ARSIAL
Agenzia Regionale per lo Sviluppo
e l'Innovazione dell'Agricoltura del Lazio

DETERMINAZIONE DEL DIRETTORE GENERALE

N. 648 **DEL** 1 DICEMBRE 2020

Pratica n. 33659 del 29/11/2020

STRUTTURA PROPONENTE		Area Tutela Risorse e Vigilanza sulle Produzioni di Qualità
CODICE CRAM	**DG004**	**Obiettivo Funzione**: B01E53

OGGETTO:	Approvazione del progetto *Caratterizzazione genetico/molecolare di varietà locali di "grani antichi" coltivate nel Lazio*, dello schema di convenzione operativa con DIBAF dell'*Università degli Studi* della Tuscia e del relativo impegno di spesa. Attività prevista nell'ambito dell'operazione del PSR Lazio 2014/2020 – Operazione 10.2.1 annualità 2018-2020. **CUP F85B18003830009**

ATTO CON SCRITTURE CONTABILI SI [x] NO [ ]

ATTO CON IVA COMMERCIALE [ ] ISTITUZIONALE [ ]

Si dichiara la conformità della presente proposta di determinazione alle vigenti norme di legge e la regolarità della documentazione.

ESTENSORE (nome e cognome)	ISTRUTTORE P.L. (nome e cognome)	DIRIGENTE DI AREA (Claudio Di Giovannantonio)
RESPONSABILE DEL PROCEDIMENTO (Paola Taviani)		

CONTROLLO FISCALE	
ESTENSORE	A.P. GESTIONE AMMINISTRATIVA, CONTABILE E FISCALE
_____	_____

CONTROLLO CONTABILE

A CURA DEL SERVIZO PROPONENTE				*A CURA DEL A.C.B.*			
ANNO FINANZIARIO	E/U	CAPITOLO	IMPORTO	ANNO	N.	DATA	COD. DEBITORE CREDITORE
2020	U	1.03.02.11.999	**10.000,00**		**Vedi allegato**		
2021	U	1.03.02.11.999	**15.000,00**				

ESTENSORE	A.P.GESTIONE AMMINISTRATIVA, CONTABILE E FISCALE	DIRIGENTE DI AREA
		Salvi Maurizio

Il Direttore Generale Salvi Maurizio

PUBBLICAZIONE

PUBBLICAZIONE N° 648 DELL'ALBO DELL'AGENZIA DATA, lì 01/12/2020

REGIONE LAZIO

DETERMINAZIONE DEL DIRETTORE GENERALE

N. 648 **DEL** 1 DICEMBRE 2020

OGGETTO:	Approvazione del progetto *Caratterizzazione genetico/molecolare di varietà locali di "grani antichi" coltivate nel Lazio*, dello schema di convenzione operativa con DIBAF dell'*Università degli Studi* della Tuscia e del relativo impegno di spesa. Attività prevista nell'ambito dell'operazione del PSR Lazio 2014/2020 – Operazione 10.2.1 annualità 2018-2020. **CUP F85B18003830009**

IL DIRETTORE GENERALE

VISTA la Legge Regionale 10 gennaio 1995, n. 2, concernente l'Istituzione dell'Agenzia per lo Sviluppo e l'Innovazione dell'Agricoltura del Lazio (ARSIAL) e ss.mm.ii.;

VISTO il Decreto del Presidente della Regione Lazio n. T00210 del 06 Settembre 2018, con il quale è stato nominato il Consiglio di Amministrazione dell'Agenzia per lo Sviluppo e l'Innovazione dell'Agricoltura del Lazio (ARSIAL), nelle persone del Dott. Antonio Rosati, della Dott.ssa Angela Galasso e del Dott. Mauro Uniformi, ed è stato, altresì, nominato quale Presidente, con deleghe gestionali dirette, il Dott. Antonio Rosati;

VISTO il Decreto del Presidente della Regione Lazio n. T00164 del 01 Ottobre 2020, con il quale l'Ing. Mario Ciarla, è stato nominato Presidente del Consiglio di Amministrazione dell'Agenzia per lo Sviluppo e l'Innovazione dell'Agricoltura del Lazio (ARSIAL), con deleghe gestionali dirette, in sostituzione del dimissionario Dott. Antonio Rosati;

VISTA la Deliberazione del Consiglio di Amministrazione 05 Novembre 2019, n. 50, con la quale, in virtù dei poteri conferiti al Consiglio di Amministrazione di ARSIAL con il succitato Decreto, il Dott. Maurizio Salvi è stato nominato Direttore Generale di ARSIAL;

VISTA la Determinazione del Direttore Generale 25 Novembre 2019, n. 815, con la quale è stato conferito, a far data 25 Novembre 2019, per anni tre eventualmente rinnovabili sino al massimo stabilito dalle norme vigenti in materia, e comunque non oltre l'eventuale data di collocamento a riposo per raggiunti limiti di età, l'incarico delle funzioni dirigenziali dell'Area Tutela Risorse Vigilanza sulle produzioni di Qualità al dott. Claudio Di Giovannantonio;

VISTA la Legge Regionale 27 Dicembre 2019, n. 28, con la quale è stato approvato il Bilancio di Previsione della Regione Lazio 2020-2022, nonché il bilancio di Previsione Finanziario esercizi 2020-2022 approvato da ARSIAL con deliberazione del Consiglio di Amministrazione 18 Dicembre 2019, n. 66, avente ad oggetto: Approvazione ed adozione del Bilancio di previsione 2020-2022 – Rettifica Deliberazione n. 60 del 13 Dicembre 2019", con la quale è stato approvato ed adottato il Bilancio di previsione 2020-2022, redatto in conformità al D.Lgs. n. 118/2011;

VISTE le Deliberazioni del CdA 10 Aprile 2020, n. 13, 04 Agosto 2020, n. 35, 24 Settembre 2020, n. 44 e 11 Novembre 2020, n. 48, con le quali sono state apportate, ai sensi dell'art. 51 del D.lgs. 118/2011, nonché, dell'art. 24, comma 2°, del Regolamento Regionale di contabilità del 9 novembre 2017, n. 26,

rispettivamente la variazione n. 2, n. 3, n. 5 e n. 6, al "Bilancio di previsione 2020-2022";

VISTA la Deliberazione del CdA n. 20 del 27 Maggio 2020, con la quale è stato disposto, ai sensi dell'art. 3, comma 4, del D.Lgs. n. 118/2011 e ss.mm.ii., ed in ossequio al principio contabile all. 4/2 al citato decreto, punto 9.1, il riaccertamento ordinario dei residui attivi e passivi al 31 dicembre 2019;

VISTA la Deliberazione del Consiglio di Amministrazione del 27 luglio 2020 n. 34 con la quale è stato approvato il Rendiconto di gestione per l'annualità 2019, che evidenzia un avanzo di amministrazione al 31.12.2019 pari ad euro 996.897,38;

RICHIAMATA la nota prot. n. 6685 del 5 agosto 2020 trasmessa dalla Direzione Regionale Agricoltura con la quale è stato espresso parere favorevole in ordine al rendiconto di bilancio di questa Agenzia;

VISTA la determinazione del Direttore Generale n. 497 del 5/10/2016 con la quale è stato stabilito "*che in ogni atto di attribuzione di risorse economiche a soggetti esterni, quali determinazioni di impegno con o senza successivo atto di concessione, sia sancito, con apposita menzione nel provvedimento stesso, che all'atto dell'emissione della fattura elettronica il creditore abbia l'obbligo di indicare nel campo "RiferimentoAmministrazione*" il Centro di Responsabilità Amministrativa (CRAM)", stabilendo altresì che "*in assenza della compilazione del campo "RiferimentoAmministrazione" della fattura elettronica, la stessa verrà respinta senza ulteriori verifiche"*;

VISTO il D.Lgs. 14 marzo 2013, n. 33, e ss.mm.ii.;

VISTA la Legge Regionale n. 15/2000 "Tutela delle risorse genetiche autoctone di interesse agrario"

VISTA la Deliberazione della Giunta Regionale 5 aprile 2016 avente ad oggetto "Regolamento UE n. 1305/2013 – Linee di indirizzo per la gestione del PSR 2014/2020 e disposizioni attuative generali;

VISTO il vigente triennale Piano Settoriale di Intervento per l'attuazione della L.R. 15/2000, approvato con Deliberazione del Consiglio Regionale 8 agosto 2018, n. 14;

VISTO il Piano di Sviluppo Rurale 2014-2020 della Regione Lazio che, alla Misura 10, Sottomisura 10.2, riporta l'Operazione 10.2.1 "Conservazione delle risorse genetiche vegetali ed animali in agricoltura" di cui ARSIAL è beneficiario unico con domanda di sostegno n. 84250194002, in forza delle attribuzioni della richiamata L.R. 15/2000,

VISTA la Determinazione della Direzione Regionale Agricoltura e Sviluppo Rurale Caccia e Pesca n. G09679 del 31.08.2016, che approva il documento "Condizioni e modalità di attuazione e di erogazione del sostegno" riguardo le attività svolte da ARSIAL relative alla richiamata operazione PSR.

