

Giornata di studio online:

Scienza in agricoltura.

In memoria di Michele Stanca, georgofilo

19 marzo 2021

Relatori

Massimo Vincenzini, Luigi De Bellis, Giovanni Vannacci,
Sabrina Sarrocco, Luigi Frusciante, Francesco Salamini

MASSIMO VINCENZINI¹

Michele Stanca georgofilo

¹ Presidente dell'Accademia dei Georgofili

Giusto un anno fa, vittima del Covid-19, veniva a mancare il prof. Michele Stanca, vicepresidente dell'Accademia dei Georgofili.

Oggi, con questa iniziativa di carattere scientifico, l'Accademia vuole rendere omaggio al georgofilo Michele Stanca, georgofilo convinto, tenace e appassionato come, d'altra parte, è sempre stato nelle vesti di ricercatore, scienziato e docente universitario.

Michele è stato georgofilo per quasi 20 anni, essendo stato nominato accademico corrispondente dal Corpo Accademico nell'Assemblea del 13 dicembre 2000. Periodo temporale non particolarmente lungo, quindi, ma, per le persone di valore come Michele, la quantità del tempo trascorso da accademico è ben meno importante della qualità dell'apporto fornito alla nostra antica Istituzione. E, nel caso dell'attività di Michele da georgofilo, la qualità è stata l'elemento mai venuto meno, fino al giorno del suo ricovero in ospedale.

Corrispondente dal 2000, accademico ordinario dal 2005, coordinatore del Comitato consultivo per la "Biologia agraria" dal 2009, membro del Consiglio accademico dal quadriennio 2008-2012, confermato membro del Consiglio e segretario degli Atti per il quadriennio 2012-2016 infine vicepresidente per il quadriennio successivo. Questa la scarna sequenza dei ruoli ricoperti in Accademia, dati telegrafici, ma utili a far comprendere quanto la sua articolata e instancabile attività di georgofilo sia stata unanimemente riconosciuta e apprezzata.

Come rappresentante dei Georgofili, Michele è stato candidato e poi eletto alla Presidenza dell'UNASA (Unione Nazionale delle Accademie per le Scienze Applicate allo sviluppo dell'agricoltura, alla sicurezza alimentare ed alla tutela ambientale), nel 2011, e dell'UEAA (*Union of European Academies applied to*

Agriculture, Food and Nature), nel 2018. Per entrambe le Accademie, Michele profuse ogni energia disponibile, perfettamente calato nel ruolo ricoperto.

D'altra parte, Michele credeva fermamente nella missione e nel significato di "Accademia". A testimonianza di ciò, vale quanto da Michele affermato nel suo intervento in occasione dell'Assemblea Generale dei Georgofili, tenutasi a Firenze nel dicembre 2013:

«i Georgofili e le Accademie presenti sul territorio dovranno, in materia di Agricoltura, contribuire significativamente a fare da riferimento con iniziative e decisioni su basi tecnico-scientifiche, a supporto dei diversi ministri e del presidente del Consiglio dei Ministri, così come lo è l'Accademia delle Scienze Americana per il Congresso e il presidente degli USA».

Un georgofilo autentico, il cui impegno continuo e responsabile è di esempio per tutti noi: ne sentiamo profondamente la mancanza.

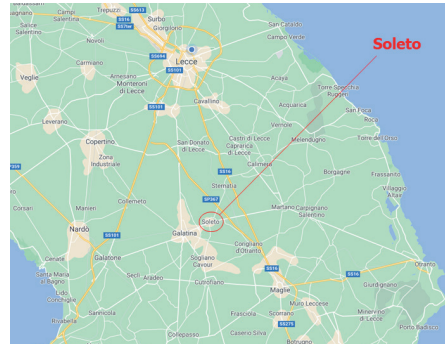
LUIGI DE BELLIS¹

Antonio Michele Stanca e il suo Salento

¹ Professore ordinario di Fisiologia Vegetale presso l'Università del Salento – Lecce

La Puglia può vantare storia, arte e bellezza ma soprattutto il talento dei suoi figli. Uno di questi è Antonio Michele Stanca, ricercatore straordinario ed eccelso comunicatore, rimasto sempre molto legato al suo territorio di origine, che ha lasciato subito dopo la laurea. È quindi del contributo umano e scientifico di Michele al Salento che intendo parlare attraverso alcuni episodi, altrimenti, a elencare tutte le interazioni di Michele con il suo Salento di cui sono stato testimone negli ultimi 20 anni, occorrerebbe un libro.

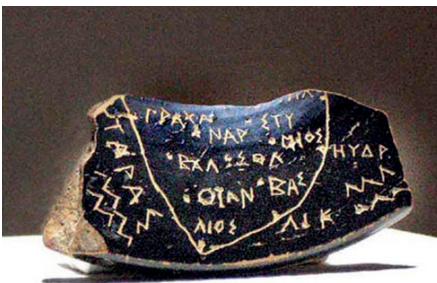
Non ricordo la precisa data del nostro primo incontro, probabilmente il 1991; in una riunione nell'ambito del Progetto Ricerche Avanzate per Innovazioni nel Sistema Agricolo (RAISA), il prof. Alpi disse a me e ad alcuni altri collaboratori presenti «vi faccio conoscere uno veramente bravo» e subito rimasi impressionato dalla sua disponibilità nei confronti degli (a quel tempo) insignificanti giovani in carriera; poi ci furono altre sporadiche interazioni, sempre attraverso il prof. Alpi, e incontri in sedi Congressuali fino alla svolta decisiva in occasione del mio arrivo, come professore associato di Fisiologia Vegetale, all'Università di Lecce (ora Università del Salento). Fu Michele a telefonarmi, complimentandosi con me, proponendo una collaborazione e citando Soletto, il suo paese natale, che sinceramente, arrivato da pochi mesi a Lecce dalla Toscana, ignoravo proprio dove fosse (è giusto a 20 km a sud di Lecce) ma ovviamente dichiarai, mentendo, la mia profonda conoscenza di Soletto che, dopo un periodo di relativa ricchezza nel XIV secolo, è ormai una piccola cittadina periferica di una penisola periferica all'estremo Sud di una Regione del Sud.



La Puglia, Lecce (•) e Soletto

IL PAESE SOLETO

Soletto, paese pugliese nel cuore del Salento (che descrivo in onore di Michele, che ne sarà felice, tanto era attaccato alla cittadina e alla sua gente), la cui nascita risale all'epoca messapica, periodo che precede la fondazione di Roma. Gli stessi Messapi avrebbero infatti disegnato la carta geografica più antica del mondo occidentale, la "Mappa di Soletto", un frammento di ceramica di vaso attico a vernice nera, trovato nel 2003 da archeologi francesi, sul quale sono incisi i nomi delle antiche città. Il frammento è ora conservato nei depositi del Museo Archeologico Nazionale di Taranto (MarTA) che sta al momento definendo specifiche iniziative volte alla sua temporanea esposizione all'interno del percorso di visita permanente (nell'ambito del progetto "Vetrina del mese"), nonostante l'autenticità del manufatto sia tutt'ora oggetto di dibattito tra gli studiosi.



Mappa di Soletto conservata al Museo Archeologico Nazionale di Taranto (MarTA)

Riguardo le iscrizioni presenti $\text{H}\Upsilon\Delta\text{P}$ indicherebbe Otranto (Hydrus in messapico), TAPAZ Taranto (Taras), $\text{O}\zeta\text{AN}$ Ugento (Ozan), $\text{AIO}\Sigma$ Capo di Leuca (Lios), ΣOA Soletto (Sol..lytos).



Immagini della Guglia di Raimondello

Soletto sopravvisse in epoca romana, come dimostrato da una citazione di Plinio il Vecchio di venti secoli fa (Soletum). Il paese raggiunse la sua maggiore ricchezza e importanza, arrivando a essere la cittadina principale di una vasta contea, con la signoria della famiglia Orsini del Balzo tra il XIV e XV secolo ma, successivamente, fu la vicina Galatina ad acquisire il ruolo di principale cittadina della zona.

Principali monumenti sono la Guglia di Raimondello, la Chiesa Matrice e la Porta di S. Vito. La Guglia di Raimondello, eretta nel 1397 accanto alla Collegiata di Santa Maria Assunta o Chiesa Matrice, è un esempio di arte tardo-gotica e rappresenta un campanile senza campane realizzato come puro elemento architettonico ornamentale. Quest'opera ha coinvolto e impressionato moltissimo la popolazione del Salento tanto da far nascere una leggenda secondo la quale la Guglia è stata costruita in una sola notte da quattro diavoli. Di forma quadrata, si eleva per 45 metri attraverso 5 piani che si concludono con un cupolino del XVIII secolo semplicemente rivestito di mattonelle colorate, verdi e giallo ocra. (video: <<https://www.facebook.com/leterredelsalento/videos/2603978676510645>>)

La Chiesa Matrice di Soletto, adiacente alla Guglia di Raimondello, è dedicata a Maria Santissima Assunta e conserva al suo interno un fonte battesimale del Trecento e un pulpito ligneo del Settecento.



Chiesa Matrice di Soleto e Porta di S. Vito

La Porta di S. Vito di Soleto è invece l'ultima delle quattro porte che nel XIV secolo furono erette a difesa della città (S. Vito ad est, S. Gaetano ad ovest, S. Antonio a nord, S. Paolo a sud). È sormontata da una statua in pietra della Madonna.

Soleto, nello scorso secolo, era quindi una cittadina periferica di un Salento periferico sebbene di recente le cose sono un po' cambiate in relazione a un turismo prettamente estivo che ha rivalutato tutta la penisola Salentina. In ogni caso, Soleto è anche qualcos'altro, ovvero uno dei centri della Grecia Salentina, un'area che sotto il dominio Bizantino venne ripopolata con persone di lingua e cultura greca; questa cultura e anche una lingua non più greco né italiano, "il Grieco", ancora è presente come dialetto locale (soprattutto nella popolazione anziana). Sono sicuro che questo mix culturale abbia plasmato il Michele Stanca multiculturale e tanto aperto verso chiunque; quest'aria e questa terra hanno reso Michele quello che era.

Quindi, a me, arrivato in una università ugualmente periferica quanto Soleto (certamente non si passa per caso da Lecce durante un viaggio verso una meta diversa), Michele ha regalato la sua amicizia e, tra i tanti suggerimenti, il consiglio vincente per il prosieguo della mia carriera: passare a studiare l'olivo e dintorni, altro che perossisomi vegetali! Infatti, l'olivicoltura era negli anni 2000 l'attività agroalimentare più importante del Salento (ora in enorme crisi



Lo stemma della Regione Puglia

a causa dell'epidemia di *Xylella*), e l'olivo, simbolo di pace e fratellanza, era, ed è, al centro nel simbolo della Regione Puglia, anche se molti amministratori pugliesi se lo sono un po' dimenticato. Quindi, passato a lavorare sull'olivo sono iniziati ad arrivare una serie di finanziamenti Regionali.

POPPITI E LECCESI

Michele mi ha spiegato anni fa l'esistenza dei "poppiti". L'origine etimologica del termine "poppita" (genericamente al maschile "poppito" o meglio in dialetto "poppitu") risale all'espressione latina *propter oppidum* che alla lettera significa «presso, nelle vicinanze della città» ed era riferito a chi abitava fuori delle mura di una città. Il significato salentino della parola è però piuttosto negativo; è in qualche modo un termine dispregiativo in quanto fa riferimento a tutti i salentini al fuori della città di Lecce o, più specificatamente, del Basso Salento e della Grecia Salentina. Poppiti erano originariamente chiamati i contadini del Basso Salento, spesso analfabeti, che durante la stagione della raccolta delle olive esercitavano, spesso spostandosi temporaneamente, il mestiere di trappitaru, ovvero lavoravano nei trappeti (dal latino *trapētum*) o frantoi ipogei, un mestiere alquanto malsano e poco dignitoso per i leccesi (più ricchi e istruiti; a Lecce abitavano proprietari terrieri, notabili e banchieri).

Il noto regista Edoardo Winspeare, nato in Austria ma di antiche origini inglesi e quindi salentino in quanto la sua famiglia risiede nel Salento dal 1869, in una sua intervista del 2011 ha mirabilmente descritto i poppiti:



Antica mappa della Terra d'Otranto

Negli anni '70 gli abitanti dei paesi del Capo di Leuca, i poppiti per il capoluogo, guardavano i leccesi come a dei parigini e, in effetti, un po' lo erano, dal modo sofisticato di rapportarsi al resto del mondo; sicuramente non come cittadini di un capoluogo di provincia con centomila abitanti.

Lecce non è stata una vera capitale come Napoli o Palermo ma poche città in Italia hanno coltivato uno spirito di emulazione verso le proprie élite come la nostra, almeno fino all'altro ieri. L'ossessiva ricerca di eleganza dei leccesi, anche se non sempre riuscita, sortiva il paradossale effetto di una popolazione omologata nella distinzione.

L'ulteriore aggiunta fatta da Michele era che i Leccesi sono allo stesso tempo permalosi e diffidenti e si sentono superiori (e magari infallibili). Michele era quindi un "poppito" ma ne era orgoglioso e, partendo dall'essere un poppito, una piccola forma di discriminazione del profondo Sud, è stato capace di crescere in cultura e conoscenza e di far crescere chi gli è stato intorno senza diffidenza e ben poca permalosità. Nello specifico, appresa la lezione, l'ho utilizzata con successo da poppito della Toscana; a Lecce molti dei professori universitari, dei funzionari e dei cittadini più in vista della città continuano a sentirsi una élite, esseri superiori, e non accettano che un poppito li contraddica, tradendosi immediatamente con risposte fuori luogo perché estremamente permalosi e perché prendono sempre la minima critica come un fatto personale quasi da «vendicare alla prima occasione». Quindi, dicendo tutto quello che mi passa per la testa, anche provocazioni o bischerate (cosa non certo difficile per un livornese) sono riuscito e riesco a capire molto rapidamente quale tipologia di "leccese" ho di fronte, e chi è un possibile amico o chi un potenziale avversario o persona da frequentare con molta parsimonia; così facendo molti temono le discussioni con me tanto che quando un collega non riesce ad avere una risposta dagli uffici dell'Ateneo consiglio, con successo, di mettermi in cc nella mail. Ma, nonostante quanto scritto nei rigli precedenti, un briciolo di successo e stima li ho ottenuti: sono stato eletto direttore del dipartimento per ben due mandati consecutivi, e questo è dovuto di nuovo, in buona parte, ai suggerimenti di Michele.



*Frontespizio del Libro degli Atti
del Congresso Congiunto SIFV / SIGA*

CONGRESSO CONGIUNTO SIFV E SIGA A LECCE

Michele, ben prima di essere eletto presidente della Società Italiana di Genetica Agraria (SIGA), ha cominciato a dirmi di organizzare a Lecce un Congresso, o della allora Società Italiana di Fisiologia Vegetale (SIFV) o della Società Italiana di Genetica Agraria (SIGA), cosa di cui ho poi curato l'organizzazione dal 15 al 18 settembre 2004 come Congresso Congiunto SIFV / SIGA, naturalmente sotto la presidenza SIGA di Michele. Il Congresso ha avuto un gran successo di partecipanti per entrambe le Società Scientifiche, e Michele era veramente contento di averlo potuto organizzare a Lecce; a parte l'ottimo programma scientifico, l'ho visto estremamente felice in occasione della cena sociale allietata dal Canzoniere Grecanico Salentino (<<https://www.canzonieregrecanicosalentino.net/>>), gruppo di musica popolare salentina ora famoso nell'ambito della musica tradizionale / folk. Fu uno show molto bello con due bravissime e scatenate ballerine di pizzica, e con Michele che spiegava a tutti la storia della pizzica salentina e delle "donne tarantate" e discuteva complimentandosi con i tamburellisti e il violinista del gruppo.

ALESSIO APRILE

Altro filo che mi unisce a Michele è un allievo comune; la storia nasce quando Michele mi chiede se a Lecce è eventualmente disponibile un posto di dottorato perché lui è stato tutor di due bravissimi studenti di Biotecnologie all'Università di Modena e Reggio Emilia, uno dei quali casualmente della Provincia di Lecce, di Calimera (un altro paese della Grecia Salentina, distante 14 km da Soleto). In proposito, assicuro che chi andrà a ipotizzare una qualche preferenza da parte di Michele riguardo la provenienza territoriale è in errore! Comunque, do per scontato la bravura dei due neolaureati e mi attivo per avere un posto nel dottorato di "Biologia e Biotecnologie" su un argomento agrario.

Tutto va per il meglio e il tal Alessio Aprile di Calimera (nelle foto della pagina seguente con la maglietta "Timberland") vince una borsa di dottorato con l'autorizzazione di svolgere la sua attività di ricerca principalmente a Fio-renzuola, salvo sei mesi in USA, a Riverside, presso l'University of California. Successivamente, Alessio Aprile ha proseguito la sua carriera accademica a Lecce nel mio laboratorio, prima come assegnista, poi come Ricercatore a Tempo Determinato di tipo a (RTDa) per arrivare alla posizione attuale di RTDb. Il bello è che varie volte ho pensato di "licenziare" Alessio Aprile perché, anche se poppito, si comportava spesso da "leccese" ignorando le sollecitazioni a concentrarsi e far suoi temi di maggior interesse nell'ambito della Fisiologia Vegetale.

Di questo a volte me ne lamentavo con Michele che mi rispondeva di aver pazienza e mi diceva «ora ci parlo io che lo conosco bene». La ramanzina di Michele funzionava, ma solo per un po', quindi io ritelefonavo a Michele che poi telefonava (o incontrava in una delle sue visite a Lecce) Alessio Aprile e si ricominciava da capo così che alla fine, brontolando con Michele e contestualmente ricevendo proposte di nuove attività (ovviamente quasi sempre incentrate su orzo o grano) mi sono convinto a non "licenziare" più Alessio Aprile, che certamente ha da essere riconoscente a Michele per la sua carriera accademica; ma Alessio, nonostante questo, in un paio di occasioni, una delle quali relativamente recente, ha quasi dato buca a un paio di appuntamenti con Michele.

DARWIN A SOLETO

Subito dopo il pensionamento di Michele è stato organizzato a Soleto un Convegno in suo onore, titolo ufficiale "L'evoluzionismo darwiniano e i suc-



Discussione con Alessio Aprile e collaboratori

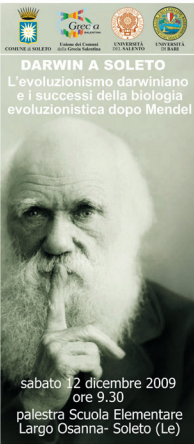


Pranzo insieme a tutti i collaboratori

Comitato organizzatore:
 Elena Stanca
 Silvana Stanca
 Valeria Terzi

Comitato scientifico:
 Franco Nuzzaci
 Luigi De Bellis
 Antonio Bianco
 Sofia Caretto
 Nicola Pecchioni
 Miriam Odoardi
 Carla Perrotta
 Giuseppe Dalessandro
 Valeria Terzi
 Giuseppe Spano
 Anna Mastrangelo
 Antonio Minardi
 Carlo Sempì
 Vito Savino

Per info: Comune di Soletto
 0836.667414



DARWIN A SOLETO
 L'evoluzionismo darwiniano
 e i successi della biologia
 evoluzionistica dopo Mendel

sabato 12 dicembre 2009
 ore 9.30
 palestra Scuola Elementare
 Largo Osanna- Soletto (Le)

PROGRAMMA

Ore 9.45 *Saluti delle Autorità*
Apertura dei lavori

Luigi De Bellis Università del Salento
Franco Nuzzaci Università del Salento

Ore 10.15
Michele Stanca Università di Modena e Reggio Emilia

I centocinquanti anni de "L'Origine delle Specie"

Ore 10.35
Ferdinando Boero Università del Salento

Ore 11.20
Perché ancora Darwin

Alessio Aprile Università del Salento
Alessandro Tondelli CRA-GPG Fiorenzuola

Ore 11.50
La domesticazione delle specie vegetali


Valeria Terzi Università di Modena e Reggio Emilia
Nicola Pecchioni CRA-GPG Fiorenzuola

Un darwinista mendeliano

Ore 12.20
Conclusioni del Sindaco Elio Serra

Il Convegno "L'evoluzionismo Darwiniano e i successi della biologia evoluzionistica dopo Mendel" vuole ricordare e rendere giusto riconoscimento al grande scienziato-pensatore che ha rivoluzionato la storia dell'umanità e del pensiero scientifico moderno. Questa cerimonia cade nella ricorrenza dei duecento anni dalla nascita di Darwin e dei centocinquanta dalla pubblicazione de "L'Origine delle Specie". Il Convegno è principalmente centrato sulla relazione di Ferdinando Boero, darwinista zoologo dell'Università del Salento, alla quale si è voluto aggiungere quella di due giovani ricercatori, dedicata alla domesticazione delle specie vegetali e a come ciò abbia contribuito e contribuirà al progresso delle scienze.

Il Convegno, inoltre, vuole essere un omaggio a un illustre concittadino, uomo di grande carisma e scienziato di rilievo: **Michele Stanca**, che ha recentemente concluso il suo percorso lavorativo presso il CRA.



Locandina del Convegno "Darwin a Soletto"



Un'immagine dell'intervento di Michele. Il primo da sinistra è il prof. Boero, il secondo De Bellis in versione pre-capelli bianchi, quindi il sindaco di Soletto Elio Serra e Valeria Terzi



Di nuovo casualmente una immagine che ritrae Alessio Aprile durante il suo intervento

cessi della biologia evoluzionistica dopo Mendel”, e lo stesso Michele ha indicato nel prof. Ferdinando (Nando) Boero uno dei relatori in quanto Boero è un famoso zoologo e un colto darwiniano che da anni scrive e realizza seminari sull’evoluzione e le teorie Darwiniane.

