e microfauna. Le condizioni ambientali determinano il "terroir microbico" e contribuiscono alla creazione di nicchie ecologiche costituite da microrganismi con caratteristiche uniche dettate dalla pressione selettiva dell'ambiente.
- Caratterizzazione della risorsa genetica: identificazione, fingerprinting genetico, caratterizzazione tecnologica e determinazione del metaboloma.
- Conservazione della risorsa genetica: collezioni microbiche.
- Valorizzazione e reintroduzione sul territorio: distribuzione dei microrganismi alle aziende del territorio per assicurare la qualità del prodotto preservandone la tipicità, dando nuovo impulso e saldando il legame anche con i territori rurali, sviluppo di nuovi prodotti sostenibili.

Conservazione: il ruolo delle collezioni microbiche

- La conservazione delle risorse genetiche autoctone (specie/ceppi) all'interno delle Università e dei centri di ricerca grazie all'attività dei microbiologi è indispensabile per garantire la conservazione della biodiversità microbica, la promozione della ricerca, il trasferimento delle conoscenze e l'innovazione biotecnologica in accordo con le normative vigenti.
- Ruolo del microcustode.

Collezione unite

Microrganismi autoctoni (lieviti e batteri e funghi filamentosi) associati alle principali produzioni regionali (vino, formaggi, prodotti da forno e olive da mensa e prodotti carnei fermentati).

Collezione UNIVAQ

Ceppi batterici per la promozione della crescita delle piante agrarie, batteri produttori di ormoni vegetali, azotofissatori, solubilizzatori dei fosfati presenti nei suoli.

Caso studio: il Nero Antico di Pretalucante

"Vigne e vini di Pretalucante" - sotto intervento PSR 2014/2022 dell'Abruzzo, misura 19.2.1.1.4 "Sapori da salvare", Fase 3.



- Il Nero Antico di Pretalucante è un vitigno autoctono appartenente ai territori di Gessopalena e Torricella Peligna
- Vitigno con grappolo piuttosto spargolo, a bacca nera con colorazione vinaccia quando non ancora pienamente matura
- Uva a maturazione tardiva: ot-tobre inoltrato nelle aree di coltivazione classica (> 600 m s.l.m.)

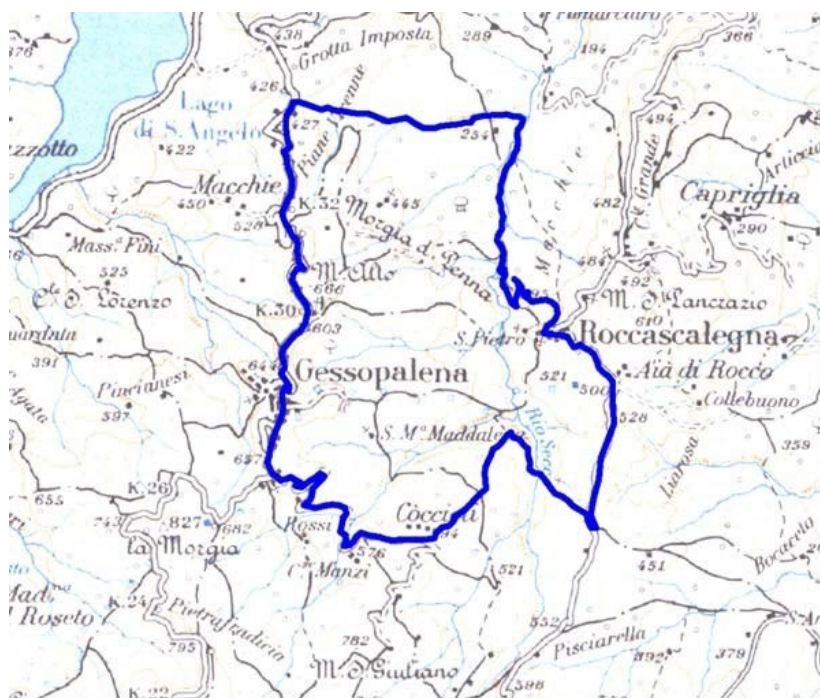
Parametri enologici	Valori
Alcol (% v/v)	12.75±2.07
Zuccheri residui (g/L)	0.71 ± 0.08
pH	3.48 ± 0.24
Acidità totale (g/L)*	5.28 ± 0.14
Acidità volatile (g/L)**	0.54 ± 0.03
Acido malico (g/L)	0.17 ± 0.02
Acido lattico (g/L)	1.31 ± 0.05
Glicerolo (g/L)	8.56 ± 1.98
Antociani (mg/L)	266 ± 6.64
Polifenoli (GAE/L)	977 ± 12.72



Article

Characterization of Nero Antico di Pretalucante Wine and Grape Fungal Microbiota: An Expression of Abruzzo Region Cultivar Heritage

Giorgia Perpetuini ¹, Alessio Pio Rossetti ¹, Lucia Giordano ², Marta Pulcini ¹, Beatrice Dufresine ¹ , Noemi Battistelli ³, Camillo Zulli ³, Giuseppe Arfelli ¹, Alberto Palliotti ^{2,*}, Enrico Dainese ^{1,*} and Rosanna Tofalo ^{1,*}

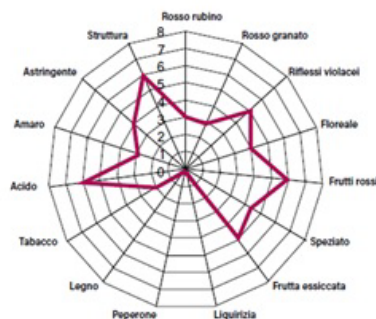


- Iscrizione del vitigno al Registro Nazionale delle Varietà di Vite
- Anagrafe nazionale della biodiversità di interesse agricolo e alimentare e nel Registro per la biodiversità regionale

Composto	Descrittore	OAV
Alcoli superiori		
2-eptanolo	Limone, erba, floreale, fruttato	3.85
Alcol feniletico	Floreale, brandy, rosa, miele	1.46
1-ottanolo	Ceroso, floreale, cocco	5.42
1-dodecanolo	Terroso, sapone, ceroso, miele, cocco	3.08
Esteri		
Isoamil acetato	Banana, fruttato	56.56
Etil isovalerato	Fruttato, mela, ananas	230
Etil decanoato	Fruttato, mela, brandy, uva	33.15
Etil acetato	Fruttato, dolce, erboso	1.20
Etil esanoato	Fruttato, ananas, ceroso, banana	78.57
Etil ottanoato	Fruttato, dolce, albicocca, banana, pera	468
Diethyl succinato	Fruttato, mela, ylang	6.82
Chetoni		
β -ionone	Floreale, fruttato, tropicale violetta	222
Terpeni		
Nerolo	Neroli, magnolia	1,03
Aldeidi		
Decanale	Dolce, ceroso, arancia, floreale	440
Nonanale	Ceroso, rosa, fresco, arancia	74,67

Caso studio: il Nero Antico di Pretalucante

- Sono stati individuati 50 composti aromatici
- Core di composti aromatici che caratterizzavano il vino



Palliotti et al. 2022 VVQ, 2

Rosanna Tofalo (rtofalo@unite.it) – Università degli Studi di Teramo

- Collezione di *Saccharomyces cerevisiae* e non-*Saccharomyces* (*Starmerella bacillaris*, *Hanseniaspora uvarum*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Pichia kudriavzevi*, *Metschnikowia fructicola*).
- Impiego di *S. cerevisiae* autoctoni per la produzione del vino.

Ruolo nel progetto dell'Università degli Studi di Teramo

- Realizzazione di una cantina sperimentale
- Collaborazione con cantine del territorio
- Microrganismi autoctoni (*S. cerevisiae* e non-*Saccharomyces*) provenienti da diverse cultivar

Criticità riscontrate

- Lavori appena iniziati
- Definizione di linee guida per la gestione delle collezioni microbiche e la condivisione delle risorse microbiche
- Biodiversità microbica minacciata dalle attività dell'uomo (sfruttamento dei suoli, urbanizzazione)
- Poca conoscenza del ruolo dei microorganismi in ambito alimentare e agrario
- Non coltivabilità dei microorganismi del suolo
- Mancanza di fondi per l'allestimento e il mantenimento delle collezioni microbiche

Progetti da attivare

- Migliore conoscenza del microbiota associato a prodotti fermentati di origine animale (prodotti carnei e lattiero-caseari) e vegetale (vino, olive da tavola, prodotti da forno) e alla caratterizzazione dei microorganismi sia in termini genetici che metabolici
- Prodotti provenienti da aree scarsamente antropizzate, che offrono un'opportunità unica in termini di biodiversità, con la duplice finalità di conoscerne le caratteristiche compositive e di

ottenere colture starter funzionali alla standardizzazione del processo con tutti i vantaggi di una fermentazione spontanea

- Studio e conservazione della biodiversità dei suoli agrari, legati al mantenimento e all'incremento della sostanza organica dei suoli e ai processi di umificazione della stessa. Tali progetti possono essere rivolti sia al miglioramento della qualità dei suoli, sia alle produzioni agrarie a basso impatto ambientale, sia alla cattura della CO₂ nei suoli

PSR 2014/2022 Sottomisura 7.6 Tipologia d'intervento 7.6.1 "PROFILI TELLURICI DI BIODIVERSITA'"

- 7 aree di campionamento: CHIETINO, ALTOPIANO DELLE CINQUE MIGLIA, VALLE PELIGNA, VALLE SUBEQUANA, VAL VOMANO, MONTAGNA AQUILANA e FUCINO.
- campionati 26 siti sia nel periodo primaverile che autunnale.
- I terreni sono stati analizzati per la loro composizione fisico-chimica, per la struttura della loro comunità microbica mediante analisi dell'rRNA 16s con tecniche di Next Generation Sequencing (NGS) e la qualità biologica (QB) dei suoli mediante campionamento di microartropodi.

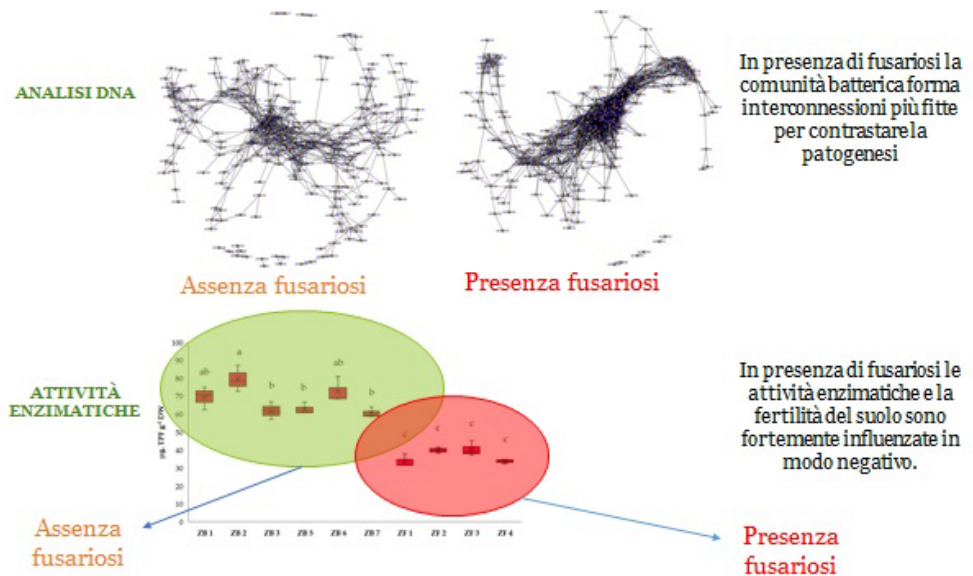
Risultati del progetto

- A livello di diversità microbica e della comunità edafica c'è un'interessante distinzione tra le gestioni biologiche e le gestioni convenzionali.
- In alcune aree più industrializzate, è stata riscontrata un'evidente similarità tra i campi a gestione biologica e convenzionale, soprattutto nell'area del Fucino. Nella zona "Montagna Aquilana", invece in cui si utilizzano delle tecniche agricole convenzionali ma meno invasive, meno meccanizzate e meno impattanti, con una produttività più bassa e meno soggetta alle pressioni antropiche, è stata riscontrata una generale maggiore conservazione della biodiversità microbica e qualità dei suoli.
- L'integrazione dei risultati sulle comunità microbiche e edafiche e i parametri fisico-chimici hanno evidenziato l'importanza dell'approccio multidisciplinare, essenziale per la corretta valutazione dello stato di salute dei suoli.
- Questo studio ha un grande valore, in quanto, nonostante l'Abruzzo sia una regione che vanta il maggior numero ed estensione di aree protette in Italia, non sono presenti studi precedenti che valutino la biodiversità microbica dei suoli abruzzesi.
- Si è ormai consapevoli che le lavorazioni profonde dei suoli, la pratica di monocoltura e/o mono successione, l'uso di erbicidi e di pesticidi in generale, causano nel tempo una perdita significativa di biodiversità nelle sue diverse forme; al contrario un'agricoltura a basso impatto e i suoi prodotti, soprattutto se a certificazione biologica, hanno un valore aggiunto superiore ai prodotti provenienti da suoli gestiti "industrialmente".

*Sviluppo di protocolli colturali per la produzione di zafferano volti al miglioramento dello stato fisiologico delle piante e alla salvaguardia della coltura contro il fungo patogeno *Fusarium oxysporum* – PRO.ZAFF*

► Le sperimentazioni PRO.ZAFF. sono state avviate grazie al supporto del Dipartimento Agricoltura e il Servizio Promozione delle Filiere e Biodiversità della Regione Abruzzo, legati da anni in attiva collaborazione con diverse progettualità con il laboratorio di Microbiologia Ambientale UNIVAQ.

► Il Progetto PRO.ZAFF. è stato finanziato grazie alla L.R. 53/1997 che stanZIA contributi per la promozione dei prodotti agro-alimentari e della cultura rurale.

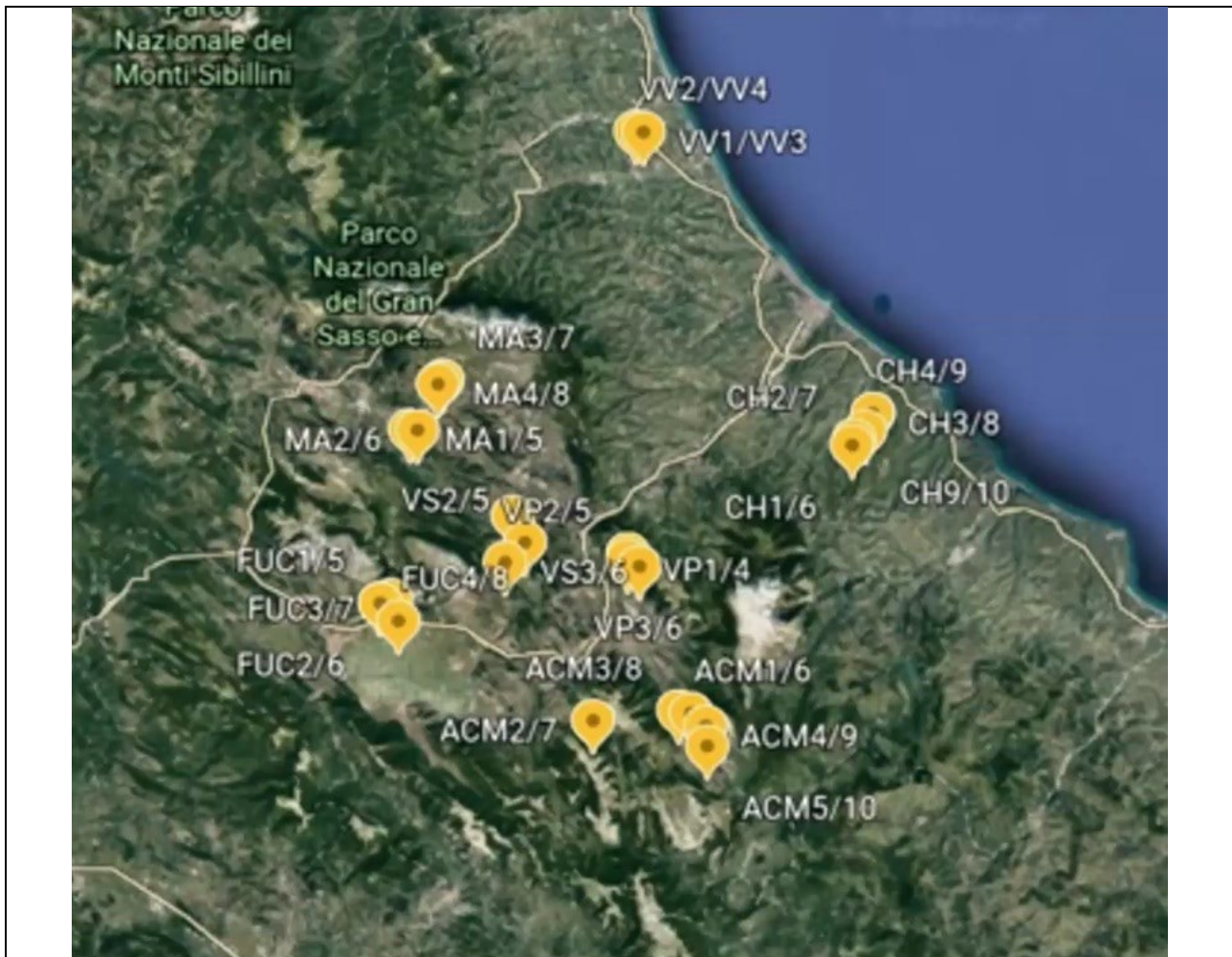


Ruolo di UNIVAQ

- Realizzazione di uno studio sulla biodiversità dei suoli agrari abruzzesi in funzione del tipo di conduzione, convenzionale, biologico e conservativo.
- Collaborazione con gli agricoltori del territorio e con le associazioni e le cooperative dei coltivatori
- Microrganismi autoctoni, isolamento e utilizzo di PGPB in associazione con le piante agrarie

Maddalena Del Gallo, Dipartimento di Medicina clinica, Sanità pubblica, Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università degli Studi dell'Aquila

La Regione Abruzzo ha finanziato, con la Sottomisura 7.5 intervento 7.6.1 “Fondo europeo agricolo per lo sviluppo rurale: l’Europa investe nelle zone rurali”, un importante progetto dal titolo “Profili tellurici di biodiversità”. Prevedeva di studiare la biodiversità del suolo in 7 aree agricole di campionamento ed esattamente: il Chietino, l’Altopiano delle Cinque Miglia, la Valle Peligna, la Valle Subequana, la Val Vomano, la Montagna Aquilana e il Fucino.



Sono stati campionati più di 26 siti sia nel periodo primaverile che in quello autunnale, a diverse conduzioni agrarie: sia tradizionali che di tipo biologico e di altre definibili “a minor impatto ambientale”. Siti molto diversi tra loro per capire le differenze nell’ambito della biodiversità microbica.

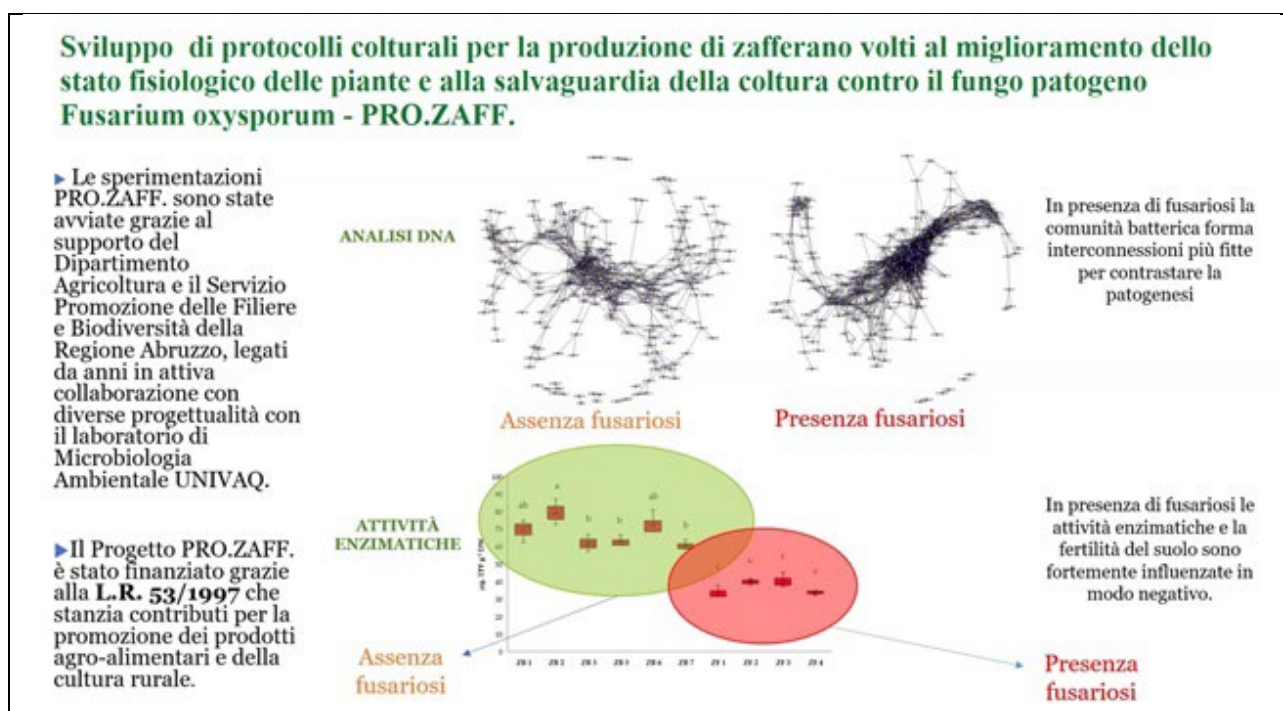
I terreni sono stati analizzati per la loro composizione fisico-chimica, per la struttura della loro comunità microbica mediante analisi dell’rRNA 16s con tecniche di Next Generation Sequencing (NGS) e la qualità biologica (QB) dei suoli mediante campionamento di microartropodi. Questi ultimi possono dare un’indicazione interessante della qualità biologica del suolo.

I risultati ottenuto da questo grosso progetto durato 3 anni, sono:

- a livello di diversità microbica e della comunità edafica c’è un interessante distinzione tra le gestioni biologiche e le gestioni convenzionali;
- in alcune aree più industrializzate, è stata riscontrata un’evidente similarità tra i campi a gestione biologica e convenzionale, soprattutto nell’area del Fucino. Nella zona “Montagna Aquilana”, invece, in cui si utilizzano delle tecniche agricole convenzionali ma meno invasive, meno meccanizzate e meno impattanti, con una produttività più bassa e meno soggetta alle pressioni antropiche, è stata riscontrata una generale maggiore conservazione della biodiversità microbica e qualità dei suoli.

- l'integrazione dei risultati sulle comunità microbiche e edafiche e i parametri fisico-chimici hanno evidenziato l'importanza dell'approccio multidisciplinare, essenziale per la corretta valutazione dello stato di salute dei suoli.
- questo studio ha un grande valore, in quanto, nonostante l'Abruzzo sia una regione che vanta il maggior numero ed estensione di aree protette in Italia, non sono presenti studi precedenti che valutino la biodiversità microbica dei suoli abruzzesi.
- si è ormai consapevoli che le lavorazioni profonde dei suoli, la pratica di monocoltura e/o mono-successione, l'uso di erbicidi e di pesticidi in generale, causano nel tempo una perdita significativa di biodiversità nelle sue diverse forme: al contrario un'agricoltura a basso impatto e i suoi prodotti, soprattutto se a certificazione biologica, hanno un valore aggiunto superiore ai prodotti provenienti da suoli gestiti "industrialmente".

E' interessante il risultato ottenuto in un altro progetto finanziato sempre dalla Regione Abruzzo nel quale si è cercato di capire perché nei terreni coltivati a zafferano (Zafferano dell'Aquila DOP) con metodi a maggiore impatto ambientale c'è una presenza di Fusariosi diffusa, rispetto a terreni condotti a minore impatto ambientale.



Pertanto, parlando di biodiversità del suolo possiamo trarre le seguenti conclusioni:

- In presenza di fusariosi la comunità batterica forma maggiori e più fitte interconnessioni per contrastare la patogenesi. Inoltre, le attività enzimatiche e la fertilità del suolo sono negativamente influenzate.
- La realizzazione di uno studio sulla biodiversità dei suoli agrari abruzzesi in funzione del tipo di conduzione, convenzionale, biologico e conservativo ha portato alla conclusione che i terreni meno sfruttati e più marginali, hanno comunità microbiche più diversificate e attive. E' stato possibile riscontrare come la diversità microbica dei suoli non è legata tanto alle tecniche agricole utilizzate sui terreni ma piuttosto all'intensità delle stesse.

- Nonostante la conduzione biologica, un uso intensivo del terreno può portare ad un momentaneo accumulo di nutrienti, che permette un ciclo più breve nella crescita vegetale e una maggiore produttività, ma che sono anche responsabili, soprattutto nel lungo periodo, dell'impoverimento della comunità microbica che ha come ruolo proprio il riciclaggio dei nutrienti e il loro trasferimento alle piante.
- La localizzazione dei terreni in un contesto produttivo è un fattore non meno importante: la prossimità dei terreni a conduzione biologica con irrigazione non differenziata può portare a uno stato di salute del suolo poco ottimale e non in linea con quanto riscontrato solitamente per i terreni biologici.

Lo studio ha permesso anche di instaurare collaborazione con gli agricoltori del territorio e con le associazioni e le cooperative dei coltivatori.

Presso i laboratori dell'Università dell'Aquila si stanno studiando e utilizzando da vari anni microrganismi autoctoni e non ad attività stimolante nei confronti delle piante. Si stanno conducendo prove di inoculazione in campo con batteri PGPR.

L'Università dell'Aquila sta producendo un brevetto per l'inoculo di microrganismi sulla patata in sostituzione delle concimazioni azotate.

Ma la conclusione di tutti gli studi condotti è che occorre conservare l'ecosistema agrario per poter conservare la biodiversità microbica.

CAMPANIA

[Massimo Zaccardelli, CREA Centro di ricerca Orticoltura e Florovivaismo, sede di Pontecagnano \(SA\)](#)

Le leguminose hanno una proprietà peculiare importantissima non posseduta da altre specie vegetali: sono in grado di assimilare l'azoto atmosferico, elemento fondamentale per la sintesi di composti di importanza vitale, direttamente dall'atmosfera, rendendolo disponibile per la pianta nella quale risiedono, ma anche per le piante che vengono coltivate in successione o in consociazione. Tutto ciò è possibile grazie al complesso enzimatico della nitrogenasi, che i rizobi sintetizzano quando entrano in simbiosi con le radici delle leguminose, consentendo così di fissare l'azoto atmosferico nei complessi amminoacidici del batterio e poi della pianta.

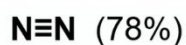
La quantità di azoto che viene mediamente fissata dalle varie specie è riportata nella tabella seguente.

Quantificazione dell'azotofissazione

Specie	N kg/ha
<i>Pisello</i>	72
<i>Fava</i>	151
<i>Cece</i>	100
<i>Soia</i>	120
<i>Lupino</i>	170
<i>Erba medica</i>	180
<i>Trifoglio</i>	170/172

Sfruttare l'azoto che proviene da azotofissazione consente di risparmiare l'acquisto di concimi chimici e permette anche un grosso risparmio in termini di emissioni gassose impattanti sull'ambiente. La reazione chimica di sintesi dell'azoto dei concimi chimici avviene grazie alla reazione di Haber-Bosch che, però, richiede una grandissima quantità di energia non rinnovabile.

Concimi azotati di sintesi e REAZIONE di Haber-Bosch



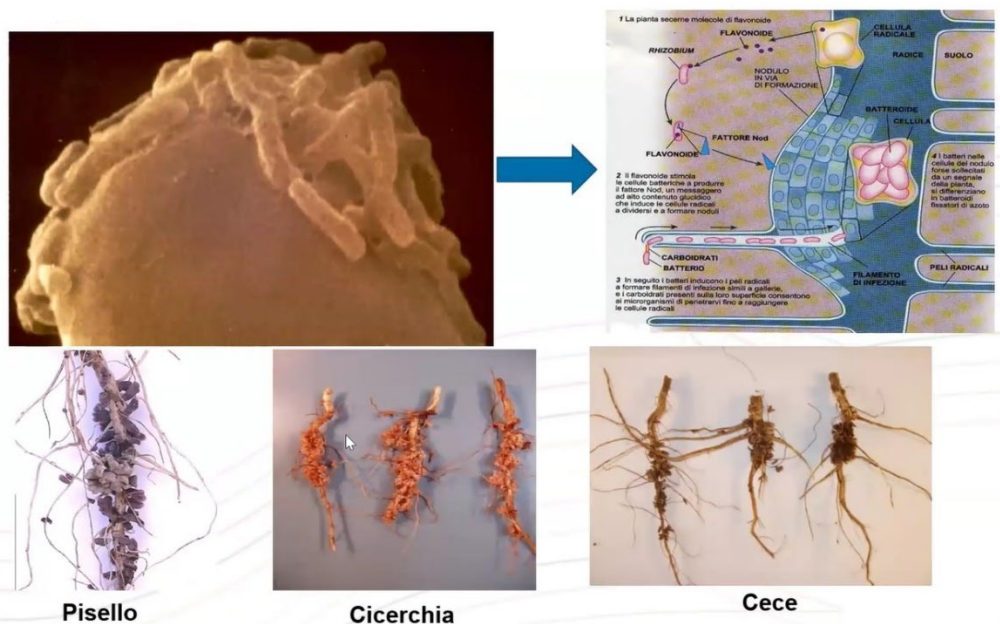
500 °C, 300 atm, con
impiego di fonti
energetiche non
rinnovabili (petrolio,
carbone, gas)

Emissione CO₂ (effetto Serra)



- Più facile rilascio di composti volatili ad effetto serra (NO, N₂O, NO₂, NH₃)
- piogge acide
- lisciviazione dei nitrati

La slide che segue contiene una fotografia al microscopio elettronico di rizobi su un pelo radicale, un disegno schematico che illustra il processo di colonizzazione delle radici da parte dei rizobi e l'aspetto visivo dei tubercoli contenenti i rizobi, di forma e di colore diversi a seconda della specie di leguminosa.



E' possibile incrementare l'azotofissazione nelle leguminose inoculando ceppi di rizobio più efficienti. Esempi ve ne sono stati diversi con prove che hanno portato ad un incremento di produzione anche del 37% su pisello (prova del 2002) utilizzando un ceppo di *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* isolato presso il CREA, denominato P13III (Zaccardelli et al., 2002). Tuttavia, se si isola un ceppo di rizobio più efficiente nell'azotofissazione, non è detto che questo ceppo sia più efficiente su tutte le varietà, come hanno dimostrato delle prove condotte nel 2004 in pieno campo, dove si è visto un incremento di produzione di granella del 40% solo sulla varietà Belinda e non sulla varietà Madria.

Anche sulla lenticchia si sono avuti effetti positivi e si è proceduto ad individuare e caratterizzare questi ceppi e i diversi aplotipi da poter poi inoculare in campo ma, anche in questo caso, la risposta varia da varietà a varietà.

Sul lupino i risultati sono stati anche più interessanti, visto che sono stati registrati incrementi di produzione di granella del 60%, rispetto alle piante il cui seme non è stato conciato con questi ceppi di rizobio più efficienti.

Il CREA di Pontecagnano ha una collezione di oltre 1000 ceppi di rizobi isolati in 25 anni di attività sul campo.

Con un progetto finanziato diversi anni fa dalla Regione Campania, sono state realizzate delle prove sulla RGV "Fagiolo di Controne" con rizobi indigeni, cioè rizobi locali.

RGV "Fagiolo di Controne"

Inoculo	n° piante attecchite	n° piante teorico	granella/m ² (g)	% di incremento rispetto al controllo
Rizobio 1	3,1	3,5	251,13 a	34,12
Rizobio 2	3,0	3,5	208,96 b	11,59
Rizobio 3	3,1	3,5	226,11 b	20,76
Rizobio 4	3,0	3,5	223,00 b	19,09
Rizobio 5	3,1	3,5	197,50 b	5,48
Rizobio 6	3,2	3,5	206,76 b	10,42
Controllo	3,1	3,5	187,25 b	

In questo caso è stato individuato un ceppo che su questa varietà locale di fagiolo ha incrementato la produzione di granella del 34% in pieno campo, rispetto alla tesi di controllo.

Anche con la RGV "Fagiolo di Gorga" finanziato dal PSR tramite un GAL locale, è stato registrato un incremento di sostanza secca nei semi con un ceppo di rizobio e un aumento di concentrazione di proteine sempre nei semi con un altro ceppo: pertanto, si è avuto un effetto positivo sulla qualità dei semi, piuttosto che sulla quantità di produzione. Un altro aspetto interessante è che il ceppo 10 di rizobio, sempre isolato da questa RGV di fagiolo, produce una notevole quantità di acido indolacetico, il quale viene liberato nel mezzo di coltura liquido utilizzato in laboratorio per la crescita del ceppo. Questo filtrato colturale, utilizzato anche molto diluito, è stato in grado di stimolare fortemente la radicazione e la crescita di altre specie di interesse agrario, come il peperone, il crescione, la rucola, lo spinacio, la bietola e la valeriana.

Sempre grazie ad un finanziamento della Regione Campania, è stato realizzato un progetto sulla RGV "Lenticchia di Colliano" la quale, inoculata con un ceppo di rizobio da essa isolato, ha incrementato del 79 % la produzione di granella.

Attualmente è in corso il progetto Horizon 2020 "INCREASE", in cui il CREA è Partner, con il quale, lavorando su accessioni di lenticchia, lupino, cece e fagiolo inoculate con consorzi di rizobi appositamente selezionati presso il CREA, è stato possibile incrementare l'emergenza e la vigoria delle piante e incrementare anche del 90% la produzione di granella.

Gli strumenti più potenti che abbiamo per tutelare la biodiversità microbica di interesse agrario e alimentare è quello di favorire sistemi di produzione agricola sostenibili (agricoltura biologica, organica, ecc.) e tutelare i prodotti agroalimentari tradizionali (varietà vegetali e razze di animali locali, vini, salumi, formaggi locali, ecc.). In questo modo viene attuata una conservazione "*in situ*" dei microrganismi locali.

La conservazione “*ex situ*” (es. conservazione a -80°C, liofilizzazione) è importante ai fini della conservazione in sicurezza e caratterizzazione di ceppi microbici locali più “performanti” per produzioni agroalimentari di interesse (vini, formaggi, salumi, azotofissazione per i legumi, ecc.).

Per abbattere i costi della conservazione “*ex situ*” si potrebbero conservare i microbiomi conservando direttamente le matrici che contengono tali microbiomi (vini, formaggi, noduli radicali, terreni, ecc.), per poi man mano isolare e caratterizzare i singoli ceppi microbici in essi contenuti. La conservazione delle matrici consente anche di conservare il microbioma non colturabile, con la speranza di poter successivamente coltivarne i ceppi grazie allo sviluppo della colturomica, una nuova importantissima frontiera per la microbiologia.

LAZIO

Alessandra Bianchi, Regione Lazio

La Regione Lazio, come molte altre Regioni, non ha previsto nella propria legge regionale la tutela della biodiversità microbica ma, nel tempo, ha attivato una serie di progetti, realizzati in collaborazione con l’allora Centro Ricerca per lo studio delle relazioni tra pianta e suolo (RPS) del CREA, attraverso i quali sono stati caratterizzati i microrganismi presenti nel suolo in associazione con le risorse genetiche autoctone vegetali iscritte nel Registro volontario regionale, con l’obiettivo di valutare la fertilità biologica del suolo in siti di colture ortive e arboree.

Attualmente, la Regione Lazio ha finanziato un altro progetto in collaborazione con l’Università degli Studi di Napoli, Dipartimento di Agraria (DiA), per un’indagine sulla diversità microbica associata alle produzioni tipiche alimentari realizzate con le risorse genetiche autoctone animali e vegetali iscritte nel Registro volontario regionale. In particolare, il progetto prevede la ricerca di microrganismi su formaggi ovicaprini, mosti, salumi/insaccati, prodotti da forno lievitati. Tale progetto è ancora in itinere.

A seguito dell’emanazione della L. n. 194/2015 è emerso il problema di verificare la necessità di un adeguamento della legge regionale n. 15/2000 per introdurre la tutela della biodiversità microbica, ma considerate le difficoltà, rilevate anche durante questo ciclo di incontri, nella definizione dei criteri, non si è ancora proceduto in tal senso.

Gianluigi Mauriello, Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Napoli

Qualche mese fa ho partecipato ad un convegno sulla biodiversità nell’ambito della sovranità alimentare e in quell’occasione ho sottolineato che di biodiversità microbica si parla da pochissimo tempo. Addirittura, una delle istituzioni internazionali più importanti in questo campo come la FAO, solamente nella IX riunione della Conferenza del 2009 ha introdotto il termine “biodiversità microbica” nei propri documenti. Quindi, la questione della biodiversità microbica, oltre ad essere particolarmente complicata è anche un argomento relativamente “giovane” a livello internazionale. Inoltre, poiché è stimato che il 92-93% circa del mondo microbico è ancora

sconosciuto, non sappiamo se la biodiversità microbica sta crescendo o decrescendo. Pertanto, dobbiamo dire che è veramente tutto o quasi ignoto e per questo è necessario parlarne e soprattutto fare ricerca sull'argomento. Altro aspetto da sottolineare è la differenza tra la biodiversità microbica in un contesto ecologico generico e quella applicata al contesto agroalimentare. Tutti sanno che se ci avviciniamo a delle produzioni alimentari di livello medio-grande, di diversità microbica non ne abbiamo alcuna traccia per il fatto che vengono utilizzate delle colture starter. Quindi, è necessario promuovere i prodotti tradizionali, nel caso dei formaggi ad esempio prodotti con colture starter naturali (lattoinnesti o sieroinnesti). Il progetto finanziato dalla Regione Lazio riguarda tutti i prodotti fermentati della regione, con un focus sulla Marzolina, la cui produzione è molto diffusa ed esistono molte diverse versioni. L'approccio utilizzato dal Dipartimento di Agraria dell'Università degli Studi di Napoli per la caratterizzazione microbiologica dei prodotti è di tipo olistico, utilizzando sia metodiche "colturali" che "non colturali". Da una parte si stanno isolando microrganismi per creare una collezione microbica di ceppi che potranno poi essere riutilizzati nella produzione di questi prodotti, dall'altra si stanno utilizzando tecniche metagenomiche per avere un'impronta microbica dei prodotti.

LOMBARDIA

Laura Ronchi e Patrizia Riccobene, Regione Lombardia

1) La Regione/Provincia A. ha affrontato il problema? Se sì, quali iniziative ha preso?

La Regione ha finanziato nel tempo diversi progetti di ricerca, che sono stati utilizzati a supporto dei percorsi di riconoscimento come DOP o IGP di alcuni prodotti, ad esempio la Formaggella del Luinese- formaggio di solo latte di capra, il formaggio Silter, i formaggi Bitto e Valtellina Casera, cc.) I progetti hanno riguardato anche la selezione di fermenti a partire dalla flora microbica autoctona.

2) Esiste o no il rischio di estinzione nelle risorse genetiche microbiche di interesse agricolo e alimentare? Se sì, come è stato calcolato? Se no, perché allora se ne parla tanto e che cosa realmente interessa?

Stiamo assistendo ad un profondo mutamento delle popolazioni microbiche naturalmente presenti nei nostri ambienti, sia in termini di composizione delle nicchie ecologiche, con variazioni nei rapporti percentuali delle singole specie, che di scomparsa di quelle autoctone e o di presenza di nuove alloctone e specie emergenti. Un importante fattore di resilienza è dato dalla possibilità di conservazione e quindi dal poter disporre di ceppi microbici opportunamente gestiti e potenzialmente ancora utilizzabili per la produzione agro-alimentare (il CNR-ISPA ha una collezione di oltre 1000 ceppi batterici locali ma servirebbero più energie e strutture per garantirne la conservazione nel lungo periodo);

3) Quali principali progetti dovrebbero essere attivati, sia a livello della Vs. Regione/PA sia a livello nazionale, se del caso?

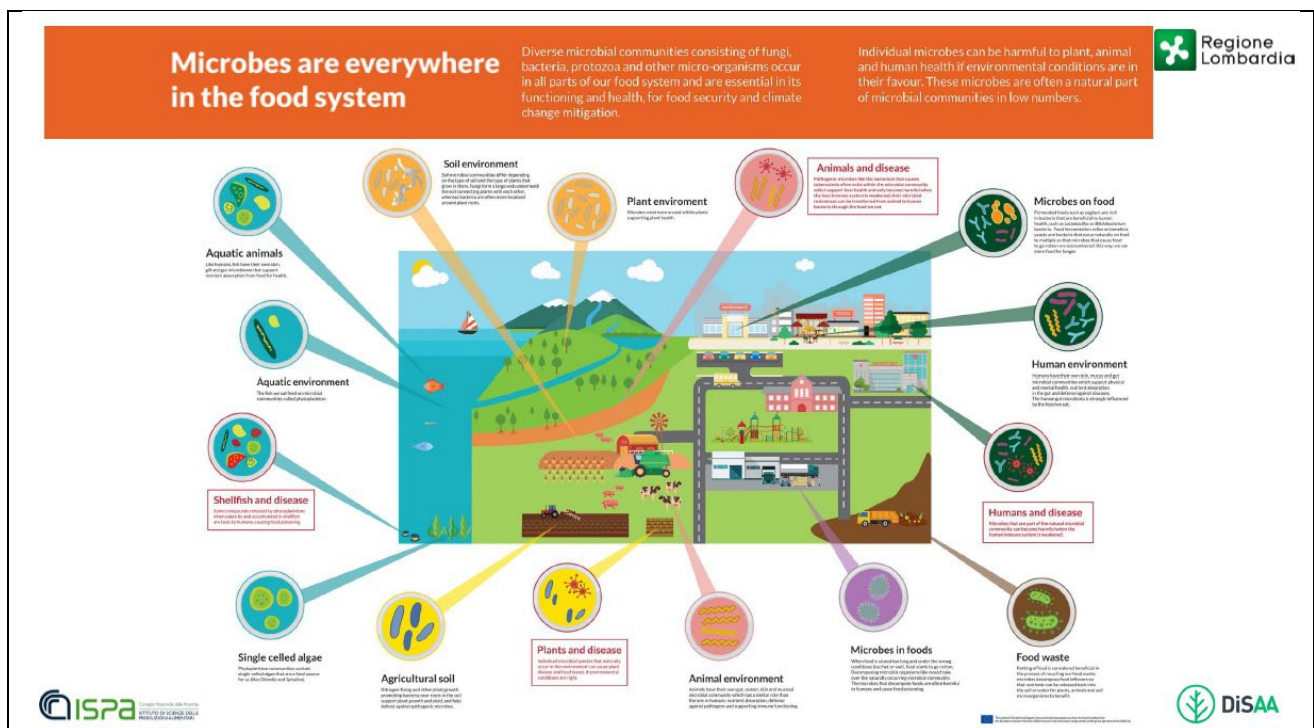
Finanziamenti: diverse realtà lombarde (riusciamo a dire quali? Mi sembra molto generico...CNR- ISPA.), se opportunamente finanziate, potrebbero utilmente divenire punti di collezione oppure rendere disponibili risorse genetiche che potrebbero essere preservate in un unico centro di conservazione.

Da gennaio 2022 opera l'Unità di Ricerca Congiunta MIRRI-IT (Università, CNR, OGS, ENEA) che ha tra i principali obiettivi il superamento della frammentazione nella disponibilità di risorse e servizi, migliorando il sistema di gestione della qualità delle collezioni microbiche, anche in funzione delle esigenze degli stakeholders interessati al trasferimento biotecnologico di queste risorse.