VISTO l'art. 2 del predetto documento "Descrizione degli interventi e ambito territoriale d'intervento" che prevede diverse tipologie di azioni anche di tipo specialistico da svolgere in collaborazione con istituti ed enti di ricerca finalizzate alla conservazione delle risorse genetiche vegetali ed animali in agricoltura.

VISTA la determinazione G03831 del 15.04.2016 avente ad oggetto "Regolamento UE n. 1305/2013 – Spese ammissibili al finanziamento del Programma di Sviluppo Rurale 2014/2020";

VISTO l'accordo quadro di collaborazione stipulato tra ARSIAL e il Dipartimento per la Innovazione nei Sistemi Biologici, Agroalimentari e Forestali (DIBAF) *dell'Università degli Studi* della Tuscia, approvato con Delibera del Consiglio di Amministrazione n. 14 del 24/12/2018 per la ricerca scientifica finalizzata alla tutela della biodiversità autoctona di interesse agrario del Lazio –Piano Settoriale 2018-2020 - LR n. 15/2000, con cui le Parti si impegnano a collaborare alla realizzazione di progetti che, coerentemente con quanto previsto dal Piano Settoriale di Intervento per la tutela delle risorse genetiche autoctone di interesse agrario, e con i conseguenti Piani Operativi Annuali, si propongono di approfondire l'attività di caratterizzazione genetica, morfologica, fisiologica, chimica e biochimica, delle risorse genetiche autoctone del Lazio, finalizzata alla loro tutela e valorizzazione;

VISTO l'art. 4 del predetto Accordo - Quadro che prevede per lo sviluppo dei progetti in oggetto la stipula di "Convenzioni operative" tra le Parti;

VISTO che a causa dell'emergenza epidemiologica globale COVID-19 il termine di scadenza dell'Accordo Quadro previsto inizialmente per il 31 dicembre 2020, è stato differito al 31 dicembre 2022 con delibera del CdA ARSIAL n.54 del 20/11/2020;

CONSIDERATO che ARSIAL, DIBAF, X Comunità Montana della Valle dell'Aniene e Parco Naturale dei Monti Simbruini hanno firmato un Accordo Quadro per la realizzazione del progetto "Casa delle Sementi della Valle dell'Aniene - progetto pilota per il recupero e la gestione partecipata della riproduzione delle risorse genetiche autoctone", approvato con Delibera del Consiglio di Amministrazione di ARSIAL n. 29 del 5/06/2019, nell'ambito del quale sono recepite le attese del territorio relativamente anche alla caratterizzazione e recupero di varietà locali e storiche di cereali; infatti tra gli obiettivi del Progetto "casa delle Sementi" l'obiettivo E prevede, la "reintroduzione di varietà, non commerciali, di cereali al fine di valorizzare i numerosi prodotti tipici da forno (pane, paste e dolci) legati alla tradizione ed alla storia del comprensorio" Valle dell'Aniene;

VISTO il progetto "*Caratterizzazione genetico/molecolare di varietà locali di "grani antichi" coltivate nel Lazio*" presentato dal prof. Mario Ciaffi, allegato alla convenzione operativa parte integrante del presente atto, che evidenzia nella premessa come in passato, nel predetto territorio era molto diffusa la coltivazione di cereali (grano, orzo e mais), così come testimoniato dalle Cronache archiviate nella biblioteca dei Monasteri Benedettini di Subiaco e dai numerosi "vecchi molini" presenti nell'area: Mola Vecchia di Jenne, Molino di Filettino, Molino di Trevi, Molino di Jenne, Molini di Subiaco; inoltre lo stesso "Piano settoriale di intervento per la tutela delle risorse genetiche autoctone di interesse agrario (L.R. n. 15/2000). Triennio 2018- 2020" indica la necessità di avviare indagini di caratterizzazione genetico molecolare delle accessioni di *Triticum* collezionate da ARSIAL, anche al fine della loro iscrizione, come "varietà da conservazione", al Registro Nazionale;

CONSIDERATO l'emergenza COVID-19 e l'evolversi della sua diffusione di carattere pandemico, la Giunta Regionale con la DGR n. 823 del 10 novembre 2020, ha "*approvato la proroga all' 8 agosto 2022 della scadenza del Piano settoriale di intervento per la tutela delle risorse genetiche autoctone di interesse agrario (L.R. n. 15/2000). Triennio 2018-2020 approvato con Delibera del Consiglio regionale n. 14 del 08/08/2018, prevista per il 31 dicembre 2020*";

CONSIDERATO che la complessità delle attività rende opportuna l'integrazione delle competenze professionali disponibili in ARSIAL con quelle altamente specialistiche del DIBAF dell'*Università degli Studi* della Tuscia, incentrate sulla biologia molecolare e le analisi genetiche applicate agli organismi (animali, piante agrarie, alberi forestali) del sistema agroalimentare, dall'analisi di qualità e nutraceutiche dei prodotti e processi della filiera agroalimentare, alla mitigazione e all'adattamento ai cambiamenti climatici e ai processi di desertificazione, inclusa l'ecofisiologia degli stress ambientali nonché all'analisi, conservazione e miglioramento del paesaggio rurale del Lazio e italiano;

DATO ATTO che il progetto presentato da ARSIAL a valere sul PSR Lazio 2014-2020 Operazione 10.2.1 prevede espressamente l'avvio di "*analisi genetico-molecolari su varietà di cereali e ortive già caratterizzate morfologicamente e tutelate, nonché di quelle ancora in fase di caratterizzazione morfologica"* nell'ambito delle azioni mirate A, riportate nella tabella finanziaria del progetto alla voce 6";

RITENUTO di approvare lo schema di convenzione allegato sub A) al presente atto, del quale costituisce parte integrante e sostanziale, con il quale, a valle del richiamato Accordo Quadro approvato con deliberazione del CDA n. 14/2018, vengono definiti termini e condizioni per la realizzazione delle attività, schema di convenzione che reca evidenza della partecipazione finanziaria di ARSIAL a copertura parziale dei costi, con un importo di € 25.000,00 nel biennio, da riconoscere esclusivamente a titolo di rimborso per le spese effettivamente sostenute per lo svolgimento delle attività tecnico-scientifiche previste in capo al DIBAF dell'*Università degli Studi* della Tuscia;

CONSIDERATO che le funzioni di Responsabile Unico del Procedimento possono essere svolte dalla dott.ssa Paola Taviani, che ha dichiarato l'assenza di conflitto d'interesse ai sensi dell'art. 6 bis della legge 241/90;

SU PROPOSTA ed istruttoria dell'Area Tutela Risorse e Vigilanza sulle Produzioni di Qualità;

D E T E R M I N A

In conformità con le premesse che formano parte integrante e sostanziale del dispositivo della presente determinazione,

DI APPROVARE la convenzione operativa, in allegato al presente atto, da stipulare tra ARSIAL e DIBAF (Dipartimento per la Innovazione nei Sistemi Biologici, Agroalimentari e Forestali) dell'*Università degli Studi* della Tuscia, per la realizzazione del progetto di ricerca " *Caratterizzazione genetico/molecolare di varietà locali di "grani antichi" coltivate nel Lazio";*

DI IMPEGNARE in favore DIBAF (Dipartimento per la Innovazione nei Sistemi Biologici, Agroalimentari e Forestali) dell'*Università degli Studi* della Tuscia, con sede in Viterbo, via San Camillo de Lellis C F 80029030568, la somma di € 25.000,00 (venticinquemila,00) IVA esente a valere sul capitolo 1.03.02.11.999 – OB. FUNZIONE B01E53 così ripartita:

- € 10.000,00 (diecimila,00) sul bilancio di previsione, esercizio finanziario 2020, che reca la necessaria disponibilità;
- € 15.000,00 (quindicimila,00) sul bilancio pluriennale 2020/22, esercizio finanziario 2021, che reca la necessaria disponibilità.

DI NOMINARE Responsabile Unico del Procedimento la d.ssa Paola Taviani;

DI COMUNICARE al DIBAF dell'Università degli Studi della Tuscia, a cura del Responsabile del Procedimento, l'obbligo di indicare nel campo "Riferimento Amministrazione" del tracciato della nota di credito il Centro di Responsabilità Amministrativa (CRAM DG 004), a pena di rifiuto del documento.