L’aneddoto curioso è che il prof. Boero, da me contattato in quanto amico e collega nello stesso Dipartimento dell’Università del Salento, sulle prime rifiutò decisamente di partecipare a un evento insieme a Michele che molto erroneamente considerava un genetista a favore degli OGM a prescindere, e un accanito sostenitore della liberalizzazione della coltivazione di OGM in Italia. Chi conosceva Michele ben sapeva che la sua posizione era semplicemente moderata e basata su dati scientifici, ma fu necessario un intenso scambio di e-mail e tempo, e anche una telefonata diretta tra i due per convincere il prof. Boero a rivedere la sua idea su Michele, tanto che dopo il Convegno sono diventati amici.

Il Convegno, con la simultanea presenza di Boero e Stanca, come relatori, alla presenza del sindaco di Soleto, Elio Serra, ebbe una notevole partecipazione di pubblico; la palestra della Scuola Elementare che ospitava l’evento riuscì a stento a contenere i numerosi intervenuti.

L'ORZO PER LA BIRRA DEL SALENTO

Come noto a tutti Michele è l'uomo dell'orzo; ha speso decenni di lavoro sull'orzo, unico suo cruccio non essere riuscito a ottenere una ottima varietà di orzo da birra. Ma dell'orzo da birra e della birra molto ne sapeva tanto da stimolare un imprenditore locale, Maurizio Zecca, già leader nella distribuzione di bevande, a costruire un birrificio (Birra Salento, a Leverano, a 24 km da Soleto, <www.birrasalento.it>), con l'obiettivo di creare una filiera corta della birra interamente salentina. Infatti, Michele aveva nel tempo posto in contatto Maurizio Zecca con mastri birrai del nord Italia per mettere a punto il progetto del birrificio e le tipologie di birra da produrre, e con il mio laboratorio per prove di coltivazione di orzo da birra. Negli anni, sempre sotto la supervisione di Michele e con il suo aiuto per il reperimento del seme, sono state prima realizzate delle prove parcellari, utili a individuare le buone prestazioni di due varietà, Odissey e Concerto, quindi, le due varietà di orzo sono state coltivate in due ettari di terreno nei pressi del birrificio oramai quasi ultimato.

Il raccolto fu successivamente inviato ad Ancona, in una piccola malteria che restituì il malto finito per la produzione di un primo lotto di birra da orzo Salentino; fu un successo, e birra per tutti alla inaugurazione del nuovo birrificio (il 31 marzo 2017).

L'azienda ha successivamente promosso la coltivazione di orzo da birra nel Salento stipulando contratti con agricoltori e a breve (immagino entro 12-18 mesi) la filiera sarà completata attraverso la realizzazione di una malteria, accanto al birrificio, sfruttando un finanziamento legato alla rigenerazione dell'agroalimentare Salentino post *Xylella*.



Raccolta di parcelle di orzo presso l'Azienda Sant'Anna di Monteroni (LE) del CREA (a ridosso del Campus Universitario)



Foto del terreno di due ettari a orzo e del primo raccolto a Leverano, Lecce



Due immagini del Birrificio "Birra Salento" di Leverano, Lecce

VITICOLTURA ED ENOLOGIA A LECCE

Michele mi ha molto aiutato nella strategia, nel non perdere la calma e la fiducia nel raggiungimento dell'obiettivo nelle varie e molteplici interazioni sia con i colleghi dell'Università di Bari, che del mio stesso Dipartimento e Università, prima nel tentativo di attivare un corso di laurea in Scienze Agrarie, e successivamente nel positivo percorso per l'istituzione a Lecce di una laurea triennale in Viticoltura ed Enologia (attivata nell'anno accademico 2017-2018). Il percorso è stato lungo, complicato e difficile, sentendomi ripetere da molti, anche politici leccesi, il mantra "ma Agraria c'è già a Bari" (il capoluogo regionale è giusto a soli 150 km da Lecce e circa 230 km da Santa Maria di Leuca, la punta meridionale della penisola Salentina). Meno male che la fortuna, cieca, ha voluto che fossi direttore di Dipartimento mentre era rettore un docente del mio stesso Dipartimento e che avessi l'aiuto di Michele, in qualche modo ancora ottimo conoscitore dell'ambiente accademico barese.

La cerimonia dei primi laureati è stata realizzata il 28 ottobre 2020, in sordina causa Coronavirus, mancando così la grande festa originariamente prevista, a cui Michele non avrebbe dovuto mancare.



I primi 5 laureati in Viticoltura ed Enologia a Lecce, dall'alto a sinistra Maria Giovanna Pinto, Sara Melis, Giulia Gestri, Veronica Dinitto, Cosimo Demarco

UNASA A LECCE

Infine, Michele, immediatamente dopo l'istituzione del nuovo corso di laurea in Viticoltura ed Enologia, ha onorato l'Università del Salento decidendo di inaugurare l'anno accademico UNASA a Lecce, a maggio 2018, chiamando *ad hoc*, quale relatore, il prof. Luigi Moio, noto enologo. L'Auditorium del museo era gremito, presenti tutte le autorità locali, il presidente della Provincia Antonio Gabellone, il sindaco di Lecce Carlo Salvemini, il membro della Giunta camerale Pantaleo Piccinno in rappresentanza della Camera di Commercio della Provincia di Lecce, il capo dipartimento



Nella foto di sinistra De Castro, il sindaco di Lecce Salvemini, Michele, e il prof. Marzi; nella foto a destra all'estrema sinistra il presidente Provinciale Coldiretti Piccinno, e dal lato opposto De Bellis e il prof. Nardone, capo dipartimento dell'assessorato all'Agricoltura della Regione



A sinistra l'intervento dell'on. De Castro e a destra Michele al leggio dell'Auditorium "Sigismondo Castromediano"



I tre moschettieri dei Georgofili (che correttamente sono 4: i tre prof. e Patrizia Messeri della segreteria) insieme ai vincitori dei premi UNASA, tra i quali Erika Sabella da Galatina (LE) in dolce attesa

dell'assessorato regionale all'agricoltura Gianluca Nardone, l'on. prof. Paolo De Castro, il prof. Marzi presidente della Sezione Sud Est dell'Accademia dei Georgofili, e il magnifico rettore dell'Università del Salento Vincenzo Zara.

Michele ha donato molto alla sua terra e perfino a un Livornese dal gran brutto carattere che ora vive e lavora nella sua terra.

Con enorme affetto per Michele.

RIASSUNTO

Antonio Michele Stanca, partito da Soletto, cittadina di una penisola periferica del sud di una Regione del sud Italia quale la Puglia, è sempre stato molto legato alla sua città natale e, in virtù di questo amore per la sua terra, ha praticamente adottato un livornese finito a insegnare nell'Università del Salento, così da iniziare a collaborare per una serie di attività di ricerca e non. Molto riconoscente per l'amicizia che Michele mi ha concesso descrivo brevemente la sua città, la sua terra e racconto alcuni episodi che ci legano attraverso il Salento e un comune allievo.

ABSTRACT

Antonio Michele Stanca, who came from a town called Soleto, a small town in a peripheral peninsula of Salento in the southern Italian region Apulia, has always been very attached to his hometown. For this reason he adopted a native of Livorno who ended up teaching at the University of Salento. Very grateful for the friendship that Michele has granted me, I describe briefly his town, his land and I report some episodes that link us through Salento and a common pupil.

GIOVANNI VANNACCI¹, SABRINA SARROCCO¹

La risposta della ricerca all'Agenda 2030: impiego di *Trichoderma gamsii* T6085 per una difesa sostenibile dalla fusariosi del frumento

¹ Università di Pisa

COME CAMBIERÀ L'AGRICOLTURA NEL PROSSIMO FUTURO: DALL'AGENDA 2030 AL «FARM FOR FORK»

Entro il 2050, quando la popolazione mondiale passerà da 7 a 9 miliardi, ci troveremo ad affrontare la sfida di sviluppare strategie sostenibili per nutrire una popolazione in forte aumento, il che comporterà una crescente domanda di cibo che andrà a esasperare la richiesta di produzione di alimenti, già compromessa dal fatto che attualmente il consumo è pari a 1,5 volte la capacità di rifornimento del pianeta. Ovviamente, il problema di avere cibo sano e in abbondanza per tutta la popolazione mondiale non si risolve solamente aumentando la qualità e la quantità delle produzioni, ma deve essere affrontato in una ottica complessa, che coinvolge aspetti sociali e politici, oltre che agronomici. Questi ultimi sono ulteriormente complicati dal non trascurabile problema del cambiamento climatico in atto, che comporterà ulteriori rischi per la produzione globale di alimenti.

Nel settembre 2015, 193 Paesi membri dell'ONU hanno sottoscritto l'Agenda 2030 per lo Sviluppo Sostenibile – un programma d'azione per le persone, il pianeta e la prosperità – che include 17 Obiettivi inseriti all'interno di un grande programma che prevede il raggiungimento di 169 traguardi entro il 2030 (United Nations, 2015). In particolare, l'Obiettivo 2 si prefigge di porre fine alla fame, raggiungere la sicurezza alimentare, migliorare la nutrizione e promuovere un'agricoltura sostenibile che aumenti la produttività (nel rispetto degli ecosistemi), rafforzando la capacità di adattamento ai cambiamenti climatici e a condizioni meteorologiche estreme quali siccità, inondazioni e altri disastri, e che migliori progressivamente la qualità del suolo.

Per rafforzare gli obiettivi previsti nell'Agenda 2030, nel maggio 2020 la Commissione Europea ha adottato la strategia *Farm for Fork* (nell'ambito del *Green Deal*) che prevede un piano decennale finalizzato a rendere l'Europa il primo continente *climate-neutral* entro il 2050 e che porterà verso un sistema alimentare equo, sano e rispettoso dell'ambiente. In particolare, questa strategia consentirà di progettare una politica alimentare che coinvolgerà l'intera filiera, dalla produzione al consumo, passando per la distribuzione, e che renderà così i sistemi alimentari europei più sostenibili di quanto lo siano oggi, con una conseguente riduzione del loro impatto sui Paesi terzi.

In linea con gli obiettivi di sviluppo sostenibile, la strategia *Farm to Fork* nasce con l'intento di innescare un miglioramento degli standard a livello globale, attraverso la cooperazione internazionale e politiche commerciali che vedranno coinvolti i Paesi terzi, garantendo una transizione ecologica ed evitando che nel resto del mondo vengano messe in atto pratiche non sostenibili (European Commission, 2020). Oltre a garantire una produzione alimentare sostenibile, una maggiore sicurezza alimentare e una riduzione degli sprechi, investendo in ricerca e innovazione, tra gli obiettivi fondamentali da raggiungere entro il 2030 c'è la riduzione del 50% dell'uso di agrofarmaci chimici e di almeno il 20% dell'uso di fertilizzanti, la riduzione del 50% delle vendite totali di antimicrobici per gli animali d'allevamento e di antibiotici per l'acquacoltura e la trasformazione del 25% dei terreni agricoli in aree destinate all'agricoltura biologica.

Alcuni di questi obiettivi rafforzano la posizione che la Commissione Europea aveva già assunto attraverso la Direttiva UE 2009/128/CE, incentrata su un uso sostenibile dei prodotti per la protezione delle colture. In accordo con questa direttiva, ogni Stato membro è stato chiamato a sviluppare e adottare un proprio piano d'azione nazionale volto a ridurre i rischi e l'impatto che l'uso dei prodotti fitosanitari hanno sulla salute umana e sull'ambiente, a incoraggiare lo sviluppo di strategie di lotta integrata contro i parassiti così come l'introduzione di approcci o tecniche alternative finalizzate alla riduzione della dipendenza dall'uso di prodotti chimici per la difesa delle piante.

Tra le cause alle quali attribuire la diminuzione della produttività delle colture, le malattie delle piante sono direttamente responsabili della riduzione tra il 20 e il 40% della resa delle colture, percentuali che sottostimano i costi reali sopportati dalla società (Savary et al., 2012). Nello scenario della gestione delle malattie delle piante, nel contesto che ci accompagnerà nel prossimo decennio, la difesa biologica, basata sull'utilizzo di microrganismi benefici quali funghi filamentosi, batteri e lieviti, rappresenta una valida ed eco-compatibile alternativa all'impiego di prodotti fitosanitari a base chimica (Sarrocco e Vannacci, 2018) e risponde appieno alle richieste della Comunità Europea,

fornendo, al contempo, un mezzo per raggiungere l'obiettivo della sostenibilità dell'Agenda 2030. Inoltre, le strategie di lotta biologica possono essere utilizzate da sole o come parte di un approccio integrato, in combinazione con prodotti a base chimica e/o cultivar resistenti/tolleranti risultanti da strategie di miglioramento genetico, contribuendo così al rispetto degli ecosistemi. Da qui, molte grandi aziende, così come le piccole e medie imprese le cui attività sono state storicamente incentrate sullo sviluppo, registrazione e commercializzazione di prodotti chimici per la difesa, stanno sempre più indirizzando le proprie risorse verso lo sviluppo di nuovi prodotti contenenti microrganismi benefici come principi attivi (Jensen et al., 2016).

IMPIEGO DI FUNGHI FILAMENTOSI BENEFICI PER UNA PROTEZIONE SOSTENIBILE DELLE COLTURE

Da oltre 30 anni si sta assistendo a un'intensificazione della ricerca applicata alla difesa biologica, come dimostrato dal sempre più diffuso impiego di questa strategia nella protezione delle colture e da un numero crescente di prodotti, attualmente disponibili sul mercato, contenenti principi attivi a base di uno o più microrganismi. In aggiunta, le nuove metodologie di ricerca, note come approcci "omici", stanno portando a una maggiore e più dettagliata conoscenza dei meccanismi d'azione degli agenti di biocontrollo e delle loro interazioni con i patogeni, le piante e l'ambiente (Fravel, 2005; Vicente et al., 2019; Sarrocco et al., 2020b).

I microrganismi benefici, tra cui i funghi filamentosi occupano un posto di rilievo, possono interagire con i patogeni delle piante attraverso meccanismi diretti e indiretti che, comunemente, agiscono in sinergia. Indipendentemente dai meccanismi utilizzati, questi organismi benefici portano a una riduzione dei sintomi delle malattie delle piante, nonché a un miglioramento della quantità e della qualità della produzione (Lorito et al., 2010). Per quanto riguarda i funghi filamentosi benefici, meccanismi diretti quali micoparassitismo, antibiosi e competizione sono i responsabili di una diminuzione dello sviluppo e dell'attività dei patogeni, mentre il meccanismo indiretto dell'induzione di resistenza, ovvero la stimolazione della risposta di difesa delle piante attraverso un cross-talk tra l'agente di biocontrollo e l'ospite vegetale, porta a una riduzione della malattia anche in assenza del contatto fisico diretto tra l'organismo benefico e il patogeno (Viterbo et al., 2007; Kubicek et al., 2019).

Tra i funghi filamentosi utilizzabili in strategie di difesa biologica, senza dubbio quelli appartenenti al genere *Trichoderma* sono tra i più studiati e, al momento, tra i più frequentemente utilizzati come principio attivo dei

prodotti per la difesa a base di microrganismi (Sarrocco e Vannacci, 2018; Abbey et al., 2019). Isolati per la prima volta nel 1794 da terreno e materiale organico in decomposizione, questi funghi sono in grado di colonizzare rapidamente i substrati e si comportano come simbionti opportunistici e avirulenti che instaurano relazioni con le piante. In terreni colonizzati dai patogeni, sono in grado non solo di stimolare la crescita delle piante, ma inibiscono lo sviluppo dei patogeni attraverso diversi meccanismi d'azione che includono il micoparassitismo, l'antibiosi e la competizione per siti di sviluppo e nutrienti. Quando interagiscono con la pianta, in alcuni casi avvalendosi di uno stile di vita endofitico, sono in grado di aumentarne la tolleranza nei confronti di stress biotici e abiotici e di aumentare la capacità dell'ospite vegetale di assimilare i nutrienti presenti nel terreno (Lopez-Bucio et al., 2015). Inoltre, rappresentano un vero e proprio serbatoio di metaboliti secondari, alcuni dei quali di estremo interesse ai fini dell'azione benefica nei confronti delle piante e verso i patogeni (Vicente et al., 2020). Infine, molti isolati di *Trichoderma* mostrano una resistenza verso i prodotti di sintesi utilizzati come principi attivi di fitofarmaci, il che apre la possibilità di impiegare questi funghi in una strategia di difesa integrata volta a ridurre l'impiego di fitofarmaci senza diminuire l'azione di contenimento dei patogeni (Jensen et al., 2016).

PASSATO, PRESENTE E FUTURO DI «TRICHODERMA GAMSII» T6085 NEL CONTROLLO DELLA FUSARIOSI DEL FRUMENTO

La fusariosi della spiga di frumento

Secondo una recente stima della FAO, tra i principali obiettivi della produzione agraria mondiale ci sono quelli che in inglese vengono definiti *staple food*, cioè quegli alimenti che costituiscono la parte principale della dieta e forniscono il maggior apporto in termini di energia e fattori nutrizionali. I cereali quali riso, frumento e mais rappresentano un terzo della fonte energetica della popolazione mondiale e sono considerati gli alimenti principali, pari al 46% della dieta in Africa e il 26% in Europa in termini di apporto energetico, per oltre 4 miliardi di persone. Con una produzione annua di più di 700 milioni di tonnellate dal 2013 al 2017 (FAOStat <http://www.fao.org/faostat/en/#home>), il frumento è considerato il terzo cereale, per importanza, nel mondo. Come tutte le colture, anche questa è soggetta all'attacco di numerosi patogeni che ne possono comportare una riduzione, anche drammatica, in termini qualitativi e quantitativi, della resa.

Differenti patogeni, tra cui gli agenti causali delle ruggini (*Puccinia graminis f. tritici*, *P. striiformis*, *Puccinia recondita*), *Zymoseptoria tritici*, *Parastagonospora nodorum* e *Pyrenophora tritici-repentis*, possono comprometterne la produzione. Oltre a questi, anche la fusariosi della spiga (o *Fusarium Head Blight*, FHB) è riconosciuta come uno dei problemi più seri che possono insorgere in tutte le regioni coltivate a frumento. La fusariosi della spiga è una malattia complessa causata da un gruppo di funghi patogeni, circa 20 specie riconducibili al genere *Fusarium*, tra le quali il complesso di specie di *F. graminearum* (*Fusarium graminearum* Species Complex - FGSC), *F. avenaceum*, *F. culmorum*, e *F. poae* sono le più frequenti. Altre specie come *F. acuminatum*, *F. chlamydosporum*, *F. equiseti*, *F. langsethiae*, *F. sporotrichioides*, *F. cerealis* e *F. tricinctum* possono essere considerati meno importanti in termini d'incidenza globale della malattia (Figueroa et al., 2018).

Questa malattia rappresenta un rischio serio sia per la produzione (*food security*) sia per la qualità (*food safety*) degli alimenti: non solo la malattia può causare fino al 30% di perdita delle produzioni, ma la qualità della granello può essere compromessa oltre che per una riduzione della dimensione delle cariossidi e del loro contenuto proteico, anche per il rischio di contaminazione da micotossine prodotte dalle diverse specie di *Fusarium*. Queste micotossine sono metaboliti secondari altamente pericolosi, se ingeriti, per l'uomo e gli animali al punto da indurre molti Paesi del mondo a regolarne il contenuto massimo consentito negli alimenti (Logrieco, 2018). I tricoteceni, tra cui il Deossinivalenolo (DON) e i suoi derivati acetilati e le tossine T-2/HT-2, potenti inibitori della sintesi delle proteine negli eucarioti, insieme allo Zearalenone (ZEN), responsabile di sindromi estrogeniche negli animali, sono tra le principali micotossine associate al FHB nel frumento (Desjardins et al., 2007; Sarrocco et al., 2019a).

Da un punto di vista epidemiologico, i patogeni svernano sui residui colturali tra due cicli di coltivazione successivi sotto forma di micelio o di periteci (strutture di riproduzione sessuate) all'interno dei quali si differenziano le ascospore. In primavera conidi, prodotti dal micelio, e ascospore raggiungono le spighe in antesi, momento di massima suscettibilità, per dare inizio all'infezione dell'ospite (Parry et al., 1995). Attualmente, diverse sono le strategie utilizzate per controllare la fusariosi della spiga. Tra queste ricordiamo l'impiego di fungicidi, l'utilizzo di cultivar resistenti, diverse pratiche agronomiche e l'impiego di microrganismi in una strategia di difesa biologica. Tuttavia, sia l'utilizzo di fungicidi che la coltivazione di cultivar resistenti (ma una totale resistenza alla malattia non è ancora stata trovata), così come le pratiche agronomiche – ad esempio la lavorazione del terreno o le rotazioni colturali – non assicurano un controllo completo della malattia. Alla luce della mancanza di

un efficace metodo di controllo e considerando il ciclo vitale dei patogeni, l'impiego di una strategia di difesa biologica mediante l'utilizzo di microrganismi benefici, quali i funghi, rappresenta una valida alternativa, nel rispetto della sostenibilità, per la gestione della fusariosi del frumento (Vannacci e Sarrocco, 2018).

Trichoderma gamsii T6085

In questo contesto, dal 2010, il gruppo di ricerca della Patologia Vegetale dell'Università di Pisa è attivamente impegnato nello studio di un isolato fungino benefico, *Trichoderma gamsii* T6085, quale possibile principio attivo per un prodotto da utilizzare nella lotta al FHB.

