



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DEL MOLISE

**ATTI DELLE GIORNATE
DELLA RICERCA SCIENTIFICA
DIPARTIMENTO
DI BIOSCIENZE
E TERRITORIO**

LUGLIO 2020

**PROCEEDINGS OF THE
DAYS OF SCIENTIFIC
RESEARCH
DEPARTMENT
OF BIOSCIENCES
AND TERRITORY**

JULY 2020

ISBN 9788896394335

Comitato Organizzatore

Franco Felici (Delegato DIBT per la ricerca scientifica), Gabriella Stefania Scippa (Direttore del DIBT), Carlo Callari (Coordinatore della Sezione di ricerca *Ingegneria*), Luciano De Bonis (Coordinatore della Sezione di ricerca *Paesaggio, economia e pianificazione*), Fausto Fasano (Coordinatore della Sezione di ricerca *Fisica, informatica e matematica*), Maria Laura Carranza (Coordinatore della Sezione di ricerca *Natura ambiente e foreste*), Eleonora Sgambati (Coordinatore della Sezione di ricerca *Biologia*), Piera Di Marzio (curatore degli Atti).

DIBT, Università degli studi del Molise, luglio 2020
ISBN 9788896394335

Impaginazione e veste grafica: Piera Di Marzio
Elaborazioni grafiche in copertina e in alcune parti del testo su elementi ideati da Freepik.com.

Indice

Introduzione	4
Relazioni	
Brunetti D., Silvestri A., Callari C. - <i>Calibrazione di un metodo empirico per la valutazione della vulnerabilità sismica</i>	6
Casolare R., Martinelli F., Mercaldo F., Santone A. - <i>Malicious collusion detection in mobile environment by means of model checking</i>	8
Chini M.G. - <i>From structural studies of natural compounds to design of novel bioactive molecules by way of nmr and in silico methodologies</i>	10
Ottaviano G., De Bonis L. - <i>Il “Consorzio degli Uomini di Massenzatica” come modello innovativo di gestione delle risorse territoriali e paesaggistiche</i>	11
Ristorini M., Garfi V., Sgrigna G., Calfapietra C., Baldacchini C. - <i>Caratterizzazione chimica della frazione idrosolubile e insolubile di particolato atmosferico depositato su lamine fogliari tramite l'applicazione di frazionamento chimico</i>	13
Poster	
Colardo M., Tonini C., Colella B., Di Bartolomeo S., Berardinelli F., Caretti G., Pallottini V., Segatto M. - <i>The modulation of bromodomain and extraterminal domain (BET) proteins by JQ1 highlights a novel epigenetic pathway to regulate lipid homeostasis</i>	15
Cutone A., Colella B., Di Bartolomeo S., Musci G. - <i>Lactoferrin impairs migration in human glioblastoma</i>	17
de Francesco M.C., Frate L., Carranza M.L., Pagliani T., D'Onofrio D., Stanisci A. - <i>La biodiversità marino-costiera lungo la costa meridionale abruzzese e il progetto LIFE17 NAT/IT/000565 CALLIOPE</i>	19
Capobianco G., Di Giacomo U.A., Mercaldo F., Santone A. - <i>Formal methods in soccer analytics</i>	21
Colella B., Iannone G., Colardo M., Saiz-Ladera C., Fuoco C., Velasco G., Segatto M., Di Bartolomeo S. - <i>mTOR inhibition leads to SRC-mediated EGFR internalisation and degradation in glioma cells</i>	22
Di Iorio G., Mastrogiuseppe L., Loy A. - <i>Lupo e pastorizia: un rapporto complicato? Analisi dei conflitti nella provincia di Campobasso</i>	24
Diamante S., Di Febbraro M., Loy A. - <i>Analisi della vitalità della popolazione di lontre in Italia</i>	26
Fierro T., Castiglia M., Santucci de Magistris F. - <i>Numerical approaches to model liquefaction-induced effects on pipelines</i>	28
Fierro T., Santucci de Magistris F. - <i>Bounding surface models in site response analysis: comparison with equivalent linear approach</i>	30
Giangrande F., Ottaviano G., Simoncini S., De Bonis L. - <i>Immagini e ambienti interattivi per la valorizzazione del patrimonio territoriale</i>	32
Ianiro G., La Banca V., Segatto M., Cutone A., Musci G. - <i>Role of bovine lactoferrin in differentiation of neuroblastoma cells</i>	34
Jamwal P.S., Bruno A., Casiraghi M.R., Galimberti A., Loy A. - <i>Environmental DNA as a promising tool to survey elusive species in harsh environments. A test on Otters in Himalaya</i>	36
Marzalletti F., Di Febbraro M., Malavasi M., Giulio S., Acosta A.T.R., Carranza M.L. - <i>Mapping coastal dune vegetation by remotely sensed Rao's Q temporal diversity</i>	38
Monaco P., Toumi M., Sferra G., Tóth E., Naclerio G., Bucci A. - <i>Preliminary investigations of the bacterial communities associated with black summer truffle (<i>T. aestivum</i> Vittad.) in Molise region</i>	40
Noorhussain A., Iamónico D., Fortini P. - <i>Floristic diversity and comparative micromorphological study of family Amaranthaceae members inhibited in Pakistan</i>	42
Palmieri M., Angelo M., Natale A.R., Marino D. - <i>La contabilità ambientale dei servizi ecosistemici quale strumento per migliorare la governance delle Aree Naturali Protette: il caso studio di alcune Riserve Naturali Regionali in Abruzzo</i>	44
Porsia M. - <i>Verso una fertilizzazione con pratiche di arte contemporanea degli strumenti di governo del territorio</i>	47
Proietti E., Carli E., Giancola C., Salerno G., Fortini P. - <i>Preliminary data on the endemic plants of Molise region (Italy)</i>	49
Ranalli G. - <i>Lotteria Italia 2019 e nuovo COVID-19: focolai numerici fortunati e focolai virali infettivi. Sono solo casi?</i>	51

Rossi A., Scippa G.S., Montagnoli A., Chiatante D., Caprari C., Trupiano D. - <i>Toward understanding differences in lateral root formation from Arabidopsis root in primary and secondary structure</i>	53
Russo L.F., Barrientos R., Fabrizio M., Di Febbraro M., Loy A. - <i>Valutazione del rischio di investimento per la puzzola in Italia</i>	55
Silvestri A., Brunetti D., Callari C. - <i>Caratterizzazione tipologico-strutturale dell'edilizia residenziale in Molise</i>	57
Simiele M., Lebrun M., Miard F., Trupiano D., Poupart P., Forestier O., Scippa G.S., Bourgerie S., Morabito D. - <i>Assisted phytoremediation of a former mine soil using biochar and iron sulphate: effects on as soil immobilization and accumulation in three Salicaceae species</i>	59
Tozzi F.P., Del Vecchio A., Iannotta F., Stanisci A. - <i>Una buona pratica del progetto LIFE CALLIOPE: la propagazione e l'impianto di ecotipi locali di specie dunali e di macchia mediterranea nella costa abruzzese</i>	61
Varricchione M., Stanisci A., Giancola C., Di Cecco V., Stinca A., Carranza M.L. - <i>Quali cambiamenti vegetazionali sono avvenuti nei Monti del Matese negli ultimi 10 anni?</i>	63
Indice degli Autori	65

INTRODUZIONE

Giornate della Ricerca del Dipartimento di Bioscienze e Territorio

Il Dipartimento di Bioscienze e Territorio propone per il quinto anno l'evento *Giornate della Ricerca Scientifica* (GRS).

Quest'anno la GRS si è tenuta in una nuova collocazione stagionale, il 17 luglio, e in forma telematica, su piattaforma Microsoft Teams per le relazioni e come video nella pagina YouTube dell'Università del Molise per i poster (<https://www.youtube.com/user/unimolise/videos>), per venire incontro alle esigenze di distanziamento e sicurezza imposte dall'emergenza COVID-19.

Il Comitato Organizzatore



Relazioni

CALIBRAZIONE DI UN METODO EMPIRICO PER LA VALUTAZIONE DELLA VULNERABILITÀ SISMICA

D. BRUNETTI, A. SILVESTRI, C. CALLARI

Università degli Studi del Molise; DiBT, Via De Sanctis, Campobasso (Italia).

Nell'ambito del Progetto CARTIS, l'UR Unimol ha sviluppato un metodo empirico per l'analisi di vulnerabilità sismica delle tipologie murarie a scala territoriale. Il metodo permette la valutazione di un indice di vulnerabilità "Iv", ricavato a partire dalla maggior parte delle informazioni presenti nella scheda CARTIS (8). Al fine di calibrare e validare il metodo proposto, ci si è concentrati sul borgo medievale di Bonefro (Fig. 1), uno dei comuni molisani maggiormente colpiti dall'evento sismico di San Giuliano di Puglia del 2002 (4).

Si è preliminarmente ricostruita la caratterizzazione CARTIS del borgo nelle condizioni strutturali precedenti al suddetto evento sismico, e per queste condizioni è stato calcolato $I_v = 56\%$. Per ricavare il fattore di vulnerabilità V del EMS98 (5) a partire dall'indice di vulnerabilità I_v , si è adottata la seguente forma polinomiale, proposta da Brando *et al.* (2):

$$(F1) \quad V = a_0 + a_1 \cdot I_v + a_2 \cdot I_v^2 + \dots + a_n \cdot I_v^n$$

In questo polinomio, le n costanti incognite a_i ($i = 1 \dots n$) possono essere ricavate imponendo n opportune condizioni sulla seguente relazione per il danno medio proposta da Sandi & Floricel (7):

$$(F2) \quad \mu_D = 2.5 \cdot \left[1 + \tanh \left(\frac{I + 6.25 \cdot V - 13.1}{Q} \right) \right]$$

dove I è l'intensità macrosismica (pari a VII nel comune di Bonefro), $Q = 2.3$ è un fattore di duttilità e μ_D è il grado medio di danno (pari a 1.86 nel borgo medievale di Bonefro). In particolare, il grado medio di danno μ_D è stato ricavato a partire dai dati presenti nella piattaforma web-gis Da.D.O., sviluppata da EUCENTRE (3). Il sistema Da.D.O. consenta la consultazione e l'elaborazione statistica di dati relativi al danno osservato su edifici ordinari danneggiati da eventi sismici di rilevanza nazionale. Fra i dati disponibili per ciascun edificio, è presente una valutazione dell'indice di danno sintetico secondo la classificazione macrosismica europea EMS-98 (5). Tale indice è ricavato dalle schede AeDES, in particolare dalle informazioni sul danno (estensione e livello) delle sole strutture verticali.

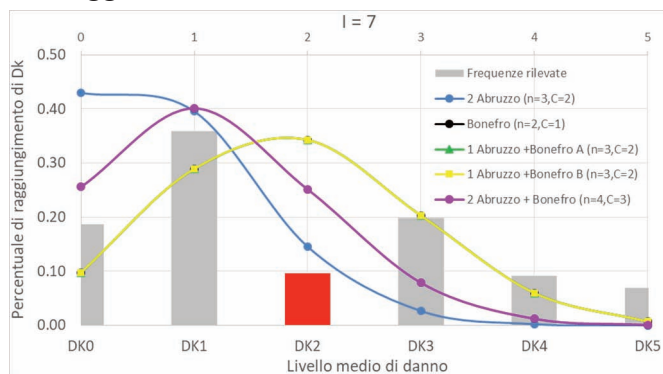


Fig. 2 – Confronto fra le distribuzioni binomiali del danno calcolate e le percentuali di danno rilevate, per un'intensità macro-sismica $I = VII$. Le distribuzioni binomiali sono calcolate per 5 diversi set di condizioni imposte sul polinomio (Eq. F1) che fornisce il fattore V di vulnerabilità.

Questa sottostima deriva molto probabilmente da una scarsa propensione dei valutatori delle schede AeDES ad attribuire un livello di danno di "transizione" che corrisponde ad una soglia di agibilità (6), che di fatto è stata assegnata solo ad una minima parte degli edifici presenti nel comparto analizzato, come dimostrato anche dalla mappatura di agibilità redatta dal Comune di Bonefro.



Fig. 1 – Immagine satellitare del comune di Bonefro con borgo medievale evidenziato in giallo.

Per la caratterizzazione del polinomio di ordine n esprime il fattore V di vulnerabilità (Eq. F1), oltre alle due condizioni corrispondenti ai due valori estremi di I_v , si sono considerati 5 diversi set di condizioni, rispettivamente ottenuti dalle possibili combinazioni dei dati di Bonefro e dei due comuni abruzzesi caratterizzati da Brando *et al.* (2). In Fig. 2 viene riportato un confronto fra le frequenze di danno rilevate e la distribuzione binomiale del danno ottenuta dalla formulazione di Braga *et al.* (1).

La rilevazione del danno DK2 sembra chiaramente sottostimata.

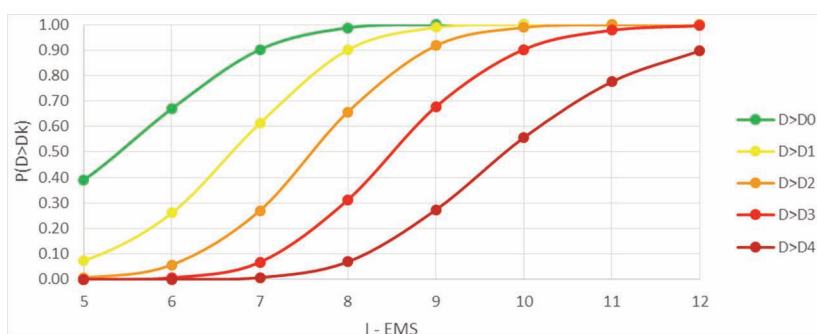


Fig. 3 – Esempio di curve di fragilità ricavate per il borgo medievale di Bonefro.

A partire dal grado medio di danno, sono state ricavate le curve di fragilità, con probabilità di superamento di un determinato livello di danno (cfr. Fig. 3), secondo l'EMS-98 (5).

- 1) F. Braga, M. Dolce, D. Liberatore (1982) In: Proceedings of the seventh European conference on earthquake engineering, Athens, Greece, pp. 431-450
- 2) G. Brando, G. De Matteis, E. Spacone (2017) Engineering Structures 153: 81-96.
- 3) Da.D.O. (Database Danno Osservato) - egeos.eucentre.it/danno_osservato/web/danno_osservato
- 4) M. Dolce, A. Masi, F.C. Ponzo, M. Mucciarelli, M. Gallipoli, A. Di Cesare, M. Tetta, M. Vona (2004) Identificazione delle caratteristiche strutturali dell'edificio IACP di Bonefro gravemente danneggiato nel sisma del Molise 2002. XI Congresso Nazionale "L'ingegneria Sismica in Italia", Genova 25-29 gennaio 2004.
- 5) G. Grünthal (1998) European Macroseismic Scale 1998". ESC European Seismological Commission, Subcommission on Engineering Seismology, Working Group Macroseismic Scales, Lussemburgo 1998.
- 6) A. Lemme, A. Martinelli, S. Podestà (2008) Sisma Molise 2002–dall'emergenza alla ricostruzione–edifici in muratura. Presidente Regione Molise – Commissario Delegato per le attività post sisma.
- 7) H. Sandi, I. Floricel (1994) In: Proceedings of the 10th European conference on earthquake engineering, Vienna, vol. 2. Rotterdam: A. A. Balkema; pp. 1105-1110.
- 8) A. Silvestri, D. Brunetti, C. Callari (2020) Atti delle Giornate della Ricerca Scientifica, Dipartimento di Bioscienze e Territorio, luglio 2020.
- 9) G. Zuccaro, D. De Gregorio, M. Dolce, E. Speranza, C. Moroni (2014) Manuale per la compilazione della scheda di 1° livello per la caratterizzazione tipologico-strutturale dei comparti urbani costituiti da edifici ordinari. CARTIS 2014.
- 10) G. Zuccaro, M. Dolce, D. De Gregorio, E. Speranza, C. Moroni (2015) GNGTS 2015, sessione 2.3.

MALICIOUS COLLUSION DETECTION IN MOBILE ENVIRONMENT BY MEANS OF MODEL CHECKING

R. CASOLARE¹, F. MARTINELLI², F. MERCALDO¹, A. SANTONE¹

¹Department of Biosciences and Territory, University of Molise, Pesche (IS), Italy; ²Institute for Informatics and Telematics, National Research Council of Italy (CNR), Pisa, Italy.

Everyday people use devices such as smartphones and tablets without thinking about problems related to their use, because smartphones handle a great deal of personal information (e.g. photos, finances, messages) that can be stolen. In fact, Android platform being the most popular mobile operating system, is also the most attacked by cybercriminals (1).

From the defensive side, commercial and free antimalware software solutions are not able to correctly identify new threats, because the malicious payload is detectable only once its signature is stored in their repositories. In this scenario, malicious writers have developed a new trend, the so-called colluding attack. It basically consists in a malicious action split into several apps, so current antimalware that analyze a single application to discover harmful actions as a single entity, are not able to identify the malicious payload (2).

These applications communicate with each other when the user performs a specific action or when a specific system event occurs and not make suspicious the antimalware, because they request only the minimum permissions needed for play their role in the attack (3): the first app might read sensitive data and transmits them to the second one, which transmits they to the outside. In this way the first application requests only the permission to read the data, instead the second one requests the permission to use the Internet connection. If two apps that collude are individually analyzed, for the antimalware will not be possible to find errors or threats, since the harmful action is triggered by their collusion (4).

In last years research community mainly focused on the detection of (single) malware using machine learning techniques. There are different approaches, for example we have DroidSafe (5), a tool that analyzes static information flow and reports possible leaks of sensitive data in Android apps. It works analyzing one app at a time, but unfortunately the analysis of a single app does not permit to the DroidSafe tool to detect colluding attack that are caused by two or more apps.

Another approach is IccTA (6) that retrieves paths in which private and sensitive information are sent to external servers without the users consent, exploit static taint analysis technique. It is able to detect paths with a single component or multiple components. The researchers have developed about 22 applications containing ICC-based privacy leaks to verify this approach, but this reduced dataset is limited to demonstrate the effectiveness of this method on large scale repositories, for instance Google Play.

In this paper we design a methodology aimed to detect collusion attacks targeting the Android platform. Our method relies on static analysis i.e., it considers binary code of Dalvik executables. The choice is fell on the application Bytecode since this type of code is always obtainable as opposed to the source code that is not always possible to achieve due to the obfuscation techniques adoption, typically employed by malware writers to elude antimalware mechanisms.

Our methodology relies on formal methods, in particular the model checking techniques is considered. The first step consists in the definition of the formal model of an Android application. Once generated the formal model, it is possible check every type of property on the evaluated system.

The formal model is created using the Calculus of Communicating Systems (CCS) process that simulates the behaviour of an application, starting from the bytecode. From the application's *.apk* we obtain Bytecode instructions and then is used an algorithm that generates a CCS process for each Java Bytecode instruction.

We use heuristic functions to reduce the search for collusion candidates and to identify which groups of apps should be considered together for collusion: the first heuristic function is based on the use of the *SharedPreferences*. Two different operations can be performed on *SharedPreferences*: (i) get, aimed to read data and (ii) put, to write data into the *SharedPreferences*. In detail, two heuristics are defined, the first one to detect whether the Android application is reading a *SharedPreference* (i.e., get), the second one to identify write (put) *SharedPreferences* operations. In this way the Android applications not performing operations of *SharedPreferences* are not included in following steps of the analysis.

The second heuristic function works after the put property verification and is useful to further reduce the search space of the applications that collude based on the execution flow. To verify the presence of data flow, we exploit the FlowDroid tool. We need also a system model and system property to apply the model verification technique. To create the system model has been developed an algorithm that start from FlowDroid, it takes in input an application at a time returning an xml file containing the reconstruction of data flow and the description of all

sources with the respective sinks. In this way will be created two lists: one for the sources and one for the sinks. To create the model, the flow is modeled as a graph composed by an array of roots and an array of leaves: the sources array is scanned and if the source element is present also in the sinks array, it is deleted from both arrays. Using the above explained heuristics, we obtain a set of app pairs for the SharedPreferences and for each pair is defined a CCS process. In the end is applied a formal verification environment including a model checker. If the result of the model checker (in this case is used CWB-NC) is true, then the CCS process satisfies a mu-calculus formula encoding the colluding notion, it means that our method considers two apps under analysis colluding, false otherwise.

The preliminary experimental analysis we performed obtained a precision equal to 0.98 and a recall of 0.98 on a dataset of 773 apps, symptomatic that the proposed method is able to effectively detect colluding attacks targeting Android platform. Future work comprises the definition of other collusion attacks (for instance, the *external storage* or the *intent* one). Moreover, we plan to develop a tool aimed to automatically generate colluding applications (by repackaging the colluding malicious payload into legitimate applications), with the aim to evaluate a more extended set of applications.

- 1) W. Enck (2011) In: International Conference on Information Systems Security, pp. 49-70
- 2) A.M. Memon, A. Anwar (2015) IEEE Security & Privacy, 13: 77-81
- 3) C. Marforio, H. Ritzdorf, A. Francillon, S. Capkun (2012) In: Proceedings of the 28th Annual Computer Security Applications Conference. ACM, pp. 51–60
- 4) R. Casolare, F. Martinelli, F. Mercaldo, A. Santone (2019) In: 2019 IEEE International Conference on Big Data (Big Data)
- 5) M.I. Gordon, D. Kim, J.H. Perkins, L. Gilham, N. Nguyen, M.C. Rinard (2015) NDSS, 15: 110
- 6) L. Li, A. Bartel, T.F. Bissyand'e, J. Klein, Y. Le Traon, S. Arzt, S. Rasthofer, E. Bodden, D. Outeau, P. McDaniel (2015) In: Proceedings of the 37th International Conference on Software Engineering-Volume 1. IEEE Press, 280-291

FROM STRUCTURAL STUDIES OF NATURAL COMPOUNDS TO DESIGN OF NOVEL BIOACTIVE MOLECULES BY WAY OF NMR AND *IN SILICO* METHODOLOGIES

M.G. CHINI

Department of Bioscience and Territory, University of Molise, C.da Fonte Lappone, 86090 Pesche (IS), Italy

Marine and terrestrial organisms are an unlimited source of active secondary metabolites, which are a validated starting point for lead generation in the drug discovery process.

In consideration of the often-complex structural architecture compared to the synthetic drugs, the elucidation of the 2D structure and the assessment of the precise 3D arrangements of natural products (NPs) provide essential insights into ligand-target interaction, which can drive a rational lead optimization process. In this regard, the combination of NMR spectroscopy with modern computational techniques represents one of the most effective approaches to achieve this task.

The DFT/NMR integrated method and its novel application in combination with the accurate ROE-distance analysis have been employed as valid support both to clarify the configuration and conformational profile of the active secondary metabolites and to shed more lights on the molecular basis of their mechanism of action. Indeed, the comprehension at the molecular level of their interactions with specific targets involved in pathologies like inflammation and cancer represents a cornerstone for further investigations by means of computational tools like molecular docking and molecular dynamics. This high efficiency of *in silico* techniques represents a crucial part in the drug discovery process as well as in lead optimization procedures and in the identification of new chemical platforms with enhanced potency and selectivity.

IL “CONSORZIO DEGLI UOMINI DI MASSENZATICA” COME MODELLO INNOVATIVO DI GESTIONE DELLE RISORSE TERRITORIALI E PAESAGGISTICHE

G. OTTAVIANO, L. DE BONIS

Università degli studi del Molise; v. F. De Sanctis, 86100, Campobasso.