Soggetto a pubblicazione				Tabelle			Pubblicazione documento	
Norma/e	Art.	c.	l.	Tempestivo	Semestrale	Annuale	Si	No
D. Lgs. 33/2013	23	1			X		X	

Agenzia Regionale per lo Sviluppo
e l'Innovazione dell'Agricoltura del Lazio

CONVENZIONE OPERATIVA

Art. 4 dell'Accordo quadro ARSIAL/DIBAF del 24/12/2018
e dell'Accordo quadro ARSIAL/DIBAF / casa delle sementi del 05/06/2019
progetto "Casa delle Sementi della Valle dell'Aniene-progetto pilota per il recupero e la gestione partecipata della riproduzione delle risorse genetiche autoctone
CUP F85B18003830009

Caratterizzazione genetico/molecolare di varietà locali di "grani antichi" coltivate nel Lazio

TRA

Agenzia Regionale per lo Sviluppo e l'Innovazione dell'Agricoltura del Lazio (d'ora innanzi denominata ARSIAL), nella persona del Direttore Generale dott. Maurizio Salvi nato a Roma il 18.08.1961 e domiciliato per la carica presso ARSIAL, via Rodolfo Lanciani, 38 00162 Roma – P. IVA 04838391003, Indirizzo PEC arsial@pec.arsialpec.it

E

il **Dipartimento per la Innovazione nei Sistemi Biologici, Agroalimentari e Forestali** dell'*Università degli Studi* della Tuscia (d'ora innanzi denominato DIBAF) con sede in Viterbo, via San Camillo de Lellis, codice fiscale 80029030568, rappresentato dal Direttore del Dipartimento, prof. Maurizio Petruccioli, nato a (omissis) e domiciliato per la carica come sopra, Indirizzo PEC dibaf@pec.unitus.it

PREMESSO CHE:

- ARSIAL e DIBAF hanno stipulato in data 24/12/2018 un Accordo-Quadro con cui *"si impegnano a collaborare alla realizzazione di un progetto che, coerentemente con quanto previsto dal Piano Settoriale di Intervento per la tutela delle risorse genetiche autoctone di interesse agrario, e con i conseguenti Piani Operativi Annuali, si propone di approfondire l'attività di caratterizzazione morfologica, genetica, fisiologica, chimica e biochimica, delle risorse genetiche vegetali autoctone del Lazio finalizzata alla loro tutela e valorizzazione."*
- l'art. 4 del predetto Accordo - Quadro prevede che *"le attività oggetto del presente accordo verranno definite a mezzo di Convenzioni Operative che verranno predisposte dalla struttura di gestione e si potranno estendere, con apposito atto, a quelle altre che potranno essere successivamente e congiuntamente individuate.*
Le Convenzioni Operative dovranno contenere le descrizioni specifiche di:
a) attività da svolgere
b) obiettivi da realizzare
c) termini e condizioni di svolgimento

d) tempi di attuazione
e) risorse umane e strumentali da impiegare e messe a disposizione dalle parti
f) definizione degli oneri finanziari relativi alle singole attività tecnico-scientifiche e delle loro modalità di erogazione."

- Al fine di rispondere alla necessità di avviare indagini di caratterizzazione genetico molecolare delle accessioni appartenenti al genere di *Triticum* collezionate da ARSIAL nell'ambito delle attività previste dalla Legge Regionale n. 15/2000 "Tutela delle risorse genetiche autoctone di interesse agrario", anche per la loro possibile iscrizione, come "varietà da conservazione", al Registro Nazionale;
- al fine di recuperare varietà locali e storiche di cereali autunno vernini presenti nel territorio della Valle dell'Aniene e promuovere la reintroduzione di varietà, non commerciali, di cereali per la valorizzazione dei numerosi prodotti tipici da forno (pane, paste e dolci) legati alla tradizione ed alla storia del comprensorio", così come indicato nel progetto "Casa delle Sementi della Valle dell'Aniene - progetto pilota per il recupero e la gestione partecipata della riproduzione delle risorse genetiche autoctone" (Accordo Quadro stipulato da ARSIAL, DIBAF, X Comunità Montana della Valle dell'Aniene e Parco Naturale dei Monti Simbruini);
- sarà avviato uno studio mediante l'utilizzo di marcatori molecolari SNP allo scopo di: a) valutare la diversità genetica presente nella collezione ARSIAL, b) identificare le varietà locali e/o storiche del Lazio; c) sviluppare le opportune strategie di conservazione in situ/on farm;
- con la presente convenzione operativa ARSIAL e DIBAF intendono collaborare al progetto di ricerca, allegato alla presente convenzione, denominato "**Caratterizzazione genetico/molecolare di varietà locali di "grani antichi" coltivate nel Lazio**".

CONSIDERATO CHE

- l'art. 15 della legge 7 agosto 1990, n. 241, "*Nuove norme in materia di procedimento amministrativo e di diritto di accesso ai documenti amministrativi*", prevede che le Amministrazioni pubbliche possono sempre concludere tra loro accordi per disciplinare lo svolgimento in collaborazione di attività di interesse comune e che per tali accordi si osservano, in quanto applicabili, le disposizioni previste dall'art. 11, commi 2 e 3, della medesima legge;
- l'art. 5, comma 6, del D. Lgs. 18 aprile 2016 n. 50 – Codice dei Contratti Pubblici - , prevede che gli accordi conclusi tra due o più amministrazioni non rientrano nell'ambito di applicazione del Codice dei Contratti di cui al medesimo Codice quando sono soddisfatte le seguenti condizioni: a) l'accordo stabilisce una cooperazione tra le Amministrazioni finalizzata a garantire che i servizi pubblici, che le stesse sono tenute a svolgere, siano prestati per il conseguimento di obiettivi comuni; b) la cooperazione è retta esclusivamente dall'interesse pubblico; c) le Amministrazioni svolgono sul mercato meno del 20% delle attività oggetto della cooperazione;

- conformemente alle finalità ed agli obiettivi che "il Piano Settoriale di intervento per la tutela delle risorse genetiche autoctone di interesse agrario - Triennio 2018 – 2020" si propone (punti 1a e 1b; punto 2), ovvero il perseguimento di finalità più generali direttamente correlate con l'interesse dell'intera comunità, la presente convenzione stabilisce che i risultati della ricerca non possono formare oggetto di alcun diritto di uso esclusivo o prioritario, né di alcun vincolo di segreto o riservatezza e di conseguenza la presente convenzione non rientra nelle previsioni dell'art 158 c. 1 lettera a) e b), D. Lgs. 50/2016, poiché i risultati delle ricerche da effettuare sono pubblici e non appartengono esclusivamente all'amministrazione aggiudicatrice affinché li usi nell'esercizio della sua attività;
- il progetto di ricerca, oggetto della presente convenzione rientra appieno nelle pubbliche finalità affidate dal legislatore statale e regionale, alle predette parti e le stesse soddisfano pubblici interessi in materia di tutela e valorizzazione della biodiversità di interesse agrario del Lazio;
- la collaborazione oggetto della presente convenzione consente di creare sinergie per il raggiungimento dei predetti obiettivi comuni e di pubblico interesse;
- non configurandosi quale pagamento di corrispettivo, comprensivo di un margine di guadagno, l'onere finanziario a carico di ARSIAL derivante dalla presente convenzione, nell'ottica di una reale condivisione di compiti e responsabilità, rappresenta un contributo alle spese effettivamente sostenute dal DIBAF.

TUTTO CIÒ PREMESSO E CONSIDERATO SI CONVIENE E SI STIPULA QUANTO SEGUE

Art. 1
Premessa

La premessa e le considerazioni sono parte integrante della presente Convenzione.

Art. 2
Oggetto e durata

<u>Attività da svolgere</u>
Le parti si impegnano a collaborare alla realizzazione delle attività previste nel progetto di ricerca, allegato alla presente convenzione denominato "Caratterizzazione genetico/molecolare di varietà locali di "grani antichi" coltivate nel Lazio".

<u>Obiettivi da realizzare</u>

L'obiettivo generale del presente progetto di ricerca è quello di valutare mediante marcatori SNP la diversità genetica della collezione di "grani antichi" mantenuti presso ARSIAL, con particolare riferimento a popolazioni locali di farro (*T. turgidum*

L. subsp. *Dicoccum* Schubler), tra le quali due popolazioni collezionate nella Valle dell'Aniene, e a varietà locali e storiche di frumento tenero (*T. aestivum* L.) recuperate presso agricoltori del territorio laziale.
Tale obiettivo generale sarà perseguito attraverso i seguenti obiettivi specifici:

1) individuazione in parcelle vetrina per ciascuna varietà locale, popolazione e/o varietà storica, delle piante che meglio esprimono le caratteristiche morfologiche e fenotipiche delle varietà/popolazioni locali oggetto di studio, da utilizzare nelle analisi genetico-molecolari;
2) analisi della struttura genetica mediante marcatori SNP delle varietà/popolazioni per ciascuna delle specie interessate, con la finalità di verificare se le diverse tipologie fenotipiche individuate all'interno di ciascuna varietà/popolazione locale corrispondano a gruppi genetici distinti e facilmente rintracciabili;
3) identificazione univoca ed affidabile (*fingerprinting*) delle varietà/popolazioni locali e/o varietà storiche, mediante marcatori SNP, confrontando accessioni di varietà coltivate nel Lazio, in Regioni limitrofe, anche iscritte al Registro nazionale delle varietà;
4) proposta di linee guida per la gestione della conservazione in situ ed ex situ delle varietà/popolazioni oggetto di studio, anche attraverso un uso sostenibile, e per lo sviluppo di una metodologia di rintracciabilità genetica dei prodotti alimentari da loro derivati, a garanzia della tipicità, e come forma di tutela per produttori e consumatori.

<u>Termini e condizioni di svolgimento</u>
La presente convenzione decorre dalla data di sottoscrizione e termina 31 dicembre del 2021, potrà essere rinnovata previo atto scritto fra le Parti, da comunicare almeno un mese prima della data di scadenza. In nessun caso è ammesso il ricorso al tacito rinnovo.