T. gamsii T6085 è stato selezionato, a partire da un'ampia collezione di isolati di *Trichoderma*, per la sua capacità di crescere in presenza di elevate concentrazioni della micotossina DON (50 ppm), conosciuta non solo come fattore di virulenza che favorisce l'infezione dell'ospite da parte dei principali agenti causali della malattia (*F. graminearum* e *F. culmorum*), ma anche per il suo ruolo ecologico nel controllo di eventuali competitori dei patogeni stessi (Matarese et al., 2012; Sarrocco et al., 2012). Già dai primi studi, *T. gamsii* T6085 si è dimostrato essere un isolato con interessanti caratteristiche antagonistiche, capace di micoparassitizzare *F. graminearum* e *F. culmorum*, intorno al cui micelio è in grado di sviluppare avvolgimenti ifali che portano alla morte dei patogeni, e, da esperimenti preliminari condotti nel 2012, si è documentata la sua capacità di ridurre significativamente sia la crescita dei patogeni che la produzione di DON da parte di *F. graminearum* (Matarese et al., 2012).

Dalle prime prove in campo, condotte per due anni consecutivi, applicato sia nel terreno come inoculante dei residui colturali che sulle spighe in fioritura, *T. gamsii* T6085 ha determinato una riduzione significativa della severità del FHB e ha mostrato la capacità di colonizzare in modo endofitico fino al 30% dei tessuti delle spighe, caratteristica fino ad allora non descritta per altri agenti di lotta biologica applicati alla spiga (Sarrocco et al., 2013).

Di particolare interesse è apparsa la grande capacità competitiva dimostrata da questo isolato benefico. Quando inoculato in presenza di *F. graminearum* su granella di frumento e di riso, ha ridotto significativamente sia la crescita del patogeno che la quantità di tricoteceni (tra cui il DON e le sue forme acetilate) dopo 21 giorni di incubazione, dimostrando non solo una forte attività antagonistica ma anche un'effettiva capacità competitiva per i due substrati naturali (Sarrocco et al., 2019b). Ulteriori indagini hanno portato, nell'anno successivo, a confermare questa capacità saprofitica competitiva nei confronti

dei residui colturali che, come accennato precedentemente, svolgono un ruolo fondamentale per il patogeno in assenza della pianta ospite assicurando la sopravvivenza dell'inoculo che andrà a infettare la pianta. Quando applicato su paglia, insieme a *F. graminearum* e a un isolato di *F. oxysporum*, noto competitore naturale per i residui colturali nei confronti dei *Fusaria* coinvolti nel FHB, *T. gamsii* T6085 è stato in grado di ridurre significativamente, dopo nove settimane di incubazione, sia la biomassa del patogeno che il numero di periteci (strutture di sopravvivenza di *F. graminearum*) differenziati sugli stessi residui. Questa riduzione significativa è stata osservata applicando il patogeno e l'antagonista contemporaneamente, ma anche inoculando *T. gamsii* T6085 48 ore dopo il patogeno, al fine di riprodurre una condizione più vicina a quella che si verifica in campo, dove l'applicazione dell'isolato benefico dovrebbe avvenire in una fase in cui il patogeno ha già colonizzato i residui colturali (Sarrocchio et al., 2020a).

Al fine di definire i meccanismi d'azione alla base degli effetti osservati, sono state, quindi, caratterizzate le esigenze nutrizionali del nostro isolato benefico a confronto con quelle dei patogeni *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. langsethiae* e *F. sporotrichioides* e del competitore naturale *F. oxysporum*. Allo scopo, questo gruppo di funghi è stato sottoposto all'analisi mediante Biolog®, un sistema che consente di studiare, contemporaneamente, la capacità di crescita e assimilazione di 96 fonti di carbonio. L'analisi dei dati ottenuti, elaborati con un nuovo approccio statistico (in collaborazione con l'Università di Roma e l'Università di Bari) che permette di considerare contemporaneamente i diversi parametri della crescita fungina (latenza, fase esponenziale, fase stazionaria e area sottostante la curva), suggerisce che la competizione per i nutrienti non sia alla base dell'efficacia osservata aprendo, di fatto, la via per nuove ipotesi di lavoro. Al contempo, ha messo in evidenza la capacità di *T. gamsii* T6085 di utilizzare in maniera esclusiva alcuni substrati, informazione che potrebbe risultare molto utile nel momento in cui, dovendo passare alla fase di formulazione di un agrofarmaco, si volesse porre *T. gamsii* in una condizione di vantaggio (Jona Lasinio et al., 2021).

Visto che la competizione per i nutrienti non sembrava giocare un ruolo preminente, è stata indagata l'induzione di resistenza. A tal fine, in collaborazione con l'Università di Parigi-Saclay, è stata dimostrata, mediante osservazioni al microscopio confocale, la capacità di questo isolato di colonizzare in modo endofitico le radici di giovani piante di frumento. Questa attiva colonizzazione delle radici ha indotto delle risposte di difesa nella pianta, come dimostrato dall'aumento significativo dell'espressione di geni connessi con la resistenza, quali PAL e PR1, permettendo così di aggiungere anche l'induzione di resistenza ai meccanismi d'azione già dimostrati per questo isolato

(Sarrocco et al., 2021). Al momento l'attività di ricerca si sta indirizzando ad approfondire la risposta della pianta, in termini di attivazione delle risposte di difesa, a seguito dell'applicazione di *T. gamsii* T6085 sia sulle radici di giovani piante che su spighe in fioritura di diverse cultivar di frumento.

Poiché l'applicazione di un agrofarmaco a base biologica prevede l'applicazione del microrganismo benefico nella stessa nicchia ecologica dove prospera il patogeno, al fine di meglio comprendere la complessa interazione che si instaura tra questi due organismi in questa fase, è stata condotta un'analisi trascrittomiche volta a individuare i geni differenzialmente espressi da *T. gamsii* T6085 e da *F. graminearum* quando in colture duali (interazione *non-self*) rispetto a quando in presenza di se stessi (interazione *self*), concentrandoci sull'interazione a distanza, vale a dire quando gli apici ifali dei due organismi non erano ancora entrati in contatto. Per poter portare a termine le analisi bioinformatiche risultanti dall'analisi trascrittomiche è stato necessario sequenziare e annotare il genoma sia dell'antagonista (Baroncelli et al., 2016) che del patogeno (Zapparata et al., 2017). L'analisi trascrittomiche ha permesso di delineare due comportamenti opposti del patogeno e dell'antagonista nella condizione *non-self*: mentre il patogeno in presenza dell'antagonista sovra-esprime significativamente oltre 600 geni e ne sotto-esprime meno di 80, *T. gamsii* T6085 mantiene uno stato più "silenzioso" in cui solo circa 20 geni sono sovra-espressi e più di 370 sono sotto-espressi, rispetto alla condizione *self*. Ma la trascrittomiche, si sa, più che risposte certe, fornisce indicazioni sulle strade da seguire per meglio comprendere i fenomeni in atto. Nel nostro caso, *F. graminearum*, quando in presenza dell'antagonista, sovra-esprime geni codificanti per proteine killer, il cui ruolo in altri patogeni, quali ad esempio *Ustilago maydis*, è già stato dimostrato durante l'infezione dell'ospite ma di cui poco si sa nell'interazione fungo-fungo. Sono attualmente in corso studi di espressione volti a valutare il ruolo di queste proteine killer nell'interazione tra *F. graminearum* e *T. gamsii* T6085 in pianta. Sul fronte opposto, *T. gamsii* T6085 risulta sotto-esprimere alcuni geni codificanti per delle chitinasi, quasi a voler evitare il rilascio di molecole segnale a seguito della degradazione della parete del patogeno, molecole che potrebbero far percepire la propria presenza da parte di *F. graminearum*. Infine, in questo *cross-talk*, il ferro sembrerebbe giocare un ruolo importante, essendo sotto-espressi geni del patogeno in cui questo elemento ha un ruolo fondamentale (quali, ad esempio, quelli codificanti per il citocromo P-450), ed essendo, invece, sovra-espressa una ferro-reduttasi da parte di *T. gamsii* T6085.

Ma metaboliti diffusibili non servono solo come mediatori chimici per elicitare risposte in uno o nell'altro dei due microfunghi interagenti, ma possono anche essere direttamente alla base degli effetti benefici che molti isolati

di *Trichoderma* sono in grado di produrre sulle piante. Poiché i terpeni sono metaboliti fortemente coinvolti in tutti questi effetti e i geni che portano alla loro sintesi sono ben poco conosciuti in *Trichoderma*, le più recenti attività di ricerca sono state indirizzate allo studio, mediante un'analisi comparata condotta sui genomi di 21 isolati appartenenti a 17 specie diverse di *Trichoderma*, dei geni coinvolti nella sintesi delle terpene sintasi (TS) e, utilizzando l'isolato *T. gamsii* T6085 come modello, della loro espressione in diverse condizioni di crescita, incluse l'eccesso di salinità, la mancanza di azoto, in presenza di stress ossidativo e quando applicato su frumento (Vicente et al., 2020). Questa indagine sulle TS ha permesso di individuare una tricodiene sintasi, codificata dal gene *tri5*, la cui espressione è significativamente aumentata quando *T. gamsii* T6085 colonizza l'apparato radicale di frumento. Questo gene è molto interessante perché putativamente associato a un cluster che ricorda quello già noto in *Trichoderma brevicompactum* e *T. arundinaceum*, responsabile della sintesi di tricoteceni in queste due specie di *Trichoderma* (ma non prodotto da *T. gamsii*). Le ricerche attualmente in corso sono indirizzate a indagare nel dettaglio le condizioni di espressione del putativo cluster e a isolare l'eventuale prodotto del gene *tri5* che, come altre TS, sembrerebbe svolgere un ruolo nell'interazione tra *T. gamsii* T6085 e le radici di frumento.

Infine, spostandoci nuovamente dalla dimensione del laboratorio a quella del campo, *T. gamsii* T6085 è stato utilizzato come inoculante dei residui colturali e/o della spiga in una prova condotta presso i campi sperimentali del "Centro Enrico Avanzi" dell'Università di Pisa. La sperimentazione, condotta su piante di frumento seminate su sodo, ha confermato una significativa diminuzione dell'incidenza e della severità della malattia e ha consentito di collezionare campioni di paglia e di spighe che sono state sottoposte, in collaborazione con l'Università di Manitoba (Canada), a un'analisi metagenomica volta a valutare l'eventuale impatto di *T. gamsii* T6085 sulle popolazioni batteriche e fungine naturalmente presenti sui campioni prelevati. Le analisi, ancora in corso, forniranno indicazioni importanti circa l'effetto di questo isolato benefico sulle comunità microbiche a seguito di una sua applicazione in campo, informazione molto utile in vista di un potenziale sviluppo di questo isolato come ingrediente di prodotti commerciali per la difesa dalla fusariosi del frumento.

CONCLUSIONI

Di acqua ne è passata molta sotto i ponti da quando uno dei due Autori andò alla New York State Agricultural Experiment Station di Geneva (USA), oggi

Cornell CALS, per lavorare con Gary Harman sull'impiego di funghi benefici per il controllo di patogeni trasmessi per seme in crucifere (Vannacci e Harman, 1987). Agrofarmaci a base biologica se ne trovano diversi, oggi, sul mercato, ma possiamo ritenere che il loro sviluppo e il loro impiego sia ancora in uno stadio infantile. Le ricerche sul tema, allora considerate poco più che una curiosità, comportano effetti collaterali affascinanti, in quanto consentono di indagare le complesse interazioni, usualmente tritrofiche, tra gli organismi coinvolti, ma da patologi vegetali non possiamo dimenticare che il fine ultimo di queste ricerche è la difesa (sostenibile, finalmente) delle piante. Le ricerche sin qui condotte sul sistema frumento – fusariosi della spiga – *Trichoderma* lasciano molto ben sperare, ma non dobbiamo dimenticare che trasformare un fungo con spiccate attività benefiche in un prodotto che possa essere utilizzato nella pratica agricola è cosa ben complicata che richiede successive fasi di sviluppo, che vanno dalla formulazione alla commercializzazione, e che dovrebbero vedere coinvolte competenze che, normalmente, non sono presenti in istituzioni di ricerca pubbliche. Ma il forte impulso dato dall'Unione Europea allo sviluppo di forme di difesa alternative a quella chimica spinge molti ricercatori, e molte industrie, ad affrontare questa sfida e già si intravedono nuovi obiettivi, che adesso appaiono lontani e complicati, quali quello di definire e impiegare consorzi anziché singoli microrganismi o di sviluppare piante geneticamente adattate a un impiego combinato con microrganismi benefici. Ma una cosa sembra essere certa, indietro non si torna e il ricorso ad agricolture esoteriche potrà soddisfare il desiderio (di pochi) di avere accesso a cibi di nicchia, ma fallirà nel soddisfare la necessità (di molti) di avere semplicemente cibo. Ad oggi, siamo quasi 8 miliardi di persone (ma le persone in sovrappeso sono più di quelle malnutrite) e quest'anno sono stati persi quasi 4 milioni di ettari di terreno, tra desertificazione ed erosione (<https://www.worldometers.info/>) e tutto questo ci deve far pensare. L'agricoltura è, intrinsecamente, in disequilibrio con la natura e sta a noi, con un buon uso della conoscenza, far sì che questo disequilibrio non sia foriero di futuri drammi.

RIASSUNTO

La fusariosi della spiga (FHB) è un serio rischio per la sicurezza alimentare a causa delle micotossine che si possono ritrovare nella granella malata. Ad oggi, la difesa del frumento nei confronti di FHB si basa su diverse strategie, nessuna pienamente efficace.

Da più di 10 anni, sono in corso nel nostro laboratorio ricerche sull'isolato *Trichoderma gamsii* T6085 per la difesa dalla fusariosi. T6085 è in grado di ridurre la crescita delle principali specie di *Fusarium* associate al FHB, la loro capacità di produrre micotossine e, applicato sulla spiga, l'incidenza e la severità della malattia in campo. T6085 parassitizza

le ife di *F. graminearum*, compete con il patogeno per molti substrati naturali e induce nel frumento l'espressione di geni per la resistenza.

Indagini trascrittomiche dell'interazione a distanza tra T6085 e *F. graminearum* hanno mostrato che T6085 compete per il ferro, attiva trasportatori di membrana, sotto-esprime alcuni geni codificanti chitinasi e induce l'espressione di geni del patogeno codificanti per proteine killer. T6085 produce una plethora di metaboliti secondari; tra questi, stiamo valutando il ruolo dei terpenoidi nel controllo della fusariosi. In corso è anche un'analisi metagenomica sugli effetti del trattamento di spighe o di residui colturali in campo sulla popolazione naturale di batteri e funghi.

T. gamsii T6085 è un valido candidato come principio attivo di agrofarmaci a base biologica rispettosi dell'ambiente e della salute dell'uomo e degli animali.

ABSTRACT

Research response to the 2030 Agenda: use of «Trichoderma gamsii» T6085 for sustainable wheat protection against Fusarium Head Blight. Fusarium Head Blight (FHB) represents a serious threat to wheat production worldwide, due to mycotoxins accumulation in diseased kernels. Different strategies are to date deployed to control of FHB, anyway none of them are fully effective to protect wheat. For more than 10 years, research has been underway in our lab to develop an isolate of *Trichoderma*, *T. gamsii* T6085, as an active ingredient of a biopesticide to control FHB. T6085 interferes with FHB pathogens growth, significantly reduces their ability to produce mycotoxins and, when applied to spikes in the field, significantly reduces incidence and severity of the disease. T6085 parasitize *F. graminearum* hyphae, successfully competes with the pathogen for many natural substrates and induces the expression of host resistance genes. A transcriptomic analysis of at distance interaction between T6085 and *F. graminearum* suggests that T6085 competes for iron, induces a stronger expression of genes coding for killer protein in the pathogen, activate membrane transporters and downregulates chitinase coding genes. T6085 produces a plethora of secondary metabolites; among these, the role of terpenoids in the control of FHB is being evaluated. A metagenomic analysis on the effects of the treatment of spikes or of crop residues in the field on the natural bacterial and fungal population is also underway.

T. gamsii T6085 is a valid candidate as an active ingredient in bio-based crop protection products as a sustainable alternative to the use of chemicals.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- ABBAY J.A., PERCIVAL D., ABBAY L., ASIEDU S.K., PRITHIVIRAJ B., SCHILDER A. (2019): *Biofungicides as alternative to synthetic fungicide control of grey mould (Botrytis cinerea) – prospects and challenges*, «Biocontrol. Sci. Technol.», 29, pp. 207-228.
- BARONCELLI R., ZAPPARATA A., PIAGGESCHI G., SARROCCO S., VANNACCI G. (2016): *Draft whole-genome sequence of Trichoderma gamsii T6085, a promising biocontrol agent of Fusarium head blight on wheat*, «Genome Announcements», 4 (1):e01747-15.
- DESJARDINS A.E., PROCTOR R.H. (2007): *Molecular biology of Fusarium mycotoxins*, «Int. J. Food Microbiol.», 119, pp. 47-50.

- EUROPEAN COMMISSION (2020): *Farm to Fork Strategy – for a fair, healthy and environmentally-friendly food system*, <https://ec.europa.eu/food/farm2fork_en>.
- FIGUEROA M., HAMMOND-KOSACK K.E., SOLOMON P.S. (2018): *A review of wheat diseases-a field perspective*, «Mol. Plant Pathol.», 19, pp. 1523-1536.
- FRAVEL D.R. (2005): *Commercialization and implementation of biocontrol*, «Ann. Rev. Phytopath.», 43, pp. 337-359.
- JENSEN D.F., KARLSSON M., SARROCCO S., VANNACCI G. (2016): *Biological control using microorganisms as an alternative to disease resistance*, in *Biotechnology for Plant Disease Control*, a cura di Collinge, D.B., Wiley, New York and London, pp. 341-363.
- JONA LASINIO G., POLLICE A., PAPPALETTERE L., VANNACCI G., SARROCCO S. (2021): *A new statistical protocol to describe differences among nutrient utilization patterns of Fusarium spp. and Trichoderma gamsii*, «Plant Pathology», <<https://doi.org/10.1111/ppa.13362>>.
- KUBICEK C.P., STEINDORFF A.S., CHENTHAMARA K., MANGANIELLO G., HENRISSAT B., ZHANG J., CAI F., KOPCHINSKIY A.G., KUBICEK E.M., KUO A., BARONCELLI R., SARROCCO S., FERREIRA NORONHA E., VANNACCI G., SHEN Q., GRIGORIEV I.V., DRUZHININA I.S. (2019): *Evolution and comparative genomics of the most common Trichoderma species*, «BMC Gen.», 20, p. 485.
- LOGRIECO A.F., MILLER J.D., ESKOLA M., KRKA R., AYALEW A., BANDYOPADHYAY R., BATTILANI P., BHATNAGAR D., CHULZE S., DE SAEGER S., LI P., PERRONE G., POAPOLATHEP A., RAHAYU E.S., SHEPHARD G.S., STEPMAN F., ZHANG H., LESLIE J.F. (2018): *The Mycotox Charter: Increasing the Awareness for Research and Harmonized Regulations to Control and Reduce Mycotoxins Worldwide*, «Toxins», 10, p. 149.
- LÓPEZ-BUCIO J., PELAGIO-FLORES R., HERRERA-ESTRELLA A. (2015): *Trichoderma as bio-stimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus*, «Sci. Hortic.», 196, pp. 109-123.
- LORITO M., WOO S.L., HARMAN G.E., MONTE E. (2010): *Translational research on Trichoderma: from 'omics' to the field*, «Ann. Rev. Phytopath.», 48, pp. 395-417.
- MATARESE F., SARROCCO S., GRUBER S., SEIDL-SEIBOTH V., VANNACCI G. (2012): *Bio-control of Fusarium Head Blight: interactions between Trichoderma and mycotoxigenic Fusarium*, «Microbiology», 158, pp. 98-106.
- PARRY D.W., JENKINSON P., MCLEOD L. (1995): *Fusarium ear blight (scab) in small grains – a review*, «Plant Path.», 44, pp. 207-238.
- SARROCCO S., ESTEBAN P., VICENTE I., BERNARDI R., PLAINCHAMP T., DOMENICHINI S., VICENTE MUNOZ I., PUNTONI G., BARONCELLI R., VANNACCI G., DUFRESNE M. (2020a): *Straw competition and wheat root endophytism of Trichoderma gamsii T6085 as useful traits in the biocontrol of Fusarium Head Blight*, «Phytopathology», <<https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-20-0441-R>>.
- SARROCCO S., HERRERA-ESTRELLA A. AND COLLINGE D.B. (2020b): *Editorial: Plant Disease Management in the Post-genomic Era: From Functional Genomics to Genome Editing*, «Frontiers in Microbiology», 11, pp. 107.
- SARROCCO S., MATARESE F., MONCINI L., PACHETTI G., RITIENI A., MORETTI A., VANNACCI G. (2013): *Biocontrol of Fusarium head blight by spike application of Trichoderma gamsii*, «J. Plant Pathology», 51, pp. 19-27.
- SARROCCO S., MATARESE F., MORETTI A., HAIDUKOWSKI M., VANNACCI G. (2012): *DON on wheat crop residues: effects on mycobiota as a source of potential antagonists of Fusarium culmorum*, «Phytopathologia Mediterranea», 51, pp. 225-235.
- SARROCCO S., MAURO A., BATTILANI, P. (2019a): *Use of Competitive Filamentous Fungi as*

- an Alternative Approach for Mycotoxin Risk Reduction in Staple Cereals: State of Art and Future Perspectives*, «Toxins», 11, pp. 701.
- SARROCCO S., VALENTI F., MANFREDINI S., ESTEBAN P., BERNARDI R., PUNTONI G., BARONCELLI R., HAIDUKOWSKI M., MORETTI A., VANNACCI G. (2019b): *Is exploitation competition involved in a multitrophic strategy for the biocontrol of Fusarium Head Blight?*, «Phytopathology», 109, pp. 560-570.
- SARROCCO S., VANNACCI G. (2018): *Preharvest application of beneficial fungi as a strategy to prevent postharvest mycotoxin contamination: a review*, «Crop Protection», 110, pp. 160-170.
- SAVARY S., FICKE A., AUBERTOT J.N., HOLLIER C. (2012): *Crop Losses Due to Diseases and Their Implications for Global Food Production Losses and Food Security*, «Food Security», pp. 3-21. DOI 10.1007/s12571-012-0200-5
- UNITED NATIONS (2015): *Transforming our world: the 2030 Agenda for sustainable development*, <<https://sdgs.un.org/>>.
- VANNACCI G., HARMAN G.E. (1987): *Biocontrol of seed-borne Alternaria raphani and A. brassicicola*, «Can. J. Microbiol.», 33, pp. 850-856.
- VICENTE I., BARONCELLI R., MORÁN-DIEZ M.E., BERNARDI R., PUNTONI G., HERMOSA R., MONTE E., VANNACCI G., SARROCCO S. (2020): *Combined comparative genomics and molecular biology approaches provide insights into the terpene synthases inventory in Trichoderma*, «Microorganisms», 8 (10), p. 1603.
- VICENTE I., SARROCCO S., MAFATTI L., BARONCELLI R., VANNACCI G. (2019): *CRI-SPR-Cas for fungal genome editing: a new tool for the management of plant diseases*, «Front. Plant Sci.», 10, n. 135.
- VITERBO A., INBAR J., HADAR Y., CHET I. (2007): *Plant disease biocontrol and induced resistance via fungal mycoparasites*, in *Environmental and Microbial Relationships, The Mycota*, a cura di Kubicek C., Druzhinina I., Springer, Berlin/Heidelberg, Volume 4.
- ZAPPARATA A., BARONCELLI R., BRANDSTROM DURLING M., KUBICEK C.P., KARLSSON M., VANNACCI G., SARROCCO S. (2021): *Fungal cross-talk: an integrated approach to study distance communication*, «Fungal Genetics & Biology», 148, 103518, <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2021.103518>.
- ZAPPARATA A., DA LIO D., SOMMA S., VICENTE I., MAFATTI L., VANNACCI G., MORETTI A., BARONCELLI R., SARROCCO S. (2017): *Genome sequence of Fusarium graminearum ITEM 124 (ATCC 56091), a mycotoxigenic plant pathogen*, «Genome Announcements», 5(45): e01209-17.