Milena Brasca, CNR Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari

Il lavoro che viene presentato è frutto della collaborazione con la Prof.ssa Paola Casati dell'Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali. Il lavoro è stato realizzato nell'ottica di voler condividere delle riflessioni più che voler rispondere esaustivamente a tutte le domande poste nella traccia consegnata.

I microrganismi sono protagonisti in tutti i sistemi agroalimentari e ogni ecosistema ha delle specificità proprie per cui uno degli aspetti su cui è utile fare una riflessione è che ogni ecosistema deve essere affrontato in relazione alla biodiversità microbica tenendo conto delle proprie particolari peculiarità.



Altro concetto, ampiamente sottolineato in questo contesto, è che alle attività umane consegue una selezione antropica della biodiversità microbica, unitamente, alle condizioni climatiche che hanno un altro importante impatto sulla biodiversità.

1 - Risorsa genetica, ovvero ceppi, popolazioni e cosa altro?

Perchè risorsa?

CONSENSUS STATEMENT

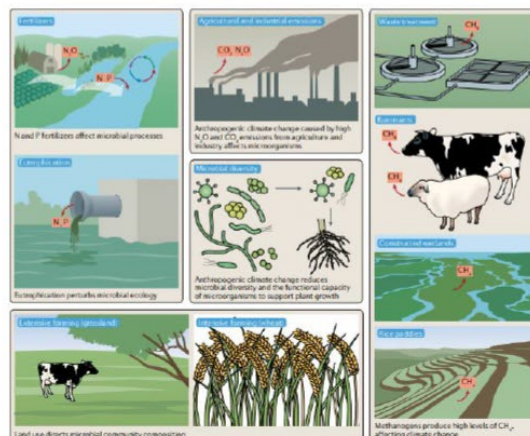
OPEN

Scientists' warning to humanity: microorganisms and climate change

Ricardo Cavicchioli^{1,2,3,4}, William J. Ripple⁵, Kenneth N. Timmer⁶, Rana Azam⁷, Lars R. Bakken⁸, Matthew Baylis⁹, Michael J. Behrenfeld¹⁰, Anja Boettus^{11,12}, Philip W. Boyd¹³, Anne T. Classen¹⁴, Thomas W. Crowder¹⁵, Roberto Danovaro^{16,17}, Christine M. Foreman¹⁸, Jief Hu^{19,20}, David A. Hatcher²¹, Janet E. Jansson²², David M. Karl²³, Britt Koskella²⁴, David B. Mark Welch²⁵, Jennifer B. H. Martiny²⁶, Mary Ann Moran²⁷, Victoria J. Orphan²⁸, David S. Reay²⁹, Justin V. Remaso³⁰, Virginia L. Rich³¹, Benjamin K. Singh³², Lisa Y. Steingard³³, Frank J. Stewart³⁴, Matthew B. Sullivan³⁵, Madeleine J. H. van Oppen^{36,37}, Scott C. Weaver³⁸, Eric A. Webb³⁹ and Nicole S. Webster^{40,41}

Nat Rev Microbiol 17, 569–586 (2019)

Impatto del cambiamento climatico dipenderà fortemente dalle risposte dei microrganismi, che sono essenziali per il raggiungimento di un futuro sostenibile dal punto di vista ambientale. Le attività umane e condizioni climatiche avverse causano una riduzione della diversità microbica



Quale risorsa conservare e chi ne fa la conservazione?

Ceppi microbici (batteri, funghi): isolati in purezza caratterizzati da variazioni genetiche, morfologiche, caratteristiche biologiche, metaboliche, tecnologiche e funzionali.....
E i virus?



Consorzi microbici: mock microbial communities, impasti acidi, latte-siero-innesto....



Popolazioni in situ: impasti acidi, latte-siero-innesti, coltivazioni e allevamento, suolo....

Collezioni microbiche

Strutture di conservazione dei microrganismi, capaci di preservarne la biodiversità e facilitare l'accesso ai ceppi microbici da parte delle comunità scientifiche e industriali

Rete italiana delle collezioni microbiche MIRRI-IT

In Lombardia diverse collezioni CNR ISPA, CREA, UNIMI, ma nessuna collezione agro-alimentare certificata

Agricoltore/Allevatore/produttore

La maggior parte dei microrganismi non è coltivabile e ad oggi non ne conosciamo il ruolo

La conservazione di ceppi microbici di batteri, funghi e aggiungiamo anche di virus, è un processo consolidato che deve essere eseguito da collezioni microbiche strutturate applicando protocolli condivisi a livello internazionale. Va sottolineato che ci sono, come già emerso, una serie di collezioni microbiche "di lavoro", collezioni cioè che forniscono quotidianamente il materiale vivente per scopo di studi, che diversi Centri di ricerca e Università anche lombardi hanno implementato negli anni. Presso la sede di Milano di CNR ISPA esiste una collezione di alcune migliaia di ceppi. I ceppi più interessanti per caratteristiche tecnologiche e/o funzionali sono depositati presso la sede di Bari dove esiste una collezione certificata appartenente alla Rete

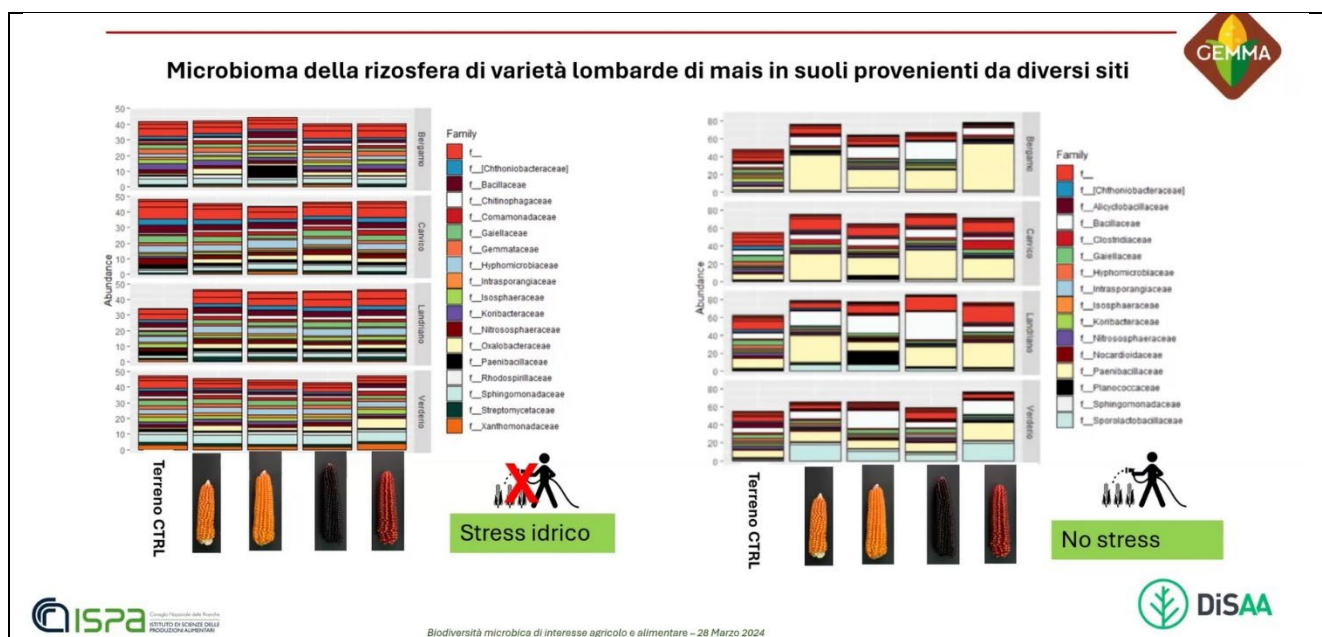
italiana delle collezioni microbiche MIRRI-IT in modo da garantirne la conservazione; anche il CREA e l'Università di Milano hanno altre collezioni.

Tutte le collezioni “di lavoro” andrebbero auspicabilmente messe “in rete” in qualche modo per non perdere quelli un patrimonio acquisito negli anni, i microrganismi sono di per sé un valore e, se non conservati in idonee condizioni, mutano o perdono la loro vitalità.

La sfida futura è sicuramente la conservazione dei consorzi microbici su cui si sta lavorando, siano essi colture naturali come impasti acidi, latte e siero innesti o piuttosto popolazioni microbiche presenti in specifiche matrici che si vogliono conservare per molteplici scopi.

L'altra sfida attuale è la conservazione delle popolazioni “in situ”. Molti microrganismi non sono coltivabili, non ne conosciamo il ruolo/l'importanza, e probabilmente stiamo sottostimando o sottovalutando una parte della biodiversità microbica; da qui l'importanza di conservare “in situ” e l'importanza che ha un sito in sé stesso, questo è un problema aperto. Questo tipo di conservazione viene attuata dall'agricoltore, l'allevatore, un produttore di alimenti.

Un altro punto di riflessione è dato dal fatto che le condizioni climatiche modificano la biodiversità. Nell'immagine che segue sono stati riportati i risultati del progetto “GEMMA” che la Regione Lombardia ha finanziato, nella quale si evidenzia il microbioma della rizosfera di diverse varietà di mais lombarde coltivate in suoli originari da diversi siti, in condizioni di stress idrico nella parte sinistra e in assenza di stress idrico nella parte destra dell'immagine.



Macroscopicamente si evidenzia che le condizioni di stress idrico appiattiscono, riducono la biodiversità, che tra l'altro è molto simile tra i suoli delle diverse varietà di mais e tra i diversi siti di provenienza e in queste condizioni è anche molto simile ai terreni di controllo. Il risultato finale evidenzia l'impoverimento della biodiversità in terreni soggetti a stress idrici.

Nelle fasi di tutela della biodiversità microbica riportate nell'immagine che segue, il Nucleo di valutazione della Lombardia, vuole mettere l'accento sull'isolamento.

2 - Fasi di tutela della biodiversità



Quando si va ad isolare un microorganismo si ha un interesse specifico: si vuole caratterizzare un prodotto, un'origine, una tecnologia produttiva o un sistema produttivo, si vuole verificare l'influenza di condizioni climatiche, ecc. C'è sempre un interesse molto specifico e focalizzato ossia limitato.

3 - Individuazione della risorsa genetica

Isolamento da un campione di interesse per

- Prodotto tipico,
- Origine geografica
- Tecnologia/sistema produttivo
- Condizioni climatiche
- Fonte di biodiversità autoctona
- Tessitura, coltivazioni, lavorazioni, trattamenti, insetti, nematodi.....nel caso del suolo

ma.....

L'isolamento e la caratterizzazione di un microorganismo è generalmente finalizzata ad uno specifico carattere (tra i tanti che lo caratterizza) oppure alla descrizione di una popolazione microbica

Esiste una stretta relazione tra i microrganismi e l'ambiente, compresi i micro- e macrorganismi presenti, sia in termini di composizione che di attività espresse



A volte si procede all'isolamento per caratterizzare una popolazione microbica in aggiunta a metodologie che descrivono la popolazione microbica mediante approccio molecolare come, ad esempio, l'analisi di NGS (next generation sequencing).

Dobbiamo anche considerare in funzione dell'obiettivo di isolare ceppi batterici che c'è una stretta relazione, che può influenzare il risultato, tra:

- i microrganismi e l'ambiente in cui si trovano a vivere;
- microrganismo e microrganismo e la restante popolazione microbica;
- microrganismo e ospite, sia esso vegetale che animale.

Questo, sia in termini di sopravvivenza che in termini di attività espresse.

Anche la caratterizzazione dei microrganismi è quasi sempre finalizzata allo scopo dell'isolamento e dell'eventuale valorizzazione dei ceppi microbici che si vanno a isolare.

4 - Caratterizzazione

1. Molecolare
2. Tecnologica
3. Metabolomica
4. Biologica e funzionale



Le metodologie sono in continuo mutamento

La profondità delle analisi è determinata dallo scopo dell'isolamento e della caratterizzazione

Le metodologie di caratterizzazione sono in continuo mutamento e la profondità delle analisi che si vanno ad eseguire è strettamente correlata con l'utilizzo o con la finalità dell'isolamento. Quindi anche per la caratterizzazione rileviamo necessariamente diversi scopi e diversi approcci.

5 - Conservazione

La conservazione può influenzare la vitalità o introdurre la possibilità di un cambiamento nelle caratteristiche di una coltura. Esistono diverse tecniche per la conservazione dei microrganismi, le più efficaci nel lungo periodo sono la disidratazione e la crioconservazione

Table 1 Overview of advantages and disadvantages of two main long-term preservation methods

	Cryopreservation	Lyophilization
Success rate	High; deterioration of quality over time is dependent on freezing temperature and temperature stability	Lower; (almost) no deterioration of quality over time
Accessibility	Cheaper; easy protocol	Specialized equipment and trained personnel required; complex protocol
Storage	-20 °C, -80 °C or -196 °C	Dark, acclimatized room (5-15 °C)
Stability preserved culture	Depends on freezing temperature and temperature stability; from <5 years (>-80 °C) to >35 years or more (<-135 °C)	>35 years or more
Target organisms	Broad diversity; recommended for fastidious, oligotrophic organisms	Limited diversity
Dissemination preserved culture	Difficult	Easy

Per evitare rischi di modificazioni genetiche, si devono conservare i ceppi liofilizzati o conservati a bassissima temperatura in azoto liquido o in ultracongelatori che mantengono temperature al di sotto di -140°C.



La conservazione deve essere fatta da infrastrutture dedicate e idonee. Per esempio in Lombardia, in seguito ad una piccola indagine e si è rilevato che non esistono infrastrutture idonee alla conservazione nel lungo periodo di ceppi microbici di interesse agroalimentare e questo può rappresentare un punto critico.

La Lombardia è da sempre molto attenta a quella che è la valorizzazione della biodiversità microbica. Si riportano due tipologie di studio che negli anni sono state finanziate:

1. isolamento di batteri lattici per il loro utilizzo come colture starter autoctone. Partendo da produzioni senza uso di innesti del commercio si sono isolati ceppi di batteri lattici che sono stati caratterizzati in relazione a diverse attività tecnologiche. Sono quindi state formulate miscele starter autoctone che derivano dallo specifico processo produttivo, sono state preliminarmente testate in caseifici e quindi utilizzate in diversi formaggi DOP o tradizionali come ad esempio Formaggella del Luinese, Valtellina Casera, Bitto, Silter ecc.

6 - Valorizzazione e reintroduzione sul territorio – Caso studio 1/2



Batteri lattici



1) Identificazione

2) Caratterizzazione tecnologica

- Capacità acidificante
- Capacità riducente
- Attività proteolitica
- Attività lipolitica
- Profilo aromatico
- Bioprotezione

3) Formulazione di miscele starter

4) Scale-up



Biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare – 28 Marzo 2024



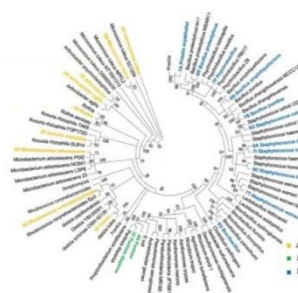
2. un altro studio realizzato è relativo a 4 varietà di mais lombarde in cui è stata caratterizzata la popolazione microbica dell'embrione del mais mediante del microbioma; sono stati anche isolati circa 360 ceppi dei quali 107 sono stati selezionati perché possedevano delle caratteristiche di interesse, ossia erano potenziali promotori della crescita o inibitori di patogeni fungini e batterici. Anche qui si sono selezionati solo quelli che rispondevano a queste specifiche caratteristiche.

Lo scopo ulteriore di questo isolamento è quello di verificare se, nel succedersi delle annate di produzione, avviene una conservazione "in situ" di questi ceppi nelle varietà di mais di origine.

6 - Valorizzazione e reintroduzione sul territorio – Caso studio 2/2



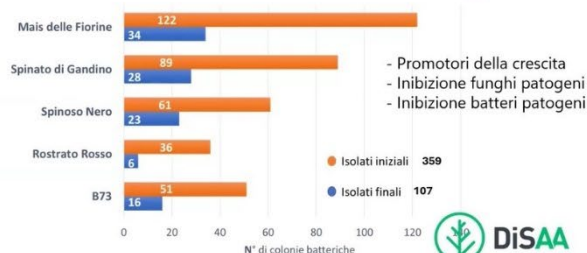
Spinato Nero della val Camonica
Rostrato Rosso di Rovetta
Spinato di Gandino
Fiorine di Clusone



Studio del microbioma



Ceppi isolati



Conservazione in situ?



Biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare – 28 Marzo 2024



8 -Momenti di confronto periodici - tematiche



Gli aspetti di interesse, le metodologie e i costi delle analisi sono in continuo divenire, è quindi molto utile che siano periodicamente messi in discussione e il confronto delle diverse esperienze può essere molto utile

In merito ai progetti da attivare sul tema della biodiversità microbica, anche nel confronto con Regione Lombardia, riteniamo che sia importante:

- Avere dei gruppi di lavoro distinti per ecosistema, questo per la loro diversa specificità;
- Eseguire studi di biodiversità microbica con la più ampia finalità possibile;
- Dotare le collezioni “di lavoro” di infrastrutture per la conservazione dei ceppi nel medio/lungo periodo; ossia sarebbe utile non perdere le collezioni che i vari centri di ricerca hanno raccolto nel tempo;
- Implementare la rete delle collezioni lombarde di microrganismi di interesse agroalimentare nell’ambito nazionale;
- Creare un database integrato delle risorse microbiche presenti nelle diverse collezioni italiane. Una possibile strada può essere un collegamento con il database che si sta implementando nel progetto SUSMIRRI;
- Definire un set minimo condiviso di informazioni per il deposito.

MARCHE

Ambra Micheletti, Agenzia per l'Innovazione nel Settore Agroalimentare e della Pesca "Marche Agricoltura Pesca" (AMAP)

La Regione Marche tramite l'AMAP ha rappresentato un progetto di approccio alla tematica della biodiversità microbica, attraverso il Fondo dell'art. 10 della L. 194/2015. E' stata un'esperienza limitata, ma grazie all'Università Politecnica ed in particolare del DiSVA (Dipartimento Scienze della Vita e dell'Ambiente) e del D3A (Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari, ed Ambientali) è stato possibile iniziare ad esplorare questo mondo partendo dall'analisi di due procedimenti di trasformazione di due prodotti tipici regionali: il formaggio Pecorino dei Sibillini e il Ciauscolo IGP.

E' stata effettuata una ricognizione sui due prodotti, sia a livello bibliografico, sia su ciò che veniva già conservato nelle collezioni microbiche dell'Università Politecnica, sia nelle diverse fasi di lavorazione dei due prodotti. Qui il lavoro si è interrotto. Per la caratterizzazione di queste produzioni esaminate, la biodiversità microbica è risultata fondamentale e poi è rimasto un punto aperto di progettualità.

L'AMAP si è confrontata anche con la Regione Sardegna per i lavori che hanno già realizzato in quella regione e anche l'incontro di oggi serve per meglio definire gli obiettivi futuri e il lavoro da realizzare.

Crediamo che la cosa migliore sia una progettualità congiunta a livello nazionale, soprattutto per l'individuazione della banca del germoplasma più adatta.

Si potrebbe sfruttare per esempio l'intero budget del Fondo della L. 194/2015 di una annualità per costruire una progettualità di respiro nazionale riguardante la sezione microbica.

PIEMONTE

Nadia Ansaldi, Regione Piemonte

La Regione Piemonte al momento non ha progetti in essere per quanto riguarda la biodiversità microbica. Sul territorio regionale ci sono enti che si occupano di questa materia in particolare ricordiamo la Prof.ssa Cristina Varese dell'Università degli Studi di Torino, che è membro del Nucleo di valutazione della Regione Piemonte e sta collaborando in qualità di esperta insieme a colleghi di altre regioni, per la redazione del Piano Nazionale delle Biodiversità di interesse Agricolo e Alimentare.

Il rischio di erosione genetica esiste a livello di "ceppi" di microrganismi. Microrganismi che contribuiscono in modo rilevante a determinare qualità dei prodotti tradizionali quali vini, formaggi, salumi, ecc. conferendo loro la tipicità dei sapori.

Sarebbe opportuno sostenere questo settore con progetti specifici sulla caratterizzazione di determinati ceppi microbici e le risorse non dovrebbero essere concentrate in un breve periodo di tempo, ma prolungati in un arco temporale tale da garantire la conservazione nelle banche del germoplasma di questi ceppi di microrganismi.

A proposito di biodiversità microbica occorre mettere a fattore comune, in modo tale che questi progetti siano conosciuti e diventino uno strumento reale di lavoro per tutti, che il PNRR ha finanziato un progetto volto alla realizzazione del catalogo nazionale dei microrganismi.

Giovanna Cristina Varese, Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi, Università di Torino

Le biobanche microbiche: uno strumento fondamentale per la conservazione e valorizzazione della biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare

I microrganismi sono indispensabili per il funzionamento degli ecosistemi agrari e per la filiera alimentare.

I microrganismi sono organismi microscopici e si trovano ovunque nel sistema alimentare.

Sono essenziali per:

- regolare i cicli biogeochimici e il riciclo della materia organica;
- Influenzano struttura e fertilità dei suoli;
- la salute delle piante, degli animali, dell'uomo e dell'ambiente, con un conseguente impatto in termini di produttività delle colture e del bestiame;
- Influenzano la qualità e sicurezza degli alimenti.

La composizione delle comunità microbiche differisce all'interno del sistema alimentare, a seconda delle condizioni ambientali.

2,3 milioni di specie descritte; 30 milioni di specie stimate; >90% della biodiversità microbica deve ancora essere scoperta!

Perché la tutela della biodiversità microbica è più indietro rispetto a piante e animali?

La biodiversità microbica è considerata una risorsa preziosa per la scienza e l'industria, con implicazioni per l'economia e la finanza.

I microrganismi, e i microbiomi di interesse agricolo e alimentare, svolgono ruoli fondamentali per:

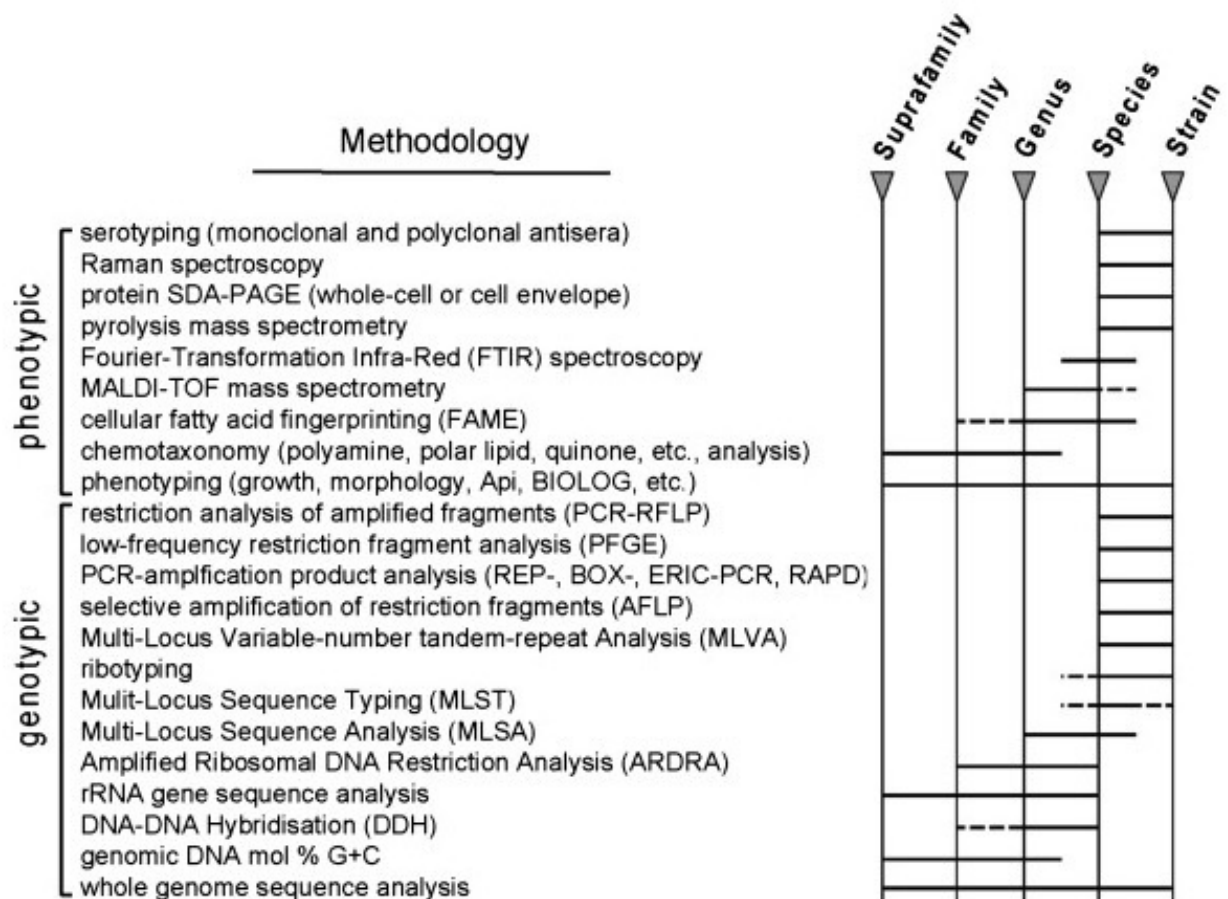
- garantire cibo buono e sicuro a tutta la popolazione mondiale;
- mitigazione cambiamenti climatici;
- biorisanamento;
- Bioeconomia.

JRU MIRRI-IT (www.mirri-it.it): il network nazionale delle collezioni di microrganismi; 26 Istituzioni sparse sul territorio nazionale.

15 Istituzioni della rete MIRRI-IT stanno collaborando al progetto PNRR SUS MIRRI.IT volto a rafforzare la rete nazionale di biobanche di microrganismi (virus, batteri, lieviti, funghi filamentosi e microalghe) per preservare e valorizzare la biodiversità microbica fornendo strumenti efficaci per affrontare le grandi sfide sociali, economiche e ambientali. Per un budget totale: 16.904.434,50 €. 24 UO appartenenti a 15 Istituzioni; UNITO ha il coordinamento nazionale (<https://www.sus-mirri.it/it/>)

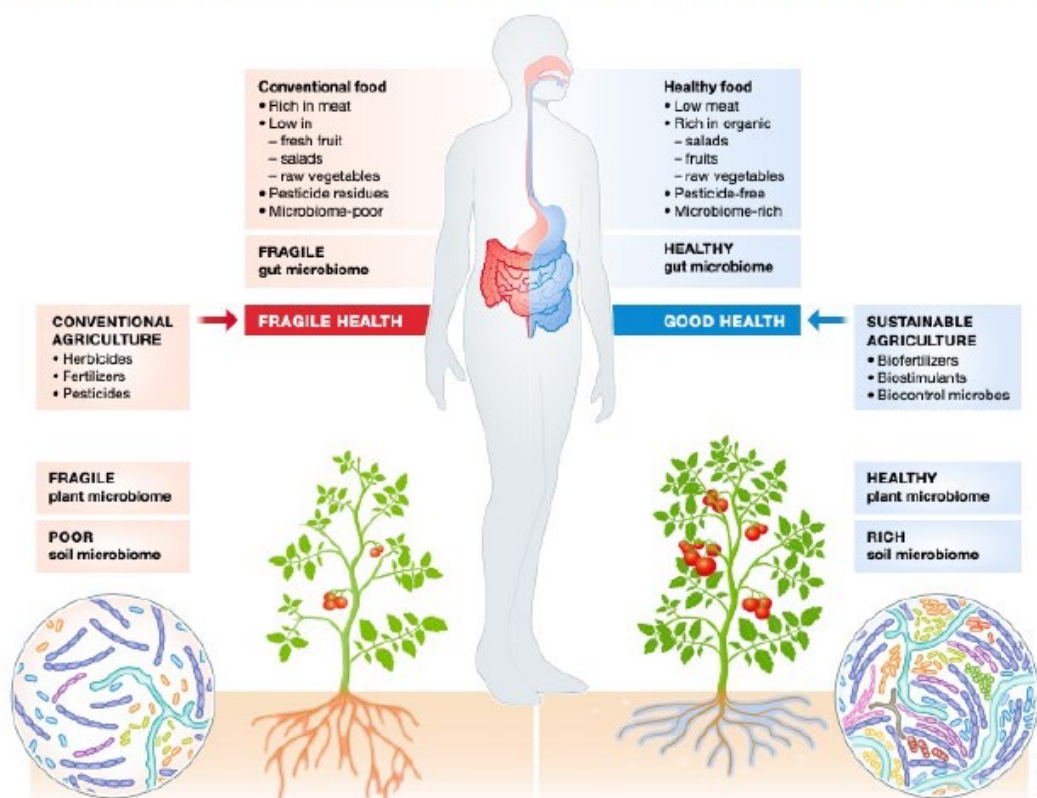
Il concetto di specie ha subito diversi cambiamenti a seconda del tipo di organismo considerando principalmente macrorganismi (piante o animali). Per i microrganismi il concetto di specie è passato dal prendere in considerazione aspetti legati alla morfologia, ecologia, biologia ad un approccio polifasico.

Il concetto di indentificazione polifasica implica a combinazione di caratteri quali morfologia, fisiologia, marcatori biochimici e sequenziamento di varie regioni del DNA conosciute come marcatori molecolari.



Healthy soils for healthy plants for healthy humans

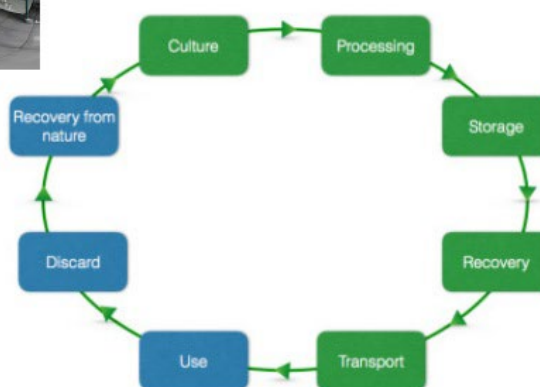
I microrganismi benefici del suolo, del cibo e dell'intestino sono interconnessi



La biodiversità microbica *ex situ* è mantenuta dalle **biobanche microbiche**



Le biobanche microbiche garantiscono il «ciclo di vita» dei microrganismi dall'isolamento, all'identificazione, caratterizzazione fino all'utilizzo e al corretto smaltimento.



Cosa sono le biobanche microbiche?

Le collezioni di colture stanno ai microrganismi come le biblioteche stanno ai libri.

I microbiologi che lavorano nelle collezioni di colture sono veri esperti di biodiversità microbica. Nel corso degli anni hanno sviluppato competenze e competenze specifiche in:

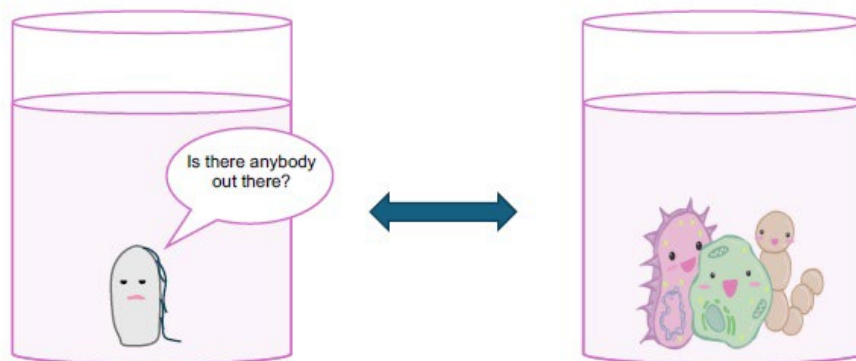
- Raccolta dei campioni e isolamento dei ceppi
- Caratterizzazione dei ceppi (identificazione e caratterizzazione funzionale)
- Conservazione
- Distribuzione (biorisorse e metadati, divulgazione)
- Aspetti normativi e di biosicurezza

La valorizzazione delle risorse microbiche obbliga le collezioni di colture a seguire regole:

- Operare seguendo rigide procedure secondo quello che viene chiamato il “sistema di gestione della qualità”;
- Rispettare numerose norme legali riguardanti la sicurezza microbiologica o lo sfruttamento dei microrganismi.

Dal 12 ottobre 2014 le regole sono stabilite da un accordo internazionale denominato Protocollo di Nagoya sull'accesso e la condivisione dei benefici che mira a proteggere l'uso delle risorse genetiche e condividere i benefici derivanti dal loro utilizzo in modo giusto ed equo, contribuendo così alla conservazione e all'uso sostenibile della biodiversità.

Dalle collezioni di isolati alla gestione di consorzi e microbiomi



Sviluppo di nuove strategie per conservare consorzi e microbiomi invece di singoli isolati
(problematiche e tecnologie differenti a seconda del campo di interesse)

Conservazione dei microbiomi per:

- Supportare produzione primaria e produzione alimentare (i.e. SynCom)
- Garantire salute del suolo e delle piante (i.e. biofertilizzanti, agenti di biocontrollo)

- Garantire salute degli animali, uomo incluso
- Ripristino degli ecosistemi e biorisanamento ambientale
- Valorizzazione della biomassa e produzione di biocarburanti o di altre molecole bioattive
- ...

La conservazione dei microbiomi è una delle maggiori sfide che le collezioni dovranno affrontare nel prossimo futuro: messa a punto di SOP per il campionamento, l'identificazione, la conservazione e la valorizzazione dei microbiomi.

Conservazione microbiomi nella loro interezza è difficile

Si sta lavorando su Standard Operation Procedures (SOP) per:

- Campionamento
- Trasporto
- Identificazione tassonomica
- Identificazione funzionale
- Conservazione a lungo termine
- Valorizzazione

Pre- e Post- validazione della vitalità e della funzionalità dei campioni conservati.

In natura i microrganismi non esistono separati, ma formano interazioni complesse tra le diversi componenti.

Queste interazioni sono controllate da:

- fattori biotici e abiotici
- una varietà di meccanismi molecolari

Non esiste un protocollo standardizzato universale per la conservazione di consorzi microbici di interesse agro-food.

In alcuni casi più facile assemblare comunità sintetiche (SynCom).

MIRRI-IT in Europa

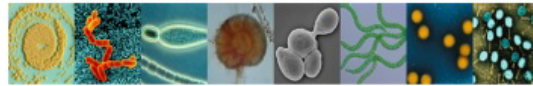
Una rete di oltre 50 centri di risorse biologiche dedicati ai microrganismi in Europa.

Recentemente MIRRI (Microbial Resource Research Infrastructure) ha raggiunto lo status di European Research Infrastructure Consortium (ERIC) e lo status di “Landmark” nella Roadmap 2021 del Forum strategico europeo sulle infrastrutture di ricerca (ESFRI).

Stiamo finalizzando i documenti per l'ingresso dell'Italia nel MIRRI-ERIC europeo.

SUS-MIRRI.IT riunisce e dà accesso, attraverso un unico portale, a risorse e competenze scientifiche di eccellenza...

Ampio catalogo di circa 100.000 risorse microbiche di alta qualità e dati associati



Competenza scientifica in bioprospezione microbica, conservazione, culturomica, tassonomia, questioni legali/normative e istruzione/formazione



✓ Trasferimento tecnologico e formazione in ambiti applicativi di grande rilevanza, quali Salute, Alimentazione, Agricoltura, Ambiente ed Energia (e loro intersezioni)



Il network MIRRI-IT sarà in grado di garantire l'intera filiera relativa alla biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare:



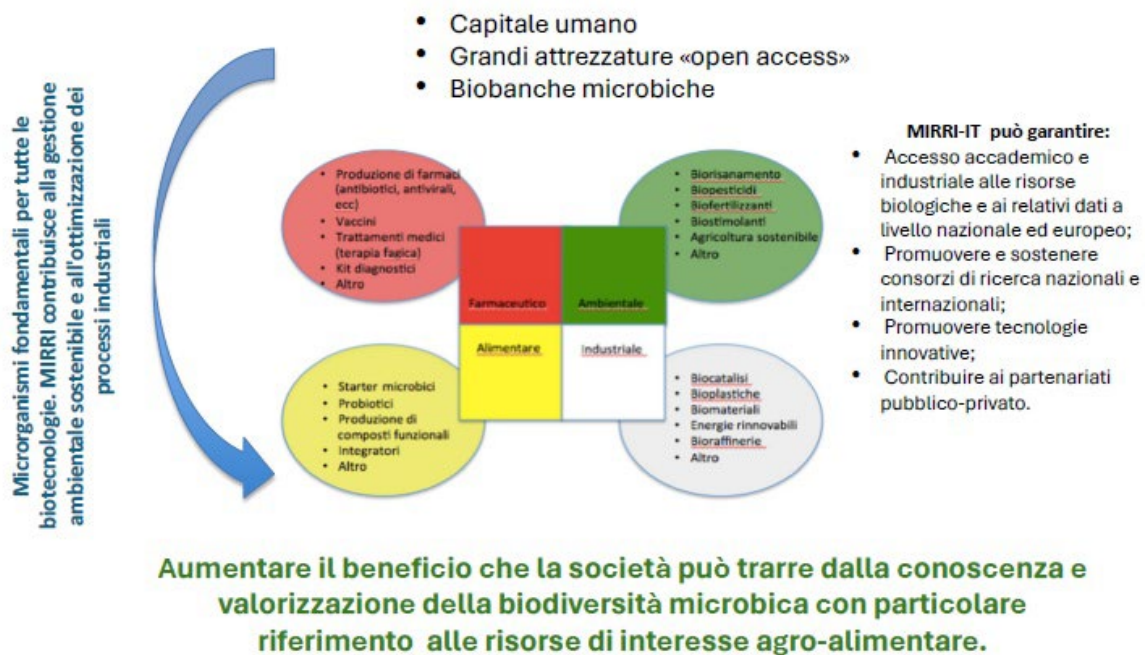
- approcci culturomici dedicati per singoli microrganismi e microbiomi;
- metodi di identificazione all'avanguardia;
- metodi innovativi di conservazione dedicati a tutti i gruppi di microrganismi;
- caratterizzazione genotipica e fenotipica dei ceppi di interesse;
- valorizzazione dei microrganismi in vari settori; interazione con le parti interessate e accesso aperto.

Open access

Stakeholders

Abbiamo bisogno di un supporto a lungo termine dell'infrastruttura per garantire questi servizi.

MIRRI-IT come “Microbiome innovation centre” distribuito a livello nazionale



Rendere disponibile una straordinaria biodiversità per la ricerca accademica e la società, inclusa la bioindustria (produzione primaria, alimenti del Made in Italy, etc).

- Garantire conservazione delle risorse microbiche e relativi metadati secondo gli standard più elevati;
- Garantire riproducibilità;
- Garantire progresso tecnologico attraverso un'opportuna valorizzazione delle risorse microbiche.

Quali sono i compiti che potrebbero essere svolti dai «custodi»?

Nel caso di una risorsa genetica microbica il custode è la persona che provvede alla conservazione in situ, nell'ambito dell'azienda agricola e/o dell'ambiente produttivo, delle RG locali di interesse agrario a rischio di estinzione iscritte nel Repertorio regionale.

- Difficilmente essi potranno provvedere alla messa in sicurezza delle RG di cui sono custodi, proteggendole e salvaguardandole da qualsiasi forma di contaminazione, alterazione o distruzione (possono impegnarsi a non utilizzare starter industriali alloctoni);
- Possono contribuire alla conservazione della biodiversità utilizzando nelle loro attività (produzione di alimenti, coltivazione di specie vegetali, allevamento di animali) le RG conservate ex situ nelle Collezioni;
- Possono partecipare alla diffusione della loro conoscenza e del loro utilizzo;

- Difficilmente hanno le competenze per occuparsi della loro riproduzione/moltiplicazione, se non mantenendo l'ambiente produttivo il più "indisturbato" possibile.

I protagonisti del sistema di conservazione delle RG microbiche sono quindi le biobanche microbiche che agiscono a supporto dei custodi.

Le biobanche microbiche possono supportare tutte le fasi di tutela dell'agrodiversità microbica.

1. Individuazione della risorsa genetica: isolamento e identificazione se parliamo di singoli ceppi;
2. Caratterizzazione genotipica e fenotipica: dipende dal tipo di microrganismo e dal tipo di caratterizzazione che si vuole;
3. Conservazione: disponibili tecniche di conservazione a lungo termine per la maggior parte dei microrganismi coltivabili – safe deposit; non ancora validate tecniche di conservazione a lungo termine per consorzi microbici;
4. Valorizzazione e reintroduzione nel territorio: produzione su larga scala di microrganismi relativamente costosa- interesse industriale e vincoli legislativi legati al campo di utilizzo.

Innovazione sostenibile dei microrganismi nel sistema alimentare

- Miglioramento della crescita delle piante che promuovono i microrganismi (biofertilizzanti, biostimolanti): applicazioni sul campo, efficacia e riproducibilità;
- Maggiore tolleranza agli stress idrici e salini delle piante;
- Riduzione di agrofarmaci e fertilizzanti chimici grazie alla selezione di agenti di controllo biologico;
- Valorizzazione di sottoprodotti agrofood per la produzione di nuovi materiali/prodotti (bioeconomia ed economia circolare);
- Messa a punto di protocolli per la crioconservazione e ricostituzione funzionale di comunità microbiche complesse;
- Microrganismi/Microbiomi per una produzione alimenti e mangimi sostenibile di alta qualità (> apporto nutrizionale);
- Ottimizzazione dei parametri di fermentazione per migliorare la fermentazione e la qualità del prodotto finale;
- Valutazione della sostenibilità e potenziale adozione di nuove tecnologie/prodotti;
- Approfondimenti sull'atteggiamento dei consumatori e sui rischi percepiti nei confronti dei prodotti alimentari ottenuti utilizzando applicazioni microbiche;
- Una nuova strategia efficace ed economica per incentivare gli agricoltori ad adottare più frequentemente le risorse microbiche;
- Marchi di qualità?

PUGLIA

Anna Maria Cilardi, Regione Puglia

La Regione Puglia non ha ancora attivato progetti specifici sulla biodiversità microbica, ma visti gli eccellenti interventi di questa mattina, la tematica diventa sempre più stringente anche per il lavoro delle Regioni.

Una considerazione: sembra che venga fuori sempre più pressante la necessità di un aggiornamento della normativa esistente sulla biodiversità microbica. Infatti sia le leggi regionali che la normativa nazionale necessitano di un aggiornamento perché le esigenze si sono evolute velocemente. Questo è un buon segno perché vuol dire che si è lavorato fino ad intravedere nuovi sviluppi per il futuro.

La Regione Puglia sta per pubblicare un nuovo avviso per il riconoscimento dei Centri di conservazione ex situ delle risorse genetiche autoctone in cui è stata inserita la possibilità di una banca del germoplasma delle risorse microbiche. Questo perché, oltre ad avere presente in Puglia una realtà eccellente rappresentata dall'Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari (ISPA) del CNR i progetti che il CNR ha attivato riguardano essenzialmente l'utilizzo di ceppi autoctoni nelle produzioni agroalimentari tradizionali. Si intende quindi valorizzare le conoscenze già presenti sul territorio regionale e come accaduto per le risorse genetiche vegetali e animali, mettere in rete conoscenze e saperi locali. Le risorse microbiche entrano a pieno titolo nelle politiche dei Distretti del cibo e nelle strategie delle politiche del cibo a livello regionale e nazionale.

Antonio Moretti, Direttore del CNR – Istituto di scienze delle produzioni alimentari (ISPA) di Bari e Giancarlo Perrone, responsabile scientifico della collezione ISPA

Si intende seguire i punti della traccia di lavoro che ci è stata trasmessa, omettendo le parti sulla quali i colleghi che mi hanno preceduto, si sono già espressi in modo esauriente.

Chi può fare la conservazione?

Anche le biobanche o banche del germoplasma.