<u>Tempi di attuazione</u>

PRIMA FASE (durata indicativa 3-6 mesi)

1. Allestimento delle prove sperimentali di campo.
2. Selezione delle piante che meglio esprimono le caratteristiche morfologiche e fenotipiche delle varietà/popolazioni locali oggetto di studio da utilizzare nelle analisi genetico-molecolari.
3. Reperimento di popolazioni/varietà locali e varietà certificate di farro e frumento tenero da utilizzare come controlli nelle analisi genetico-molecolari.
4. Allevamento in camera di crescita dei semenzali per l'estrazione del DNA.
5. Estrazione del DNA da circa 430 semenzali.

SECONDA FASE (indicativa 4-6 mesi)

6. Analisi genetico-molecolari mediante marcatori SNPs.
7. Analisi statistica dei dati.

8. Discussione dei risultati ottenuti con i tecnici ARSIAL e con le comunità di agricoltori detentori delle popolazioni/varietà locali tutelate (L.R. 15/2000) oggetto di studio.

Art. 3
Coordinamento ed esecuzione dell'attività

L'attività di coordinamento è svolta dai seguenti responsabili:
- per ARSIAL: dott.ssa Paola Taviani e dott. Roberto Rea
- per DIBAF: prof. Mario Ciaffi

I responsabili cureranno i rapporti tra le parti, coordineranno le attività nei rispettivi ambiti di competenza, constateranno inoltre l'effettiva attività svolta e autorizzeranno la richiesta di rimborso per il ristoro delle spese sostenute da parte del DIBAF secondo la quantificazione e nel rispetto del massimale di cui all'art. 4.

Risorse umane e strumentali da impiegare e messe a disposizione dalle parti
ARSIAL metterà a disposizione i propri tecnici, n. 2 risorse umane che per l'intero ciclo colturale dei cereali autunno-vernini seguiranno sia le parcelle in campo che la collezione delle accessioni presso gli agricoltori, collaborando con il DIBAF e in particolare si occuperanno di:
- individuazione e reperimento accessioni di varietà locali di farro e frumento tenero sia conservate *ex situ* presso la banca germoplasma di ARSIAL sia presso gli agricoltori *in situ*/*on farm*;
- realizzazione presso l'azienda sperimentale ARSIAL di Alvito (FR) di parcelle vetrina dove coltivare le accessioni collezionate appartenenti al genere *Triticum* per un'analisi morfologica del materiale oggetto di studio;
- conduzione di una prova di confronto varietale per le sole accessioni di frumento tenero collezionate presso l'azienda sperimentale ARSIAL di Alvito (FR), utilizzando uno schema con parcelle replicate a blocchi randomizzati, per una dettagliata caratterizzazione morfologica, utilizzando in particolare i principali descrittori relativi alla spiga e cariosside;
- organizzazione di visite con i ricercatori, tecnici e gli agricoltori della Rete, per osservare in campo la variabilità presente nelle accessioni collezionate;
- attività di animazione locale e divulgazione tecnica dei risultati con la restituzione alla comunità di agricoltori dei risultati conseguiti con la caratterizzazione genetica molecolare;
- coordinamento con i ricercatori DIBAF per l'aggiornamento delle schede descrittive delle varietà locali già iscritte al RVR e stesura scheda descrittiva per le nuove risorse a rischio di erosione da proporre per l'iscrizione al RVR, messa a punto della scheda per una eventuale iscrizione come "varietà da conservazione" al Registro Nazionale delle varietà.

DIBAF provvederà allo svolgimento delle attività previste nel progetto allegato al presente atto e dettagliatamente descritte (A, B, C e D), seguendo l'articolazione temporale di cui all'art. 2.

ARSIAL

Art. 4
Oneri del progetto e modalità di rimborso

Definizione degli oneri finanziari relativi alle singole attività tecnico-scientifiche e delle loro modalità di erogazione

Per la realizzazione del progetto, oggetto della presente convenzione, ARSIAL corrisponderà al DIBAF **€ 25.000,00** (venticinquemila,00) a titolo di rimborso per le spese effettivamente sostenute per le singole attività tecnico-scientifiche dettagliatamente riportate nel progetto, allegato al presente atto, ai seguenti punti:

Spese per attività tecnico-scientifiche sostenute dal DIBAF	**Costo €**
A. Spese per materiali e reagenti ed acquisto Wheat 90K iSelect SNP array Illumina (per 432 analisi):	23.000,00
B. Spese per il Personale: Voucher INPS (ex prestazione occasionale) per le attività di genotyping di laboratorio e la successiva analisi dei dati grezzi	2.000,00
Totale €	**25.000,00**

Non configurandosi quale pagamento di corrispettivo, comprensivo di un margine di guadagno, l'onere finanziario derivante dalla presente convenzione, nell'ottica di una reale condivisione di compiti rappresenta un contributo alle spese effettivamente sostenute.

ARSIAL si impegna ad erogare la quota di contributo a favore di DIBAF con le modalità di seguito indicate:

- **Prima anticipazione:** pari al 40% e corrispondente a **€ 10.000,00** verrà erogato come anticipazione per l'avvio del progetto, alla stipula della convenzione operativa.
- **Seconda anticipazione:** pari al 40% e corrispondente a **€ 10.000,00** verrà erogato nel corso del 2021 su richiesta del DIBAF, previa rendicontazione delle spese effettuate con la prima anticipazione e presentazione di una relazione sullo stato di avanzamento delle attività;
- **Saldo:** pari al 20% e corrispondente a **€ 5.000,00** a conclusione delle attività progettuali, riportate in una dettagliata relazione tecnico scientifica finale con i risultati ottenuti e corredata dalla rendicontazione generale delle spese effettivamente sostenute, da presentare entro il 31/12/2021.
- In caso di proroga, fermo restando l'importo complessivo previsto, il rimborso spese e le modalità di erogazione dello stesso saranno successivamente indicati con atto scritto e sottoscritto da ambo le parti.

DIBAF concorderà con ARSIAL le modalità e i formati necessari per la formalizzazione dei report tecnici e delle rendicontazioni finanziarie conformemente al Reg. (UE) 1305/2013, alla delibera della Giunta Regionale n. 147/2016 del 5 aprile 2016 ed alla Determinazione del Direttore della Direzione Generale Agricoltura n. G03831 del 15.04.2016, sono ammesse a rendicontazione

esclusivamente le spese connesse alla realizzazione del progetto e inerenti a:

- personale a tempo determinato assunto per lo svolgimento delle attività previste dal presente progetto;
- assegni di ricerca, borse di studio, borse di dottorato istituiti per lo svolgimento delle attività previste dal presente progetto;
- missioni;
- attrezzature tecniche sia di campo che di laboratorio;
- spese per divulgazione risultati e partecipazione a convegni;
- produzione e stampa di materiale informativo e formativo, siti web;
- commesse e consulenze;
- materiali di consumo.

La presente convenzione non potrà determinare in alcun modo il sorgere di rapporti contrattuali o di dipendenza tra il personale di ARSIAL e del DIBAF.

Art. 5
Controversie

La Parti si impegnano a concordare, in uno spirito di reciproca collaborazione, eventuali procedure e adempimenti non specificati nella presente convenzione che si rendano tuttavia necessari per un ottimale conseguimento degli obiettivi e a definire consensualmente eventuali controversie che possano sorgere nel corso del rapporto di collaborazione. In caso di mancata risoluzione amichevole è competente in via esclusiva il TAR del Lazio.

Art. 6
Proprietà ed utilizzazione dei risultati

Tutti i risultati parziali e finali direttamente o indirettamente derivanti dalla presente convenzione sono pubblici, non possono formare oggetto di alcun diritto di uso esclusivo o prioritario, né di alcun vincolo di segreto o riservatezza. Le Parti, nell'ambito dei propri compiti istituzionali, potranno liberamente utilizzare le relazioni e/o i risultati derivanti dall'attività oggetto del presente contratto, con l'obbligo di notiziare l'altra Parte e di citare, nelle eventuali pubblicazioni di carattere tecnico/scientifico, che tali risultati sono scaturiti dalla collaborazione con l'altra Parte. Tuttavia, salvo specifici accordi scritti tra le parti, è escluso l'utilizzo diretto dei nomi e/o dei loghi delle Parti per scopi pubblicitari.

Art. 7
Riservatezza e trattamento dei dati personali

Le Parti si impegnano a garantire il completo riserbo da parte propria e dei propri collaboratori su tutte le informazioni ed i prodotti di natura esplicitamente riservata.

Le Parti della presente convenzione garantiscono il rispetto delle disposizioni di cui al Reg. (UE) 2016/679 e Decreto Legislativo n. 196/2003 e s.m.i. (Codice in materia di protezione dei dati personali).

Art. 8
Responsabilità

Ciascuna delle Parti dichiara di avere idonea polizza assicurativa a copertura dei rischi per la responsabilità civile verso terzi per danni a persone e cose, dei quali sia eventualmente tenuta a rispondere.
Ciascuna parte garantisce, altresì, che il personale assegnato per lo svolgimento delle attività di cui alla presente convenzione gode di valida copertura assicurativa contro gli infortuni presso l'INAIL o altra compagnia assicuratrice.