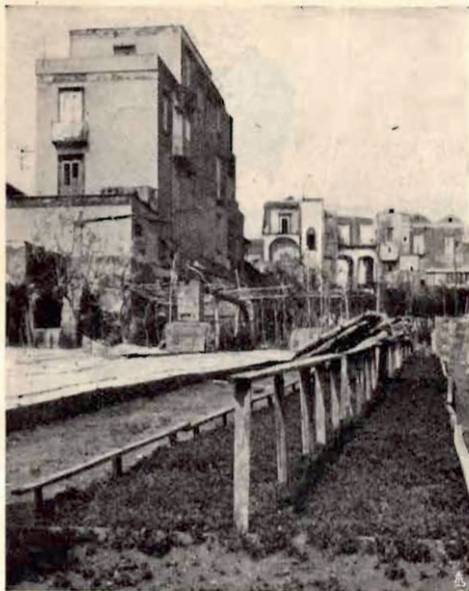
LUIGI FRUSCIANTE¹, LUIGI MONTI¹

Il miglioramento genetico del pomodoro in Italia

¹ Università degli Studi di Napoli Federico II

La diffusione della coltivazione del pomodoro in Italia ha portato alla nascita delle prime aziende sementiere che avviarono i primi programmi di selezione sull'intero territorio nazionale. I genotipi selezionati contribuirono in maniera rilevante allo sviluppo d'interi comprensori agricoli determinando, in alcuni casi, vere e proprie rivoluzioni industriali. Al nord si affermarono industrie per la produzione di conserve e concentrati (Mutti), al sud quelle per la lavorazione dei pelati (Cirio). L'industria conserviera influenzò, quindi, la selezione degli ecotipi locali di pomodoro, la cui destinazione d'uso doveva essere funzionale alle esigenze produttive. La collaborazione tra agricoltori, conservieri e sementieri fu, infatti, fondamentale per il successo della coltivazione del pomodoro nel nostro Paese. Ma la vera rivoluzione si realizzò con l'avvio della coltivazione del "San Marzano" (fig. 1) in Campania che stravolse i sistemi produttivi agricoli e industriali, portando all'enorme incremento della produzione di pomodori pelati (fig. 2). Questi risultati incoraggiarono gli addetti ai lavori ad avviare programmi mirati di miglioramento genetico.

All'inizio del secolo scorso, gli obiettivi di questi programmi erano volti a identificare genotipi idonei a soddisfare sia le esigenze degli agricoltori (maggiori rese per ettaro) sia quelle dell'industria (migliore resa alla trasformazione). I metodi di miglioramento erano basati, principalmente, sulla selezione massale, e in qualche caso anche su una sorta di selezione per linea pura, sfruttando popolazioni segreganti, ottenute da incroci casuali. A partire dagli anni '50 ebbe inizio la grande attività di miglioramento genetico basata sul deliberato ampliamento della variabilità genetica attraverso incroci intra- e inter-specifici. In quegli anni, furono trasferiti in nuovi genotipi geni legati al portamento della pianta (*sp*, *dw*, *j1*, *j2*) e al colore della bacca (*u*, *ogc*, *hp*). In Italia, nella seconda metà del XX secolo, i gruppi di ricerca pubblici impegnati



Semenzaio di pomodoro
su letto caldo a Resina (Napoli)

La buccia a completa maturazione è di colore rosso vivo intenso e si stacca con grande facilità. La polpa è soda, di sapore poco zuccherino. I frutti sono riuniti a grappoli di 5, 6 e anche più.

La pianta raggiunge un considerevole sviluppo (fino a m. 1,50) ed è ricca di foglie lunghe e strette e può portare fino a 10-12 grappoli di frutti, i quali maturano quasi regolarmente dal basso in alto.

Vi è chi pensa che questa varietà possa derivare dall'ibridazione naturale della varietà Fiaschella con la varietà Fiascone, pure coltivate nella zona. Altri opina trattarsi di mutazione di caratteri di varietà locali. Ma non si possono fare affermazioni in senso assoluto. Pare quasi accertato che la varietà abbia avuto origine in contrada Fiano tra Sarno e Nocera Inferiore, trasportata poi a S. Marzano dove avrebbe trovato le condizioni più propizie (1).

Il pomodoro di S. Marzano, è riconosciuto il più adatto per la fabbricazione dei pelati e nessun'altra varietà può competere con questa. Potrebbero usarsi anche varietà affini, come la *Fiaschella* e il *Re Umberto*, ma sia come resa che come bontà del

prodotto non sono superiori al S. Marzano, che resta la varietà incontrastabilmente superiore.

Poichè l'industria dei pelati non ha ancora sofferto crisi, così è da prevedere che si allargherà anche altrove.

È ormai dimostrato che nel Nord d'Italia l'industria dei pelati può effet-

(1) Dott. G. REGAZZI «L'industria italiana delle conserve alimentari» maggio-giugno 1926, n. 5-6.

Fig. 1 *Ipotesi dell'origine del 'San Marzano'*, «Italia Agricola», 1925

nel miglioramento genetico del pomodoro, erano fondamentalmente tre: uno afferiva al CNEN (Comitato Nazionale per l'Energia Nucleare, ora ENEA) di Roma (Monti, Saccardo) e due al MAF (Ministero dell'Agricoltura e Foreste), Istituto Sperimentale per l'Orticoltura (ora CREA) sede di Pontecagnano (Soressi) e Monsampolo del Tronto (Uncini). In seguito, con il passaggio di Monti all'Università degli Studi di Napoli Federico II e di Soressi all'Univer-

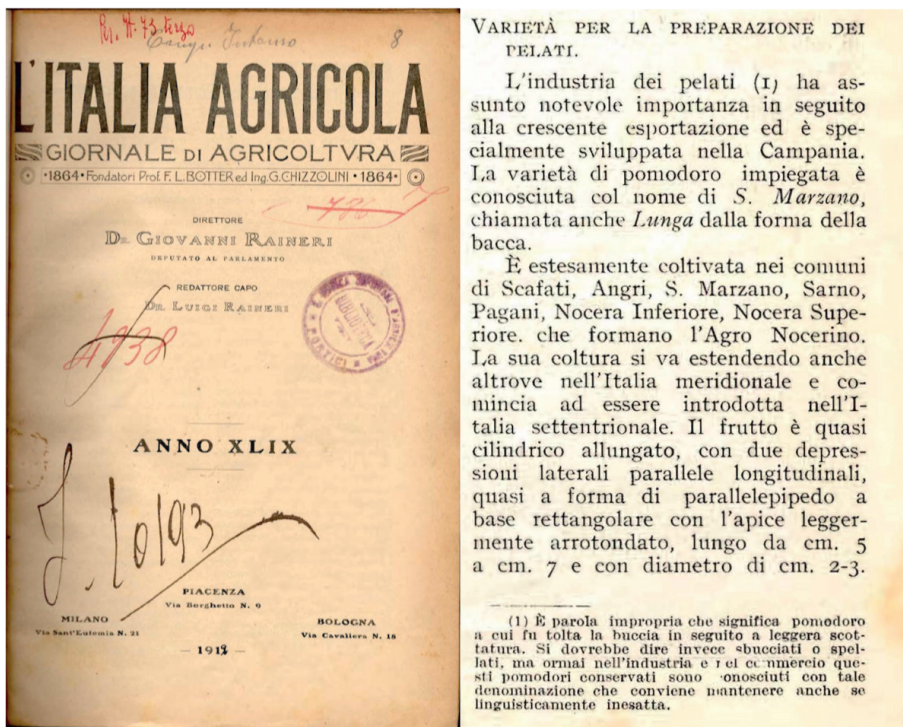


Fig. 2 Prima descrizione del pomodoro 'San Marzano' apparsa sulla rivista «Italia Agricola» nel 1912

sità degli Studi della Tuscia, anche in questi atenei furono avviati importanti programmi di ricerca sulla genetica del pomodoro, così come il CNEN, oggi ENEA, continuò l'attività di ricerca sulla genetica del pomodoro.

IL MIGLIORAMENTO GENETICO DEL POMODORO AL CNEN-ENEA ROMA

Con l'istituzione del laboratorio per le Applicazioni in Agricoltura, presso il CNEN, prende avvio anche il primo programma italiano di miglioramento genetico del pomodoro realizzato da un ente pubblico. Il responsabile delle attività di miglioramento genetico era Luigi Monti che avviò un articolato programma di ampliamento della variabilità genetica, utilizzando sia la mutagenesi sia gli incroci inter-specifici. La mutagenesi fu impiegata, soprattutto, per ottenere mutanti in *cultivar* di pomodoro (*Solanum lycopersicum*) da usare negli incroci per ottenere linee superiori. Gli incroci inter-specifici furono

utilizzati per trasferire geni di resistenza e, più in generale, germoplasma esotico da specie selvatiche al pomodoro coltivato. Le attività di ricerca condotte in quegli anni al CNEN portarono alla costituzione delle prime due *cultivar* di pomodoro da pelato costituite da un ente pubblico: ‘Vesuvio’ e ‘Sorrento’, varietà ad *habitus* determinato e bacca allungata, ottenute da incroci con linee migliorate di ‘San Marzano’. In particolare la *cultivar* ‘Sorrento’ fu incrociata con la *cultivar* americana ‘Fireball’, mentre la *cultivar* ‘Vesuvio’ con una linea canadese ‘Linea Guelph 1’ che trasferì alla nuova varietà precocità e colore rosso intenso delle bacche (gene *ogc*). Presso il CNEN fu anche costituita una varietà di pomodoro da mensa, in collaborazione con l’università di Torino: TePo (Tevere-Po). Quest’ultima varietà derivava dall’incrocio tra un ecotipo piemontese e una linea, ottenuta da incroci inter-specifici, resistente al virus del mosaico del tabacco (Tmv). Nei laboratori per l’Applicazione dell’Energia Nucleare in Agricoltura, furono elaborati nuovi protocolli di mutagenesi abbinati anche alle tecniche di coltura *in vitro* e fu applicata per la prima volta la tecnica *embryo rescue* per superare le barriere di incompatibilità tra *S. lycopersicum* e *S. peruvianum*. Infatti, l’allora *Lycopersicon peruvianum* era il donatore principale di alleli per la resistenza a virosi in pomodoro. L’attività di miglioramento genetico in pomodoro è proseguita al CNEN, anche dopo il trasferimento di Monti all’Università degli Studi di Napoli Federico II. Prima con Saccardo, che continuò a studiare i geni di resistenza a stress biotici (soprattutto virus) e, in seguito al trasferimento di Saccardo a Napoli, le attività proseguirono sotto la responsabilità dei ricercatori già in forza al CNEN, che si erano formati alla loro scuola, e di altri giovani assunti per rafforzare il nuovo ente, “il Consiglio nazionale per la ricerca e lo sviluppo dell’Energia Nucleare e delle Energie Alternative (ENEA)” nato dal riordino del CNEN.

Le nuove attività avviate all’ENEA da Giovanni Giuliano e Gianfranco Diretto furono indirizzate al miglioramento della qualità del frutto in relazione al contenuto di molecole nutrizionali e anti-nutrizionali. Più nel dettaglio, attraverso approcci di transgenesi a carico della via biosintetica dei carotenoidi, sono state realizzate linee arricchite in β -carotene e xantofille (zeaxantina, violaxantina e neoxantina), mediante l’espressione ectopica dei geni codificanti per la licopene β -ciclasi, da sola o in combinazione con la β -carotene idrossilasi. Tali modificazioni hanno evidenziato alterazioni positive a carico di una serie di molecole a elevato valore aggiunto (tocoferoli, fenilpropanoidi), e della serbevolezza, con un aumento della *shelf-life* fino a 5 volte rispetto ai frutti non modificati.

Più recentemente, sono stati utilizzati approcci di editing genomico, mediante la tecnologia CRISPR/Cas9, per ottenere ideotipi con ridotto contenuto in glicoalcaloidi e allergeni (fino al 99% del contenuto dei frutti *wild-type*);

tali risultati sono stati ottenuti mediante lo spegnimento delle funzioni geniche del citocromo P450 GAME4 (*glycoalkaloid metabolism 4*) e della proteina PR-10. Tali frutti sono caratterizzati da un aumento in saponine e fitosteroli, molecole ad azione positiva per la salute umana.

L'ENEA ha, infine, fatto parte del consorzio del progetto H2020 TRADITOM, nel quale sono state inizialmente fenotipizzate e genotipizzate 1.500 accessioni di pomodoro, comprendenti varietà tradizionali e moderne, e specie selvatiche affini. I risultati di tali analisi hanno consentito di determinare la variabilità genetica del pomodoro europeo e di costituire un sottogruppo che rappresentasse la massima variabilità genetica riscontrata, da sottoporre a una estesa caratterizzazione dei profili metabolici. In tal modo, integrando tutti i dati prodotti nel corso del progetto (fenotipici, genomici e metabolomici), si è provveduto a individuare QTL associati a caratteri legati alla qualità nutrizionale e sensoriale attraverso un approccio di *association mapping*.

IL MIGLIORAMENTO GENETICO DEL POMODORO A PORTICI, UNIVERSITÀ E CNR

Con il trasferimento di Monti alla Facoltà di Agraria fu avviata, anche a Portici, un'importante attività di miglioramento genetico del pomodoro in continuità con quanto aveva già realizzato in Casaccia a Roma. Monti al CNEN aveva costituito due *cultivar* di pomodoro da industria destinate alla produzione di pelati e la sua attività proseguì, nella stessa direzione, anche a Portici. Infatti, insieme ai suoi primi collaboratori e studenti cominciò a esplorare la variabilità genetica presente nell'ecotipo 'San Marzano' e continuò a effettuare incroci inter- ed intra-specifici per aumentare la variabilità genetica. Le attività di ricerca sul pomodoro si ampliarono notevolmente con l'istituzione, da parte del CNR, del Centro di Miglioramento Genetico delle Piante, che trovò la sua collocazione in una struttura della Facoltà di Agraria, "il Castello", ristrutturato e rifunzionalizzato per ospitare sia i ricercatori dell'Università sia quelli del CNR impegnati nelle ricerche in genetica agraria.

A partire dagli anni '80, presso i laboratori del "Castello" di Portici, i ricercatori dell'Università degli Studi di Napoli Federico II e del CNR, avviarono un'intensa attività di ricerca sul pomodoro finalizzata: (i) al miglioramento della qualità del frutto e dell'interazione con l'ambiente, (ii) alla costituzione di nuove varietà, anche in collaborazione con ditte sementiere campane e (iii) allo studio della diversità genetica presente nella specie, affiancando i metodi tradizionali all'uso delle tecnologie "omiche" e delle biotecnologie.

Per quanto riguarda l'Università, le attività di ricerca furono indirizzate principalmente allo studio della variabilità fenotipica, genetica e genomica

e alla selezione di linee superiori anche mediante l'uso di marcatori molecolari (Barone). Tali studi portarono all'ottenimento di linee migliorate per resistenza a patogeni e per caratteristiche qualitative della bacca. Col passare degli anni, l'utilizzo dei marcatori molecolari velocizzò e aumentò l'efficienza di realizzazione degli schemi di *breeding*, principalmente basati sul reincrocio, portando alla selezione di molte linee resistenti anche a più patogeni contemporaneamente (fig. 3). Nel corso degli anni, sono stati sviluppati nuovi tipi di marcatori molecolari: si è passati così dagli iniziali marcatori RFLP a marcatori più vantaggiosi e di più facile utilizzo, quali RAPD, AFLP, SCAR o CAPS che hanno consentito la selezione assistita positiva e negativa, a integrazione del miglioramento genetico classico (fig. 4).

Dopo circa una decina di anni, in cui sono state acquisite diversificate esperienze nell'utilizzo dei diversi tipi di marcatori molecolari come ausilio alle attività del *breeding*, nel 2004 i ricercatori del "Castello" sono stati chiamati ad affrontare una grande sfida in un contesto internazionale che ha visto coinvolti 14 Paesi: il sequenziamento del genoma del pomodoro. Al gruppo di laboratori italiani coinvolti, è stato affidato il sequenziamento del cromosoma 12, che ha richiesto un grosso sforzo organizzativo, scientifico ed economico, culminato, nel 2012, con la pubblicazione dell'intero genoma sulla rivista «Nature». Nel corso di questa attività il gruppo di Portici che ha lavorato sul pomodoro si è ingrandito in numero e competenze. Il progetto di sequenziamento ha consentito, infatti, la realizzazione di diverse attività satellite basate sull'uso di strumenti di genomica, trascrittomica, bioinformatica, che hanno contribuito all'ulteriore crescita del gruppo in ambito nazionale e internazionale.