Il Consorzio degli Uomini di Massenzatica (CUM) è l’“ente esponenziale” (d’ora in poi, l’Ente) di un dominio collettivo di circa 350 ettari di terreni agricoli in comune di Mesola (FE), la cui storia attraversa l’intero II millennio. È già intorno all’anno 1000, infatti, che l’Abate di Pomposa li concede ai coloni che avessero accettato di stabilirvisi in maniera continuativa e che si fossero impegnati a provvedere al miglioramento dei terreni tramite opere di bonifica. Nei secoli immediatamente successivi tali concessioni assunsero forme contrattuali più strutturate – le principali furono il livello e l’enfiteusi (1) – al fine di rendere più efficace l’opera di bonifica dei terreni e il conseguente sviluppo socio-economico del territorio di Pomposa. Inizialmente legate al solo pascolo, col tempo le concessioni inclusero anche le attività di semina, caccia, pesca e raccolta di legnatico. Dal XIII secolo scomparve dagli atti di concessione il nome delle singole famiglie, sostituito dai rappresentanti della comunità; nel XIV secolo nasce il Comune di Massenzatica, come consorzeria degli utenti degli usi civici. I secoli successivi vedono avvicinarsi diverse fasi di evoluzione politica ed economica del territorio, che portano ad un aumento degli abitanti insediati, necessari per proseguire l’opera di bonifica (che non aveva mai raggiunto gli esiti sperati), nonché a tensioni crescenti con gli Estensi, nel frattempo subentrati ai monaci pomposiani nell’amministrazione dei terreni, causate dalla rivendicazione del diritto di prosecuzione degli usi consuetudinari. Le conflittualità proseguirono anche nei secoli successivi, fin quando nel 1896 i capifamiglia della collettività che aveva tradizionalmente esercitato gli usi civici si costituirono in associazione, acquisendo la denominazione attuale. La Giunta d’Arbitri di Comacchio le concede l’uso civico dei terreni contestati, ma l’associazione ricorre avverso tale decisione rivendicandone, invece, la proprietà, ceduta infine dal Comune di Mesola (al quale nel frattempo erano stati aggregati il Comune di Massenzatica e la frazione Monticelli). Nell’ambito delle leggi di bonifica dei terreni e riordino degli usi civici del periodo 1924-28 venne stabilita la liquidazione della proprietà collettiva del CUM in favore delle famiglie meno abbienti del luogo. Essa tuttavia non trovò attuazione principalmente a causa dello scarso interesse alla divisione dei terreni da parte delle stesse famiglie, le quali ritenevano più conveniente il regime di proprietà collettiva (2), anche per la necessità di provvedere a costose opere di bonifica di terreni generalmente considerati a scarsa produttività.

La fase “moderna” del CUM si apre nel 1967, quando, dopo gli anni di inefficace commissariamento volto alla liquidazione della proprietà collettiva, viene approvato un nuovo Statuto dell’Ente che permette una gestione più dinamica dei beni. Grazie all’introduzione della possibilità di affittare parte dei terreni ad operatori esterni (per un massimo del 20% della superficie totale della proprietà), e all’incremento di produttività agricola dei terreni sabbiosi del CUM, con conseguente possibilità di riavvicinare i canoni di locazione, pur agevolati, ai valori medi di mercato (3), cresce la redditività e si innesca un processo di sviluppo che, nel corso degli anni, apre le porte a significativi percorsi di innovazione nell’approccio alla gestione del dominio collettivo.

Allo stato attuale il regime di conduzione è così composto: i) il 20% della superficie (70 ha) è dato in affitto a un’azienda esterna, con il vincolo di impiantare colture ad alta richiesta di manodopera, al fine di sostenere il bracciantato (soprattutto femminile), storicamente rilevante e importante seconda entrata dei nuclei famigliari; ii) ulteriori 70 ha circa sono condotti direttamente dall’Ente, secondo criteri di interesse (in particolare sociale-lavorativo) della comunità; iii) la restante parte (60%) è data in affitto, in appezzamenti di 4-5 ha ciascuno, prioritariamente a consorziati giovani, nuclei familiari meno abbienti e soggetti intenzionati a condurre colture di pregio e/o ad alta richiesta di manodopera. La commercializzazione è invece affidata a privati e/o cooperative, in modo da garantire ai consorziati stabilità nella vendita del prodotto. Vale la pena sottolineare alcuni punti salienti di tale regime di conduzione: i) l’introduzione di un conduttore privato esterno al CUM consente di avere maggiori entrate per l’Ente, da riversare in iniziative di miglioramento agronomico e di sviluppo sociale della comunità; ii) i criteri di assegnazione dei terreni consortili, funzionali al rinnovo generazionale, risultano anticipatamente coerenti con quanto più tardi disposto dall’art. 3, co. 8 ella L. 168/2017; iii) la comunità del CUM non è ristretta al limitato numero di soggetti originariamente comproprietari, ma estesa a chiunque risieda nelle frazioni di Massenzatica e Monticelli, che può prendere parte – in misura differenziata – alla gestione della proprietà collettiva. L’aumento della redditività della proprietà ha consentito all’Ente di intraprendere un percorso di valorizzazione del territorio, concretizzatosi in iniziative di carattere socio-culturale (finanziamento di attività di ricerca, formazione e divulgazione; sostegno alle attività della comunità del CUM; investimenti per il mantenimento di alcuni servizi di base nelle frazioni) e in iniziative spiccatamente progettuali, con particolare attenzione al tema del paesaggio. Riguardo a tale ultimo aspetto è significativo notare come la rilevanza degli “asseti fondiari

collettivi” (4) - insieme proprietà collettive e usi civici - ai fini di tutela del paesaggio viene riconosciuta già in fase di stesura della L. 431/1985 (cosiddetta “legge Galasso”), che li include tra le aree di interesse paesaggistico tutelate per legge, ovvero sia li sottopone a vincolo paesaggistico, confermato dalla L. 42/2004 “Codice dei beni culturali e del paesaggio” e s.m.i., all’art. 142, co. 1. lettera h.

Il CUM ha interpretato appieno il valore paesaggistico riconosciuto dal legislatore nazionale agli assetti fondiari collettivi, avviando un’attività progettuale volta a costruire nuovi equilibri ambientali all’interno di un’area, storicamente ricca di biodiversità, che in tempi moderni è stata destinata alla produzione agricola intensiva. Nel periodo 2017–2018, facendo ricorso a fondi per lo sviluppo rurale, è stato quindi realizzato un progetto di valorizzazione naturalistica, ambientale e paesaggistica che connette, con infrastrutture verdi e blu, le aree del CUM al SIC “Fiume Po da Stellata a Mesola e Cavo Napoleonico”, nonché al SIC e Riserva naturale orientata “Dune fossili di Massenzatica”. Nell’ambito di tale progetto è stata destinata un’ampia porzione di superficie alla rinaturalizzazione permanente del territorio rurale. L’Ente ha inoltre avviato la sperimentazione di un “Patto di Paesaggio” capace di diffondere il modello imprenditoriale “a capitale sociale positivo”, coinvolgendo aziende confinanti con il CUM alle quali viene offerta la possibilità di utilizzare il marchio “Terre Pomposiane” (registrato dal CUM a tutela dei valori ambientali e sociali delle produzioni), a condizione che assumano i medesimi valori sociali, economici e paesaggistici del Consorzio, al fine di estenderli al complesso di paesaggi fragili che caratterizzano la Riserva MaB Delta del Po. Tale strumento contrattuale è particolarmente volto alla tutela intergenerazionale dello “spazio identitario” del paesaggio delle Terre Pomposiane, alla coesione sociale e alla salvaguardia degli equilibri socio-ambientali del territorio.

Il complesso di tali azioni è risultato vincitore del Premio Nazionale del Paesaggio 2019, promosso dal MiBACT, e conseguentemente candidato al Premio del Consiglio Europeo del Paesaggio 2018-19, ricevendone una delle quattro menzioni speciali ed entrando così di diritto nella *The Landscape Award Alliance of the Council of Europe*. L’esperienza del CUM evidenzia come alcune forme di gestione collettiva delle risorse comuni possano avere significativa efficacia in termini di sviluppo della comunità ad esse legata, tanto da suscitare un interesse anche dall’esterno della stessa comunità, in quanto capaci non solo di superare i limiti amministrativi (e proprietari, in questo caso), ma anche di generare volontà di sottoporsi a strumenti di (auto)regolamentazione. Nell’attuale fase storica di crisi delle forme di rappresentatività democratica, e di difficoltà d’attuazione delle previsioni regolative da esse promananti, il caso del CUM è di assoluto rilievo: dopo una lunga fase di *resistenza* alle istanze espropriative, prima degli usi consuetudinari e poi dei diritti acquisiti, esso ha saputo avviarsi verso una fase stabile di *resilienza*, evolvendo il proprio modello socio-economico e trovando di volta in volta le forme più adatte di innovazione del proprio ruolo all’interno della comunità e delle forme di gestione dei beni che collettivamente le appartengono.

1) R. Giacoia (2002) Centro Studi e Documentazione sui Demani Civici e le Proprietà Collettive, 126 pp.

2) R. Volante (2016) Lastcam & A.pro.d.u.c.

3) A. Gandini, C. Bertelli, A. Occhi (2008) Cds - Centro ricerche Documentazione Studi, 14 pp.

4) P. Grossi (1977) Giuffrè

CARATTERIZZAZIONE CHIMICA DELLA FRAZIONE IDROSOLUBILE E INSOLUBILE DI PARTICOLATO ATMOSFERICO DEPOSITATO SU LAMINE FOGLIARI TRAMITE L'APPLICAZIONE DI FRAZIONAMENTO CHIMICO

M. RISTORINI^{1,2,*}, V. GARFI¹, G. SGRIGNA², C. CALFAPIETRA², C. BALDACCHINI²

¹Dipartimento di Bioscienze e Territorio, Università del Molise, 86090, Pesche(IS), Italia; ²Istituto di Ricerca sugli Ecosistemi Terrestri (IRET), Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), 05010 Porano (TR), Italia; *Corresponding author: m.ristorini@studenti.unimol.it ; Tel.: +39-3473025296

Tra i servizi ecosistemici associati alla presenza di vegetazione nelle aree urbane, la capacità del verde urbano di ridurre l'inquinamento atmosferico è una delle più studiate in letteratura (1). In aree urbane e industriali infatti, il particolato atmosferico (PM) è considerato uno tra gli inquinanti più pericolosi per il benessere e la salute umana, con una correlazione significativa tra esposizione e insorgenza di malattie cardio-respiratorie. Il PM è un insieme estremamente eterogeneo di particelle liquide e solide aerodisperse in atmosfera e caratterizzate da dimensioni, composizione chimica, morfologia e solubilità altamente variabili (2). La sua emissione è legata a sorgenti naturali e antropiche, tra cui traffico veicolare, impianti industriali, riscaldamento domestico e combustione di biomasse. In questo contesto, la vegetazione può mitigare l'inquinamento da PM, grazie alla sua influenza sia sulla dispersione che sulla deposizione delle particelle (3). Nello specifico, la deposizione secca di PM su lamine fogliari è uno dei principali processi di rimozione del PM e risulta influenzato da un gran numero di variabili, legate sia alle caratteristiche proprie della vegetazione, sia alle caratteristiche fisico-chimiche delle particelle. L'interazione tra la vegetazione e il PM atmosferico è oggetto di studio di numerosi studi che puntano sulla possibilità di utilizzare le foglie come campionatori passivi ed a basso costo del PM (4). Infatti, la caratterizzazione chimico-fisica del PM depositato sulle lamine fogliari può fornire informazioni sul ruolo delle diverse sorgenti emissive, considerando che caratteristiche del PM come morfologia, composizione chimica, solubilità e dimensioni, sono fortemente influenzate dal tipo di processo emissivo. L'utilizzo delle foglie come *biomonitors* per l'inquinamento da PM garantisce un'elevata rappresentatività spaziale a minori costi d'implementazione in confronto alle tradizionali reti di monitoraggio della qualità dell'aria.

Ad oggi, la caratterizzazione del PM depositato sulle lamine fogliari rappresenta ancora una grande sfida, non riuscendo ad individuare quale sia la procedura analitica più adatta a questo scopo. Nel presente studio, sono presentati i risultati relativi alla valutazione dell'efficacia di una nuova procedura analitica per la caratterizzazione del PM depositato su foglia. Nello specifico, tramite l'applicazione di una procedura di frazionamento chimico è stato possibile separare per la prima volta la frazione idrosolubile e insolubile del PM. Procedure di frazionamento chimico sono già note in letteratura per la loro efficacia nell'aumentare la selettività dei componenti elementari del PM come specifici traccianti di sorgente. Per ottenere il frazionamento chimico delle componenti elementari del PM depositato sulle lamine fogliari, campioni di foglie sono state prima sottoposte alla procedura di Vacuum Filtration (VF) che consiste nel lavaggio e nella successiva filtrazione delle acque di lavaggio, tramite filtri a porosità decrescente, utile a discriminare per via gravimetrica la massa di PM nelle diverse frazioni dimensionali (PM₁₀, PM_{2.5} e PM₁). Dopo l'applicazione del VF, i filtri a diversa porosità e le acque di lavaggio sono state analizzate tramite spettrometria di massa a plasma accoppiato induttivamente (ICP-MS), spettrometria ad emissione ottica (ICP-OES), cromatografia ionica (IC) e analizzatore di carbonio organico (TOC). Le concentrazioni elementari rinvenute nelle acque di lavaggio sono state utilizzate per determinare la frazione solubile del PM e quelle nei filtri per la frazione insolubile. La procedura di frazionamento chimico è stata validata per la prima volta su campioni fogliari raccolti in due aree urbane, Napoli e Terni, caratterizzate dalla presenza di numerose sorgenti emissive di PM.

Le concentrazioni ioniche, rinvenute nelle acque di lavaggio dei campioni fogliari, sono state inizialmente confrontate con misure di conducibilità elettrica (EC), per individuare e validare un coefficiente ($K = 0.64$) per la conversione di misure rapide di EC in concentrazioni di componenti solubili del PM, applicabile al caso specifico delle acque di lavaggio. Successivamente, per valutare l'efficienza di questa nuova procedura, nella determinazione della massa di PM nelle diverse frazioni dimensionali, i risultati del frazionamento chimico sono stati confrontati con quelli ottenuti tramite l'applicazione di microanalisi di microscopia a scansione elettronica accoppiata a rilevazione tramite raggi X (SEM/EDX) e con i risultati gravimetrici ottenuti tramite VF. Tramite l'applicazione di analisi statistica delle componenti principali (PCA) condotta sulle concentrazioni rinvenute nella frazione idrosolubile e insolubile del PM depositato su foglia è stato possibile valutare l'efficienza del frazionamento chimico per aumentare la selettività degli elementi come. I risultati ottenuti hanno evidenziato l'affidabilità di questa nuova procedura nella valutazione dell'impatto delle principali sorgenti emissive di PM nelle due aree di studio, confermando la potenzialità delle foglie come alternativa ad elevata risoluzione spaziale per il campionamento passivo di PM.

- 1) D.J. Nowak, S. Hirabayashi, A. Bodine, E. Greenfield (2014) *Environmental Pollution*, 193: 119-129
- 2) C.A. Pope III, R.T. Burnett, M.J. Thun, E.E. Calle, D. Krewski, K. Ito, G.D. Thurston (2002) *Jama*, 287(9): 1132-1141
- 3) Z. Tong, R.W. Baldauf, V. Isakov, P. Deshmukh, K.M. Zhang (2016) *Science of the Total Environment*, 541: 920-927
- 4) G. Sgrigna, C. Baldacchini, R. Esposito, R. Calandrelli, A. Tiwary, C. Calfapietra (2016) *Science of the Total Environment*, 548–549: 91–99. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.057>

Poster

THE MODULATION OF BROMODOMAIN AND EXTRATERMINAL DOMAIN (BET) PROTEINS BY JQ1 HIGHLIGHTS A NOVEL EPIGENETIC PATHWAY TO REGULATE LIPID HOMEOSTASIS

M. COLARDO¹, C. TONINI², B. COLELLA¹, S. DI BARTOLOMEO¹, F. BERARDINELLI², G. CARETTI³, V. PALLOTTINI², M. SEGATTO²

¹ Department of Biosciences and Territory, University of Molise, Pesche (IS), Italy; ² Department of Science, University of Rome “Roma Tre”, Rome, Italy; ³ Department of Biosciences, University of Milan, Milan, Italy.

Homeostatic control of lipid metabolism is essential for many important physiological processes. Fatty acids are the main source of energy and include important lipid components that make up the cell membranes (1). Furthermore, fatty acids operate as powerful signaling molecules, which regulate several cellular pathways related to metabolic functions (2). Similarly, cholesterol plays different structural and metabolic roles that are vital for the human body. Lipid biosynthesis is based on a series of complex enzymatic reactions, where 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A reductase (HMGCR) and Acyl Coenzyme A carboxylase (ACC) come into play (3,4). The activity of these enzymes is finely controlled at both short- and long-term levels. Latter is mediated by sterol regulatory element binding proteins (SREBPs). When the intracellular content of sterols decreases, SREBPs precursors are proteolytically processed to a fragment (nuclear, nSREBP) that enters the nucleus, inducing the transcription of the genes involved in lipogenesis, such as HMGCR and ACC (5,6). In addition, SREBPs promote the extracellular uptake of lipoprotein-derived lipids, causing the transcription of lipoprotein receptors, such as low-density lipoprotein receptor (LDLr) and scavenger receptor class B type 1 (SRB1) (7,8). A deep understanding of lipid metabolism regulatory mechanisms is fundamental for discovering novel pathophysiological factors, and for identifying new molecular targets that can be exploited in pharmacological approaches useful to treat or at least alleviate diseases related to dyslipidemias.

Bromodomain and extraterminal domain (BET) proteins are epigenetic readers recruited to the chromatin, recognizing acetylated histones as a target, and thus regulating gene expression (9). BET proteins can affect cell cycle and differentiation. In addition, recent reports suggest that these epigenetic factors can also play a role in the metabolic regulation of the cell (10).

Here, we analyzed the prospective role of BET proteins in the regulation of lipid metabolism. To achieve this objective, we used a loss-of-function approach by treating human liver-derived cells (HepG2), mouse neuronal-derived cells (N1E-115), and human foetal foreskin fibroblasts (HFFF2) with JQ1, a powerful and selective BET inhibitor (11). Data were obtained through morphological investigation by confocal microscopy, and Western blot techniques. The main results show that BET blockade determined a significant modulation of the proteins involved in lipid biosynthesis, uptake and intracellular trafficking. Particularly, a reduced expression of biosynthetic enzymes (HMGCR and ACC) and of one of the main lipoprotein receptors (LDLr) has been observed. Furthermore, important transcriptional factors (SREBPs, especially SREBP-2), controlling genes involved in lipid metabolism, were strongly down-regulated.

This study highlighted that the effect of BET inhibition on lipid metabolism results in a modulation of cell proliferation. Notably, we underline a novel mechanism by which BET blockade modulates cell proliferation in a cholesterol-dependent manner. In fact, the administration of both mevalonate, the product of the reaction catalyzed by HMGCR, and cholesterol to culture medium effectively counteracted the delay in cell proliferation induced by JQ1 (Fig. 1).

Taken together, these data suggest a new epigenetic mechanism involved in the regulation of lipid homeostasis (12), and provide a foundation for possible pharmacological approaches for the treatment of diseases associated with alteration in lipid metabolism.

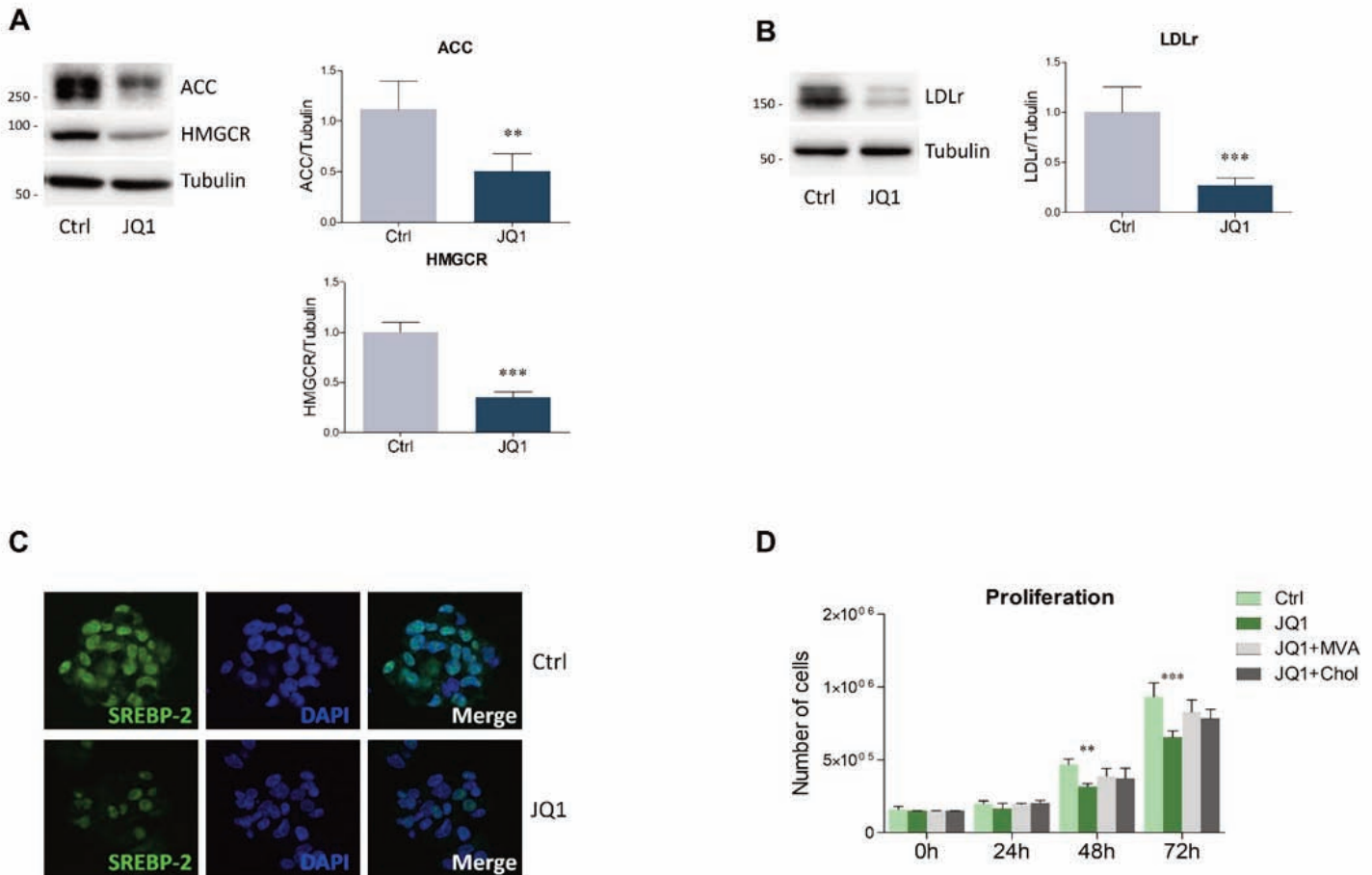


Fig.1 – BET inhibition modulates the expression of proteins and enzymes involved in lipid metabolism and influences cell proliferation through cholesterol metabolism. (A) Representative Western blot and densitometric analysis of Acyl Coenzyme A carboxylase (ACC) and 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A reductase (HMGCR) in HepG2 cells treated with vehicle (Ctrl) or JQ1 (0.4 μ M) for 48 hours. $n = 7$ independent experiments. Tubulin was employed as housekeeping protein to normalize protein loading. (B) Representative Western blot and densitometric analysis of LDLr in HepG2 cells treated with vehicle (Ctrl) or JQ1 (0.4 μ M) for 48 hours. $n = 5$ independent experiments. Tubulin served as a housekeeping protein to normalize protein loading. Data are expressed as means $\pm$ SD. Statistical analysis was carried out by using unpaired Student's test ** $p < 0.01$; * $p < 0.001$. (C) Immunofluorescence analysis of SREBP-2 (green). Nuclei were counterstained with DAPI. $n = 3$ different experiments. Scale bar: 50 μ m. (D) HepG2 were seeded in 6-well plates (150,000 cells for each well) and were treated with JQ1 (0.4 μ M), mevalonate (MVA, 100 μ M) and cholesterol (chol, 50 μ M) for 72 hours. Cells counts were conducted over time with hemocytometer. $n = 4$ independent experiments. Data represent means $\pm$ SD. Statistical analysis was assessed by using one-way ANOVA, followed by Dunnett's post hoc. ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.**

- 1) S.J. Wakil, L.A. Abu-Elheiga (2009) *J. Lipid Res.*, 50: S138-S143
- 2) Z. Papackova, M. Cahová (2015) *Int. J. Mol. Sci.*, 16: 3831–3855
- 3) W.E. Donaldson (1979) *Fed. Proc.*, 38: 2617-2621
- 4) M. Segatto, A. Manduca, C. Lecis, P. Rosso, A. Jozwiak, E. Swiezewska, S. Moreno, V. Trezza, V. Pallottini (2014) *Neuropsychopharmacology*, 39: 841-854
- 5) M. Segatto, L. Trapani, C. Lecis, V. Pallottini (2012) *Acta Physiol. (Oxf.)*, 206(1): 62-71
- 6) D. Eberlé, B. Hegarty, P. Bossard, P. Ferré, F. Foufelle (2004) *Biochimie*, 86: 839-848
- 7) W.J. Shen, S. Azhar, F.B. Kraemer (2018) *Annu. Rev. Physiol.*, 80: 95-116
- 8) V. Cartocci, M. Segatto, I. Di Tunno, S. Leone, F.W. Pfrieger, V. Pallottini (2016) *J. Cell. Biochem.*, 117: 2036-2044
- 9) C.-Y. Wang, P. Filippakopoulos (2015) *Trends Biochem. Sci.*, 40: 468-479
- 10) M. Segatto, R. Fittipaldi, F. Pin, R. Sartori, K.D. Ko, H. Zare, C. Fenizia, G. Zanchettin, E.S. Pierobon, S. Hatakeyama, et al. (2017) *Nat. Commun.*, 8: 1707
- 11) P. Filippakopoulos, J. Qi, S. Picaud, Y. Shen, W.B. Smith, O. Fedorov, E.M. Morse, T. Keates, T.T. Hickman, I. Felletar, et al. (2010) *Nature*, 468: 1067-1073
- 12) C. Tonini, M. Colardo, B. Colella, S. Di Bartolomeo, F. Berardinelli, G. Caretti, V. Pallottini, M. Segatto (2020) *Int. J. Mol. Sci.*, 14;21(4)

LACTOFERRIN IMPAIRS MIGRATION IN HUMAN GLIOBLASTOMA

A. CUTONE, B. COLELLA, S. DI BARTOLOMEO, G. MUSCI

Department of Biosciences and Territory, University of Molise, Pesche, Italy.