Il CNR-ISPA ha una collezione di funghi tossigeni che è partita nel 1997 ufficialmente, con 5000 ceppi; nel 2001 il ISPA è diventato una Collezione colturale microbica con circa 12000 ceppi tra funghi, batteri e lieviti; nel 2003 è stato creato un Web dinamico; nel 2015 CNR-ISPA è entrato a far parte del progetto europeo MIRRI; nel 2017 il CNR-ISPA insieme all'Università di Torino, ha contribuito alla realizzazione del JRU MIRRI; nel 2018 è stata ottenuta la certificazione ISO 9001:2015 35674/17/S; nel 2022 il CNR-ISPA è coinvolto nel progetto infrastrutturale SUS-MIRRI.IT.

Il CNR-ISPA è anche membro di European Culture Collection Organization e della World Federation for culture Collection.

La collezione ITEM include circa 14.000 risorse microbiche in questo momento, particolarmente focalizzata sui funghi tossigeni e funghi fitopatogeni del genere *Alternaria*, *Aspergillus* e *Fusarium*. In collezione ci sono anche funghi molto utili per il controllo biologico come *Trichoderma*, *Beauveria*, *Aerobasidium*.

Un'altra parte della collezione riguarda i ceppi e i batteri utili per applicazioni biotecnologiche.

Now ITEM includes about 14,000 microbial strains (of which 8,500 are public) belonging mainly to fungal toxigenic and phytopathogenic genera:

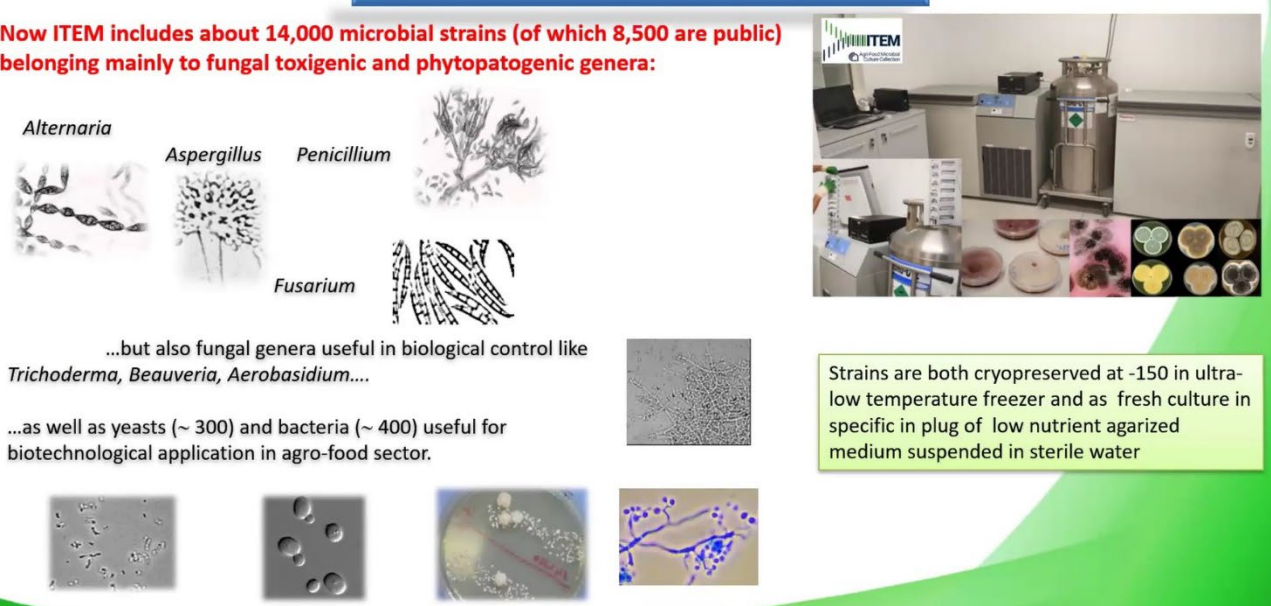
Alternaria *Aspergillus* *Penicillium*

Fusarium

...but also fungal genera useful in biological control like *Trichoderma*, *Beauveria*, *Aerobasidium*...

...as well as yeasts (~ 300) and bacteria (~ 400) useful for biotechnological application in agro-food sector.

Strains are both cryopreserved at -150 in ultra-low temperature freezer and as fresh culture in specific in plug of low nutrient agarized medium suspended in sterile water



I ceppi sono preservati a -150°C.

Il Web-site è utilizzato per il "safe deposit" delle colture, come per esempio mantenere dei ceppi che non si vogliono diffondere. Inoltre si ha un deposito di colture che sia di pubblica disponibilità e in questo caso sono disponibili i ceppi anche per l'acquisto da parte di terzi. Viene seguito il Protocollo di Nagoya.

Web-sites and Services

Safe deposit of cultures.
The ITEM offers a confidential safe deposit service for those valuable cultures for which patent protection has not been sought. (fees of deposit and annual maintenance are requested)

Deposition and preservation of cultures in the public collection.
Cultures can be deposited in the public collection and are available for any third parties. This deposit is free of fees.

2 documents should accompany the strain deposition:

- PIC – Prior Informed Consent from the local Authority
- MAA – Material Acquisition Agreement – (From Nagoya protocol effective from October 2014)

Ordering
Cultures of filamentous toxigenic fungi could be ordered directly on the web site by download the pdf form. The fees are different for research/governmental institutes and private companies.

ISPA supplies viable and authentic cultures.

2 documents should be signed by the purchaser:

- Acceptance of responsibility for potential toxin producer
- MTA – Material Transfer Agreement – (From Nagoya protocol effective from October 2014)

www.ispa.cnr.it/Collection



Per quanto riguarda gli ordini, il CNR-ISPA garantisce, soprattutto per i funghi tossigeni, la possibilità di ordinarli direttamente sul Web-site.

Seguendo i punti della traccia di lavoro che riguardano la tutela e la conservazione della biodiversità microbica, occorre:

- individuazione della risorsa genetica: isolamento microrganismi benefici/patogeni da vari ambienti, come esempio cibi fermentati, rizosfera, microbiomi, piante, ecc.
- caratterizzazione microrganismi: morfo-ecologica, genetico-molecolare, metabolomica, funzionale;
- conservazione: ex situ per lungo periodo più diffuse e usate sono la crioconservazione -80/-150°C e la liofilizzazione;
- la conservazione <-130°C caratteristiche inalterate-svariati anni;
- necessità di avere almeno due sistemi di conservazione a lungo periodo diversificati in funzione anche dei diversi microrganismi.

Le colture fresche devono essere rivitalizzate ogni anno per mantenerle vitali.

Per quanto riguarda la valorizzazione della biodiversità microbica, si può fare:

- mediante re-introduzione del ceppo selezionato per una determinata caratteristica migliorativa;
- mediante selezione di ceppi con attività biologiche utili alla produzione di enzimi, antibiotici, antifungini, ecc.;
- starter di fermentazione nei diversi processi alimentari (vino, birra, pane, lattiero-casearia, ecc.);
- antagonisti per uso della lotta biologica come ad esempio la lotta all'endemica contaminazione da aflatossine del mais;
- microrganismi utili come fattori di crescita delle piante (microbioma-rizosfera), come i ceppi di tricotrofia che sono molto efficaci da questo punto di vista;
- ecc.

Casi di studio

Collezione ITEM come riportati nell'immagine che segue.

Esempi ITEM Collection

- Autochthonous yeast – bacteria in olives fermentation: [Patent MI 2013A002063]
- Autochthonous yeast fermentation to valorize regional wines properties
- Probiotics *Lactobacillus* strains - *Lactobacillus paracasei* ITEM 17146 (IMPC2.1; EU Patent B1)
- Application of *L. brevis* ITEM 17147 (18F) and *L. plantarum* ITEM 17148 (21B) bioingredients in bread-making process with improved technological properties and delays the bread staling
- *Trichoderma harzianum* ITEM 908 effective biocontrol agent of crown, stem and root rot diseases
- Biodiversity and characterization of toxigenic fungi, new species description etc. (ITEM more than 200 publication) – new knowledge - prevention of risk

Nuove progettualità

Il ruolo delle banche microbiche nell'ambito della rete italiana MIRRI.IT è sicuramente una delle possibilità di sviluppo e di pilastro per le Regioni, in questo ambito.

E' importante finanziare e sostenere delle banche microbiche presenti in ogni Regione.

E' importante che si istituisca un tavolo permanente tra Regioni e Istituzioni scientifiche su questi temi, per poter continuamente parlare e confrontarsi.

Questa attività non è tanto lontana dalla ricerca applicata, anzi gli esempi che sono stati fatti da tanti colleghi dimostrano come questo campo possa sposare tranquillamente bene una ricerca di base fondamentale con la possibilità di applicazioni importanti ed enormi e sottoutilizzate.

SARDEGNA

Roberta Comunian, AGRIS Sardegna

Nel 2018, con il finanziamento del progetto "MicroBioDiverSar" (ex art. 10, L 194/2015), la Sardegna è stata la prima Regione ad intraprendere il percorso di valorizzazione della biodiversità microbica di interesse agroalimentare, attraverso il censimento delle risorse microbiche conservate *ex situ*, la progettazione e la realizzazione del database/catalogo interno di ciascuna delle tre collezioni sarde (Agris, UniSS e UniCA) e del catalogo pubblico sul sito online dedicato (www.mbds.it).

L'impegno è proseguito con il progetto "MiBioS", anch'esso finanziato dalla L 194/2015, che ha visto il reimpiego di alcuni ceppi microbici della collezione Agris BNSS nelle aziende di produzione di un prodotto tradizionale sardo (il formaggio *Frue/Casu Axedu*).

Sul piano legislativo, sono stati proposti emendamenti alla L.R. della Sardegna n. 16/2014 per equiparare la tutela e valorizzazione delle risorse microbiche a quelle delle risorse vegetali e animali, riconoscendone l'importanza strategica.

Un passo significativo è stato il riconoscimento ufficiale della componente microbica all'interno della Banca Regionale del Germoplasma detenuta da Agris Sardegna con le sue due sezioni esterne UniSS e UniCA, per le quali è stato stanziato un finanziamento annuale, rispettivamente di 80.000 e 20.000 Euro ciascuna, per il triennio 2023-2025. Nessun finanziamento è stato invece previsto per Agris Sardegna, Agenzia della Regione Sardegna.

Le collezioni sarde sono diventate membri della *European Culture Collections' Organization* (ECCO) e della *World Federation for Culture Collections* (WFCC) e hanno ottenuto la certificazione ISO9001:2015.

Non si può parlare di rischio di estinzione delle specie microbiche, dal momento che si stima che oltre il 90% delle specie non sia conosciuto; pertanto, tale rischio non si potrebbe neppure calcolare.

Ciò che è importante fare è conservare la biodiversità delle comunità microbiche, conservando e caratterizzando i ceppi di interesse agroalimentare, gli individui microbici appartenenti alle diverse specie microbiche che costituiscono queste comunità (es. nei prodotti fermentanti, biodiversità ridotta a causa dell'utilizzo di starter microbici selezionati commerciali)

Finora si è pensato a conservare e proteggere piante e animali senza pensare che ad ogni pianta o animale è associato un microbiota caratteristico, importante per il mantenimento del benessere fisiologico di questi organismi. È ormai noto a tutti quanto sia importante anche per gli esseri umani conservare in buona salute il proprio microbiota e quanto possa influire negativamente sul nostro benessere un'alterazione degli equilibri all'interno delle comunità microbiche che colonizzano il nostro organismo.

Non dimentichiamoci che gran parte della sovranità alimentare dell'Italia è costituita da prodotti fermentati dai microorganismi (es. vino, birra, formaggi, pane, dolci, salumi, ecc.).

In questo momento, grazie ad un grosso finanziamento PNRR il Progetto SUS-MIRRI, coordinato dall'Università di Torino (Prof.ssa Cristina Varese), che coinvolge la maggior parte delle collezioni microbiche aderenti alla *Joint Research Unit* (JRU) MIRRI.IT, si sta finalmente realizzando anche in Italia il catalogo nazionale delle risorse microbiche. La Sardegna con il suo catalogo MBDS (Collezioni Agris, UniSS e UniCA) è anche dentro questo network. Pertanto, non serve pensare ad altri cataloghi o altri centri di conservazione.

Sarebbe invece necessario avere un finanziamento strutturale dal MASAF e possibilmente anche dagli altri ministeri (per es. ministero ambiente, ministero università, ministero sanità) interessati, su cui le collezioni possano contare nel tempo, sia per caratterizzare che per conservare e poter riutilizzare i microorganismi utili e le informazioni ad essi collegate (problema competenze informatiche all'interno delle singole Collezioni/Regioni) anche nel futuro, successivamente al Progetto SUS-MIRRI e a tutti i progetti che potrebbero essere finanziati.

C'è poi l'aspetto conservazione *in situ/on farm* molto importante per incoraggiare i piccoli produttori dell'agroalimentare, gli agricoltori e gli allevatori a conservare i microorganismi che

caratterizzano, rendono unici e legano al territorio i loro prodotti, e mantengono in salute le piante e gli animali. Si pensi, a titolo d'esempio, a quanto accade nell'ambito delle produzioni casearie, anche le più tradizionali. A causa delle difficoltà che i produttori incontrano nel conservare e riprodurre i microrganismi tipici della materia prima e degli ambienti di produzione, vengono utilizzati degli *starter* selezionati commerciali. Questa pratica impoverisce la biodiversità delle comunità microbiche locali, poiché gli starter selezionati commerciali, utilizzati in grandi concentrazioni, finiscono per predominare e "occupare" le nicchie ecologiche che altrimenti sarebbero riservate ai microrganismi autoctoni. Quindi sensibilizzare i produttori al ruolo di "custode" della biodiversità microbica di interesse agroalimentare caratteristica dei prodotti fermentati diventa importante al pari di quanto si fa con gli agricoltori e gli allevatori che, a loro volta, possono essere sollecitati a conservare il microbiota associato alle varietà vegetali che coltivano e alle razze animali che allevano.

Agris

Agenzia pro sa chieca in agricultura
Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura



REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

ASSESSORADU DE S'AGRICULTURA E REFORMA AGROPASTORALE
ASSESSORATO DELL'AGRICOLTURA E RIFORMA AGROPASTORALE

Laore

Agenzia regionale
pro s'istitutu in agricultura
Agenzia regionale
per lo sviluppo in agricoltura



Regione Toscana

con il patrocinio di



MINISTERO DELL'AGRICOLTURA
DELLA SOVRANITÀ ALIMENTARE
E DELLE FORESTE



Conservazione, tutela e valorizzazione della biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare in Regione **SARDEGNA**

Roberta Comunian

Agris Sardegna – Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura

rcomunian@agrisricerca.it



Agris Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura

Disposizioni per la conservazione, tutela e valorizzazione della biodiversità



L.R. 16/2014

Norme in materia di agricoltura e sviluppo rurale: agrobiodiversità, marchio collettivo, distretti



Decreti attuativi della legge non fanno riferimento alla **biodiversità microbica**



Sistema Nazionale/Regionale

Anagrafe, Rete, Portale, Comitato Permanente, Repertorio, Banca del germoplasma, AAC, Rete, Comunità di tutela



Risorse microbiche

Recentemente inserite nella **Banca Regionale del Germoplasma**



Preservare, **in situ** ed **ex situ**, risorse locali di **interesse agroalimentare** a rischio di estinzione o erosione genetica



Consistenza del **patrimonio** di risorse microbiche conservate **ex situ** e **in situ** conosciuta ancora **parzialmente**



Agris Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura

Attività svolte dal 2018 a oggi

Progetti finanziati MASAF (art. 10 - Legge 194/2015)

	2018/2020	MicroBioDiverSar - Istituzione della Collezione microbica sarda MBDS con Catalogo online su sito web dedicato
	2021/2022	MiBioS - MicroBiodiversità Sardegna

Banca Regionale del Germoplasma BRGAgriS

	2022	Inclusione delle risorse microbiche conservate nelle Collezioni di AgriS (BNSS) e delle Sezioni esterne UniSS e UniCA
---	------	---

Progetto finanziato dalla Regione Sardegna (L.R. N. 7/2007 "Promozione della ricerca scientifica e dell'innovazione tecnologica in Sardegna")

	2021/2023	Va.Ide.S. Valorizzazione e tutela dei sistemi di produzione agroalimentare Identitari del centro Sardegna. Proposta logo identificativo «Produttore/Trasformatore Custode»
---	-----------	--

Progetto finanziato MUR con fondi del PNRR – Programma NextGenerationEU

	2022/2025	Le Collezioni MBDS entrano nel Catalogo nazionale SUS-MIRRI.IT
---	-----------	--



Agris Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura

Affiliazioni e riconoscimenti nazionali e internazionali ottenuti dalle tre Collezioni microbiche sarde (MBDS)



Affiliazione a rete nazionale MIRRI-IT Joint Research Unit

2019/2020

Le tre Collezioni MBDS diventano membri associati della rete italiana delle Collezioni Microbiche



Affiliazioni internazionali

World Federation for Culture Collections (WFCC)



2023

European Culture Collections' Organisation (ECCO)



Certificazione ISO 9001:2015

2023/2024

Le tre Collezioni MBDS ottengono la certificazione



Agris Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura



Primo progetto sulle risorse microbiche, finanziato dal MASAF (allora MIPAAF) con i fondi della Legge 194/2015, nel 2018



Microrganismi conservati nel Catalogo pubblico regionale MBDS <https://www.mbd.it/> e nazionale SUS-MIRRI <https://www.sus-mirri.it/>

Collezione microbica Agris BNSS



Storia della Collezione

Fondata nel 1967 dal Dr Severino Arriza e dal Dr Antonio Ledda presso l'Istituto Zootecnico e Caseario per la Sardegna a Bonassai (Sassari), ora Agris Sardegna, l'Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura.

Matrici di isolamento

Principalmente **prodotti agroalimentari fermentati** tradizionali o DOP tipici della Sardegna (latte, formaggio, colture starter, caglio, salsicce, olive da mensa, intestino di pesci e feci ovine).

Degli oltre **20.000 isolati** conservati in forma congelata (-80°C / -150°C) e/o liofilizzata, sono stati inclusi nel **Catalogo pubblico 1.745 ceppi**, tutti **batteri** (principalmente lattici), appartenenti a **54 specie**.
I generi più rappresentati sono: *Enterococcus*, *Lactiplantibacillus*, *Lactobacillus*, *Lactocaseibacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactilactobacillus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Limosilactobacillus*, *Levilactobacillus*.
Inoltre, dalla fine degli anni '60, sono conservate **70 colture starter naturali**, non ancora nel Catalogo pubblico.

Collezione microbica UniSS



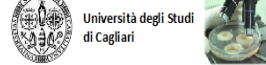
Il primo nucleo della collezione è stato fondato negli **anni '60** dal Prof. Augusto Capriotti e si è arricchita grazie agli studi condotti presso l'Istituto di Microbiologia Generale e Applicata e l'Istituto di Patologia vegetale del Dipartimento di Agraria.

Matrici alimentari e ambientali provenienti da diverse zone della Sardegna (grano, orzo, mais, olive, salamoia, uva, diversi mosti d'uva, vini *Malvasia* e *Cannonau*).

Degli oltre **3.200 isolati** conservati, sono attualmente disponibili nel **Catalogo pubblico 412 ceppi: 266 lieviti (54 specie), 76 batteri (28 specie) e 71 funghi (11 specie)**. È una delle poche Collezioni al mondo che include centinaia di **lieviti flor** della specie *Saccharomyces cerevisiae*.

Recentemente la Collezione si è arricchita di **84 Lieviti madre** (non ancora in Catalogo pubblico). Lo studio dei **microbiomi** e il loro inserimento nel database rappresentano la nuova sfida di questa collezione.

Collezione microbica UniCA

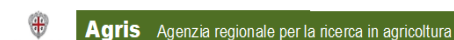


Fondata nel 1985 dalla Prof.ssa Francesca Palmas, direttore della Sezione di Igiene del Dipartimento di Biologia Sperimentale, attualmente appartiene al Dipartimento di Scienze Mediche e Salute Pubblica (DSMSP).

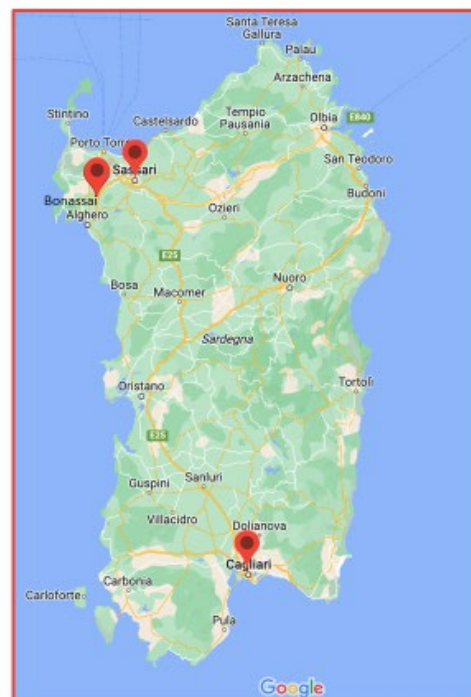
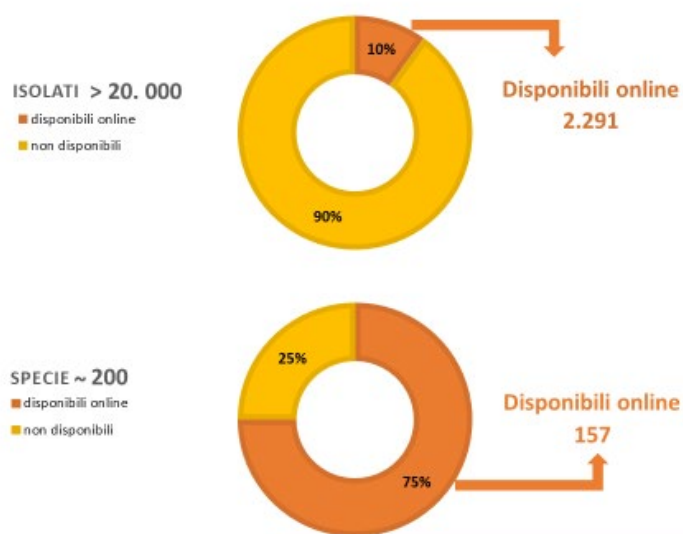
Prodotti lattiero-caseari e carni, pane e pasta ripiena della Sardegna.

Dei **3.000 isolati** conservati, sono attualmente disponibili nel **Catalogo pubblico 134 ceppi** con potenziali applicazioni nel campo agroalimentare, della salute e dell'ambiente: **76 batteri**, prevalentemente lattici (**14 specie**), **57 lieviti (15 specie)** e **1 fungo**.

I generi più rappresentati sono *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Lactiplantibacillus*, *Lactocaseibacillus*, *Pediococcus* per i batteri, *Candida* e *Kluyveromyces* per i lieviti, *Penicillium* e *Aspergillus* per le muffe.



La collezione **M B D S** ospita batteri, lieviti e funghi, di interesse agrario, isolati da diverse matrici di origine animale e vegetale



Agris Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura



Il DataBase e il Catalogo pubblico



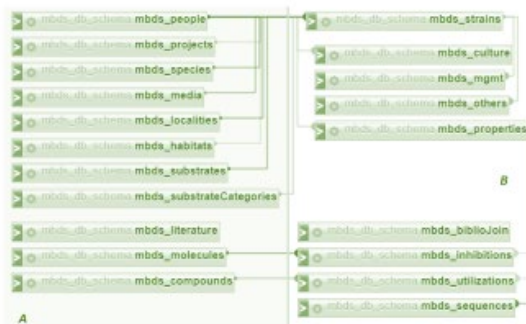
Il software è stato sviluppato dall'Ing. Paolo Romano dell'Ospedale San Martino di Genova, su LAMP (Linux, Apache, MySQL, PHP)

Il **data set** è stato definito sulla base delle specifiche fornite da MIRRI e delle esigenze delle tre Collezioni partner

Un **database centralizzato** conserva le **tabelle di riferimento** e offre una interfaccia di ricerca comune. Nella figura sono illustrati i collegamenti tra le tabelle di riferimento (A) e quelle locali (B)

Le liste di riferimento vengono sincronizzate quando un utilizzatore accede al DataBase

Gli **aggiornamenti** vengono fatti direttamente nel **DataBase locale** e le informazioni aggiornate vengono caricate sul cloud dal Curatore di ciascuna Collezione

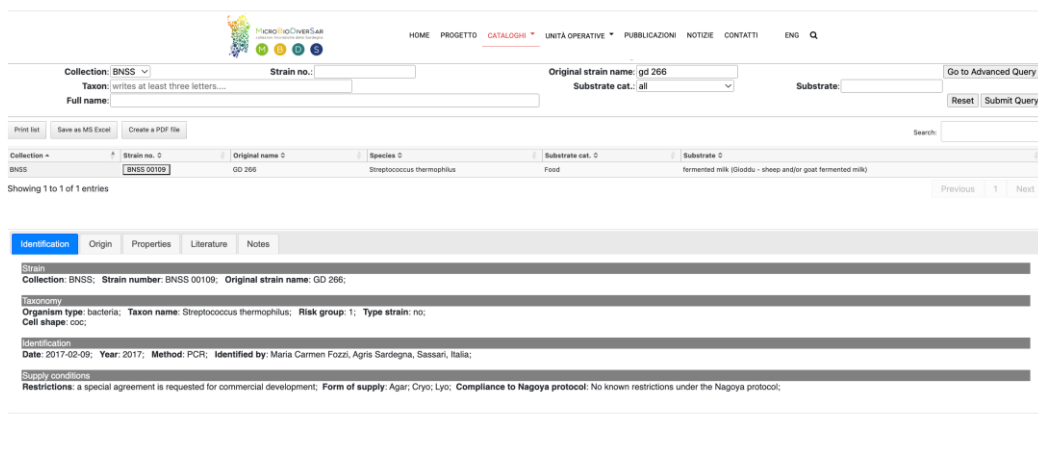


L'accesso al DataBase è controllato da **password con diversi livelli di diritto**: sola lettura, aggiornamento dei dati, gestione del DataBase

Agris Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura

Il DataBase e il Catalogo pubblico

Gli stakeholder possono eseguire la ricerca dei ceppi sul sito MBDS per tipo di risorsa (batteri, lieviti, funghi), specie, sigla del ceppo, matrice di isolamento. La ricerca può essere effettuata sull'intero Catalogo o separatamente per ognuna delle tre Collezioni



HOME PROGETTO CATALOGO UNITÀ OPERATIVE PUBBLICAZIONI NOTIZIE CONTATTI ENG Q

Collection: BNSS Strain no.: Original strain name: gd 266
 Taxon: writes at least three letters... Substrate cat.: all Substrate: Go to Advanced Query
 Full name: Reset Submit Query

Print list Save as MS Excel Create a PDF file Search

Collection	Strain no.	Original name	Species	Substrate cat.	Substrate
BNSS	BNSS 00109	GD 266	Streptococcus thermophilus	Food	fermented milk (Gioddu - sheep and/or goat fermented milk)

Showing 1 to 1 of 1 entries Previous 1 Next

Identification Origin Properties Literature Notes

Strain
Collection: BNSS; Strain number: BNSS 00109; Original strain name: GD 266;

Taxonomy
Organism type: bacteria; Taxon name: Streptococcus thermophilus; Risk group: 1; Type strain: no;
Cell shape: ccc;

Identification
Date: 2017-02-09; Year: 2017; Method: PCR; Identified by: Maria Carmen Fozzi, Agris Sardegna, Sassari, Italia;

Supply conditions
Restrictions: a special agreement is requested for commercial development; Form of supply: Agar; Cryo; Lys; Compliance to Nagoya protocol: No known restrictions under the Nagoya protocol;



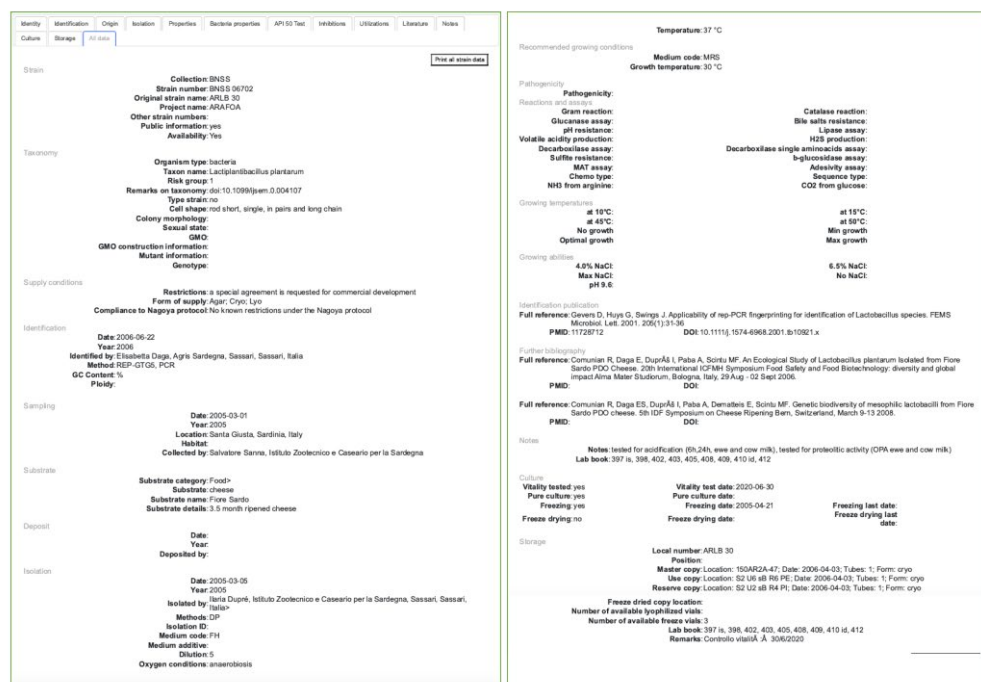
Agris Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura

Pagina del DataBase MBDS riportata a titolo esemplificativo



Esempio Scheda ceppo estratta dal DataBase

È possibile esportare i dati in pdf o in Excel, anche per un elenco di più ceppi



Identify Identification Origin Isolation Properties Bacteria properties API 50 Test Inhibitors Utilisations Literature Notes

Strain: BNSS 00109
 Collection: BNSS
 Strain number: BNSS 00109
 Original strain name: ARLB 30
 Project name: ARLB 30
 Other strain numbers:
 Public information: yes
 Availability: yes

Taxonomy
Organism type: bacteria
 Taxon name: Lactobacillus plantarum
 Risk group: 1
 Remarks on taxonomy: doi:10.1099/jgm.0.004107
 Type strain: no
 Cell shape: rod short, single, in pairs and long chain
 Colony morphology:
 Sexual state:
 GMO:
 GMO construction information:
 Mutant information:
 Genotype:

Supply conditions
Restrictions: a special agreement is requested for commercial development
 Form of supply: Agar; Cryo; Lys
 Compliance to Nagoya protocol: No known restrictions under the Nagoya protocol

Identification
Date: 2006-06-22
 Year: 2006
 Identified by: Elisabetta Daga, Agris Sardegna, Sassari, Sassari, Italia
 Method: REP-PCR, PCR
 GC Content: %
 Plasmid:

Sampling
Date: 2005-03-01
 Year: 2005
 Location: Santa Giusta, Sardinia, Italy
 Habitat:
 Collected by: Salvatore Sanna, Istituto Zooprofilattico e Caseario per la Sardegna

Substrate
Substrate category: Food
 Substrate: cheese
 Substrate name: Fiore Sardo
 Substrate details: 3.5 month ripened cheese

Deposit
Date: 2005-03-01
 Year: 2005
 Deposited by: Raria Dupré, Istituto Zooprofilattico e Caseario per la Sardegna, Sassari, Sassari, Italia

Isolation
Date: 2005-03-01
 Year: 2005
 Isolated by: Raria Dupré, Istituto Zooprofilattico e Caseario per la Sardegna, Sassari, Sassari, Italia
 Methods: CP
 Isolation ID:
 Medium code: FH
 Medium additive:
 Dilution: 5
 Oxygen conditions: anaerobiosis

Temperature: 37 °C
Medium code: MRS
Growth temperature: 30 °C

Pathogenicity
 Reactions and assays:
 Gram reaction:
 Glucanase assay:
 Off resistance:
 Volatile acidity production:
 Decarboxylase assay:
 Sulfite resistance:
 MAT assay:
 Chemo type:
 NHD from arginine:
 Catalase reaction:
 Bile salts resistance:
 Lipase assay:
 H2S production:
 Decarboxylase single aminoacids assay:
 Inhibitory assay:
 Adhesivity assay:
 Sequence type:
 CO2 from glucose:

Growing temperatures
 at 18°C:
 at 43°C:
 No growth:
 Optimal growth:
 at 18°C:
 at 43°C:
 Min growth:
 Max growth:

Growing abilities
 4.0% NaCl:
 Max NaCl:
 pH 5.6:
 6.5% NaCl:
 No NaCl:

Identification conditions
 Full reference: Gevers D, Huys G, Beings J. Applicability of rep-PCR fingerprinting for identification of Lactobacillus species. FEMS Microbiol Lett. 2001; 206(1):31-36.
 PMID: 11228712 DOI: 10.1111/j.1574-6968.2001.b10921.x

Further bibliography
 Full reference: Comunian R, Daga E, Dupré A, Paba A, Soria MF. An Ecological Study of Lactobacillus plantarum Isolated from Fiore Sardo PDO Cheese. 20th International ICFM Symposium Food Safety and Food Biotechnology: diversity and global impact Alma Mater Studiorum, Bologna, Italy, 29 Aug - 02 Sept 2006.
 PMID: DOI:
 Full reference: Comunian R, Daga E, Dupré A, Paba A, Demattes E, Soria MF. Genetic biodiversity of mesophilic lactobacilli from Fiore Sardo PDO cheese. 5th ICF Symposium on Cheese Ripening Bern, Switzerland, March 9-13 2008.
 PMID: DOI:

Notes
 Notes: tested for acidification (60,24h, ewe and cow milk), tested for proteolytic activity (CPA ewe and cow milk)
 Lab book: 397 is, 396, 402, 403, 405, 406, 409, 410, 412

Culture
 Viability tested: yes
 Pure culture: yes
 Freezing: yes
 Freeze drying: no
 Viability test date: 2020-06-30
 Pure culture date:
 Freezing date: 2005-04-21
 Freezing last date:
 Freeze drying last date:

Storage
 Local number: ARLB 30
 Position:
 Master copy: Location: 150ARZA-47; Date: 2006-04-03; Tubes: 1; Form: cryo
 Use copy: Location: 52 US 48 R9 PE; Date: 2006-04-03; Tubes: 1; Form: cryo
 Reserve copy: Location: 52 US 48 R4 PE; Date: 2006-04-03; Tubes: 1; Form: cryo
 Freeze dried copy location:
 Number of available lyophilized vials:
 Number of available freeze vials: 3
 Lab book: 397 is, 396, 402, 403, 405, 406, 409, 410, 412
 Remarks: Control vial: A, 30602020



Agris Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura

Progetto MiBioS MicroBiodiversità Sardegna

Finanziato dal MASAF con la legge n. 194/2015, aveva come obiettivo la **tutela e valorizzazione** della **biodiversità microbica** di interesse agroalimentare della Sardegna e attraverso attività di **promozione del valore culturale, economico e nutrizionale** e di **salvaguardia** del formaggio **Fruhe/Casu Axedu**:

Laore

- istituzione di un itinerario del *Fruhe/Casu Axedu*
- sostegno alla creazione di una "Comunità del cibo e della biodiversità di interesse agricolo e alimentare" relativa alle risorse genetiche valorizzate
- celebrazione della Giornata nazionale della biodiversità di interesse agricolo e alimentare

Agris



Obiettivo: favorire nelle aziende l'adozione di processi di lavorazione che esaltino il ruolo della biodiversità microbica nel **caratterizzare** e legare al territorio i nostri **Prodotti Agroalimentari Tradizionali (PAT)**

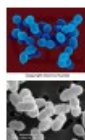


Agris Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura

Progetto MiBioS MicroBiodiversità Sardegna



Il formaggio fresco **Fruhe/Casu axedu** è il prodotto individuato per realizzare le attività del progetto MiBioS



Diversi **ceppi** della **Collezione AgriS-BNSS**, isolati oltre 30 anni fa da *Fruhe/Casu Axedu*, prodotto in aziende tradizionali sarde, sono stati studiati e caratterizzati, dal punto di vista tecnologico

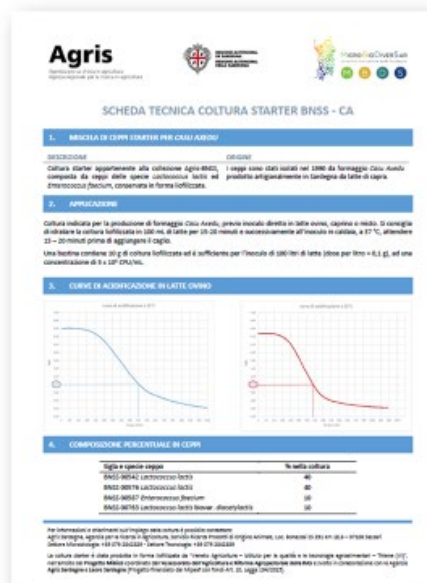
È stata formulata una **cultura starter autoctona** denominata **BNSS-CA**, combinazione di ceppi diversi delle specie *L. lactis* e *E. faecium*



La **cultura**, accompagnata da una **scheda tecnica**, è stata resa disponibile per l'impiego in caseificio in forma **liofilizzata** (Servizio fornito da **Veneto Agricoltura**)



Agris Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura



Progetto MiBioS MicroBiodiversità Sardegna

La **coltura BNSS-CA liofilizzata** è stata preventivamente saggiata in laboratorio e nel Caseificio sperimentale da ricercatori microbiologi e tecnologi di **Agris**

Successivamente, è stata **reintrodotta** nell'ambiente di produzione, impiegandola in tre lavorazioni sperimentali, **in tre** dei **caseifici** aderenti al progetto

I **formaggi** ottenuti sono stati **analizzati** dal punto di vista **fisico-chimico** e **microbiologico**, durante tutto il corso della **shelf-life**

Laore

Agenzia regionale
per lo sviluppo in agricoltura
Agenzia regionale
per lo sviluppo in agricoltura

La stessa **coltura** è stata **distribuita a tutti i caseifici aderenti**, unitamente alla scheda tecnica contenente le caratteristiche e le istruzioni per il suo impiego

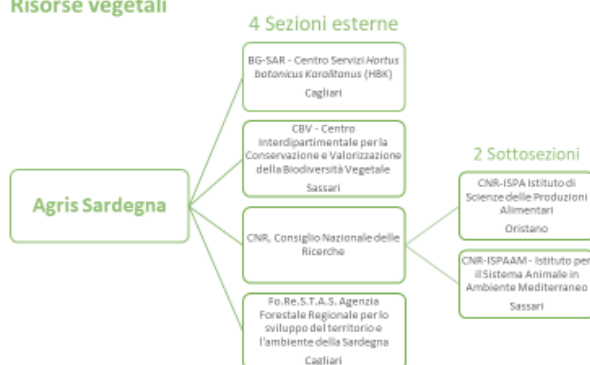


Agris Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura



La Banca Regionale del Germoplasma (BRGAgriS)

Risorse vegetali



Risorse animali



Catalogo MBDS

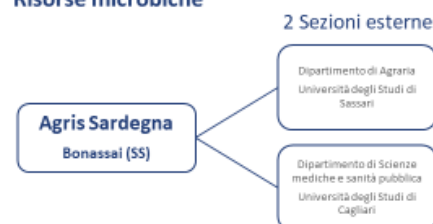
⇒ Repertorio regionale risorse microbiche

Finanziamenti triennali ⇒ 100.000,00 €/anno solo per Sezioni esterne

Necessità di ulteriori finanziamenti per:

- Implementazione parte microbica in Portale **Biodiversità Sardegna**
- Gestione DataBase

Risorse microbiche



Assessorato dell'Agricoltura e Riforma Agro-Pastorale - N. Prot. 24478 del 30 novembre 2022

Approvazione proposta tecnico organizzativa «Banca Regionale del Germoplasma per l'Agricoltura e l'Alimentazione (BRGAgriS)» e relativi Allegati Art. 7 L.R. n. 16/2014 «Norme in materia di agricoltura e sviluppo rurale: agrobiodiversità, marchio collettivo, distretti»; Art. 5 e 6 D.L. Att. approvate con Del. G.R. n. 54/11 del 06.12.2017



Agris Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura

Progetto Val.Ide.S (L.R. 7/2007) Il «Produttore Custode»

E' stato ideato un **logo identificativo dei prodotti** del territorio per evidenziare in **etichetta** il ruolo e le competenze delle aziende di produzione nella **salvaguardia della biodiversità microbica** di interesse **agroalimentare** della **SARDEGNA**

Sono state gettate le basi per il riconoscimento della figura del **Produttore Custode**, analoga a quelle dell'**Allevatore** e **Agricoltore Custode**, già riconosciute dalle leggi nazionale (Legge 194/2015) e regionale (L.R. 16/2014) sull'agrobiodiversità.



Agris Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura

La **conoscenza e gestione della biodiversità microbica**



- ☐ è alla **base dello sviluppo sostenibile**, socio-economico e ambientale
- ☐ è spesso **ignorata** quando si parla di **conservazione e gestione della biodiversità**

Le **Collezioni microbiche** attraverso l'implementazione di **procedure armonizzate**, hanno un ruolo fondamentale per:

- ☐ identificare, caratterizzare, conservare biodiversità microbica (**ceppi e comunità microbiche**)
- ☐ conservare e gestire le relative **informazioni** con **database** progettati *ad hoc*
- ☐ garantire:
 - il **progredire della conoscenza**
 - la **valorizzazione della biodiversità microbica**
 - l'accesso a **servizi utili e di qualità** ai potenziali utenti della comunità scientifica e della società
 - la **distribuzione delle risorse microbiche** e delle relative **informazioni**, per il loro **impiego** nel mondo delle **produzioni agroalimentari**, in campo **ambientale**, in **medicina**, ecc.



Agris Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura

E dopo MICROBIO DIVERSAR



Il lavoro svolto nell'ambito di MicroBioDiverSar deve mantenere un significato e un valore concreto nel tempo con azioni volte a:

- ☐ garantire la **sopravvivenza** dei microrganismi, la loro **conservazione** secondo standard di qualità riconosciuti (Certificazione UNI ISO 9001:2015) e la loro **valorizzazione** attraverso l'impiego in produzione
- ☐ **identificare** e **caratterizzare** altri ceppi per poterli rendere disponibili
- ☐ inserire in **database** nuovi microrganismi di altre collezioni non ancora censite
- ☐ **estendere** l'applicazione del «**modello MicroBioDiverSar**» ad **altre Regioni** italiane (v. **Progetto SUS-MIRRI**)

A tal fine, sono necessarie **politiche di sostegno dedicate** che, riconoscendo l'importanza delle **risorse microbiche** per lo sviluppo delle biotecnologie e della bioeconomia, dedichino alla loro conservazione e tutela, *ex situ* e *in situ* **adeguate risorse strutturali**.



Agris Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura

Rischio di estinzione o di erosione genetica: esiste anche per i microrganismi? «Rischio di sostituzione» o in senso positivo «Ceppi di interesse»? Perché?

- Non si può parlare di rischio di estinzione delle specie microbiche, dal momento che si stima che circa il 99% delle specie non sia conosciuto; pertanto, tale rischio non si potrebbe neppure calcolare
- Ciò che è importante fare è conservare la biodiversità delle comunità microbiche, conservando e caratterizzando i ceppi di interesse agroalimentare, gli individui microbici appartenenti alle diverse specie che costituiscono queste comunità (es. prodotti fermentati, biodiversità ridotta da utilizzo di starter microbici selezionati commerciali), e anche le comunità *in toto*
- Gran parte della «sovranità alimentare» dell'Italia è costituita da prodotti fermentati dai microrganismi locali

Può essere utile al lavoro di tutti, realizzare in modo periodico, un momento di confronto con gli altri esperti di specie frutticole presenti nelle altre Commissioni/Nuclei di valutazione? Se sì, per quali tematiche in particolare?