Art. 9
Diritto di recesso

Le Parti hanno la facoltà, in caso di sopravvenute esigenze di diritto pubblico o di sopravvenienze normative nazionali inerenti la propria organizzazione o a causa di una rivalutazione dell'interesse pubblico originario, di recedere unilateralmente, in tutto o in parte, dalla presente convenzione con preavviso di almeno 30 giorni solari, da comunicarsi con posta elettronica certificata – PEC. In tal caso sono fatte salve le spese già sostenute ed impegnate fino al momento di ricevimento della comunicazione di recesso.

Art. 10
Spese contrattuali e di registrazione

Le Parti danno atto che la presente convenzione, non avendo per oggetto prestazioni a contenuto patrimoniale, sarà registrata in caso d'uso ai sensi dell'art. 4 - Tariffa - parte II del DPR 131 del 26/04/1986 a cura e spese della parte che richiede la registrazione stessa.
La presente convenzione è soggetta ad imposta di bollo sin dall'origine (art. 2, Tariffa, Allegato A, Parte I – D.P.R. 26 ottobre 1972 n. 642 e successive modificazioni e integrazioni) che viene assolta dal DIBAF con apposizione di contrassegno telematico.

Art.11
Norme finali

La presente convenzione è impegnativa per le parti contraenti in conformità delle leggi vigenti. Per tutto quanto non espressamente regolato dai precedenti articoli, riguardo ai rapporti tra DIBAF e ARSIAL si applicano le disposizioni del Codice Civile, in quanto compatibili.
Quanto sopra è letto, approvato e sottoscritto dalle Parti.

La presente convenzione viene sottoscritta unicamente in forma digitale, ai sensi dell'articolo 15, comma 2-bis. della legge n. 241/90, e trasmesso tramite posta elettronica certificata.

Per **ARSIAL**	Per il **DIBAF**
Il Direttore Generale	Il Direttore
(dott. Maurizio Salvi)	(Prof. Maurizio Petruccioli)

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELLA TUSCIA

DIBAF
DIPARTIMENTO PER LA INNOVAZIONE NEI SISTEMI BIOLOGICI AGROALIMENTARI E FORESTALI

PROGETTO DI RICERCA

Caratterizzazione genetico/molecolare di varietà locali di "grani antichi" coltivate nel Lazio

Soggetto proponente: Dipartimento per l'innovazione dei sistemi biologici, agroalimentari e forestali (DIBAF), dell'Università degli Studi della Tuscia di Viterbo.

Responsabile scientifico: Prof. Mario Ciaffi

Prof. Mario Ciaffi

TITOLO DEL PROGRAMMA DI RICERCA

"Caratterizzazione genetico/molecolare di varietà locali di "grani antichi" coltivate nel Lazio"

Soggetto proponente: Dipartimento per l'innovazione dei sistemi biologici, agroalimentari e forestali (DIBAF), dell'Università degli Studi della Tuscia di Viterbo.

Responsabile scientifico: Prof. Mario Ciaffi

PREMESSA

Nell'ambito delle attività del progetto "Casa delle Sementi della Valle dell'Aniene - progetto pilota per il recupero e la gestione partecipata della riproduzione delle risorse genetiche autoctone", oggetto dell'Accordo Quadro, stipulato da ARSIAL, DIBAF, X Comunità Montana della Valle dell'Aniene e Parco Naturale Regionale dei Monti Simbruini, accogliendo le istanze provenienti dal territorio e anche al fine di valutare geneticamente diverse accessioni di *Triticum* collezionate da ARSIAL nel predetto comprensorio, ARSIAL e DIBAF hanno elaborato il progetto "Caratterizzazione genetico/molecolare di varietà locali di "grani antichi" coltivate nel Lazio". Infatti tra gli obiettivi del Progetto "Casa delle Sementi della Valle dell'Aniene" si prevede la reintroduzione di varietà, non commerciali di cereali, al fine di valorizzare i numerosi prodotti tipici da forno (pane, paste e dolci), legati alla tradizione ed alla storia del territorio. Nella Valle dell'Aniene, in passato era molto diffusa la coltivazione di cereali (grano, orzo e mais), come testimoniato dalle Cronache archiviate nella biblioteca dei Monasteri Benedettini di Subiaco e dalla presenza di numerosi "vecchi molini" nelle aree: Mola Vecchia di Jenne, Molino di Filettino, Molino di Trevi, Molino di Jenne, Molini di Subiaco.
I numerosi prodotti trasformati, come dolci, pane e pasta, legati alla storia e alla tradizione locale, che rientrano nell'elenco dei Prodotti Agroalimentari Tradizionali (PAT), potrebbero essere preparati utilizzando farine e semole ottenute da varietà non commerciali di frumento tenero e duro, da reintrodurre nell'areale e da coltivare secondo criteri e tecniche connesse con l'agricoltura biologica, allo scopo di garantire una filiera interamente certificata.
Inoltre il Piano settoriale 2018-2020, indica la necessità di avviare indagini di caratterizzazione genetico molecolare di tutte le accessioni di *Triticum* collezionate da ARSIAL, anche al fine della loro iscrizione, come "varietà da conservazione", al Registro Nazionale.

Dal punto di vista botanico il termine grani o frumenti include diverse specie della famiglia delle Graminaceae (Poaceae) tutte appartenenti al genere *Triticum*. Questo genere comprende circa 20 specie, sia coltivate che selvatiche, con un diverso livello di ploidia: specie diploidi, tetraploidi ed esaploidi, con un numero cromosomico di base per ognuno dei genomi presenti nelle specie pari a 7 (Dubcowky and Dvorak, 2007). Limitandoci ai frumenti coltivati più importanti, tra le specie diploidi (2n=14) abbiamo il monococco (*Triticum monococcum*) che fu il primo frumento coltivato dall'uomo neolitico circa 10.000 anni fa, nella mezza luna fertile quando nacque l'agricoltura. Sono invece frumenti tetraploidi (2n=28) il farro (*Triticum turgidum* subspecie *dicoccum*), coltivato ai tempi degli antichi romani (dal termine farro deriva la parola farina), il frumento duro (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) che sostituisce il farro a partire dalla fine dell'impero romano ed il *Triticum turgidum* ssp. *turanicum* (noto commercialmente con il nome di kamut® o di "grano khorasan"), una sottospecie molto simile al grano duro che si è originata nel territorio dell'attuale Iran. Infine, tra i frumenti

esaploidi (2n= 42) troviamo lo spelta (*T. aestivum* ssp. *spelta*) ed il frumento tenero (*T. aestivum* ssp. *aestivum*).
Tutti i frumenti coltivati hanno un importante carattere in comune, la loro spiga è rigida e quando raggiunge la maturità non si frantuma per liberare nel terreno la granella che contiene. Al contrario, le specie selvatiche di frumento, comprese quelle coltivate ai primordi dell'agricoltura, hanno la spiga fragile che a maturazione si frammenta e libera le cariossidi nel terreno circostante. In effetti, la rigidità della spiga rappresenta la prima e più importante evidenza della domesticazione del frumento da parte dell'uomo neolitico diventato agricoltore (Dubcowky and Dvorak, 2007). Un secondo carattere contraddistingue alcuni dei frumenti coltivati ed è rappresentato dalla cosiddetta cariosside vestita o nuda. I frumenti vestiti sono *T. monococcum*, *T. dicoccum*, e *T. spelta*, mentre i frumenti a cariosside nuda sono il frumento duro, il tenero ed il *T. turanicum*. In queste ultime specie la sgranatura meccanica (trebbiatura) della spiga produce infatti cariossidi libere da rivestimenti (glume) e la granella può essere direttamente trasformata in farina o semola.
A partire da 10.000 anni fa, l'uomo ha costantemente selezionato le tipologie migliori di frumenti, prima su basi totalmente empiriche e poi, a partire dai primi del '900, sfruttando le conoscenze genetiche e più recentemente quelle genomiche. Su basi empiriche l'uomo ha selezionato le forme coltivate differenziandole da quelle selvatiche (come abbiamo detto precedentemente in queste ultime i semi cadono dalla spiga una volta maturi, un carattere estremamente utile per la dispersione dei semi prodotti, ma che rende difficile la raccolta dei semi da parte dell'uomo) e successivamente ha preferito le forme nude, soprattutto se caratterizzate da semi grandi, per un'ovvia comodità in quanto i semi nudi non devono essere decorticati. Negli ultimi 100 anni si è tuttavia assistito ad un intenso lavoro di miglioramento genetico che ha portato alla selezione dei frumenti moderni attraverso un susseguirsi di nuove varietà. Il lavoro di miglioramento genetico del frumento fu avviato agli inizi del'900 da Nazareno Strampelli. I suoi sforzi condussero alla realizzazione di decine di varietà di frumento tenero e duro, alcune delle quali di grandissimo successo internazionale, come ad esempio il frumento duro Cappelli (1915, noto anche come Senatore Cappelli) o i frumenti teneri Mentana (1923) e San Pastore (1931) (Bozzini et al. 1998; Lorenzetti, 2000). Nel periodo antecedente la seconda guerra mondiale, l'adozione delle varietà selezionate da Strampelli ha permesso di raggiungere importanti incrementi produttivi (Lorenzetti, 2000). Dopo il lavoro pionieristico di Strampelli, Norman Borlaug, un genetista che lavorava presso il CIMMYT (un'istituzione di ricerca internazionale con sede in Messico) ha dato origine ai cosiddetti "frumenti moderni" grazie ad una estesa attività di miglioramento genetico, determinando un rinnovamento varietale che è stato definito come "rivoluzione verde" (Prohens and Nuez, 2003). Alla base di tutto il lavoro di miglioramento genetico c'era, e c'è tuttora, l'esigenza di aumentare la produzione per unità di superficie in un contesto sostenibile. L'aumento della produzione cerealicola è stato ottenuto attraverso l'uso di migliori tecniche di coltivazione (inclusi l'uso di fertilizzanti e di agro farmaci) e attraverso la selezione di piante geneticamente più produttive e che rispondono meglio alle moderne tecniche di coltivazione. Nel caso del frumento, l'enorme aumento produttivo registrato in Italia (la resa per ettaro è quantomeno triplicata dagli inizi del '900 ad oggi) e nel mondo è attribuibile per almeno il 50% al miglioramento genetico e nei prossimi decenni il ruolo del miglioramento genetico sarà anche maggiore.
Il termine "grani antichi" è un termine "commerciale", di recente molto utilizzato per identificare tutta una serie di frumenti che furono alla base dell'alimentazione delle civiltà mediterranee per alcuni millenni, prima di essere progressivamente sostituiti dalle "moderne varietà" di frumenti derivate da programmi di miglioramento genetico. Questi "grani antichi" attualmente stanno suscitando un nuovo interesse per le loro particolari caratteristiche nutrizionali, per la loro capacità di adattarsi al metodo produttivo biologico, sempre più in crescita, e perché si prestano alla valorizzazione agricola di ambienti marginali, dove attuare tecniche di produzione di particolare significato agronomico per realizzare modelli colturali di tipo estensivo per produzioni di qualità, adeguata redditività e sostenibilità paesaggistico-ambientale (Fiore et al. 2019). In generale, nella categoria dei cosiddetti "grani antichi" rientrano popolazioni locali di frumenti vestiti (monococco, dicocco e spelta), antiche