Gliomas, including its most aggressive variant glioblastoma, are the most common primary malignant brain tumours in adults. Epithelial-to-mesenchymal transition-like (EMT-like) process, similar to the epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) described for carcinomas, is recognized as the main process responsible for tumour spreading and dissemination, with cancer cells acquiring an invasive phenotype that allows them to detach from the primary site and invade surrounding tissues and blood vessels (1). During EMT in head and neck squamous cell carcinoma, epithelial cells lose their cell-to-cell adhesion marker E-cadherin and accumulate vimentin, a major intermediate filament protein, which has been positively associated with glioblastoma progression and poor outcomes. Among elements affecting EMT, several transcriptional factors, such as SNAIL, involved in the down-regulation of cadherin expression, and Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (STAT3), endowed with oncogenic abilities, play a critical role (2,3). STAT3 has been showed to be endowed with oncogenic abilities, up-regulating genes that can facilitate tumour survival, angiogenesis, resistance to cell death and cell cycle progression (2). Another pivotal pathway associated to glioblastoma cell migration ability is the interleukin (IL)-6/STAT3 axis (4). In this scenario, it is of utmost importance to identify novel and safe therapies able to revert EMT thus counteracting glioblastoma invasiveness.

Lactoferrin (Lf) is a multifunctional iron-binding glycoprotein, secreted by glandular epithelia and neutrophils in infection sites, possessing multifunctional activity (5). Lf is an 80 kDa glycoprotein organized in two highly homologous structured N- and C-lobes, each responsible of the reversible binding of a single ferric ion. Depending

on iron saturation rate, Lf can assume two distinct conformational states, the open iron-free (apo-Lf) and the closed iron-bound (holo-Lf) forms (5), which can exert dissimilar functions. Typically, Lf native form is characterized by an iron saturation rate between 15% and 20%. Milk-derivative bovine Lf (bLf) shows high sequence homology to human Lf (hLf) and exerts identical functions (5). In particular, both bLf and hLf have been found to have anti-tumour activity acting on different pathways, including apoptosis, cell proliferation, migration and invasiveness (6).

We started our investigation by studying the effect of both native (nat-) and holo-bLf on the migration capability of GL-15, a human glioblastoma cell line. For this purpose, GL-15 cells were treated for 48 h with two different doses (100 and 500 µg/ml) of either nat- or holo-bLf and checked for their migration ability through the wound healing assay. As reported in Figure 1, a strong inhibition of cell migration was achieved with holo-bLf, which almost completely hinders cell migration over 48 h already at the lower dose. On the other hand, nat-bLf seemed to exert a less pronounced inhibitory effect, which was clearly dose-dependent. The highest dose of nat-bLf significantly inhibited cell migration already at 24 h, while the lower dose reached significance only after 48 h. The same results were observed in another glioblastoma cell line, GL-261, discarding possible cell line specific effect of Lf. In order to analyse the molecular pathways involved in bLf anti-migratory activity; western blot analysis of SNAIL and vimentin, was carried out. Overall, both nat- and holo-bLf were able to revert EMT process by down-regulating SNAIL and vimentin, along with a consistent up-regulation of cadherins expression (Fig. 2). Again,

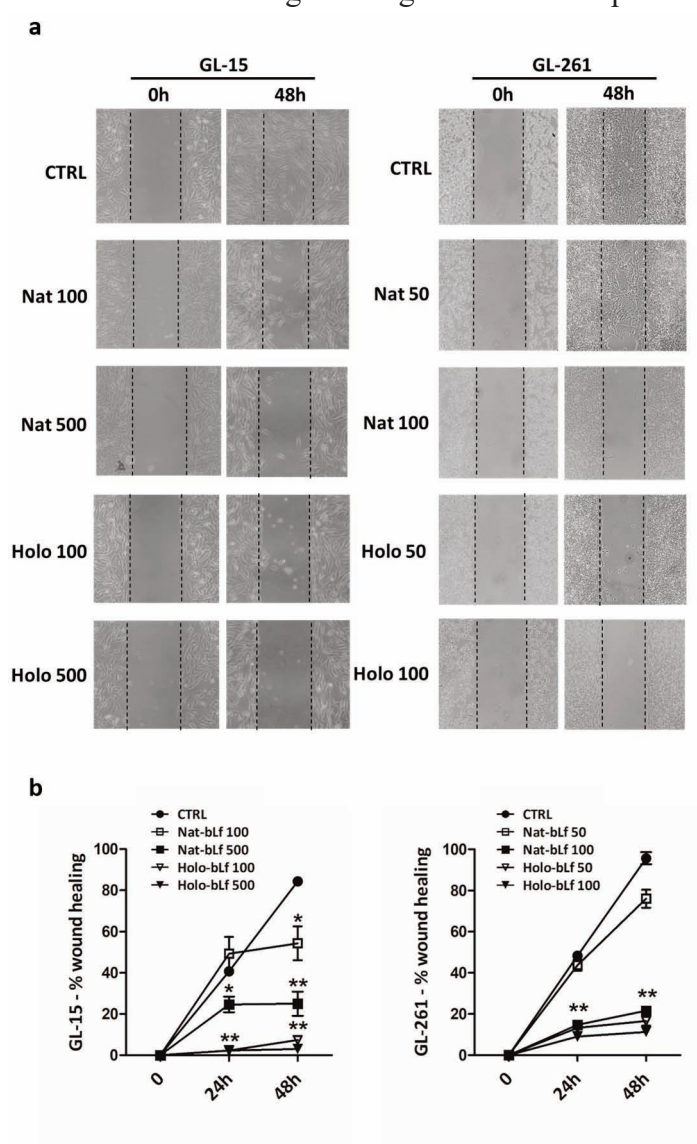


Fig. 1 – xxx.

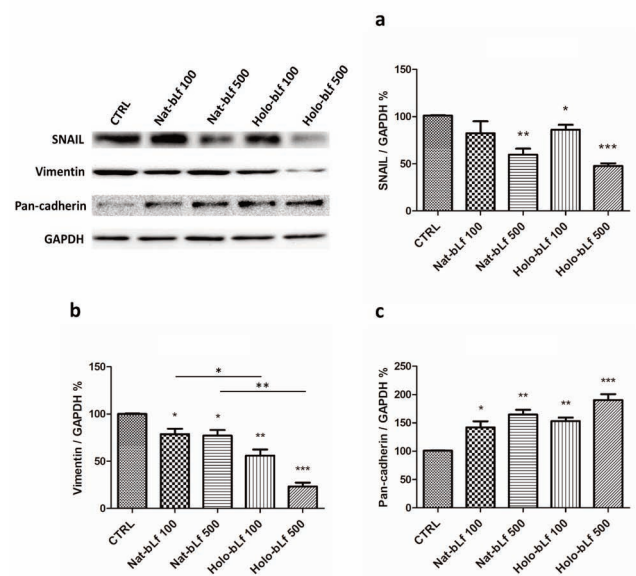


Fig. 2 – xxx.

holo-bLf resulted more efficient than nat-bLf in its modulatory effects. In addition, quantitation of IL-6 on culture medium by ELISA and of p-STAT3/STAT3 ratio on cell lysates demonstrate that bLf, both in nat- and holo-form, was able to inhibit IL-6/STAT3 pathway, thus efficiently interfering with one of the main mechanisms involved in glioblastoma migratory and invasive capacities (Fig. 3). Overall, bLf can represent a novel tool as coadjuvant for standard treatments for glioblastoma.

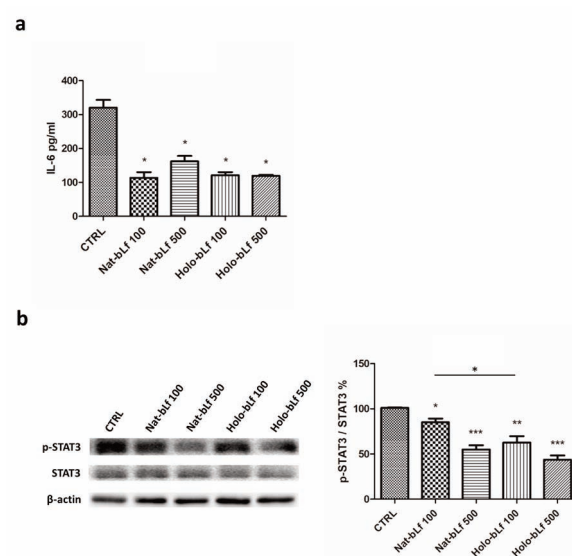


Fig. 3 – xxx.

- 1) B. Colella, F. Faienza, S. Di Bartolomeo (2019) *Cancers*, 11: 312
- 2) J. Lau, S. Ilkhanizadeh, S. Wang, Y.A. Miroshnikova, N.A. Salvatierra, R.A. Wong, C. Schmidt, V.M. Weaver, W.A. Weiss, A.I. Persson (2015) *Cancer Res.*, 75: 4302-4311
- 3) H. Peinado, D. Olmeda, A. Cano (2007) *Nat. Rev. Cancer*, 7: 415-428
- 4) A.J. West, V. Tsui, S.S. Styli, H.P.T. Nguyen, A. Morokoff, A.H. Kaye, R.B. Luwor (2018) *Oncol. Lett.*, 16: 4095-4104
- 5) L. Rosa, A. Cutone, M.S. Lepanto, R. Paesano, P. Valenti (2017) *Int. J. Mol. Sci.*, 18: 1985
- 6) Y. Zhang, C. F. Lima, L.R. Rodrigues (2014) *Nutr. Rev.*, 72: 763-73

LA BIODIVERSITÀ MARINO-COSTIERA LUNGO LA COSTA MERIDIONALE ABRUZZESE E IL PROGETTO LIFE17 NAT/IT/000565 CALLIOPE

M.C. DE FRANCESCO¹, L. FRATE¹, M.L. CARRANZA¹, T. PAGLIANI², D. D'ONOFRIO², A. STANISCI¹

¹Università degli Studi del Molise, via Duca degli Abruzzi snc, Termoli (CB); ²Consorzio Mediterraneo s.c.a. r.l., via Lorenzo il Magnifico 110, Roma.

Il mare Adriatico è un importante bacino che ospita numerose specie endemiche tra cui mammiferi marini, tartarughe marine, uccelli marini, pesci e invertebrati; inoltre rappresenta anche una importante area di nursery, di riproduzione e di foraggiamento grazie alla presenza di acque molto basse anche a molti metri dalla costa (1). Lo sfruttamento eccessivo delle risorse e l'aumento delle attività umane nelle zone costiere dagli anni Cinquanta del secolo scorso ai giorni nostri hanno influenzato le comunità bentoniche di acque poco profonde modificando e impoverendo gli habitat marini (2,3). Inoltre, i cambiamenti globali stanno causando intensi processi di erosione costiera delle spiagge sabbiose e delle coste rocciose (con continui crolli delle falesie) portando alla perdita di importanti habitat e specie costiere e marine (3). Allo scopo di attuare un'efficacia politica di gestione e conservazione degli ambienti marino-costieri, è necessario approfondire le conoscenze su questi ambienti. La descrizione e la distribuzione delle comunità bentoniche adriatiche sono state infatti studiate solo su ampia scala (4,5) ma le informazioni sulle biocenosi marine e sulla biodiversità locale lungo la costa abruzzese, ad eccezione per i fondali dell'AMP Torre del Cerrano (ZSC IT7120215), sono povere e non esaustive per la strutturazione di programmi di gestione (6).

La costa abruzzese presenta un ambiente particolarmente variegato, dove si alternano spiagge sabbiose con habitat dunali a nord e a sud e scogliere rocciose poco profonde che generano spiagge ghiaiose nella parte centro-meridionale (6,7). I principali promontori presenti sono Punta Ferruccio e Ripari di Giobbe (all'interno della Riserva Naturale Regionale Ripari di Giobbe), Punta Acquabella (all'interno della Riserva Naturale Regionale Punta dell'Acquabella) e Punta Aderci (all'interno della ZSC IT7140108 Punta Aderci-Punta della Penna).

Il progetto LIFE17 NAT/IT/000565 CALLIOPE intende contribuire a migliorare le conoscenze sugli ambienti marino-costieri abruzzesi e mira a migliorare la connettività costa-mare implementando la rete regionale Natura 2000, mediante l'istituzione dei pSIC "Punta dell'Acquabella-Foce fiume Moro" e "Ripari di Giobbe-Foce fiume Foro" a Ortona (CH) nonché dell'ampliamento a mare della ZSC IT7140108 "Punta Aderci-Punta della Penna" a Vasto (CH) (Fig. 1). Oltre agli obiettivi di conservazione, il progetto intende promuovere una gestione integrata delle aree costiere e marine.

Gli studi preliminari condotti su substrati marini a -7/-10 metri di profondità fino a 300/500 m dalla costa, caratterizzati da sabbia fine ben calibrata in ambienti tranquilli del mare Adriatico a fanerogame marine,

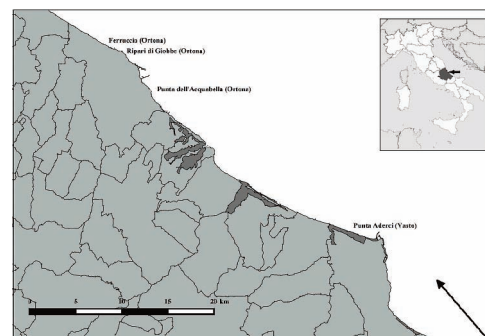


Fig. 1 – Localizzazione delle aree di studio.

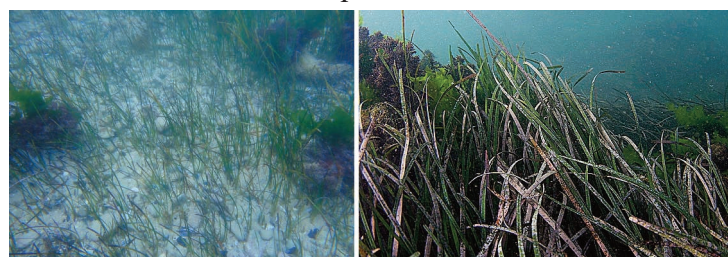


Fig. 2 – Habitat 1160 con presenza di *Zostera noltii* (sx), Habitat 1110 con presenza di *Cymodocea nodosa* (dx).

1170 "Scogliere con *Sabellaria spinulosa*", sabellide tubicolo gregario che forma imponenti biocostruzioni sulle rocce, e di diverse specie associate tra cui il gorgonide *Leptogorgia sarmentosa*, la madrepora *Cladocora coespitosa*, la madrepora molare *Balanophyllia europea*, il briozoo *Schizoporella errata*, i ricci di mare *Arbacia lixula* e *Paracentrodus lividus*, il bivalve dattero bianco *Pholas dactylus* e le specie di bivalvi di allegato IV della Direttiva Habitat (92/43/CEE) *Lithophaga lithophaga* e *Pinna nobilis* (Fig. 3).

Inoltre sono presenti numerose alghe tra cui

mostrano la presenza dell'habitat 1110 "Banchi di sabbia a debole copertura permanente di acqua marina a presenza di fondali nudi e con la fanerogama *Cymodocea nodosa*" e, solo nel sito di Punta Aderci, dell'habitat 1160 "Grandi cale e baie poco profonde", con la presenza di una prateria a *Zostera noltii* (fanerogama marina) all'interno di una più estesa prateria a *Cymodocea nodosa* (Fig. 2).

Importanti ambienti rocciosi caratterizzano le falesie di tutte le aree analizzate, con la presenza dell'habitat

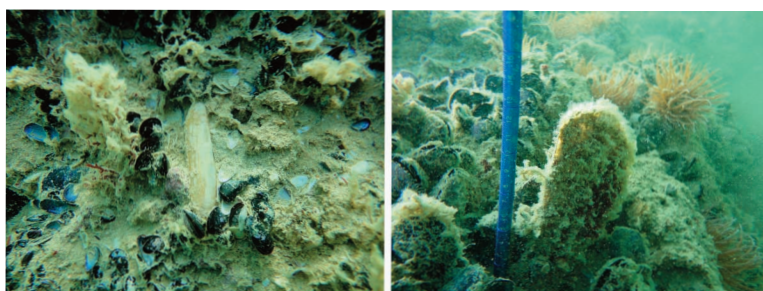


Fig. 3 – Esempi di *Lithophaga lithophaga* (sx) e *Pinna nobilis* (dx).

Peyssonelia sp., *Dictyopteris membracea*, *Dictyota dichotoma* e, solo per il sito di Punta Aderci, della rodoficea *Halymenia floresia*, che forma vere e proprie praterie sul fondale tipiche del luogo (Fig. 4).

Non mancano le specie alloctone quali la noce di mare *Mnemiopsis leidyi*, la vongola delle filippine *Ruditapes philippinarum*, il gasteropode *Rapana venosa* e il pesce lucertola *Synodus saurus*. Gli ambienti marini sono tuttavia minacciati anche dalle attività

antropiche, come la pesca di frodo di alcune specie, soprattutto *Lithophaga lithophaga* con distruzione degli scogli, che accolgono gli individui, e il prelievo di ricci di mare tanto da compromettere la sopravvivenza delle popolazioni locali, oltre che dalla grande presenza di imbarcazioni durante la stagione estiva, danneggiando il fondale con le operazioni di ancoraggio.

L'implementazione della rete marina Natura 2000, compresa l'area marina antistante la ZSC IT7140108 "Punta Aderci-Punta della Penna", porterà alla creazione di una serie di aree marine protette con l'obiettivo di coniugare le esigenze di conservazione degli habitat naturali costiero-marini con quelle socio-economiche del territorio, mediante lo sviluppo di attività sostenibili. Infatti la gestione integrata delle coste ICZM (<http://ec.europa.eu/environment/iczm/>) prevede una stretta collaborazione tra le diverse parti interessate in modo da gestire il patrimonio sia ambientale che culturale in modo congiunto e sostenibile.



Fig. 4 – Esempari rispettivamente di *Peyssonelia* sp. (sx) e *Halymenia floresia* (dx).

- 1) M. Coll, C. Piroddi, C. Albouy, F.B.R. Lasram, W.W.L. Cheung, V. Christensen, V.S. Karpouzi, F. Guilhaumon, D. Mouillot, M. Paleczny, M.L. Palomares, J. Steenbeek, P. Trujillo, R. Watson, D. Pauly (2012) Glob Ecol Biogeogr 21: 465–480. doi: 10.1111/j.1466-8238.2011.00697.x
- 2) S. de Juan, J. Leonart (2010) Ocean Coast Manag 53: 717–723. doi: 10.1016/j.ocecoaman.2010.10.005
- 3) P. Colantoni, D. Mencucci, O. Nesci (2004) Geomorphology 62 (3–4): 257–268
doi.org/10.1016/j.geomorph.2004.03.003
- 4) A. Bastari, J. Beccacece, F. Ferretti, F. Micheli, C. Cerrano (2017) Front Mar Sci 4: 157 doi: 10.3389/fmars.2017.00157
- 5) A. Vatova (1949) Nova Thalassia 1: 1–110
- 6) M.C. de Francesco, C. Cerrano, D. Pica, D. D Onofrio, A. Stanisci (2017) Fish & Ocean Opj. 5 (1). doi: 10.19080/OFOAJ.2017.05.555653
- 7) P. Guidetti (2000). Estuar Coast Shelf Sci 50 (4): 515–529

FORMAL METHODS IN SOCCER ANALYTICS

G. CAPOBIANCO, U.A. DI GIACOMO, F. MERCALDO, A. SANTONE

Università Degli Studi del Molise; Dipartimento di Bioscienze e Territorio, Pesche (IS).

The modelisation of human behaviour is a really complex task, in particular in the sport context, where groups of people must be coordinate to achieve a common goal. This is particularly relevant in soccer, where there is the need of automated tool aimed to assist the coach in the decision process of the tactic to adopt.

In this paper, we propose a formal methods based approach aimed to detect the style of a specific team, providing explainability and interpretability of the results. We model soccer teams in terms of automata and, by exploiting model verification techniques, we verify whether a style, expressed by means of a temporal logic formula, is exhibited by the team under analysis. This information can support the coach in determining the strategy of the team while the match is in progress. The experimental analysis confirms the effectiveness of the proposed method in soccer team behaviour detection, obtaining promising results.

Three different styles of play have been considered in order to understand if a team have a specific characterizing style. The three styles are:

Style 1: this style characterizes a team on spatial information, using as feature, center of gravity (in terms of y-axis) and area information.

Style 2: this style characterizes a team on tactical information, such as possession percentage.

Style 3: this style characterizes a team on bio-mechanical information, using as feature the covered distance, average speed and the covered distance at different intensity level.

In our analysis, not all the styles are referred to the whole match. For example, the features considered in the Style 1 are about only the first time, in order to predict the behaviour of the team in the second time. On the other hand, Style 2 and Style 3 are considered in the entire match, since our goal is to evaluate the playing style team during the game.

To asses our methodology is the comparison using other sources of information. We have considered WhoScored3, which data are provided by ENetPulse4 and OptaSport5, two of the most important sport data providers in the world.