La plasticità del genoma del pomodoro e la selezione genomica per stress ambientali

I genomi sono plastici per rispondere rapidamente a fattori genetici e ambientali. La plasticità del genoma del pomodoro può essere osservata durante l'intero ciclo di crescita e sviluppo della pianta e la sua interazione con l'ambiente. L'analisi del trascrittoma di varietà diverse di pomodoro (Ercolano) ha evidenziato geni espressi in ambienti diversi capaci di influenzare la qualità sensoriale dei pomodori. La composizione della parete cellulare e l'etilene esercitano un ruolo fondamentale nel determinare la qualità del frutto e l'accumulo di metaboliti legati al gusto e all'aroma. L'analisi dei *network* genici ha permesso di seguire le traiettorie trascrittomiche, metaboliche e sensoriali modificate ad opera di geni duplicati che stabiliscono collegamenti

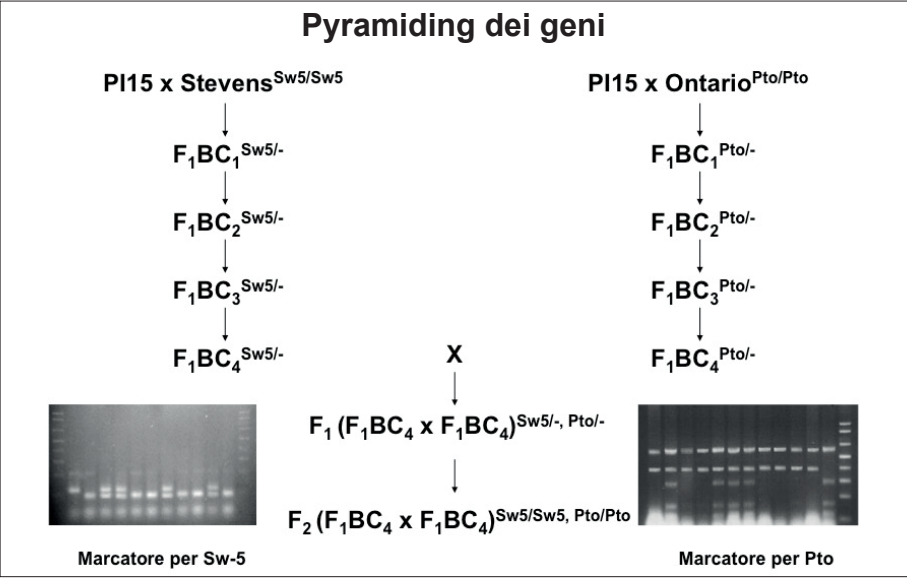


Fig. 3 Schema di incrocio per il “pyramiding” dei geni di resistenza *sw-5* (“tomato spotted wilt virus”) e *pto* (“bacterial pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* race”)

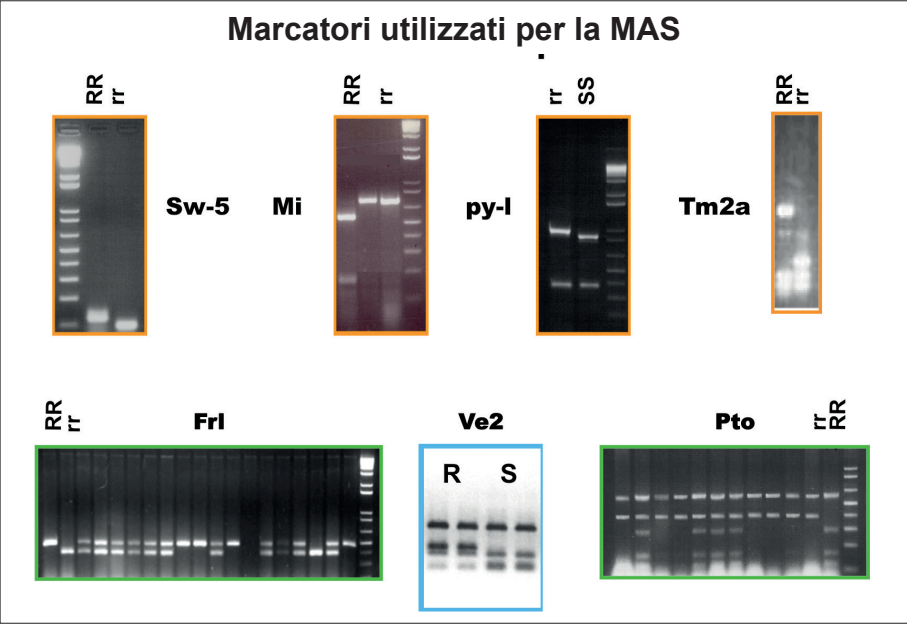


Fig. 4 Elettroforesi di DNA su gel di agarosio di diversi marcatori utilizzati per la selezione assistita (MAS, marker assisted selection)

mutevoli nei diversi ambienti. La resilienza genotipica all'ambiente è mediata da un certo numero di geni comuni e da un adeguato controllo dell'espressione genica. Quanto evidenziato in questo studio fornisce un contributo rilevante per la comprensione dei meccanismi alla base della plasticità genomica. Quest'ultimo è argomento di un'importanza crescente in uno scenario in cui i cambiamenti climatici stanno determinando seri problemi in agricoltura. Recentemente per selezionare linee di pomodoro resistenti alle alte temperature è stato anche utilizzato un approccio di selezione genomica. Una popolazione segregante F4, derivante da una varietà di pomodoro precedentemente selezionata per la resa e contenuto in solidi solubili (SSC) in condizioni di stress termico, è stata caratterizzata a livello fenotipico e genotipico mediante *genotyping-by-sequencing*. Circa 10.000 SNP (*single nucleotide polymorphism*) sono stati utilizzati per predire il valore genetico dei candidati per il successivo ciclo di selezione. La predizione per caratteri complessi come la resa di produzione e il SSC è risultata superiore al 70%. Questa strategia ha permesso di aumentare l'efficienza del programma di selezione; tuttavia lo sviluppo di modelli, la scelta dei marcatori molecolari e lo stadio di selezione ottimale sono ancora definiti in modo empirico e devono essere ottimizzati nel prossimo futuro.

Bioinformatica e analisi strutturale e funzionale del genoma di pomodoro

Nel recente passato i progetti internazionali volti a sequenziare l'intero genoma di organismi modello erano spesso affiancati da iniziative per il sequenziamento del trascrittoma nella forma di frammenti di sequenza espressa (ESTs; *expressed sequence tags*). Tali iniziative erano indispensabili per favorire la ricerca, l'identificazione e la caratterizzazione funzionale dei locus genici. Nel 2005 il laboratorio di Bioinformatica (Chiusano, D'Agostino) ha sviluppato una *pipeline*, denominata ParPEST (*Parallel Processing of ESTs*), per ricostruire i trascritti a partire dalle sequenze EST e fornirne una annotazione funzionale preliminare. La disponibilità di questa *pipeline* ha consentito lo sviluppo di banche dati secondarie (i.e., TomatEST, SolEST) che integravano informazioni sulle sequenze EST generate da diverse librerie di più specie di pomodoro e, più in generale, di specie appartenenti alla famiglia delle Solanaceae. Sulla base delle esperienze maturate, il laboratorio ha aderito all'iTAG (*international Tomato Annotation Group*), all'interno del quale si è occupato dell'annotazione strutturale del genoma del pomodoro utilizzando metodi comparativi (allineamento delle EST e dei trascritti ricostruiti lungo il genoma) e ha contribuito alla costruzione di un *dataset* affidabile di geni modello (sviluppando

un *software* ad hoc, GeneModelEST) utilizzato per l'addestramento di metodi di predizione genica *ab initio*. Con la comparsa delle tecniche di sequenziamento di nuova generazione (NGS), il laboratorio ha cominciato a sviluppare metodi, strumenti e strategie per l'analisi dei dati NGS, indirizzati principalmente allo studio dei trascrittomi (*RNA-sequencing*) e alla determinazione dei profili di espressione genica in pomodoro.

Per quanto riguarda le attività del CNR, Istituto di Bioscienze BioRisorse, esse possono essere ricondotte a tre filoni principali:

1. *Genomica strutturale e variabilità genetica: applicazioni per il miglioramento del pomodoro*

Lo sviluppo della tecnologia dei marcatori molecolari e delle mappe genetiche ha promosso una rapida evoluzione dello studio delle basi genetiche dei caratteri importanti per il miglioramento genetico delle colture. Molti di questi caratteri sono quantitativi, pertanto l'identificazione di marcatori molecolari associati ai loci che influenzano tali caratteri poligenici (QTL) ha reso possibile il passaggio dal miglioramento genetico classico basato sull'osservazione del fenotipo a nuove strategie di *breeding* assistito dall'uso di marcatori molecolari. L'evoluzione delle tecniche di sequenziamento ha permesso l'identificazione di polimorfismi e geni candidati che contribuiscono a caratteri d'interesse in specie selvatiche e varietà tradizionali.

Il CNR-IBBR di Portici ha contribuito allo sviluppo della mappa RFLP ad alta densità del pomodoro e all'applicazione del metodo *advanced backcross* QTL, per l'identificazione di numerosi QTL di origine selvatica potenzialmente utili per il miglioramento di varietà *elite* di pomodoro (Grandillo).

La biodiversità naturale presente nelle specie selvatiche e in varietà tradizionali costituisce una preziosa risorsa per il miglioramento genetico del germoplasma coltivato e di *elite*.

Le specie selvatiche, in particolare, possono rappresentare una fonte utile di variabilità genetica anche per il miglioramento di caratteri quantitativi per i quali mostrano fenotipi inferiori. Pertanto, al fine d'incrementare le potenzialità del miglioramento genetico basato sull'introggressione di QTL dalle specie selvatiche al pomodoro coltivato, è stata sviluppata e caratterizzata una collezione di popolazioni inter-specifiche di linee d'introggressione (IL, sub-IL e BIL), derivate da quattro diverse specie selvatiche, e ancorate al genoma del pomodoro. Una delle popolazioni è costituita da un nuovo *set* di IL della specie selvatica *Solanum habrochaites* (acc. LA1777) (SH), le cui introggressioni sono state definite a livello di singolo cromosoma facilitandone l'uso per il miglioramento genetico di numerosi caratteri d'interesse. Alcune delle nuove SH IL hanno rappresentato un valido strumento per

la validazione di QTL per composti volatili del frutto e per l'identificazione di regioni genomiche associate alla resistenza all'insetto *Tuta absoluta*.

Una popolazione di linee IL della specie selvatica *Solanum chimielewskii* è stata utilizzata per studiare le basi biochimiche e molecolari del mutante *y* (buccia trasparente) sul cromosoma 1, che, in combinazione con mesocarpo rosso, determina una colorazione rosa del frutto di pomodoro. L'analisi integrata ha identificando *SlMYB12* quale probabile candidato per la mutazione *y*, che pertanto può essere utilizzato come un efficiente marcatore genetico per selezionare il fenotipo rosa in programmi di miglioramento genetico.

Il sequenziamento del genoma plastidiale di varietà tradizionali campane e di specie selvatiche (*S. pimpinellifolium*, *S. neorickii*) ha dimostrando la scarsa variabilità genetica del pomodoro coltivato anche nel DNA citoplasmatico e l'esistenza di un potenziale collo di bottiglia occorso durante la domesticazione del pomodoro (Scotti).

Inoltre, al fine di identificare geni e varianti alleliche superiori, sono stati risequenziati i genomi delle varietà locali campane Lucariello e Crovarese, che appartengono alla tipologia "pomodoro da serbo" e che presentano tratti di maggiore qualità e conservabilità del frutto e di adattamento a condizioni ambientali subottimali. I risultati hanno dimostrato la presenza in entrambi i genotipi di regioni caratteristiche dei genomi di *S. pimpinellifolium* e *S. pennellii*, e la presenza di polimorfismi in geni coinvolti nella tolleranza a stress e nella maturazione del frutto, inclusi componenti della risposta all'ormone etilene (Grillo, Tucci). La presenza di tali polimorfismi è stata confermata mediante un'analisi SNP array su una più ampia collezione di genotipi Italiani "da serbo". Tale analisi ha inoltre dimostrato che le accessioni di "pomodoro da serbo" del sud Italia si differenziano geneticamente da altre tipologie di pomodoro e ha identificato ulteriori geni candidati come responsabili dei caratteri di qualità e conservabilità del frutto e di tolleranza a stress ambientali di tali "landraces" (Grillo).

2. Genomica funzionale per l'analisi dell'interazione pianta-ambiente

Negli anni sono stati condotti diversi studi volti all'identificazione di geni e allo studio dei meccanismi molecolari utili ai fini del miglioramento genetico per la risposta a stress e per l'interazione con microrganismi benefici.

Lo stress da elevate temperature costituisce una delle principali cause di perdita di produzione in pomodoro, riducendo la vitalità e germinabilità del polline e la fruttificazione. Studi molecolari e proteomici hanno permesso di identificare il ruolo del fattore di trascrizione HsfAII, e di proteine, quali glutamina sintetasi e polifenolo ossidasi, in meccanismi di protezione delle antere in condizioni di stress da caldo (Grillo).

Le risposte a stress idrico sono state investigate in studi molecolari, fisiologici e proteomici, in varietà commerciali, in genotipi mutanti e in ecotipi tradizionali caratteristici del sud Italia, adattati a condizioni di bassa disponibilità idrica, permettendo l'identificazione di geni, proteine e risposte biochimiche associate ai meccanismi di tolleranza. La validazione funzionale di alcuni dei geni candidati identificati è in corso anche attraverso l'utilizzo delle *new breeding technologies* (Batelli).

L'interazione con microrganismi benefici della rizosfera è stata esplorata in diversi studi volti alla comprensione dei meccanismi molecolari elicitati, dimostrando che la promozione della crescita mediata da funghi del genere *Trichoderma* è genotipo-dipendente, e mediata dall'induzione di geni, trascritti e proteine coinvolti nell'acquisizione di nutrienti, nella detossificazione di specie reattive dell'ossigeno e nella difesa da patogeni. Si è inoltre dimostrato che proteine, coinvolte nell'interazione con microrganismi e nella difesa da patogeni fungini, sono rilasciate dall'apparato radicale di pomodoro attraverso vescicole extracellulari, indicando un nuovo meccanismo d'interazione della pianta con l'ambiente circostante (De Palma, Tucci).

3. *Approcci multidisciplinari per il miglioramento della qualità sensoriale del pomodoro*

Una sempre più diffusa insoddisfazione dei consumatori nei confronti del sapore della maggior parte delle varietà di pomodoro commerciali rende necessari studi volti al miglioramento della qualità sensoriale del frutto di pomodoro. A tal fine, sono stati condotti studi multidisciplinari che attraverso l'integrazione di dati fisico-chimici, incluso i volatili, profili sensoriali e preferenze dei consumatori hanno identificato il sapore e la consistenza quali fattori principali nel guidare la scelta dei consumatori. Recentemente, utilizzando un approccio simile è stato condotto uno studio su varietà tradizionali di pomodoro da consumo fresco confrontate con gli omologhi commerciali dal quale è emerso che il miglioramento genetico si sta muovendo nella giusta direzione anche in termini di qualità sensoriale (Grandillo).

MIGLIORAMENTO GENETICO DEL POMODORO PRESSO ISTITUTI SPERIMENTALI
DI RICERCA (IRSA) E CRA/CREA

Il miglioramento genetico del pomodoro presso gli ex Istituti di Ricerca e Sperimentazione Agricola dell'allora Ministero dell'Agricoltura e Foreste oggi CREA (Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria – Ente autonomo che opera sotto il controllo del Ministero per le politiche

Agricole) è iniziato alla fine degli anni '60 con Lelio Uncini. Lelio Uncini era a quel tempo ricercatore presso il Centro Appenninico del Terminillo di Rieti, fondato nel 1949 dal prof. Carlo Jucci dell'Università degli Studi di Pavia. Come noto Jucci fu uno dei pionieri della ricerca genetica in Italia, e Uncini sotto la sua guida avviò un importante programma di miglioramento genetico in diverse specie ortive, tra le quali il pomodoro.

Iniziò collezionando germoplasma di pomodoro proveniente da tutta la penisola e attraverso la sua valutazione avviò un programma di selezione finalizzato alla costituzione di nuove varietà di pomodoro, sia da mensa sia da industria, in quest'ultimo caso puntando su piante a sviluppo determinato. L'individuazione di alcune accessioni e la loro diffusione presso gli agricoltori, incentivarono la produzione del pomodoro da industria nella piana reatina e una accessione "Italo 61" ebbe anche un discreto successo.

Con la nascita degli Istituti Sperimentali e il loro insediamento sui territori, Uncini si trasferì presso Istituto Sperimentale per l'Orticoltura, sede di Monsampolo.

Valorizzazione del germoplasma italiano di pomodoro e costituzione di nuove varietà

All'epoca a San Benedetto del Tronto operavano i più importanti esportatori di pomodoro da mensa italiano, soprattutto verso i mercati del centro e nord Europa. Negli anni '60 il pomodoro esportato era il "Tondo liscio", una tipologia con frutti perfettamente tondi del peso medio inferiore a 100 grammi, raccolto verde. La varietà più coltivata per l'esportazione era la *cultivar* 'Moneymaker'. Si trattava di una varietà con piante poco vigorose e con scarsa copertura dei frutti che venivano diffusamente danneggiati da *blotchy ripening*, inoltre i frutti erano anche poco consistenti e avevano una limitata conservabilità. 'Moneymaker' era una *cultivar* più adatta alle coltivazione sotto serra che a quella in pieno campo ma in Italia, in quel periodo, il pomodoro da mensa veniva coltivato quasi esclusivamente in pieno campo.

Messo di fronte a questa evidenza e sfruttando l'ampia collezione di germoplasma raccolto, Uncini effettuò un articolato programma di incroci e selezionò la varietà 'Picenum', da una delle popolazioni segreganti. 'Picenum' presentava piante vigorose, aveva frutti più grandi di 'Moneymaker' e aveva il fogliame coprente che proteggeva le bacche dalle alte temperature. La *cultivar* 'Picenum' ebbe un grande successo e nel giro di poco tempo sostituì 'Moneymaker' nelle coltivazioni del pomodoro da mensa in Italia.

L'avvento degli ibridi e la concorrenza delle produzioni olandesi e spagnole in coltura protetta indussero Uncini e i suoi collaboratori ad avviare program-

mi di *breeding* che tenessero conto delle nuove esigenze di mercato, ovvero costituire ibridi di pomodoro con piante vigorose, produttive, resistenti ai principali agenti patogeni terricoli, con bacche adatte alla raccolta allo stadio invaiato, consistenti e di lunga conservazione. Tra gli ibridi, costituiti da Uncini 'Giasone' è stato quello che ha riscontrato più successo; infatti per anni è stato l'unico pomodoro tondo da mensa italiano a essere esportato all'estero. Fu ottenuto da linee migliorate tramite incroci intra-specifici resistenti a patogeni, nelle quali furono trasferiti anche i geni *rin* e *nor* che conferirono ai frutti elevata consistenza e una lunga conservabilità in post-raccolta. Per la sua commercializzazione fu costituito anche un consorzio di produttori e per la sua diffusione fu avviata una collaborazione con la ditta Semenco di Cesena. Questa fu anche la prima collaborazione pubblico/privato avviata dal Ministero dell'Agricoltura e Foreste. La collaborazione risultò strategica e fu fondamentale per diffondere altri ibridi di pomodoro tondo da mensa quali: 'Anceo', 'Linceo' e 'Polluce'.

Sempre presso l'Istituto di Monsampolo per iniziativa di Nazzareno Acciarri, a partire dagli anni '90, nel rispetto degli indirizzi politici del MAF e in collaborazione con gli enti locali, iniziò un vasto recupero di accessioni di tipologie locali tradizionali e venne avviato un programma di *breeding* per migliorare i caratteri del frutto, della pianta e per trasferire resistenze genetiche a patogeni. Lo stesso Istituto fu pioniere nel miglioramento genetico degli ecotipi 'Cuor di Bue di Albenga', 'Pera d'Abruzzo', 'Rosa di Sorrento' e altre. Soprattutto il primo si sarebbe diffuso largamente nelle coltivazioni dei pomodori da mensa. Oltre ai finanziamenti pubblici furono essenziali le collaborazioni con varie ditte sementiere quali: Four, Blumen, ISI e altre ancora che per riservatezza contrattuale scelsero di non essere menzionate pubblicamente. I loro finanziamenti e soprattutto il loro supporto tecnico contribuirono a diffondere i risultati di queste ricerche rappresentati principalmente dalla costituzione di numerose varietà di successo ('Cuorbenga', 'Margot', 'Perbruzzo', 'Corallo', 'Costiera', ecc.)

Studio di mutanti e ottenimento di linee partenocarpiche

Sempre negli anni '70 e sempre presso l'Istituto Sperimentale per l'Orticoltura sede di Pontecagnano, anche Gianpiero Soressi avviò un importante programma di miglioramento genetico del pomodoro. Le attività furono principalmente incentrate sullo studio della partenocarpia e dei mutanti monosteli. Tra le attività più importanti va menzionata la costituzione di linee con il gene *pat* responsabile della partenocarpia. Questo carattere fu trasferito in

diverse tipologie di pomodoro, ottenendo genotipi con frutti partenocarpici di elevata qualità, di dimensioni e forma uguali a quelle dei frutti fecondati. Fu anche dimostrato come in ambiente mediterraneo, il gene *pat-2* riusciva a migliorare l'allegagione ma anche il peso del frutto. Le attività riguardarono anche lo sviluppo di nuovi genotipi di pomodoro adatti per colture fuori suolo in serra, idonei per le coltivazioni ad alta densità (10-14 piante/m²) e sistemi colturali a ciclo breve da realizzare senza l'utilizzo di trattamenti con auxina per allegagione. Le attività di ricerca, condotte principalmente tra il 1987 e il 1992, furono concentrate sulla selezione di genotipi partenocarpici monosteli (gene *to-2*) adatti per coltivazioni mediante tecnica NFT (tecnica del film nutritivo). In seguito, le attività di *breeding* furono rivolte allo sviluppo di varietà da industria tipo "ciliegino"; in particolare, va ricordata la varietà 'Parteno' estremamente fertile e di eccellente qualità.

Vanno inoltre riportate le attività di mutagenesi per lo sviluppo di mutanti mediante trattamento dei semi con raggi X e etilmetansolfonato (EMS). Furono ottenuti diversi mutanti tramite irradiazione per caratteri come la germinazione, altezza della piantina, tempo di fioritura e maturazione, dimensione dei frutti e numero di semi per frutto. Diversi mutanti furono ottenuti anche con trattamenti con EMS delle varietà 'San Marzano' e 'Sioux'; in questo caso le mutazioni interessarono più la pigmentazione delle foglie e la struttura dei fiori, particolarmente interessanti furono anche le varianti somaclonali indotte da mutagenesi chimica. Di particolare interesse furono le linee mutate per la colorazione antocianica e per frutti molto amari (bitter fruit, *bf*) ottenute dal trattamento della *cultivar* 'UC82'. Per quest'ultima mutazione, fu individuata una relazione causale tra il gusto amaro e un alto contenuto di tomatina.

Sviluppo di popolazioni ricombinanti

Negli ultimi anni le attività hanno riguardato, soprattutto, la valorizzazione di risorse genetiche e lo sviluppo di popolazioni ricombinanti per diversi caratteri. Infatti, la ricerca condotta da Pasquale Tripodi ha riguardato lo studio delle basi genetiche di caratteri d'interesse agronomico e qualitativo in collezioni presenti presso l'Istituto; nel caso specifico sono stati scelti ecotipi, varietà locali per il consumo fresco e "linee da serbo" dotate di buona conservabilità post-raccolta, varietà tradizionali; sono state incluse nel disegno sperimentale anche linee migliorate, al fine di avere un'ampia collezione di risorse (circa 400 genotipi) in grado di rappresentare la variabilità genetica e fenotipica esistente. Questi materiali sono stati caratterizzati con tecnologie NGS, al fine di investigare in modo fine la diversità genomica e la struttura

di popolazione. La valutazione in pieno campo e in più ambienti e/o anni, ha permesso, e sta permettendo, di identificare nuovi alleli d'interesse mediante analisi GWAS.