varietà locali di frumenti teneri e duri che sono state ampiamente coltivate in Italia fino ai primi del 900, ed alcune antiche varietà di frumento duro (es. Senatore Cappelli) e tenero (es. Gentilrosso, Verna) selezionate da ricercatori attraverso programmi di miglioramento genetico a partire dai primi del 900 sino agli anni 60. Le motivazioni per cui i cosiddetti "grani antichi" sono stati abbandonati sono molteplici e complesse ma riconducibili soprattutto ad una ridotta capacità di competere con le moderne varietà in termini di rese produttive e di adattamento alle moderne tecniche di coltivazione (Fiore et al. 2019). Tali caratteristiche, se dapprima apparivano come criticità nell'ambito di un approccio produttivo convenzionale, basato soprattutto su obiettivi produttivi quantitativi, appaiono ora dei punti di forza nel quadro di un modello agricolo di qualità sia sotto il profilo ambientale che nutrizionale.

Le varietà locali di "grani antichi", al contrario delle varietà moderne, sono costituite da popolazioni eterogenee (varietà multilinee) e sono state oggetto solo della selezione inconsapevole dell'agricoltore. Si tratta frequentemente di colture rustiche, tolleranti condizioni di stress ambientale (freddo, siccità) e capaci di dare una produzione interessante in condizioni di modesta fertilità del terreno. L'antichità di coltivazione ed il legame con le tradizioni ne hanno fatto, in molti casi, colture tipiche di determinate aree geografiche inquadrabili economicamente come colture di nicchia legate a delle filiere locali e, in alcuni casi, oggetto di marchi comunitari (DOP e IGP) come nel caso del farro della Garfagnana. Sono sempre più numerosi gli agricoltori, i pastifici e panifici biologici che per garantire al consumatore alimenti più salutari, preferiscono lavorare con queste varietà che, pur producendo meno, presentano caratteristiche di grande valore: maggiore rusticità e capacità di resistere alle avversità climatiche, qualità nutritive più equilibrate, ed in alcune situazioni maggiore digeribilità grazie al basso indice di glutine. Tali varietà locali rappresentano non soltanto una risorsa insostituibile di prodotti di qualità, ma anche una fonte preziosa di caratteri potenzialmente utili e di genotipi estremamente co-adattati agli ambienti di coltivazione regionali. In generale, la conoscenza della diversità genetica e della struttura genetica di varietà locali può avere un impatto rilevante nell'ambito del miglioramento genetico di diverse specie di interesse agrario. Nel caso dei frumenti, queste informazioni sono sicuramente utili per pianificare programmi di conservazione delle varietà locali, mantenendo inalterata la loro variabilità genetica, ed eventualmente per selezionare i genotipi più idonei alla costituzione di varietà multilinee, migliorandone la produttività e la competitività rispetto alle varietà commerciali. Inoltre, l'accresciuto interesse per i "grani antichi" ha determinato una progressiva espansione delle superfici coltivate, non rispettando sempre l'abbinamento varietà/popolazione locale-areale tipico. In altri termini, entro i confini di un areale dove tradizionalmente viene coltivata una particolare varietà locale, le semine sono state realizzate anche impiegando semente non originaria dell'areale stesso, come in passato è stato riscontrato ad esempio per il farro della Garfagnana IGP (Report Progetto FAGADOP). In molti casi si possono creare quindi situazioni confuse legate alla mancanza di un sistema di riproduzione del seme, a scapito della valorizzazione della varietà locale come coltura tradizionale di particolari ambienti e aggravate dal fatto che relativamente alle superfici coltivate non esistono statistiche basate su ordinati rilevamenti, ma solo stime.

Lo studio della diversità e della struttura genetica delle varietà locali di "grani antichi" dovrebbe quindi rappresentare il punto di partenza per la gestione della loro conservazione e per un loro utilizzo sostenibile (Fiore et al. 2019). Nonostante la potenziale importanza di questo materiale, la caratterizzazione genetica delle varietà locali di "grani antichi", come strumento chiave per la loro conservazione ed utilizzazione, è stata per molto tempo ignorata e solo ultimamente è stata rivalutata a livello regionale.

I primi studi riguardanti la caratterizzazione della variabilità genetica presente in varietà locali sono stati condotti impiegando unicamente descrittori morfologici o morfo-fisiologici, stabiliti dallo "International Plant Genetic Resources Institute" (IPGRI) e dallo International Union for the Protection of new Varieties Of plants (UPOV), oltre alla valutazione della variabilità delle proteine di riserva del seme. Al giorno d'oggi, i marcatori molecolari rappresentano un potente strumento per analizzare la diversità genetica presente entro e tra le varietà locali coltivate *on farm* o conservate *ex*

situ nelle banche del germoplasma, con la possibilità di fornire utili indicazioni per la gestione della loro conservazione. Recentemente, alcuni studi sono stati condotti in Italia per valutare la diversità genetica delle varietà locali di "grani antichi" utilizzando i marcatori molecolari (Pagnotta et al. 2005 e 2009; Colomba e Gregorini, 2011; Mangini et al., 2017), ma per quanto ne sappiamo, nessuno ha riguardato varietà locali coltivate nel Lazio. Inoltre, lo scopo principale di questi studi è stato quello di valutare principalmente le relazioni genetiche tra le diverse accessioni, analizzando un numero limitato di genotipi per varietà locale che non permette una precisa stima della variabilità intra-varietale e quindi uno studio approfondito della loro struttura genetica.
Le varietà locali di specie autogame, come ad esempio orzo e frumento, sono infatti costituite da una mescolanza di linee omozigoti (linee pure) strettamente imparentate che, sebbene viventi l'una accanto all'altra, rimangono più o meno indipendenti nella riproduzione. In queste popolazioni il processo di autofecondazione continuata assicura l'omozigosi e fornisce discendenze per lo più omogenee: la variabilità genetica è concentrata tra le linee ed è pertanto dovuta a differenze tra gli omozigoti per la loro composizione allelica. Tali specie tollerano bene l'*inbreeding* conseguente alla naturale propensione all'autofecondazione e presentano un ottimo adattamento all'ambiente in cui si trovano, ma sono poco flessibili nei confronti di ulteriori cambiamenti. L'incrocio occasionale e la mutazione spontanea, seguiti dalla segregazione e dalla ricombinazione, sono due fattori che talvolta si oppongono al raggiungimento della situazione limite di omozigosi a tutti i loci. Tali fattori, creando variabilità genetica, danno alla popolazione la possibilità di evolversi e di adattarsi a condizioni ambientali variabili. L'analisi del genoma delle varietà locali di "frumenti antichi" con marcatori molecolari, analizzando un numero sufficiente ampio di genotipi per popolazione, consente di ricostruire la loro struttura genetica, fornendo modelli di distribuzione della variabilità all'interno di gruppi di individui e di ripartizione della variabilità tra sotto-popolazioni, e suggerendo anche come questi modelli si evolvono nel tempo e nello spazio.
Tra i marcatori molecolari, i polimorfismi a singolo nucleotide indicati con l'acronimo SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) sono mutazioni puntiformi che provocano differenze di singole coppie di basi, tra sequenze di DNA presenti nelle regioni codificanti e non codificanti del genoma. Questi polimorfismi permettono di differenziare genotipi all'interno di una stessa specie e di assegnare l'appartenenza di un individuo ad una specifica popolazione o sottopopolazione. L'avvento delle tecnologie di sequenziamento di nuova generazione ad alto rendimento (Next Generation Sequencing, NGS) ha consentito l'identificazione su larga scala di SNP nelle specie vegetali e lo sviluppo di piattaforme di genotipizzazione efficienti, per studi di associazione (Zhao et al. 2003; Bardel et al. 2005) e caratterizzazione genetica, anche nei frumenti (Trebbi et al. 2011; Wang et al. 2014; Burridge et al. 2017), in cui il diverso livello di ploidia delle specie (tetraploidi ed esaploidi) rende difficile l'utilizzo dei microsatelliti (SSR).
L'obiettivo generale del presente progetto di ricerca è quello di valutare la diversità genetica mediante marcatori SNP di una collezione di "grani antichi" mantenuti presso l'ARSIAL e tuttora coltivati nel Lazio, con particolare riferimento a popolazioni locali di farro (*T. dicoccum*) tra le quali due popolazioni collezionate nella Valle dell'Aniene e varietà locali di frumento tenero (*T. aestivum*). Questa preliminare caratterizzazione genetico-molecolare sarà importante per delineare le più opportune linee guida per la salvaguardia e conservazione delle varietà/popolazioni locali, per la promozione del loro utilizzo sostenibile, ed in un prossimo futuro per lo sviluppo di una metodica di rintracciabilità genetica dei loro prodotti alimentari, a garanzia della tipicità, e come forma di tutela per produttori e consumatori.

