



PIANO NAZIONALE SULLA BIODIVERSITÀ DI INTERESSE AGRICOLO



Gianluigi Cardinali

Dip. Biologia Applicata – Università di Perugia



**Le Linee Guida per la conservazione e la
valorizzazione della Biodiversità Microbica di
Interesse Agrario-
Aspetti generali e Biodiversità Alimentare**



Bologna, 21 novembre 2012



PNBA - PIANO NAZIONALE SULLA BIODIVERSITA' DI INTERESSE AGRARIO
ATTUAZIONE DELLA FASE "A"
Gruppo di Lavoro sulla Biodiversità Agraria

Gruppo MICROBIOLOGIA:

Prof. Gianluigi Cardinali – Università degli Studi di Perugia
Dott.ssa Anna Benedetti – CRA – Centro per lo Studio delle Relazioni tra Pianta e Suolo

COMPITI:

A. Individuazione dei descrittori comuni per specie

B. Metodologia comune e condivisa per la caratterizzazione *morfologica e molecolare*

C. Linee guida per la conservazione vegetale ed animale e microbiche *in-situ, on-farm, ex-situ*

Extra – microbiologici

- 1a. Il problema della specie microbica
- 1b. Problema dei taxa subspecifici
- 1c. Conoscenza dello 0.5 -1% della BDM

- 2a. Mancanza di descrittori morfologici
- 2b. Estrema dinamicità marcatori molecolari e introduzione NGS

- 3a. Impatto della conservazione *ex situ*
- 3b. Formulazione della conservazione *in farm*

PNBA - PIANO NAZIONALE SULLA BIODIVERSITA' DI INTERESSE AGRARIO
ATTUAZIONE DELLA FASE "A"
Gruppo di Lavoro sulla Biodiversità Agraria

Gruppo MICROBIOLOGIA

PUNTI CHIAVE DEL LAVORO

1. Descrizione delle RG microbiche di interesse agrario – loro significato

- a. La natura dei MO, sua diversità da piante ed animali
- b. Significato e consenso dei maggiori concetti ontologici e applicativi

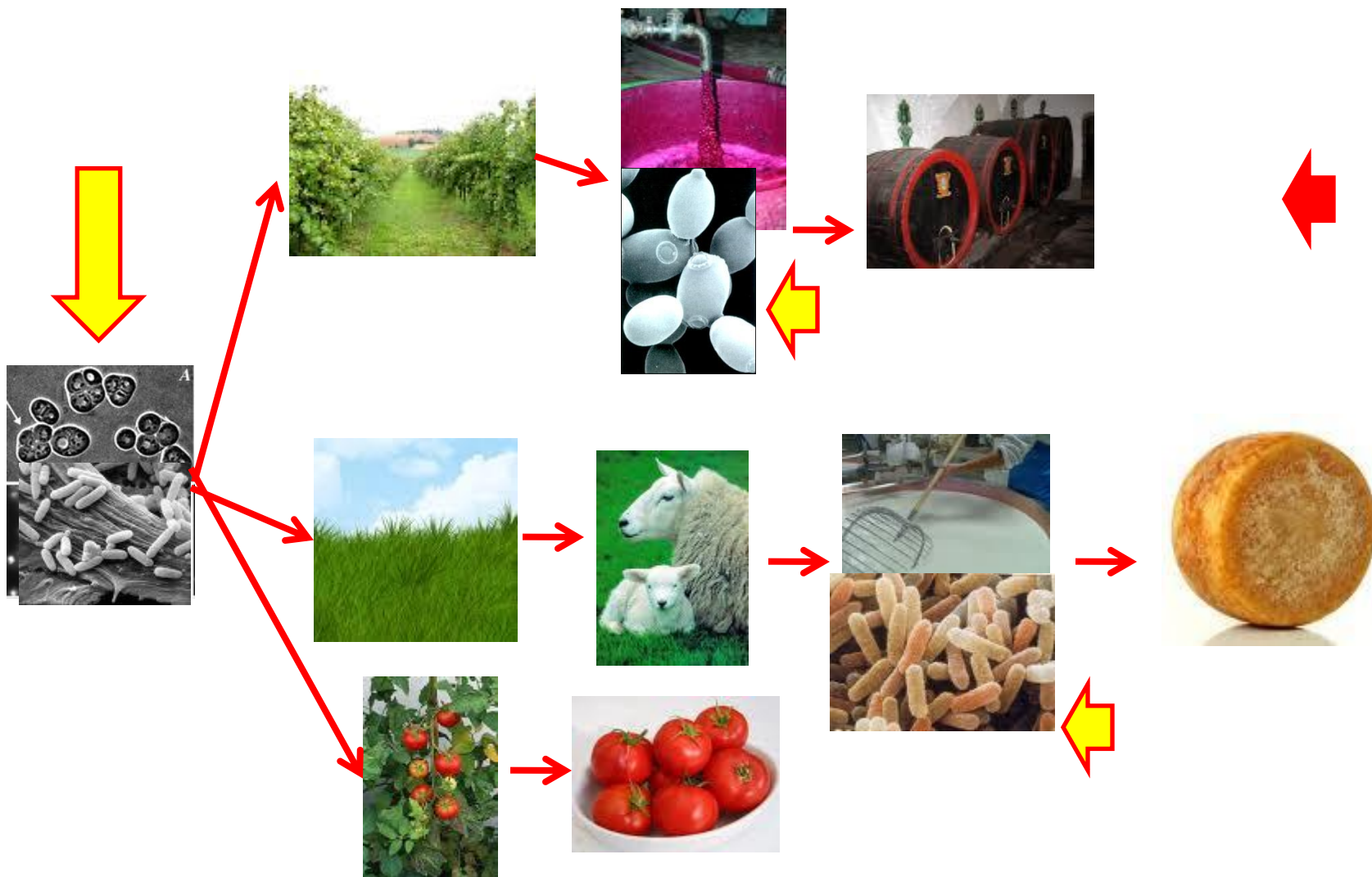
2. Definizione di una base con ampio consenso scientifico sulle maggiori definizioni operative