Le attività di ricerca si sono realizzate mediante un'interazione sinergica tra le 3 strutture di ricerca situate in Campania permettendo il coinvolgimento di competenze specifiche, di *breeding*, biologia molecolare e *phenotyping*, consentendo infine di instaurare collaborazioni con istituti di ricerca internazionali.

IL MIGLIORAMENTO GENETICO DEL POMODORO PRESSO L'UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELLA TUSCIA

Il trasferimento di Gianpiero Soressi a Viterbo comportò anche l'avvio di un importante programma di miglioramento genetico del pomodoro. Soressi aveva maturato una grande esperienza in questo settore studiando la partenocarpia e la maschiosterilità, ricorrendo all'impiego della mutagenesi e allo studio dei mutanti, costituendo nuove varietà. All'Università degli Studi della Tuscia continuò e ampliò queste attività insieme ad Andrea Mazzucato. Infatti, le ricerche svolte hanno abbracciato molti campi di studio, includendo la raccolta e conservazione del germoplasma, la sua caratterizzazione (con enfasi per le varietà locali), l'uso delle colture *in vitro*, le tecniche di trasformazione per la resistenza a stress biotici (batteri, funghi e insetti) e abiotici (stress termico e salino), l'analisi genetica per la mappatura e l'isolamento di geni di interesse (mutanti del portamento, mutanti partenocarpici e maschiosterili). Nel campo del *breeding* per la diversificazione del colore e della qualità della bacca sono state realizzate diverse selezioni e costituzioni tra cui l'introgresione di mutazioni in differenti *background* genetici e la costituzione di doppi mutanti con fenotipi innovativi come la bacca verde (Kiwi *tomato*) e nera (Sun BlackTM).

PROSPETTIVE

Con gli inizi degli anni Duemila e il consolidarsi degli studi in genomica e più in generale nelle discipline "omiche", i ricercatori, che si occupavano di questa specie, riorientarono le loro attività di ricerca verso questa nuova branca della biologia molecolare, ottenendo eccellenti risultati e contribuendo al sequenziamento del suo genoma. Oggi i gruppi che utilizzano il pomodoro come pianta modello nelle loro ricerche in genetica e nelle scienze "omiche", sono

cinque: Università degli Studi di Napoli Federico II e IBBR (CNR) a Portici, Università degli Studi della Tuscia a Viterbo, ENEA a Roma e CREA di Ponzanico. Molti di questi ricercatori sono coordinatori d'importanti progetti di ricerca europei e contribuiscono in maniera rilevante al progresso degli studi della biologia dei sistemi in pomodoro. Un altro settore che vede sempre più spesso impegnati ricercatori italiani è quello salutistico- nutraceutico.

LA RICERCA DEI PRIVATI

La coltivazione del pomodoro in Italia era diventata, dopo gli anni '50, sempre più importante e punto di riferimento per tutto il bacino del Mediterraneo. Ciò spinse la Petoseed Co.Inc. (oggi gruppo Bayer), una delle più importanti aziende sementiere americane dell'epoca, a investire in Italia. La ricerca della Petoseed in quel periodo era finalizzata a sviluppare varietà OP (Open-Pollinated) prevalentemente per le aziende di trasformazione dell'Italia settentrionale. Da lì la ricerca si spostò verso la tipologia allungata per la produzione di pelati nelle province di Napoli e Salerno, ottenendo, tramite i primi programmi di reincrocio, varietà OP a frutto allungato su pianta determinata. In questo modo furono costituite le prime varietà a sviluppo determinato, 'Chico III', 'Ventura' e 'Roma' immediatamente accettate dalle industrie di trasformazione per l'ottima qualità dei frutti, in termini soprattutto di sapore, colore e pelabilità.

Trattandosi però di varietà OP, per quanto fossero ad *habitus* determinato e adatte al pieno campo, esse non avevano la produttività, la contemporaneità di maturazione e l'uniformità delle bacche, tutte caratteristiche necessarie a garantire un reddito accettabile per gli agricoltori.

Nel frattempo negli Stati Uniti, prevalentemente in California, si stavano affermando le prime varietà ibride che sfruttavano l'effetto eterotico e l'inserimento di resistenze a diversi patogeni: *Verticillium*, *Fusarium*, *Pseudomonas* e nematodi. Il successo delle varietà ibride di pomodoro, specie autogama, andò oltre ogni più rosea previsione.

Questi risultati convinsero la Petoseed a potenziare la ricerca in Italia, inaugurando un centro di ricerca nei pressi di Latina, per avviare programmi di ricerca finalizzati a soddisfare le esigenze del mercato locale e più in generale di quello del Mediterraneo. Dalla ricerca italiana della Petoseed, nacquero, infatti, i primi ibridi a tipologia allungata; tra questi 'Hypeel 244', divenuto commerciale nel 1980. Tale ibrido divenne dominatore del mercato perché soddisfaceva sia le esigenze dei produttori, superando in media i 1000 q.li/ha, sia quelle delle industrie di trasformazione, che finalmente avevano trovato un prodotto in grado di rispondere perfettamente alle loro esigenze, in termini di

forma, grandezza, uniformità e qualità delle bacche, adattandosi alla pelatura ed alle varie dimensioni dei barattoli da commercializzare (principalmente il ½ chilo, il chilo e i 3 chili).

I nuovi ibridi costituiti a Latina ('Docet', 'Eventus', 'Herdon') rivoluzionarono il panorama varietale dei pelati, per l'adattabilità alla raccolta meccanica, per la qualità e per la potenzialità produttiva. 'Docet', in particolare è stato l'ibrido più venduto negli ultimi quindici anni.

In questi ultimi anni altre aziende sementiere italiane hanno attivato programmi di *breeding* in pomodoro, come La Semiorto Sementi, l'ISI Sementi, la Esasem, la Farao, ottenendo risultati soddisfacenti. In particolare, la Semiorto Sementi, con sede a Sarno, si è interessata soprattutto del recupero e della valorizzazione degli ecotipi campani di pomodoro. L'ISI Sementi, con sede a Fidenza, ha ottenuto importanti risultati nelle tipologie lunghe da pelato, infatti alcuni degli ibridi costituiti ('Mariner', 'Novak', 'Performer') hanno avuto grande successo in Italia. La Farao, anch'essa con sede a Sarno, ha ottenuto buoni risultati sia nella costituzione di ibridi da pelato ('Red Magic') sia nella costituzione della tipologia "ciliegino" ('Rondo', 'Biliardino').

RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano per il loro contributo: Amalia Barone, Maria Raffaella Ercolano, Nunzio D'Agostino (Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Napoli Federico II); Stefania Grillo, Silvana Grandillo, Marina Tucci, Nunzia Scotti (Istituto di BioScienze e Biorisorse CNR); Giovanni Giuliano e Gianfranco Diretto (ENEA); Andrea Mazzuccato (Università degli Studi della Toscana); Nazareno Acciarri e Pasquale Tripodi (CREA, Centro di ricerca per l'orticoltura ed il florovivaismo); Francesco Saccardo e Giampiero Soressi.

RIASSUNTO

La diffusione della coltivazione del pomodoro in Italia ha portato alla nascita delle prime aziende sementiere che avviarono i primi programmi di selezione. All'inizio del secolo scorso, gli obiettivi di questi programmi erano volti a identificare genotipi che garantissero maggiori rese per ettaro e migliore resa alla trasformazione. I metodi di miglioramento erano basati principalmente sulla selezione massale, e in qualche caso anche su una sorta di selezione per linea pura, sfruttando popolazioni segreganti, ottenute da incroci casuali. Il miglioramento genetico del pomodoro, sulla base del deliberato ampliamento della variabilità genetica attraverso incroci inter- e intra-specifici, cominciò solo all'inizio degli anni '50.

In Italia, nella seconda metà del XX secolo, i gruppi di ricerca pubblici impegnati nel miglioramento genetico del pomodoro erano fondamentalmente tre, uno afferiva al CNEN

(Comitato Nazionale per l'Energia Nucleare, ora ENEA) di Roma e due al MAF (Ministero dell'Agricoltura e Foreste), Istituto Sperimentale per l'Orticoltura (ora CREA): Pontecagnano e Monsampolo del Tronto. In seguito, anche l'Università degli Studi di Napoli Federico II e l'Università degli Studi della Tuscia, avviarono importanti programmi di ricerca sulla genetica e il miglioramento genetico del pomodoro, così come il CNEN, oggi ENEA.

La ricerca dei privati si deve soprattutto alla Petoseed Co.Inc. (oggi gruppo Bayer), una delle più importanti aziende sementiere americane dell'epoca, che investì in Italia, realizzando un centro di ricerca a Latina, ottenendo eccellenti risultati. Da quel centro di ricerca, infatti, nacquero, gli ibridi a tipologia allungata, che hanno rivoluzionato il panorama varietale dei pomodori destinati alla produzione di pelati.

In questi ultimi anni altre aziende sementiere italiane hanno attivato programmi di *breeding* in pomodoro ottenendo risultati egregi.

ABSTRACT

The spread of tomato cultivation in Italy led to the birth of the first seed companies that started the first selection programs. At the beginning of the last century, the objectives of these programs were aimed at identifying genotypes that would guarantee higher yields per hectare and better inclination for processing. The improvement methods were mainly based on mass selection, and in some cases also on a sort of pure line selection, exploiting segregant populations obtained from random crossings. The genetic improvement of the tomato, based on the deliberate widening of genetic variability through inter- and intra-specific crosses, only began in the early 1950s.

In Italy, in the second half of the twentieth century, the public research groups involved in the tomato genetic improvement were basically three, the CNEN (National Committee for Nuclear Energy, now ENEA) in Rome and two under the umbrella of the MAF (Ministry of Agriculture and Forests), Experimental Institute for Vegetable Crops (now CREA): Pontecagnano and Monsampolo del Tronto. Later, also the University of Naples Federico II and the University of Tuscia, started important research programs on genetics and breeding of tomato, as well as CNEN (at present ENEA).

The research carried out by private companies is mainly due to Petoseed Co. Inc. (now Bayer), one of the most important American seed companies of the time, which invested in Italy, creating a research centre in Latina, obtaining excellent results. That research centre, in fact, developed several elongated-type hybrids, which revolutionized the varietal panorama of tomatoes intended for the production of peeled tomatoes.

In recent years, other Italian seed companies have activated tomato breeding programs, obtaining excellent results.

BIBLIOGRAFIA CONSULTATA

ACCIARRI N., ROTINO G.L., TAMIETTI G., VALENTINO D., VOLTATTORNI S., AND SABATINI E. (2007): *Molecular markers for Ve1 and Ve2 Verticillium resistance genes from Italian tomato germplasm*, «Plant Breeding», 126, pp. 617-621.

- ACCIARRI N., SABATINI E., CIRIACI T., ROTINO G.L., VALENTINO D. AND TAMIETTI G. (2010): *The Presence of Genes for Resistance against Verticillium dahliae in Italian Tomato landraces*, «Europ. J. Hort. Sci.», 75 (1), S. 8-14, ISSN 1611-4426.
- ALIBERTI A., OLIVIERI F., GRACI S., RIGANO M.M., BARONE A., RUGGIERI V. (2020): *Genomic dissection of a wild region in a superior Solanum pennellii introgression sub-line with high ascorbic acid accumulation in tomato fruit*, «Genes», 11 (8), art. no. 847, pp. 1-18, doi: 10.3390/genes11080847.
- ALSEEKH S., OFNER I., PLEBAN T., TRIPODI P., DI DATO F., CAMMARERI M., MOHAMMAD A., GRANDILLO S., FERNIE A.R., ZAMIR D. (2013): *Resolution by recombination: breaking up Solanum pennellii introgressions*, «Trends in Plant Science», 8 (10), pp. 536-538.
- BALLESTER A.R., MOLTHOFF J., DE VOS R., HEKKERT B.L., ORZAEZ D., FERNÁNDEZ-MORENO J.P., TRIPODI P., GRANDILLO S., MARTIN C., HELDENS J., YKEMA M., GRANELL A., BOVY A. (2010): *Biochemical and molecular analysis of pink tomatoes: deregulated expression of the gene encoding transcription factor SlMYB12 leads to pink tomato fruit color*, «Plant Physiology», 152, pp. 71-84.
- BALLESTER A.R., TIKUNOV Y., MOLTHOFF J., GRANDILLO S., VÍQUEZ-ZAMORA M., DE VOS R., DE MAAGD R.A., VAN HEUSDEN S., BOVY A.G. (2016): *Identification of loci affecting accumulation of secondary metabolites in tomato fruit of a Solanum lycopersicum × Solanum chmielewskii introgression line population*, «Front Plant Sci», 7, 1428.
- BLANDO F., BERLAND H., MAIORANO G., DURANTE M., MAZZUCATO A., PICARELLA M.E., NICOLETTI I., GERARDI C., MITA G. AND ANDERSEN Ø.M. (2019): *Nutraceutical Characterization of Anthocyanin-Rich Fruits Produced by “Sun Black” Tomato Line*, «Front. Nutr.», 6, 133, doi: 10.3389/fnut.2019.00133.
- CALAFIORE R., ALIBERTI A., RUGGIERI V., OLIVIERI F., RIGANO M.M., BARONE A. (2019): *Phenotypic and molecular selection of a superior solanum pennellii introgression sub-line suitable for improving quality traits of cultivated tomatoes*, «Front. Plant. Sci.», 10, doi: 10.3389/fpls.2019.00190.
- CALAFIORE R., RUGGIERI V., RAIOLA A., RIGANO M.M., SACCO A., HASSAN M.I., FRUSCIANTE L., BARONE A. (2016): *Exploiting genomics resources to identify candidate genes underlying antioxidants content in tomato fruit*, «Front. Plant. Sci.», 7, doi: 10.3389/fpls.2016.00397.
- CAPPETTA E., ANDOLFO G., DI MATTEO A., BARONE A., FRUSCIANTE L., ERCOLANO M.R. (2020): *Accelerating tomato breeding by exploiting genomic selection approaches*, «Plants», 9, art. no. 1236, pp. 1-14, doi: 10.3390/plants9091236.
- CAUSSE M., FRIGUET C., COIRET C., LÉPICIER M., NAVEZ B., LEE M., HOLTHUYSEN N., SINESIO F., MONETA E., GRANDILLO S. (2010): *Consumer Preferences for Fresh Tomato at the European scale: a common segmentation on taste and firmness*, «Journal of Food Science», 75 (9), S531-S541.
- D'AGOSTINO N., AVERSANO M. & CHIUSANO M.L. (2005): *ParPEST: a pipeline for EST data analysis based on parallel computing*, «BMC Bioinformatics», 6, S9, <https://doi.org/10.1186/1471-2105-6-S4-S9>.
- D'AGOSTINO N., AVERSANO M., FRUSCIANTE L., CHIUSANO M.L. (2007): *TomatEST database: in silico exploitation of EST data to explore expression patterns in tomato species*, «Nucleic Acids Research», vol. 35, Issue suppl_1: D901-D905, <https://doi.org/10.1093/nar/gkl921>.
- D'AGOSTINO N., TRAINI A., FRUSCIANTE L. ET AL. (2007): *Gene models from ESTs (GeneModelEST): an application on the Solanum lycopersicum genome*, «BMC Bioinformatics», 8, S9, <https://doi.org/10.1186/1471-2105-8-S1-S9>.

- D'ESPOSITO D., FERRIELLO F., MOLIN A.D. ET AL. (2017): *Unraveling the complexity of transcriptomic, metabolomic and quality environmental response of tomato fruit*, «BMC Plant Biol», 17, 66, <<https://doi.org/10.1186/s12870-017-1008-4>>.
- DE PALMA M., D'AGOSTINO N., PROIETTI S., BERTINI L., LORITO M., RUOCCO M., CARUSO C., CHIUSANO M.L., TUCCI M. (2016): *Suppression Subtractive Hybridization analysis provides new insights into the tomato (Solanum lycopersicum L.) response to the plant probiotic microorganism Trichoderma longibrachiatum MK1*, «J Plant Physiol», 190, pp. 79-94, doi:10.1016/j.jplph.2015.11.005.
- DE PALMA M., SALZANO M., VILLANO C., AVERSANO R., LORITO M., RUOCCO M., DO-CIMO T., PICCINELLI A.L., D'AGOSTINO N., TUCCI M. (2019): *Transcriptome reprogramming, epigenetic modifications and alternative splicing orchestrate the tomato root response to the beneficial fungus Trichoderma harzianum*, «Hort Res», 6 (1), pp. 1-15, doi:10.1038/s41438-018-0079-1.
- ERCOLANO M.R., SACCO A., FERRIELLO F. ET AL. (2014): *Patchwork sequencing of tomato San Marzano and Vesuviano varieties highlights genome-wide variations*, «BMC Genomics», 15, 138, <<https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-138>>.
- ESPOSITO S., CARDI T., CAMPANELLI G., SESTILI S., DÍEZ M.J., SOLER S., PROHENS J., TRIPODI P. (2020): *ddRAD sequencing-based genotyping for population structure analysis in cultivated tomato provides new insights into the genomic diversity of Mediterranean 'da serbo' type long shelf-life germplasm*, «Horticulture Research», <<https://doi.org/10.1038/s41438-020-00353-6>>.
- GIORNO F., WOLTERS-ARTS M., GRILLO S., SCHARF D., VRIEZEN W.H., MARIANI C. (2010): *Developmental and heat stress-regulated expression of HsfA2 and small heat shock proteins in tomato anthers*, «J Exp Bot», 61 (2), pp. 453-462.
- GIULIANO G., BARTLEY G.E., SCOLNIK P.A. (1993): *Regulation of carotenoid biosynthesis during tomato development*, «The Plant Cell», Apr, 5 (4) 379-387, doi: 10.1105/tpc.5.4.379.
- GONZALI S., MAZZUCATO A., PERATA P. (2009): *Purple as a tomato: towards high anthocyanin tomatoes*, «Trends in Plant Science», vol. 14, Issue 5, pp. 237-241, <<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.02.001>>.
- GRANDILLO S., HSIN-MEI KU., TANKSLEY S.D. (1996): *Characterization of fs8.1, a major QTL influencing fruit shape in tomato*, «Molecular Breeding», 2, pp. 251-260.
- GRANDILLO S., TANKSLEY S.D. (1996a): *QTL Analysis of horticultural traits differentiating the cultivated tomato from the closely related species Lycopersicon pimpinellifolium*, «Theoretical and Applied Genetics», 92, pp. 935-951.
- GRANDILLO S., TANKSLEY S.D. (1996b): *Genetic analysis of RFLPs, GATA microsatellites and RAPDs in a cross between L. esculentum and L. pimpinellifolium*, «Theoretical and Applied Genetics», 92, pp. 957-965.
- IOVIENO P., PUNZO P., GUIDA G., MISTRETTA C., VAN OOSTEN M.J., NURCATO R., BOSTAN H., COLANTUONO C., COSTA A., BAGNARESI P., CHIUSANO M.L., ALBRIZIO R., GIORIO P., BATELLI G., GRILLO S. (2016): *Transcriptomic changes drive physiological responses to progressive drought stress and rehydration in tomato*, «Frontiers in Plant Science», 7 (987): R106, doi: 10.3389/fpls.2016.00371.
- LANDI S., NURCATO R., DE LILLO A., LENTINI M., GRILLO S., ESPOSITO S. (2016): *Glucose-6-phosphate dehydrogenase plays a central role in the response of tomato (Solanum lycopersicum) plants to short and long-term drought*, «Plant Physiology and Biochemistry», 105, pp. 79-89, doi: 10.1016/j.plaphy.2016.04.013.
- MAZZUCATO A., TADDEI A.R., SORESSI G.P. (1998): *The parthenocarpic fruit (pat) mutant*

- of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sets seedless fruits and has aberrant anther and ovule development, «Development», 1 January, 125 (1), pp. 107-114, doi: <https://doi.org/10.1242>.
- PIOMBINO P., SINESIO F., MONETA E., CAMMARERI M., GENOVESE A., LISANTI M.T., MONGNO M.R., PEPARAILO M., TERMOLINO P., MOIO L., GRANDILLO S. (2013): *Investigating physicochemical, volatile and sensory parameters playing a positive or a negative role on tomato liking*, «Food Research International», 50 (1), pp. 409-419.
- RIGANO M.M., RAIOLA A., TENORE G.C., MONTI D.M., DEL GIUDICE R., FRUSCIANTE L., BARONE A. (2014): *Quantitative trait loci pyramiding can improve the nutritional potential of tomato (*Solanum lycopersicum*) fruits*, «J. Agric. Food Chem.», 62 (47), pp. 11519-11527, doi: 10.1021/jf502573n.
- ROSATI C., AQUILANI R., DHARMAPURI S., PALLARA P., MARUSIC C., TAVAZZA R., BOUVIER F., CAMARA B. AND GIULIANO G. (2000): *Metabolic engineering of beta-carotene and lycopene content in tomato fruit*, «The Plant Journal», 24, pp. 413-420, <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2000.00880.x>.
- RUGGIERI V., FRANCESE G., SACCO A., D'ALESSANDRO A., RIGANO M.M., PARISI M., MILONE M., CARDI T., MENNELLA G., BARONE A. (2014): *An association mapping approach to identify favourable alleles for tomato fruit quality breeding*, «BMC Plant Biol», 14, pp. 1-15.
- SABATINI E., ROTINO G.L., VOLTATTORNI S. AND ACCIARRI N. (2006): *A novel CAPS marker derived from the ovate gene in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) is useful to distinguish two Italian ecotypes and to recover "pear" shape in marker assisted selection*, «European Journal of Horticultural Science», 71 (5), S. 193-198, ISSN 1611-4426.
- SINESIO F., CAMMARERI M., MONETA E., NAVEZ B., PEPARAILO M., CAUSSE M., GRANDILLO S. (2010): *Sensory quality of fresh French and Dutch market tomatoes: a preference mapping study with Italian consumers*, «Journal of Food Science», 75 (1), S55-S67.
- SU L., DIRETTO G., PURGATTO E. ET AL. (2015): *Carotenoid accumulation during tomato fruit ripening is modulated by the auxin-ethylene balance*, «BMC Plant Biol», 15, 114, <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0495-4>.
- TAMBURINO R., SANNINO L., CAFASSO D., CANTARELLA C., ORRÙ L., CARDI T., COZZOLINO S., D'AGOSTINO N., SCOTTI N. (2020): *Cultivated Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Suffered a Severe Cytoplasmic Bottleneck during Domestication: Implications from Chloroplast Genomes*, «Plants», Oct 26, 9 (11), 1443, doi: 10.3390/plants9111443.
- TAMBURINO R., VITALE M., RUGGIERO A., SASSI M., SANNINO L., ARENA S., COSTA A., BATELLI G., ZAMBRANO N., SCALONI A., GRILLO S., SCOTTI N. (2017): *Chloroplast proteome response to drought stress and recovery in tomato (*Solanum lycopersicum* L.)*, «BMC Plant Biol», Feb 10, 17 (1), 40, doi: 10.1186/s12870-017-0971-0.
- THE TOMATO GENOME CONSORTIUM (2012): *The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution*, «Nature», 485 (7400), pp. 635-641.
- TRANCHIDA-LOMBARDO V., AIESE CIGLIANO R., ANZAR I., LANDI S., PALOMBIERI S., COLANTUONO C., BOSTAN H., TERMOLINO P., AVERSANO R., BATELLI G., CAMMARERI M., CARPUTO D., CHIUSANO M.L., CONICELLA C., CONSIGLIO F., D'AGOSTINO N., DE PALMA M., DI MATTEO A., GRANDILLO S., SANSEVERINO W., TUCCI M., GRILLO S. (2018a): *Whole-genome re-sequencing of two Italian tomato landraces reveals sequence variations in genes associated with stress tolerance, fruit quality and long shelf-life traits*, «DNA Research», 25 (2), pp. 149-160, doi: 10.1093/dnares/dsx045.
- TRANCHIDA-LOMBARDO V., MERCATI F., AVINO M., PUNZO P., FIORE M.C., POMA I., PATANÈ C., GUARRACINO M.R., SUNSERI F., TUCCI M., GRILLO S. (2018b): *Genetic*

- diversity in a collection of Italian long storage tomato landraces as revealed by SNP markers array*, «Plant Biosyst», 153 (2), pp. 288-297. doi <<https://doi.org/10.1080/11263504.2018.1478900>>.
- TUCCI M., RUOCO M., DE MASI L., DE PALMA M., LORITO M. (2011): *The beneficial effect of Trichoderma spp. on tomato is modulated by the plant genotype*, «Mol Plant Pathol», 12 (4), pp. 341-354, doi: 10.1111/j.1364-3703.2010.00674.