This web site provides metrics related to the style of a soccer team. In particular, we have validated the properties Style 2, from the information extracted by the WhoScored website. We can deduce that our results are consistent to those reported by WhoScore.

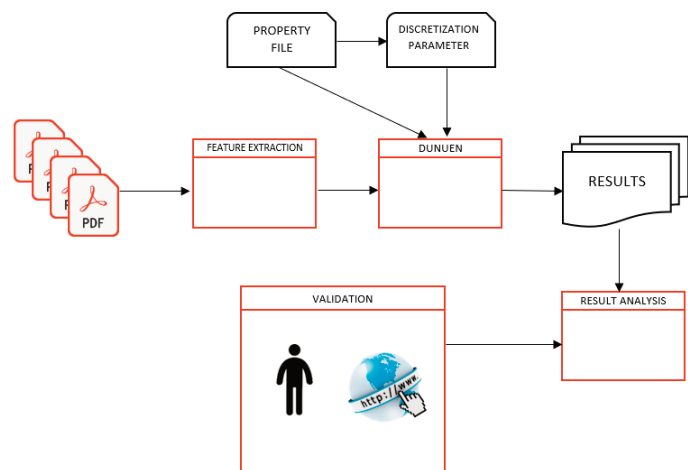


Fig. 1 – Metodo.

- 1) G. Capobianco, U. Di Giacomo, F. Martinelli, F. Mercaldo, A. Santone (2019) In: 27th Euromicro International Conference on Parallel, Distributed and Network-Based Processing (PDP): 365-372
- 2) G. Capobianco, U. Di Giacomo, F. Mercaldo, V. Nardone, A. Santone (2019) In: 11th International Conference on Agents and Artificial Intelligence, ICAART 2019, vol. 2: 458-465, SciTePress
- 3) G. Capobianco, U. Di Giacomo, F. Mercaldo, A. Santone (2018) In: 2018 IEEE International Conference on Big Data (Big Data): 5305-5307
- 4) G. Capobianco, U. Di Giacomo, F. Mercaldo, A. Santone (2019) Procedia Computer Science
- 5) G. Capobianco, U. Di Giacomo, T. Di Tusa, F. Mercaldo, A. Santone (2019) In: 2019 IEEE International Conference on Big Data (Big Data): 5995-5997
- 6) A. Carmeli, J. Schaubroeck (2006) The Leadership Quarterly, 17(5): 441-453
- 7) A. Cimatti, E. Clarke, M. Roveri: Nusmv: A new symbolic model verifier. pp. 410-425 (2000)
- 8) F.M. Clemente, M.S. Couceiro, F.M.L. Martins (2013) Res. J. Appl. Sci. Eng. Technol 6(1): 130-136
- 9) C. Stirling (1989) In: Concurrency: Theory, Language, And Architecture: 2-20 (1989)
- 10) C. Dietrich, D. Koop, H.T. Vo, C.T. (2014) In: 2014 IEEE Conference on Visual Analytics Science and Technology (VAST): 23-32

mTOR INHIBITION LEADS TO SRC-MEDIATED EGFR INTERNALISATION AND DEGRADATION IN GLIOMA CELLS

B. COLELLA¹, G. IANNONE¹, M. COLARDO¹, C. SAIZ-LADERA², C. FUOCO^{3,4}, G. VELASCO², M. SEGATTO¹, S. DI BARTOLOMEO¹

¹Dept. of Biosciences and Territory, University of Molise, Pesche (IS), Italy; ²Dept. of Biochemistry and Molecular Biology, School of Biology, Complutense University and Instituto de Investigaciones Sanitarias San Carlos (IdISSC), 28040, Madrid, Spain; ³Dept. of Biology, Tor Vergata University, Rome, Italy

Epidermal Growth Factor receptor (EGFR), also known as ErbB1 or HER1, belongs to the tyrosine kinase receptors family (RTK) and regulates epithelial tissue development and homeostasis (1). In physiological conditions, inactive RTK receptors continuously travel through the endocytic compartment, slow internalization and recycling to plasma membrane. EGF binding stimulates EGFR activation and signal transduction inside the cell, thus regulating growth, differentiation, proliferation and migration (2,3). Once internalized in early endosomes, EGFR can be recycled to cell surface or delivered to lysosomes for degradation, in a delicate balance between continued signalling from cell surface/endosomal compartments and signal attenuation from the degradative route (4,5).

EGFR alterations have been reported in several diseases and, particularly, in cancer (6). Indeed, EGFR gene is frequently mutated, amplified or overexpressed in various kinds of tumor including Glioblastoma multiforme (GBM) the most aggressive brain tumour in adults (6,7).

In particular, in GBM EGFR is amplified in 40%, overexpressed in 60% and mutated or deleted in 24-67% of primary tumors (8). Deletion of exon 2-7, also known as variant III (EGFR vIII), represents the most frequent mutation occurring in GBMs, found in up to 45% of cases (9,10).

Mutated EGFR are usually constitutively active, ligand-independent receptors with an altered trafficking and down-regulation, resulting in an aberrant downstream signal transduction which promotes tumour development (11,12).

Receptor overexpression, which is often associated to an enhanced expression of cognate ligands (13) is also associated to receptor turnover alterations and to increased downstream signalling (14,15).

mTOR kinase is part of two multi-protein complexes, known as mTORC1 and mTORC2, that acts as nutrients sensor in the cell, regulating protein synthesis through a phosphorylation cascade (16). Aberrant mTOR activation is linked to tumor proliferation and invasion. For this reason, mTOR protein is recurrently proposed as a putative pharmacological target and several specific inhibitors, mainly directed to mTORC1, have been developed and tested in the last decade (17).

mTOR also regulates autophagy, a lysosome-degradation system crucial to maintain cellular homeostasis (18). As nutrients sensor, mTOR is normally activated in fed conditions, leading to autophagy inhibition; conversely, nutrient starvation, results in mTOR inactivation and in a subsequent autophagy induction.

It is now well established that RTK signalling regulates PI3K/mTOR pathway and autophagy. However, the possible existence of an opposite relation has still not been investigated (19).

In this work, we evaluated the prospective modulation of mTOR on EGFR activity and turnover. We found that mTOR inhibition delocalises EGFR from plasma membranes to the cytoplasm in GBM cellular models. We also

observed that the receptor is delivered to lysosomes for degradation, independently of autophagy. These events were also accompanied by the suppression of MAPK/ERK pathway, suggesting that mTOR inhibition may affect EGFR ability to endorse GBM cell survival and proliferation.

As a consequence of EGFR endocytosis and degradation, we observed a clear and fast impairment of ERK1/2 protein kinases in our models, thus suggesting a restriction of the proliferative potential of GBM cells. We also found that mTOR inhibition elicits EGFR endocytosis by enhancing Src activation, as the administration of the Src inhibitor PP2 impairs the receptor internalisation when mTOR activity is suppressed (Fig.1)

Src kinase is thought to be a crucial partner for EGFR in mediating oncogenesis, as they co-localize in lipid rafts and synergize to increase the mitogenic activity of EGF receptors (20, 21). It has been also demonstrated that SRC activity is

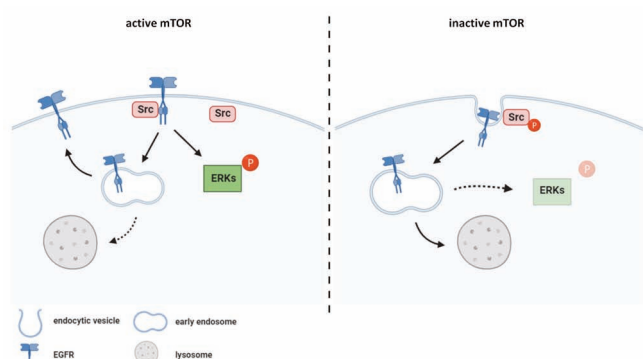


Fig.1 - Proposed model illustrating the effect of mTOR inhibition on EGFR internalization via Src activity in GBM cells. Upon mTOR inhibition by means Torin1 treatment, Src results activated thus mediating EGFR internalization within the cell. As a consequence, EGFR is delivered to lysosomes for degradation, without any ligand external stimulation. Furthermore, EGFR delocalization upon mTOR inhibition results in MAPK/ERK pathway down-regulation in GBM cells.

required for clathrin phosphorylation and EGFR endocytosis upon EGF stimulation (22). Our results show that Src activity is positively regulated by mTOR kinase in GBM cells and indicate a crucial role for mTOR/Src axis on EGFR trafficking and localization.

- 1) M.A. Lemmon, J. Schlessinger, K.M. Ferguson (2014) Cold Spring Harb. Perspect. Biol.
- 2) B.P. Ceresa, J.L. Peterson (2014) International Review of Cell and Molecular Biology
- 3) P. Wee, Z. Wang (2017) Cancers (Basel), 9: 1-45
- 4) A. Tomas, C.E. Futter, E.R. Eden (2014) Trends Cell Biol., 24: 26-34
- 5) J. Bakker, M. Spits, J. Neefjes, I. Berlin (2017) J. Cell Sci., 130: 4087-4096
- 6) S. Sigismund, D. Avanzato, L. Lanzetti (2018) Mol. Oncol., 12, 3-20
- 7) R. Roskoski (2014) Pharmacol. Res., 79: 34-74
- 8) F.S. Saadeh, R. Mahfouz, H.I. Assi (2018) Int. J. Biol. Markers, 33, 22-32
- 9) Z. An, O. Aksoy, T. Zheng, Q.W. Fan, W.A. Weiss (2018) Oncogene, 37: 1561-1575
- 10) H. Xu, H. Zong, C. Ma, X. Ming, M. Shang, K. Li, X. He, H. Du, L. Cao (2017) Oncol. Lett., 14: 512-516
- 11) M. Mizoguchi, R.A. Betensky, T.T. Batchelor, D.C. Bernay, D.N. Louis, C.L. Nutt (2006) J. Neurop. Exp. Neurol
- 12) M.V. Grandal, R. Zandi, M.W. Pedersen, B.M. Willumsen, B. van Deurs, H.S. Poulsen (2017) Carcinogenesis.
- 13) P.H. Huang, A.M. Xu, F.M. White (2009) Sci. Signal.
- 14) K.J. Wilson, J.L. Gilmore, J. Foley, M.A. Lemmon, D.J. Riese (2009) Pharmacol. Ther.
- 15) K.J. Wilson, C. Mill, S. Lambert, J. Buchman, T.R. Wilson, V. Hernandez-Gordillo, R.M. Gallo, L.M.C. Ades, J. Settleman, D.J. Riese (2012) Growth Factors
- 16) R.A. Saxton, D. Sabatini (2017) Cell, 168: 960-976
- 17) Y. Zheng, Jiang Y. (2017) Physiol. Behav, 176: 139-148
- 18) N. Mizushima (2018) Nat. Cell Biol, 20: 521-527
- 19) J. Fraser, A.G. Cabodevilla, J. Simpson, N. Gammoh (2017) Essays Biochem, 61: 597-607
- 20) M. Donepudi, M.D. Resh (2008) Cell. Signal.
- 21) M.E. Irwin, N. Bohin, J.L. Boerner (2011) Cancer Biol. Ther, 12: 718-726
- 22) A. Wilde, E.C. Beattie, L. Lem, D.A. Riethof, S.H. Liu, W.C. Mobley, P. Soriano, F.M. Brodsky (1999) Cell, 96: 677-687

LUPO E PASTORIZIA: UN RAPPORTO COMPLICATO? ANALISI DEI CONFLITTI NELLA PROVINCIA DI CAMPOBASSO

G. DI IORIO, L. MASTROGIUSEPPE, A. LOY

Università degli Studi del Molise, C.da Fonte Lappone, Pesche (IS).

Dati ottenuti in precedenti lavori (1-3) hanno dimostrato come il lupo, in tutto il territorio italiano, stia tornando ad un tipo di alimentazione più improntata sull'utilizzo di prede selvatiche, principalmente rappresentate dagli ungulati, con l'abbandono sempre più marcato delle predazioni ai danni del bestiame, un tempo la principale fonte alimentare del predatore, affievolendo quindi anche i contrasti con la zootecnia e l'agro-pastorizia. A questo proposito è stata studiata la situazione dei conflitti tra lupo e attività agro-pastorali in una porzione della provincia di Campobasso, caratterizzata da un numero elevato di allevamenti e di capi di bestiame, distribuiti in tutti i comuni presi in considerazione, grazie ai dati provenienti dall'A.S.Re.M. I dati hanno evidenziato come dal 01/01/2014 al 31/12/2018, si siano verificati 190 eventi predatori a carico del bestiame domestico (ovicaprino, bovino ed equino), per un totale di 550 capi e un importo di 77.860,00 € di danni rimborsati dalla Regione Molise alle aziende.

I comuni interessati da predazioni sono 34 su 51, nonostante la presenza di allevamenti e di capi sia registrata in ogni comune. In media si sono verificati 3,73 eventi predatori, 10,78 capi e 1.526,67 € rimborsati per comune, con ampia variabilità. La zona maggiormente colpita dalle predazioni è stata quella del Matese, con i comuni di Bojano, San Massimo e Sepino che risultano i più interessati dal fenomeno in tutti i parametri presi in considerazione (Fig. 1).

La categoria di bestiame maggiormente interessata dalle predazioni è stata quella ovicaprina (127 eventi predatori, 474 capi predati e 41.460,00 € di rimborsi), seguita da quella bovina (55 eventi predatori, 66 capi predati e 33.350,00 € rimborsati), tra i quali prevale la predazione dei vitelli (meno di 6 mesi d'età), con il 77,27% dei bovini predati. Infine, gli equini risultano essere la categoria di bestiame meno rilevante, con 8 eventi predatori, 10 capi predati e 3.050 € rimborsati. Anche in questo caso il 70% degli equini predati è rappresentato da puledri, il restante 30% da asini, mentre non è stata registrata alcuna predazione su cavalli adulti. La distribuzione delle predazioni per le varie categorie di bestiame risulta essere differente, con gli ovicapri predati in 30 comuni su 51, tra i quali quelli più colpiti sono quelli dell'area del Matese.

Tra questi ultimi Bojano è il più interessato dal fenomeno, in linea con il fatto che presenta la più alta concentrazione di allevamenti e di capi dell'area. Il Matese è risultata un'area esclusivamente interessata dalle predazioni di bovini, mentre nel resto dell'area di studio le predazioni di bovini sono sporadiche. Infine le predazioni di equini non mostrano una particolare distribuzione geografica, con poche predazioni sparse.

Da un punto di vista temporale, il 2014 mostra il maggior numero di eventi predatori (47), di capi predati (171) e di importi rimborsati (17.760,00 €). Successivamente si rileva una diminuzione costante dei capi predati, che diminuiscono del 57,89% nei successivi 4 anni. Gli eventi predatori diminuiscono fino al 2017 (decremento totale dal 2014 del 34,04%), per poi far registrare un lieve aumento (+13,88%) nel 2018. L'importo totale dei rimborsi presenta dei valori più oscillanti, con diminuzione costante fino al 2016, un nuovo aumento di circa il 10% nel 2017 e una leggerissima variazione al ribasso nel 2018 (Tab. 1).

Gli ovicapri presentano il maggior tasso di diminuzione, dal 2014 (39 eventi, 161 capi e 13.810,00 € di rimborsi),

negli anni successivi si osserva un decremento totale del 53,85% degli eventi predatori (18), del 68,94% nel numero di capi predati (50) e del 67,27% dei rimborsi per le predazioni (4.520,00 €). I bovini, invece si registra un aumento generale di tutti i parametri, seppur sempre con numeri molto inferiori a quelli degli ovicapri, soprattutto per quanto riguarda il numero di eventi e di capi predati. Nel 2014 si registra infatti il minimo di 6

Tab. 1 – Dati complessivi sulla predazione attribuiti al lupo in 57 comuni Provincia di Campobasso nel periodo 01/01/2014 al 31/12/2018 secondo i dati forniti dall'Azienda Sanitaria Regione Molise.

BESTIAME	Eventi predatori	Capi predati	Importo dei rimborsi
2014	47	171	€ 17.760,00
2015	40 (- 14,89%)	128 (- 25,15%)	€ 16.520,00 (- 6,98%)
2016	36 (- 10%)	100 (- 21,88%)	€ 13.600,00 (- 17,68%)
2017	31 (- 13,88%)	79 (- 21%)	€ 15.010,00 (+10,37%)
2018	36 (+ 13,88%)	72 (- 8,86%)	€ 14.970,00 (- 2,27%)

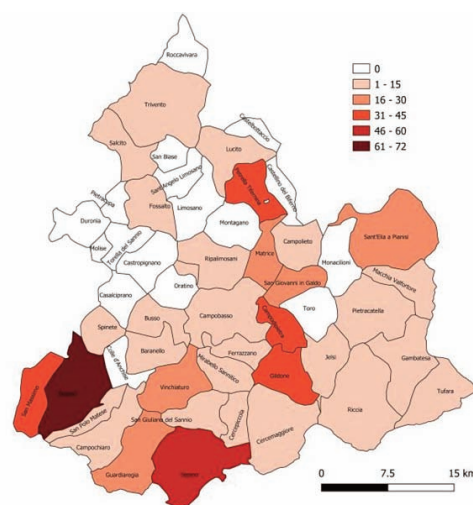


Fig. 1 – Classi di densità di capi di bestiame predati nei 57 comuni dell'area di studio dal 01/01/2014 al 31/12/2018.

eventi con 7 capi predati e 2.800,00 € rimborsati, mentre negli anni successivi si assiste ad un incremento continuo, fino 14 eventi, 18 capi predati e 9.250,00 € di rimborsi nel 2018. Per quanto riguarda le classi di età delle prede, i vitelli sono la componente bovina più predata, con una crescita per 3 anni, un decremento nel 2017 e un nuovo aumento nel 2018 (14 capi). Anche la predazione su bovini adulti presenta una tendenza aumento, anche se con numeri molto più bassi, in crescita fino al 2017 (5 predazioni) per poi diminuire leggermente nell'ultimo anno. Il fenomeno delle predazioni sugli equini non mostra una tendenza temporale, con un anno, il 2018, in cui i danni sono stati i più alti (4 eventi predatori, 4 equini predati e 1.200,00 € rimborsati) e due anni (2015 e 2017) senza alcun evento. Durante il primo anno dello studio l'unica tipologia di equini predati è stata quella degli asini (predati solo in quell'anno) mentre nel 2016 e nel 2018 sono predati solo puledri. La chiara tendenza alla diminuzione della predazione di capi domestici da parte del lupo riportata in questo studio non sembra essere legata ad una diminuzione della popolazione del predatore, ma piuttosto a uno slittamento della sua dieta verso gli ungulati selvatici, in particolare il cinghiale, così come osservato in altri studi e regioni, nonché indirettamente dai dati sui danni da cinghiale rilevati negli stessi anni (4).

- 1) A. Meriggi, A. Brangi, L. Schenone, D. Signorelli, P. Milanesi (2011) *Ethology Ecology & Evolution*, 23(3): 195-210
- 2) C. Imbert, R. Caniglia, E. Fabbri, P. Milanesi, E. Randi, M. Serafini, E. Torretta, A. Meriggi (2016) *Biological Conservation*, 195: 156-168
- 3) A. Gazzola, I. Bertelli, E. Avanzinelli, A. Tolosano, P. Bertotto, M. Apollonio (2005) *Journal of Zoology*, 266(2): 205-213
- 4) G. Di Iorio (2019) Tesi di laurea magistrale in Biologia. Università degli studi del Molise. A.a. 2018-2019

ANALISI DELLA VITALITÀ DELLA POPOLAZIONE DI LONTRE IN ITALIA

S. DIAMENTE, M. DI FEBBRARO, A. LOY

Università degli studi del Molise, Contrada Fonte Lappone, Isernia.

La popolazione di lontre nell'Italia centro-meridionale è molto piccola e isolata ed è pertanto soggetta ad un severo rischio di estinzione, tanto da essere classificata minacciata (EN) nella lista rossa italiana (1,2). Il presente lavoro ne ha studiato la vitalità a medio e a lungo termine attraverso un approccio modellistico di analisi di vitalità della popolazione (PVA), utilizzando sia informazioni disponibili in letteratura sia parametri demografici stimati ex novo per la popolazione italiana (3). Usufruento di stime e sistemi cartografici (QGIS) sono stati calcolati l'area di studio, la popolazione iniziale (N_e) e la capacità portante (K). La valutazione dell'impatto della mortalità stradale, la frequenza e l'incidenza degli eventi catastrofici (fenomeni siccitosi e inondazioni) sono stati elaborati sulla base di serie storiche e di database disponibili (6,7). Dalle suddette indagini la dimensione media della popolazione iniziale di lontre è stata stimata in 919 individui (4,5). La capacità portante minima e massima è risultata tra 1910 e 3570 individui. Il fenomeno degli investimenti stradali, che influiscono sui tassi di mortalità, è risultato in aumento dal 2000, e colpisce la popolazione con un rapporto di 2:1 sbilanciato verso i maschi. La frequenza di estrema siccità è stata stimata al 9% mentre quella di inondazioni al 5% in 100 anni. Questi parametri hanno portato alla formulazione di 15 scenari predittivi per valutare il rischio di estinzione della lontra in 100 anni con 1000 iterazioni utilizzando il software VORTEX (Tab. 1).

I risultati delle 15 simulazioni hanno evidenziato come in 3 scenari su 15 (E, I, L) la popolazione di lontre nell'Italia meridionale si estingue o si riduce al di sotto dei 200 individui nell'arco di 50-100 anni. In 4

Tab. 1 – Scenari considerati nelle simulazioni.

SCENARIO	Popolazione iniziale (N)	Capacità portante (K)	Catastrofi	% femmine riproduttive	Investimenti stradali
A	808	Costante	NO	Costante	SI
B	919	Costante	NO	Costante	SI
C	1030	Costante	NO	Costante	SI
D	Costante	Costante	SI	Costante	SI
E	Costante	Declino	SI	Costante	SI
F	Costante	3570	SI	Costante	SI
G	Costante	Costante	Siccità	Costante	SI
H	Costante	Costante	Inondazione	Costante	SI
I	Costante	Costante	Siccità e Inondazione	Costante	SI
L	Costante	Costante	SI	30%	SI
M	Costante	Costante	SI	50%	SI
N	Costante	Costante	SI	60%	SI
O	Costante	Costante	SI	Costante	Assente
P	Costante	Costante	SI	Costante	Declino
Q	Costante	Costante	SI	Costante	Declino
MPV	-	Costante	SI	Costante	SI

scenari (D, F, G, H) si osserva un declino costante che però non porta all'estinzione. In 2 scenari (A, B) si osserva una prima fase di aumento seguita da un declino e da un successivo assestamento al di sotto della capacità portante. Infine, in 6 scenari (C, M, N, O, P, Q) la popolazione raggiunge la capacità portante e si assesta intorno a questa.

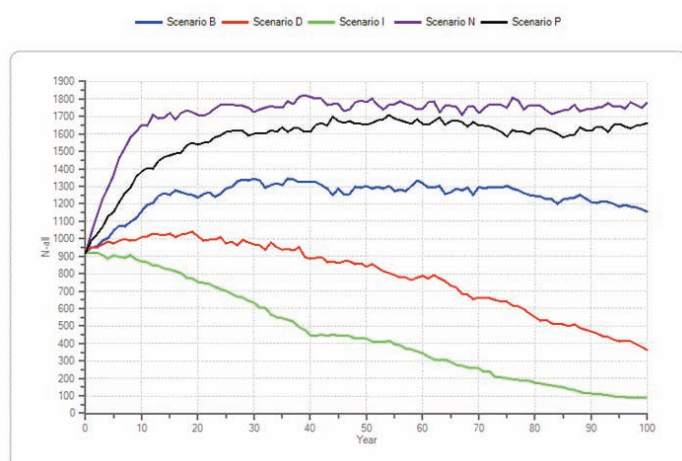


Fig. 1 – Risultati delle simulazioni di 5 scenari. N = popolazione iniziale.