- a. I vari livelli di marcatori
- b. Utilizzabilità e robustezza scientifica

3. Individuazione dei protocolli

- a. Specificazione ambientale e alimentare
- b. Generalizzazione sui punti critici metodologici
- c. Individuazione e commento critico dei protocolli originali e manualistica già esistente
- d. Spiegazione dei principali sistemi di funzionamento delle diverse metodologie

Un concetto basilare: La Biodiversità Microbiologica agisce in tutte le filiere agricole



Le linee guida per la Biodiversità Microbica di Interesse Agrario all'alba del III Millennio

**Biodiversità
Microbica
in e per
l'Agricoltura**

**Passato e
Presente**

1. Progressiva conoscenza e consapevolezza della BDMA
2. Paradigma della coltura pura
3. Incapacità di isolare >99% BDMA
4. Prevalenza di collezioni *ex situ*
5. Progressiva erosione genetica
6. Sistematica sostituzione di ceppi nel settore alimentare

**Presente e
Futuro**

1. Crisi della «coltura pura» - *falsificazione* del paradigma
2. Crisi epistemologica del concetto riduzionista «un carattere una specie»
3. Dal paradigma della coltura pura a quello di cenobiosi → **approccio ecosistemico → in situ e in factory**
4. Necessità di un sistema standardizzato e tendenzialmente nominalista di catalogazione «barcode of Life»
5. Potenzialità offerte dalla Metagenomica – NGS - deep sequencing

Le linee guida per la Biodiversità Microbica di Interesse Agrario: tradurre in pratica le necessità e le possibilità future degli agricoltori

1. Conservazione e valorizzazione della biodiversità

- a. Possibilità di monitorare su ampia scala e in tempi reali
- b. Recuperare il maggior numero delle condizioni in cui esista BDMA

2. Rispetto dei ritmi evolutivi

- a. Permettere alla BDMA di continuare a svilupparsi nei campi e nei siti di trasformazione
- b. Incrementare la conservazione *ex situ*, *in farm*, *in factory ex situ* di substrati interi

3. L'agricoltore e il trasformatore al CENTRO del processo

- a. Favorire gli agricoltori custodi → semplicità nei metodi
- b. Distribuzione GRATUITA della BDMA

4. Approccio ecosistemico alla conservazione

- a. Favorire gli agricoltori custodi → semplicità nei metodi
- b. Distribuzione GRATUITA della BDMA, grande cautela con brevetti e registrazioni

5. Un sistema efficace e sostenibile

- a. Scalarità dei marcatori
- b. Integrazione Agricoltori , Regioni, Università- Centri di Ricerca - Professionisti

Il framework per i descrittori: Marcatori progressivi

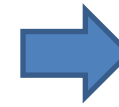
Marcatori
preliminari



Marcatori
obiettivi



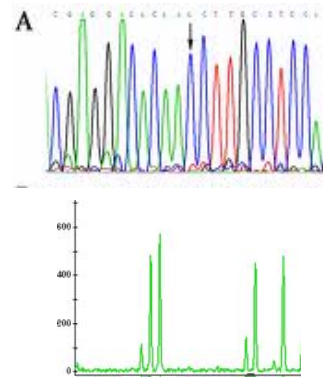
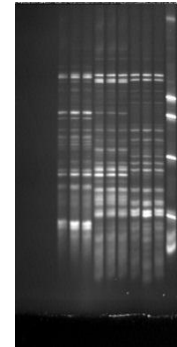
Marcatori
Laboratoriali