FRANCESCO SALAMINI¹

Tra ricerca e divulgazione: ricordo di Antonio Michele Stanca

¹ Membro associato, Max Planck Gesellschaft, Monaco

INTRODUZIONE. DIRETTORE A FIORENZUOLA

Angelo Bianchi è stato per molti anni professore di genetica vegetale presso la Facoltà di Agraria di Piacenza dell'Università Cattolica. Quando alla carriera accademica preferì lo sviluppo della genetica applicata presso gli Istituti del Ministero dell'agricoltura, divenne direttore a Bologna (Piante industriali), poi a Salerno (Orticoltura) e infine a Roma dell'Istituto per la Cerealicoltura. Negli istituti che dirigeva, il professore era solito affidare posti di responsabilità a giovani ricercatori che con lui avevano superato all'università il (difficile!) corso di Genetica vegetale. Non è stato il caso di Michele Stanca. Bianchi così ricorda nella sua autobiografia l'ammissione di un non allievo al suo allora chiamato "Gruppo di Bianchi":

a un giovane la cui fidanzata era già in Istituto (...) feci sapere che avrei favorito la sua assegnazione all'Istituto (...) a condizione che avesse accettato di andare a lavorare in una sezione periferica tutta da costruire e che si fosse occupato della genetica e del miglioramento di una specie minore di cereali, (...) meritevole di attenzione sia per i risultati teorici che per quelli pratici (...) se qualcuno l'avesse adeguatamente adottata come primogenita creatura. Aggiunsi che avrebbe ovviamente dovuto passare almeno un anno presso un eminente centro sperimentale che si occupasse della specie e poi, se tutto andava per il suo verso, si sarebbe fatta una sezione ad hoc, dato che la sede che stava sulla carta era quella che si dice, dal punto di vista del nostro lavoro, solo un'espressione geografica. Il giovane andò in Inghilterra al posto giusto; incontrò un collega inglese che gli fece qualche domanda e, avutane giusta risposta, commentò: «Noi inglesi andiamo in Italia per imparare la fisica, voi Italiani venite da noi per la genetica, O.K». Tornato in Italia, egli si trovò con amici e colleghi che più scherzosamente commentavano «Sì, tutto bene, ma sinora qui si potrebbe solo mungere un toro!» (l'azienda agraria presentava solo una stalla e qualche

vecchia abitazione). Dopo 18 anni sorgeva una sezione tutta nuova perché si era formato un gruppo di lavoro sull'orzo rispettabile a livello anche internazionale.

Bianchi nell'occasione regalò a Michele il suo testo *L'abc della genetica delle piante*, nonché una sua monografia sull'orzo, la dote su cui contare per affrontare il compito affidatogli. Michele non fece alcuna fatica ad affiatarsi con i membri del gruppo di Bianchi. In più, fu capace di instaurare con il professore un rapporto intenso e positivo, tanto che non fu difficile promuoverlo per concorso a dirigere la Sezione. Quanto è successo dopo lo conosciamo: evidentemente prima la moglie, poi i colleghi e alla fine anche Bianchi avevano visto giusto. Quando, nel 1985, chi scrive lasciò la sezione di Bergamo dell'Istituto di Cerealicoltura, Michele fu molto attento a non disperdere il sapere relativo ai metodi molecolari allora in via di accumulo in Istituto: lo utilizzò e ampliò per caratterizzare la nuova versione della sua Sezione che si andava configurando all'interfaccia tra miglioramento genetico e genetica avanzata.

TAPPE DELLA CARRIERA PRESSO L'ENTE NAZIONALE DI RICERCA AGRARIA

Sperimentatore, 1972. Direzione per incarico a Fiorenzuola, 1975. Borsa CNR-NATO: un anno al Plant Breeding Institute di Cambridge, 1980. Vincitore della direzione a Fiorenzuola d'Arda, 1984. Membro del comitato scientifico «Drenaggio... etc», MAF, 1989. Nuova sede 1990. Coordinatore ECP/GR Barley Working Group, 1996. Coordinatore «Stress abiotici» UE RESGEN, 1999. Cura del meeting «EU Barley Project GENRES CT98-104», 2000. Comitato dell'International Workshop on Barley Leaf Diseases. Coordinatore Genoma frumenti, Cromosoma 5A. Member European Barley Genome Net.

ORZO: PROVE COMPARATIVE, FISILOGIA PRODUTTIVA, MIGLIORAMENTO GENETICO

Succeduto a De Cillis alla direzione dell'Istituto per la Cerealicoltura di Roma, il prof. Bianchi si pose l'obiettivo di riportare l'istituzione a un livello nazionale comparabile a quello che aveva caratterizzato l'era Strampelli. A quel tempo, inoltre, lo sviluppo dei rapporti internazionali stimolato dalla Comunità europea poneva seri modelli di gestione pratica delle novità vegetali figlie della rivoluzione verde. Nelle discussioni sul rinnovamento varietale – e anche nell'aggiudicazione di risorse comunitarie dedicate – il confronto con quanto veniva sviluppato dalle istituzioni internazionali imponeva di innovare il settore. L'intervento adottato fu di organizzare, per ciascun cereale, una rete di valutazione

varietale che includeva anche genotipi di recente rilascio. La decisione contribuì a stabilire rapporti positivi con il mondo agricolo, nonché con Enti nazionali, regionali e Facoltà di agraria, il tutto coordinato dalle sezioni operative dell'Istituto, nel caso dell'orzo dalla Sezione di Fiorenzuola. L'attività annuale si risolveva in una pubblicazione di liste varietali completate da raccomandazioni. Un esempio di questa attività riferita all'orzo è riportato in Gianinetti et al. (2008). Non vengono citate, per intuibili motivi, tutte le pubblicazioni annuali sull'argomento del gruppo Stanca, che si sono susseguite ormai per quasi 50 anni, di solito ospitate in un numero speciale de «L'Informatore agrario».

Gli studi di fisiologia produttiva sono comunemente condotti per comprendere quali indici selettivi possono essere introdotti nei programmi di miglioramento genetico. Studi di questo tipo sono stati frequenti a Fiorenzuola e due di questi sono di seguito brevemente commentati. L'efficienza agronomica nell'uso dell'azoto è la capacità di aumentare la produzione come risposta alla quantità di azoto somministrato. Risulta simile in orzo e frumento, ma, in termini di risposta produttiva massima, il frumento ha richieste azotate superiori. Si conclude che l'orzo ha la capacità di produrre meglio in condizioni di basso impiego di fertilizzanti (pubblicato su «European Journal of Agronomy»; 389 citazioni; Delogu et al., 1998). Il secondo studio riguarda le produzioni di una collezione di genotipi di orzo in condizioni irrigue e asciutte. Il calcolo dell'indice di stress WSI permette di identificare varietà con alta produttività potenziale e una bassa interazione genotipo \times ambiente. In questi genotipi, il potenziale produttivo ha un ruolo preminente; cioè la selezione basata sulla minima perdita produttiva in condizioni di stress non identifica i genotipi migliori («Crop Science»; 190 citazioni; Rizza et al., 2004). In una sua diapositiva, Stanca così commenta la stabilità produttiva di varietà diverse:

i) the lines identified as being specially adapted to one or other of the selection sites, showed no advantage over those with general adaptation; ii) the yield advantage of specifically adapted lines over lines with general adaptation to both sites was not significant; iii) this indicated that, overall, the higher yielding lines were also the more stable lines.

Un contributo che in parte copre gli interessi di fisiologia produttiva più recenti del Centro di Fiorenzuola (Cattivelli, 2008) ha avuto più di 1000 citazioni a livello internazionale.

Il miglioramento genetico dell'orzo era parte importante della missione assegnata a Michele Stanca dal direttore dell'Istituto per la Cerealicoltura. Da subito il programma di miglioramento varietale conobbe un grande successo: la prima varietà rilasciata nel 1985, Arda, raggiunse attorno al 50% del seme certificato per l'orzo distico. Nel periodo 1985-2015 Fiorenzuola ha rilasciato

21 varietà di orzo, 15 distiche, 6 esastiche. Le 13 rilasciate per ultime sono dotate di resistenza al virus BaYMV e al fungo *Puccinia graminea*. Le varietà per uso zootecnico sono 17, 2 per malto, 2 a seme nudo per uso umano. In base ai dati disponibili, negli anni recenti, le varietà più coltivate sono state Arda (15% nel 2015), Cometa (14% nel 2006), Aliseo (5% nel 1998), Nure 2-3%. Le due varietà di avena e le quattro di tritcale coprono il 4-6% del seme certificato. Secondo Michele Stanca

Arda was characterised by reduced plant height, increased tillering capacity, high seed weight, earliness of heading time, phenotypic plasticity. For the first time the grain yield increased significantly with an immediate effect on the spreading of the barley crop in Italy, Greece and Spain. In five years Arda occupied 50% of two rowed barley acreage, 20% of total Italian barley acreage and became very popular around the Mediterranean basin.

MIGLIORAMENTO GENETICO ASSISTITO

L'approccio basato su marcatori molecolari localizzati a specifici loci cromosomici, ha permesso di sviluppare, anche per l'orzo, dense mappe di ricombinazione. Da subito le mappe furono utilizzate in studi tendenti a decodificare la base della variabilità genetica continua. Fu semplice comprendere che anche questo tipo di variazione aveva una base discontinua, rappresentata da fattori genetici, indicati con l'acronimo QTL, mappati con una certa approssimazione nelle mappe di ricombinazione. Marcatori concatenati nelle mappe ai QTL che influenzano caratteri di interesse agronomico possono entrare in procedure, in parte robotizzate (*marker assisted selection*, MAS), per accumulare il maggior numero possibile di fattori genetici utili in specifiche linee in selezione. Una seconda fase delle procedure MAS ha l'obiettivo di identificare il gene che sottende uno specifico QTL. Il caso che viene brevemente descritto riguarda un progetto sviluppato a Fiorenzuola. Tredici geni con funzioni regolative negli stress da freddo e da siccità sono stati amplificati in sei linee di orzo che avevano dato origine a tre mappe cromosomiche basate sulla ricombinazione tra marcatori molecolari. Sono poi stati creati marcatori molecolari diallelici per geni posizionati in una unica mappa (di consenso tra le tre disponibili), definendo la posizione di 16 loci candidati per ospitare geni regolativi degli stress studiati. Alla mappa di consenso sono poi state aggiunte le posizioni di loci QTL identificate dalla letteratura disponibile in esperimenti condotti in condizioni di stress (fig. 1). Un cluster di sei geni *CBF* co-mappa sul cromosoma 5H nelle vicinanze di un QTL per tolleranza al freddo. Gli autori hanno concluso che i geni *CBF* (*C-repeats binding factor*) per sé sono coinvolti nella resistenza al freddo. Quattro

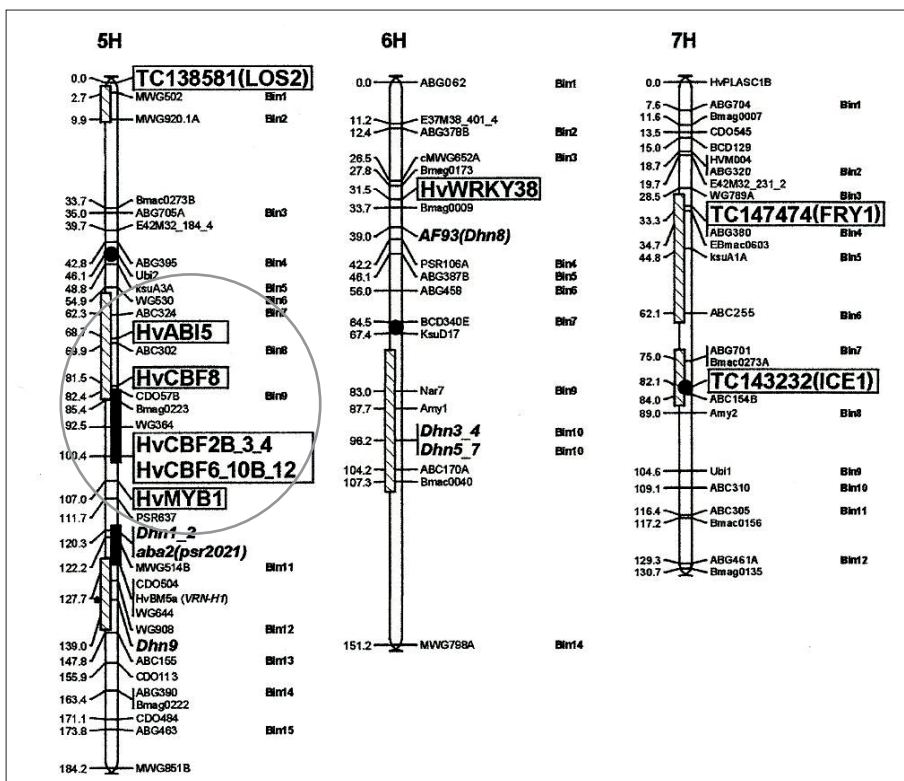


Fig. 1 Nella mappa molecolare di orzo (qui riportata solo per tre cromosomi) sono stati localizzati 16 loci candidati per ospitare geni regolativi degli stress studiati. Sono poi stati aggiunte le posizioni di loci QTL per stato di stress (freddo: barre tratteggiate; idrico: barre nere). Un cluster di sei geni CBF co-mappa sul cromosoma 5H nelle vicinanze di un QTL per tolleranza al freddo (Cerchio in grigio)

di 16 QTL per resistenza allo stress da siccità sono stati associati a geni regolatori. I risultati possono essere utilizzati nella selezione assistita di genotipi di orzo («Theoretical and Applied Genetics»; 156 citazioni; Tondelli et al., 2006). L'uso di procedure MAS ha avuto – e avrà – sensibili affinamenti ed è sfociato nella selezione genomica (a cui si accenna più avanti).

GENETICA

Nelle pubblicazioni dei ricercatori che sono stati attivi a Fiorenzuola, vengono frequentemente descritti esperimenti con contenuto genetico. Non è comune,

però, incontrare casi in cui la genetica non è solo una impostazione di metodo (come atteso per chi si concentra sul miglioramento genetico), ma è il preciso oggetto della ricerca che vuole scoprire nuove regole dell'eredità e sviluppo degli organismi considerati. In questo senso, si possono citare come esempi i lavori di mappatura genica di Francia et al. (2004) e di Comadran et al. (2009) su *linkage disequilibrium* in una mappa di concatenazione. Voglio qui approfittare delle righe concesse allo scrivente per ricordare uno sviluppo di genetica vegetale quasi paradigmatico del come una disciplina può procedere, esempio che coinvolge Fiorenzuola. Attorno al 1980, un professore dell'Università di Colonia, Peter Starlinger, chiese a chi scrive se si poteva pensare a un esperimento per clonare uno degli elementi trasponibili descritti geneticamente da Barbara McClintock. Dopo lunghe discussioni si decise di catturare l'elemento mobile *Ds* inserendolo nel gene *Adh* (codifica per un alcol deidrogenasi), per il quale esisteva una sonda molecolare. Era anche disponibile una tecnica per selezionare polline *Adh*- che, dopo trattamento con alcol allilico, sopravvive mentre il polline non mutato si inattiva. L'esperimento ebbe successo e venne pubblicato (Döring et al., 1984): il mutante *Adh-2F11* causato da *Ds* fu isolato e permise importanti sviluppi. Peter Starlinger sequenziò l'elemento *Ds* e il suo regolatore *Ac* e pubblicò su «Nature»; Mike Freeling, co-autore americano della pubblicazione ricordata, riportò sull'«EMBO Journal» il clonaggio del primo gene *Homeobox* delle piante, muovendo *Ds* al locus dominante *Knotted*; al MPI di Colonia, sulla base dell'omologia topografica delle regioni *Adh-Knotted* di mais e *Adh-Hooded* di orzo, fu clonato il gene *Bkn3* responsabile del fenotipo *Hooded* (Müller et al., 1995). Da qui inizia la collaborazione con Fiorenzuola, collaborazione che ha contribuito a chiarire il controllo genetico della struttura del lemma, la più importante brattea fiorale dell'orzo che ospita l'arista. Furono identificati 5 loci genetici *suK* che sopprimono il fenotipo *Hooded* (fig. 2) e si definirono le interazioni tra i geni *suK*, *lk* (arista del lemma corta), *K* (fenotipo *Hooded*) e il mutante *lel* (*leafy lemma*), questo ultimo isolato a Fiorenzuola da una linea genetica omozigote per l'allele recessivo al gene *lk2*. I risultati furono pubblicati in tre articoli tutti accettati dalla rivista «Genetics» (Castiglioni et al., 1998; Pozzi et al., 2000; Roig et al., 2004).