Per proteggere piante e animali bisogna proteggere anche il microbiota loro associato, importante per il mantenimento del benessere fisiologico di questi organismi. Quindi un confronto con gli esperti di RGV e RGA è non solo auspicabile ma anche necessario.

Quali principali progetti dovrebbero essere attivati, sia a livello della Vs. Regione/PA sia a livello nazionale o interregionale?

- Il Progetto SUS-MIRRI (finanziamento PNRR), coordinato dall'Università di Torino (Prof.ssa Cristina Varese), sta coinvolgendo la maggior parte delle collezioni microbiche aderenti alla JRU MIRRI.IT, nella realizzazione del Catalogo nazionale delle risorse microbiche che potrà essere utilizzato per la parte microbica dell'Anagrafe nazionale, come il Catalogo delle

Collezioni sarde MBDS (già in SUS-MIRRI) è utilizzato in Sardegna al posto del Repertorio regionale

- Non sarebbe necessario attivare nuovi progetti con lo stesso fine, ma prevedere finanziamenti strutturali dal MASAF e altri ministeri interessati (per es. MASE, MUR, Salute) su cui le collezioni possano contare nel tempo per caratterizzare, conservare e poter riutilizzare i microrganismi utili e gestire le informazioni ad essi collegate (problema competenze informatiche all'interno delle singole Collezioni/Regioni) anche nel futuro, successivamente al Progetto SUS-MIRRI e a tutti i progetti che potrebbero essere finanziati
- Per la conservazione *in situ/on farm*, potrebbe essere utile attivare un sistema di riconoscimento, attraverso marchi/loghi, per incoraggiare i piccoli produttori dell'agroalimentare (il cui ruolo di «custode» non è ancora riconosciuto per legge), ma anche gli agricoltori e gli allevatori, a conservare, utilizzandoli, i microrganismi che caratterizzano, rendono unici e legano al territorio i loro prodotti, e mantengono in salute le piante, gli animali e le persone.

UMBRIA

Mauro Gramaccia, Parco 3A Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria (3APTA)

La Regione Umbria ha realizzato dei progetti su questo tema con l'aiuto dell'Università di Perugia che vanta ben due gruppi di ricerca: uno del Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali con il Prof. Pietro Buzzini e l'altro del Prof. Gianluigi Cardinali del Dipartimento di Scienze Farmaceutiche.

Grazie al lavoro fatto è stato possibile iscrivere al Registro Regionale un ceppo di lieviti denominato "Lievito CMCR 102" legato al vitigno Sagrantino e alle sue produzioni.

E' stato realizzato anche un lavoro su altri ceppi microbici, in particolare su una pasta madre per la produzione del pane, ma qui non vi sono ancora risultati certi.

Riguardo al rischio di estinzione si riporta quanto emerso dalla discussione nell'ambito del Comitato tecnico, ossia esiste un "rischio di sostituzione" ormai preponderante da decenni per l'uso massiccio e diffuso degli starter commerciali. Questo determina un problema in merito alla L. 194/2015 perché prevede che nell'Anagrafe nazionale vengano iscritte solo le risorse genetiche a rischio di estinzione, pertanto, escluderebbe i consorzi e i ceppi microbici.

Altro problema sempre in merito all'iscrizione di risorse microbiche nell'Anagrafe nazionale, deriva dall'arco temporale con la quale considerare la risorsa genetica "locale". Alcune leggi regionali prevedono 50 anni, ma il Comitato tecnico della Regione Umbria proponeva di soprassedere questo limite che per i microrganismi non è in nessun modo determinabile con le seguenti due ipotesi:

1. Durante le fasi di lavoro presso il sito di campionamento verificare per quanto possibile, il non utilizzo di inoculi esterni;

2. L'utilizzo del ceppo di microrganismi oggetto di studio da almeno 5 anni. Questo ragionamento è basato sul numero delle generazioni per cui 5 anni di proliferazione continua di un consorzio microbico possono equivalere all'incirca a 50-60 anni dei cicli vitali delle razze animali, che si riproducono una volta all'anno circa.

L'altro limite, quello spaziale, non è applicabile perché nel caso dei microrganismi è necessariamente puntiforme essendo legato ad un sito produttivo (cantina, panificio, ecc.).

L'altro limite è rappresentato dalla modica quantità ossia la quantità di materiale riproduttivo che gli agricoltori possono scambiarsi liberamente e che, nel caso del lievito iscritto al Registro Regionale dell'Umbria è stato valutato in 2 litri di mosto in attiva fermentazione oppure sotto forma di inoculi trasformati in laboratorio, ossia liofilizzati come per gli starter commerciali.

Sulla problematica della continua identificazione delle risorse nel tempo in seno al Comitato è stato ipotizzato di fare una iscrizione cosiddetta di Primo Livello, corrispondente ad una caratterizzazione classica che permette l'iscrizione mediante la procedura identificativa morfologica, genetica, produttiva ecc. e una caratterizzazione di Secondo Livello che prevede il ricorso a studi di genomica (screening dell'intero genoma del consorzio microbico). Questa sembra essere allo stato attuale delle ricerche, l'unica capace di porre dei chiari indizi di identificazione di un determinato ceppo o consorzio rispetto a tutti gli altri, ma anche utile poi per il monitoraggio che ne segue per l'inevitabile evoluzione che i microrganismi hanno nel tempo.

La Regione Umbria spera di riuscire a portare avanti, attraverso lo schema sopra descritto, la caratterizzazione di nuovi ceppi microbici come paste madri di antichi panifici o le madri dell'aceto conservato presso famiglie che non hanno mai utilizzato gli starter commerciali, questo perché sono entità di rilevante interesse che vanno approfondite.

Come garantire la circolazione di questi materiali al pari degli starter commerciali? Perché averli individuati in una cantina e lasciare che restino solo lì, ammesso che la cantina voglia continuare a mantenerli o a renderli di patrimonio pubblico (ma così dovrebbe essere), resta l'elemento fondamentale altrimenti si rischia di fare un buon lavoro ma poi queste risorse sopravvivono nella banca del germoplasma o nel singolo sito, ma poi non diventano appannaggio del territorio e delle aziende agricole. Conseguentemente va valutata la permanenza nel tempo negli altri siti come nel sito di origine di questi ceppi/consorzi nel momento in cui vengono distribuiti. Questo sempre per lo stesso problema che tali microrganismi non sono entità contabili e maneggiabili come lo sono le piante e gli animali.

La registrazione nel Registro regionale dell'Umbria di una risorsa genetica microbica

L'attività si è realizzata grazie all'esperienza più che decennale dell'Istituto del Dipartimento di Scienze Farmaceutiche dell'Università degli Studi di Perugia con il Prof. Gianluigi Cardinali e il suo gruppo di lavoro insieme ad altri gruppi di ricerca del Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali sempre dell'Università di Perugia. Ovviamente quello che non dobbiamo mai dimenticare in questa attività è che, se questo è stato possibile, è perché c'è stato qualcuno che in maniera a volte inconsapevole ha conservato e tramandato nel tempo queste risorse. Poi negli anni si è riusciti ad arrivare all'iscrizione di una risorsa al Registro Regionale anche grazie all'attività del Dott. Luciano Concezzi che ha lavorato per attivare la parte formale del processo e alla Dott.ssa Livia Polegri.

La Regione Umbria, inoltre, ha fatto una modifica al Comitato tecnico/Commissione di valutazione per l'iscrizione al Registro Regionale e all'Anagrafe nazionale, introducendo la figura dell'esperto in biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare, individuandolo proprio con il Prof. Gianluigi Cardinali.

Come si è arrivati all'iscrizione al Registro regionale dell'Umbria di una risorsa genetica microbica

Si tratta di un ceppo di lievito vinario autoctono che ha sigla "CMCR102-Sagrantino 1": CMCR è la sigla del luogo dove viene conservato e Sagrantino 1 perché è un lievito che è stato individuato in una cantina che lavora sul territorio di coltivazione del vitigno Sagrantino di Montefalco.

Tutto il lavoro di caratterizzazione anche degli aspetti tecnologici e di trasformazione è stato portato avanti dal Prof. Cardinali e dal gruppo di lavoro da lui coordinato anche in seno ad un progetto della misura 124 del PSR 2006/2013 dell'Umbria nel quale questo lievito e altri che furono raccolti sul territorio furono utilizzati per sviluppare vini con questi lieviti.

L'iscrizione di questo lievito è stata possibile perché si tratta di un unico ceppo del quale si conosce quasi tutto.

Altra esperienza che è stata fatta è avvenuta con un lievito di pasta madre per la panificazione che è stato proposto per l'iscrizione al Registro Regionale, ma che non è stato possibile iscrivere per le motivazioni elencate nel suo intervento dal Prof. Cardinali e, in estrema sintesi, perché in questo caso abbiamo a che fare con un consorzio, ossia un mix di batteri e lieviti che rendono il tutto ancora più complicato. Come già detto, a differenza di piante e animali i microbi non sono visibili ad occhio nudo per cui possiamo solo misurarne l'effetto e l'azione sulla materia prima (farina, latte, carne, ...).

L'essere riusciti ad iscrivere una risorsa microbica al Registro Regionale o ad aver caratterizzato una pasta madre ancora in fase di studio, rappresenta solo il primo passo perché le difficoltà maggiori si rilevano nella seconda fase ossia quando c'è la necessità di:

- verificare che la risorsa rimanga presente nell'azienda dove è stata individuata;
- veicolare la risorsa genetica anche ad altre aziende.

Nel caso del lievito vinario si è sviluppata una collaborazione con la cantina di primo rilevamento e il Dipartimento di Scienze Farmaceutiche dell'Università di Perugia per cui: quando la cantina è pronta per fare l'inoculo, il ceppo conservato presso la banca del germoplasma dell'Università viene preparato proprio per essere reso operativo e consegnato alla cantina.

Quello che va fatto notare è che non c'è interesse da parte delle ditte produttrici di starter industriali a lavorare su questi microrganismi perché fondamentalmente non c'è margine di guadagno. Quindi, in questo caso, il supporto di un Ente di ricerca è fondamentale perché su questi microrganismi c'è una parte tecnologica che spesso le ditte di trasformazione, nel caso che vogliano usare specificatamente quel determinato ceppo, non sono in grado di controllare se non in maniera empirica. C'è poi la problematica che spesso, nel caso dei lieviti vinari, gli estratti secchi mostrano di non avere le stesse performance di quelli che invece sono naturalmente presenti all'interno delle cantine. Pertanto, tutte queste problematiche permangono pur avendo la Regione Umbria definito all'interno della scheda del Registro regionale quelle che sono le modiche quantità e l'ambito locale. Questi restano dei problemi operativi per rendere poi quell'iscrizione efficace nel tempo e nel caso delle specie microbiche questi aspetti sono veramente sostanziali. Si pone anche

un'altra problematica: molto spesso questi ceppi o consorzi sono "sito-dipendenti" nel senso che sono molto legati al luogo ove si sviluppano naturalmente ovvero la cantina o il panificio dove si sviluppano e questo induce il proprietario a pensare che il ceppo o il consorzio sia di proprietà privata e quindi non c'è interesse e volontà a metterlo in comune con altri soggetti come invece avviene per le risorse genetiche vegetali. C'è quindi questa "gelosia" che in qualche modo crea un ostacolo in più alla registrazione rispetto a quel discorso di "comunità" che si riesce a fare (anche se con un po' di fatica) con le risorse vegetali e in qualche caso con le razze animali. Inoltre, va sottolineato anche che nel caso delle specie microbiche non basta un agronomo per seguire l'azienda o le aziende o quant'altro, ma serve effettivamente un tecnologo alimentare e un tecnologo di laboratorio che riesca a monitorare, come diceva il Prof. Cardinali, a verificare la permanenza, la persistenza di quel ceppo nel corso degli anni, con tutte le vicissitudini che quel ceppo ha per sua natura. Le problematiche sono veramente grandi e riguardo ad alcune specifiche, come ricordava il Prof. Cardinali, quando abbiamo discusso le iscrizioni, sono state suggerite alcune soluzioni come, per esempio, in merito al tema dell'"anteriorità", per la quale una proposta potrebbe essere: anziché in anni si può ragionare in termini di generazioni? In questi termini è stata fatta la proposta di iscrizione al Registro regionale. Ossia è ragionevole pensare l'iscrizione al Registro Regionale, quando:

1. non c'è uso di inoculi esterni, soprattutto di quelli commerciali, nel processo di trasformazione;
2. la continuità nell'uso di quello specifico inoculo ben individuato anche in laboratorio, almeno per gli ultimi 5 anni ossia considerando che in un periodo di 5 anni ceppi e consorzi microbici, hanno, per la loro rapidità di replicazione, sviluppato un numero significativo di generazioni, paragonabili al limite temporale dei 50 anni come stabiliscono le Leggi Regionali per le altre categorie di risorse genetiche.

Quali sono gli altri elementi per cui può essere utile e interessante andare a decidere di iscrivere una risorsa genetica microbica quando si è individuata l'unicità della risorsa in sé, ma anche gli aspetti legati al territorio?

Qui risulta interessante l'altra esperienza che abbiamo avuto in Umbria con la pasta madre di una Signora che la utilizzava avendola ricevuta e tramandata dalla sua famiglia e che quindi perdurava da circa 100 anni. L'Università di Perugia è stata fondamentale per scoprire la grande ricchezza di biodiversità presente all'interno di questa pasta madre scoperta perché in Umbria si stava attuando un progetto volto al recupero di "forni di comunità" ossia quei forni dove nei piccoli paesi e borghi, tutte le famiglie andavano a cuocere il pane o i prodotti da forno, settimanalmente o mensilmente. La Signora Lanari è stata coinvolta nel progetto per la sua esperienza di fornaia. Intervistandola è emerso che lei utilizzava la pasta madre tramandata in famiglia a partire dalla nonna nata nel 1869. Raccontava che l'unica cosa che era cambiata nel frattempo erano le farine che lei utilizzava (qui si ha l'altro elemento che in qualche modo incide sulla conservazione di queste risorse). Il gesto quotidiano per la Signora Lanari era talmente naturale che per lei non aveva nessun senso dire che fosse proprietaria di questa pasta madre da 100 anni. L'eccezionalità è saltata fuori da occhi esterni che guardano con curiosità ed interesse a queste situazioni. Tutto questo per dire che l'elemento antropologico può dare ulteriore supporto alla decisione di iscrivere anche questi ceppi e consorzi al Registro Regionale, ossia quando si accende un interesse a livello locale per cercare di tutelare la memoria che, nel caso specifico, la Sig. Lanari tramandava da più di 80 anni. L'esigenza quindi è quella di conservare ceppi microbici ma anche quel patrimonio di saperi e conoscenze e di tradizioni legate all'uso di quella risorsa. Ad esempio, il 3A-

PTA ha ricevuto segnalazioni di paste madri di aceto oppure di un'altra pasta madre che proviene in origine da un forno di Roma da oltre 100 anni. Sono tutti elementi sui quali porre attenzione anche se i problemi di conservazione e di utilizzo restano e soprattutto la gestione in termini operativi della diffusione oltre alla conservazione "on farm" o "in factory" di queste risorse.

Gianluigi Cardinali, Dipartimento di Scienze Farmaceutiche- Microbiologia- Università degli Studi di Perugia

Ho avuto modo in passato di affrontare il tema della biodiversità microbica passando dall'ambito accademico a me proprio a quello della programmazione e del controllo, nella consapevolezza delle molte differenze sia di linguaggio che di carattere generale. Cercherò in questo intervento di declinare gli aspetti scientifici nella maniera più piana possibile, evidenziando gli aspetti che hanno ricadute nella programmazione e nella legislazione.

La Biodiversità microbica - Come concepirla

- Due Ragioni per cui la biodiversità microbica è profondamente diversa da quella delle piante e degli animali

La Biodiversità microbica è concepita attualmente come specie formate da ceppi

1. La struttura unitaria evolutiva –la specie-non è riconducibile a quella degli organismi superiori

Questo perché:

- I microrganismi non sono «costretti» a riprodursi sessualmente
 - Non dovendo trovare un partner per riprodursi, anche mutanti estremi possono riprodursi
 - Dai punti precedenti deriva che non esistono barriere riproduttive
2. Il ceppo microbico è una collezione di cellule, tutte derivanti dalla stessa cellula madre per esclusiva riproduzione vegetativa, quindi identiche a meno del rumore di fondo delle mutazioni spontanee. Il ceppo è l'elemento della specie, ma non è un individuo. In tutti i casi in cui troviamo la parola «individuo», la definizione è di incerto utilizzo per i

Il primo aspetto è che la biodiversità microbica è profondamente diversa dal restante mondo della biodiversità, per la sua struttura genetica.

La "specie" microbica, soprattutto quella dei batteri dei funghi della biodiversità di interesse agrario, non è sempre univocamente e facilmente stabilita. La prova sta nel fatto che gli esperti in questo settore stanno dibattendo ancora come delimitarla e questo è l'argomento di diversi articoli e convegni.

Il problema fondamentale, che poi è legato alla gestione pratica come alla comprensione teorica della biodiversità, è che i microrganismi non sono obbligati a riprodursi sessualmente e quindi la specie non è delimitata dalle barriere riproduttive che ben conosciamo, soprattutto negli animali, ma in larga parte anche dei vegetali. Quindi abbiamo specie di complessa definizione.

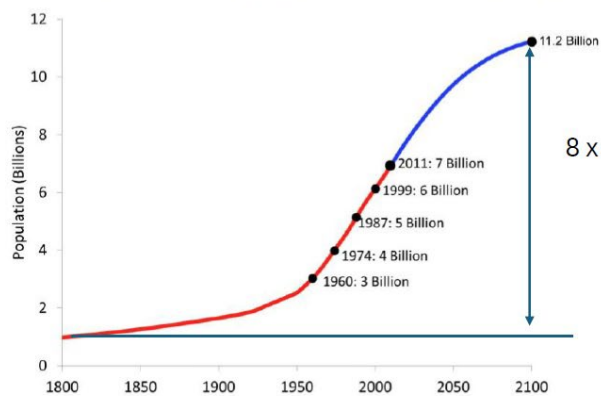
Inoltre noi siamo abituati a pensare che le "specie" siano formate da "individui", a certe fasi sono state anche registrate delle varietà arboree per esempio, con un solo individuo. Le specie microbiche invece non hanno individui, hanno degli elementi costitutivi che chiamiamo "ceppi"

che sono, passatemi il termine, “fotocopie” della stessa cellula ottenute per riproduzione asessuata. La definizione di questi ceppi è anch'essa oggetto di una certa discussione nel mondo scientifico e sicuramente possiamo chiamarli “individui” per tutta una serie di ragioni.

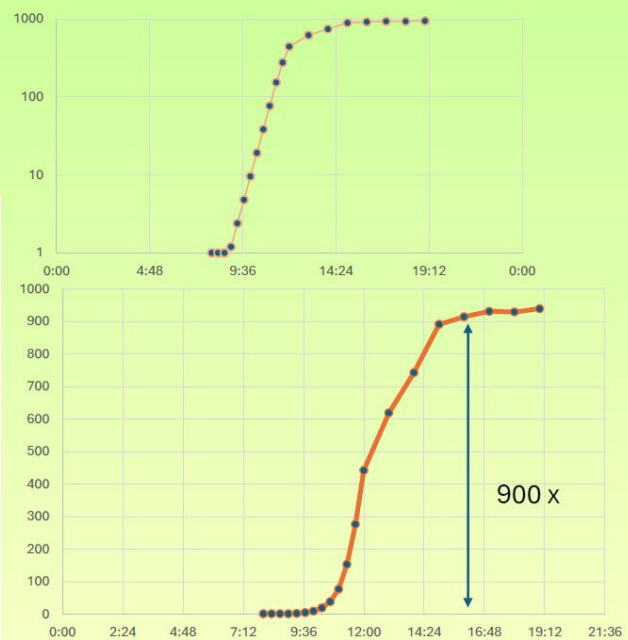
La Biodiversità microbica - Come concepirla

2. la crescita è molto veloce e può partire da un solo organismo

Figure 1. U.N. projections of world population to 2100, medium fertility variant



Source: Various sources before 1950. From 1950: UN World Population Prospects: 2015 revision

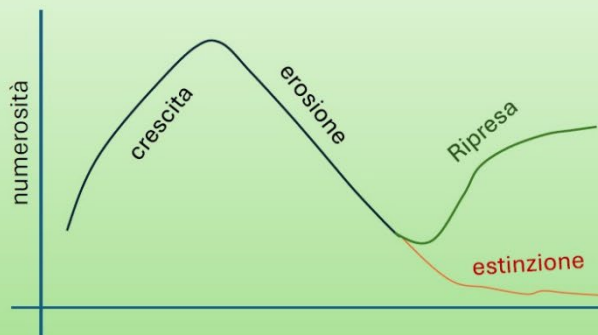


Il secondo aspetto è che i microrganismi sono piccoli e crescono molto rapidamente. Dall'immagine sopra riportata, a sinistra si vede la crescita della popolazione umana dal 1800 a quello che prevediamo sia al 2100: in 300 anni si suppone che aumenti di 8 volte in circa. A destra dell'immagine si vede la crescita di un ceppo dalla mattina al pomeriggio dello stesso giorno, con tanto di fase stazionaria in cui non sta crescendo, si ha una crescita di 900 volte. Tanto è vero che i microbiologi riportano questa crescita in scala logaritmica altrimenti sarebbe impossibile rappresentarle in un grafico in modo visibile.

L'altro aspetto per cui la biodiversità microbica è totalmente diversa da quella vegetale, e dove troviamo i problemi con l'estinzione con l'erosione genetica, vorrei spiegarlo con una argomentazione di “intermezzo” in cui rappresento tali fenomeni nel mondo vegetale e nel mondo animale.

INTERMEZZO

La biodiversità vegetale o animale - come interpretare il declino di una specie



EROSIONE: *loss of genetic diversity between and within populations of the same species over time*

Per i **macroorganismi** la perdita di numerosità equivale ad una necessaria perdita di variabilità, per i **microorganismi** si può avere

- Elevata variabilità con alte densità
- Elevata variabilità con basse densità
- Bassa variabilità con alte densità
- Bassa variabilità con basse densità

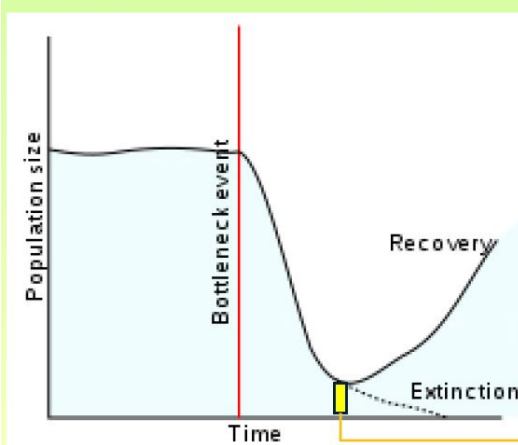
La densità microbica non ha lo stesso significato della numerosità di piante e animali

Nell'immagine sopra è rappresentato l'andamento di una specie che ha un ciclo come gli esseri viventi che nascono, crescono, arrivano a un punto di massima diffusione poi, anche se dopo molto tempo, comincia un lento, ma spesso inesorabile processo di erosione. Quindi l'erosione arriva a un punto critico in cui, se prosegue sfocia nell'estinzione. Ricordate a questo proposito che il termine erosione attiene alla variabilità entro la specie, mentre l'estinzione è la scomparsa di una specie. Se invece avviene qualche fenomeno che rallenti la perdita di diversità, c'è una ripresa, e allora possono anche cominciare quegli ondeggiamenti sinusoidali di alcune specie che dipendono da aspetti ambientali.

Quindi c'è un punto di crisi e che si può ripercorrere e ripercuotere diverse volte la vita di una specie in cui l'erosione può arrivare al punto da portare all'estinzione. Questo è legato al fatto che negli organismi superiori (piante e animali) avere pochi organismi significa avere poca della loro variabilità, ma nei microrganismi questo non è vero perché potremmo avere pochissime cellule e una variabilità enorme, avere tantissime cellule tutte identiche e non avere nessuna variabilità. Per cui nei microrganismi l'associazione numerosità/variabilità di per sé non ha senso.

La Biodiversità microbica - Come concepirla

3. Le specie microbiche non hanno bottlenecks come piante e animali.



Anche da una cellula si può ripristinare una specie

Ne consegue che:

L'erosione genetica ha un significato diverso da quella di piante e animali

L'estinzione delle specie microbiche non è plausibile e l'erosione non è il suo preludio come per piante e animali

Variabilità minima per evitar l'estinzione

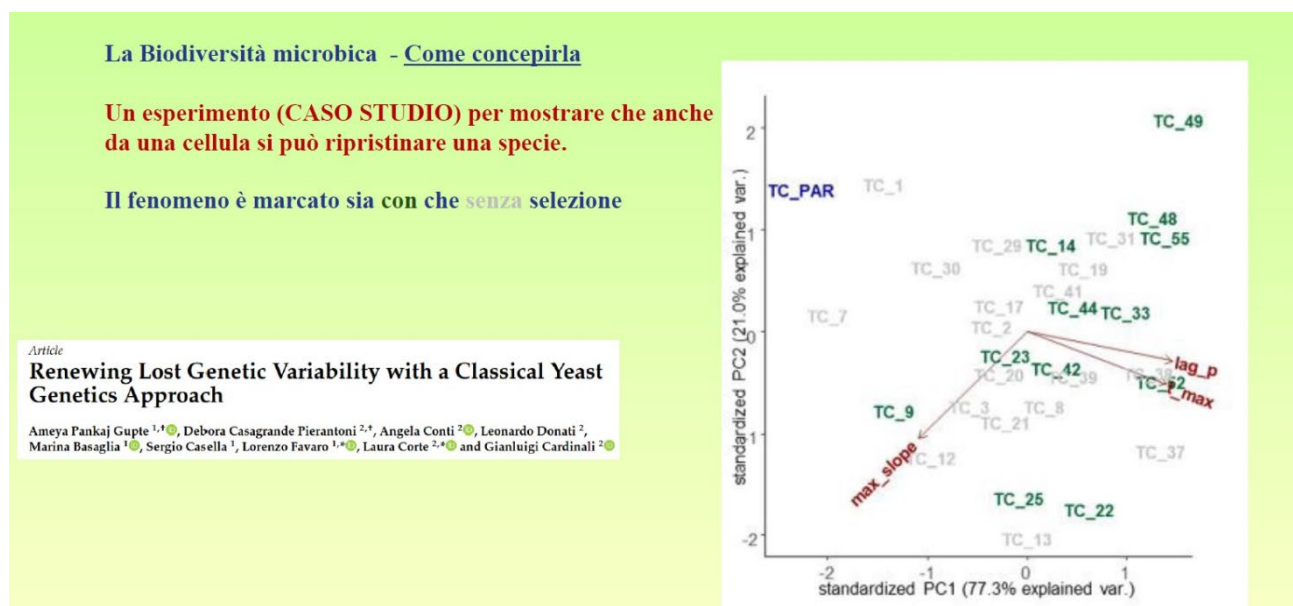
Il punto critico di cui prima è chiamato *bottleneck* ossia “collo di bottiglia” che per molte specie anche quantificare, per esempio per le specie animali si stima che sia intorno ai 10.000 individui, per la specie umana (*Homo sapiens*) è arrivata almeno una volta molto prossima al punto *bottleneck*, poi evidentemente non si è estinta, riprendendosi come oggi sappiamo.

Ebbene, con i microrganismi il bottleneck non ha nessun senso, perché anche da una sola cellula noi potremmo riavere tutta la specie. Questo per il motivo che ho detto inizialmente, ossia che i microrganismi possono riprodursi sessualmente, così come alcuni funghi, ma la costante di tutti i microrganismi è che si riproducono in modo asessuato. Quindi da una cellula possiamo riottenere, non la stessa variabilità, ma una quantità comparabile di variabilità o anche superiore a quella precedente.

Da questi 2 aspetti emerge una conclusione di carattere genetico, ma anche, poi, legislativo e di linguaggio: non è corretto parlare di estinzione per i microrganismi, ma anche l'erosione genetica ha un significato decisamente diverso nelle piante e negli animali da una parte e nei microrganismi dall'altra.

L'erosione e il preludio all'estinzione delle piante degli animali, nei microorganismi andrebbe definita. Oggi esistono almeno 3 principali definizioni di erosione, ma non ce n'è nessuna che sia pienamente descrittiva delle situazioni dei microrganismi.

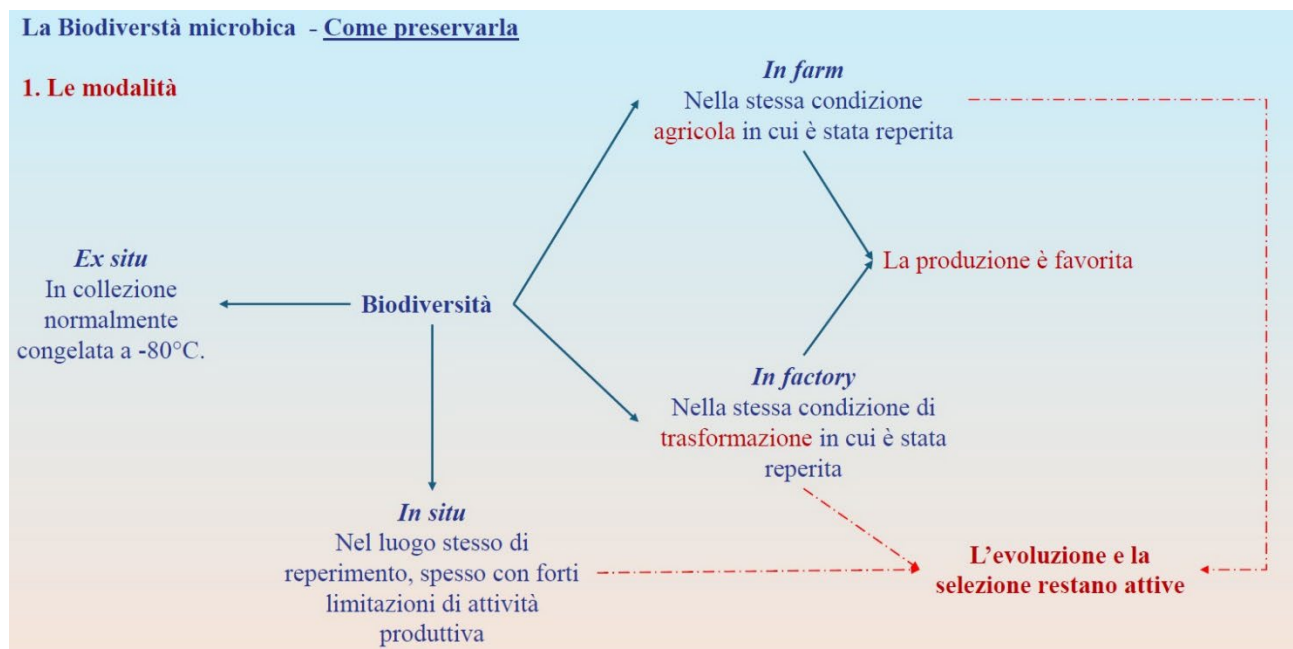
La scaletta dei lavori che ci è stata inviata per oggi, prevedeva la presentazione di un caso di studio.



Il caso di studio rappresentato nell'immagine è stato anche pubblicato ed è una delle pubblicazioni che abbiamo fatto in questo ambito. Qui dimostriamo come da un solo ceppo di lievito, con metodi esclusivamente di genetica classica, possiamo ottenere una esplosione di diversità enorme. Il ceppo di partenza è rappresentato come un punto nella mappa bidimensionale, mentre le distanze fra ceppi sono all'incirca proporzionali alle distanze genetiche che intercorrono fra loro. Dal grafico si vede che da un ceppo, che di per sé stesso non ha variabilità, abbiamo ottenuto una variabilità amplissima. Le sigle riportate nel grafico sono sia in verde che in grigio: quelle in grigio sono quelle che abbiamo ottenuto senza nessun tipo di selezione, mentre quelle verdi sono i ceppi ottenuti sotto una selezione specifica, che assomiglia molto alla situazione che si verifica per certe specie microbiche di interesse agrario. Questo perché la biodiversità agraria è una biodiversità

tipicamente sotto selezione non naturale ma artificiale. Questo non riguarda solo la biodiversità dei ceppi vinari, dei ceppi caseari o dei prodotti da forno, ma riguarda anche quella del suolo in cui siamo ormai sempre più consapevoli del fatto che è l'interazione, pianta/microorganismo quello che seleziona i microrganismi dal microbiota generale del suolo. Per quanto sopra detto è possibile da un solo ceppo far ripartire tutta la diversità che però non sarà la stessa di prima; potrà essere pari o superiore quantitativamente, ma qualitativamente sarà quasi sicuramente diversa.

Passiamo a una seconda domanda sulla biodiversità microbica: come preservarla?



Sappiamo tutti che ci sono 2 modi fondamentali *ex situ* ed *in situ*; come variante nella conservazione *in situ* in ambito agrario è stato introdotto il concetto di *In farm* ossia la biodiversità sviluppata nei campi distinta da quella sviluppata dai trasformatori definita *In factory*. La differenza è fondamentale in quanto gli agricoltori temono di sentirsi bloccati da conservazioni *in situ* con normative troppo strette che sono adatte alla preservazione degli ambienti naturali, ma non permettono una produzione agricola razionale e remunerativa. Nel caso di una conservazione senza attività agricola la conservazione perde senso dal punto di vista economico. Quella preservata *in situ* non è più una biodiversità di interesse agrario se non c'è una produzione o trasformazione agricola, è semplicemente una conservazione naturale importante sicuramente, ma diversa.

Quindi questi 2 sistemi di conservazione *in farm* ed *in factory*, sono specifici della biodiversità di tipo agrario e hanno la caratteristica opposta a quella della *ex situ*, di permettere una continua evoluzione, che è un vantaggio ma al tempo stesso uno svantaggio perché questa evoluzione potrebbe portare a una riduzione o a un trasferimento della variabilità genetica.

A questo punto, assunto che per la biodiversità microbica non si possa parlare di rischio di erosione/estinzione genetica, io continuo a proporre l'idea del rischio di *sostituzione* perché è quello che è avvenuto storicamente ad esempio in tutte le cantine che hanno adottato *starter* selezionati, disponibili in commercio e molto simili fra loro che hanno portato alla perdita della biodiversità inizialmente esistente nelle varie cantine. Quando questo fenomeno erosivo avvenne negli anni '60 -'90 del secolo scorso, non si conoscevano né si potevano predire gli effetti

dell'ingresso massiccio di ceppi selezionati eteroetoni. A differenza di allora, adesso sappiamo che se i ceppi eteroetoni introdotti hanno un vantaggio selettivo, intrinseco o estrinseco, allora soppiantano i ceppi autoetoni e questo porta appunto ad una *sostituzione* della biodiversità che sarà necessariamente diversa da quella originale.

La Biodiversità microbica - Come preservarla

2. Evitare la sostituzione per le forme diverse da quella *ex situ*

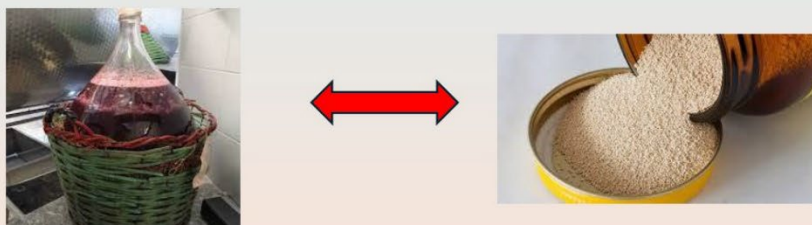
Le specie microbiche **non si possono estinguere** per quanto possiamo sapere al momento.

E' piuttosto probabile la **sostituzione** dei ceppi, e talvolta delle specie, presenti in un ambiente a causa della maggior presenza e del vantaggio selettivo a breve termine di microrganismi introdotti artificialmente (starter) o di microrganismi che abbiano un vantaggio selettivo forte o di microrganismi introdotti ad elevati livelli di densità.

Si può quindi valutare non tanto il rischio di estinzione, quanto la presenza di **ceppi di interesse**.

L'esperienza della Regione Umbria con un ceppo di lievito vinario, ha effettuato proprio questo.

La conservazione in *factory* ha reso superflua la valutazione e sull'opportunità del suo uso e la sua **reintroduzione in produzione**.



Pertanto, visto che è difficile applicare i concetti di estinzione e di erosione è molto utile – a mio avviso- introdurre il concetto di “**ceppi di interesse**”.

L'esperienza fatta in Umbria si è basata sul prendere un ceppo di sicuro interesse da un'area famosa, come quella del vino Sagrantino e fare un esercizio di registrazione di un ceppo microbico nel Registro regionale dell'agrobiodiversità della Regione Umbria. Questa procedura di registrazione sarà sicuramente incompleta, sicuramente migliorabile, ma ha fatto emergere alcuni aspetti molto importanti. Il vantaggio di questa registrazione è che abbiamo effettuato contemporaneamente sia una conservazione *ex situ* nella collezione dell'Università di Perugia, ma anche in *factory* perchè la Ditta che ha effettuato la registrazione, continua a usare il ceppo registrato nella sua propria cantina.

Come si identifica un ceppo microbico?

La Biodiversità microbica - Come preservarla

3. Valutare la situazione genetica – l'importanza del monitoraggio



Per conservare la biodiversità è imprescindibile l'operazione di identificazione e la successiva tipizzazione, con metodi appropriati per evidenziare e rappresentare al meglio la biodiversità presente e quella conservata. Mentre in passato si è lavorato quasi esclusivamente a livello dei singoli *ceppi*, attualmente si fa strada l'idea dei *consorzi microbici* che sono appunto insiemi di specie e ceppi microbici differenti. Dal punto di vista conoscitivo possiamo descriverli, caratterizzarli, monitorarli. Dal punto di vista operativo, possono essere smembrati nei singoli ceppi, oppure essere conservati come insieme. Soprattutto in quest'ultimo caso è fondamentale il monitoraggio per accertare i cambiamenti e l'eventuale evoluzione del consorzio.

Il monitoraggio è sempre essenziale perché ogni forma di conservazione può presentare vari tipi di problemi. Oggi esistono forme di conservazione molto raffinate che riducono questi problemi al limite, ma voi pensate che le conservazioni effettuate fino agli anni '80, passando dalle collezioni ai terreni di coltura, portavano all'estinzione di certi caratteri come per esempio, nei lieviti portavano spesso alla perdita della capacità di riproduzione sessuata.

Nella preservazione della biodiversità microbica dobbiamo prendere in considerazione la normativa esistente.

La Biodiversità microbica - Come preservarla

4. Valutare la legge

Caso da considerare per la biodiversità animale

Reg EU 2016/1012 art. 2

«razza a rischio di estinzione»: una razza locale che uno Stato membro riconosce come a rischio di estinzione, geneticamente adattata a uno o più sistemi di produzione o ambienti tradizionali in tale Stato membro, e la cui condizione a rischio è scientificamente riconosciuta da un organismo in possesso delle competenze e delle conoscenze necessarie in materia di razze a rischio di estinzione;

Ipotesi microrganismi

- a. Chi definisce il rischio di estinzione/erosione genetica di una risorsa?
- b. Deve essere effettuata a livello nazionale
- c. L'adozione del concetto di «sostituzione», svincolerebbe da questo limite, non per ragioni legali, ma perché:
 - L'estinzione intacca la gamma diversità nazionale
 - La sostituzione è un fenomeno su scala ridotta, es. la cantina, l'azienda etc.
 - In ogni caso una «regia a livello nazionale» eviterebbe duplicazioni e omissioni

Se consideriamo la definizione di razza animale a rischio di estinzione, che viene sancita dall'art. 2 del Reg. EU 2016/1012, troviamo che il rischio va valutato a livello nazionale. Si può estendere alla microbiologia una norma analoga? Come fa una struttura nazionale, sovranazionale o anche regionale, ad escludere che quel determinato ceppo sia assente, ad esempio, in tutto il territorio nazionale? Anche se esistesse un Anagrafe nazionale dei microrganismi funzionante (L. 194/2015) o comunque una banca dati che comprendesse tutto, non si potrebbe comunque escludere la presenza di quel determinato ceppo anche in altre strutture. Almeno allo stato attuale delle conoscenze e delle strutture non si può estendere la legislazione relativa agli animali e alle piante anche ai microrganismi. Per questo è importante ribadire il concetto di “ceppo di interesse” o “consorzio di interesse”, per evitare di perdere ceppi o consorzi che hanno sicuramente un effetto positivo in ambito agrario o alimentare e che quindi, vanno preservati proprio per preservare le produzioni agroalimentari ad essi legate.

In questo senso per realizzare la registrazione a livello regionale o nell'Anagrafe nazionale della L. 194/2015, andrebbero rivalutati alcuni aspetti importanti.

La Biodiversità microbica - Come preservarla

4. (RI)Valutare le richieste di legge per la conservazione

1. **Anteriorità** - 50 anni . Nessun senso microbiologico e poco biologico, quante generazioni?
2. **Estensione** - Non ha molto senso neppure per alcuni casi vegetali, per la microbiologia?
3. **Estinzione** – Un rischio che non esiste e che va cambiato in rischio di sostituzione
4. **Erosione genetica** – Particolarmente difficile da mostrare, per via della resilienza e velocità di crescita
5. **Limiti geografici** – Piuttosto complicato visto che i movimenti passivi dei microbi sono veicolati da insetti, animali, vento, acqua, chi li ferma?

Ad esempio, nella legge regionale dell'Umbria viene richiesta una presenza di almeno 50 anni nel territorio agricolo della regione che però non ha nessun senso nel caso dei microrganismi che possono compiere anche 10 generazioni in un solo giorno. Anche se avessimo la certezza che una famiglia continua ad utilizzare una pasta madre da oltre cento anni, per preparare quotidianamente il pane, di fatto non c'è la certezza che sia la stessa pasta madre di cento anni fa. L'evidenza è sicuramente che la pasta madre sia la stessa e anche il pane sarà presumibilmente molto simile, ma nessuno può ragionevolmente garantire che quel consorzio microbico sia rimasto lo stesso nel tempo.

Altro concetto importante è come caratterizzare i singoli ceppi o i consorzi in vista della registrazione all'Anagrafe nazionale o ai registri regionali.

La Biodiversità microbica - Come preservarla

4. bis (RI) Valutare le richieste di legge per la conservazione

Identificazione della risorsa genetica da proteggere

Ceppi singoli

- a. Identificazione specifica mediante marcatori (16S batteri e ITS funghi)
- b. Ulteriore caratterizzazione molecolare, ma soprattutto fenotipica per i caratteri di interesse.

Consorzi

- a. Definizione delle specie presenti, mediante
 - a1. isolamenti → si ricade nel caso dei ceppi singoli
 - a2. Sequenziamento NGS
- b. caratterizzazione del consorzio, nel suo complesso.

PROPOSTA

Per agevolare il proponente, considerando le spese per un lavoro di qualità, si propone un sistema a due livelli:

A. Registrazione di I livello con le identificazioni e una caratterizzazione minima

B. Registrazione di II livello con tutte le caratterizzazioni più fini.

La registrazione di II livello dovrebbe essere effettuata quando si palesi un reale interesse.

Lo standard di identificazione dei ceppi singoli, fatta eccezione per alcune specie problematiche, sono alcuni marcatori di *loci* ribosomiali: il 16S per i batteri e ITS per i funghi.

La caratterizzazione non può essere molecolare ma anche fenotipica, ricordando che la prima ci prospetta cosa sia la biodiversità microbica mentre l'altra cosa effettivamente produca. Nei Consorzi potremmo avvalerci del sequenziamento di prossima generazione NGS, o procedere agli isolamenti dei singoli ceppi e poi identificarli come si identificano i ceppi di interesse con il normale sequenziamento 16S o ITS.