Azioni di
conservazione
e valorizzazione



Marchi
DOP,
DOC, IGT
etc



Ex situ

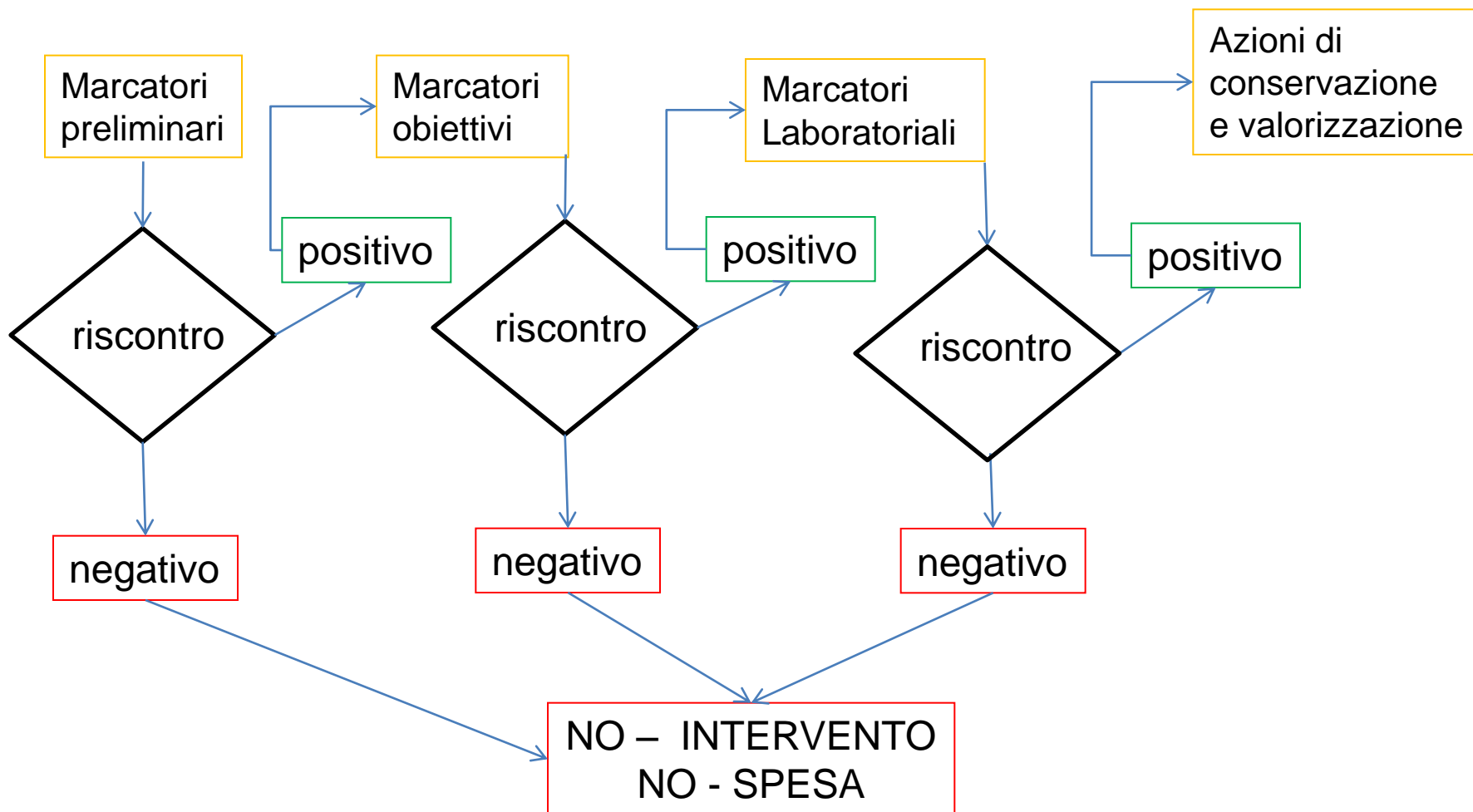


In factory

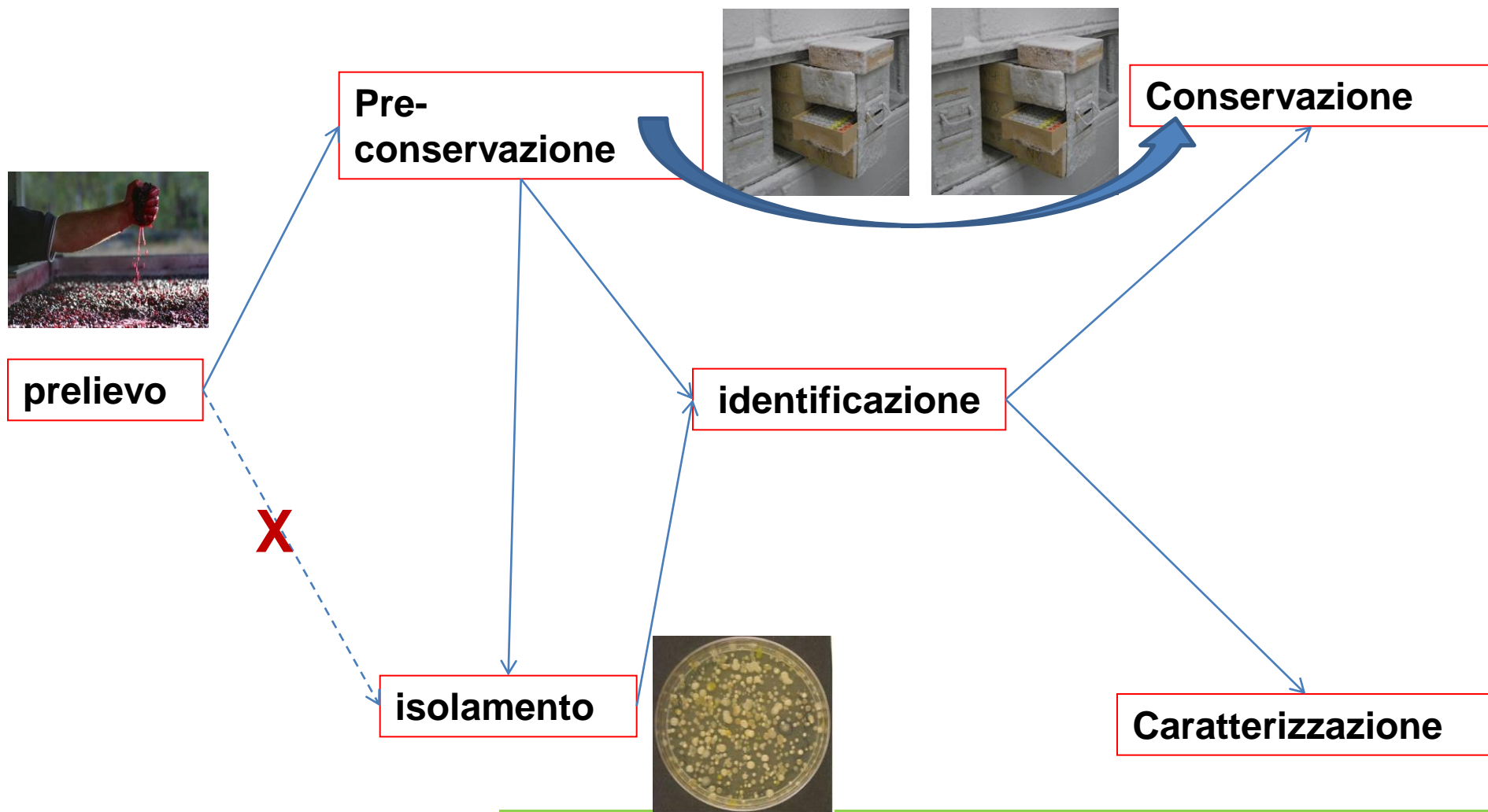