In Fig. 1 sono riportati i risultati di 5 scenari rappresentativi dell'evoluzione della popolazione (scenari B, D, I, N, P). La popolazione minima vitale (MPV) di lontre in Italia è risultata pari a 5406 individui, corrispondente a un'area minima vitale di 193071 km². L'insieme dei risultati suggerisce che la persistenza a lungo termine della popolazione di lontre in Italia non è garantita alle condizioni attuali. I fattori che hanno rivelato l'impatto maggiore sulla vitalità della popolazione sono un ridotto numero di femmine riproduttive, la mortalità stradale, la perdita dell'habitat e eventi catastrofici simultanei di inondazioni e siccità. La frequenza di questi eventi è condizionata dalle misure attuate a scala globale per ridurre il riscaldamento globale. Pertanto l'unico fenomeno sul quale è possibile

intervenire per aumentare le P di sopravvivenza della popolazione è l'incidenza della mortalità stradale. È inoltre necessario promuovere l'espansione della specie al fine di garantire la rapida occupazione di aree idonee a ospitare una popolazione minima vitale della specie (area minima vitale).

- 1) S. Giovacchini, M. Marrese, A. Loy (2018) IUCN Otter Spec. Group Bull., 35(4): 212-221
- 2) M. Panzacchi, P. Genovesi, A. Loy (a cura di) (2011) Ministero Tutela Ambiente, Territorio e Mare e ISPRA
- 3) M.S. Boyce (1992) Annual Review of Ecology and Systematics, 23: 481-506
- 4) L.L. Lerone, G.M. Carpaneto, A. Loy, C. Mengoni, E. Randi (2014) Acta Theriologica, 59: 511-520
- 5) C. Prigioni, L. Remonti, A. Balestrieri, S. Sgrosso, G. Priore (2006) Hystrix, It. J. Mamm., 17(1): 29-36
- 6) Project "Segnalazioni lontre in Italia" <http://therio.unimol.it:8080/lontra/mappa.html>
- 7) A. Moreno, H. Hasenauer (2015) International Journal of Climatology, 36: 10.1002/joc.4436

NUMERICAL APPROACHES TO MODEL LIQUEFACTION-INDUCED EFFECTS ON PIPELINES

T. FIERRO, M. CASTIGLIA, F. SANTUCCI DE MAGISTRIS

Dipartimento di Bioscienze e Territorio, Università degli Studi del Molise, Via De Sanctis, Campobasso (Italy)

Soil liquefaction represents one of the most important and complex co-seismic effects that can occur during and after an earthquake in saturated cohesionless soils. It consists of the loss in shear stiffness and strength in granular soils due to excess pore water pressure generation that leads the porous medium to behave like a fluid. Accordingly, the consequences can be dramatic for man-made facilities, because this phenomenon can generate different mechanisms of large ground deformations, such as flow failures, lateral spreads, loss of bearing capacity, subsidence, buoyancy and ground oscillation. Indeed, a large amount of case-histories is reported in the technical literature including building collapses, failures of retaining walls, underground structures large displacements with breaking and functionality loss. In particular, pipeline networks are very sensitive to liquefaction effects due to their extension in large areas and, consequently, to the high probability of crossing liquefiable zones (1). In addition, it is often impossible rerouting pipelines away from a sensitive site. For this reason, the design approach for pipelines in seismic areas should carefully consider the potential for large soil displacement, accounting for the lateral spreading and the buoyancy, that are two of the most widespread liquefaction effects. For a pipe embedded in a saturated sand layer, the soil can liquefy when earthquakes occur and the pipe can move horizontally in case of lateral spreading, while it can displace upward due to buoyancy. Lateral spread consists of lateral displacement of a liquefied soil layer, either down a gentle slope or toward a free face; the displacement occurs due to a combination of gravitational and earthquake-induced inertia forces acting within and above the liquefied layer while surface layers commonly break into large blocks. This moving mass can displace the structures interacting with soil. Buoyancy can also affect buried structures when the surrounding mass liquefies, especially in areas where the ground slope is virtually flat.

Anyway, despite the tragic effects that can develop subsequently to the liquefaction-induced damaging of pipelines, this issue has not been strongly investigated over the years in Italy. The literature background and the design code are poor on this part. This is probably due to the reduced availability of simplified methods to be used by designers to predict pipelines behaviour against liquefaction (uplift, settlements or lateral displacements) as well as to the difficulty in developing reliable numerical models of soil-structure interaction.

Considering the above-mentioned phenomena, simplified methods were developed by the researchers over the years. Chian *et al.* (2) used a simplified load pattern to describe the floatation of a circular underground structure. The involved forces in the uplift mechanism are: F_{WS} , due to the soil above the pipe; F_{SP} , due to the shear strength of the soil overlying the pipe; F_T , due to the weight of the structure, and F_{EPP} generated by the excess pore water pressure. The buoyant force F_B exploits Archimedes principle.

On the contrary, Wang *et al.* (3) proposed a simplified scheme to describe the load pattern for rectangular-shaped pipeline with manhole in case of lateral spreading. Based on experimental results, total liquefaction is assumed to be triggered for acceleration higher than 0.3g. The load magnitude varies with depth, while the pipeline is subjected to a resultant force equal to $2\Delta P_{liquid}$, where the latter depends on its geometry, the depth from water table and the weight of saturated soil. The resulting displacement of the pipe is related to a time-varying subgrade reaction coefficient and damping.

These simplified formulations are often incapable to capture some essential features in the physics of the phenomenon, e.g. an accurate description of soil behaviour and soil-structure interaction. In this framework, finite element (FE) analysis can play a key role in the design phase of pipelines. However, the procedure at the basis of FE analysis must be carefully calibrated to guarantee reliable predictions. From this point of view, a large number of researchers tried to model these problems over the years.

O'Rourke and Lane (1) were among the first to use finite element approach to study lateral spreading problems related to lifelines. They performed 2-D analyses using the in-house software UNIPIP on steel water pipelines. Beam element was adopted for the pipe, while springs exploiting bi-linear relationship described soil-structure interaction. With the spread of more sophisticated numerical codes, highly refined models were developed. In fact, Ling *et al.* (4) used the DIANA-SWANDYNE II code to study the pipeline uplift in liquefiable soil on the basis of centrifuge tests. It considered dynamic Biot's equations to simulate 2D boundary value problems under axi-symmetric strain. The Pastor-Zienkiewicz-Mark-III constitutive model, based on the bounding surface plasticity theory, was selected for soil. Post-liquefaction behaviour was not well simulated while the pipe was modelled with 4-node quadrilateral elements with unknown displacement (as a non-porous material). A recent study regarding the uplift problem was developed by Marinatou *et al.* (5), where the evidence of a non-liquefied soil wedge of non-negligible shear strength above the pipe in experimental results is highlighted (Fig. 1). The

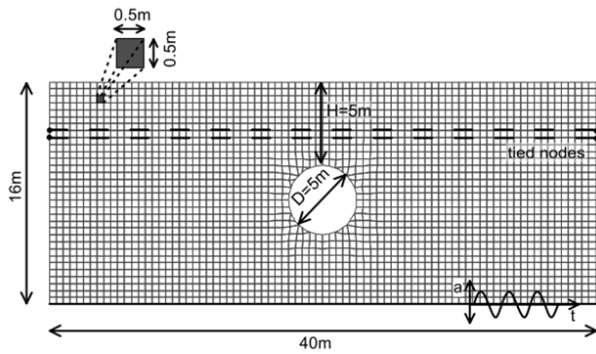


Fig. 1 – FE Model used by Marinatou et al. (2017) to reproduce centrifuge tests performed by Chian et al. (2).

shell elements were selected for the pipe segment and 8-node reduced-integration elements were used to model the soil. Soil-pipe interface is simulated by using a contact algorithm which accounts for interface friction through a friction coefficient. The considered pipe was made in steel and von Mises plasticity model with isotropic hardening was used to describe it. Finally, the mechanical soil behaviour was modelled using an elastic-perfectly plastic Mohr-Coulomb constitutive model. The FE model was divided into two blocks (liquefied and non-liquefied part) and a horizontal body force was applied on the liquefied soil block to consider lateral spreading, while the vertical boundary nodes of the non-liquefied part remained fixed in the horizontal direction. Buckling effects in steel pipelines were well captured from numerical simulations compared to experimental results.

In conclusion, liquefaction-induced phenomena, particularly uplift and lateral spreading, were analysed through finite element and finite difference strategies. It is highlighted that the modelling of soil-pipe interaction is often simulated through simplified friction approaches, while the bounding surface plasticity theory is widely developed to describe the soil behaviour. This framework could be the basis for future parametrical studies, to be validated with experimental support, with a view to developing a proper section in National Code regarding these specific problems. Even if technical literature is not very rich in liquefaction-induced effects on pipelines throughout the Italian territory, considering the seismic hazard and the soil conditions, the liquefaction risk should be taken into account and the effects on pipelines should not be neglected.

- 1) T.D. O'Rourke, P.A. Lane (1989) NCEER-89-00072
- 2) S.C. Chian, K. Tokimatsu, S.P.G. Madabhushi (2014) J. of Geotech. and Geoenvironmen. Engineering, 140: 04014057
- 3) L.R.L. Wang, J.S. Shim, I. Ishibashi, Y. Wang (1990) Soil Dynamics and Earthquake Engineering, 9(1)
- 4) H.I. Ling, L. Sun, H. Liu, Y. Mohri, T. Kawabata (2008) J. of Earthquake and Tsunami, 2(1): 1-17
- 5) S.M. Marinatou, V.A. Zontanou, G.D. Bouckovalas, Y.K. Chaloulos (2017) Proceedings of PBD III, Vancouver
- 6) P. Vazouras, G.C. Sarvanis, S.A. Karamanos et al. (2015) Final Report, GIPIPE project

finite difference FLAC code is used to simulate centrifuge tests performed by Chian *et al.* (2) and the NTUA-Sand bounding surface constitutive model was selected for the soil. The soil-structure interface was simulated by installing contact elements with friction angle equal to one half of the soil friction angle and zero cohesion. This methodology seems to adequately reproduce the uplift behaviour of the pipe.

On the other hand, lateral spreading problems were simulated extensively by using FEA in the framework of GIPIPE project (6). Three dimensional analyses were performed in order to simulate the mechanical behaviour of pipeline-soil system. The finite element ABAQUS code was adopted. Pipeline was buried into an elongated soil prism, while 4-node reduced-integration

BOUNDING SURFACE MODELS IN SITE RESPONSE ANALYSIS: COMPARISON WITH EQUIVALENT LINEAR APPROACH

T. FIERRO, F. SANTUCCI DE MAGISTRIS

Dipartimento di Bioscienze e Territorio, Università degli Studi del Molise, Via De Sanctis, Campobasso (Italy).

One of the most challenging goals in Geotechnical Earthquake Engineering is the reliable prediction, from a computational point of view, of the response of a soil column subjected to earthquake excitation. This allows obtaining proper seismic motion on the environment and constructions.

In this framework, a critical issue consists of the selection of the type of analysis. Nowadays, the equivalent linear approach is extremely widespread, mainly for its low computational demand and for its suitability to simulate soil behaviour up to the medium-strain level. In brief, this approach exploits an iterative procedure that approximates the hysteresis loop exhibited by soils during a load cycle through an average shear modulus. Then, the latter is corrected to be consistent with the obtained shear strain. On the contrary, its inability to reproduce the soil nonlinear hysteretic response at high strain level and to decouple effective stress response and pore water pressure generation of the porous medium is well documented. On the basis of the above, a nonlinear approach seems more adequate to predict real soil behaviour. However, this class of models is extremely complex from a computational point of view and a large amount of data to be correctly calibrated is required. In the current practice, these data are often not available.

In this work, the comparison between the surficial responses of a single-layered 20 m-thick soil column of Messina Gravels subjected to strong-motion recordings, applying both the equivalent-linear and the non-linear approaches, is analyzed. The comparison is made in terms of acceleration response spectra.

Messina Gravels consist of gravel and sand with occasionally silty levels and the main parameters useful for the site response analyses are reported in Gorini (1). The soil column is underlain by a rigid bedrock.

To represent the nonlinear soil behaviour, the SANISAND constitutive model, developed by Dafalias and Manzari (2) is adopted, whereas its reliability to simulate the nonlinear behaviour of soils for most applications is well documented. Generally speaking, the bounding surface plasticity theory-based constitutive models exploit the bounding surface concept, which is defined similarly to a yield surface and, consequently, the definition of plastic potential, plastic modulus and hardening law are needed. Each point on the yield surface is related to an image point on the bounding surface following a mapping rule and the distance from the current stress state to this external limit surface regulates the hardening of the material. The SANISAND model also includes the critical state theory and the fabric evolution within this framework. Therefore, four open cone-shaped surfaces are defined in the π -space: the yield surface, the critical state surface, the dilatancy surface and, obviously, the bounding surface. Figure 1 reports the model outline in p' - q space, for the sake of simplicity.

Once the constitutive model was selected, nonlinear site response analyses using the OpenSees platform (<https://opensees.berkeley.edu>) were performed. OpenSees is an object-oriented open-source software framework for finite element simulation where the SANISAND model is already implemented. The soil was represented through a single column in 2D space with periodic boundary conditions in order to simulate a 1D analysis. The input excitation was applied at the base nodes of the column by means of the velocity time-histories of motions as in Joyner and Chen (3) and Lysmer (4). The 9-4 Node QuadUP elements available in OpenSEES were adopted to track both effective stresses and pore water pressure generation. Finally, the parameters needed to be assigned to the constitutive model were obtained from Gorini (1), where calibration of SANISAND for cyclic conditions for Messina Gravels is developed.

Although, the equivalent linear analyses were performed using the software STRATA. The soil stiffness was defined assigning a shear wave velocity through the well-known relationship $V_s = \sqrt{G_0/\rho}$, where G_0 represents the shear modulus at small-strain level and ρ indicates the soil mass density.

In the model calibration procedure, four 5 Hz sine waves with amplitudes 0.001g, 0.005g, 0.01g, 0.05g, respectively, were applied at the base of the model by adopting both the procedures. These acceleration values were selected to induce small-strain levels in soils so that the non-linear behaviour is not triggered. The results were interpreted in terms of the amplification factor, defined by the ratio between the maximum acceleration observed at the surface nodes of the model and the maximum acceleration encountered in the input motions. In Figure 2, the calibration procedure results are reported and a satisfactory congruence is observed. Only for the sine wave with 0.05g amplitude, a non-neglectable gap in the amplification factor is identified, mainly because of the soil

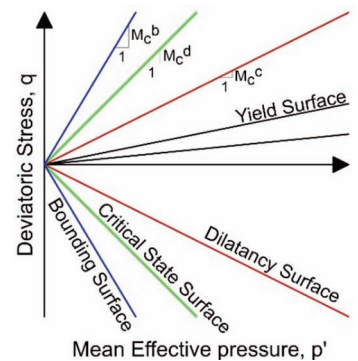


Fig. 1 – Model outline in p' - q space (reproduced from Dafalias and Manzari, 2004).

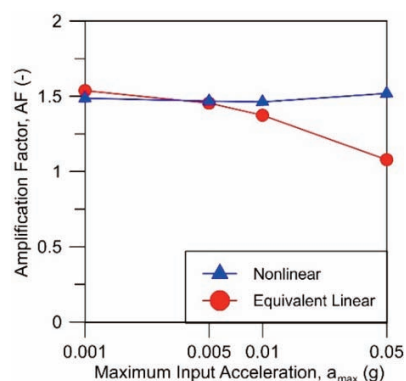


Fig. 2 – Model calibration procedure.

nonlinearity.

The non-linear behaviour of the soil was activated by applying at the base nodes of the model three accelerograms from strong motion events (Kobe, Kocaeli and Chi-Chi), downloaded from the PEER database, whereas the main features are reported in Table 1.

The results are plotted in terms of acceleration response spectra in Figure 3. Here, for periods higher than 1.5s, strong accordance

is observed between input motions and analyses results and no amplification effects build up. For the period range 0.6-1.5s, amplification occurs and it is correctly caught by both the approaches. Strong differences are observed in the lower periods range, up to 0.5s, where the equivalent linear approach returns essentially equal spectral accelerations compared with the input motion, while nonlinear analysis highlights strong amplification effects.

In conclusion, it appears that the soil non-linearity should be carefully evaluated for high-seismicity areas because the equivalent linear method tends to underestimate the response, assuming a stiffer behaviour. To this end, the non-linear approach appears more appropriate in order to avoid underpredictions of the input motion to be applied for design purposes, but a high effort should be made as well to properly characterize the soil for the calibration of the selected nonlinear model.

Tab. 1 – List of the events selected for the analyses and main features.

DATE	EVENT	STATION	Mw	PGA (g)
20/09/1999	Chi-Chi	TCU045	7.6	0.361
16/01/1995	Kobe	Kakogawa (CUE90)	6.8	0.344
17/08/1999	Kocaeli	Yarmica (KOERI330)	7.6	0.349

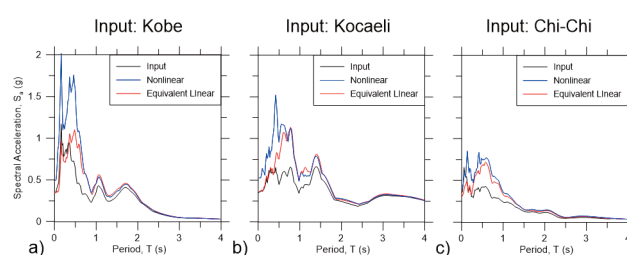


Fig. 3 – Surficial responses of the soil compared to the input motions in terms of acceleration response spectra (a, b and c).

- 1) D.N. Gorini (2019) Tesi di Dottorato. Università di Roma, La Sapienza
- 2) Y.F. Dafalias, M.T. Manzari (2004) J. of Engineering Mechanics
- 3) W.B. Joyner, A.T.F. Chen (1975) Bull. of Seismol. Soc. of America
- 4) J. Lysmer (1978) Report No. UCB/EERC-78/29, University of California at Berkeley

IMMAGINI E AMBIENTI INTERATTIVI PER LA VALORIZZAZIONE DEL PATRIMONIO TERRITORIALE

F. GIANGRANDE, G. OTTAVIANO, S. SIMONCINI, L. DE BONIS

Università degli studi del Molise; v. F. De Sanctis, 86100, Campobasso.

La geografia italiana delle aree con più ricco patrimonio territoriale (1) si sovrappone ampiamente con quella dei contesti considerabili come più periferici rispetto ai processi di sviluppo economico e urbano del XX secolo; essi sembrano configurarsi come luoghi «protetti dallo sviluppo» (2) a causa della loro marginalità rispetto ai maggiori flussi economici, determinatasi ben prima dell’emanazione della legislazione di tutela ambientale. È quindi possibile affermare che la “conservazione” di tali territori consegua in fondo da processi di esclusione intrinseci al modello di sviluppo occidentale e legati alla loro scarsa competitività sugli scenari nazionali e globali. In tal senso non avrebbe ragione di sussistere la tensione dicotomica tra conservazione e sviluppo, che spesso riveste un ruolo centrale nelle retoriche legate alla gestione delle aree protette. L’efficacia “conservazionistica” dei processi di marginalizzazione economica è risultata evidente nelle analisi svolte dagli studenti della seconda edizione del Master Unimol di II livello in “Progettazione e promozione del paesaggio culturale”, tramite le quali è stato possibile rilevare una diffusa ricchezza di diversità e di leggibilità delle relazioni storiche uomo-ambiente all’interno di territori che, in larga parte, non erano sottoposti a regimi di tutela ai sensi della L. 394/91 sulle aree protette. D’altra parte, è necessario tenere in debita considerazione il ruolo di questi ultimi regimi di tutela nell’evitare che, sull’onda di una rincorsa tardiva a modalità di sviluppo ormai superate, si producano devastazioni dei territori mantenutisi così ricchi di valori naturali e culturali. La combinazione di tutela “intrinseca” nella marginalizzazione e criticità nell’implementazione della tutela “estrinseca” prevista dalla legislazione di protezione può essere interpretata progettuamente come possibilità di avvio di una nuova forma di “tutela attiva” di quei territori in cui i segni identitari della coevoluzione tra uomo e ambiente sono meglio conservati, con l’obiettivo di aprire scenari di qualificazione territoriale «a scala di paesaggio» (3). In tale ottica, alle “località” sempre più marginalizzate nel corso degli ultimi decenni potrebbero dischiudersi nuove possibilità di ri-territorializzazione, proprio per interazione “autopoietica” (4) coi flussi globali de-territorializzanti (5). Esse, infatti, si prestano particolarmente alla sperimentazione di innovative pratiche di gestione delle risorse, capaci di sintetizzare l’incontro tra sviluppo e conservazione nella gestione ri-produttiva del territorio da parte delle comunità locali. A tal fine è tuttavia necessario accedere a una visione dell’appartenenza comunitaria che non si basi più sulla prossimità o densità di popolazione locale. Trasporti e telecomunicazioni ci coinvolgono ormai in relazioni sempre più numerose e diversificate, come membri di plurime comunità astratte/diasporiche. La mobilità modella i territori, come appare evidente nel caso dei migranti che, esercitando la loro *agency*, si danno come soggetti al contempo locati e dis-locati, creatori di luoghi sottoposti a tensioni e conflitti derivanti dal loro multi-posizionamento. Una prospettiva interessante per lo studio dei paesaggi vissuti dai migranti riguarda la valorizzazione delle esperienze virtuose della società civile che permettano strategie di ripopolamento grazie alla crescita delle società locali indotta dalla valorizzazione dei loro *milieu*, nonché dallo sviluppo di economie a base territoriale fondate sull’integrazione e durevolezza delle risorse locali (6). È indubbio, in tal senso, che in un contesto in via di spopolamento come il Molise sia opportuno verificare la validità di una strategia di ripopolamento che faccia riferimento anche a flussi di nuovi migranti, nell’idea che «questa sia un’occasione, e che l’accoglienza temporanea, se adeguatamente accompagnata con progetti per l’inserimento socio-lavorativo, possa divenire definitiva, donando nuove residenze a territori soggetti ancora oggi allo spopolamento» (7). Ipotizziamo, quindi, che esistano in Molise le condizioni affinché progetti di accoglienza in comuni sottoposti a spopolamento e abbandono possano tradursi in un percorso di stabilizzazione e dunque di riteritorializzazione migrante. A tal fine il territorio non va tuttavia considerato come sfondo o supporto bensì come parte attiva di un processo di sviluppo, attraverso le sue componenti materiali e immateriali (8). Lo stesso circuito della conoscenza, la componente dei territori per eccellenza immateriale ed astratta, è infatti alimentato da saperi radicati nei contesti territoriali (9). Dunque «i territori desertificati potrebbero accogliere giovani e famiglie impegnati come nuovi produttori e come custodi-trasmettitori di memorie» (10), tramite un percorso che parte dal riconoscimento del capitale territoriale (11) favorendo l’interazione e l’amalgama tra genti e culture diverse.