Va comunque fatto presente che le attività di caratterizzazione sia di ceppi che di consorzi sono molto costose e chi volesse registrare un ceppo o un consorzio microbico, potrebbe trovare un ostacolo nel fatto di affrontare tale spesa, senza una certezza di un qualche tipo di guadagno futuro.

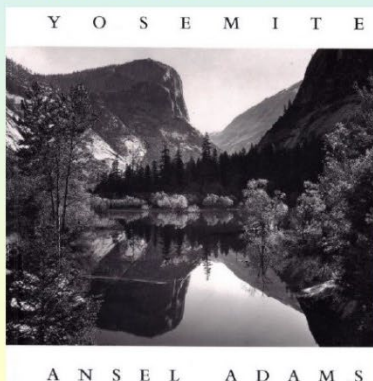
In questo contesto, la mia proposta è che per i microrganismi si creino due livelli di registrazione: la prima dovrebbe consistere in una caratterizzazione di massima che permetta di individuare quell'organismo o consorzio con le specifiche caratteristiche di interesse; il secondo livello di registrazione dovrebbe richiedere una caratterizzazione più approfondita che comporterà, ovviamente, un costo maggiore della precedente. Questo sistema a due fasi permetterebbe di

effettuare la registrazione anche agli agricoltori o alle piccole aziende che lo volessero ma non avessero le risorse per farlo.

La Biodiversità microbica - Come impiegarla

Valutare l'azione dell'uomo

Nel parco californiano di Yosemite, ci sono adesso fra le maggiori Sequoie presenti nel nostro pianeta, accanto a Querce.



Le querce crescono più rapidamente delle sequoie e finirebbero per soppiantarle. In passato questo non è successo in quanto gli incendi, causati dagli indiani per la caccia, distruggevano le querce, ma risparmiavano le sequoie.

QUINDI

Le sequoie non sono presenti per via di un equilibrio naturale, spesso vagheggiato come soluzione di tutti i mali, ma per azione antropica.

ERGO

Salvare le sequoie richiede l'azione dell'Uomo. La normale evoluzione le avrebbe **sostituite** con le querce e poi **estinte**.

Le sequoie esistono grazie agli uomini che ne hanno evitato l'estinzione



Conclusioni

1. La Biodiversità microbica è diversa da quella vegetale e animale
2. La Biodiversità microbica non è soggetta a erosione ed estinzione, ma a sostituzione
3. La Biodiversità di interesse Agrario e Ambientale è diversa da quella «naturale»

Gli agricoltori e i trasformatori sono stati e restano i «generatori» della Biodiversità microbica di interesse A &A, prima ancora di esserne i custodi: valorizziamoli per valorizzare la Biodiversità; aiutiamoli a fare quello che non è il loro *proprium*.

VENETO

Andrea Squartini, Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente, DAFNAE, Università di Padova

Nella biodiversità microbica vi è un aspetto che la differenzia anche concettualmente da quanto riguarda la biodiversità di specie vegetali o animali, dove le varietà o le razze sono note agli agricoltori e agli allevatori da secoli se non da millenni. Viceversa i microrganismi erano invece qualcosa di ignoto a tutti prima della loro scoperta avvenuta nella seconda metà del Seicento. Ma ancora oggi, anche chi utilizza le miscele, gli impasti e gli innesti che è riuscito a selezionare, lo fa senza necessariamente conoscerne la composizione e la sua possibile variazione, anche incontrollata, nel tempo. Quindi in fatto di biodiversità microbica e di intenti per la sua conservazione, l'utente di fatto non conosce l'oggetto che dovrebbe conservare, pertanto necessariamente il custode della biodiversità microbica, individuabile come colui che è in grado di

riconoscerla con appositi metodi e di garantirne la composizione o ripristinarla, resta inevitabilmente il ricercatore microbiologo.

Un altro aspetto molto importante della questione è che, diversamente alle specie vegetali o animali, per i microrganismi non esistono barriere di tipo montuoso, fluviale e nemmeno continentale o oceanico che impediscano loro di essere passivamente trasportati vivi da correnti e fenomeni meteorici che li propagano e li scaricano virtualmente ovunque. E' esperienza comune la deposizione di particelle di sabbia fine per precipitazioni che convogliano materiali di origine sahariana. Pertanto, si verifica un rimescolamento continuo dei microrganismi terrestri e teoricamente un cosmopolitismo omogeneo che rende potenzialmente ubiquitari tutti i ceppi di batteri e funghi. A fronte di questo però, l'esistenza di microflora specifiche e tipicità regionali, che al contrario, presentano una loro caratteristica unicità, è dovuta al fatto che, come correttamente sottolineato dal Prof. Cardinali, vi è stata una lenta e costante operazione di selezione di una biodiversità microbica coltivata dall'uomo, anche senza conoscerne gli agenti e gli oggetti. La "regionalità microbica" o più precisamente quella di prodotto caratteristico è derivata indirettamente dalle nostre azioni di tecnologia alimentare.

Ma per i microrganismi esiste, come per piante e animali, il rischio di perdere una varietà, una razza o la specie stessa per estinzione? Su questo aspetto possiamo ricordare che, persino da sedimenti del Precambriano (circa 650 milioni di anni fa) sono stati riportati alla coltivazione batteri della specie *Kakabekia umbellata* che persistevano nella porosità delle rocce. La "buona notizia" è che, per quanto sappiamo da questa ed altre evidenze, non è affatto facile che una cellula di microrganismo muoia né quindi che la sua intera specie si estingua, quella preoccupante è che le nostre indagini di strati del passato potrebbero riportare in circolazione anche patogeni, virus e quant'altro si possa essere sedimentato nel tempo. In ogni caso, per i microrganismi, la perdita per estinzione non si prefigura quindi un'eventualità quantificabile. Il problema legato alla sparizione di uno o più tipi di microrganismi da un determinato consorzio, e la necessità di doverli reintrodurre, ci indica invece che, dato che i microrganismi di quell'ambiente potevano essere presenti non avendo barriere, se per qualche motivo non persistono, è l'habitat a rivelarci di essere divenuto inadatto, presumibilmente a causa del venir meno di una o più condizioni critiche necessarie a sostenere la specie che ci interessa. Pertanto, più che lavorare su reinoculi, e dover riacquistare periodicamente inoculanti, dovremmo lavorare sulla conservazione dell'habitat perché è la sua alterazione che porta alla defezione locale di microrganismi che vorremmo presenti. Questo vale ancora di più per la microbiologia del suolo: infatti, se per la trasformazione degli alimenti o per altri ambienti ed altri scopi, è possibile una coltivabilità, questa è veramente limitata nelle specie, soprattutto batteriche che in generale troviamo nell'ambiente. Quando parliamo di suolo, acqua e atmosfera, la coltivabilità microbica riguarda dallo 0.1 all' 1% delle specie. Questa vasta maggioranza di taxa microbici del nostro pianeta non si prestano quindi a essere studiati, coltivati e conservarli. E in questo senso la nostra possibilità conoscitiva è affidata alla metagenomica, vale a dire estrarre il DNA ambientale, collettivo, sequenziarlo per leggerne il contenuto, e tramite la bioinformatica confrontarlo con quanto sinora noto per poterne tentare la definizione.

Un altro rovesciamento del concetto rispetto al patrimonio di razze e cultivar di tradizione agrozootecnica di cui preservare la diversità, è che nei microrganismi non necessariamente l'obiettivo riguarda varietà "antiche" importanti per la tipicità o per l'origine, poiché molto spesso la risorsa utile è invece qualcosa che, al contrario, è completamente nuova, e che recentemente e

con la biologia molecolare, abbiamo costruito in laboratorio, selezionando o addirittura introducendo geni diversi, anche provenienti da altre specie. Può quindi trattarsi di microrganismi geneticamente modificati (OGM o ottenuti attraverso le nuove tecnologie di evoluzione assistita, TEA), che hanno nel loro genoma tratti nuovi che li rendono diversi dai ceppi di origine. Quindi, molto spesso, per quanto riguarda isolati da conservare in collezioni di stocks viventi, non abbiamo a che fare con la varietà storica o conosciuta dal popolo, ma con qualcosa che, oltre a non essere antico, ma al contrario nuovo, può provenire da un laboratorio di biotecnologie molecolare dove la biodiversità è stata in questo caso disegnata a tavolino e poi realizzata. Possiamo aggiungere che, per quanto riguarda poi l'applicazione in campo e nell'ambiente di questo tipo di risorse viventi, incluse in questo caso anche quelle di natura vegetale o animale, incontrerà, localmente, a livello di nazioni o continenti, i problemi e i vincoli legati alle politiche di controllo, come ad esempio quelle stringenti attuate dall'Unione Europea che impediscono la coltivazione o l'allevamento di specie geneticamente modificate sul proprio territorio. Questa precauzionalità, oltre ad aver creato enormi svantaggi dal punto di vista della competitività economica del vecchio continente, è, per i motivi qui esplicitati, anche una forma di autolimitazione nei confronti dell'obiettivo di incremento della biodiversità negli agroecosistemi.

Paola De Dea, Istituto per la Qualità e le Tecnologie Agroalimentari di Thiene (VI) di Veneto Agricoltura, componente del Nucleo di Valutazione della Regione Veneto

Veneto Agricoltura, è un componente dei Nuclei di valutazione per la biodiversità di interesse agricolo e alimentare istituito dalla Regione Veneto nel 2019 all'interno del Nucleo di valutazione delle specie microbiche grazie alla lunga esperienza nello studio delle specie microbiche legate alle produzioni alimentari del territorio. Nel 2023 ha aderito alla rete MIRRI in modo da poter condividere le esperienze e le competenze, per migliorare la gestione della collezione microbica secondo standard condivisi e fare squadra per nuove progettualità.

Nell'esposizione ci si attiene ai quesiti che sono stati posti per la realizzazione di questo Ciclo di incontri.

Terminologia

In tema di biodiversità microbica non può esistere un termine analogo a "Agricoltore/Allevatore custode", ma sono i produttori che utilizzano le colture naturali siano essi siero-innesti o latte-innesti impiegati nelle produzioni casearie o paste acide per i prodotti da forno oppure altre colture microbiche per la fermentazione naturale di vegetali che diventano i cosiddetti "allevatori" ossia i trasformatori. Lo studio e la conservazione della biodiversità viene effettuata dagli Istituti di ricerca che a vario titolo, selezionano i microrganismi, li identificano, li caratterizzano e poi li conservano.

Le fasi di tutela dell'agrobiodiversità microbica

Si esegue operativamente seguendo questo schema:

1. campionamento dal prodotto finito oppure da un intermezzo di lavorazione;
2. isolamento/selezione;
3. caratterizzazione;
4. crioconservazione;
5. valorizzazione degli stessi producendo in forma liofilizzata le colture.

Veneto Agricoltura valuta anche gli aspetti di sicurezza come ad es. lo stato QPS (Quality Presumptive Safety) seguendo le linee guida dell'EFSA e quindi verifica per ogni ceppo l'antibiotico resistenza e la produzione di altri composti quali le bioamine per i microrganismi candidati ad una possibile applicazione nelle produzioni alimentari.

Attenzione viene rivolta anche alla "coltura naturale" *in toto* chiamato anche "consorzio" di microrganismi. Essa può essere caratterizzato per quelli che sono i microrganismi coltivabili con le tecniche classiche oppure ricorrendo alle tecniche tipo NGS, e poi riprodotto "in toto" mantenendo la biodiversità dei ceppi presenti.

Veneto Agricoltura, oltre ad azioni di isolamento, caratterizzazione e conservazione dei microrganismi è dotato di attrezzature che ne consentono la produzione in forma liofilizzata sia su scala di laboratorio per testare i vari ceppi agli stress delle varie fasi di produzione, sia su scala maggiore che consente di rifornire i produttori e quindi di valorizzare la biodiversità oggetto di studio.

Rischio di estinzione o di erosione genetica

Si condivide il concetto che la perdita di biodiversità può avvenire a livello di "ceppi" ma non di specie.

Il "rischio di sostituzione" può esistere se i produttori utilizzano continuamente colture starter commerciali. Veneto Agricoltura ha tentato di limitare negli anni questo rischio andando a selezionare microrganismi tipici di ogni produzione o di certi territori, di certi areali.

Individuazione della risorsa genetica: quanto dipende dall'ambiente (terreno o ambiente di lavorazione) e quanto invece è oggettivamente espresso dai microrganismi oggetto di segnalazione?

Occorre fare una considerazione che riguarda gli stabilimenti di produzione: negli ultimi anni, soddisfare i requisiti igienico-sanitari che sono richiesti dalla legislazione vigente, ha comportato una diminuzione della biodiversità collegata agli ambienti di lavorazione e quindi sono diminuiti i microrganismi veicolati attraverso la materia prima. Si può dire pertanto che da questo punto di vista c'è stata sicuramente una limitazione del contributo che può dare l'ambiente di lavorazione.

Caratterizzazione e i costi relativi

Secondo l'esperienza di Veneto Agricoltura, le tecniche più affidabili ma anche meno costose sono quelle basate sulla PCR (specie specifica, RAPD-PCR e sequenziamento della regione V1-V3 del 16S rDNA). Molta importanza viene data alle caratterizzazioni fenotipiche in particolare quelle tecnologiche perché le colture starter devono assicurare una corretta acidificazione e pertanto è fondamentale conoscere per ogni ceppo o coltura naturale "in toto" questo tipo di attività monitorando in continuo le variazioni di pH nella matrice specifica a seconda dell'applicazione (latte, impasto di carne macinata, acqua e farina, ecc.).

I costi sono da calcolare sulla base delle dimensioni e della complessità degli studi: si va da poche migliaia di euro a 10-11 mila euro, dipende anche dal numero di campionamenti e dalla complessità che ha la coltura.

Conservazione della risorsa genetica microbica

Veneto Agricoltura utilizza la crioconservazione a -80°C quale tecnica di conservazione dei microrganismi. È un'attività molto delicata in cui la manipolazione deve essere molto attenta per evitare la perdita di vitalità dei microrganismi. Secondo la nostra esperienza, è anche importante per ogni ceppo, conservarne due aliquote in congelatori diversi in modo da ridurre la probabilità di perdita in caso di rotture.

I ceppi che sono già in produzione vengono conservati anche in forma liofilizzata e in questo caso le condizioni di conservazione migliori sono le temperature uguali o inferiori a -18°C. In queste condizioni, è di estrema importanza evitare sbalzi continui di temperatura (abusi termici) per assicurare il mantenimento della vitalità dei microrganismi, oltre che mantenere invariata l'attività dell'acqua ed evitare danni da ossidazione determinati dalla presenza di aria e di luce.

Periodicamente si deve procedere ai controlli di vitalità che riguardano soprattutto le caratteristiche tecnologiche d'interesse. Per i batteri lattici dotati di elevata attività acidificante, ad esempio, è opportuno verificare periodicamente l'andamento per monitorare la stabilità del carattere

Valorizzazione e reintroduzione sul territorio di risorse microbiche

Gli strumenti sono determinati dalla tecnologia adatta per la produzione di questi microrganismi; la forma liofilizzata è quella che più facilmente si può conservare e distribuire e quindi in questo modo si riesce a compiere il ciclo completo dalla selezione alla caratterizzazione, isolamento fino al ritorno della coltura al territorio.

La grande industria agroalimentare: una risorsa o anche un rischio per la biodiversità microbica?

Sulla base dell'esperienza e delle collaborazioni di Veneto Agricoltura, possiamo dire che la grande industria può essere anche una risorsa, nel senso che ci sono grandi industrie che hanno rilevato piccoli stabilimenti che comunque erano caratterizzati da produzioni anche storiche di prodotti per i quali venivano utilizzati delle colture naturali. Tali realtà produttive hanno capito l'importanza dell'identità del prodotto legata alla biodiversità microbica della coltura e quindi hanno cercato strutture come Veneto Agricoltura per poter da un lato conoscere la composizione di queste colture e dall'altra per trovare il modo di preservarle e standardizzarle in modo da assicurare la disponibilità continua della coltura e il mantenimento delle qualità del prodotto fermentato. Approcci diversi nel valutare l'approvvigionamento delle colture starter, contribuiscono ad un impoverimento della biodiversità dei prodotti.

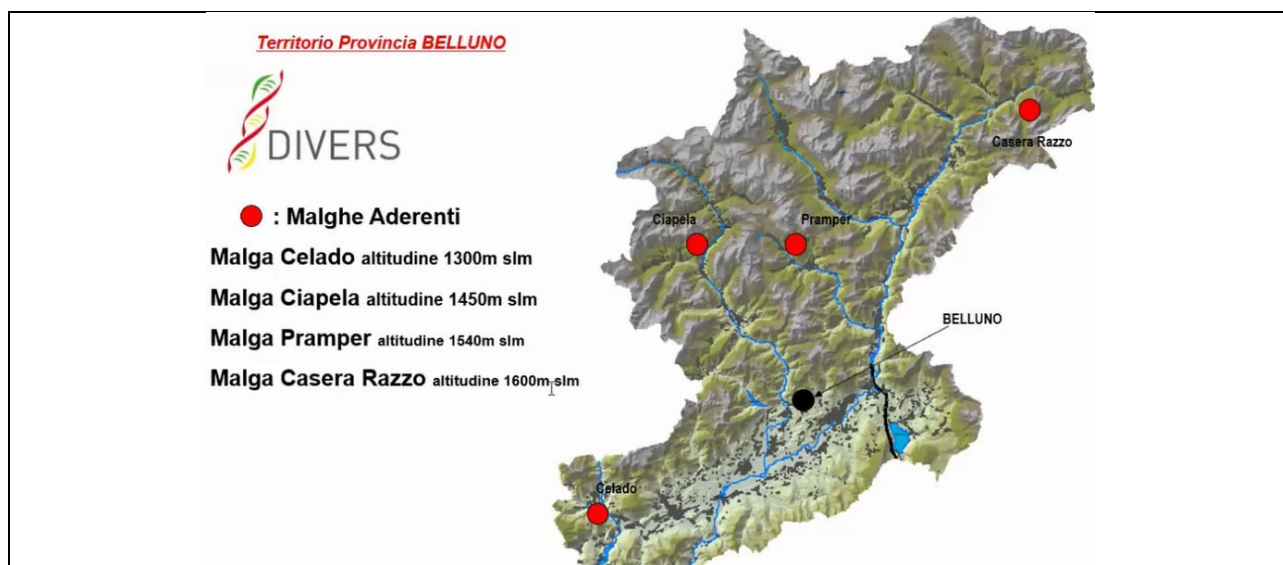
Fondamentale appare questa rete che si è formata all'interno del MIRRI per supportare le istituzioni impegnate nel valorizzare quella biodiversità microbica tipica di un territorio e dare un servizio alle aziende impegnate nel coniugare la tradizione e la tipicità del territorio con i requisiti igienico-sanitari degli alimenti prodotti.

Un caso studio emblematico

Veneto Agricoltura ha fatto diversi di questi studi: presentiamo un progetto realizzato nella provincia di Belluno per la messa a punto di colture starter delle Malghe Bellunesi e quindi ben consci del collegamento tra ambiente e prodotto e quindi i microrganismi che provengono dai pascoli e dagli animali, avranno un ruolo nella produzione del formaggio come è rappresentato dall'immagine che segue.



In questo progetto sono stati campionati formaggi da alcune malghe della provincia di Belluno, in valli diverse e altitudini diverse.



È stata seguita la procedura di campionamento e isolamento per conoscere, caratterizzare e conservare i microrganismi presenti ed eventualmente usarli.

Microrganismi e formaggi di alpeggio

Necessario studiare i batteri lattici starter e non starter presenti nei latti/formaggi di alpeggio per:

- conoscerli^I
- caratterizzarli
- salvarli
- usarli

per garantire

- tipicità e diversificazione
- qualità/ sicurezza dei prodotti

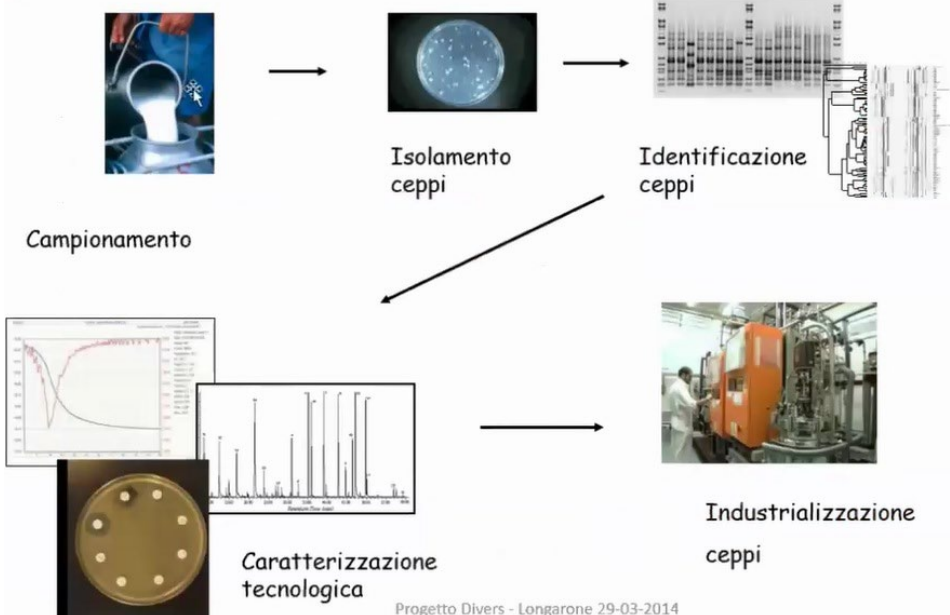
Necessità di sviluppare
tipologie innovative
di colture starter
autoctone
in grado di garantire
biodiversità e qualità
dei prodotti

Valorizzazione
formaggi tradizionali
e formaggi di alpeggio

Progetto Divers - Longarone 29-03-2014

Questo è la procedura che abbiamo seguito:

Allestimento miscele a più ceppi



Progetto Divers - Longarone 29-03-2014

In seguito all'industrializzazione dei microrganismi isolati e caratterizzati, è stata data la possibilità alle strutture produttrici dei formaggi del progetto, di utilizzare degli starter selezionati a partire dal loro territorio.

In questo modo, andiamo a standardizzare i prodotti?

La risposta è no! il progetto illustrato sopra dimostra che formaggi prodotti con lo stesso starter sono completamente diversi tra loro.



Sulla base di quanto esposto finora, possiamo dire che è possibile restituire al territorio la biodiversità e quindi mantenere queste caratterizzazioni.

Può essere interessante organizzare degli incontri periodici tra gli esperti del settore?

Assolutamente sì! Sono utili sia nell'ambito della rete delle Regioni e PP.AA. che riguarda essenzialmente l'agrobiodiversità microbica, ma anche con gli altri gruppi che si occupano di agrobiodiversità vegetale e animale perché l'uno influenza l'altro scambievolmente.

Quali principali progetti potrebbero essere attivati?

Potrebbe essere interessante collaborare studiando specifiche nicchie microbiche di diverse regioni italiane, magari anche sulla stessa tipologia di prodotto per verificare se effettivamente c'è una tipicità anche a livello regionale.

Un'altra possibilità progettuale particolarmente interessante nasce dalla consapevolezza che l'importanza della biodiversità microbica trova molte sensibilità all'interno della comunità scientifica. Ciò non avviene altrettanto all'esterno, quindi dovrebbe essere attivato un processo di sensibilizzazione verso i consorzi di tutela dei prodotti DOP e IGP che non sempre hanno la coscienza che la biodiversità microbica è un fattore che consolida il legame del prodotto al territorio e potrebbe costituire un elemento importante per valorizzare il prodotto. Purtroppo, in alcuni disciplinari l'utilizzo di starter autoctoni non è previsto.

Possiamo concludere che la biodiversità microbica di un territorio si può tutelare solo se si è consapevoli della sua importanza.

DISCUSSIONE

Antonio Moretti, Direttore del CNR – Istituto di scienze delle produzioni alimentari (ISPA) di Bari

ISPA è coinvolto in un progetto europeo insieme all'Università di Gand, per costruire un sistema di sicurezza alimentare in Africa partendo da una serie di casi studio, fra cui quello delle micotossine degli alimenti. Uno degli aspetti importanti è studiare per quale motivo, come e attraverso quali meccanismi alcuni prodotti fermentati africani, tipici, locali riescono a ridurre le micotossine attraverso la presenza di un determinato microbioma. L'obiettivo del progetto è pertanto quello di studiare questo microbioma, di riuscire a conservarli e poi di utilizzare questo microbioma per standardizzare le produzioni di questi prodotti tipici, locali, per aiutare le popolazioni locali ad avere un prodotto affidabile e che li faccia anche crescere dal punto di vista economico.

Pertanto credo che riuscire a garantire in ogni regione strutture che garantiscono la conservazione di questi microbioma, serve anche alle piccole produzioni locali e ai piccoli compagnie locali, per avere quello che la grande industria riesce a fare per conto proprio.

Io ribalterei la domanda perché secondo me è funzionale a facilitare alle piccole realtà territoriali attraverso una rete di collezioni che garantiscono le collezioni microbiche e che standardizzano determinati procedimenti, senza ridurre la biodiversità, ma che magari in maniera dinamica garantisca l'uso alle realtà produttive locali.

Giovanna Cristina Varese, Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi, Università di Torino

Ringrazio di questa giornata e sono contenta della presenza del Dott. Vincenzo Montalbano e della Dott.ssa Antonella Trisorio del CREA, perché sono le persone con cui, insieme al Prof. Gianluigi Cardinali e alla Dott.ssa Roberta Comunian, ci stiamo confrontando per scrivere la parte microbica del Piano Nazionale della Biodiversità Agraria e Alimentare. Detto questo vorrei puntualizzare due cose:

1. il network delle biobanche di microorganismi italiane (JRU.MIRRI.IT) è assolutamente aperto a tutte le Istituzioni che sono interessate ad interagire con questo "Gruppo di lavoro" che ha come intento migliorare e standardizzare le procedure per la caratterizzazione e conservazione di microorganismi.;
2. molte delle biobanche italiane hanno fortissime interazioni con il mondo industriale rappresentato sia da grandi industrie, sia da piccole realtà. Spesso e volentieri vengono portate avanti collaborazioni con queste realtà produttive. Questo è un periodo dove le risorse microbiche stanno diventando un cardine della gestione del territorio, con particolare riferimento al settore agricolo e alla produzione. Sempre più spesso veniamo richiesti dalle piccole, medie e grandi aziende di "conservare" i loro ceppi attraverso il servizio di "save deposit" per il quale non vogliono grande pubblicità. Chiedono sempre più spesso anche di caratterizzare i loro microbiomi.

Ribadisco che sarebbe importante un approccio sistemico a livello nazionale che ci permetta di lavorare su matrici di interesse rispettando le peculiarità delle diverse regioni e le tipicità a livello microbico. Questo ci permette di capire se ad esempio come le variabili ambientali o le attività umane impattano sulla biodiversità microbica. Tuttavia per poter confrontare i dati, dobbiamo utilizzare protocolli di lavoro condivisi.

MIRRI si prende carico, in alcuni casi, di gestire risorse microbiche per aziende che non sono in grado di farlo in modo autonomo (vedi il safe deposit sopra citato).

Sicuramente c'è bisogno di un cambio di normativa sia a livello regionale che nazionale.

I brevetti non sono sempre la strada giusta: moltissime aziende non vogliono in realtà brevettare, ma preferiscono mantenere il loro know-how attraverso il “segreto” di quello che gestiscono.

Penso che sia importante fare formazione e informazione sul tema della biodiversità microbica, coinvolgendo tutti gli operatori presenti nel territorio. Occorrerebbe organizzare Giornate di divulgazione scientifica, cercando di ingaggiare le comunità degli agricoltori e dei produttori.

[Gianluigi Mauriello, Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Napoli](#)

Volevo chiarire il fatto che in questo contesto stiamo parlando di ricerca applicata e non di ricerca di base, che è una cosa completamente diversa. L'isolamento di microrganismi da specie alimentari è ricerca applicata.

Un'altra questione è il conflitto che ha sempre riguardato i microbiologi alimentari, anche se probabilmente riguarda anche la microbiologia del suolo e altre applicazioni. Da sempre i microbiologi si chiedono: che cosa stiamo facendo? Stiamo riducendo la biodiversità? Non è meglio lasciare le cose così come stanno? In effetti se noi sostituiamo uno starter selezionato ad uno naturale, stiamo riducendo la biodiversità, è inevitabile. Ma c'è sempre la possibilità di percorrere una terza via che permetta di selezionare e allo stesso tempo arricchire quello che è il prodotto fermentato di un'area, di una certa matrice di partenza, cercando di mantenere la ricchezza della coltura starter ed escludere quelle cose che da una parte possono essere pericolose per il consumatore (quindi microrganismi patogeni) e dall'altra quelli che possono far fallire le trasformazioni. Questa è la strada da seguire ed è chiaramente una ricerca applicata.

[Roberta Comunian, AGRIS Sardegna](#)

Riprendendo l'intervento del Prof. Mauriello, desidero ribadire che il lavoro dei ricercatori Agris si focalizza principalmente sull'applicazione pratica dei risultati delle ricerche scientifiche, sebbene il confine tra ricerca applicata e ricerca di base sia spesso molto sottile.

AGRIS opera nel settore agroalimentare, in particolare nel lattiero-caseario, ma abbiamo condotto studi anche su altri prodotti agroalimentari fermentati (carnei e vegetali) come, per esempio, le olive da mensa, per le quali abbiamo sviluppato uno starter indefinito, “biodiverso”, ottenuto non con ceppi selezionati e poi riassemblati, ma prelevando “in toto” i microrganismi dalla salamoia delle olive. Confrontando questo starter con uno selezionato, abbiamo osservato che non solo si ottenevano migliori risultati nella produzione delle olive, ma si è riscontrata anche una maggiore

efficacia nel contrastare microrganismi indesiderati che potrebbero compromettere la qualità del prodotto finito o avere effetti negativi sulla salute del consumatore. Studiare queste comunità microbiche complesse nel loro insieme è cruciale, anche se non riusciamo a caratterizzarle completamente, poiché non tutti i microrganismi possono essere coltivati. Pertanto, è fondamentale caratterizzare il più possibile queste colture e poi riutilizzarle, come avviene spesso nelle produzioni artigianali, dove si recupera una piccola parte della produzione del giorno precedente o dei giorni precedenti e si inocula per poi ottenere la produzione del giorno successivo. Tuttavia, questo approccio presenta delle sfide. Recentemente, AGRIS ha recuperato biodiversità microbica dal latte crudo, ottenendo una coltura starter per un formaggio simile al Pecorino Sardo. Analizzando questa coltura anche con tecniche di metagenomica, abbiamo rilevato la presenza di specie non incluse nella lista di quelle considerate sicure dall'EFSA (*European Food Safety Authority*). L'EFSA attribuisce lo status di QPS (*Qualified presumption of safety*), autorizzandone l'uso negli alimenti, solo ai microrganismi che, attraverso la valutazione dei dati presenti in letteratura, risultino sicuri per la salute, distinguendoli da quelli che, potendo rappresentare un rischio, dovrebbero essere sottoposti a una completa valutazione di sicurezza prima di poter essere utilizzati nella catena alimentare. Questo implica che un piccolo produttore, utilizzando una coltura naturale recuperata dal proprio prodotto, non può garantire l'assenza di specie non presenti nell'elenco dei QPS dell'EFSA. Di conseguenza, sarebbe necessario rivedere il concetto di QPS e i criteri dell'EFSA per le colture naturali, che per definizione sono "biodiverse" e "indefinite" e potrebbero contenere specie o ceppi non-QPS.

Per quanto riguarda la conservazione "on farm" dei microrganismi, questa non può essere paragonata alla conservazione effettuata dalle Collezioni microbiche. Nelle aziende non è possibile né conservare in purezza singoli ceppi, né mantenere invariata la composizione in specie e ceppi e gli equilibri tra loro nei consorzi microbici, poiché, quando reintrodotti in produzione, interagiscono con l'ambiente circostante, dando luogo a una co-evoluzione tra i microrganismi inoculati e quelli già presenti nell'ambiente. Quindi si deve intendere il "custode on farm" come un "produttore custode" che si impegna a non utilizzare risorse alloctone, ma che impiega nelle sue produzioni le risorse microbiche locali, quali quelle studiate e conservate nelle Collezioni, evitando innesti commerciali selezionati che, generalmente introdotti in quantità massiva, tendono a diventare dominanti e a inibire lo sviluppo del microbiota locale.

Questo pone le Collezioni microbiche davanti al problema di offrire un'alternativa pratica ai produttori: se li invitiamo a non usare starter selezionati commerciali dobbiamo essere in grado di produrre e fornire ai produttori quantità di colture starter adeguate a soddisfare le loro esigenze di produzione.

Ad esempio, AGRIS, in accordo con il Consorzio per la tutela del Pecorino Romano DOP, ha condotto con successo degli studi di caratterizzazione microbiologica, della sicurezza e delle performance tecnologiche di colture starter naturali in scotta prelevate "in toto" presso dei caseifici produttori di questo formaggio alla fine degli anni '60 prima, quindi prima dell'avvento degli innesti starter commerciali selezionati. Tuttavia, nei laboratori dell'Agenzia non è possibile riprodurle in quantità tali da soddisfare il volume di produzione di questo formaggio ed è stato necessario rivolgersi a Veneto Agricoltura, che da anni svolge egregiamente questo lavoro, ma che, probabilmente, non potrebbe soddisfare le esigenze di produzione di starter per tutti i prodotti/produttori italiani. Sarebbe quindi necessario moltiplicare le strutture come Veneto Agricoltura o permettere alle aziende produttrici di innesti selezionati di produrre le colture

autoctone conservate nelle Collezioni (qui si pone il problema della concorrenza tra aziende produttrici di innesti). Senza un sistema di riproduzione adeguato, rischiamo di non poter reimpiegare nelle nostre produzioni agroalimentari le preziose risorse conservate nelle collezioni *ex situ*.

Infine, vi è la necessità di modificare le normative sulla biodiversità di interesse agrario e alimentare o di produrre dei decreti attuativi che includano tra le risorse genetiche da tutelare e valorizzare anche quelle microbiche. AGRIS, di concerto con l'Assessorato regionale dell'Agricoltura, ha proposto degli emendamenti alla L.R. 16/2014, ma, al momento, tali emendamenti non sono stati accolti. L'alternativa potrebbe essere modificare direttamente la legge nazionale, rendendo l'intervento sulle leggi regionali non necessario.

Rosanna Tofalo, Dipartimento di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo

Condivido quanto detto fino ad ora sottolineando che occorre un coordinamento nazionale.

In Abruzzo abbiamo avuto due esperienze in particolare: una con di brevetto e l'altra no. Nel primo caso l'Università degli Studi di Teramo ha brevettato una coltura starter per la fermentazione delle olive da mensa; il secondo ha riguardato la selezione di lieviti per il settore viti-vinicolo. In quest'ultimo caso i produttori sono disposti ad utilizzare i lieviti vinari selezionati nell'ambito di un progetto con la cooperativa Vin.co per la produzione di spumante Abruzzo DOC, ma c'è la difficoltà di produrre biomassa per grandi numeri. Al termine ci ritroviamo a produrre su scala ridotta e non siamo in grado di soddisfare la richiesta. Anche nel settore lattiero-caseario, pur avendo ceppi selezionati per la standardizzazione e valorizzazione della produzione di formaggi a latte crudo come il Pecorino non riusciamo a produrre biomassa da distribuire alle aziende produttrici. Un'esperienza positiva è stata la collaborazione con l'Ente Parco e la Banca del Germoplasma della Maiella e l'azienda vitivinicola BioCantina Orsogna dove i lieviti da frutti e fiori della flora autoctona del territorio sono stati studiati e impiegati per la produzione di vini denominati "Vola Volé Maiella National Park" certificati con la BLOCKCHAIN per la tracciabilità dei lieviti. La collezione dei microrganismi è a disposizione delle aziende che ne fanno richiesta.

Giovanna Cristina Varese, Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi, Università di Torino

Volevo far presente, visto che è ricorrente il fatto che ci sono poche istituzioni che hanno la capacità di produrre grandi quantitativi di inoculi microbici, che all'interno della JRU MIRRI-IT ci sono partner che si stanno attivando in tal senso: ad esempio ENEA nella sua sede di Trisaia ha un impianto di fermentazione dedicato alla produzione di microrganismi su ampissima scala.

Per quanto riguarda il Piemonte ricordo che l'Università di Torino ha fatto nascere una start-up che è dedicata alla selezione di microrganismi e alla produzione di inoculi per utilizzarli nelle aziende. Quindi penso che questo rientri di nuovo nel discorso della formazione e nella creazione di nuove figure professionali al quale, secondo me, nel prossimo futuro dobbiamo un po' tendere.

E' chiaro che non si fa tutto in due giorni, ma nel discorso di divulgazione, istruzione e formazione c'è anche questo, ossia di far nascere delle nuove figure professionali e forse anche delle attività che abbiano questa funzione. Se si lavora in sinergia a livello nazionale, alcuni centri potrebbero prendere in gestione questo tipo di produzione su risorse genetiche nazionali. Da qui anche la necessità di parlarsi anche a livello interministeriale perché è chiaro che in questo tipo di progettazione ci deve essere una sostenibilità a lungo termine, ossia arrivare a stabilizzare le persone e di permettere a questi impianti pilota o semi-industriali di essere attivi nel tempo.

Penso che questo sia un'opportunità che dobbiamo sviluppare.

Antonella Rocchi, Regione Sardegna

Volendo fare una sintesi di quanto emerso ed espresso fino ad ora direi che è necessario ragionare su due livelli:

1. Innanzitutto occorre una struttura del sistema di tutela della biodiversità microbica che raccolga gli ambiti regionali sotto il coordinamento e la pianificazione da parte di un livello più ampio nazionale. Quindi è necessario partire da un aggiornamento della normativa e delle Linee guida nazionali sia in vista di omogeneizzare il più possibile i sistemi locali ma anche per dare risposte e supporto alle Regioni dinanzi a problematiche ove la microbiodiversità si presenti come risolutiva di problematiche e di situazioni emergenziali. E' importante portare avanti questo lavoro in modo strutturale a livello regionale ma è necessario che vi sia un solido coordinamento nazionale. Il sistema di tutela quindi deve partire dal fornire soluzioni a livello giuridico, come già sottolineato in precedenza da altri colleghi, e qui è essenziale definire bene cosa sia un Registro, un Repertorio, un data base visto che in questo campo gli aspetti della biodiversità microbica sono molto diversi dal campo vegetale e animale; è necessario definire al pari degli Agricoltori e Allevatori Custodi quali siano le rispettive figure di riferimento nell'ambito della microbiodiversità: In Sardegna nell'ambito di Progetti di ricerca realizzati li abbiamo definiti Produttori /Trasformatori. Occorre lavorare sui disciplinari e sulle regole cui un Custode deve attenersi per potersi definire tale. Dopo di ché bisogna ribadire che non possiamo parlare di "erosione/estinzione genetica" della microbiodiversità ma possiamo parlarne forse di "ceppi di interesse". E da questo punto cardine e principio il successivo step è quello di lavorare sulla valorizzazione delle risorse microbiche, i cui ceppi sono di interesse strategico a livello locale.

Dopo di ché, ben vengano tutti i progetti pilota (in Sardegna abbiamo lavorato molto anche sulla panificazione, sulla suinicoltura et) che però hanno il difetto che una volta terminato il progetto questo non ha ricadute a lungo termine sul territorio e sullo stato delle cose.

2. Dopo il primo punto occorre ragionare sulle modalità di supporto per i "fornitori di servizi" ossia l'anello più debole della filiera. Questo significa trovare risorse finanziarie che possano far convergere un interesse verso i fornitori di servizi che per il momento sono tutti pubblici (Università, enti di ricerca) però la vera svolta sarà quella di trovare soluzioni nel mondo privato.

Le attività da portare avanti sono tante ed è bello avere la possibilità di ragionarne tutti assieme su temi comuni. La Regione Sardegna in un'ottica collaborativa e di networking mette a disposizione tutte le competenze, le attività svolte e gli output raggiunti nel corso di questi anni.

Il rischio di essere accademici in questa discussione è sempre in agguato nel momento in cui non ci ponessimo la domanda “se il gioco valga la candela”. Prendo spunto dalla valorizzazione del Farro di Monteleone di Spoleto, un farro molto pregiato. Dopo alcuni anni, sono stati effettuati conteggi che hanno mostrato come la maggior parte di questo cereale andasse all'alimentazione animale e non a quella umana di nicchia, semplicemente perché non c'era una sufficiente domanda di questo prodotto indubbiamente di pregio. Pertanto, facendo riferimento anche all'intervento della Prof.ssa Rocchi, credo che il punto chiave su cui pensare ad una ipotetica nuova legge, ma anche ad un nuovo Piano Nazionale della Biodiversità di interesse Agricolo e Alimentare, sia che la biodiversità in questione è quella di interesse agrario e non naturalistico. Come tale, la biodiversità agraria ha bisogno di essere auto-sostenibile. Certamente si possono chiedere dei fondi, ma se poi il sistema non sta in piedi da solo nessuno continuerà a pagare per esso. Oggigiorno non si riesce a pagare cose ancora più vitali, più strategiche magari che riguardano la salute umana, figuriamoci se si potranno sostenere alla lunga costi per la biodiversità che per il decisore politico rappresentano uno dei tanti problemi, difficilmente quello più cogente. Va quindi preparata un'adeguata domanda mentre si lavora per mantenere la biodiversità che alimenterà l'offerta di una settore particolarmente importante dell'agroalimentare. Nelle attività a sostegno della biodiversità microbica collegata alla trasformazione va sottolineata l'importanza di strutture diffuse nel territorio per sostenere la produzione di inoculi dei ceppi autoctoni mantenuti *ex situ* e reimmessi in produzione. Nel caso della biodiversità microbica di interesse agrario va invece valutato bene quale tipo di biodiversità venga inoculata nel suolo o sulle piante, in quanto non siamo ancora sicuri sugli effetti agroecologici di lungo periodo. Da quanto detto si deduce che una eventuale nuova legge nazionale che riguardi la biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare dovrebbe intervenire sostenendo la formazione di una robusta domanda di prodotti derivanti da questa biodiversità e finanziando gli studi che ci permettano di meglio comprendere le dinamiche delle specie microbiche nei vari ambienti di interesse agroalimentare.

In merito alla domanda posta su chi possa trarre vantaggio dalla conservazione della biodiversità microbica, va fatta una distinzione in base ai prodotti. In certi casi, come i prodotti da forno, la cottura elimina tutto o quasi tutto il microbiota per cui il prodotto non porta una biodiversità che possa essere isolata e valorizzata anche da chi non ne avesse diritto. Diverso è il caso di formaggi che hanno almeno una parte del microbiota attivo nelle varie fasi della stagionatura, che potrebbe essere appunto isolato e utilizzato anche da terze parti. Queste semplici considerazioni invitano a prestare attenzione alla specificità del prodotto per migliorare la tutela della biodiversità microbica.