*In situ/
in farm*

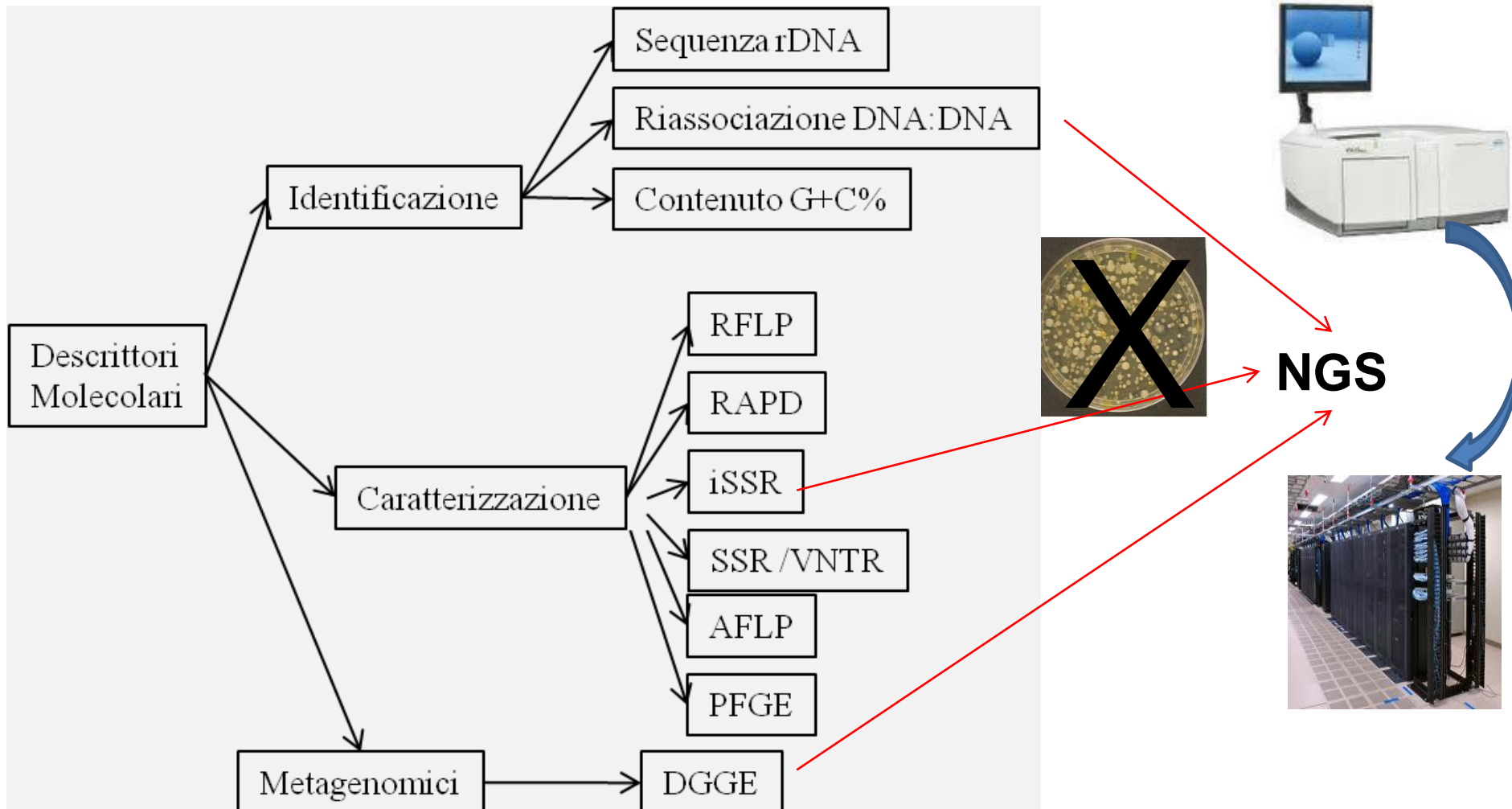
Il framework per i descrittori: Marcatori progressivi Flow-chart operativo