Nella fase di *project work* del Master citato sono state individuate alcune strategie potenzialmente in grado, anche ricorrendo alla stabilizzazione di progetti di accoglienza di flussi migranti, di attivare processi di “sviluppo riteritorializzante”, ossia capaci di produrre (retro)innovazione sociale ed economica, facendo ricorso a rivisitazioni di istituti tradizionali di gestione del territorio (ad esempio ibridazioni tra usi civici, banche della terra e fattorie sociali) e a nuovi strumenti e approcci (contratti di fiume, parchi agricoli multifunzionali). La sperimentazione condotta nell’ambito del Master è avvenuta “nel contesto” di una piattaforma integrata di tipo

“geosociale”, che ha abilitato i discenti ad una modalità fortemente interattiva di produzione di “immagini di territorio” (12). Intese, queste ultime, come modi di vedere e tensioni trasformatrici generate nel corso stesso dell’interazione “contestuale” (entro la piattaforma) tra i diversi soggetti che li/le esprimono (in questo caso i discenti del master). Le “immagini (territoriali) di gruppo” – definibili “immagini-progetto” o “immagini-piano” se riguardano prevalentemente istanze trasformatrici (13) – sono quindi un primo aspetto “emergente” delle immagini di territorio, nel senso che coincidono con quelle immagini generate per convergenza interattiva di differenti immagini di territorio. Sulla base di una tale considerazione delle “immagini” il Master ha sperimentato un ambiente interattivo che combina servizi e *software open source* di *web mapping*, scrittura collaborativa e comunicazione asincrona. Più nel dettaglio, è stata predisposta una piattaforma DokuWiki che ha consentito ai discenti un’intensa interazione finalizzata alla condivisione e costruzione di immagini territoriali relative all’area prescelta per il *project work*. Ciò è stato possibile grazie all’utilizzo di uMap, servizio *OpenStreetMap-based* per la creazione di mappe personalizzate online, e alla possibilità di realizzare un *embedding* reciproco tra uMap e DokuWiki. Il sistema da un lato ha abilitato un’interazione costante tra i diversi gruppi di lavoro, garantendo anche una spontanea integrazione dei diversi approcci e competenze disciplinari, e dall’altro ha consentito di conciliare un’organizzazione rigorosa e accessibile dei dati con una collaborazione dinamica e basata su un’ampia gamma di linguaggi. Un ambiente di questo tipo si può considerare un contesto socio-tecnico di apprendimento che si sottrae al vincolo tra ricerca e produzione di immagini digitali specialistiche, in genere fortemente ancorate a specifici settori disciplinari, approssimandosi al concetto di mappa come *medium* e contesto di un processo più ampio e condiviso di “interazione immaginativa”. In questo senso il proposito di modulare una futura apertura al pubblico di questo prototipo di *geosocial* del Master equivale ad attivare una successione di ambienti digitali interattivi intesi come contesti di apprendimento autoregolativo. Il processo allude perciò alla possibilità di una riconfigurazione e un *rescaling* delle tecnologie digitali finalizzato a supportare in generale l’autorganizzazione e la cooperazione locale (14), da realizzarsi anche attraverso una maggiore integrazione tra ricerca accademica e comunità locali.

- 1) A. Magnaghi (2010) Bollati Boringhieri, Torino.
- 2) A. Magnaghi (2010) Ri-Vista, luglio-dicembre: 25-29
- 3) R. Gambino (2011) *Ecoscienza*, 4: 56-57
- 4) H. Maturana, F. Varela (1985) Marsilio, Venezia
- 5) L. De Bonis, F. Giangrande, S. Simoncini (2019), Planum Publisher, Roma-Milano
- 6) A. Magnaghi (2001) Alinea, Firenze: 7-52
- 7) M. Dematteis, A. Membretti (2016) *Dislivelli*, 64: 3-5
- 8) G. Dematteis (2005) Franco Angeli, Milano
- 9) E. Rullani (2004) Carrocci, Roma
- 10) V. Teti (2007) Donzelli, Roma
- 11) R. Camagni (2009) Franco Angeli, Milano: 47-65
- 12) L. De Bonis, F. Giangrande, G. Ottaviano, S. Simoncini (in corso di stampa), Planum Publisher, Roma-Milano
- 13) L. De Bonis (2005), Franco Angeli.
- 14) A. Di Bella (2012) *Aracne*: 313-327

ROLE OF BOVINE LACTOFERRIN IN DIFFERENTIATION OF NEUROBLASTOMA CELLS

G. IANIRO, V. LA BANCA, M. SEGATTO, A. CUTONE, G. MUSCI

Department of Biosciences and Territory, University of Molise, Pesche, Italy

Neuroblastoma, a neoplasm of the sympathetic nervous system, is one of the most common solid tumors in children accounting for about 15% of cancer deaths in infants. The most common cause of treatment failure is resistance to chemotherapy and radiotherapy (1); for this reason, it is of utmost importance to consider other therapeutic strategies. Cancer stem cells have the ability to self-renew through activation of multiple signalling pathways, playing a crucial role in cancer propagation, metastasis and recurrence. In this regard, a new therapeutic strategy aims at inducing cell differentiation, a mechanism that leads cancer cells into their ultimate fate, i.e. a particular phenotype that hinders cancer growth, invasion and migration. In the last years, an important correlation between iron and cancer has emerged. Iron is essential for different biological functions, including oxygen delivery and storage, electron transport, DNA synthesis, drug detoxification and other enzymatic activities. Iron demand is usually higher in malignant cancer cells to support division, motility and invasion processes and is fueled by specific expression of the iron trafficking proteins. The main proteins involved in cell and systemic iron homeostasis are: i) Transferrin (Tf) receptor 1 (TfR1), necessary to Tf-bound iron entrance; ii) Ferritin (Ftn), for iron storage; iii) Ferroportin (Fpn), essential for iron export from cells to blood (2). This suggests that targeting iron metabolic pathways might represent an opportunity towards innovative approaches in cancer treatment. Lactoferrin (Lf), an iron-binding glycoprotein of the innate immunity, is emerging as an essential regulator of cell and systemic iron homeostasis. Lf is able to bind two ferric ions per molecule and, in doing so, it can assume an open iron-free form and a closed iron-bound form, namely apo- and holo-Lf, respectively (3). The native form of Lf, produced and secreted in physiological conditions, has an iron saturation rate between 10% and 20%, thus leading to the prevalence of apo- and monoferric Lf and a very low content of diferric Lf. Recently, it has been found that some Lf activities, such as anti-inflammatory (4), antioxidant (5) and anti-tumoral (6) ones, are related to its ability to modulate the proteins involved in iron homeostasis. Lf has been proven to protect against iron disorders by modulating immune response and down-regulating pro-inflammatory cytokines, such as interleukin (IL)-6, in both *in vitro* (3) and *in vivo* (7) models as well as in clinical trials (8). So far, the majority of the *in vitro* and *in vivo* experiments have been conducted by using bovine Lf (bLf), which is a bioequivalent of the human homologue (hLf) (3) and is recognized as a safe substance (GRAS) by the Food and Drug Administration (FDA, USA).

In the light of these notions, the purpose of this project is to test the potential anticancer activity of native and holo-bLf at different concentrations on a murine neuroblastoma model, the N1E-115 cell line. In particular, bLf effects on the neuronal differentiation and on the modulation of IL-6/iron-related proteins' axis will be investigated. Here, we report the preliminary results on neuronal differentiation through the analysis of neurite sprouting and the expression of growth associated protein 43 (GAP43), a specific marker for neurite extension.

First, N1E-115 cells were treated with native and holo-bLf at two different concentrations, 30 µg/ml and 100 µg/ml. Dimethyl Sulfoxide (DMSO), a differentiation inducer, was used at 2% as positive control. Morphological changes were evaluated in a 96 h time course. As reported in Fig. 1, the effects on neurite outgrowth are clearly

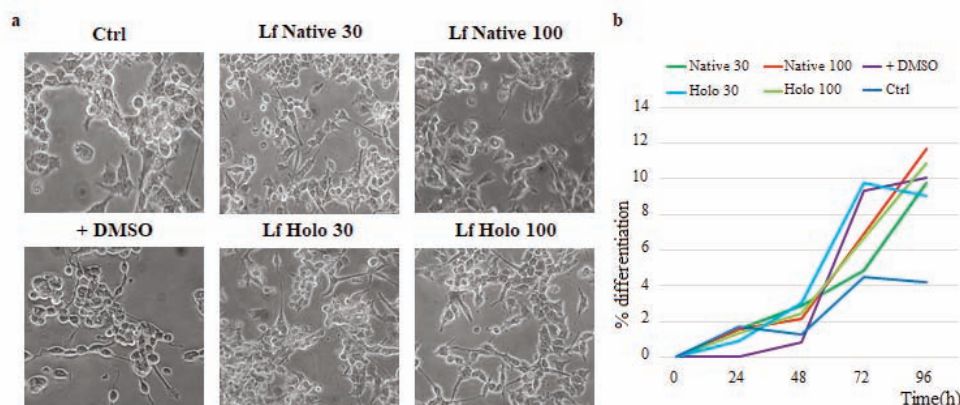


Fig.1 (a) Evaluation of N1E-115 cells' morphology and differentiation upon treatment with 30 and 100µg/ml of both native and holo-bovine lactoferrin (bLf) in 96 h time course. DMSO, inducer of differentiation, is used as positive control. (b) The percentage of differentiation is evaluated as the ratio between differentiated and total cell at 24, 48, 72 and 96 h after each treatment.

visible after 96 h with both native and holo-bLf treatments at any concentrations, when compared to control cells. Differentiation process linearly scales up during time course and in a similar manner upon native and holo-bLf 100 µg/ml treatment, reaching a maximum at 96 h; conversely, the sprouting effect is more visible in holo-bLf 30 µg/ml than in native bLf 30 µg/ml at 72h.

The molecular evaluation of neuritogenesis marker GAP43 shows an increase of this neuron-

specific in all bLf-treated cells after 24 and 48 h (Fig. 2). In particular, GAP43 expression is rapidly up-regulated by both 30 and 100 µg/ml holo-bLf at 24 h, indicating that the iron-saturated form is more efficient in priming this process. However, this preliminary study will need further experimental evaluation to assess the potential role of bLf in this field. In particular, it will be interesting to investigate the expression of the main proteins involved in iron homeostasis and clarify putative the iron-dependence in neuronal differentiation.

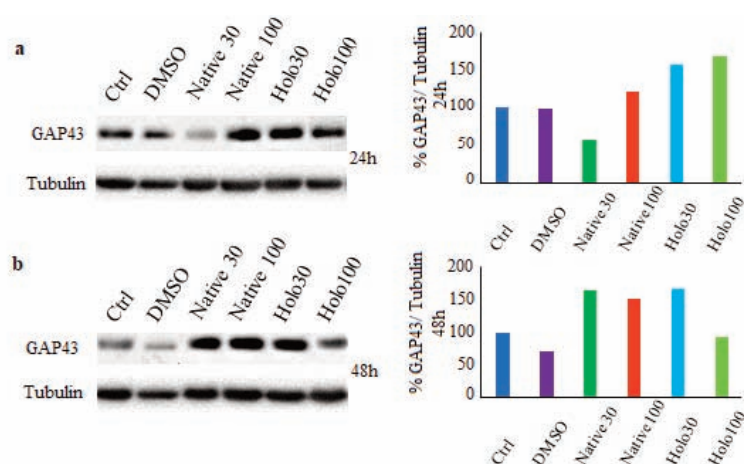


Fig.2 Analysis of differentiation marker GAP43. Western blot and densitometry analysis of GAP43 on total cell protein extracts after 24 (a) and 48 h (b) of treatment with 30 µg/ml or 100 µg/ml of native bLf or holo bLf.

- 1) J.R Park, A. Eggert, H. Caron (2010) Hematol Oncol Clin North Am., 24: 65-86
- 2) G.J. Anderson, D.M. Frazer (2017) Am J Clin Nutr., 106: 1559-1566.
- 3) L. Rosa, A. Cutone, M.S. Lepanto, R. Paesano, P. Valenti (2017) Int. J. Mol. Sci., 18: 1985
- 4) M.S. Lepanto, L. Rosa, R. Paesano, P. Valenti, A. Cutone (2019) Molecules, 24: 1323
- 5) M.S. Lepanto, L. Rosa, A. Cutone, M.J. Scotti, A.L. Conte, M. Marazzato, C. Zagaglia, C. Longhi, F. Berlutti, G. Musci, et al. (2019) Int. J. Mol. Sci., 20: 5666
- 6) A. Cutone, B. Colella, A. Pagliaro, L. Rosa, M.S. Lepanto, M.C. Bonaccorsi di Patti, P. Valenti, S. Di Bartolomeo, G. Musci (2020) Cell Signal., 65: 109461.
- 7) A. Cutone, M.S. Lepanto, L. Rosa, M.J. Scotti, A. Rossi, S. Ranucci, I. De Fino, A. Bragonzi, P. Valenti, G. Musci et al. (2019) Int. J. Mol. Sci., 20: 2128
- 8) M.S. Lepanto, L. Rosa, A. Cutone, M.P. Conte, R. Paesano, P. Valenti (2018). Front. Immunol., 9: 2123

ENVIRONMENTAL DNA AS A PROMISING TOOL TO SURVEY ELUSIVE SPECIES IN HARSH ENVIRONMENTS. A TEST ON OTTERS IN HIMALAYA

P.S. JAMWAL¹, A. BRUNO², M.R. CASIRAGHI², A. GALIMBERTI², A. LOY¹

¹Environmetrics Lab, Dipartimento Bioscienze e Territorio, Università del Molise, Contrada Fonte Lappone, 86090 Pesche, Italy; ²Zooplantlab, Department of Biotechnology and Biosciences, University of Milano-Bicocca, Piazza della Scienza 2, I-20126 Milano, Italy

Knowledge about species presence is fundamental in practical management (1). However, for rare and elusive species, acquiring presence information is not only demanding and time-consuming, but sometimes misleading (1). To overcome the flaws of traditional methods in the detection of species, a potential alternative method, environmental DNA (eDNA), can play a vital role (2). eDNA represents the genetic material present in environmental samples such as water, air, sediment, in the form of whole cells, extracellular DNA and potentially whole organisms (3). eDNA survey can empower the effort of surveys in harsh environments and, at the same time, it can reduce the impact on sensitive species (4). We evaluated the efficacy eDNA method as a tool for the detection of otter presence in Himalayan rivers. India hosts only three otter species, i.e. Smooth-coated (*Lutrogale perspicillata*), Oriental small-clawed (*Aonyx cinereus*) and Eurasian (*Lutra lutra*) (5). Recently *L. lutra* was documented for Indian trans-Himalayan rivers at the most extreme altitudinal limit for this species (6). However, systematic surveys on the otter occurrence in the Trans-Himalayan region are still lacking. In Trans-Himalayas, species documentation and their monitoring are complicated and require a high logistic investment due to topographically challenging and extreme landscapes, and for semiaquatic mammals this implies further difficulties (7). To overcome the deficiencies of traditional surveys, we used eDNA to detect the rare and secretive otters in Trans-Himalayas. We specifically evaluated the efficacy of eDNA approach to detect the occurrence of the Eurasian otter *L. lutra* in five rivers in trans-Himalaya.

eDNA sample collection and processing and eDNA extraction

Samples (n=13) were aseptically collected in sterile bottles (LP Italia) along the rivers Indus and Shyok, Suru, Panamik, and Zaskar in Ladakh. Two litres of water for each sample was filtered by vertical filtration using sterile disposable filter units (Sartorius), characterized by membrane filters with a pore size = 0.2 µm (nitrocellulose membrane filter). To allow field operations, vacuum was generated by a portable hand vacuum pump. All tubing, tubing connections, and containers were sterilized with sodium hypochlorite among samples.

All the instrumentations used, if not disposable, were sterilized prior to each experiment. Pre and post amplification phases were carried out in separate rooms, and every step was conducted in the laminar flow cabinet. eDNA was extracted from the filters using DNeasy® PowerWater® Kit (Qiagen) following the protocol.



Figure 1. Study area

DNA extraction of positive controls (*L. lutra* from Himalayan scats)

DNA from otter scat samples stored dried at room temperature was obtained using DNeasy® PowerSoil® Kit (Qiagen) following the protocol, with minor modifications.

qPCR quantification of *L. lutra* eDNA.

Quantitative Real Time PCR amplification assay (qPCR) was performed with AB 7500 (Applied Biosystem) to quantify *L. lutra* eDNA with species-specific primers (8) and annealing-elongation at 55 °C for 1 min. Positive and negative controls were included in the analysis, as well as external otter-negative samples to ensure primer specificity

Results

Water eDNA of *L. lutra* was quantified for each sample through qPCR amplification of a region of cytochrome b gene. Considering Himalaya samples, 6 out of 13 sampling sites were positive to otter presence, and 7 were

negative. Positive sites were located in the rivers Indus and Shyok while the Suru, Panamik, and Zaskar river did not detect any otter presence.

Conclusion

Our results showed that eDNA survey is a promising tool for the detection of otter for *L. lutra* in extreme habitats such as the river of Himalaya. We reported 15% samples with uncertain results. To subdue such results we recommend sampling a higher amount of water, or a higher number of subsamples might more accurately reflect the presence and absolute amount of eDNA in water. This will increase the detection rate and decrease the false-negatives, improving the overall detection. Further research will be needed to validate the effectiveness of these improvements, and compare results with those derived from traditional surveys

- 1) J.J. Lahoz-Monfort, G. Guillera-Aroita, B.A. Wintle (2014) *Global ecology and biogeography*, 23(4): 504-515
- 2) H.C. Rees, B.C. Maddison, D.J. Middleditch, J.R. Patmore, K.C. Gough (2014) *Journal of Applied Ecology*, 51(5): 1450-1459
- 3) M.A. Barnes, C.R. Turner (2016) *Conservation Genetics*, 17(1): 1-17
- 4) C.S. Goldberg, K.M. Strickler, D.S. Pilliod (2015) *Biological Conservation*, 183: 1-3
- 5) N. Gupta, J.A. Johnson, K. Sivakumar, V.B. Mathur (2016) *IUCN Otter Spec. Group Bull*, 33(1): 33-36
- 6) P.S. Jamwal, J. Takpa, P. Chandan, M. Savage (2016) *Indian Trans Himalayas. IUCN Otter Spec. Group Bull*, 33(1): 79-85
- 7) B.D. Joshi, A. Sharief, V. Kumar, M. Kumar, R. Dutta, R. Devi, R., A. Singh, M. Thakur, L.K. Sharma, K. Chandra (2020) *Global Ecology and Conservation*, 21: e00824
- 8) H.C. Park, T.Y. Han, D.C. Kim, M.S. Min, S.Y. Han, K.S. Kim, H. Lee (2011) *Genes & Genomics*, 33(6): 653-657

MAPPING COASTAL DUNE VEGETATION BY REMOTELY SENSED RAO'S Q TEMPORAL DIVERSITY

F. MARZIALETTI^{1*}, M. DI FEBBRARO¹, M. MALAVASI², S. GIULIO³, A.T.R. ACOSTA³, M.L. CARRANZA¹

¹Envix-Lab, Department of Bioscience and Territory, University of Molise, Contrada Fonte Lappone, 86090 Pesche (Is), Italy; ²Department of Applied Geoinformatics and Spatial Planning, Faculty of Environmental Sciences, Czech University of Life Sciences, Kamycka 129, 165 00 Prague 6, Czech Republic; ³Department of Sciences, University of Roma Tre, Viale G. Marconi 446, 00146 Rome, Italy. * Corresponding author

Land cover/ vegetation mapping is the first step for evaluating landscape structure, integrity and conservation status in order to define sustainable land planning and management strategies (1). Remote Sensing (RS) offers a wide variety of data (e.g. panchromatic, multispectral or hyperspectral images) and methodologies (e.g. photointerpretation, supervised or unsupervised classification, 2, 3) that effectively supports ecosystem mapping. Among the RS automated tools, unsupervised classification groups satellite image pixels based only on spectral features and produces well classified satellite image which clusters are interpreted and labeled by experts (4). Coastal dune landscapes are complex mosaics that develop between terrestrial and marine environments for which ecosystem mapping is still a challenge (5)

We explored the potential of Sentinel 2 imagery and the utilization of Rao's Q multi-temporal diversity for mapping coastal dune vegetation. In particular, we produced an unsupervised vegetation classification of coastal dunes in a representative tract of the Adriatic coasts in central Italy (Molise) using the range and mean values of three relevant monthly indexes: Modified Soil-adjusted Vegetation Index (MSAVI2, 6), Normalized Difference Water Index (NDWI2, 7), Brightness Index (BI2, 8) and the respective Rao's temporal diversity index summarizing their annual behavior.

We built a multi-temporal monthly stack for the year 2019 of Sentinel-2 images atmospherically corrected and free of clouds. We calculated the monthly values of MSAVI2, NDWI2 and BI2 as proxies of vegetation phenological proprieties, water seasonality and percentage of bare soil respectively. We considered the mean values (M_{BI2} , M_{MSAVI2} , M_{NDWI2}), the 10th and 90th percentiles (10^{th}_{BI2} , 10^{th}_{MSAVI2} , 10^{th}_{NDWI2} , 90^{th}_{BI2} , 90^{th}_{MSAVI2} , 90^{th}_{NDWI2}) and their behavior described by the Rao's Q diversity index (Q_{BI2} , Q_{MSAVI2} and Q_{NDWI2} ; 9) of the three indices.

For classification we run an unsupervised algorithm using iterative cycles. Before classifying, we have selected a set of independent variables by performing a collinearity analysis and a Variance Inflation Factor assessment (VIF, 10). For classification, we extracted a set of random pixels in the image (20%), calculated Bray-Curtis dissimilarity (12), and evaluated the optimal number of classes through cluster validity indices (Silhouette index [13], Calinski-Harabasz index [14], Davies-Bouldin index [15]). We computed the multivariate environmental similarity surfaces (MESS), quantifying the similarity of all the pixels respect to the extraction (16). We classified the set of selected pixels on the identified optimal number of classes by Random Forest classifier and we predicted the assignment to these classes of the remaining pixels (80%, [17]). We estimated the performance (*Out-Of-Bag* error) of each classification using again RF. The accuracy of the classifications was assessed through an error matrix and Kappa statistic (K), comparing the results, with the visual interpretation of Google Earth images of 300 random points [18]. The classification was implemented in consecutive cycles (Fig. 1) that stopped when classes present good accuracy values and further divisions drive to a decline of accuracy. Nine vegetation classes resulted from

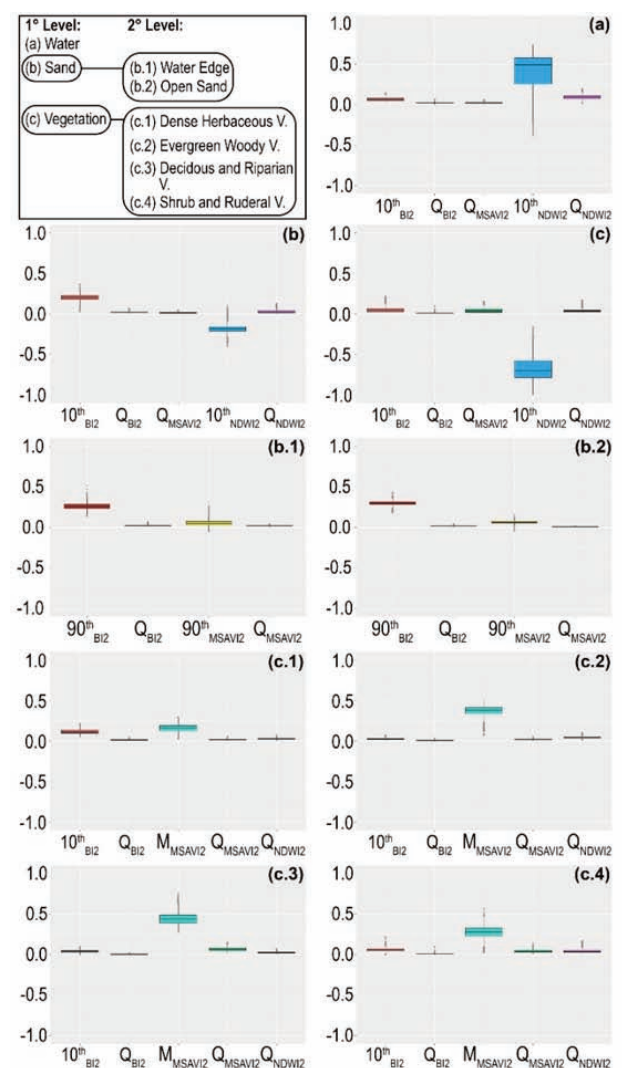


Fig. 1 – a) Example of the obtained map. Classes are reported with numbers. 1: Water and water edge, 2: Open Sand, 3: Dense Herbaceous Vegetation, 4: Evergreen Vegetation, 5: Ruderal Vegetation, 6: Deciduous and Riparian Vegetation; b) boxplots reporting: 10^{th}_{BI} , Q_{BI} , M_{MSAVI} , Q_{MSAVI} , 10^{th}_{NDWI} , Q_{NDWI}

three unsupervised classification runs, and they were organized on two hierarchical levels. The MESS results indicated in all levels similar spectral values between the extracted pixels and all pixels.