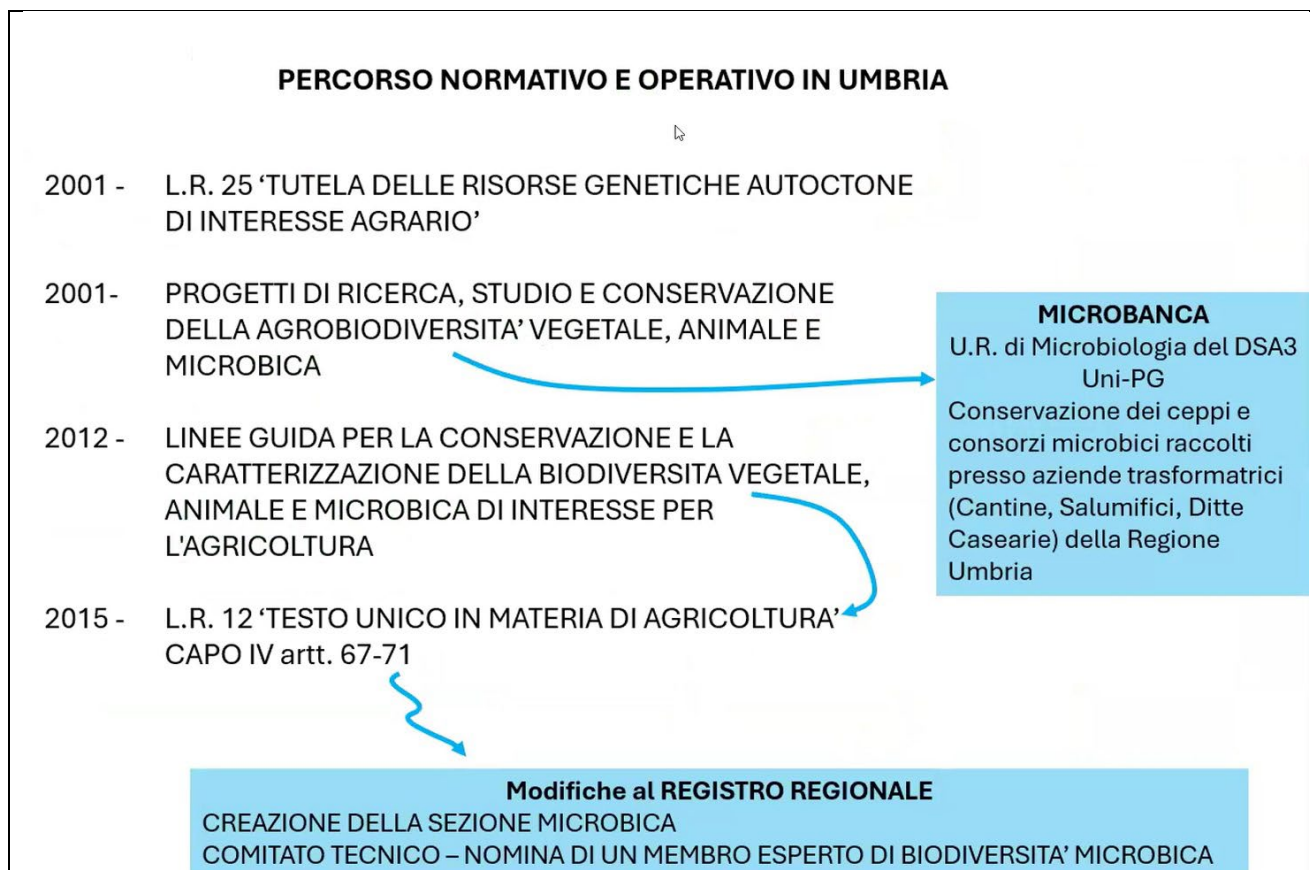
PRIME SINTESI - INTERVENTI DEL CONVEGNO FINALE, 19 aprile 2024
in presenza Palazzo Guadagni Strozzi Sacratini a Firenze, in streaming e in videoconferenza

<https://www.youtube.com/watch?v=X7S8JiQUwMI>

nell'ordine del programma dei lavori

Mauro Gramaccia, Parco 3A Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria (3APTA)

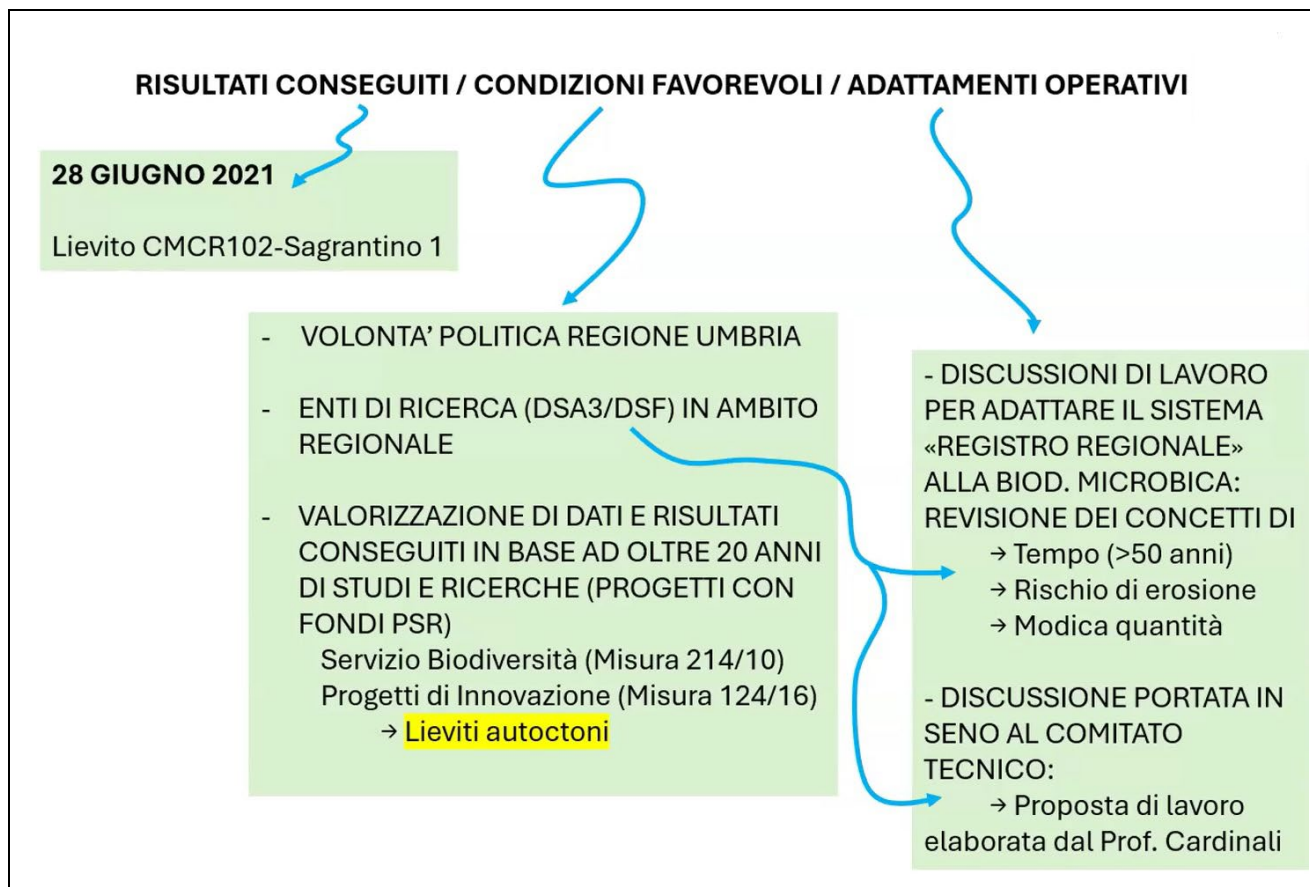
E' importante ricordare quale sia stato il percorso normativo ed operativo che è stato messo a punto in Umbria.



Nel 2001 la Regione Umbria ha emanato una propria legge sulla tutela delle risorse genetiche autoctone di interesse agrario (LR 25/2001) che ha posto le basi per lo svolgimento delle attività sull'agro biodiversità. Questo, tra le altre cose, ha permesso di sviluppare progetti di ricerca, studio e conservazione dell'agro biodiversità vegetale, animale e microbica. Limitatamente a quest'ultima i progetti hanno portato alla realizzazione e costituzione della cosiddetta "Microbanca" gestita dall'Unità di Ricerca di Microbiologia del Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali (DSA3) dell'Università degli Studi di Perugia, ossia una banca di conservazione dei ceppi e consorzi microbici raccolti presso aziende trasformatrici dell'Umbria (cantine, salumifici, ditte casearie).

Nell'anno 2012 il Ministero dell'Agricoltura ha emanato le *Linee guida per la conservazione e la caratterizzazione della biodiversità vegetale, animale e microbica di interesse agricolo e alimentare* (DM 6 luglio 2012), che hanno permesso alla Regione Umbria di avviare un ragionamento su come includere questo strumento nel percorso già avviato da diversi anni. Nel 2015 la Regione ha

emanato la LR n. 12/2015 “Testo unico in materia di agricoltura” che abroga la LR 25/2001 ricomprendendola al Capo IV, artt. 67-71. In questa occasione la legge regionale ha tenuto conto delle Linee guida nazionali facendone esplicito riferimento e ha incluso la biodiversità microbica anche nello strumento operativo del Registro Regionale. nello specifico è stata creata la Sezione “Microbica” che si è andata ad aggiungere a quelle vegetali e animali preesistenti. L’altro tassello fondamentale è stata anche la modifica dell’impianto del Comitato tecnico-scientifico con l’inserimento della figura dell’esperto di biodiversità microbica.



Tutta questa attività ha permesso di portare alla valutazione del Comitato tecnico-scientifico di alcuni Dossier riferiti a specie microbiche. Rispetto a questi, per la risorsa **Lievito CMCR102-Sagrantino 1**, ha espresso parere positivo per l’iscrizione avvenuta il 28 giugno 2021.

In tutto questo percorso è importante tener conto di alcune condizioni favorevoli che hanno portato a questo importante risultato. Per prima cosa la volontà politica e tecnica della Regione Umbria di prendere atto delle Linee guida nazionali e quindi di cercare di includere all’interno del percorso partico-operativo, anche della Sezione Microbica. Un'altra importante condizione favorevole è la presenza sul territorio regionale di enti di ricerca come il Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali (DSA3) con il gruppo di ricerca coordinato dal Prof. Pietro Buzzini e il Dipartimento di Scienze Farmaceutiche con il gruppo di ricerca coordinato dal Prof. Cardinali, che lavorano da moltissimi anni nella ricerca, studio e valorizzazione della biodiversità microbica. E’ proprio sulla base dei risultati da loro conseguiti in oltre venti anni di studio e ricerche realizzati anche tramite i progetti finanziati dai Programmi di Sviluppo Rurale (es.: la Microbanca tramite la Misura 214.b2 del PSR 2007/2013 e con la Misura 10.2 del PSR 2014/2022) oppure attraverso i

progetti di innovazione (Misura 124 del PSR 2007/2013 e dopo con la Misura 16 del PSR 2014/2022) che è stato possibile attivare anche il progetto sui Lieviti autoctoni che ha portato all'iscrizione al Registro Regionale del Lievito CMCR102-Sagrantino 1.

Il lavoro che è stato alla base della creazione della Microbanca ha portato a tutta una serie di discussioni che hanno permesso di giungere alle modifiche al Registro Regionale per permettere l'iscrizione anche delle specie microbiche di interesse agricolo e alimentare. In primo luogo, è stato rivisto il tempo previsto dalla legge precedente che prevedeva 50 anni di presenza sul territorio umbro della risorsa genetica per poterla considerare autoctona; inoltre è stato rivisto il senso del "rischio di erosione/estinzione" che meglio spiegherà il Prof. Cardinali nel suo intervento; infine è stata rivista anche la cosiddetta "modica quantità" di materiale che è scambiabile all'interno della Rete di conservazione e sicurezza delle risorse genetiche. Tutte queste osservazioni sono state portate in seno al Comitato tecnico-scientifico della Regione Umbria con una proposta di lavoro elaborata proprio dal Prof. Cardinali.

28 GIUGNO 2021
Lievito CMCR102-Sagrantino 1
<https://biodiversita.umbria.parco3a.org/risorsa/lievito-cmcr102-sagrantino-1/>

MODICA QUANTITA'
2 litri di mosto in attiva fermentazione (volume di coltura che permette di avviare un opportuno pied de cuve, tipicamente di ca 40 – 100 litri). In caso di crioconservazione presso strutture deputate, la modica quantità è fissata in un inoculo in terreno YEPD 5% fino ad un massimo di 5 litri.



COLLABORAZIONE TRA LA CANTINA "AZ. AGR. MORETTI OMERO" E IL DIPARTIMENTO DI SCIENZE FARMACEUTICHE UNIPG

SCHEDA

VIGNALUNGA MONTEFALCO SAGRANTINO D.O.C.G. BIO

UVAGGI: 100% SAGRANTINO

VINIFICAZIONE: LIEVITI DI FERMENTAZIONE: **INDIGENI**. FERMENTAZIONE DI 15 GG. MACERAZIONE DI 20 GG SULLE BUCCE. CONTATTO FECCE FINI PER 6 MESI. BÂTONNAGE. AFFINAMENTO: 12 MESI IN TONNEAUX LEGNO FRANCESE E 12 MESI IN TONNEAUX LEGNO AMERICANO. MINIMO 6 MESI IN BOTTIGLIA.

Medaglia di bronzo

2015- Challenge Millesime BIO di Montpellier

2021 – interessamento del Gambero Rosso per l'aggiudicazione dei 3 bicchieri.

Al link <https://biodiversita.umbria.parco3a.org/risorsa/lievito-cmcr102-sagrantino-1/> è possibile consultare la pagina dedicata del Registro regionale con la scheda tecnica e descrittiva del Lievito CMCR102-Sagrantino 1.

In sede di Comitato tecnico-scientifico è stata definita la "modica quantità" ossia la quantità necessaria per la realizzazione di un pied-de-cuve: questa è stata definita in 2 litri di mosto in attiva fermentazione (v. immagine sopra riportata); in caso invece di crioconservazione la modica quantità è stata definita in un inoculo in terreno di coltura YEPD 5% fino ad un massimo di 5 litri. Queste quantità sono state facilmente definite perché è stata realizzata, a seguito del progetto "Lieviti autoctoni", una collaborazione attiva tra l'Azienda Agricola Moretti Omero, che è quella presso la quale è stato individuato questo ceppo di lievito autoctono, e il Dipartimento di Scienze Farmaceutiche coordinato dal Prof. Gianluigi Cardinali. Fondamentalmente quando la cantina è pronta con i mosti, avvisa il Dipartimento di Scienze Farmaceutiche il quale, nel giro di pochi giorni, prepara la quantità necessaria per la preparazione del pied-de-cuve che viene fornito alla Cantina. Questo è necessario perché nella Cantina stessa (biologica dal 1993), sono utilizzati anche lieviti

starter commerciali e quindi il rischio di “estinzione/sostituzione” è molto alto. Pertanto questa collaborazione permette l’uso continuo di questo inoculo individuato a suo tempo salvaguardandolo dalla contaminazione.

Nell’immagine sopra riportata viene descritto anche il vino prodotto da questi uvaggi ed esattamente il “Vignalunga” dell’Az. Agr. Moretti Omero, ed è un vino che ha anche ottenuto dei riconoscimenti importanti.

Sempre il 28 giugno 2021 è stato portato un altro caso studio alla valutazione del Comitato tecnico-scientifico della Regione Umbria: la Pasta Madre-Lanari. Una Signora ha dichiarato che utilizzava per la preparazione del pane e di altri prodotti da forno, la stessa pasta madre che gli aveva tramandato sua nonna, quindi per un arco temporale superiore a 100 anni. A differenza del Lievito autoctono di cui sopra che è un ceppo, nel caso della pasta madre si tratta di un consorzio microbico per cui la difficoltà è moltiplicata. In particolare, nel determinare il complesso degli organismi presenti e che richiedono studi di genomica. Sulla base di queste informazioni, il Comitato tecnico-scientifico ha inteso dare un’approvazione “informale” di questo consorzio microbico rinviando però l’iscrizione vera a propria agli approfondimenti richiesti di natura genomica. La cosa interessante di questo caso, come spesso avviene per altre risorse, è che questo fatto è balzato agli onori della cronaca (Corriere dell’Umbria in particolare) per un caso abbastanza fortuito. Il Comune di Collazzone (PG) dove risiedeva la Signora Lanari aveva realizzato negli anni precedenti il Progetto “Comunità dei forni collettivi”. La Signora Lanari era nota per fare il pane in casa e ha raccontato in quell’occasione che per lei era un gesto quotidiano, tramandato in famiglia da generazioni insieme alla “sua” pasta madre e pertanto si è stupita dell’interesse dimostrato dai quotidiani. Sulla scia di questo fatto è stato possibile per il Prof. Cardinali avviare lo studio su questa pasta-madre.

Una volta che la risorsa è stata iscritta al Registro non solleva dalla necessità di rispondere comunque a delle problematiche di carattere operativo, come:

- il monitoraggio della risorsa iscritta;
- la Conservazione in situ;
- come evitare il rischio di sostituzione;

come assicurare, in alcuni casi particolari (consorzi microbici) che la diffusione della risorsa sul territorio non incida significativamente sulla risorsa stessa (standardizzare gli inoculi?).

Antonio Moretti, Direttore del CNR – Istituto di scienze delle produzioni alimentari (ISPA) di Bari e Giancarlo Perrone, responsabile scientifico della collezione ISPA



National Research Council
INSTITUTE OF SCIENCES
OF FOOD PRODUCTION

19 Aprile 2024 - Firenze

AGROBIODIVERSITÀ

I RISULTATI FINALI DELLE GIORNATE DI STUDIO SULLA BIODIVERSITÀ MICROBICA DI INTERESSE AGRICOLO E ALIMENTARE

**Funzione ed importanza delle Collezioni Microbiche per la
conservazione e la valorizzazione della Biodiversità: il
Networking del Sud d'Italia**



Antonio Moretti e Giancarlo Perrone

Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari
CNR-ISPA Bari



European Culture
Collections' Organisation



World Federation for Culture Collections

L'importanza dei microrganismi.



National Research Council
INSTITUTE OF SCIENCES
OF FOOD PRODUCTION

Acidic Mine Drainage	Hydrothermal Vent	Clouds	Soda Lake
NASA Clean Room	Nuclear Reactor	Hot Springs	Sea Ice
Mount Everest	Dry Desserts	Mariana Trench	Earth Deep Crust
Ophiolites	Human Brain	Canned Food	Crude Oil

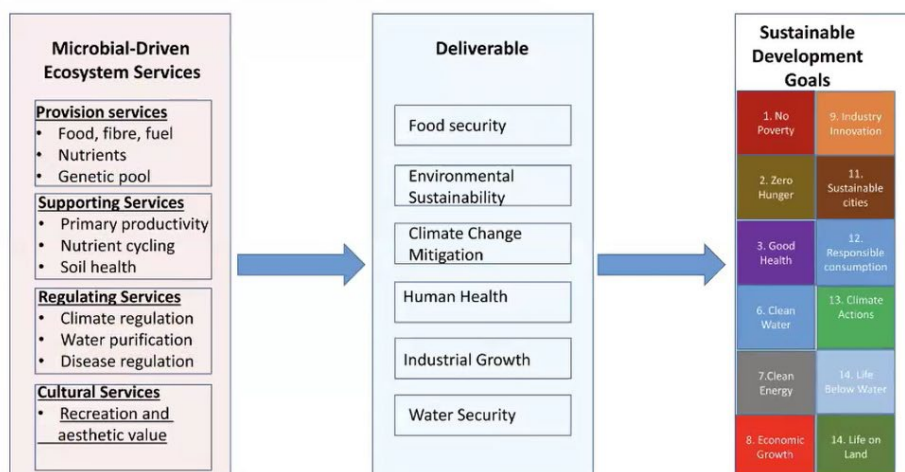
**I Microrganismi sono la forma di vita
predominante nel nostro pianeta, sia
in termini di numero assoluto, sia in
termini di biomassa**

Sono ubiquitari nella biosfera e fondamentali per il
funzionamento degli ecosistemi :

- ◆ Regolazione dei cicli bio-geo-chimici e riciclaggio della materia organica;
- ◆ Principali produttori ed assorbenti dei gas serra;
- ◆ Ruolo fondamentale per la qualità, e produttività dei suoli e delle acque;
- ◆ Occupano gli habitat di tutti gli altri organismi viventi influenzandone fisiologia e benessere.

2.3 milioni di specie descritte
30 milioni di specie stimate
↓
**>90% della biodiversità
microbica ancora da individuare**

I microrganismi possono essere il motore della bioeconomia e di una sostenibilità ambientale finalizzata a promuovere uno sviluppo economico globale alternativo per un miglior benessere umano.



"Biotechnology is the technological application that uses biological systems, living organisms or derivatives of these to produce or modify products or processes for a specific purpose"

(Convention on Biological Diversity, Nairobi, Kenya - May 22, 1992)

Come CNR ISPA facciamo parte di MIRRI (Microbial Resource Research Infrastructure) questo consorzio di collezioni microbiche europeo che mette insieme oltre 50 Centri. A livello europeo è un'infrastruttura che è stata riconosciuta come strategica per l'Unione Europea e che è utilissima per la comunità della bioscienza e della bioindustria.

ISPA National Research Council
INSTITUTE OF SCIENCES
OF FOOD PRODUCTION



MIRRI-EU riunisce oltre **50 centri di risorse microbiologiche in Europa (mBRC)**, collezioni di culture e istituti di ricerca di dieci paesi europei con oltre 400000 ceppi censiti. MIRRI serve le comunità della bioscienza e della bioindustria facilitando l'accesso, attraverso un unico punto, alla più ampia gamma di microrganismi di alta qualità, loro derivati, dati e servizi associati, con particolare attenzione ai settori della salute e dell'alimentazione, dell'agricoltura e dell'agricoltura.

<https://www.mirri.org/>



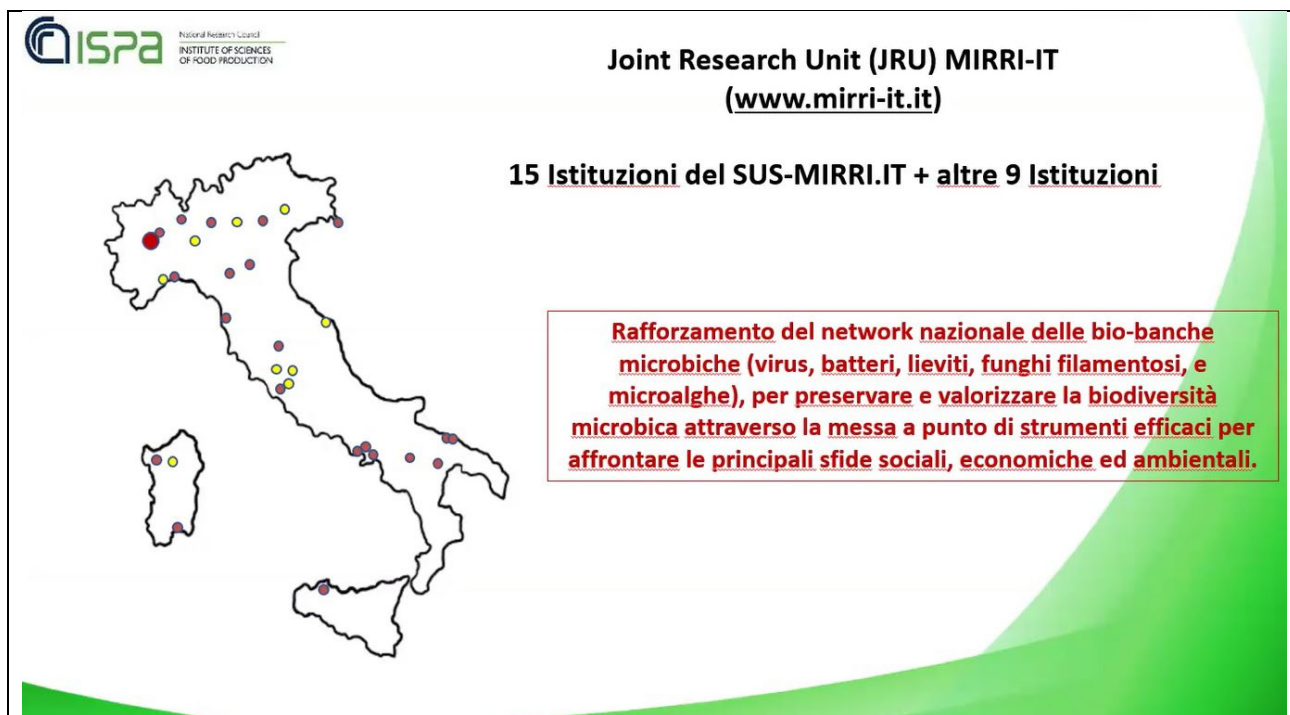
Fondato nel Novembre 2017 da 5 enti UNITO, CNR, UNIPG, UNIMORE e Ospedale San Martino a cui si sono associati altre 19 Istituzioni





MIRRI in Italia è stato fondato nel novembre del 2017 da 5 enti: coordinata dall'Università di Torino a cui si sono aggiunti CNR, Università di Perugia, Università di Modena e Reggio Emilia e l'Ospedale San Martino di Genova a cui poi si sono associati altre 19 Istituzioni.

Questo nucleo ha poi dato origine ad un progetto PNRR sulle infrastrutture e 15 di queste Istituzioni del SUS-MIRRI fanno parte di questo progetto che ha come obiettivo quello di rafforzare il network nazionale delle biobanche microbiche che comprende virus, batteri, lieviti, funghi filamentosi e microalghe.



Ha come obiettivo quello di preservare e valorizzare la biodiversità microbica attraverso la messa a punto di strumenti efficaci per affrontare le principali sfide sociali, economiche ed ambientali che nell'ambito bio-economico si possono verificare, attraverso una corretta gestione delle risorse microbiche.

Nel Sud-Italia, come si vede dalla precedente immagine, ci sono delle collezioni microbiche importanti a Napoli e ad Avellino, a Bari, in Basilicata, a Palermo e in Sardegna.

In Campania ci sono delle collezioni importantissime, come si può vedere dall'immagine che segue, di cianobatteri e microalghe appartenenti all'Università degli Studi di Napoli Federico II. Nella Algal Collection at the University of Naples Federico II (ACUF) sono conservate circa un migliaio di accessioni di microalghe tra cui cianobatteri e per lo più isolati in ambienti estremi, più 300 procarioti estremofili. ACUF ha un data base continuamente aggiornato e garantisce la conformità legale in termini di gestione della raccolta e di accesso e condivisione dei benefici (ABS) delle risorse conservate.

Ad Avellino è presente ISA Culture Collection (ISACC) del CNR-ISA composta da circa 300 batteri (Lactobacillaceae) e 150 lieviti (Saccharomycodaceae, Saccharomycetaceae e Pichiaceae) da prodotti alimentari della Regione Campania principalmente da Formaggio Percorino, Scotta e Mozzarella di Bufala, ma anche da uva e vino di Aglianico, Fiano, Falanghina, Greco di Tufo e Coda di Volpe.



Algal Collection at the University on Naples Federico II (ACUF)

www.acuf.net

Cianobatteri 90, microalghe 780

ACUF è stata istituita nel 1973. Ad oggi sono conservate circa un migliaio di accessioni di microalghe, tra cui cianobatteri, per lo più **isolati da ambienti estremi**, e più di 300 procarioti estremofili. ACUF ha un database continuamente aggiornato garantisce la conformità legale in termini di gestione della raccolta e di accesso e condivisione dei benefici (ABS) delle risorse conservate.



ISA Culture Collection (ISACC)

CNR-ISA Avellino

Circa 300 batteri (*Lactobacillaceae*) e 150 lieviti (*Saccharomycodaceae*, *Saccharomycetaceae*, e *Pichiaceae*) da prodotti alimentari della regione Campania principalmente da Formaggio Pecorino, Scotta e Mozzarella di Bufala, e da uva e vino di Aglianico, Fiano, Falanghina, Greco di Tufo, Coda di Volpe.

Microalgae and extremophiles ICB Collection (ICBCC)

CNR-ICB Pozzuoli

Microalgae, Archaea, Bacteria

La collezione ospita due gruppi microbici: la collezione Estremofili, che comprende archaea (15) e microrganismi batterici (120), e la collezione Microalgae, che comprende microalghe marine (30).

A Pozzuoli sempre nell'Istituto del CNR-ICB nella collezione Microalgae and extremophiles ICB Collection (ICBCC). La Collezione ospita due gruppi microbici: la collezione Estremofili che comprende Archaea (15) e microrganismi batterici (120) e la collezione di Microalgae che comprende microalghe marine (30).

UNIPA Microorganism Collection (UNIPAMC)

University of Palermo

Unibas Yeasts and Bacteria Culture Collection (UBYC)
Università della Basilicata

La collezione comprende strutture che ospitano una collezione di lieviti (200) e batteri (200), isolati da diverse fonti ecologiche (agroalimentare e ambientale) e appartenenti a diversi generi e specie. In particolare da alimenti e bevande fermentate (carne, latticini, cereali, prodotti vegetali, vino, birra).



6100 Batteri; 2050 Lieviti; 220 Funghi filamentosi; 450 Virus di interesse alimentare e medico.

La collezione di ricerca (RC) in costituzione nell'ambito di SUS MIRRI raggruppa tre dipartimenti: il Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali (SAAF), il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche, Chimiche e Farmaceutiche (STEBICEF), e il Dipartimento di Promozione della Salute, Assistenza materno-infantile e Medicina interna "Giuseppe D'Alessandro" (PROMESSA).



In Basilicata c'è una collezione presso l'Università degli Studi della Basilicata (Unibas Yeasts and Bacteria Culture Collection – UBYC), di batteri e di lieviti isolati da diverse fonti ecologiche agroalimentari e ambientali, ed in particolare da alimenti e bevande fermentate tipiche del territorio (carne, cereali, latticini, prodotti vegetali, vino e birra).

A Palermo c'è un'altra importante collezione (UNIPA Microorganism Collection – UNIPAMIC) gestita da tre Dipartimenti dell'Università degli Studi di Palermo, ossia Scienze Agrarie, Scienze tecnologiche biologiche e chimiche e il Dipartimento di promozione della salute. La Collezione ha un'enorme quantità di batteri, lieviti, funghi filamentosi e virus di interesse alimentare e medico.



PLAVIT Plant Virus Italy
(CNR-IPSP Torino e **Bari**)

Alcuni dei temi principali dell'Istituto riguardano le attività diagnostiche sui virus vegetali e sui viroidi, la caratterizzazione tassonomica e la scoperta di nuovi virus vegetali. L'IPSP ospita (nelle sedi di Torino e **Bari**) una collezione (Plant Virus Italy, PLAVIT) di oltre 1000 isolati di virus e viroidi vegetali originari di diversi paesi e ospiti e raccolti negli ultimi 50 anni, inclusi ceppi storici. Un numero limitato di specie virali non trasmissibili meccanicamente viene conservato come cloni infettivi a -80°C. Inoltre, presso l'IPSP sono disponibili prodotti derivati da virus, come antisieri e virus clonati a lunghezza intera o molecole subvirali.



A Bari, presso il CNR Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante (IPSP) c'è un'importantissima collezione condivisa con la sede di Torino dello stesso Istituto, in cui si caratterizzano virus vegetali e viroidi e ci sono oltre 1000 isolati di virus e viroidi vegetali originari di diversi paesi e ospiti raccolti negli ultimi 50 anni, inclusi ceppi storici che sono importantissimi per fare un confronto e vedere come evolvono questi microrganismi nel tempo. C'è anche un numero limitato di specie virali non trasmissibili meccanicamente che vengono conservati come cloni infettivi a -80°C. Inoltre, presso l'IPSP sono disponibili prodotti derivati da virus, come antisieri e virus clonati a lunghezza intera o molecole subvirali.

Infine la collezione del CNR – Istituto di scienze delle produzioni alimentari (ISPA) di Bari (v. immagine che segue), “ITEM – Agro-Food Microbial Culture Collection”, nasce ancora prima del 1997 in modo non ufficiale, ma nel 1997 si struttura e diventa una collezione di funghi tossigeni cioè funghi filamentosi che producono metaboliti tossici per la salute umana e animale, ma anche tossici per le piante.

La Collezione nel 2001 diventa Agro-Food Microbial Culture Collection dell'ISPA di Bari e aggiunge ai funghi tossigeni batteri e lieviti.

Dal 2003 viene istituito un sito web dinamico mentre dal 2012 al 2015 l'ISPA di Bari è stato coinvolto nel progetto europeo Microbial Resource Research Infrastrutture - MIRRI (www.mirri.org/).

Nel 2015 CNR ISPA di Bari diventa in modo ufficiale parte dell'European Culture Collection Organization (ECCO) e diventa parte anche del World Federation for Culture Collection (WFCC).

ITEM - Agro-Food Microbial Culture Collection: Structure and Services for Biodiversity Preservation

1997 Collection of Toxigenic Fungi, in Institute of Toxins and Mycotoxins from plant parasites-CNR published its first printed catalogue, with about 5,000 strains

2001 Agro-Food Microbial Culture Collection, in Institute of Sciences of Food Production-CNR, the Collection, 12,000 strains (fungi, bacteria and yeasts)

2003 dynamic web – site was developed through the combination of PHP, Apache and MySQL

www.ispa.cnr.it/Collection

2012-2015 : Involved as associated partner in the **European Project on Microbial Resource Research Infrastructure - MIRRI** (www.mirri.org/)

From 2015 Member of : European Culture Collection Organization

ECCO | European Culture Collections' Organisation



World Federation for Culture Collection

WFCC | World Federation for Culture Collections

In September 2017 joined within CNR the JRU MIRRI..

From 2018 ITEM is Certified ISO 9001:2015 35674/17/S

From November 2022 involved in the infrastructural project SUS-MIRRI.IT



Nel 2017 CNR ISPA ha contribuito al JRU MIRRI e nel 2022 al SUS-MIRRI.IT.

Nel 2018 CNR ISPA ha ottenuto la certificazione ISO 9001:2015 35674/17/S.

ITEM - Agro-Food Microbial Culture Collection: Structure and Services for Biodiversity Preservation

Now ITEM includes about 14,000 microbial strains (of which 8,500 are public) belonging mainly to fungal toxigenic and phytopathogenic genera:

Alternaria



Aspergillus



Penicillium

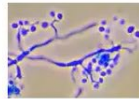
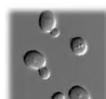
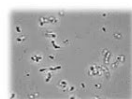


Fusarium



...but also fungal genera useful in biological control like Trichoderma, Beauveria, Aerobasidium,...

...as well as yeasts (~ 300) and bacteria (~ 400) useful for biotechnological application in agro-food sector.

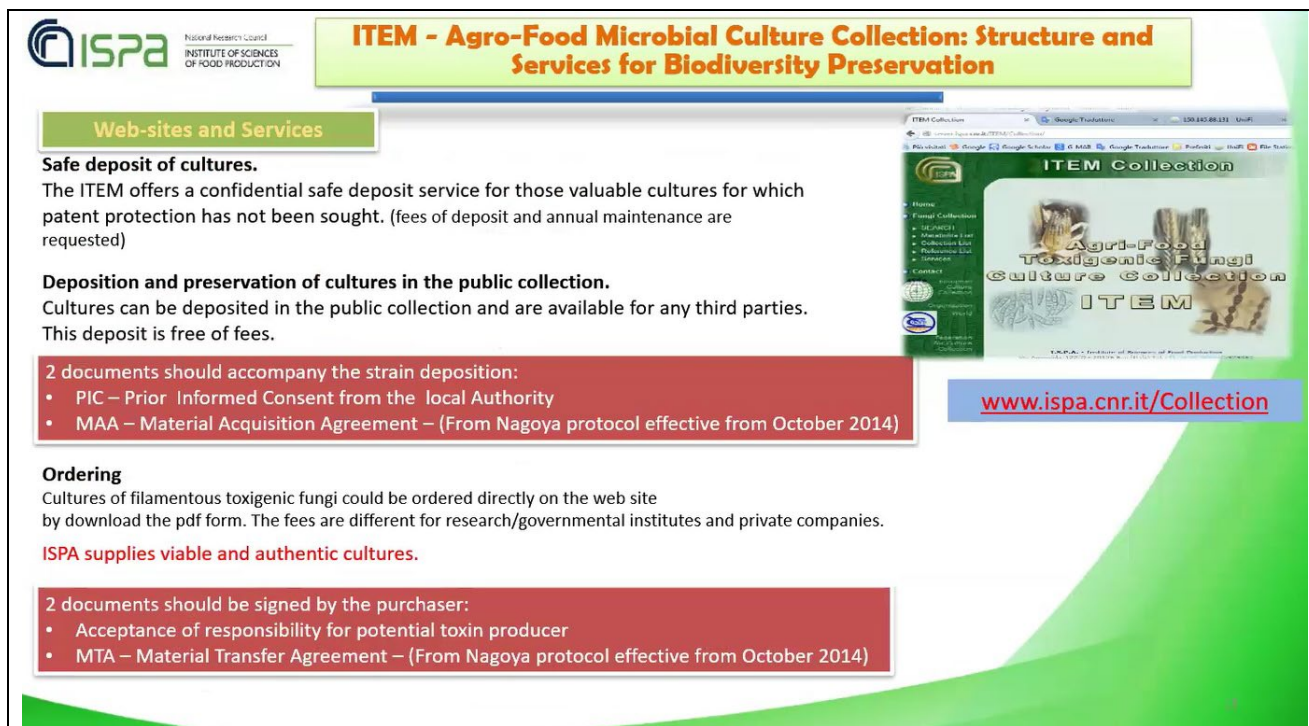


Strains are both cryopreserved at -150 in ultra-low temperature freezer and as fresh culture in specific in plug of low nutrient agarized medium suspended in sterile water

La Collezione ITEM oggi conserva circa 14000 ceppi microbici dei quali 8500 sono pubblici, principalmente sono funghi filamentosi micotossigeni e fitopatogeni. La Collezione conserva anche ceppi appartenenti a generi fungini che vengono utilizzati per la lotta biologica e quindi nel controllo biologico delle malattie delle piante. La Collezione inoltre conserva batteri e nell'ambito del progetto SUS MIRRI.IT CNR ISPA sta collaborando per cercare di conservare consorzi microbici che è una delle sfide del progetto SUS MIRRI ma anche una delle sfide più attuali nell'ambito delle collezioni microbiche.

Nella Collezione ITEM i ceppi vengono conservati a -150°C oppure in colture fresche in substrati agarizzati, poveri di valori nutrienti per evitare di far degenerare le colture, e sospese in acqua sterile.

Le caratteristiche di una collezione vanno conosciute per meglio capire cosa significa conservare e valorizzare in maniera appropriata una risorsa microbica.



ISPA National Research Council
INSTITUTE OF SCIENCES
OF FOOD PRODUCTION

ITEM - Agro-Food Microbial Culture Collection: Structure and Services for Biodiversity Preservation

Web-sites and Services

Safe deposit of cultures.
The ITEM offers a confidential safe deposit service for those valuable cultures for which patent protection has not been sought. (fees of deposit and annual maintenance are requested)

Deposition and preservation of cultures in the public collection.
Cultures can be deposited in the public collection and are available for any third parties. This deposit is free of fees.

2 documents should accompany the strain deposition:

- PIC – Prior Informed Consent from the local Authority
- MAA – Material Acquisition Agreement – (From Nagoya protocol effective from October 2014)

Ordering
Cultures of filamentous toxigenic fungi could be ordered directly on the web site by download the pdf form. The fees are different for research/governmental institutes and private companies.

ISPA supplies viable and authentic cultures.

2 documents should be signed by the purchaser:

- Acceptance of responsibility for potential toxin producer
- MTA – Material Transfer Agreement – (From Nagoya protocol effective from October 2014)

www.ispa.cnr.it/Collection

Il CNR ISPA offre dei servizi sul Web con i quali si può depositare in maniera sicura le colture microbiche; è attivo un servizio di deposito “confidenziale” per tutte le colture microbiche che sono sotto brevetto e che quindi non vogliono essere rese pubbliche. E’ attivo anche un deposito normale per preservare collezioni microbiche che possono essere rese pubbliche, che possono essere dispensate.

Questo aspetto è particolarmente importante: dal punto di vista scientifico, quando vengono pubblicati dei dati su alcune risorse microbiche è assolutamente fondamentale mettere a disposizione le proprie colture, perché una volta che le notizie sono state pubblicate, devi dare la possibilità ad altri soggetti scientifici di qualsiasi luogo del mondo, di verificare se quanto hai pubblicato risponde alla realtà. Questo è un aspetto importantissimo nel ruolo che giocano a livello mondiale le colture microbiche.

Il CNR ISPA ha una procedura molto rigorosa che risponde al Protocollo di Nagoya per la diffusione e l’accettazione dei ceppi microbici.

Attraverso il progetto SUS-MIRRI.IT il CNR ISPA ha potuto incrementare e migliorare la strumentazione a disposizione della collezione ed in particolare, cosa che è fondamentale, una copia di tutti i ceppi microbici presso un’altra sede dell’ISPA allocata a Foggia per quello che si chiama *Disaster recovery* ossia in caso di disastro che dovesse accadere per cui le collezioni microbiche venissero distrutte, la presenza di una copia presente in un’altra sede, consente di salvare il lavoro fin qui svolto.

Principali implementazioni ITEM

- Acquisizione 2 nuovi ultracongelatori – 150 ° C
- Acquisizione 3 nuovi ultracongelatori – 80°
- Acquisizione di liofilizzatore e cabinet per conservazione ceppi liofilizzati
- Acquisizione di 2 sequenziatori Sanger per identificazione ceppi microbici
- Acquisizione di un LC-MS-Quadrupolo per caratterizzazione metabolomica ceppi
- Implementazione copia ceppi presso sede ISPA – Foggia per disaster recovery
- Sviluppo nuovo sito web e database integrato



Come si sta concretizzando la tutela della biodiversità microbica?

Tutela Biodiversità Microbica

- Individuazione risorsa genetica: isolamento microrganismi benefici/patogeni da vari ambienti: es cibi fermentati, rizosfera, microbiomi; piante etc.
- Caratterizzazione microrganismi: morfo-ecologica, genetico-molecolare, metabolomica, funzionale;
- Conservazione: ex-situ per lungo periodo più diffuse e usate crioconservazione – 80/-150 ° C e liofilizzazione
- La conservazione < - 130 °C caratteristiche genetiche inalterate – svariati anni
- Necessità di avere almeno due sistemi di conservazione a lungo periodo diversificati in funzione anche dei diversi microrganismi

L'individuazione della risorsa genetica al fine della tutela della biodiversità microbica, va fatta attraverso l'isolamento di microrganismi benefici o patogeni, dei vari ambienti: es. cibi fermentati, rizosfera, microbiomi; piante, ecc.

La caratterizzazione dei microrganismi deve essere: morfo-ecologica, genetico-molecolare, metabolomica, funzionale.

La conservazione ex situ per lungo periodo con le modalità più diffuse ed usate sono: la crioconservazione a -80/-150 °C e la liofilizzazione.

Quando la conservazione è realizzata a -130°C di solito le caratteristiche genetiche restano inalterate per svariati anni.

C'è bisogno di avere almeno due sistemi di conservazione: uno congelato e l'altro "fresco" che va però rinnovato di anno in anno.

Come si valorizzano le risorse microbiche?

ISPA National Research Council
INSTITUTE OF SCIENCES
OF FOOD PRODUCTION

Valorizzazione

- Mediante re-introduzione del ceppo selezionato per una determinata caratteristica migliorativa,
- Mediante selezione di ceppi con attività biologiche utili produzione di enzimi, antibiotici, antifungini etc.
- Starter di fermentazioni nei diversi processi alimentari (vino, birra, pane, lattiero-casearia, etc.)
- **Antagonisti per uso in lotta biologica**
- Microrganismi come utili come fattori di crescita delle piante (microbioma-rizosfera)
-

La valorizzazione delle risorse microbiche può avvenire:

- sia attraverso la reintroduzione di un determinato ceppo selezionato per una determinata caratteristica migliorativa;
- sia attraverso la selezione di ceppi con attività biologiche utili per la produzione di enzimi, antibiotici, sostanze antifungine, ecc.;
- sia attraverso starter di fermentazione nei diversi processi alimentari (vino, birra, pane, lattiero-casearia, ecc.);
- sia attraverso gli antagonisti per uso in lotta biologica; in Italia abbiamo un problema endemico di contaminazione da aflatossine del mais in Italia e in Europa. Le aflatossine sono microtossine pericolosissime per la salute umana; c'è una regolamentazione specifica a livello europeo; possono passare nel latte metabolizzate dal ruminante delle vacche attraverso i mangimi a base di mais contaminati. I cambi climatici e gli stress idrici a cui viene sottoposto il mais, lo espone moltissimo a contaminazioni di aflatossine. L'unico strumento che avremo per combatterle è l'uso di popolazioni del fungo che le produce (*Aspergillus flavus*) che però non sono tossigene. Questo sta funzionando in Africa perché il CNR ISPA è stato coinvolto in numerosi progetti di questo genere e ha funzionato fino all'abbattimento del 90% del contenuto di aflatossine, usando questi formulati non tossigeni. Queste risorse possono essere utilizzate queste risorse se ben conservate e ben utilizzate.