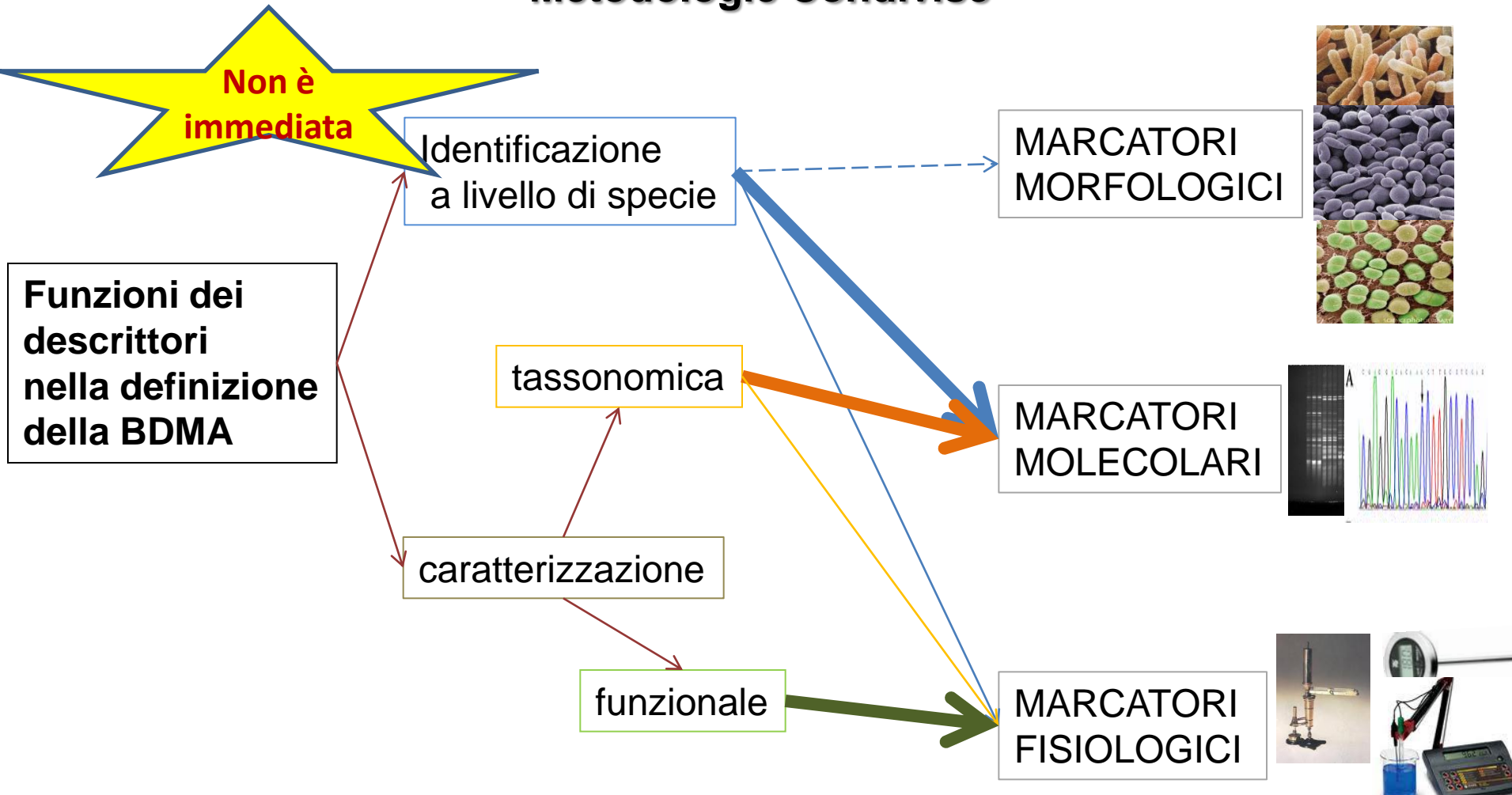
Metodologie Condivise: schema funzionale e decisionale