OBIETTIVI DEL PROGRAMMA DI RICERCA

1) Allestimento di prove parcellari presso i campi sperimentali ARSIAL per la selezione delle piante che meglio esprimono le caratteristiche morfologiche e fenotipiche delle varietà/popolazioni locali oggetto di studio da utilizzare nelle analisi genetico-molecolari.

2) Analisi della struttura genetica mediante marcatori SNP delle varietà/popolazioni di "grani antichi" della regione Lazio prendendo in considerazione almeno 15 piante per varietà/popolazione locale individuate nelle prove sperimentali di campo. In particolare, verrà determinato il grado di variabilità genetica presente all'interno delle popolazioni/varietà locali individuando il numero di genotipi differenti per ciascuna di esse, con la finalità di verificare se le diverse tipologie fenotipiche individuate all'interno di ciascuna varietà/popolazione locale corrispondano a gruppi genetici distinti e facilmente rintracciabili.
3) Identificazione univoca ed affidabile (*fingerprinting*) delle varietà/popolazioni locali di grani antichi della regione Lazio mediante marcatori SNP anche rispetto a varietà/popolazioni locali e varietà antiche o iscritte al registro varietale coltivate nel Lazio o in regioni limitrofe.
4) Delineare in maniera preliminare sulla base delle analisi genetico-molecolari condotte le principali linee guida per la gestione della conservazione *in situ* ed *ex situ* delle varietà/popolazioni oggetto di studio e per un loro utilizzo sostenibile, e porre le basi per lo sviluppo di una metodologia di rintracciabilità genetica dei prodotti alimentari da loro derivati, a garanzia della tipicità, e come forma di tutela per produttori e consumatori.

MATERIALE VEGETALE ED ATTIVITÀ PREVISTE

A) Materiale vegetale

Le analisi genetico-molecolari verranno condotte su una collezione di "grani antichi" mantenuti presso l'ARSIAL e tuttora coltivati nel Lazio, con particolare riferimento a popolazioni locali di farro (*T. dicoccum*) e varietà locali di frumento tenero (*T. aestivum*).
In particolare, la collezione di popolazioni locali di farro comprende:
1) Due accessioni di una popolazione locale coltivata nella Valle dell'Aniene nei comuni di Cineto Romano, Riofreddo, Vallinfreda e Vivaro tutti in provincia di Roma;
2) Due accessioni di una popolazione locale coltivata nell'alta Valle del Tronto in diversi comuni nella provincia di Rieti (Accumoli, Amatrice, Borbona, Cittareale, Colli sul Velino, Fiamignano, Labro, Leonessa, Morro Reatino, Petrella Salto, Posta e Rivodutri);
3) Cinque accessioni recentemente collezionate dai tecnici ARSIAL nel Comune di Leonessa (RI);
4) Una accessione recentemente collezionata dai tecnici ARSIAL nel comune di Amatrice (RI).

Per un'accurata classificazione e identificazione delle popolazioni locali coltivate nel Lazio nelle analisi genetico-molecolari verranno inoltre incluse almeno quattro popolazioni di farro rappresentative delle tipologie coltivate nelle zone montane dell'Appennino Centrale (es. Farro di Monteleone e di Norcia coltivati in Umbria ed una popolazione locale coltivata in Abruzzo) e nella Garfagnana, insieme a quattro varietà moderne iscritte al Registro Varietale Nazionale e ottenute mediante selezione entro popolazione (es. Zefiro, Yakube e Rosso Rubino) o da incrocio con frumento duro (es. Padre Pio).
La collezione di varietà locali di frumenti teneri comprende:
1) Due accessioni di una varietà locale denominata grano Serena anticamente coltivato nel Comune di Campodimele (LT) e per la quale il Parco dei Monti Aurunci si sta operando per evitarne la completa estinzione;
2) Cinque accessioni della varietà locale Biancola probabilmente originaria della zona del Terminillo (RI) e oggi coltivata oltre che nel comune di Leonessa anche nell'altopiano di Rascino;
3) Una accessione della varietà locale Rosciola probabilmente originaria dell'Abruzzo e collezionata dai tecnici dell'ARSIAL presso un agricoltore del Comune di Fiamignano (RI);
4) Due accessioni di una varietà locale denominata Saracolla, probabilmente appartenente al frumento tenero e originaria dell'Abruzzo dove veniva chiamata Saravolla, collezionate dai tecnici dell'ARSIAL presso due agricoltori del Comune di Leonessa (RI);

5) Una accessione dell'antica varietà locale Solima coltivata in Abruzzo e collezionata dai tecnici dell'ARSIAL presso un agricoltore del Comune di Amatrice;
6) Una accessione di una varietà locale denominata "Grano Germanico", la cui origine è sconosciuta, collezionata dai tecnici dell'ARSIAL presso un agricoltore del Comune di Capranica (VT);
7) Tre accessioni della varietà locale Rieti largamente diffusa nelle zone cerealicole dell'Italia Centrale alla fine del XIX secolo e ampiamente utilizzata negli incroci per l'ottenimento di nuove varietà da Strampelli. Queste tre accessioni sono state collezionate dai tecnici dell'ARSIAL presso agricoltori di un piccolo comune nella provincia di Rieti (Colli sul Velino).
8) Una accessione di un'antica varietà locale denominata Maiorca ampiamente coltivata fino agli anni 30 dello scorso secolo in Italia Meridionale. Questa accessione è stata collezionata da tecnici dell'ARSIAL presso un agricoltore del comune di Montefiascone (VT).

Nelle analisi genetico-molecolare verranno inoltre incluse alcune varietà antiche, sempre mantenute nella banca del germoplasma di ARSIAL, come Marzotto (due accessioni), San Pastore (una accessione), Terminillo (una accessione), Virgilio (una accessione) ed una varietà moderna (Bologna).

B) Allestimento delle prove parcellari

Nella stagione agraria 2019-2020 verranno allestiti due campi sperimentali: uno per il confronto delle accessioni di popolazioni locali di farro, l'altro per le accessioni delle varietà locali di frumento tenero. In particolare, all'interno di ciascun campo sperimentale verranno allestite rispettivamente 10 e 16 parcelle, le prime relative alle 10 accessioni di popolazioni locali di farro, le seconde alle 16 accessioni di varietà locali di frumento tenero. A maturazione, da ognuna di queste parcelle verranno selezionate almeno 15 piante rappresentative della variabilità riscontrata all'interno di ciascuna accessione da cui verranno raccolte altrettante spighe che forniranno i semi per le analisi genetico-molecolari.