The first classification level identified with three coarse classes: Water, Sand, and Vegetation based by the following uncorrelated variables: $10^{th}BI_2$, Q_{BI_2} , Q_{MSAVI_2} , Q_{NDWI_2} , $10^{th}NDWI_2$. The second classification level aimed at splitting the pixels referable to coastal dune ecosystems was run on Sand class and Vegetation class separately. Sand pixels were analyzed based on four uncorrelated variables ($90^{th}BI_2$, Q_{BI_2} , $90^{th}MSAVI_2$, Q_{MSAVI_2}) and split in two classes: Water Edge (WE) and Open Sand (OS). The Vegetation pixels were classified based in five uncorrelated variables ($10^{th}BI_1$, Q_{BI_1} , M_{MSAVI_1} , Q_{MSAVI_1} , Q_{NDWI_1}) into four classes: Dense Herbaceous Vegetation, Evergreen Woody Vegetation, Deciduous and Riparian Vegetation, and Ruderal Vegetation. The performance of all cycles were very high with *Out-Of-Bag* error rate < 0.03 . The accuracy of all levels were high (first level: overall accuracy 96%, K 92%; and the second level: overall accuracy 82%, K 78%). The results indicate the high potential of multi-temporal remote sensed images and specifically the analysis of their temporal behavior using Q Rao's diversity for mapping coastal ecosystems. The selected unsupervised approach could represent effective tool for coastal monitoring. Our proposal implemented on open source data (Sentinel-2 images) and based on automatic classification could be easily extended to different coastal areas.

- 1) R. Díaz-Delgado, R. Lucas, C. Hurford (2017) Springer, 318 pp.
- 2) M. Malavasi, R. Santoro, M. Cutini, A.T.R. Acosta, M.L. Carranza (2013) Landscape and Urban Planning, 119: 54-63.
- 3) F. Marzioletti, S. Giulio, M. Malavasi, M.G. Sperandii, A.T.R. Acosta, M.L. Carranza (2019) Remote Sensing, 11: 1506-1523
- 4) T. Duda, M. Canty (2002) International Journal of Remote Sensing, 23(11): 2193-2212
- 5) A.T.R. Acosta, M.L. Carranza, C.F. Izzi (2009) Biodiversity and Conservation, 18: 1087-1098
- 6) J. Qi, A. Chehbouni, A.R. Huete, Y.H. Kerr (1994) Remote Sensing of Environment, 48: 119-126
- 7) S.K. McFeeters (1996) International Journal of Remote Sensing, 17(7): 1425-1432
- 8) R. Escadafal (1993) Remote Sensing Reviews, 7: 261-279
- 9) D. Rocchini, M. Marcantonio, C. Ricotta (2017) Ecological Indicators, 72: 234-238
- 10) C. F. Dormann, J. Elith, S. Bacher, C- Buchmann et al. (2013) Ecography, 36: 27-46
- 11) J. Elith, M. Kearney, S. Philips (2010) Methods in Ecology and Evolution, 1: 330-342
- 12) J. R. Bray, J. T. Curtis (1957) Ecological Monographies, 27: 325-349
- 13) L. Kaufman, P.J. Rousseeuw (1990) John Wiley & Sons, 342 pp.
- 14) T. Calinski, J. Harabasz (1974) Comm. Stat. Theory Methods 3(1): 1-27
- 15) D. Davies, D. Bouldin (1979) IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence. PAMI 1(2): 224-227
- 16) J. Elith, M. Kearney, S. Philips (2010) Methods in Ecology and Evolution 1: 330-342
- 17) L. Breiman (2001) Machine Learning, 45: 5-32
- 18) R.G. Congalton, K. Green (2009) CRC Press Taylor & Francis Group, 183 pp.

PRELIMINARY INVESTIGATIONS OF THE BACTERIAL COMMUNITIES ASSOCIATED WITH BLACK SUMMER TRUFFLE (*T. aestivum* Vittad.) IN MOLISE REGION

P. MONACO¹, M. TOUMI², G. SFERRA¹, E. TÓTH², G. NACLERIO¹, A. BUCCI¹

¹University of Molise, Department of Biosciences and Territory, Contrada Fonte Lappone, 86090 Pesche (IS), Italy; ²ELTE Eötvös Loránd University, Department of Microbiology, Pázmány P. sétány 1/C, H-1117 Budapest, Hungary.

Molise region is one of the Italian richest areas of truffles (*Tuber spp.*), which are ectomycorrhizal hypogeous fungi highly sought after on the food market due to their organoleptic properties (1,2). However, little information is available on truffles from Molise, compared to truffles from other Italian regions.

Truffles are colonized by a complex microbial community of bacteria, yeasts and guest filamentous fungi. Bacteria can be found in inner and outer parts of truffle with densities ranging from a million to a billion cells per gram of fruiting bodies (dry weight). They seem to be selected from the soil microbial communities during the early stage of truffle formation and could play an important role in the development, growth and nutrition of fruiting bodies (3,4). Moreover, they contribute to truffle aroma through the production of volatile organic compounds (VOCs) (1,3-5).

Accordingly, the main purpose of this research was to characterize the bacterial communities associated with *Tuber aestivum* Vittad. fruiting bodies collected from natural truffle grounds in the municipality of Vastogirardi (Isernia), as an initial step for a further and deepened characterization of Molise truffle (6).

In detail, the microbial communities of six ripe ascocarps and six soil samples, collected under the fruiting bodies, were analyzed through 16S rRNA gene sequencing and bioinformatics analyses.

Overall, important differences were found between soil and truffle groups (14 phyla were identified with significantly different relative abundances between the two habitats) even though a significant heterogeneity of ascocarp microbiota has also been detected.

Principal Coordinate Analysis (PCoA) revealed that the truffle microbial communities varied from those of the soil (Fig. 1).

The rarefaction curves obtained by using Shannon and Chao1 indices for each sample highlighted a greater microbial diversity in soil samples compared to the *Tuber aestivum* fruiting bodies and differences among samples of the truffle group in terms of α -diversity. Most likely, a specific recruitment of bacteria from soil to ascocarps occurs during the truffle formation (3,7) and then local-specific factors play an important role in determining the differences among the fruiting bodies.

When analyzing the bacterial community composition on the whole, the main phyla retrieved in the investigated summer black truffles were *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* and *Firmicutes*, in agreement with previous researches (1,4,5). In soil samples, the most abundant phyla were *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Chloroflexi*, and *Bacteroidetes*.

To identify the core taxa retrieved in the soil and truffle habitats, bacterial genera were analyzed for their presence or absence in each sample; the related Venn diagram highlighted a high percentage ($\approx 75\%$) of shared genera, whereas other genera were unique in soil and truffle ($\approx 17\%$ and $\approx 8\%$, respectively). Actually, even though it seems that truffle could host peculiar bacterial communities including taxa absent in soil, those genera retrieved only in the truffle group were not found in all the analyzed six ascocarps and were often present at very low relative abundances.

In order to have an insight on the relevance and impact of cross-habitat associations between species, three microbial networks were generated for soil and truffle communities both separately and taken together, based on correlation between species abundances (Fig. 2). The topology was investigated in order to identify the most significative features of each network and keystone species relevant for their structures and organizations. The network analysis performed to elucidate the interactions between microbial taxa showed a higher robustness of the system when microbial communities were examined as a whole rather than individually. To this greater stability contributed bacterial taxa more strictly related both to one and to the other habitat, indicating complex connections

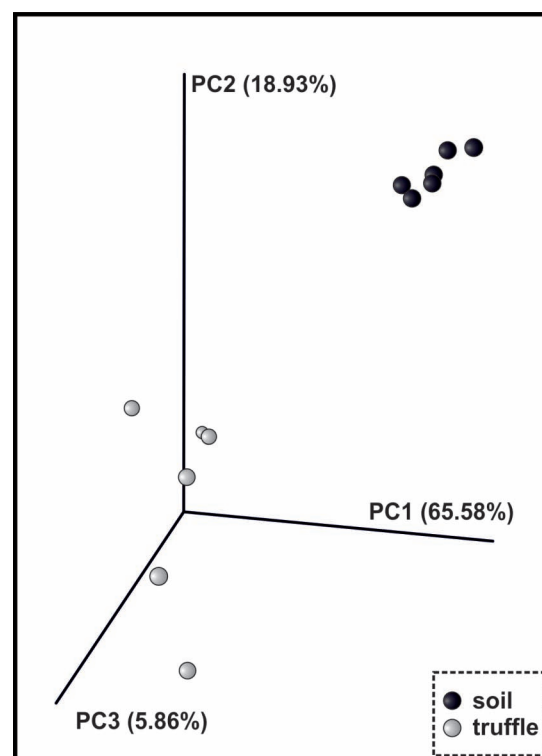


Fig. 1 - Principal Coordinate Analysis (PCoA). Plot was generated using weighted UniFrac distance matrix. Soil (black spheres) and truffle (grey spheres) samples are shown.

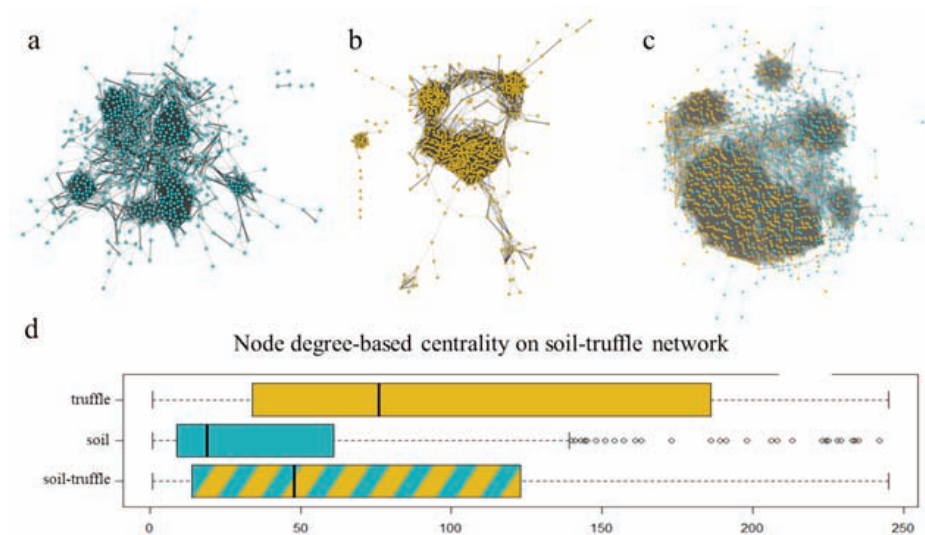


Fig. 2 - Networks representing microbial communities from soil habitat (a), from truffle habitat (b) and from combined soil and truffle habitats (c). Each node represents a species and node colour is related to the habitat the species belongs to (blue for soil habitat and yellow for truffle one). Edges (lines) between nodes represent a significant correlation between the abundances of the species connected by. Edge width is proportional to the significance of correlation between species. Networks are plotted by Organic layout in Cytoscape. (d) Species identified in the truffle habitat have a higher connectivity (measured by node degree centrality) than species identified in the soil habitat (respectively blue and yellow boxplots). The network derived from abundances combined from species identified in soil and truffle habitats has a connectivity lower respect the only truffle component and higher respect the only soil component (striped boxplot).

among species that could somehow determine and maintain the equilibrium of this peculiar ecosystem.

The full comprehension of the role of bacteria in mycorrhization process and their contribution to the development of specific traits in truffles as well as of the factors that drive the establishment of specific microbial communities in the ascocarps, could have a significant impact on truffle industry, mainly at regional scale: for the detection and identification of specific quality marks in the foodstuff (product promotion) and also for the improvement of cultivation techniques in artificial grounds.

- 1) G.M.N. Benucci, G.M. Bonito (2016) Microbial Ecology, 72: 4-8
- 2) F. Vita, C. Taiti, A. Pompeiano, N. Bazihizina, V. Lucarotti, S. Mancuso, A. Alpi (2015) Scientific Reports, 5: 12629
- 3) R. Splivallo, A. Deveau, N. Valdez, N. Kirchhoff, P. Frey-Klett, P. Karlovsky (2015) Environmental Microbiology, 17: 2647-2660
- 4) M. Vahdatzadeh, A. Deveau, R. Splivallo (2015) Applied and Environmental Microbiology, 81: 6946-6952
- 5) L. Ye, Q. Li, Y. Fu, P. Sourzat, H. Tan, J. Zou, B. Zhang, X. Li (2018) Mycological Progress, 17: 833-840
- 6) P. Monaco, M. Toumi, G. Sferra, E. Tóth, G. Naclerio, A. Bucci (2020) Annals of Microbiology (accepted for publication)
- 7) S. Antony-Babu, A. Deveau, J.D. Van Nostrand, J. Zhou, F. Le Tacon, C. Robin, P. Frey-Klett, S. Uroz (2013) Environmental Microbiology, 16: 2831-2847

FLORISTIC DIVERSITY AND COMPARATIVE MICROMORPHOLOGICAL STUDY OF FAMILY AMARANTHACEAE MEMBERS INHIBITED IN PAKISTANA. NOORHUSSAIN¹, D. IAMONICO², P. FORTINI¹¹Department of Bioscience and Territory, University of Molise, Via Hertz, Pesche (IS), Italy; ²Faculty of Architecture “Sapienza”, University of Rome, Italy.

Amaranthaceae Juss. (Caryophyllales Juss. ex. Berchtold & J.Presl) is a family comprising 79 genera and approximately 800 species with worldwide distribution (1,2).

Taxonomy of Amaranthaceae is critical and various issues remain still opened. This family belongs to the Caryophyllids clade and it is related to Caryophyllaceae Juss., Achantocarpaceae Heimler, and Chenopodiaceae Vent. (1). The molecular data showed that both Caryophyllaceae and Achantocarpaceae are well separated, while the clade Amaranthaceae/Chenopodiaceae is still unresolved (see e.g., 1,3,4). APG classifications (5-8) broadly circumscribed the Amaranthaceae/Chenopodiaceae clade, recognizing a single family (named Amaranthaceae), while other authors (e.g., 2) preferred to maintain separate the two families only accepting the Polycnemoideae Ulbr. under Amaranthaceae against Chenopodiaceae and this choice was subsequent followed by many authors. The flora of Pakistan includes 11 genera and 32 species of Amaranthaceae mostly herbaceous and distributed throughout the country occupying both natural and human-made habitat, e.g. agricultural lands, pastures, rangelands, waste areas and fence-rows (9,10).

As for other countries throughout the world, several members of Amaranthaceae are extensively used ethnobotanically in Pakistan, e.g. as food, medicine, forage, and fuel (see e.g., 9).

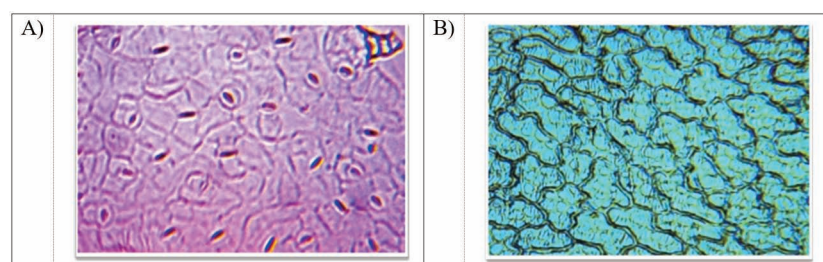
The main aim of the present study was to investigate micromorphology of leaves and pollen grain of some Amaranthaceae occurring in Pakistan. Specifically, 17 species belonging to 10 genera have been studied (Table 1) using light microscopy and SEM during the period (2015-2017).

Concerning the leaves, the following characters were examined: type of stomata, trichomes (unicellular, multicellular, or capitate), and shapes of epidermal cells (polygonal or irregular). As regards the pollen grains, size, shape, and ornamentation were observed.

The highest number of stomata was observed in *Digera muricata* (L.) Mart. (55 stomata per unit area) whereas lowest number occurs in *Amaranthus spinosus* L. (2 stomata per unit area) (Fig. 1).

Tab. 1 – List of the species of Amaranthaceae studied.

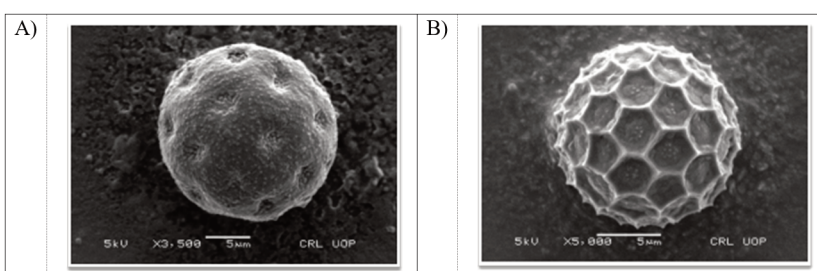
<i>Achyranthus aspera</i> Linn.	<i>Celosia cristata</i> L.
<i>Achyranthus bidentata</i> Blume	<i>Digera muricata</i> (L.) Mart
<i>Amaranthus grecezens</i> L.	<i>Gomphrena celosioides</i> Mart.
<i>Amaranthus hybridus</i> L.	<i>Dysphania ambrosioides</i> (L.) Spach
<i>Amaranthus spinosus</i> L.	<i>Alternanthera pungens</i> Kunth
<i>Amaranthus viridis</i> L.	<i>Pupalia lappacea</i> (L.) Juss
<i>Atriplex canescens</i> (Pursh) Nutt.	<i>Aerva javonica</i> (Burm.f.) Juss Ex. Schult
<i>Celosia argentea</i> L.	<i>Aerva sanguinolenta</i> (L.) Blume
<i>Alternanthera sessilis</i> (L.) R.Br. ex DC	

**Fig. 1 - Foliar epidermal anatomy of A) *Digera muricata* and B) *Amaranthus spinosus*.**

bidentata Blume, *Celosia argentea* L., *C. cristata* L., *Alternanthera pungens* Kunth, *Aerva sanguinolenta* (L.) Blume, and *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. (Fig. 2). These considered characters were useful to distinguish the examined species.

As a whole, the research highlighted that the micromorphology of the leaves and the pollen grains have a good taxonomic value in the

Pollens of all the species studied are polyantoporate, spheroidal, mesoporous region sparsely to scabrate, densely psilate and spinulose, and with large pores. Two distinct pollen types were recognized based on exine ornamentation, i.e. *Amaranthus viridis*-type and *Gomphrena celosioides*-type (11). The maximum number of pores resulted in *Achyranthes aspera* L. (35 pores), whereas the lowest number ranges up to 10 in *Achyranthes*

**Fig. 2 - Pollen grain of A) *Amaranthus viridis* and B) *Gomphrena celosioides*.**

family *Amaranthaceae*. Obviously, since the relative reduced number of examined taxa, further studies on the unexamined *Amaranthaceae* members are necessary to confirm the evidences found about taxonomy of the family in relationship to the anatomy of leaves and the surface features of pollen grains.

- 1) P. Hernández-Ledesma, W.G. Berendsohn, T. Borsch, S. von Mering, H. Akhiani, S. Arias, I. Castaneda-Noa, U. Eggli, R. Eriksson, H. Flores-Olvera, S. Fuentes-Bazan, G. Kadereit, C. Klak, N. Korotkova, R. Nyffeler, G. Ocampo, H. Ochoterena, B. Oxelman, R. Rabeler, A. Sanchez, B. Schlumberger, P. Uotila (2015) *Willdenowia*, 45(3): 281-383
- 2) D. Iamónico (2018) *Phytotaxa*, 350(2): 147-154. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.350.2.3>
- 3) K. Müller, T. Borsch (2005) *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 92: 66-102
- 4) S.F. Brockington, R. Alexandre, J. Ramdial, M.J. Moore, S. Crawley, A. Dhingra, K. Hilu, D.E. Soltis, P.S. Soltis (2009) *International Journal of Plant Science*, 170: 627-643
- 5) APG (1998) *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 85: 531-553
- 6) APG II (2003) *Botanical Journal of Linnean Society*, 141: 399-436
- 7) APG III (2009) *Botanical Journal of Linnean Society*, 161: 105-121
- 8) APG IV (2016) *Botanical Journal of Linnean Society*, 181: 1-20
- 9) C.C. Townsend (1985) In: R.M. Polhill (ed.) *Flora of Tropical East Africa*. A.A. Rotterdam: Balkema, pp. 1-136.
- 10) L.M. Schwartz (2015) Southern Illinois University Carbondale Open SIUC Thesis dissertations.
- 11) A. Perveen, M. Qaiser (2002) *Pakistan Journal of Botany*, 34: 375-384

LA CONTABILITÀ AMBIENTALE DEI SERVIZI ECOSISTEMICI QUALE STRUMENTO PER MIGLIORARE LA GOVERNANCE DELLE AREE NATURALI PROTETTE: IL CASO STUDIO DI ALCUNE RISERVE NATURALI REGIONALI IN ABRUZZO

M. PALMIERI¹, M. ANGELO¹, A. R. NATALE², D. MARINO¹

¹Università degli Studi del Molise – DIP. Bioscienze e Territorio, c/da Fonte Lappone, Pesche (Isernia); ²IAAP (Istituto Abruzzese Aree Protette); S.S. Adriatica Sud, 87, Fossacesia (Chieti).

L'istituzione delle Aree Naturali Protette (ANP) rappresenta uno strumento indispensabile di conservazione e tutela della biodiversità ed i diversi Servizi Ecosistemici¹ (di seguito SE) che ne derivano. Le ANP contribuiscono a fornire diversi beni e servizi fondamentali per il benessere umano come, ad esempio, la produzione alimentare, la conservazione della biodiversità e dei processi evolutivi, la mitigazione dell'impatto del cambiamento climatico, la protezione dei bacini idrografici, la riduzione dell'erosione del suolo ed il sostentamento di alti livelli di impollinazione naturale. Inoltre alle aree protette è riconosciuto un ruolo chiave per la promozione turistica che può rappresentare un importante fonte di reddito per la popolazione locale contrastando lo spopolamento delle aree interne. La Commissione Europea, attraverso la *European Union Biodiversity Strategy 2020-EU BS (COM (2011) 244 final)*, riconosce l'importanza che rivestono i SE per il benessere umano ed indica agli Stati Membri che i risultati della quantificazione e mappatura dei SE siano integrati in sistemi di contabilità e rendicontazione economica e finanziaria.

In riferimento a tali indicazioni nel seguente contributo si riportano i risultati legati alla sperimentazione di un iter metodologico funzionale a supportare i decisori pubblici nelle attività di pianificazione e di programmazione volte alla conservazione ed allo sviluppo socio-economico delle ANP. Nello specifico l'approccio adottato prevede da un lato la stima dei benefici legati alla tutela e conservazione del capitale naturale e dall'altro la valutazione delle performance gestionali delle Riserve Naturali rispetto alla *mission* istituzionale. Quest'ultimo aspetto è fortemente raccomandato a livello internazionale dall'IUCN-WCPA che suggerisce agli enti gestori di dotarsi di strumenti in misurare e valutare il grado di raggiungimento degli obiettivi di gestione. La sinergia operativa tra analisi del SE e valutazione di efficacia consente di migliorare *governance* a tutti i livelli su scala spaziale e temporale.