Metodologie Condivise



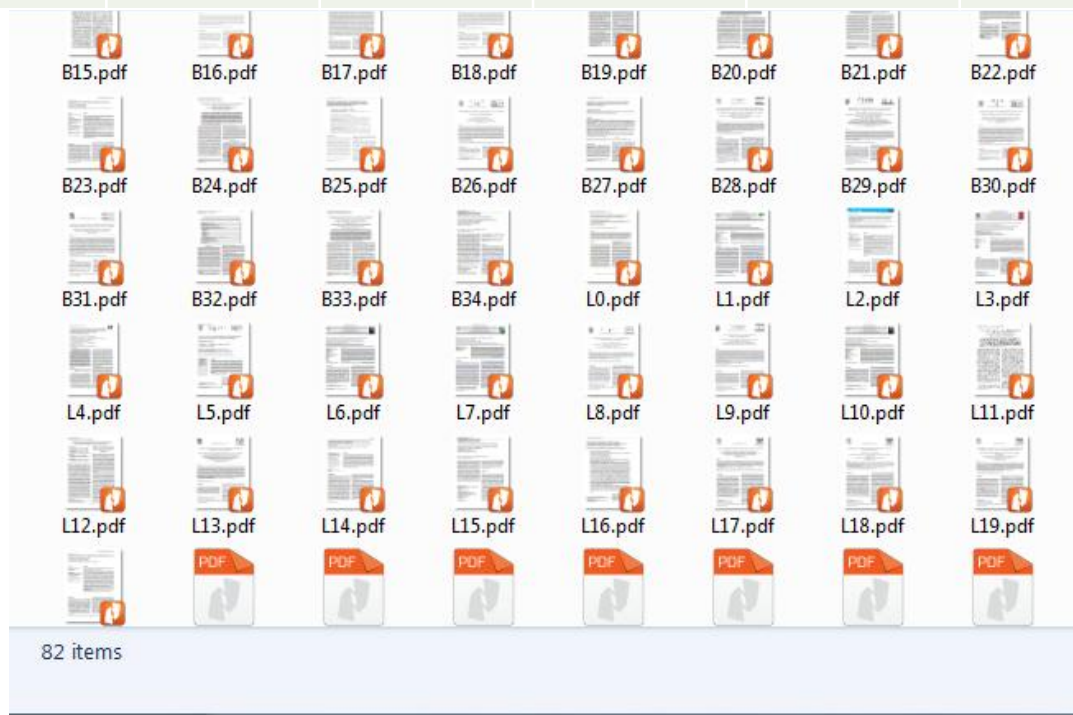
Metodologie Condivise



Metodologie Condivise

Prodotto tangibile di questa fase → 82 metodologie

	Filiera 1	Filiera 2	Filiera 3	Filiera 4	Filiera 5
Batteri					
Funghi					



Metodologie Condivise: approccio a filiera

VINO, MOSTI e BEVANDE FERMENTATE

BATTERI: *Oenococcus oeni*, *Lactobacillus* sp.

LIEVITI: *S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Hanseniaspora uvarum*, genere *Hanseniaspora* genere *Kloeckera*, *Candida stellata*

PANE E PRODOTTI DA FORNO

Batteri:

Lieviti: *Saccharomyces cerevisiae*

FORMAGGI E PRODOTTI CASEARI

BATTERI

LIEVITI: *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces lactis*

FUNGHI FILAMENTOSI: *Penicillium roquefortii*

FRUTTA, VERDURA E PRODOTTI VEGETALI

BATTERI

LIEVITI: *Metschnikowia pulcherrima*, *M. fructicola*, *P. guilliermondii*, genere *Hanseniaspora* ,

SALUMI E PRODOTTI CARNEI

BATTERI

LIEVITI

PRODUZIONI MINORI.