C) Allevamento in camera di crescita dei semenzali per l'estrazione del DNA

Da ciascuna delle 15 spighe delle piante selezionate all'interno delle singole parcelle relative alle diverse accessioni di popolazioni/varietà locali di farro e frumento tenero verranno ottenuti i semi mediante trebbiatura manuale. Cinque semi per ciascuna delle spighe selezionate per le diverse accessioni verranno seminati all'interno di pot di torba contenenti un apposito substrato di crescita (mix terriccio, sabbia e torba) e verranno fatti germinare all'interno di una cella climatica con temperatura ed illuminazione ottimali. Allo stadio di terza foglia verranno individuate le piantine migliori in modo da selezionare un semenzale relativo a ciascuna delle 15 spighe raccolte per ciascuna accessione. Per le popolazioni/varietà locali con un numero maggiore di accessioni, come nel caso del Farro di Leonessa (5 accessioni) e le varietà locali di frumento tenero Biancola (5 accessioni) e Rieti (3 accessioni), verranno prese in considerazione 10 piantine derivanti dai semi di dieci delle 15 spighe selezionate per ogni accessione. Nel caso del farro verranno reperiti semi di quattro diverse popolazioni locali rappresentative delle tipologie coltivate nelle zone montane dell'Appennino Centrale (es. Farro di Monteleone e di Norcia coltivati in Umbria ed una popolazione locale coltivata in Abruzzo) e nella Garfagnana e di quattro varietà iscritte al Registro Varietale Nazionale (es. Zefiro, Yakube, Rosso Rubino e Padre Pio) per confrontarle da un punto di vista genetico con le popolazioni locali coltivate nel Lazio. Un campione rappresentativo di 50 cariossidi per ciascuna delle popolazioni/varietà locali di farro utilizzate come confronto verranno seminati come descritto precedentemente per selezionare rispettivamente 15 e 5 piantine per ciascuna delle 4 popolazioni locali e ciascuna delle 4 varietà certificate. Analogamente per le varietà storiche di frumento tenero utilizzate come confronto da un campione rappresentativo di

50 cariossidi seminate verranno selezionate 5 piantine per ciascuna accessione. Infine nel caso della varietà moderna Bologna, che dovrebbe essere una varietà monogenotipica, verrà presa in considerazione un'unica piantina per le analisi genetiche.
In sintesi quindi per il farro verranno prese in considerazione per l'estrazione del DNA e le successive analisi genetiche un totale di 205 piantine, di cui 125 relative alle popolazioni locali coltivate nel Lazio e 80 alle popolazioni locali e varietà certificate utilizzate come confronto, mentre per il frumento tenero un totale di 226 piantine di cui 200 relative alle varietà locali coltivate nel Lazio e 26 alle varietà storiche e moderne utilizzate come confronto.

D) Estrazione del DNA e analisi genetico molecolari

Dalle piantine selezionate allo stadio di terza foglia come descritto precedentemente verranno prelevati 200-300 mg di tessuto fogliare che sarà immediatamente congelato in azoto liquido e conservato in un frigorifero a -80C° fino all'estrazione del DNA. Il DNA genomico verrà estratto utilizzando il kit di estrazione "NucleoSpin® Plant II kit" (Macherey-Nagel, Düren, Germany) da 100 mg di tessuto fogliare congelato. La qualità e la concentrazione del DNA estratto verranno determinate mediante elettroforesi su gel di agarosio all'1,2% colorati con etidio bromuro, utilizzando come riferimento concentrazioni note del DNA del fago λ, e lettura spettrofotometrica mediante NoanoDrop ND-1000 (Thermo Scientific, Walthman, MA, USA). Tutti i campioni di DNA verranno quindi diluiti in modo da avere una concentrazione di 50 ng/µL e verranno conservati a -20 ° C fino al momento del loro uso.
Duecento ng di DNA genomico così ottenuto verrà analizzato utilizzando degli SNPs array specifici (Wheat 90K iSelect SNP array) (Wang et al., 2014), prodotti dalla ditta Illumina (San Diego, California, USA), che permettono potenzialmente l'analisi di 81.587 marcatori a singolo polimorfismo nucleotidico (SNPs). Tali marcatori sono distribuiti con un'alta densità nei due e tre genomi presenti rispettivamente nel farro nel frumento tenero e la loro posizione è mappata su ogni singolo cromosoma. I dati così ottenuti verranno sottoposti ad analisi statistica utilizzando il software R (R core team 2013) con il pacchetto "Cluster" calcolando prima la matrice delle distanze genetiche e poi utilizzando l'algoritmo presente nella funzione hclust che effettua una clusterizzazione basata sulla ricostruzione gerarchica dei gruppi. Per la suddivisione dei genotipi individuati in diversi gruppi genetici e ricostruire i rapporti filogenetici presenti tra le diverse accessioni verrà utilizzato il software FastStructure (Raj et al. 2014).

DURATA DEL PROGRAMMA

Il progetto decorre dalla data della stipula della convenzione operativa relativa al presente progetto, terminerà il 31 dicembre 2020 considerando anche eventuali proroghe e si svilupperà in 2 fasi.

SVILUPPO TEMPORALE DELLE ATTIVITA'

PRIMA FASE (durata indicativa 6-7 mesi)

1. Allestimento delle prove sperimentali di campo.
2. Selezione delle piante che meglio esprimono le caratteristiche morfologiche e fenotipiche delle varietà/popolazioni locali oggetto di studio da utilizzare nelle analisi genetico-molecolari.
3. Reperimento di popolazioni/varietà locali e varietà certificate di farro e frumento tenero da utilizzare come controlli nelle analisi genetico-molecolari.
4. Allevamento in camera di crescita dei semenzali per l'estrazione del DNA.
5. Estrazione del DNA da circa 430 semenzali.

SECONDA FASE (indicativa 5-6 mesi)

1. Analisi genetico-molecolari mediante marcatori SNPs.
2. Analisi statistica dei dati.
3. Discussione dei risultati ottenuti con i tecnici ARSIAL e con le comunità di agricoltori detentori delle popolazioni/varietà locali tutelate (L.R. 15/2000) oggetto di studio.

ESIGENZE FINANZIARIE

25.000 euro per l'intero progetto

A. Spese per materiali e reagenti ed acquisto Wheat 90K iSelect SNP array Illumina (per 432 analisi): € 23.000,00.
B. Spese per il Personale € 2.000,00: Voucher INPS (ex prestazione occasionale) per le attività di genotyping di laboratorio e la successiva analisi dei dati grezzi.

BIBLIOGRAFIA

Bardel C. Danjean V, Hugot JP, Darlu P, Genin E (2005). On the use of haplotype phylogeny to detect disease susceptibility loci. BMC Genet. 6: 24.

Bozzini A, Corazza L, D'Egidio MG, Di Fonzo N, Lafiandra D, Pogna NE, Poma I (1998). Durum wheat. In Italian contribution to plant genetics and breeding. Scarascia Mugnozza GT, Pagnotta MA, Eds. Tipolitografia Quatrini: Viterbo, Italy, pp. 181–194.

Burridge AJ, Winfield MO, Allen AM, Wilkinson P, Barker GLA, Coghill J, Waterfall C, Edwards KJ (2017). High-Density SNP Genotyping Array for Hexaploid Wheat and Its Relatives. Methods Mol. Biol. 1679: 293–306.

Colomba MS, Gregorini A (2011). Genetic diversity analysis of the durum wheat Graziella Ra, *Triticum turgidum L. subsp. durum* (Desf.) Husn. (*Poales*, *Poaceae*). Biodivers J. 2:73–84.

Dubcovsky J, Dvorak J (2007). Genome plasticity a key factor in the success of polyploid wheat under domestication. Science, 316: 1862–1866.

Lorenzetti R (2000). The Wheat Science: The Green Revolution of Nazareno Strampelli. MiBAC: Roma, Italy, 1–230.

Mangini G, Margiotta B, Marcotuli I, Signorile MA, Gadaleta A, Blanco A (2017). Genetic diversity and phenetic analysis in wheat (*Trticum turgidum* subsp. *durum* and *Triticum aestivum* subsp. *aestivum*) landraces based on SNP markers. Genet Resour Crop Evol. 64:1269–1280.

Pagnotta MA, Mondini L, Atallah MF (2005) Morphological and molecular characterization of Italian emmer wheat accessions. Euphytica 146:29–37.

Pagnotta MA, Mondini L, Codianni P, Fares C (2009) Agronomical, quality, and molecular characterization of twenty Italian emmer wheat (Triticum dicoccon) accessions. Genet Resour Crop Evol 56:299–310.

Prohens J, Nuez F (2005). In the Wake of the Double Helix: From the Green Revolution to the Gene Revolution. In Proceedings of the International Congress, 27–31 May 2003, Bologna, Italy; Scarascia Mugnozza GT, Tuberosa R, Phillips RL, Gale M, Eds. Avenue media: Bologna, Italy, pp. 53–75.

R Core Team (2013) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. http://www.R-project.org/.

Raj A, Stephens M, Pritchard JK (2014). fastSTRUCTURE: Variational inference of population structure in large SNP data sets. Genetics 197: 573–589.

Trebbi D, Maccaferri M, de Heer P, Sørensen A, Giuliani S, Salvi S, Sanguineti MC, Massi A, van der Vossen EAG, Tuberosa R (2011). High-throughput SNP discovery and genotyping in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). Theor. Appl. Genet. 123: 555–569.

Wang S, Wong D, Forrest K, Allen A, Chao S, Huang BE, Maccaferri M, Salvi S, Milner SG, Cattivelli L, et al. (2014). Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90,000 single nucleotide polymorphism array. Plant Biotech. J. 12: 787–796.

Zhao H, Pfeiffer R, Gail MH (2003). Haplotype analysis in population genetics and association studies. Pharmacogenomics 4: 171–178.