Alcuni esempi di ITEM Collection del CNR ISPA.



National Research Council
INSTITUTE OF SCIENCES
OF FOOD PRODUCTION

Esempi ITEM Collection

- Autochthonous yeast – bacteria in olives fermentation: [Patent MI 2013A002063]
- Autochthonous yeast fermentation to valorize regional wines properties
- Probiotics *Lactobacillus* strains - *Lactobacillus paracasei* ITEM 17146 (IMPC2.1; EU Patent B1)
- Application of *L. brevis* ITEM 17147 (18F) and *L. plantarum* ITEM 17148 (21B) bioingredients in bread-making process with improved technological properties and delays the bread staling
- *Trichoderma harzianum* ITEM 908 effective biocontrol agent of crown, stem and root rot diseases
- Biodiversity and characterization of toxigenic fungi, new species description etc. (ITEM more than 200 publication) – new knowledge - prevention of risk



Il CNR ISPA nel corso degli anni ha potuto conservare e poi valorizzare:

- lieviti autoctoni per la fermentazione delle olive: in Istituto c'è un gruppo di ricerca che sta lavorando sulla standardizzazione dei questi microbiomi nei processi fermentativi delle olive, in collaborazione con l'Università degli Studi di Torino;
- lieviti autoctoni importanti per la fermentazione e per alcune caratteristiche pregiate di alcuni vini regionali;
- lattobacilli probiotici che aggiunti ad alcuni alimenti migliorano la salute umana;
- bioingredienti da alcuni *Lactobacillus* che conserviamo in Collezione che vengono utilizzati nei processi di riproduzione del pane, con proprietà tecnologiche migliorate e con un ritardo anche nel rafforzamento del pane;
- ceppi di controllo biologico *Trichoderma harzianum* ITEM 908 che viene utilizzato moltissimo per controllare le fusariosi e quindi gli avvizzimenti delle piante di pomodoro e che permette anche una riduzione dell'uso di pesticidi;
- funghi micotossigeni che CNR ISPA studia e conserva in maniera appropriata; è fondamentale conservare anche i microrganismi patogeni perché poi studiarli senza che le loro caratteristiche vengano alterate permette di avere una serie di strumenti a disposizione per comprenderne meglio la loro patogenicità e quindi la capacità di contrastarla.

Nuove progettualità in itinere o da sostenere

Nuove progettualità in itinere o da sostenere

- Potenziamento delle banche microbiche nell'ambito della rete italiana MIRRI.IT
- Individuazione e finanziamento banche microbiche regionali
- Networking fra Istituzioni Regionali e Collezioni Microbiche presenti nei territori Meridionali al fine di mettere a sistema tutte le competenze disponibili per salvaguardare e valorizzare l'enorme biodiversità microbica esistente



BARI, XLII ECCO Meeting 18-20 September 2024

Web site domain: <https://eccomeeting2024.org/>

"MICROBE & MICROBIOME management for a better planet"

"Exploiting microbial biodiversity for better facing the major challenges of sustainability, climate change and environmental pollution"

Bisognerebbe potenziare le banche microbiche nell'ambito della rete italiana e metterle in relazione con tutte le altre banche perché non siamo sicuramente esaustivi di tutto l'enorme lavoro che i ricercatori fanno al di fuori della rete italiana MIRRI per la conservazione delle risorse microbiche. Sarebbe importante riuscire finalmente a mettersi in rete o sistema almeno nazionale, da cui il Sistema Paese ne ricaverebbe un grande vantaggio.

Bisognerebbe individuare e finanziare tutte le banche microbiche esistenti che si avvicinano in maniera seria e rigorosa, seguendo anche il Protocollo di Nagoya.

In questa giornata di lavoro potrebbe anche essere un punto di partenza per iniziare a progettare e a costruire un networking serio, funzionale, utile, attivo fra le istituzioni regionale e le collezioni microbiche presenti almeno nei territori meridionali, ma anche a livello nazionale, per mettere a sistema tutte le competenze disponibili e per salvaguardare e valorizzare l'enorme biodiversità esistente, ma soprattutto per scambiare competenze, diffonderle, estenderle e metterle a disposizione della comunità non solo scientifica, ma anche della nostra società.



<http://www.mirri.it> <https://www.sus-mirri.it/>

Le biobanche microbiche: uno strumento fondamentale per la conservazione e valorizzazione della biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare

Prof.ssa Varese Giovanna Cristina
Università degli studi di Torino
cristina.varese@unito.it

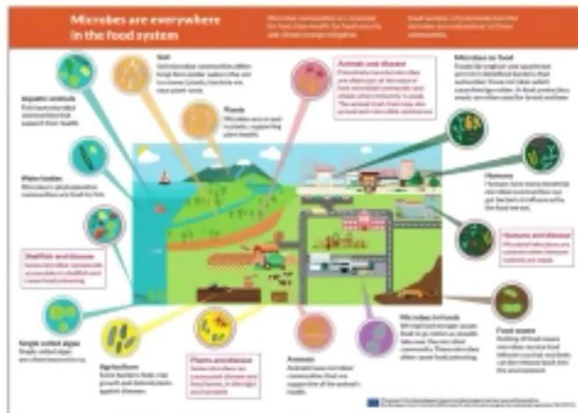


I microrganismi svolgono dei ruoli fondamentali per l'equilibrio degli ecosistemi agrari e per tutte le filiere alimentari. Stiamo parlando probabilmente di decine di milioni di specie che dobbiamo ancora scoprire, ma che sono essenziali per la produzione primaria, per la creazione di nuove filiere, per la valorizzazione dei sottoprodotti industriali. Si verranno a creare nei prossimi anni, tantissime nuove figure professionali e quindi va saputo quali indirizzi prendere per garantire un futuro ai giovani anche all'interno di queste filiere.

I microrganismi hanno un ruolo essenziale nei cicli biogeochimici e nel supportare la produzione primaria e le filiere agroalimentari.

I microrganismi vivono strettamente associati a tutte le risorse animali e vegetali e questo potrebbe essere un argomento *transettoriale* che mette assieme 3 tavoli di gestione: sia di vegetali, sia animali che microbici. Questo perché ogni risorsa vegetale e ogni risorsa animale che viene considerata a rischio di estinzione vive associata ad un suo microbioma, quindi ad una comunità di microrganismi. Sarebbe pertanto indispensabile studiare e cercare di proteggere anche i microrganismi associati a queste risorse a rischio di erosione/estinzione.

I microrganismi sono indispensabili per il funzionamento degli ecosistemi agrari e per la filiera alimentare.



2.3 milioni di species descritte

30 milioni di specie stimate



>90% della biodiversità microbica deve ancora essere scoperta!

I microrganismi sono organismi microscopici e si trovano ovunque nel sistema alimentare.

Sono essenziali per:

- regolare i cicli biogeochimici e il riciclo della materia organica;
- Influenzano struttura e fertilità dei suoli;
- la salute delle piante, degli animali, dell'uomo e dell'ambiente, con un conseguente impatto in termini di produttività delle colture e del bestiame;
- Influenzano la qualità e sicurezza degli alimenti.

La composizione delle comunità microbiche differisce all'interno del sistema alimentare, a seconda delle condizioni ambientali.

Perché la tutela della biodiversità microbica è più indietro rispetto alla tutela della biodiversità di piante e animali?

Perché la tutela della biodiversità microbica è più indietro rispetto a piante e animali?

L'essenziale è invisibile agli occhi!



La biodiversità microbica è considerata una risorsa preziosa per la scienza e l'industria, con implicazioni per l'economia e la finanza.

I microrganismi, e i microbiomi di interesse agricolo e alimentare, svolgono ruoli fondamentali per:

- garantire cibo buono e sicuro a tutta la popolazione mondiale;
- mitigazione cambiamenti climatici;
- biorisanamento;
- bioeconomia.

https://www.nature.com/articles/441564-628-80653-n7781_source=reflist_medium=reflist_content=media_campaign=00_Chi_1_Glob1_metadata

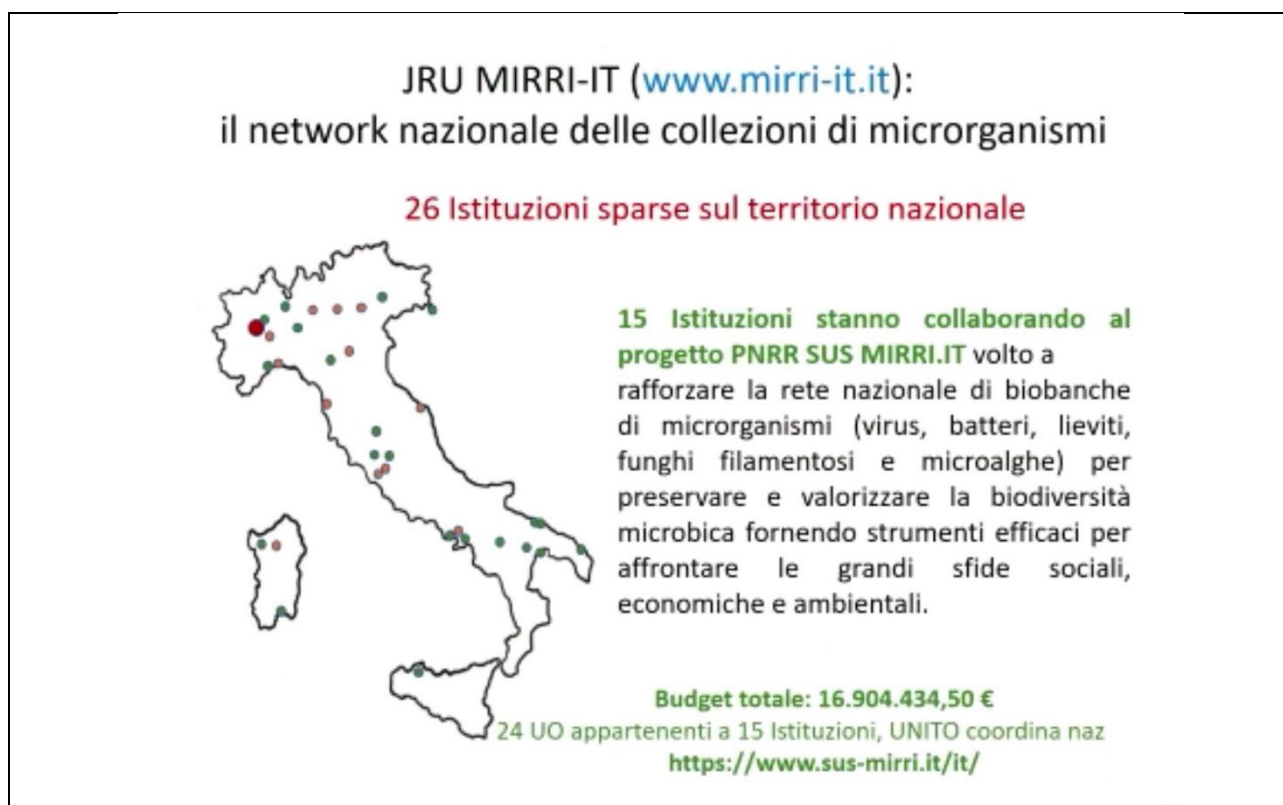
Riprendendo dal "Piccolo Principe" il concetto che "l'essenziale spesso è invisibile agli occhi", in questo caso ben si adatta, infatti i microrganismi si possono vedere solo al microscopio e spesso

sono di una bellezza straordinaria e hanno ispirato molti racconti, molti film, ma dobbiamo metterci al microscopio per poterli vedere.

Oggi la biodiversità microbica è considerata veramente, non solo una risorsa preziosa per la scienza e per la ricerca, ma per quello che oggi chiamiamo la "bio-economia". C'è in atto una transizione ecologica in tantissimi settori e c'è una richiesta enorme sia da parte del mondo politico che da parte dell'industria, di avere maggiori informazioni su questi argomenti e di valorizzare al meglio le conoscenze che abbiamo su questi argomenti.

E' già stato introdotto dal Dott. Moretti del CNR ISPA, il fatto che l'Italia dal 2017 si è strutturata con un network di Collezioni di microrganismi che si chiama MIRRI.IT (www.mirri-it.it) ossia *Microbial Resource Research Infrastrutture*, un'infrastruttura di ricerca che è nata nel 2012 in Europa nella convinzione da parte dell'Unione Europea che i microrganismi sono il materiale grezzo su cui costruire tantissime nuove filiere di sviluppo in particolare nel settore agronomico e alimentare.

Oggi sono 26 le Istituzioni sparse sul territorio nazionale ed è l'occasione anche per invitare i colleghi che non ne fanno ancora parte con le loro Istituzioni, a contattarci per far parte del network MIRRI.



Attualmente il network italiano si è dimostrato un gruppo di lavoro composto da professionisti che si aiutano veramente e quindi sicuramente un gruppo aperto e proattivo. Con il PNRR è stato possibile ricevere un importante finanziamento che ci ha permesso di innalzare la qualità delle infrastrutture che sono distribuite sul territorio nazionale, come l'intervento del Dott. Moretti del CNR ISPA ha già ben rappresentato nell'intervento precedente.

Per provare a seguire la traccia di lavoro che è stata distribuita per i lavori di questo *Ciclo di incontri* sulla biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare, sicuramente uno dei problemi dei

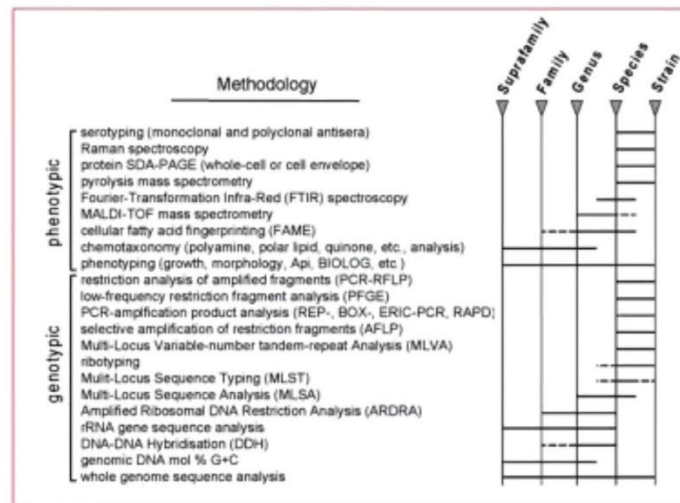
microrganismi ad esempio, è che non è facile adattare ad essi il concetto di specie tradizionalmente utilizzato per le piante e per gli animali.



Questo va a rendere più difficile il concetto di “a rischio di estinzione” visto che non è molto chiaro come definire una specie. Le tecniche messe a disposizione dalla scienza negli ultimi anni per identificare e caratterizzare i microrganismi si sono ampliate all’inverosimile e quindi da caratteri prettamente morfologici si è passati a caratteristiche più di tipo biochimico o molecolare. Ad esempio non è così facile capire se due ceppi isolati nella stessa cantina sono gemelli ossia in tutto e per tutto uguale oppure sono due fratelli che hanno delle caratteristiche uguali, ma altre diverse, oppure se sono semplicemente due organismi diversi che semplicemente convivono nello stesso ambiente anche se hanno funzionalità completamente diverse.

Oggi per identificare e caratterizzare microrganismi utilizziamo tecniche molto diverse, sia a livello fenotipico che genotipico, che ci permettono di avere un focus nell’identificazione, più o meno spinto.

Il **concetto di specie oggi** implica a **combinazione di caratteri** quali morfologia, fisiologia, marcatori biochimici e sequenziamento di varie regioni del DNA conosciute come marcatori molecolari



I microrganismi sono un gruppo molto eterogeneo di organismi: virus, batteri, lieviti, funghi filamentosi e microalghe, pertanto non esiste un'unica tecnica per identificare i microrganismi, ma per ogni classe di microrganismi esistono i relativi esperti. Questo è anche il motivo per cui il network MIRRI.IT è necessariamente così numeroso in Italia. Tra l'altro l'Italia è un paese molto ricco di biodiversità di piante, di animali e quindi anche di microrganismi. Spesso i microrganismi conservati nelle Collezioni italiane sono già valorizzati in molte filiere produttive, ma c'è bisogno di esperti in tutti questi settori per poterle gestire al meglio.

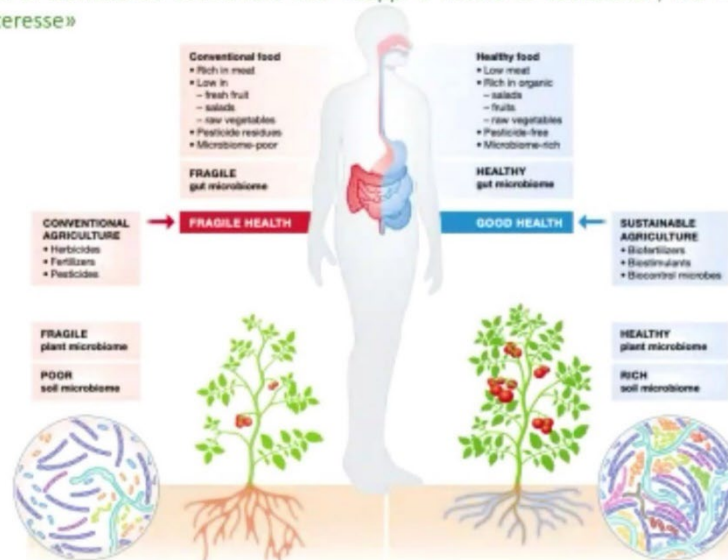
Identificare e caratterizzare i microrganismi è un po' più difficile caratterizzare una razza bovina o una cultivar vegetale e quindi è strettamente necessario lavorare affiancati a personale specializzato e questo è forse uno dei problemi per rendere più esecutive alcune delle aspettative della L. 194/2015.

Diversi criteri utilizzati nella delineazione delle specie di batteri, archea e funghi



Spesso non viene detto in modo chiaro che la qualità del nostro benessere è strettamente legata alla qualità del cibo che mangiamo che a sua volta è strettamente legata alle caratteristiche microbiologiche dell'ambiente in cui è stato prodotto.

I microrganismi benefici del suolo, del cibo e dell'intestino umano sono interconnessi: migliorano la produzione primaria, le caratteristiche organolettiche e nutrizionali dei cibi, permettono di limitare l'uso di prodotti chimici in agricoltura, etc. Si dovrebbero conservare non «ceppi a rischio di estinzione», ma «ceppi di interesse»



Pertanto si crea una filiera indissolubile tra la qualità dell'ambiente e la qualità degli alimenti o degli animali e il benessere della società, con tutte le problematiche che esistono. Quindi è ormai ben noto che i microrganismi non solo possono migliorare la produzione primaria ma impattano in modo significativo, ad esempio, sulle caratteristiche organolettiche e nutrizionali del cibo: un cibo

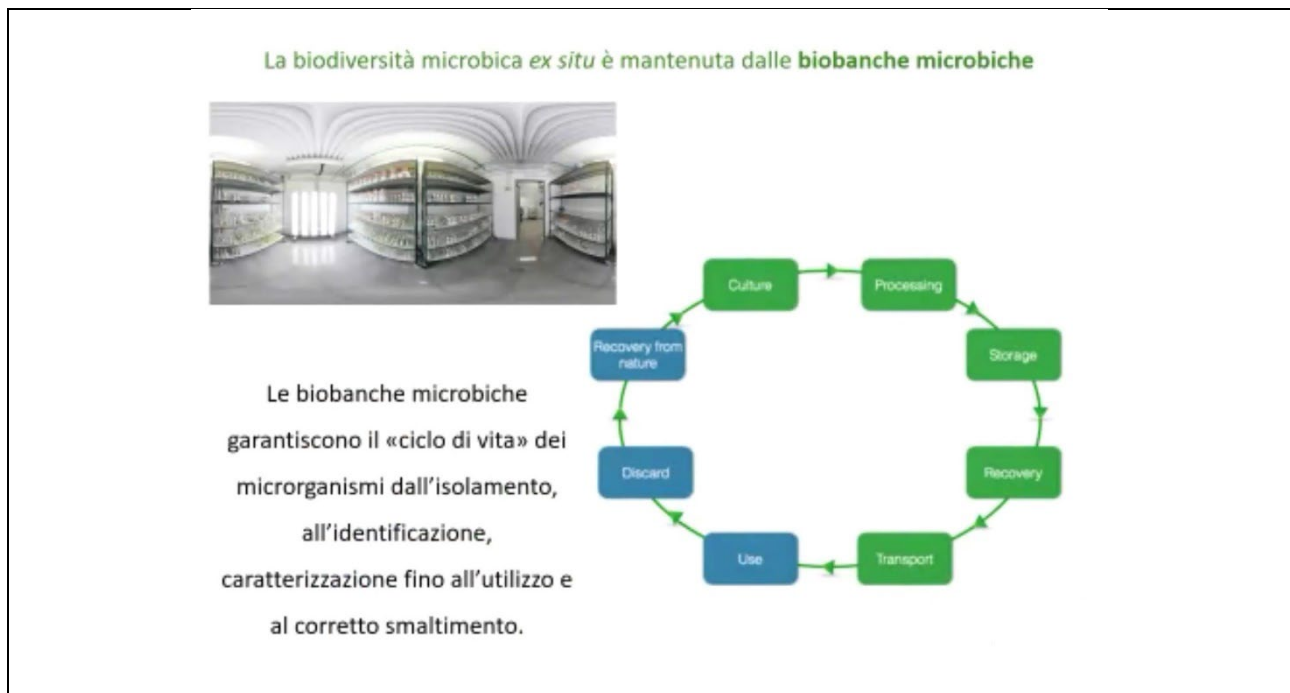
è più buono o meno buono a seconda dei microrganismi che hanno contribuito a far crescere quella pianta e avrà più nutrienti o meno nutrienti rispetto a quello che potrebbe essere coltivato, ad esempio, in idroponica.

I biofertilizzanti o i biostimolanti o gli agenti di controllo biologico, ci permettono di ridurre i prodotti chimici utilizzati dall'agricoltura e immessi nell'ambiente. A questo proposito è importante cambiare il modo di coltivare le piante sostituendo fertilizzanti chimici o pesticidi e diserbanti con prodotti che siano più sostenibili dal punto di vista ambientale. Questi prodotti sono, nel 99% dei casi, microrganismi.

Da questo punto di vista resta anche difficile scegliere quali sono i microrganismi da conservare.

Negli incontri di questo Ciclo dedicato alla biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare, abbiamo capito che il termine “a rischio di estinzione/erosione genetica” nel caso dei microrganismi non è corretto, a me personalmente piace parlare di “ceppi di interesse” per supportare alcune specifiche attività ad essi legate.

In questo momento quello che la comunità scientifica italiana può offrire è la rete nazionale delle



biobanche microbiche italiane che hanno lo scopo di seguire il ciclo di vita dell'organismo il che significa: andare ad isolare negli ambienti, identificarlo, caratterizzarlo, valorizzarlo quindi distribuirlo a tutti i soggetti interessati e infine accompagnarli anche ad un corretto smaltimento di queste risorse.

Cosa sono le biobanche microbiche?

Cosa sono le biobanche microbiche?

Le collezioni di colture stanno ai microrganismi come le biblioteche stanno ai libri.

I microbiologi che lavorano nelle collezioni di colture sono veri esperti di biodiversità microbica. Nel corso degli anni hanno sviluppato competenze e competenze specifiche in:

- Raccolta dei campioni e isolamento dei ceppi
- Caratterizzazione dei ceppi (identificazione e caratterizzazione funzionale)
- Conservazione
- Distribuzione (microrganismi e metadati, divulgazione)
- Aspetti normativi e di biosicurezza



In queste strutture lavorano persone specializzate su tutte le attività che sono comprese nella L. 194/2015: la raccolta dei ceppi, l'isolamento, la caratterizzazione, la conservazione e la distribuzione.

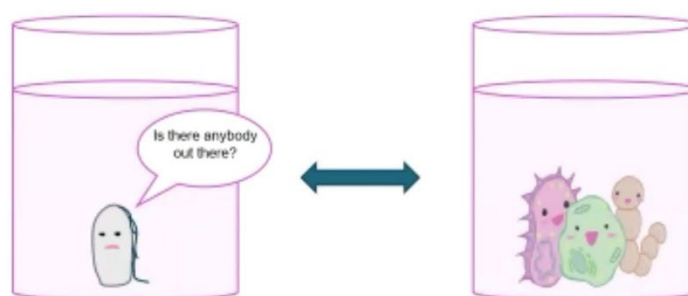
La valorizzazione delle risorse microbiche obbliga le collezioni di colture a seguire regole:

- operare seguendo rigide procedure secondo quello che viene chiamato “il sistema di gestione della qualità”;
- rispettare numerose norme legali riguardanti la sicurezza microbiologica e lo sfruttamento dei microrganismi.

Dal 12 ottobre 2014 le regole sono stabilite da un accordo internazionale denominato Protocollo di Nagoya sull'accesso e la condivisione dei benefici che mira a proteggere l'uso delle risorse genetiche e condividere i benefici derivanti dal loro utilizzo in modo giusto ed equo, contribuendo così alla conservazione e all'uso sostenibile della biodiversità.

La società civile ci chiede di prendere in considerazione che spesso, noi siamo abituati a conservare esattamente come in banca, tante migliaia di tubicini che contengono ognuno un singolo microrganismo, ma la realtà è che spesso e volentieri i microrganismi sono inscindibili l'uno dall'altro, quindi se non li conservo tutti assieme si perdono la maggior parte per strada. Questo è il motivo per cui ancora oggi il 90% dei microrganismi non riusciamo a coltivarli. Quindi proprio dal mondo produttivo, ci viene chiesto di aumentare la nostra capacità di indagine e spostarci dal singolo ceppo di consorzi microbici o ai microbiomi.

La richiesta del mondo produttivo:
dalle collezioni di isolati alla gestione di consorzi e microbiomi



Sviluppo di nuove strategie per conservare consorzi e microbiomi invece di singoli isolati (problematiche e tecnologie differenti a seconda del campo di interesse)

Questa rappresenta una sfida epocale per tutta la comunità scientifica e i microbiomi saranno importantissimi per supportare tutta la filiera agro-food: nella produzione primaria, nella produzione alimentare, nella salute del suolo, nella riduzione dell'uso di prodotti chimici; la salute dell'uomo, il microbioma dell'uomo considerato il secondo cervello del corpo umano e tutte le implicazioni legate alla bio-economia.

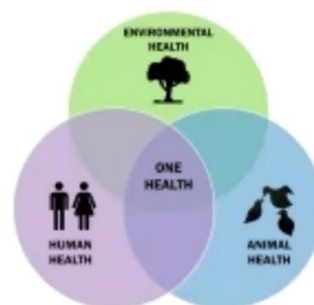
Se è già difficile conservare un microrganismo, conservare e caratterizzare microbiomi è molto difficile! E questo è quello che la ricerca a livello mondiale sta tentando di fare oggi. Nessuno ad oggi ha la risposta esatta e nessuno ad oggi può dire: si fa così!

Conservare i biomi nella loro interezza e caratterizzarli è veramente difficile e in questo la comunità scientifica italiana è di altissimo livello e tutti assieme si sta lavorando per definire quelle che sono le *Standard Operation Procedures* (SOP) per:

- campionamento
- trasporto
- identificazione tassonomica
- identificazione funzionale
- conservazione a lungo termine
- valorizzazione

Conservazione dei microbiomi per:

- Supportare produzione primaria e produzione alimentare (i.e. SynCom)
- Garantire salute del suolo e delle piante (i.e. biofertilizzanti, agenti di biocontrollo)
- Garantire salute degli animali, uomo incluso
- Ripristino degli ecosistemi e biorisanamento ambientale
- Valorizzazione della biomassa e produzione di biocarburanti o di altre molecole bioattive
- ...



Microbiomes for « One Health »

La conservazione dei microbiomi è una delle maggiori sfide che le collezioni dovranno affrontare nel prossimo futuro: **messa a punto di SOP per il campionamento, l'identificazione, la conservazione e la valorizzazione dei microbiomi.**

Perché è difficile caratterizzare e conservare un microbioma?

Perché i microrganismi in natura vivono tutti assieme e sono fortemente impattati da tutta una serie di problematiche di tipo biologico e di tipo chimico-fisico. Ad esempio il cambiamento climatico in atto fa sì che quello che poteva valere fino a pochi anni fa, adesso non vale più. E' necessario pertanto incamerare tutte queste informazioni e metterle a sistema.

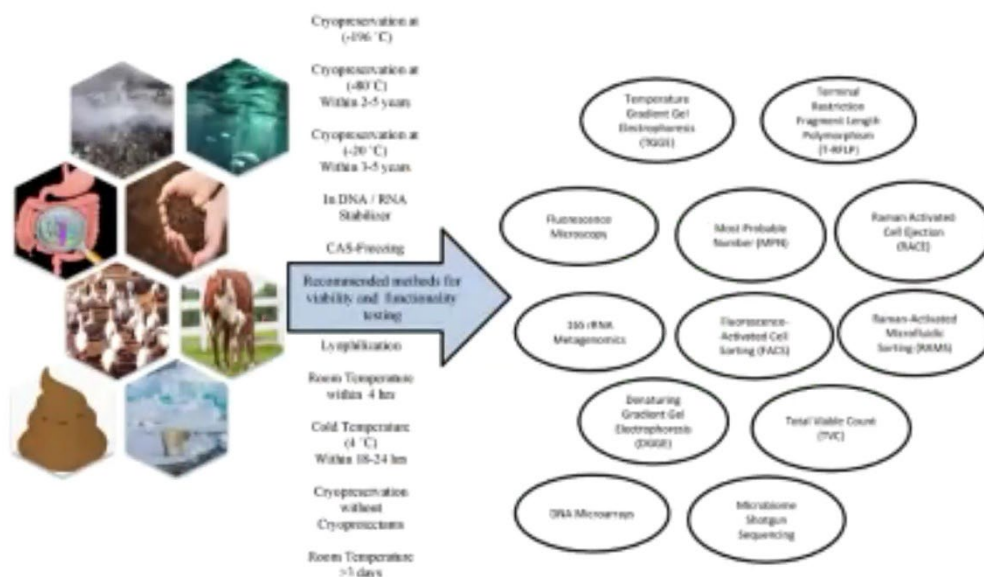
Si può conservare la pasta madre della Sig.ra dell'Umbria?

La risposta attualmente è: “non si può garantire”. Si può provare a mettere a punto una serie di protocolli e nei prossimi anni potremo provare se e come siamo stati in grado di conservare tutto e se abbiamo conservato tutti i microrganismi (forse no!) ma almeno la funzionalità di quel consorzio.

Per essere ancora più chiari spesso e volentieri la comunità scientifica in questo momento risponde senza cercare di conservare proprio tutto, cerca di ricreare le comunità “sintetiche”, individuando quali sono gli organismi principali che svolgono le principali funzioni e le rimette insieme, assembla in modo “sintetico”.

Pertanto non è sempre corretto mischiare il concetto di microbiomi e consorzi microbici come qualcosa che posso riassociare in modo esatto.

Non esiste un protocollo standardizzato universale per la conservazione di consorzi microbici di interesse agro-food



In alcuni casi più facile assemblare comunità sintetiche (SynCom)

E' importante che tutti questi lavori vengano fatti a livello europeo perché siamo fortemente legati al sistema europeo che cerca di mettere a sistema e condividere tutte queste buone pratiche.

MIRRI-IT in Europa



Una rete di oltre 50 centri di risorse biologiche dedicati ai microrganismi in Europa. Recentemente **MIRRI (Microbial Resource Research Infrastructure)** ha raggiunto lo status di European Research Infrastructure Consortium (ERIC) e lo status di "Landmark" nella Roadmap 2021 del Forum strategico europeo sulle infrastrutture di ricerca (ESFRI).

Stiamo finalizzando i documenti per l'ingresso dell'Italia nel MIRRI-ERIC europeo.

Qualche numero per l'Italia.

Le Regioni e Province Autonome devono sapere che la rete MIRRI.IT conserva più di 100.000 microrganismi molti dei quali di interesse agrario e alimentare, già isolati, caratterizzati e pronti per essere riutilizzati in vario modo.

Ci sono decine e decine di persone esperte per aiutare le Regioni, se vorranno, in questo percorso perché in tutte le Regioni sono presenti Centri di questo genere e sarebbe importante creare un flusso di informazioni in questo senso.

Il PNRR ha permesso di fare un salto di qualità enorme sulle tecnologie disponibili per questo e sono *open access* ossia che tutti possono utilizzare sotto il controllo dei Centri di ricerca. Questo rappresenta un elemento veramente importante per le progettualità di cui stiamo parlando.

MIRRI.IT riunisce e dà accesso, attraverso un unico portale, a risorse e competenze scientifiche di eccellenza...

- ✓ Ampio catalogo di circa 100.000 risorse microbiche di alta qualità e dati associati



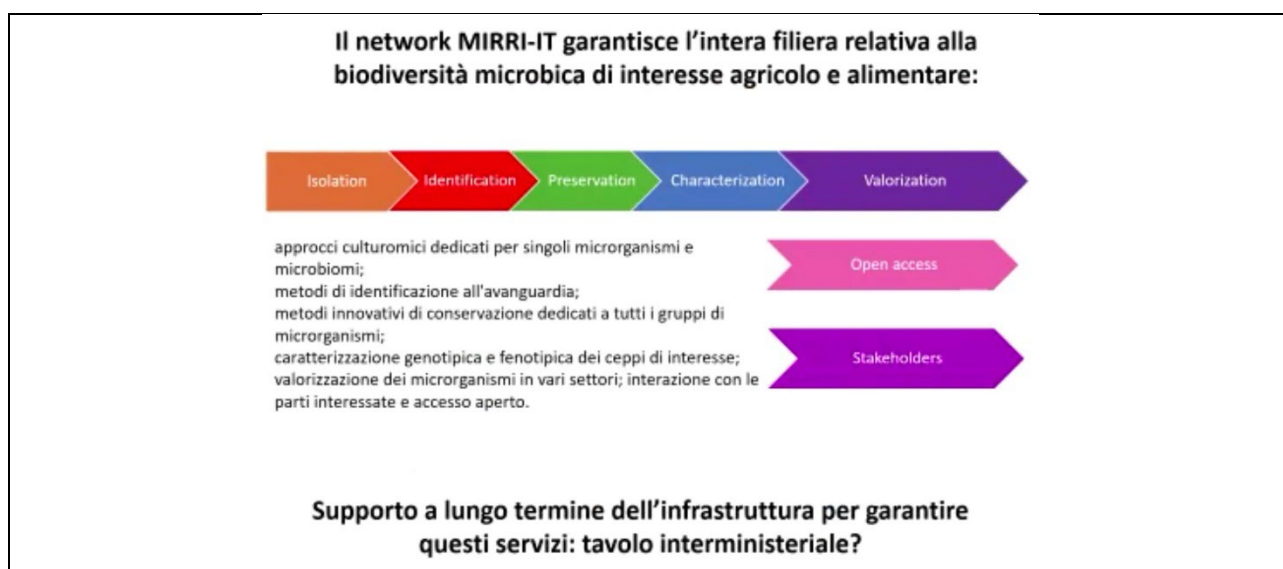
- ✓ Competenza scientifica in bioprospezione microbica, conservazione, culturomica, tassonomia, questioni legali/normative e istruzione/formazione



- ✓ Trasferimento tecnologico e formazione in ambiti applicativi di grande rilevanza, quali Salute, Alimentazione, Agricoltura, Ambiente ed Energia (e loro intersezioni)



Il network MIRRI.IT può garantire l'intera filiera relativa alla biodiversità di interesse agricolo e alimentare come nello schema sotto riportato.



Sarebbe molto utile creare dei tavoli interministeriali sul tema per cercare di supportare attraverso l'ausilio di diversi Ministeri queste strutture che possono agire a livello locale, perché senza una sostenibilità a lungo termine di queste strutture, non è garantito il successo.

Esempi di servizi che il network può fornire.

- Isolare, caratterizzare e conservare da agricoltori, piccole cantine, piccoli produttori ceppi che siano di interesse e assieme tutti dovremmo scegliere quali sono i criteri per identificare gli organismi di interesse;
- Esistono dei servizi presso praticamente tutte le biobanche, che si chiamano “save deposit”; ad esempio l'Università di Torino ha tutta una serie di ceppi depositati di piccole cantine piemontesi che hanno deciso di depositare i loro microrganismi chiave per la fermentazione, presso questo Istituto, perché in caso di necessità, qualora il loro ambiente produttivo cambi, possiamo riconsegnargli il microrganismo depositato;
- Esistono anche tutta una serie di caratterizzazioni che la maggior parte delle Istituzioni possono fare.

MIRRI-IT può offrire al comparto della filiera agro-food (In modo diretto e mediato attraverso l'intervento delle Regioni) servizi di alta qualità, basati su tecnologie all'avanguardia		
DEPOSIT Public Deposit Patent Deposit Safe Deposit MICROORGANISM ISOLATION, PRESERVATION AND CULTIVATION Isolation and purification of strains Freeze-drying cryopreservation Optimization of preservation conditions (including consortia and microflora) Optimization of cultivation/fermentation Microbial counting/line phages, viable cells, spores, ATPs... MOLECULAR IDENTIFICATION Identification from pure cultures Virus diagnostics Cell line authentication PHENOTYPE CHARACTERISATION MALDI-TOF MS Image analysis (optical, fluorescence, CLSM, TEM and SEM microscopy) Biochemical tests (physiological or measurement via API, Biolog...) Analysis of the cellular fatty acid composition Analysis of cell wall sugars Analysis of polysaccharide structure Analysis of polysaccharide degrading enzymes Analysis of the cellular protease composition Analysis of volatile metabolites Analysis of lipolytic enzymes Analysis of mycotic acids Analysis of respiratory quinones Immunochromatographic analysis	MOLECULAR CHARACTERISATION, MOLECULAR TYPING AND PHYLOGENETIC ANALYSIS Gene sequencing and analysis Biochip/sequencing of PPA/antibiotic-resistance genes, MSA/MLST... PCR-typing (RAPD, DGGE, TRIC, AFLP, Microsatellites, rep-PCR, ISN-17R) RFLP (genomic or RFLP, AFLP, electrophoresis...) MALDI-TOF MS Karyotyping Determination of plasmids Phage profile analysis NGS RELATED SERVICES De novo/known genome sequencing and analysis Assembly, annotation, G+C... Overall genome relatedness index (ANI, dDDH...) Metagenomic analysis SCREENING, TESTS AND BIOASSAYS Genotype/phenotype/ environmental screening Screening (targets depend on the provider mIRC) Characterization of technology utilities Characterization of bioproducts (analytical, pharmaceutical) Analysis of adhesive activity Analysis of bioadhesion-producing activity Analysis of hyaluronan-degrading activity Quality control and stability testing of raw materials and products Mutational resistance testing	MISCELLANEOUS Assessment of virus presence within fungal cultures Cell sorting applications (Flow cytometry) Construction of interspecific hybrids Determination of consumption / CO ₂ production DNA extraction Downstream processing (metabolites purification) Hansen fungi diagnostic (log, Sordari) Mycotoxins testing Mycosens analysis Plasmid copy number quantification (digital PCR) Preparation of competent cells Preparation of inactivated strains Safety assessment of strains for food and feed Virus resistance assays TAXONOMIC DATABASE TOOLS Mycobase NCBI FungalDB NCBI Phylosearch CONSULTANCY, TRAINING AND CONTRACT RESEARCH Consultancy (bioreactors, handling and preservation of strains) Consultancy (issues related to the mIRC expertise, including legal and safety issues) Training courses (content depends on the provider mIRC) Contract Research (content depends on the provider mIRC)

Pertanto le biobanche ed in particolare il network MIRRI.IT può garantire la conservazione “ex situ” di questi ceppi depositati e possiamo garantire la riproducibilità se si vorranno creare degli inoculi ad hoc per le singole produzioni, piccole o grandi che si vogliano sviluppare. Infine e non per ultimo possiamo fare ricerche per crescere in questo settore.

Un esempio pratico.

L'università di Torino ha lavorato sul Salame Piemonte IGP e si scopre che utilizzano degli starter industriali; la notizia ha suscitato scalpore fino a quando, grazie all'attività di una serie di colleghi, sono state fatte ripartire tutta una serie di fermentazioni tradizionali e sono stati isolati i ceppi

autoctoni che potevano garantire la stessa identica produzione, cioè è stato ricreato il consorzio microbico che adesso è a disposizione della filiera produttiva. E' stata preservata pertanto la biodiversità autoctona piemontese. Questi sono lavori che possono essere aperti a ventaglio su tutte le produzioni in tutte le Regioni.

I microrganismi possono veramente rappresentare uno strumento per un'innovazione sostenibile nella filiera agroalimentare con:

- miglioramento della crescita delle piante attraverso la produzione di biofertilizzanti e biostimolanti;
- maggiore tolleranza agli stress idrici e salini delle piante;
- riduzione di agrofarmaci e fertilizzanti chimici grazie alla selezione di agenti di controllo biologico;
- valorizzazione di sottoprodotti agrofood per la produzione di nuovi materiali/prodotti (bioeconomia ed economia circolare);
- messa a punto di protocolli per la crioconservazione e ricostituzione funzionale di comunità microbiche complesse;
- microrganismi/microbiomi per una produzione di alimenti e mangimi sostenibili di alta qualità (>apporto nutrizionale);
- ottimizzazione dei parametri di fermentazione per migliorare la fermentazione e la qualità del prodotto finale;
- necessità di formazione per gli utilizzatori e per la società civile (consumatore consapevole);
- una nuova strategia efficace ed economica per incentivare gli agricoltori ad adottare più frequentemente le risorse microbiche;
- marchi di qualità?

Quali sono i compiti che potrebbero essere svolti dai "custodi"?

Nel caso di una risorsa genetica microbica il custode è la persona che provvede alla conservazione "in situ", nell'ambito dell'azienda agricola e/o dell'ambiente produttivo, delle risorse genetiche locali agrario a rischio di estinzione iscritte, ad esempio in un Registro regionale. Per le risorse microbiche si deve osservare quanto segue:

- difficilmente le aziende agricole potranno provvedere alla messa in sicurezza delle risorse genetiche microbiche di cui sono custodi, proteggendole e salvaguardandole da qualsiasi forma di contaminazione, alterazione o distruzione, ma possono impegnarsi a non utilizzare starter industriali alloctoni);
- possono contribuire alla conservazione della biodiversità utilizzando nella loro attività (produzione di alimenti, coltivazione di specie vegetali, allevamento di animali) le risorse genetiche microbiche conservate "ex situ" nelle Collezioni;
- possono partecipare alla diffusione della loro conoscenza e del loro utilizzo;
- difficilmente hanno le competenze per occuparsi della riproduzione (moltiplicazione) delle loro risorse microbiche se non mantenendo l'ambiente produttivo il più "indisturbato" possibile.

Inoltre bisogna osservare che i protagonisti del sistema di conservazione delle risorse genetiche microbiche sono quindi le biobanche microbiche che agiscono a supporto dei "custodi" che devono essere adeguatamente formati e informati.

Le biobanche microbiche possono supportare tutte le fasi di tutela dell'agrodiversità microbica

1. **Individuazione della risorsa genetica:** isolamento e identificazione se parliamo di singoli ceppi
2. **Caratterizzazione genotipica e fenotipica:** dipende dal tipo di microorganismo e dal tipo di caratterizzazione che si vuole
3. **Conservazione:** disponibili tecniche di conservazione a lungo termine per la maggior parte dei microrganismi coltivabili (safe deposit); non ancora validate tecniche di conservazione a lungo termine per consorzi microbici
4. **Valorizzazione e reintroduzione nel territorio:** produzione su media e larga scala di microrganismi relativamente costosa - interesse industriale e vincoli legislativi legati al campo di utilizzo

Reperire risorse finanziarie, stabilire i criteri e le priorità, mettere a sistema i diversi interlocutori, etc.