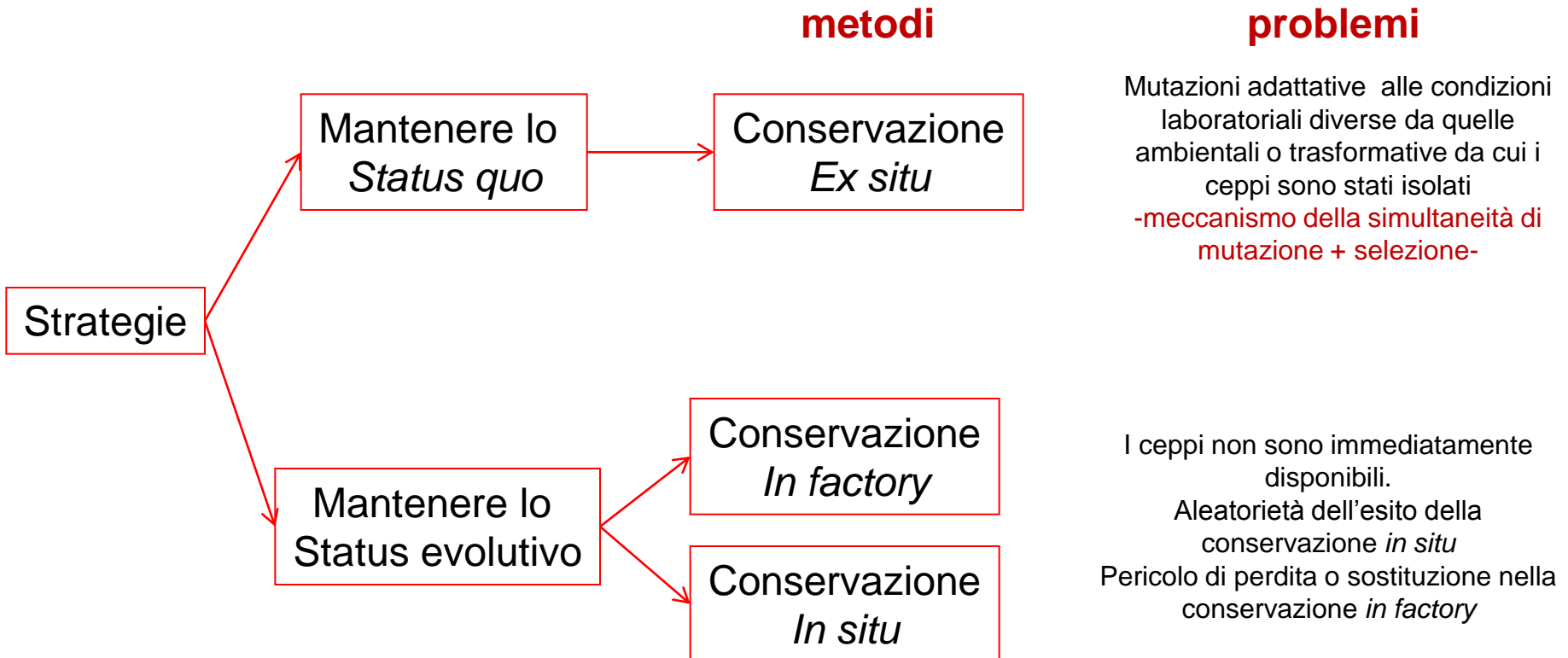
BATTERI

LIEVITI *D. hansenii*, *K.lactis*,

Conservazione della Biodiversità Microbica di interesse Alimentare

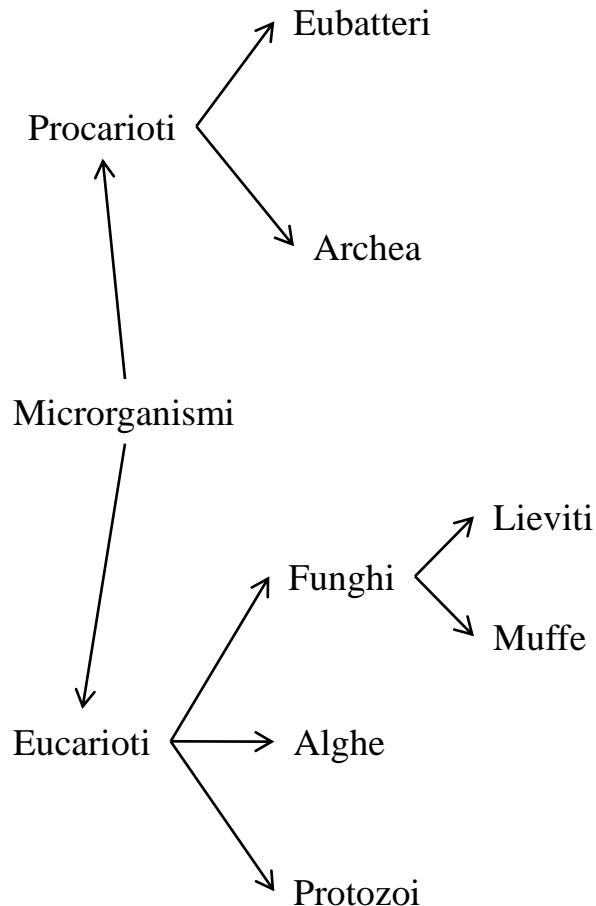
metodi

problemi



Ne consegue che la conservazione va fatta conoscendo a fondo

..... lo status genetico dei microrganismi

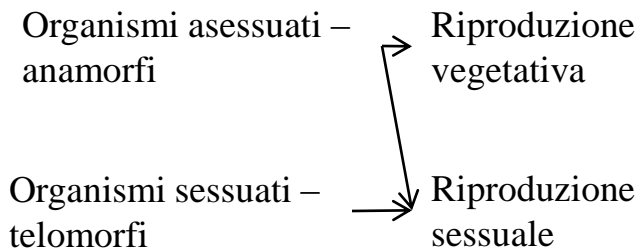


SESSUALITA' ASSENTE

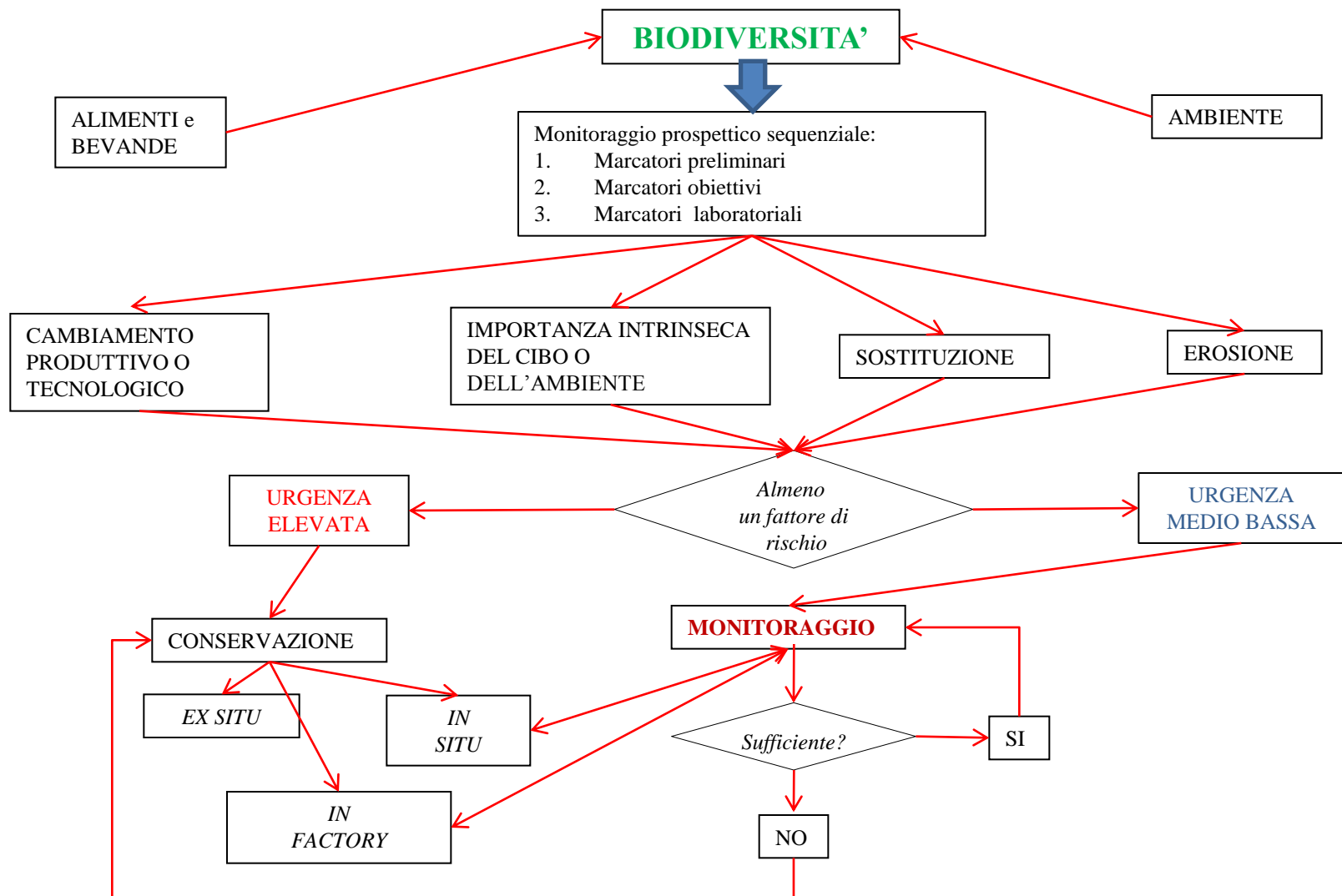
SESSUALITA' FACOLTATIVA

Take home message:

Nei procarioti e negli eucarioti aploidi o aplodiplonti in fase aploide la mutazione è subito espressa e selezionata dall'ambiente che induce la mutazione → **mutazione adattative**
Il ceppo muta anche in condizioni da noi considerate normali



FLOW CHART DECISIONALE PER LA CONSERVAZIONE SOSTENIBILE DELLA BIODIVERSITA' MICROBICA DI INTERESSE AGROAMBIENTALE E ALIMENTARE



Un paradigma di Biodiversità Microbica in campo agroalimentare: L'ambiente Enologico

FASE 1 – MARCATORI PRELIMINARI