BIOLOGIA MOLECOLARE E GENOMICA

La Sezione, dopo alcuni anni dall'arrivo del Prof. Bianchi alla direzione della Ceralicoltura di Roma, iniziò ad approfondire alcuni temi applicativi adottando approcci di biologia molecolare. Tra i molti lavori pubblicati, si possono

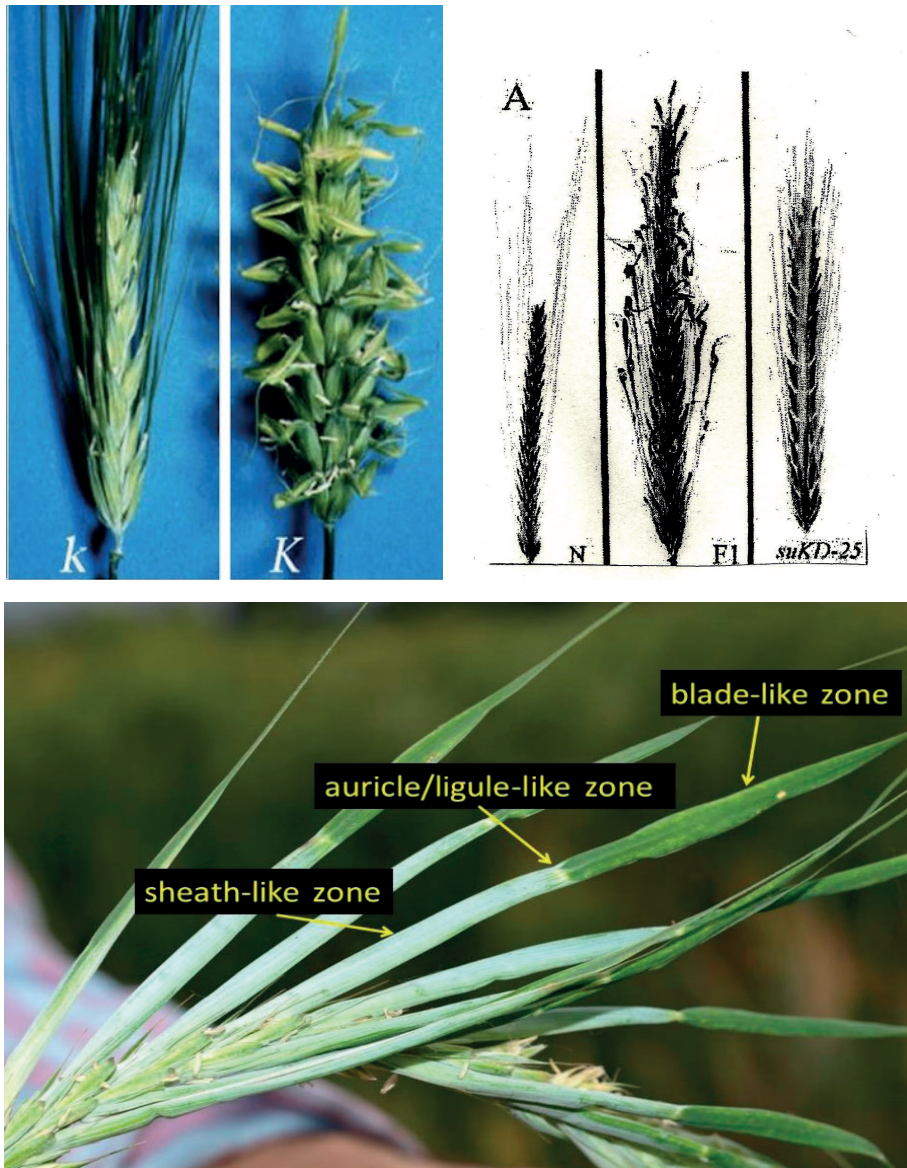


Fig. 2 Da sinistra: K, fenotipo «Hooded» determinato da un allele dominante che induce la comparsa sul lemma, invece dell'arista, di un extra fiore con inversione della polarità tissutale; N, fenotipo normale (selvatico); «sukD-25», fenotipo di uno dei mutanti soppressori di «Hooded» indotto da mutagenesi (le ariste dei cinque soppressori geneticamente diversi sono corte rispetto al selvatico); F1, fenotipo dell'incrocio tra «suK-25» e il selvatico: ricompare il fenotipo «Hooded»; lel: fenotipo del mutante «leafy lemma» isolato nel 1990 a Fiorenzuola. La brattea è trasformata in una foglia (Pozzi et al., 2000)

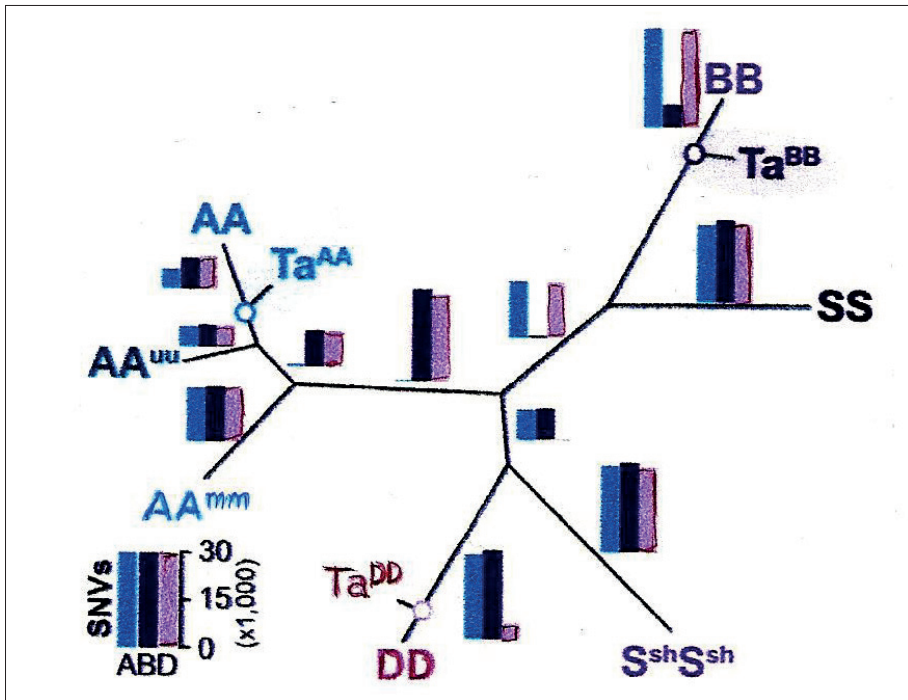


Fig. 3 Relazioni filogenetiche tra specie di «Triticum» e «Aegilops» basate su confronti tra sequenze genetiche determinate con l'analisi genomica. Il grafico è ripreso da IWGSC (2014). TaAA, TaBB, TaDD: sequenze da genomi A, B, D di «T.vulgare» confrontate con quelle di «T.monococcum» AA^{mm}, «T. urartu» AA^{uu}, «Ae. speltoides» SS, «Ae. Sharonensis» ShSh, «Ae. Tauschii» DD e con quelle della specie tetraploide «T. turgidum» AABB. Tra le sequenze sono stati individuate variazioni a singoli nucleotidi SNP, indicate come SNVs, poi utilizzate per l'assemblaggio del grafico. Gli istogrammi indicano il numero di SNVs utilizzate (scala in basso a sinistra)

citare esempi relativi a regolazione genica post-trascrizionale e post-traduzionale, mappature geniche, livello di trascritti in condizione di stress, trascrittomica normalizzata, espressione genica nel cloroplasto (Mazzucotelli et al., 2008; Francia et al., 2007; Atienza et al., 2004; Faccioli et al., 2007; Dal Bosco et al., 2003). Inevitabilmente, la pratica della biologia molecolare all'inizio del nuovo millennio è scivolata verso la genomica. Il Centro di Fiorenzuola ha così partecipato alla decodificazione del genoma del frumento tenero curata da un consorzio internazionale di scienziati appartenenti a 37 diverse istituzioni. Sono state annotati più di 120.000 geni distribuiti nei genomi A, B e D. L'analisi comparativa dei geni di specie donatrici dei diversi genomi e di quelli di frumenti diploidi e tetraploidi ha dimostrato una alta somiglianza tra

i genomi A, B e D, insieme a una sostanziale bassa perdita di sequenze geniche dopo gli eventi di poliploidizzazione. I dati hanno permesso di chiarire con alta precisione le relazioni filogenetiche tra specie di *Triticum* e *Aegilops* in base a confronti della variazione di singoli nucleotidi (SNP), variazioni indicate con l'acronimo SNVs in figura 3 (IWGSC, 2014). Nell'ambito del progetto internazionale, il Centro di Fiorenzuola ha poi approfondito la genomica del cromosoma 5A (Vitulo et al., 2011). La frazione codificante di questo cromosoma corrisponde a circa l'1,2% del DNA totale. Il numero dei geni dell'intero cromosoma è leggermente superiore a 5000; partecipano a 37 processi biologici (risposta a stress ecc.), a 25 funzioni molecolari (DNA binding ecc.) e codificano per 25 componenti cellulari (membrane, mitocondri ecc.) (fig. 4).

INSEGNAMENTO

Nel box di seguito è riportato un elenco di compiti-impegni che Stanca ha svolto in ambito accademico. Anche per chi conosceva da vicino la quotidianità del lavoro che svolgeva, era difficile capire come facesse a trovare il tempo da dedicare all'insegnamento. Senza dubbio lo aiutava la sua facilità di parola (che lo ha caratterizzato anche come grande affabulatore) e la partecipazione a molti comitati e convegni anche internazionali, occasioni per puntuali aggiornamenti scientifici.

DISCENTE E DOCENTE

Laurea in Scienze Agrarie. Abilitazione alla professione. Abilitazione all'insegnamento di chimica generale, poi scienze naturali. Docente di Agronomia a Veterinaria, UniMilano (1996/97). Docente all'Istituto Agronomico di Zaragoza. Professore di Agronomia all'Università di Modena (2000-2001). Docente di Genetica «EU FP7 AGRISAFE» a Martonvasar. Membro della Scuola di dottorato, Università di Parma. Docente Telecom «Lezioni sul Progresso».

COORDINAMENTO DELLE POLITICHE DI RICERCA, DIVULGAZIONE E PRESENZA IN ACCADEMIE

Le attività di rappresentanza nazionale e internazionale dei responsabili delle Sezioni periferiche della Cerealicoltura erano quasi imposte dal direttore dell'Istituto. Il prof. Bianchi si era, infatti, formato anche in ambiente internazionale (fu allievo di Paul Mangelsdorf ad Harvard e borsista con Barbara

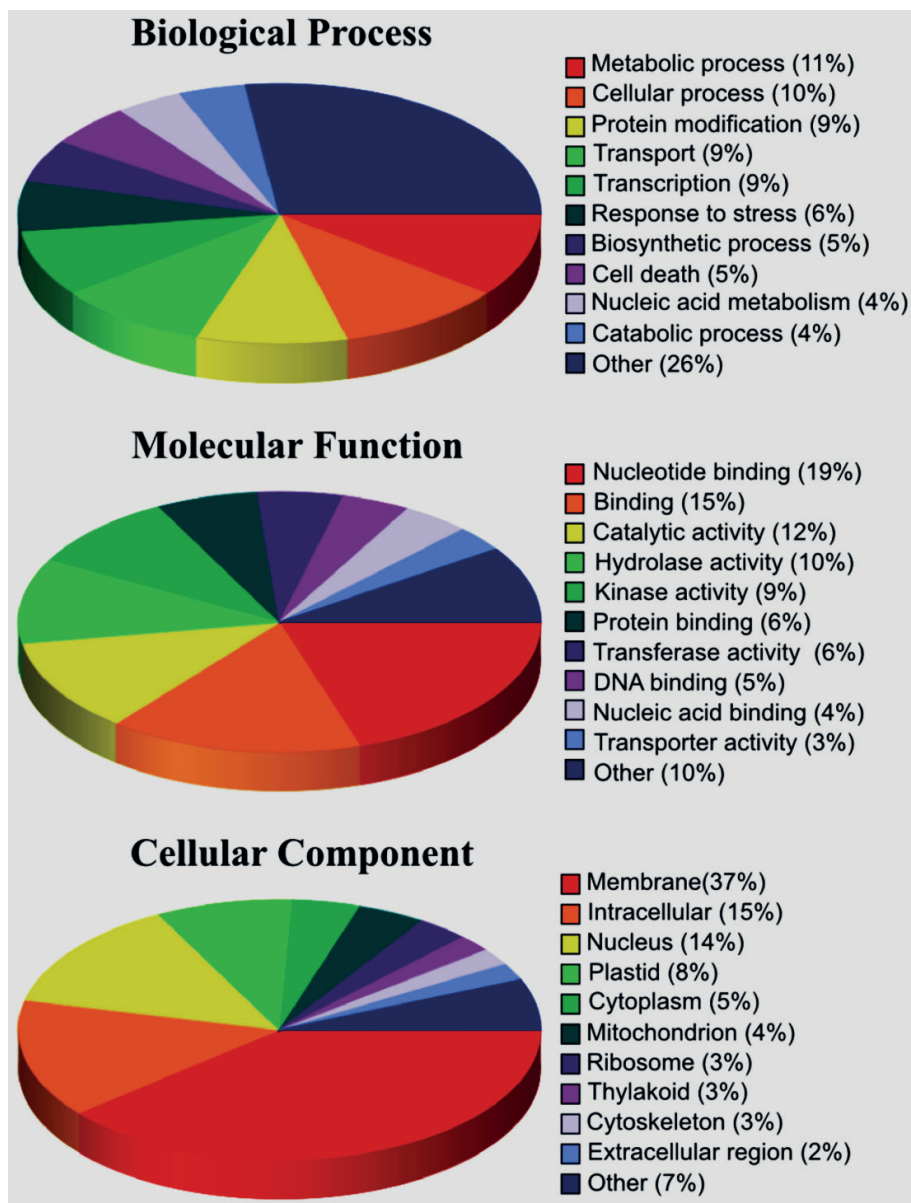


Fig. 4 Partecipazione dei geni del cromosoma 5A del frumento tenero a processi biologici (in alto), a funzioni molecolari (al centro) o che codificano per componenti cellulari (in basso). Da Vitulo et al. (2011)

McClintock, poi Premio Nobel per la scoperta dei geni trasponibili). Nelle diverse sezioni l'internazionalizzazione avvenne con tempi e modalità diverse, prima a Bergamo (maiscoltura) ma quasi subito anche a Fiorenzuola. Fu facilitata dalle riunioni amicali tra i membri del gruppo di "Bianchi" che, dagli anni Settanta dello scorso secolo, si ritrovavano (spesso a Fiorenzuola) per formulare proposte su come riorganizzare, anche logisticamente, i centri di ricerca in agricoltura. Stanca probabilmente acquisì anche dal gruppo la visione della struttura internazionale che andava sviluppando a Fiorenzuola (almeno un membro del gruppo, che pur continuava a frequentare le riunioni, era nel frattempo attivo in un altro Paese europeo). È stato merito particolare di Michele essere chiamato a operare presso prestigiose Società scientifiche come riconoscimento della capacità di trasmettere e divulgare quanto accumulava nella sua esperienza direttiva e dai risultati scientifici dei suoi laboratori.

Basilio Borghi, membro del "Gruppo", ha scritto che Stanca ha saputo far fruttare i talenti ricevuti da Angelo Bianchi. Il giudizio sul ricercatore e sull'uomo non può prescindere dal considerare come centrale questa sua attività di politico della ricerca. La figura, in questo senso, si inquadra bene in una citazione ancora una volta di Bianchi:

Tra un secolo a chi analizzerà la nostra cultura o noi stessi non importerà del nostro conto in banca, della nostra auto, dello stile della nostra casa, o anche dei riconoscimenti che abbiamo avuto, MA di quali contributi abbiamo dato agli altri col nostro lavoro: insegnamento, suggerimenti, servizio o quant'altro sarà stato trasmesso ingrandito negli anni (J.E. Foss, *Presidential Address*, «Agr. J.», 1996, 88, 121; traduzione di A. Bianchi, 1997).

COORDINAMENTO E DIVULGAZIONE DELLA RICERCA

Socio SIGA. Socio di Eucarpia. Membro consiglio direttivo SIGA (1981-82). Socio SIA (1987). Membro Crop Science Society of America (1990). Presidente Sezione Cereali EUCARPIA (1998). Accademico dei Georgofili. Consiglio Direttivo FISV. Presidente SIGA. Presidente AISSA. Accademico dell'Accademia Nazionale di Agricoltura. Membro del Consiglio Accademico e vicepresidente dell'Accademia dei Georgofili. Accademico dell'Accademia degli Incamminati di Modigliana. Presidente UNASA. President of UNION of European Academies for Science Applied to Agriculture, Food and Nature – UEAA.

RIASSUNTO

Il ricordo è quello di un collega che ha condiviso con il ricordato una parte della vita scientifica dell'Istituto per la Cerealicoltura di Roma, al tempo diretto dal prof. Angelo

Bianchi. Vengono considerati i principali aspetti dell'attività di Stanca sviluppati nel corso della sua lunga attività di coordinatore della ricerca e di motore per lo sviluppo di una, allora, sezione di un Istituto nazionale: carriera nell'Ente, aspetti accademici, risultati pratici, interessi di biologia molecolare, marcatori e genomica al servizio del miglioramento genetico, presenza e ruoli in Accademie nazionali e ruoli internazionali. Vengono anche ricordate le sue attività di docenza e, in particolare, il ruolo puntiglioso ed efficace nella fondazione e sviluppo di una sezione dell'Istituto della Cerealcoltura, trasformata poi in un moderno Centro di genomica applicata.

ABSTRACT

The note is dedicated to the memory of Michele Stanca. The scientific life of this scholar is summarized: role in an important national Institute, development of barley research related to yield physiology, breeding, assisted breeding by molecular markers, genetics, molecular biology and genomics. The role of Michele in teaching plant breeding and agronomy is also mentioned, together with his contribution to national and international initiatives and participation to scientific academies.

BIBLIOGRAFIA

- ATIENZA S.G., FACCIOLI P., PERROTTA G., DALFINO G., ZSCHIESCHE W., HUMBECK K.A., STANCA A.M., CATTIVELLI L. (2004): *Large scale analysis of transcripts abundance in barley subjected to several single and combined abiotic stress conditions*, «Plant Science», 167, pp. 1359-1365.
- BIANCHI A. (1997): *Genetica agraria, missione di vita*, Edizioni Informatore Agrario, Verona.
- CASTIGLIONI P., POZZI C., HEUN M., TERZI V.M., MÜLLER K.J., ROHDE W., SALAMINI F. (1998): *An AFLP-based procedure for the efficient mapping of mutants and DNA probes in barley*, «Genetics», 149, pp. 2039-2056.
- CATTIVELLI L., RIZZA F., BADECK F.W., MAZZUCOTELLI E., MASTRANGELO A.M., FRANCA E., MARÈ C., TONDELLI A., STANCA A.M. (2008): *Drought tolerance improvement in crop plants: an integrated view from breeding to genomics*, «Field crops research», 105, pp. 1-14.
- COMADRAN J., THOMAS W.T.B., VAN EEUWIJK F.A., CECCARELLI S., GRANDO S., STANCA A.M., PECCHIONI N., AKAR T., AL-YASSIN A., BENBELKACEM A., OUABBOU H., BORT J., ROMAGOSA I., HACKETT C.A., RUSSELL J.R. (2009): *Patterns of genetic diversity and linkage disequilibrium in a highly structured Hordeum vulgare association-mapping population for the Mediterranean basin*, «Theoretical and Applied Genetics», 119, pp. 175-187.
- DAL BOSCO C., BUSCONI M., GOVONI C., BALDI P., STANCA A.M., CROSATTI C., BASSI R., CATTIVELLI L. (2003): *Cor gene expression in barley mutants affected in chloroplast development and photosynthetic electron transport*, «Plant physiology», 131, pp. 793-802.

- DELOGU G., CATTIVELLI L., PECCHIONI N., DE FALCIS D., MAGGIORE T., STANCA A.M. (1998): *Uptake and agronomic efficiency of nitrogen in winter barley and winter wheat*, «European Journal of Agronomy», 9, pp. 11-20.
- DÖRING H.P., FREELING M., JOHNS M.A., KUNZE P., MERCKELBACH A., SALAMINI F., STARLINGER P. (1984): *A Ds-mutation of the Adh1 gene in Zea mays L.*, «Mol. Gen. Genet.», 193, pp. 199-204.
- FACCIOLI P., CICERI G.P., PROVERO P., STANCA A.M., MORCIA C., TERZI V. (2007): *A combined strategy of "in silico" transcriptome analysis and web search engine optimization allows an agile identification of reference genes suitable for normalization in gene expression studies*, «Plant molecular biology», 63, pp. 679-688.
- FRANCIA E., RIZZA F., CATTIVELLI L., STANCA A.M., GALIBA G., TOTH B., HAYES P.M., SKINNER J.S., PECCHIONI N. (2004): *Two loci on chromosome 5H determine low-temperature tolerance in a 'Nure'(winter) × 'Tremois'(spring) barley map*, «Theoretical and Applied Genetics», 108, pp. 670-680.
- FRANCIA E., BARABASCHI D., TONDELLI A., LAIDÒ G., RIZZA F., STANCA A.M., BUSCONI M., FOGHER C., STOCKINGER E.J., PECCHIONI N. (2007): *Fine mapping of a HvCBF gene cluster at the frost resistance locus*, «Theoretical and Applied Genetics», 115, pp. 1083-1091.
- GIANINETTI A., STANCA A.M. (Coord.) ET AL. (2008): *Le varietà per le semine 2008 di orzo zootecnico. Risultati delle prove nazionali 2007-2008*, «L'Informatore Agrario», 31, pp. 34-41.
- IWGC, INTERNATIONAL WHEAT GENOME SEQUENCING CONSORTIUM (2014): *A chromosome-based draft sequence of the hexaploid bread wheat (Triticum aestivum) genome*, «Science», 345, pp. 6194.
- MAZZUCOTELLI E., MASTRANGELO A.M., CROSATTI C., GUERRA D., STANCA A.M., CATTIVELLI L. (2008): *Abiotic stress response in plants: when post-transcriptional and post-translational regulations control transcription*, «Plant Science», 174, pp. 420-431.
- MÜLLER K.J., ROMANO N., GERSTNER O., GARCIA-MAROTO F., POZZI C., SALAMINI F., ROHDE W. (1995): *The barley Hooded mutation caused by a duplication in a homeobox gene intron*, «Nature», 374, pp. 727-730.
- POZZI C., FACCIOLI P., TERZI V., STANCA A.M., CERIOLI S., CASTIGLIONI P., FINK R., CAPONE R., MÜLLER K.J., BOSSINGER G., ROHDE W., SALAMINI F. (2000): *Genetics of mutations affecting the development of a barley floral bract*, «Genetics», 154, pp. 1335-1346.
- RIZZA F., BADECK F.W., CATTIVELLI L., LIDESTRI O., DI FONZO N., STANCA A.M. (2004): *Use of a water stress index to identify barley genotypes adapted to rainfed and irrigated conditions*, «Crop science», 44, pp. 2127-2137.
- ROIG C., POZZI C., SANTI L., MÜLLER K.J., STANCA M., SALAMINI F. (2004): *The genetics of barley hooded suppression*, «Genetics», 167, pp. 439-448.
- TONDELLI A., FRANCIA E., BARABASCHI D., APRILE A., SKINNER J.S., STOCKINGER E.J., STANCA A. M., PECCHIONI N. (2006): *Mapping regulatory genes as candidates for cold and drought stress tolerance in barley*, «Theoretical and Applied Genetics», 112, pp. 445-454.
- VITULO N., ALBIERO A., FORCATO C., CAMPAGNA D., DAL PERO F., BAGNARESI P. ET AL. (2011): *First survey of the wheat chromosome 5A composition through a Next Generation Sequencing approach*, «PLoS ONE», e26421.