Gianluigi Cardinali, Dipartimento di Scienze Farmaceutiche- Microbiologia- Università degli Studi di Perugia

La Biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare

Come concepirla, come preservarla per impiegarela

Gianluigi Cardinali
Università degli Studi di Perugia

Firenze -19 Aprile 2024

Visto che siamo in presenza di studenti degli Istituti Agrari, cercherò di concentrarmi più su alcuni concetti portanti relativi alla biodiversità microbica che sulle informazioni relative ad essa.

*La biodiversità microbica: **come concepirla**. Tre ragioni per cui la biodiversità microbica è profondamente diversa da quella delle piante e degli animali*

Gli interventi precedenti lo hanno già detto, ma è bene ribadirlo.

Innanzitutto la biodiversità microbica non si vede ad occhio nudo anche se in qualche raro caso, sì. Il fatto che non si veda direttamente la presenza dei microrganismi produce una curiosa inversione dell'operare del microbiologo che prima campiona e poi sceglie cosa studiare dopo aver identificato i microbi del suo campione. Un esempio: un entomologo prima raccoglie una farfalla e poi la studia; un microbiologo prima deve raccogliere quello che trova nell'ambiente e da qui sperare di tirar fuori ogni piccolo elemento e, quando lo avrà *isolato*, solo allora potrà studiarlo.

In secondo luogo, il concetto di *specie* in microbiologia non è assolutamente quella definita dagli zoologi o dai botanici anche se la biodiversità microbica attualmente è concepita come *specie* formate da *ceppi*. Questo principalmente due motivi:

1. La struttura unitaria evolutiva – **la specie** – in microbiologia non è riconducibile a quella degli organismi superiori perché:
 - a. i microrganismi non sono “costretti” a riprodursi sessualmente;
 - b. non devono trovare un partner per riprodursi, anche mutanti estremi possono riprodursi;
 - c. dai ciò ne deriva che non esistono “barriere riproduttive”.
2. Il **ceppo microbico** è una collezione di cellule, tutte derivanti dalla stessa cellula madre per esclusiva riproduzione vegetativa, quindi identiche a meno del rumore di fondo delle mutazioni spontanee. Il *ceppo* è l'elemento della *specie* ma non è un individuo. *In tutti i casi in cui troviamo la parola “individuo” la definizione è di incerto utilizzo per i microrganismi.*

Dare un nome ad una risorsa microbica è estremamente complicato anche perché le nomenclature variano molto spesso, proprio perché la materia è in continua evoluzione.

Il *ceppo microbico* è una struttura abbastanza complessa, soprattutto se non è batterico e qui va ricordato che la biodiversità microbica di interesse agrario, nella stragrande maggioranza è sia fungina che batterica.

Pertanto, quando in microbiologia parliamo di *specie*, di *ceppo* e di biodiversità nel suo complesso, non usiamo i termini con lo stesso significato che gli attribuiscono gli zoologi, gli zootecnici, i botanici e i cultori della biologia vegetale.

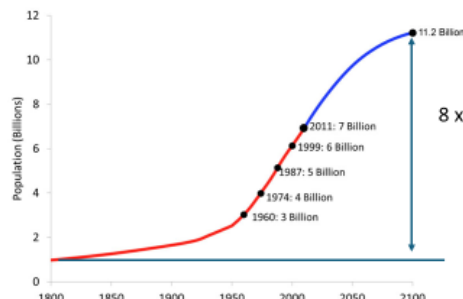
Una terza grande differenza del mondo microbico da quello vegetale e da quello animale è la crescita molto veloce e che può partire da un solo organismo.

Nel grafico che segue si vede come è cresciuta la specie umana, che è cresciuta 8 volte dal 1800 ad oggi; 8 volte in microbiologia significa 3 generazioni; 3 generazioni per un batterio si ottengono in un'ora circa e per un lievito dalle 6 alle 7 ore, mentre per la specie umana sono 300 anni.

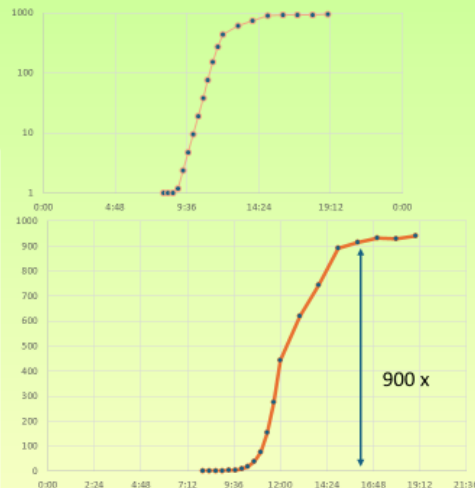
La Biodiversità microbica - Come concepirla

2. la crescita è molto veloce
e può partire da un solo organismo

Figure 1. U.N. projections of world population to 2100, medium fertility variant



Source: Various sources before 1950. From 1950: UN World Population Prospects: 2015 revision



A.D. 1308
unipg

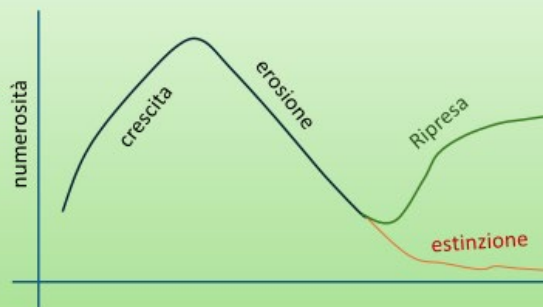
Gianluigi Cardinali

La Biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare
Come concepirla, come preservarla per impiegarla

Altro aspetto molto importante che richiede un approccio diverso per la biodiversità microbica rispetto a quella animale e a quella vegetale, è come interpretare il declino di una specie microbica.

INTERMEZZO

La biodiversità vegetale o animale - come interpretare il declino di una specie



EROSIONE: *loss of genetic diversity between and within populations of the same species over time*

Per i **macrorganismi** la perdita di numerosità equivale ad una necessaria perdita di variabilità, per i **microorganismi** si può avere

- Elevata variabilità con alte densità
- Elevata variabilità con basse densità
- Basso variabilità con alte densità
- Basso variabilità con basse densità

La densità microbica non ha lo stesso significato della numerosità di piante e animali

A.D. 1308
unipg

Gianluigi Cardinali

La Biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare
Come concepirla, come preservarla per impiegarla

Siamo abituati a sentir parlare di “estinzione” delle specie come fine del suo ciclo evolutivo. In genere si verifica una cinetica piuttosto comune nel mondo biologico, ossia: si passa dalla comparsa della specie per assistere ad una sua crescita come quantità e come variabilità, dopodiché si assiste ad una stabilizzazione della stessa che può essere anche per un periodo molto lungo, infine può avvenire un’erosione genetica perché la specie non è più adatta a alle condizioni

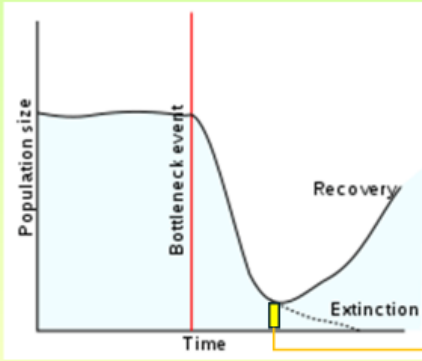
che si sono verificate; al termine di questo periodo si verifica una crisi cui può seguire una ripresa oppure l'estinzione della specie.

Con i microrganismi non si rileva un reale "rischio di estinzione" e questo è dovuto al fatto che non si verifica una reale "erosione": questo è dovuto al fatto che un solo ceppo ne può produrre miliardi e miliardi in pochi giorni. Quindi, anche se avviasse un periodo di "erosione genetica", si verifica un continuo punto di crisi e un continuo punto di ripresa. Questo, dal punto di vista scientifico, non è neanche materia di dibattito, ma il problema è che invece dal punto di vista legislativo, la Legge 194/2015 ha stabilito come carattere chiave, il rischio di erosione e di estinzione genetica delle risorse genetiche locali di interesse agricolo e alimentare. Ed ecco perché ad oggi non si riesce ad iscrivere nessuna risorsa microbica autoctona all'Anagrafe nazionale della L. 194/2015.

Un altro concetto: la biodiversità microbica può essere ricostruita.

La Biodiversità microbica - Come concepirla

3. Le specie microbiche non hanno bottlenecks come piante e animali.



Anche da una cellula si può ripristinare una specie

Ne consegue che:
L'erosione genetica ha un significato diverso da quella di piante e animali

L'estinzione delle specie microbiche non è plausibile e l'erosione non è il suo preludio come per piante e animali

Variabilità minima per evitar l'estinzione

A.D. 1308
unipg Gianluigi Cardinali

La Biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare
Come concepirla, come preservarla per impiegarla

Ne abbiamo persa tanta di biodiversità microbica e continuiamo a perderla, ma in parte è possibile ricostruirla, non identica a quella perduta, ma in qualche modo simile ed utile allo stesso scopo.

La Biodiversità microbica - Come concepirla

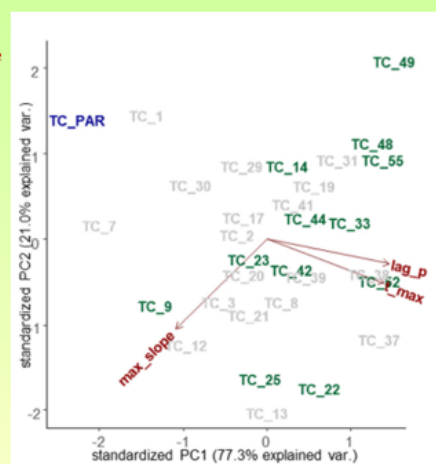
Un esperimento (CASO STUDIO) per mostrare che anche da una cellula si può ripristinare una specie.

Il fenomeno è marcato sia con che senza selezione

Article

Renewing Lost Genetic Variability with a Classical Yeast Genetics Approach

Ameya Pankaj Gupta^{1,*}, Debora Casagrande Pierantoni^{2,†}, Angela Conti², Leonardo Donati², Marina Basaglia¹, Sergio Casella¹, Lorenzo Favaro^{1,*}, Laura Corte^{1,*} and Gianluigi Cardinali²



A.D. 1308
unipg

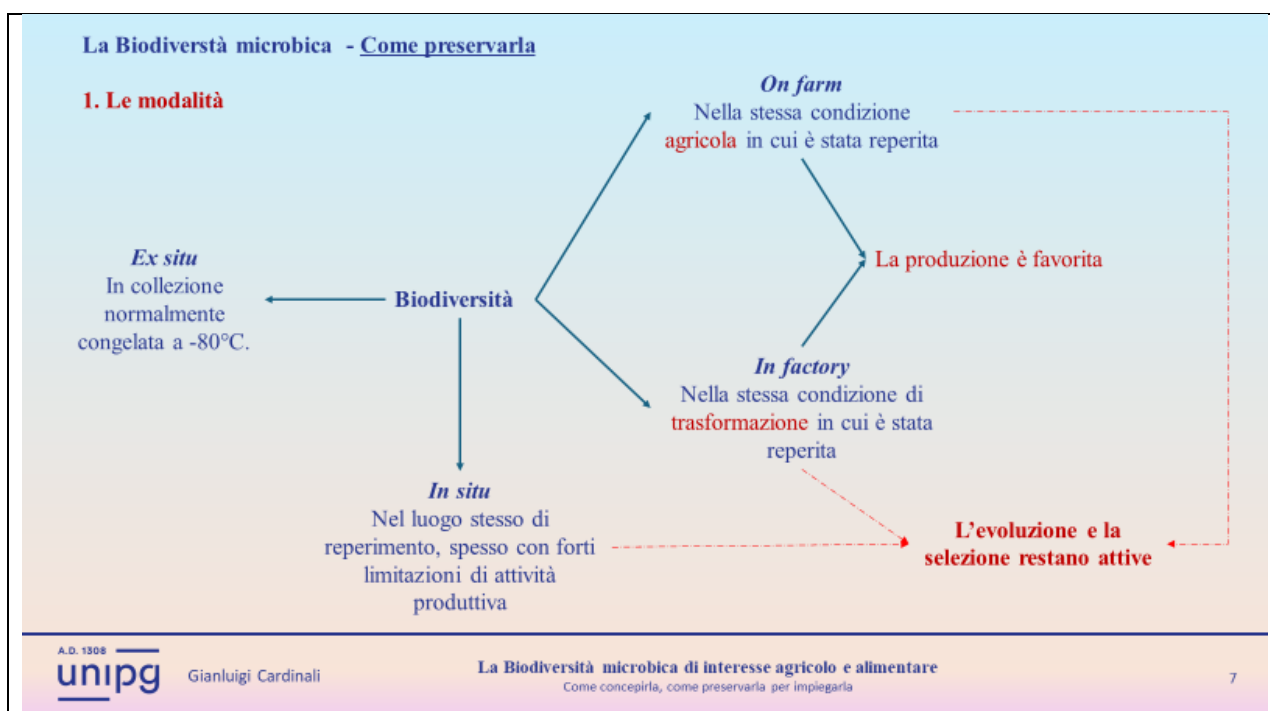
Gianluigi Cardinali

La Biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare
Come concepirla, come preservarla per impiegarla

Nel grafico precedente viene riportato i risultati di un lavoro pubblicato dal mio gruppo di ricerca nel quale si evidenzia il ceppo di partenza (TC_PAR). Immaginate il grafico come una mappa bidimensionale in cui ogni ceppo è un punto e più sono lontani i punti e più sono diversi i ceppi che essi rappresentano. Impiegando solo tecniche di genetica classica applicabili anche alla microbiologia alimentare, è stato possibile rilevare tutta la variabilità evidenziata nel suddetto grafico. Parte è stata ottenuta sotto “selezione”, parte senza selezione. Nel caso senza selezione si riforma una variabilità interna rappresentata da tutti i ceppi che sono stati prodotti con il sistema. Nel caso della selezione, invece, si applica una pressione selettiva mentre c’è la crescita delle diverse cellule in modo che solo quelle che sono capaci di resistere alla selezione potranno crescere e produrre ceppi. Va ricordato che la selezione è quasi sempre presente e anche abbastanza forte nelle condizioni tipiche di sviluppo della biodiversità di interesse agroalimentare.

Come preservare la biodiversità microbica

In origine si parlava di conservazione “*in situ*” e conservazione “*ex situ*”. Quest’ultima in realtà è la forma tipica messa in atto dai microbiologi, normalmente mantenendo i ceppi a -80°C in apposite collezioni microbiche. Tuttavia, vi sono anche dei metodi “*in situ*”, ovvero mantenendo le risorse genetiche microbiche nel luogo in cui si sono differenziate. Qui è però necessaria la distinzione tra la conservazione per ragioni naturalistiche rispetto a quella per ragioni agroalimentari. Per questo, si è sviluppata una variante della conservazione “*in situ*” chiamata “*on farm*” cioè nell’azienda agricola, ma anche quella “*in factory*” ossia il luogo della trasformazione del prodotto agricolo. La differenza fra la forma *in situ* e quelle *in farm* e *in factory* sta nella diversa organizzazione generale e nella diversa concezione. In genere la forma *in situ* prevede forti limitazioni alla produzione, che non sono ovviamente concepibili per la biodiversità di interesse agroalimentare. Le altre dure forme, invece, armonizzano il mantenimento della biodiversità e la produttività in ambito agroalimentare.



Il termine “rischio di erosione/estinzione” non è appropriato per i microorganismi, pertanto c’è veramente un rischio reale di perdita di biodiversità microbica?

Abbiamo visto che non si può parlare propriamente di rischio di estinzione, per cui già dal 2012 la collega Anna Benedetti e io proponemmo nelle Linee Guida per la Biodiversità Agraria il concetto di “sostituzione” dei ceppi, e talvolta delle specie. Questo concetto parte dall’osservazione che i microrganismi autoctoni presenti in un ambiente possono essere sostituiti da altri a causa della maggior presenza e del vantaggio selettivo a breve termine di microrganismi introdotti artificialmente (starter) o di microrganismi che abbiano un vantaggio selettivo forte o di microrganismi introdotti ad elevati livelli di densità. Questo è già accaduto diversi anni fa, quando i microbiologi ricercavano nelle varie cantine, il “superlievito” che in realtà non è mai stato trovato perché non esiste, ma quando furono riportati in cantina i lieviti selezionati e predisposti anche da alcune industrie, hanno visto che continuavano a funzionare anche meglio degli originali: ecco che questi lieviti hanno, con il tempo, “sostituito” i lieviti originari delle cantine, dei vini stessi.

Già da qualche anno si può tranquillamente affermare che, al netto dei nomi diversi per ragione di marketing, esistono solo poche decine di ceppi microbici che fermentano l’80-90% dei vini presenti sul mercato.

Lo stesso si può dire che è accaduto anche nel settore lattiero-caseario soprattutto in Olanda. Cosa realmente è accaduto? Sono scomparse le specie? No, la specie è sempre esistente. Allora sono scomparsi i ceppi microbici? No, qualcosa ancora esiste, ma quello che si verifica nelle cantine oggi è che non esistono più i ceppi originari. Ecco che è avvenuta una “sostituzione”.

La Biodiversità microbica - Come preservarla

2. Evitare la sostituzione per le forme diverse da quella *ex situ*

Le specie microbiche **non si possono estinguere** per quanto possiamo sapere al momento.

E' piuttosto probabile la **sostituzione** dei ceppi, e talvolta delle specie, presenti in un ambiente a causa della maggior presenza e del vantaggio selettivo a breve termine di microrganismi introdotti artificialmente (starter) o di microrganismi che abbiano un vantaggio selettivo forte o di microrganismi introdotti ad elevati livelli di densità.

Si può quindi valutare non tanto il rischio di estinzione, quanto la presenza di **ceppi di interesse**.

L'esperienza della Regione Umbria con un ceppo di lievito vinario, ha effettuato proprio questo.

La conservazione in factory ha reso superflua la valutazione e sull'opportunità del suo uso e la sua **reintroduzione in produzione**.



Quindi nella realtà non si può quindi valutare tanto il “rischio di estinzione” quanto la presenza di “ceppi di interesse”, legati a situazioni di particolare pregio o interesse in ambito agroalimentare. A questo scopo le Linee Guida riportano tutta una serie di “marcatori obiettivi”, cioè osservabili anche senza grandi analisi, che permettano di valutare la presenza di tali situazioni di interesse.

Nell'immagine che segue vengono riportate le fasi che sono necessarie per preservare e valorizzare la biodiversità microbica.

La Biodiversità microbica - Come preservarla

3. Valutare la situazione genetica – l'importanza del monitoraggio



Quali sono i punti della L. 194/2015, ma anche quelli di alcune leggi regionali che sono stati valutati al fine di iscrivere, in Umbria, una risorsa microbica al Registro regionale?

1. Anteriorità di 50 anni: non ha nessun senso in microbiologia e poco in biologia perché non dicono il numero delle generazioni;
2. Ambito locale di produzione: è un concetto che non ha senso per la microbiologia, tanto più che i movimenti passivi dei microbi sono veicolati da insetti, animali, vento, acqua, ecc.;
3. Rischio di estinzione: un rischio che non esiste e che va cambiato in rischio di “sostituzione”;
4. Erosione genetica: particolarmente difficile da mostrare, per via della resilienza e della velocità di crescita.

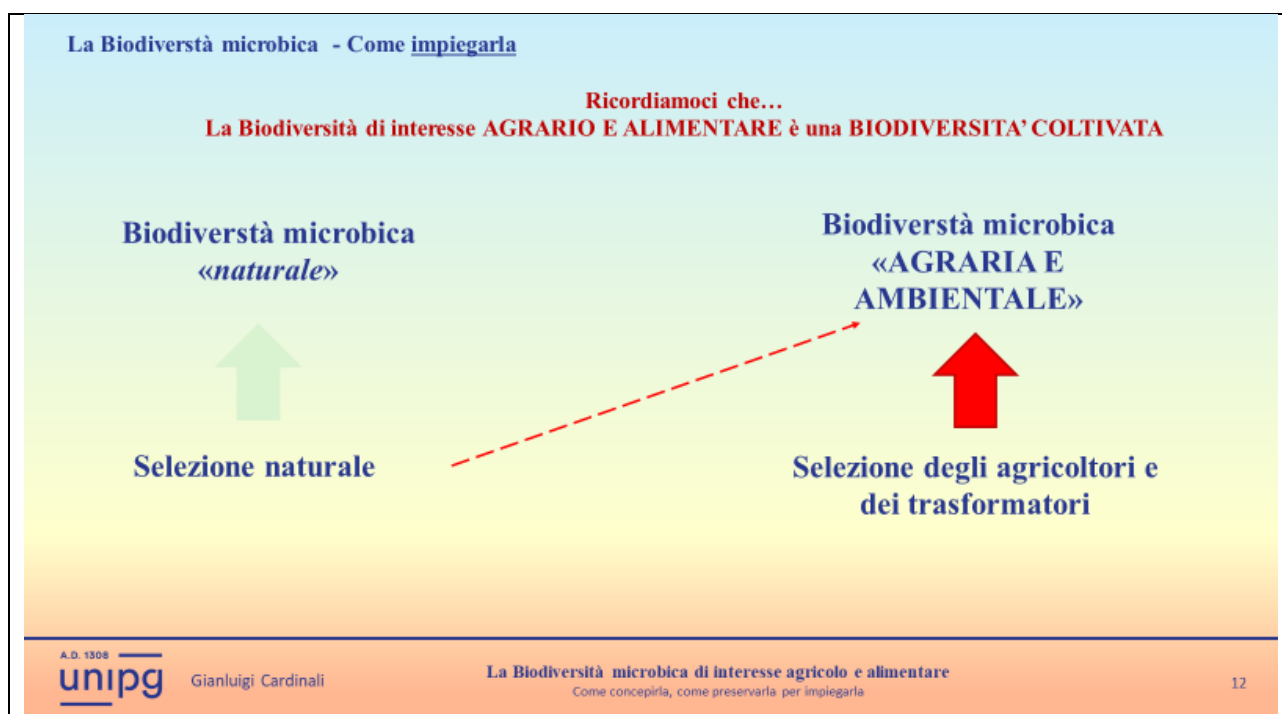
Questo dimostra che la nascita di queste leggi sia regionali che nazionali, è dominata dall’esperienza maturata dalla conoscenza della biodiversità del mondo vegetale in particolare, non certo per quello microbico.

Dopo l’esperienza con la Regione Umbria, è stato possibile proporre una soluzione operativa, ossia un sistema a due livelli per agevolare il proponente:

- A. Registrazione di primo livello con una identificazione della risorsa microbica proposta e una minima caratterizzazione;
- B. Registrazione di secondo livello con tutte le caratterizzazioni più fini.
Ne deriva, che la registrazione di secondo livello dovrebbe essere effettuata quando si palesi un reale interesse alla risorsa microbica in oggetto.

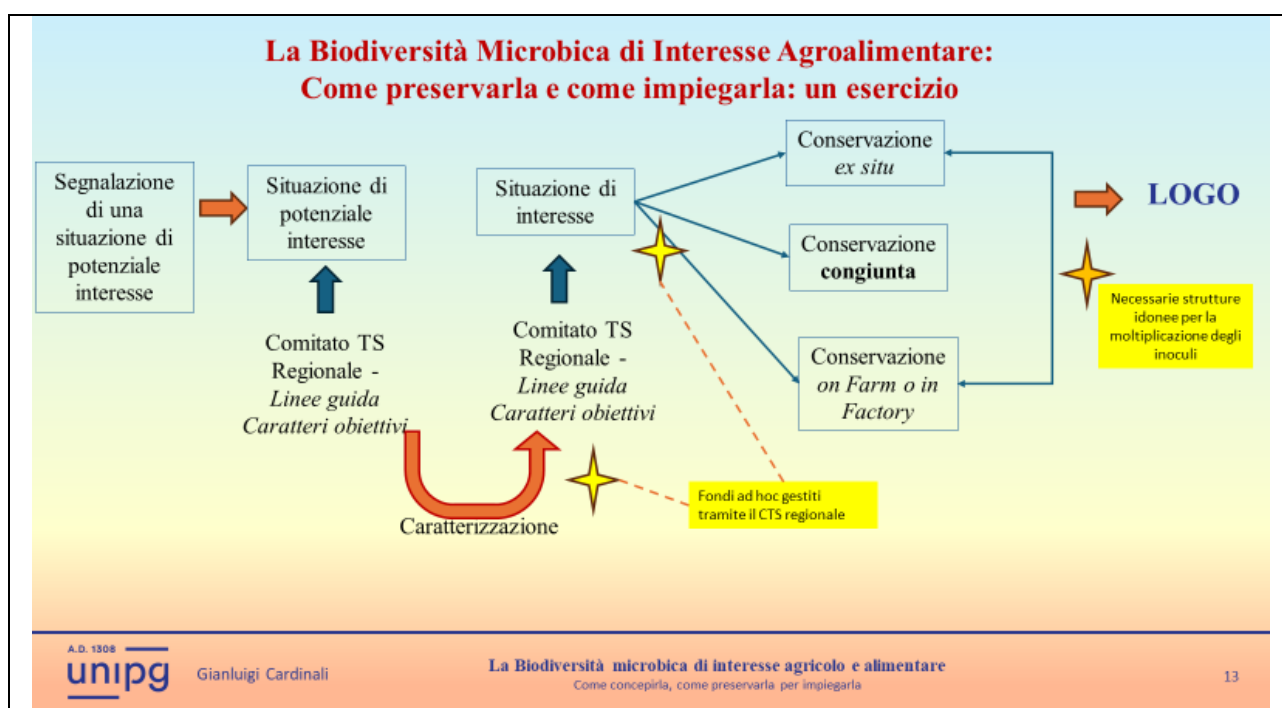
Infatti, esiste anche un problema di sostenibilità, ad esempio: un tecnico agricolo va in azienda da un agricoltore e gli suggerisce di registrare la risorsa perché è di particolare interesse, il che comporta una spesa a fronte della quale non è chiaro se ci sia un effettivo guadagno. Infatti, in generale quell’agricoltore continua ad usare la risorsa anche se non seguito da nessun esperto in materia, e non spenderebbe mai una lira per conservare quello che è già suo. Questo problema è già di condiviso anche all’interno del Comitato Tecnico-scientifico per la scrittura del Piano Nazionale della Biodiversità di interesse Agricolo e Alimentare della L. 194/2015, del quale faccio parte con la Prof.ssa Varese e con la Dott.ssa Comunian. Più in generale, non possiamo immaginare che l’agricoltore o il trasformatore vogliano passare alla registrazione solo per il piacere di farlo, senza alcuna considerazione economica. In definitiva il sistema a due livelli permette di segnalare con chiarezza una situazione di interesse che potrebbe essere utile conservare. Solo in caso di un effettivo utilizzo, si affronteranno i costi e le operazioni per certificare un certo livello di tipicità e di unicità della risorsa microbica in oggetto.

Come valorizzare la biodiversità microbica?



Non bisogna dimenticare che qui si sta trattando la biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare e non quella di interesse naturale, ossia quella degli ambienti liberi o scarsamente antropizzati, questo perché quest'ultima ha una dinamica e quella di interesse agraria ne ha un'altra.

La biodiversità di interesse agrario e alimentare è una biodiversità "coltivata", ossia quando si afferma che è scomparsa una varietà vuol dire che è scomparso chi la utilizzava. Questo ci permette di andare verso una proposta rappresentata nell'immagine che segue.



Non si tratta di una proposta vera e propria, è modificabile in ogni suo punto, ma si basa fondamentalmente su due concetti fondamentali:

1. la biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare è “coltivata” dagli agricoltori che l’hanno contribuito a mantenerla e a produrla e pertanto hanno un ruolo decisionale importante;
2. altro strumento decisionale importante sono le Commissioni o i Comitati Tecnico-scientifici, preposti alla valutazione delle risorse genetiche microbiche in questo caso.

Facciamo un esempio: si trova un agricoltore che utilizza una pasta madre di un caratello, per la produzione di Vin Santo toscano, con un certo successo. Pertanto, viene effettuata una “segnalazione” della risorsa microbica, alla Regione o all’Ente preposto a riceverla. Questa segnalazione viene portata al Comitato/Commissione/Nucleo di valutazione, il quale si può avvalere di uno strumento già esistente, ossia le Linee guida nazionali del DM 6 luglio 2012, nelle quali esiste un corposo capitolo dove sono indicati i cosiddetti “marcatori obiettivi”, ossia l’equivalente dell’anamnesi per un medico, che sono finalizzati a determinare se esista veramente un interesse per quella risorsa microbica. Se la valutazione di questo tipo portasse ad una risposta affermativa, allora potrebbe essere importante anche individuare i fondi necessari per la sua caratterizzazione.

Se la caratterizzazione dei mezzi di produzione agricola, come per quelli farmaceutici, devono accertare due situazioni come l’innocuità e l’efficienza, in questo caso ne devono accertare 3, ossia: innocuità, efficienza e tipicità. Se si riscontrano questi 3 criteri chiave, allora la risorsa microbica proposta è sicuramente “di interesse”. La risorsa microbica segnalata potrebbe essere una “comunità” o popolazione microbica, ma potrebbe essere anche un prodotto dal quale andare ad isolare e caratterizzare il ceppo o il consorzio ad esso connesso. Quindi la Commissione/Nucleo di valutazione si potrebbe trovare davanti ad una “popolazione di interesse” o a “un ceppo di interesse”. Queste possono essere conservate “*ex situ*” o “*on farm*” o “*in factory*” oppure con una conservazione “congiunta”. Questo dipenda da una serie di situazioni, ad esempio:

- l’agricoltore dichiara che questa risorsa genetica microbica è sua e non ha intenzione di cederla, per cui, per considerarlo “custode” dovrà solo attenersi a determinate regole comportamentali;
- l’agricoltore può decidere di conferire in maniera fiduciaria un campione ad una collezione già specializzata per la conservazione “*ex situ*”.
- L’agricoltore registra una risorsa e vorrebbe mantenerla “*on farm*” o “*in factory*”, ma le sue condizioni personali o altre situazioni esterne suggeriscono che tale conservazione non sarebbe di lunga durata, allora è opportuno suggerire con forza la necessità di una conservazione in collezione.

Al termine di questo flusso di fasi operative, avremmo una risorsa genetica microbica che ha passato più stadi di valutazione, non complicati, ma rigorosi, potrebbe a ragion veduta, fluire nell’Anagrafe Nazionale della L. 194/2015. Una volta iscritta il suo utilizzo potrebbe fruire di un logo che sembra già esistere a livello nazionale, ma che va meglio presentato, meglio capito, meglio valorizzato. Questo logo potrebbe aiutare gli agricoltori o i trasformatori, a vendere i propri prodotti con maggior efficacia sul mercato. Se così non fosse, ossia se i prodotti finali degli agricoltori non avessero come sbocco finale una maggiore valorizzazione del prodotto sul mercato, non ci sarebbero motivi adeguati per i quali un agricoltore dovrebbe mantenere e utilizzare una

risorsa microbica più complicata da conservare e da utilizzare rispetto agli starter commerciali che trova tranquillamente sul mercato.

Ancora un altro esempio per far meglio capire l'importanza della sostenibilità di tutto il sistema: nel progetto della Regione Umbria, che ha portato all'iscrizione al Registro regionale dell'Umbria di quel particolare ceppo microbico prima citato, abbiamo stabilito che gli inoculi venissero preparati dal nostro Laboratorio per essere poi fatti pervenire tempestivamente in cantina, allo stato di inoculo fresco. Gli inoculi freschi, in pasta o in sospensione, hanno una vitalità che dura poco nel tempo a differenza degli inoculi secchi che invece hanno una lunga durata. I viticoltori sono abituati ad utilizzare inoculi secchi che sono a lunga conservazione. In realtà, c'è una media del 2% dei lieviti che possono essere essiccati (secchi attivi) la restante parte non può essere essiccata, pertanto nella maggior parte dei casi derivanti dalla biodiversità microbica gli inoculi enologici saranno distribuibili in forma "fresca", con una logistica ovviamente più complessa del sistema dei lieviti secchi attivi che si acquistano in negozio. C'è anche un altro problema da prendere in esame per quanto concerne la distribuzione dei lieviti enologici. Non basta trovare un'azienda che produca inoculi, ci vuole anche la giusta scala di produzione. La scala di produzione minima di un inoculo secco attivo in questo momento storico, è di circa 100 kg. Questa quantità corrisponde a circa 1000 ettari di vigneto e le produzioni tipiche che possono vantare 1000 ettari di vigneto sono veramente poche. Anche meno frequenti saranno le produzioni di circa 1000 ettari che vogliono utilizzare lo stesso ceppo microbico, diverso da quello commerciale. Pertanto non ci sarebbe ritorno economico per le industrie, nel produrre un quantitativo inferiore di inoculo. Ne consegue che le moltiplicazioni di inoculi vanno effettuate vicino a dove vengono utilizzate e la scala di produzione è fondamentale perché possano essere sostenibili.

Infine, è importante che ci siano tavoli interministeriali per discutere alcuni problemi legati alla tutela della biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare, anche perché questa potrebbe non essere "innocua" e se non lo è occorre che lo si sappia e si affronti il problema.

Conclusioni

Conclusioni

1. La Biodiversità microbica è diversa da quella vegetale e animale
2. La Biodiversità microbica non è soggetta a erosione ed estinzione, ma a sostituzione
3. La Biodiversità di interesse Agrario e Ambientale è diversa da quella «naturale»

Gli agricoltori e i trasformatori sono stati e restano i «generatori» della Biodiversità microbica

di interesse A & A, prima ancora di esserne i custodi

Valorizziamoli per valorizzare la Biodiversità

Autiamoli a fare quello che non è il loro proprium

ALTRI INTERVENTI E DISCUSSIONE

Roberta Comunian, AGRIS Sardegna

Faccio parte del Gruppo Tematico della Biodiversità di interesse agricolo e alimentare della Rete Interregionale per la Ricerca Agraria, rete informale riconosciuta come strumento tecnico, dalla Conferenza delle Regioni e Province Autonome, già dal 1991. Questo Gruppo è composto esclusivamente da funzionari di tutte le Regioni e PP.AA. e si è sempre occupato della biodiversità vegetale e animale. Essendo l'unica microbiologa presente (in quanto funzionaria della Regione Sardegna) ho introdotto il tema della biodiversità microbica, inizialmente con scarso successo. Solo dopo sei anni, finalmente, è stato organizzato un Ciclo di incontri specifico sulla biodiversità microbica e di questo sono molto soddisfatta.

Già nel 2018, la Regione Sardegna ha dimostrato lungimiranza dedicando alla biodiversità microbica il finanziamento messo a disposizione dal Ministero sul Fondo della L. 194/2015. Grazie a questo finanziamento abbiamo potuto fare un censimento delle risorse microbiche conservate *ex situ*, sia presso AGRIS Sardegna (Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura della Regione Sardegna, a cui appartengo), sia presso le due Università di Sassari e di Cagliari. Il risultato di questo censimento è la Collezione Sarda di microrganismi, denominata MBDS (dal nome del Progetto MicroBioDiverSar), e la creazione di un database che rappresenta il Catalogo pubblico delle risorse microbiche della Sardegna. Questo database è stato realizzato con la collaborazione dell'ingegnere informatico Paolo Romano dell'Ospedale San Martino di Genova, che su questo tema ha lavorato anche a livello europeo e quindi conosce bene i criteri internazionali per la realizzazione di database complessi e specifici per le risorse microbiche.

Questo Catalogo è divenuto il punto di riferimento per le risorse microbiche della Sardegna. Infatti, nonostante la Regione sia dotata di una legge regionale sull'agrobiodiversità (L.R. 16/2014), manca un Repertorio regionale delle risorse microbiche. Tuttavia, grazie all'esistenza del Catalogo MBDS, è stato possibile includere tali risorse nel sistema della Banca Regionale del Germoplasma per l'Agricoltura e l'Alimentazione della Sardegna (BRGAgriS), utilizzandolo nelle more dell'istituzione del Repertorio. Attualmente, la componente microbica della BRGAgriS comprende oltre 2.300 ceppi microbici, conservati per la maggior parte (circa 1.750) nella Collezione BNSS di AGRIS, che gestisce il sistema della Banca stessa, e per la restante parte nelle sue Sezioni esterne, rappresentate dalle due Collezioni UniSS e UniCA delle Università di Sassari e Cagliari. In realtà, le tre collezioni conservano molti più ceppi, ma solo quelli ben caratterizzati sono stati inseriti nel catalogo pubblico online (www.mbds.it).

Successivamente, la Regione Sardegna ha deciso di investire ancora sulle risorse microbiche con una nuova annualità del Fondo della L. 194/2015, per il progetto MiBioS che ha permesso la reintroduzione in ambiente produttivo di colture conservate nella collezione di AGRIS da oltre 40 anni, per la produzione del formaggio tradizionale sardo "Casu Axedu".

Sappiamo tutti quanto siano importanti gli alimenti fermentati per l'alimentazione umana e il loro impatto positivo sul microbiota intestinale, di cui tanto oggi si parla. Pertanto, è fondamentale conservare la biodiversità microbica di interesse agricolo e alimentare locale e garantire che i nostri alimenti fermentati vengano ancora prodotti con questa biodiversità. È importante evitare che per produrre gli alimenti fermentati vengano utilizzati in grandi quantità solo pochi ceppi selezionati, poiché questi, divenendo dominanti nel prodotto, possono ridurre la biodiversità del nostro microbiota intestinale. Analogamente, è importante preservare la biodiversità microbica e gli equilibri tra specie e ceppi che costituiscono il microbiota dell'ambiente, delle piante e degli animali contribuendo a mantenere il loro buono stato di salute.

Le collezioni MBDS fanno parte della rete MIRRI.IT di cui è coordinatrice la Prof.ssa Varese; hanno ottenuto dei riconoscimenti internazionali dalla *European Culture Collections' Organisation* (ECCO) e dalla *World Federation for Culture Collections* (WFCC) e, da quest'anno, sono certificate ISO 9001:2015.

Spero che il lavoro fatto dalla Sardegna possa estendersi anche ad altre Regioni e sono sicura che, con il supporto dei colleghi della rete nazionale della JRU MIRRI.IT, coordinata dalla Prof.ssa Varese, ciò sarà possibile. Spero inoltre che il Catalogo delle risorse microbiche sarde MBDS e quello nazionale che si sta realizzando con il Progetto SUS-MIRRI possano diventare un punto di riferimento per la costituzione dell'Anagrafe nazionale della L. 194/2015. Tuttavia, è necessario trovare delle risorse strutturali per poter continuare a mantenere un adeguato livello di qualità nella conservazione di questi microrganismi, garantendo così il loro riutilizzo per valorizzare le nostre produzioni tradizionali e tipiche.

Concludo col dire che, con un finanziamento erogato dalla Regione Sardegna nell'ambito della L.R. 7/2017, abbiamo lavorato anche alla realizzazione di un logo che potrebbe essere apposto nell'etichetta dei prodotti che contribuiscono alla conservazione della biodiversità microbica locale.

Marilena Budroni, responsabile scientifica della collezione MBDS-UNISSCC dell'Università degli Studi di Sassari

Faccio parte della delegazione italiana all'OIV (Organizzazione Internazionale della Vigna e del Vino) e stiamo facendo una sorta di indagine tra tutti i Paesi che fanno parte dell'OIV, per capire quale è la diffusione delle collezioni microbiche di interesse. Per l'Italia abbiamo rilevato anche all'interno della comunità scientifica SIMTREA (per il gruppo di microbiologia della vite e del vino) che ci sono circa 15 collezioni con circa 15000 ceppi di lieviti, batteri, funghi filamentosi, virus e fitoplasmi di interesse vitivinicolo, quindi una ricchezza enorme di biodiversità.

Questa esperienza è da valorizzare insieme all'esperienza di SUS.MIRRI e quindi anche la rete italiana delle collezioni, perchè possa essere un esempio importante anche in questo ambito.

Domanda ai relatori: una eventuale proposta di un sistema di controllo relativamente ai custodi "on farm" e "in factory".

Segue la risposta di Gianluigi Cardinali

Gianluigi Cardinali, Dipartimento di Scienze Farmaceutiche - Università degli Studi di Perugia

Grazie della domanda perché durante l'esposizione l'ho accennato ma non approfondito.

Fu già previsto nella stesura delle Linee guida nazionali del 2012, ma sicuramente andrà approfondito sia nel Piano nazionale che nel prossimo aggiornamento delle stesse Linee guida. L'idea è di utilizzare un sistema misto "audit e analitico". Il sistema solo "audit" (visita in azienda, ascoltare e chiedere all'agricoltore che cosa ha fatto) con altre esperienze simili è risultato a volte macchinoso e costoso, però permette di rilevare degli aspetti importanti; il fatto dirimente è la non introduzione di altre risorse genetiche alloctone (es. in cantina non puoi utilizzare i lieviti di un'altra cantina o gli starter commerciali i secchi attivi, ecc.). Quando scrivemmo questo nelle Linee guida nazionali già il concetto sembrava abbastanza chiaro, ma non pensavamo che nei 12 anni successivi sarebbero arrivati dall'estero numerosi consorzi microbici che vengono ampiamente usati e che potrebbero anche soppiantare la biodiversità autoctona dei terreni. Non esistono studi di lungo termine in proposito.

Il secondo aspetto che riguarda la parte "analitica" è il monitoraggio continuo e a sorpresa, presso l'azienda che si è impegnata nella conservazione. Questo dovrebbe rilevare il fatto che non sia stato introdotto niente di alloctono, e valutare se la risorsa conservata *on farm* o *in factory* abbia subito o meno un qualche tipo di evoluzione. Questo per sottolineare che il lievito della Signora dell'Umbria di cui aveva parlato il Dott. Gramaccia, non era certo quello di sua nonna: nel frattempo sarà cambiato migliaia di volte, anche se probabilmente alcune specie, soprattutto quelle fungine, saranno rimaste abbastanza stabili.

Per concludere la risposta, occorre sostanzialmente un controllo semplice, non inquisitivo, non complicato, però rigoroso.

I PRINCIPALI RIFERIMENTI NORMATIVI E SITOGRAFIA

- Legge regionale dell'Umbria n. 25/2001 "Tutela delle risorse genetiche autoctone di interesse agrario"
- Legge regionale della Sardegna n. 16/2014 "Norme in materia di agricoltura e sviluppo rurale: agrobiodiversità, marchio collettivo, distretti"
- Legge 194/2015 "Disposizioni per la tutela e la valorizzazione della biodiversità di interesse agricolo e alimentare"
- Legge 101/2004 "Ratifica ed esecuzione del Trattato internazionale sulle risorse fitogenetiche per l'alimentazione e l'agricoltura, con Appendici, adottato dalla trentunesima riunione della Conferenza della FAO a Roma il 3 novembre 2001
- Legge 124/1994 "Ratifica ed esecuzione della convenzione sulla biodiversità, con annessi, fatta a Rio de Janeiro il 5 giugno 1992"
- Trattato internazionale sulle risorse fitogenetiche per l'alimentazione e l'agricoltura adottato dalla trentunesima riunione della Conferenza della FAO a Roma il 3 novembre 2001
- Protocollo di Nagoya sull'accesso alle risorse genetiche e la giusta ed equa condivisione dei benefici derivanti dalla loro utilizzazione relativo alla Convenzione sulla diversità biologica Concluso a Nagoya il 29 ottobre 2010
- <https://www.iso.org/home.html>
- www.mirri-it.it
- <https://www.sus-mirri.it/it/>
- <https://www.regione.abruzzo.it/content/biodiversita-agraria>
- <https://www.mbds.it/>
- <https://biodiversita.umbria.parco3a.org/risorsa/lievito-cmcr102-sagrantino-1/>