- a. Localizzazione dell'azienda (di solito più piccola e più isolata e più biodiversità si trova)
- b. Tipo di impostazione: artigianale, semi-industriale – industriale
- c. Zona notoriamente vocata
- d. Tipo di conduzione
- e. Disponibilità di Marchi

Un paradigma di Biodiversità Microbica in campo agroalimentare: L'ambiente Enologico

FASE 2 – MARCATORI OGGETTIVI - Intervista

- a. Utilizzo di uve proprie o locali
- b. Utilizzo di lieviti autoctoni o di «*fermenti*» di varia natura
- c. Disponibilità a far isolare
- d. Interesse a provare lieviti autoctoni
- e. Capacità di gestire la fermentazione
- f.



Un paradigma di Biodiversità Microbica in campo agroalimentare: L'ambiente Enologico

FASE 3 – MARCATORI LABORATORIALI

a. Microbiologici (conte, isolamenti etc.)

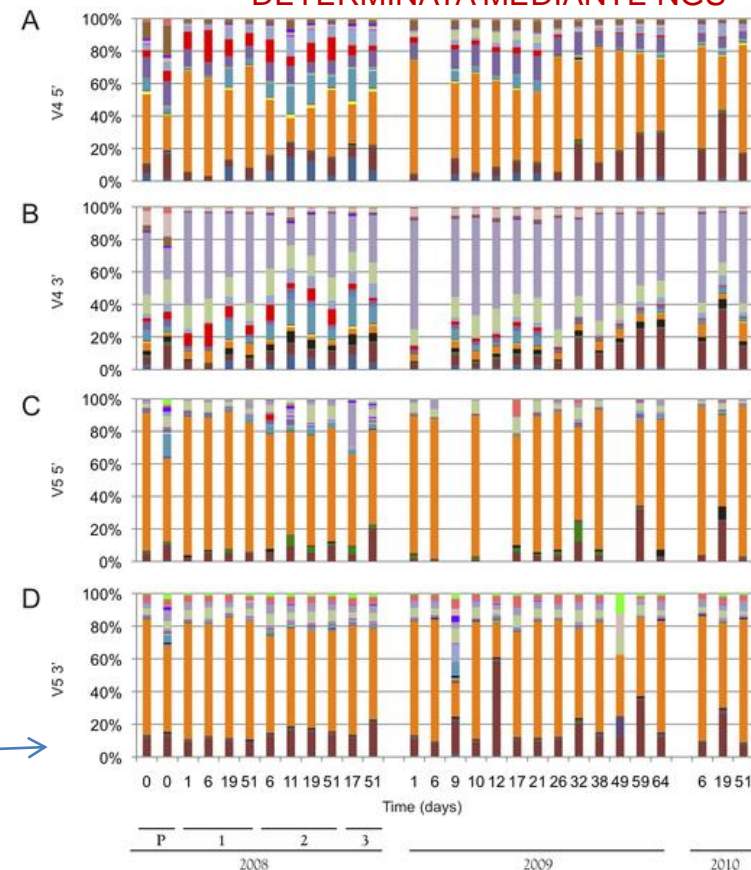
a. Molecolari su singolo ceppo

- 26 S *rRNA*
- *ITS1- 5.8S ITS2*
- *COX1* et al
- MLS, NGS, AFLP etc

b. Metagenomici

- DGGE / tRFLP
- NGS

STRUTTURA DI COMUNITA'
NELL'EVOLUZIONE DI UN VINO
DETERMINATA MEDIANTE NGS



Grazie per l'attenzione