Approccio Metodologico

L'iter metodologico, sperimentato in quattro riserve Naturali Regionali in Abruzzo (Riserva naturale Regionale Lecceta Torino di Sangro, Riserva naturale Regionale Gole del Sagittario, Riserva Natural Regionale Calanchi di Atri e Riserva naturale Regionale Mone Genzana Alto Gizio), è suddiviso nei seguenti step:

- 1) *Analisi degli obiettivi e dei risultati attesi delle Riserve naturali in relazione all'art. 27 LR 38/96* al fine di illustrare i risultati ottenuti e quelli da ottenere e le risorse finanziarie per mettere in atto tutti gli interventi previsti dal Piano di Assetto Naturalistico (PAN).
- 2) *Analisi della spesa delle Riserve naturali* condotta mediante una metodologia (1) di riclassificazione del bilancio consuntivo che ha permesso di individuare le risorse disponibili e verso quali destinazioni economiche sono destinate.
- 3) *Analisi e valutazione dei Servizi Ecosistemici*. Dopo aver individuato i servizi ecosistemici offerti dalle Riserve a partire dai dati di uso e copertura del suolo (*Corine Land Cover*, 2012) è stata effettuata la stima economica applicando dei coefficienti unitari (€/ha) ottenuti da analoghi studi condotti in ambito nazionale (approccio benefit transfer).
- 4) *Monitoraggio e valutazione dell'efficacia di gestione*. Il modello proposto intende misurare e valutare le performance di gestione delle Riserve naturali, in termini di efficacia e di efficienza attraverso l'impiego di specifici indicatori basati sui sistemi di contabilità ambientale di tipo integrato (fisica e monetaria). Tale valutazione si basa sul presupposto che per ognuna delle aree protette siano stati stabiliti degli obiettivi di conservazione e delineate, all'interno dei Piani di Gestione dei siti Natura 2000 e dei PAN, le strategie e azioni finalizzate al conseguimento di tali obiettivi.

Risultati

Per comprendere gli impatti della gestione sul capitale naturale il primo passo è stato quello di ricondurre ciascun intervento e le relative risorse finanziarie, previsti dal PAN, nei diversi SE declinati nella classificazione adottata nel LIFE+ MGN². Ne deriva che le quote maggiori di spesa sono previste per la gestione dei SE di tipo culturale

¹ I servizi ecosistemici sono definiti dal *Millennium Ecosystem Assessment* (2) come i "benefici multipli forniti dagli ecosistemi al genere umano".

² Pogetto *LIFE+ Making Good Natura - Making public Good provision the core business of Natura 2000* - codice LIFE11 ENV/IT/000168

<http://www.lifemgn-serviziecosistemici.eu/IT/home/Pages/default.aspx>.

seguiti da quelli di regolazione (Fig. 1). La riclassificazione del rendiconto finanziario gestionale delle riserve per l'annualità 2018 ha permesso, invece, di comprendere la ripartizione delle spese complessive sostenute dalle quattro riserve che sono destinate principalmente al funzionamento (circa il 67%) con particolare riferimento alla manutenzione (22,73%) ed alle spese per il personale (21,15%). Rilevanti risultano essere anche le spese sostenute per la ricerca scientifica e l'educazione ambientale (poco più del 26%) indirizzate prevalentemente alle attività di fruizione delle riserve (13,22%) (Fig. 2).

La quantificazione e la valutazione dei SE è stata condotta attraverso l'analisi dell'uso e copertura del suolo secondo il programma Corine Land Cover (CLC, 2012) utilizzando il criterio adottato nell'ambito del progetto LIFE+ MGN in cui

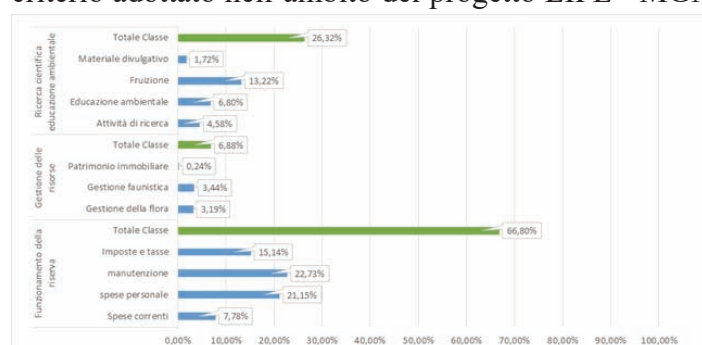


Fig. 2 - Ripartizione percentuale della spesa complessiva per classe e sottoclasse funzionale (2018).

Tab. 1 - Stima dei benefici economici erogati dalle riserve pilota.

Classificazione CICES	Classificazione MGN	Beneficio economico (€)
1.1.1 - Piantе terrestri coltivate per nutrizione, materiali o energia	F2 - Foraggio, pascolo	411.099
1.1.6 - Animali selvatici (terrestri e acquatici) per l'alimentazione, i materiali o l'energia	F3 - Specie cacciabili/pesci	132.815
1.1.2 - Piantе acquatiche coltivate per alimentazione, materiali o energia	F4 - Materie prime (legno, fibre,...)	531.737
1.1.5 - Piantе selvatiche (terrestri e acquatiche) per l'alimentazione, i materiali o l'energia	F5 - Funghi, frutti di bosco, piante commestibili	1.370.653
4.2.1 - Acque superficiali utilizzate per l'alimentazione, i materiali o l'energia	F8 - Acqua potabile	7.451.505
2.2.6 - Composizione e condizioni atmosferiche	R1 - Sequestro del carbonio	212.741
	R2 - Regolazione del clima locale/ purificazione dell'aria	24.131.592
2.2.1 Regolazione dei flussi di base ed eventi estremi	R3 - Regolazione delle acque (ricarica delle falde)	176.286.700
	R5 - Protezione dall'erosione e dissesti geologici (frane, instabilità versanti)	2.130.419
	R6 - Protezione dai dissesti idrologici (piene, inondazioni)	1.998.162.559
2.2.2 - Manutenzione del ciclo di vita, protezione dell'habitat e del pool genico	R9 - Habitat per la biodiversità	3.040.670
3.1.2 - Interazioni intellettuali e rappresentative con l'ambiente naturale	C1 - Valore estetico	903.689
3.1.1 - Interazioni fisiche ed esperienziali con l'ambiente naturale	C2 - Valore ricreativo (ecoturismo, attività all'aperto)	1.973.627
TOTALE		2.216.739.806

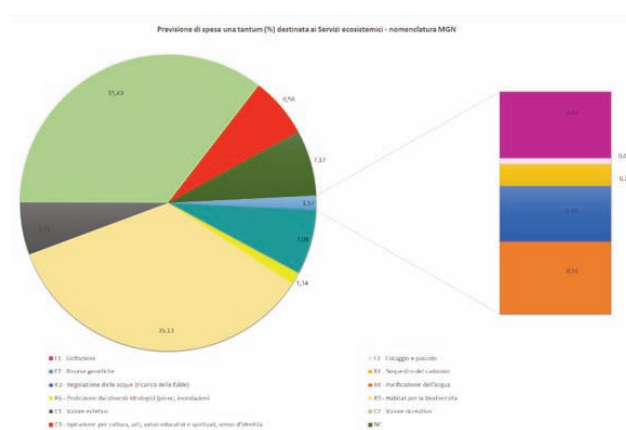


Fig. 1 - Previsione di spesa una tantum destinate ai servizi ecosistemici secondo la nomenclatura MGN. Totale riserve (%).

sono state individuate le potenzialità delle singole Coperture CORINE di fornire diversi SE attraverso un approccio qualitativo (3). Ai SE individuati è stato attribuito un valore economico, in funzione delle coperture CORINE, trasferendo i risultati di analoghi studi in ambito nazionale secondo l'approccio *Benefit Transfer*. Tale approccio ha consentito, infatti, di ricavare dei coefficienti monetari (€/ha) per SE e per copertura Corine. Rapportando tali coefficienti alle superfici di uso del suolo delle riserve si è ottenuta la stima economica dei benefici riportata in tabella 1. Il passo conclusivo è stato quello di valutare l'efficacia di gestione (interna ed

esterna) attraverso l'utilizzo di indicatori fisici di output e di outcome elaborati per ciascun intervento previsto dal PAN. A ciascun intervento è stato attribuito un peso ponderale e il grado di raggiungimento dell'obiettivo che ha portato al calcolo dell'indice di performance (Fig. 3).

Conclusioni

Le politiche di conservazione del capitale naturale devono basarsi su strumenti conoscitivi che consentono al decisore pubblico di attuare interventi per contrastare il declino della biodiversità.

Tra questi la contabilità ambientale è uno strumento che, se attivato a tutti i livelli di scala, consente di raccogliere informazioni di tipo fisico e monetario sullo stato del capitale naturale e SE. I risultati ottenuti in questo studio evidenziano l'importanza che le ANP rivestono per la gestione delle risorse naturali dalle quali dipende il benessere umano. I benefici offerti dai SE delle Riserve Naturali Regionali indagate, superiori a 2,2 Mld di euro, risultano essere maggiori dei costi di gestione: per ogni euro investito vi è un ritorno di circa 6.000 euro. Pertanto, in un'ottica di Analisi Costi-Benefici, l'istituzione delle riserve apporta un incremento di benessere quindi un miglioramento sociale ed ambientale sia a scala locale sia a scala globale. Altro risultato emerso dallo studio riguarda l'efficacia delle politiche di gestione del capitale naturale misurato attraverso il calcolo dell'indice di performance. Tale indice infatti ha permesso di misurare il grado di raggiungimento degli obiettivi di conservazione e di gestione declinati nei PAN che hanno una durata decennale. Le riserve, in particolare, registrano un buon livello di performance dovuto al raggiungimento dei target previsti in relazione all'anno di inizio attività del PAN. Ciò aumenta la consapevolezza sull'operato dell'Ente gestore rispetto a quanto è stato realizzato/prodotto nell'ottica di un miglioramento continuo di gestione. L'implementazione di tale iter metodologico rappresenta uno strumento operativo in grado di migliorare la progettualità delle singole riserve sulla base dell'individuazione dei fabbisogni (in termini di risorse finanziarie e di risorse umane) e di valutare l'efficienza che potrebbe divenire un criterio di premialità per incentivare buone pratiche di gestione.

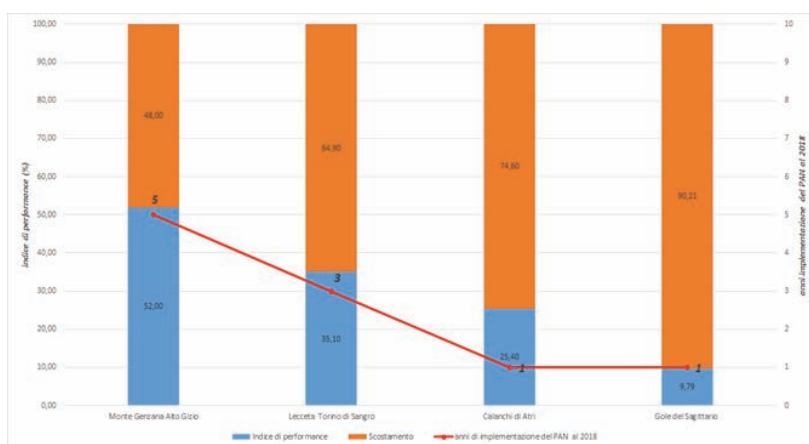


Fig. 3 - Confronto tra indice di performance, scostamento dal target ed anni di implementazione del PAN al 2018.

1) D. Marino, A. Marucci, M. Pasquale (2005) *Estimo e Territorio*, 9, ISSN: 1824-8918.

2) Millennium Ecosystem Assessment (2005) Island Press Washington, DC, 2005, Vol. 5.

3) U. Schirpke., R. Scolozzi, C. De Marco (2013) Report del progetto Making Good Natura (LIFE+11 ENV/IT/000168), EURAC research, Bolzano, p. 43.

VERSO UNA FERTILIZZAZIONE CON PRATICHE DI ARTE CONTEMPORANEA DEGLI STRUMENTI DI GOVERNO DEL TERRITORIO

M. PORSIA

Università degli Studi del Molise; via F. De Sanctis, Termoli (CB).

Il percorso di ricerca proposto in questo articolo ha prodotto incoraggianti esiti riportati nell'elaborato *Il Piano Paesaggistico come Artefatto a Reazione Poietica* (titolo della tesi di Dottorato svolta con la supervisione del Prof. Luciano De Bonis) e in diversi articoli (talvolta scritti a quattro mani) già pubblicati o in testi in fase di lavorazione. Abbiamo ipotizzato che ibridare gli strumenti propri della disciplina di 'governo del territorio' con alcune *pratiche artistiche contemporanee* potesse essere fruttifero al fine di superare, non solo in ambito paesaggistico, i retaggi del pensiero *modernista* che, senza soluzione di continuità, trova ancora oggi una eco nelle consuete pratiche di pianificazione territoriale. È interessante pubblicare questo contributo in questo contesto editoriale perché un elemento determinante per lo sviluppo di questa ricerca è stato il carattere di interdisciplinarietà del Dottorato in Bioscienze e Territorio dell'Università degli Studi del Molise. L'auspicio è che codesto apporto aumenti il carattere di un *ambiente* che partecipa al «(...) panorama contemporaneo, fortemente caratterizzato dall'ibridazione dei saperi e dalla continua necessità di attivare con frequenza sempre crescente nuovi ambiti di ricerca, (...)» che consente «(...) il mutuo sconfinamento dei settori disciplinari (...)» e li interpreta «(...) come una ricchezza, non già come una distorsione» (1). È da notare un generale interesse verso il carattere *ibridatore* e *fecondativo* che un certo tipo di arte contemporanea può dare ad altre discipline. Persino il CERN (European Organization for Nuclear Research) attua dal 2011 programmi di residenza per artisti nel proprio Istituto (Arts@CERN) e il progetto *Collide* proprio per creare, usando un lessico subatomico, una "collisione creativa". Ho creduto inoltre opportuno seguire il consiglio di alcuni ricercatori che invitano, partendo dagli interessi del ricercatore, a favorire «percorsi autonomi di ricerca che nascano dalle esigenze delle singole persone, e aiutare alla formulazione della domanda iniziale di conoscenza che informerà la ricerca (...)» (Decandia, 2004, p. 62)» (2). L'ipotesi che nell'*arte contemporanea* potesse esserci, in qualche angolo, una chiave utile alla finalità iniziale di questa ricerca si è basata su una scelta strettamente legata al ricercatore che in questo caso non solo può utilizzare la propria esperienza in due diversi campi, ma fonde in se stesso – con modestia e molta ansia da prestazione – la figura del ricercatore, del pianificatore, dell'esperto d'arte contemporanea e dell'artista. Ma è interessante sottolineare che già Emilio Sereni, in *Storia del Paesaggio Agrario Italiano*, - un testo miliare per chiunque si occupi di paesaggio - preferì utilizzare un apparato iconografico di opere d'arte anziché *carte* o *mappe* che sarebbero risultate la scelta più logica. L'autore afferma che «(...) è sembrato (...) che una rassegna di fonti iconografiche di tutt'altra origine, qual è quella dell'espressione artistica, potesse (...) fornirci un materiale illustrativo non solo più suggestivo per il lettore, ma anche più pertinente al carattere ed ai limiti della nostra indagine» (3). Molti studiosi concordano che la parola 'paesaggio' sia apparsa per la prima volta in Italia nella lettera d'accompagnamento a uno dei due dipinti inviati da Tiziano Vecellio nel 1552 a Filippo d'Asburgo, il futuro Imperatore Filippo II (4). Qualora fosse così, potremmo considerare la parola 'paesaggio' come un frutto maturato e colto dall'albero dell'arte. Farinelli ci ricorda che già nel *Deutsches Wörterbuch* dei fratelli Grimm (in 33 volumi finito nel 1960) la parola *paesaggio* «serve a designare intenzionalmente la cosa e allo stesso tempo l'immagine della cosa. Vale a dire una parola che esprime insieme il significato e il significante, e in maniera tale da non poter distinguere l'uno dall'altro». (5). Va considerato che «(...) quando due parole sono ravvicinate con frequenza, qualche ragione *reale* del ravvicinamento suol esserci, quasi sempre; quando una quistione risorge con insistenza, per quanto sia posta male e confusamente, bisogna guardarsi dalle risposte facili che sembrano troncare il nodo: in fondo alla quistione mal posta, ci deve essere una difficoltà da scoprire, ch'è il vero motivo inconscio di essa» (6). Se sussiste un legame primigenio profondissimo tra arte e paesaggio è lecito ipotizzare che non si tratti dunque di una mera questione verbale, ma che vi siano state, dal principio, interazioni e una interessante *confusione* tra l'attività artistica e il paesaggio fisico (5) e che anche oggi, fuori dalle vetuste categorie delle *belle arti*, il legame sussista. Il risultato finale della ricerca di dottorato, ovvero che un Piano Paesaggistico possa essere un *artefatto a reazione poietica* è emerso dalla ricerca spontaneamente proprio osservando alcuni specifici processi artistici che fanno capo ad una linea da me definita di *Arte Concettuale immanente*. Nella pluralità delle strade intraprese dalla ricerca artistica contemporanea, un vero groviglio, è stato necessario definire la linea artistica utile nell'analisi proposta. Nell'elaborato finale vi sono alcuni esempi esplicativi in riferimento all'opera di Achille Pace come uno dei padri dello slittamento del *focus* estetico dall'*artefatto* al processo che lo genera (forma in formazione, il *filo* che è condotto, e conduce). Risultano particolarmente chiarificanti le operazioni di artisti quali Francis Alÿs, Joseph Beuys, Lucius e Annemarie Burckhardt, Lawrence e Anna Halprin, Maria Lai ed altri che pongono l'attenzione sull'aspetto co-creativo dell'opera in cui l'artista ha il ruolo di "chiamare alla partecipazione"

elementi biotici e abiotici contribuendo a tessere relazioni, a innescare nuovi processi di trasformazione socio-territoriale o a interagire con processi in atto con un atteggiamento che ho definito ‘enzimatico’. Partendo dal presupposto di una evidente crisi *anche* estetica del territorio risulta necessario e urgente trattare questo tema in un ambiente che spesso glissa le questioni che riguardano la *bellezza*, un terreno troppo scivoloso per inoltrarvisi. Perciò credo sia utile persistere su questa linea di ricerca che vuole “inventare” (nel senso etimologico di *trovare investigando*) i sentieri creativi della pianificazione per raggiungere risultati innovativi nella *pianificazione paesaggistica*, ma anche ad ogni scala di intervento territoriale. Il *paesaggio* è solo recentemente divenuto oggetto di pianificazione, ed ha portato a effetti dirompenti quasi *forzando* le discipline territoriali a delle riflessioni autocritiche nel tentativo già in atto di adottare un approccio complesso tanto che «(...) il percorso degli urbanisti nelle scienze regionali (...)» è ritenuto da Alberto Budoni un’*eccezione* virtuosa «che è riuscita ad intrecciare (...) critica epistemologica e pensiero della complessità che negli anni novanta pose in evidenza l’impossibilità di previsione e controllo dei sistemi urbani, sistemi complessi per eccellenza» (7). Diversi saperi insistono sul paesaggio che si rivela *un poliedro di enigmi e complicazioni* (8) e urge una ricerca che possa *mettere a fuoco* una domanda comune e *fondere* le conoscenze *legandoli* in nuovi *attrezzi-strumenti* di impronta, non più modernista. L’arte riesce in una *reductio ad unicum* di intelligenza logica, emotiva e creativa. Un nodo di riflessione *strutturale* del percorso è il concetto di *percezione* che nella Convenzione Europea del Paesaggio (2000) ha una valenza implicativa. Questa è da considerare non un carattere dato, ma una *capacità affinabile* tramite esperienze estetiche sensoriali e mentali. La proposta di un piano come *artefatto a reazione poetica* ribalta i presupposti dell’urbanistica classica: invece di avere come obiettivo la realizzazione di un progetto che determina e definisce, ha come obiettivo quello di forgiare *dispositivi d’innescio* di processi capaci di aumentare i *gradi di libertà* di un ambiente, aprendolo allo stupore di possibilità imprevedibili. Il processo di pianificazione, considerando l’arte come esperienza (9), può essere esso stesso un processo estetico capace di travolgere la percezione permettendo ogni possibile combinazione dei dati sensibili con esiti imprevedibili. Un così fatto piano può creare i presupposti perché in un determinato ambiente nasca e aumenti, in un processo esponenziale, il *valore creativo territoriale* e si innescino processi intrinsecamente estetici.

1) L. De Bonis (2012) in AA.VV. M. Meini (a cura di), Franco Angeli Editore, 464 pp.

2) V. Totaro (2008) Infolio-21: 8-10

3) V. Sereni (1972) Laterza, 499 pp.

4) A. Roger, (2009) Sellerio, 144 pp.

5) F. Farinelli (1992) La Nuova Italia, 284 pp.

6) B. Croce (2017) Adelphi, 91 pp.

7) A. Budoni (2014) Planum Publisher, Atti della XIV Conferenza Nazionale SIU: 643-648

8) M. Quaini (2006) Diabasis Editore, 284 pp.

9) J. Dewey (2012) Aesthetica Editore, 362 pp.

Fig. 3 - Life form spectrum of endemic taxa of Molise.

and it collects for the first time the available knowledge on plant endemics in the region.

Indeed, effective biodiversity conservation, including endemic plants, depends upon adequate knowledge of plant species distribution.

The endemic *taxa* are key elements for setting national, regional or local conservation priorities and for driving conservation strategies (5). It seems to be really urgent to consider which endemic species are local threatened and where they are located, particularly in the mountain areas (that show to be among the richest in endemic species); mainly in the context of the global climate change, which can be one of the major threats for mountain endemics with restricted altitudinal range.

1) K. Georgiou, P. Delipetrou (2010) *Botanical Journal of the Linnean Society*, 162: 130-422

2) F. Médail, P. Quézel (1997) *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 84: 112-127

3) L. Peruzzi, F. Conti, F. Bartolucci (2014) *Phytotaxa*, 168: 1-75

4) F. Bartolucci et al. (2018) *Plant Biosystems*, 152: 179-303

5) S. Orsenigo et al. (2018) *Biological Conservation*, 224: 213-222

LOTTERIA ITALIA 2019 E NUOVO COVID-19: *FOCOLAI* NUMERICI FORTUNATI E *FOCOLAI* VIRALI INFETTIVI. SONO SOLO CASI?

G. RANALLI

Università degli Studi del Molise, Dip. Bioscienze e Territorio, C.da Fonte Lappone, Pesche (IS).

Oggetto del presente contributo è l'analisi statistico-probabilistica dei dati relativi ai biglietti vincenti dell'estrazione finale della Lotteria Italia 2019, avvenuta in data 06 gennaio 2020, a cura del Ministero delle Finanze. I biglietti vincenti comprendono cinque (5) premi di 1° Categoria (5 milioni di euro al primo estratto; 2,5 milioni al secondo; 1,5 milioni al terzo; 1.0 milione al quarto e, infine 500.000 euro al quinto estratto. Venti (20) premi di 2° Categoria da 100.000 euro ciascuno. Infine, centottanta (180) premi di 3° Categoria, da 20.000 euro ciascuno (1). I biglietti totali venduti della Lotteria Italia 2019/2020 ammontano a circa 6,7 milioni per un incasso prossimo ai 34 miliardi.

I biglietti in vendita dal 12/9/2019 sono stati realizzati in base alle seguenti modalità: produzione di venti serie di biglietti cartacei da 500.000 unità, ciascuna contraddistinta con una lettera tra A B C D E F G I L M N O P Q R S T U V Z. Generazione di due serie di biglietti digitali da 500.000 unità ciascuna, identificate con le lettere AA e AB, venduti esclusivamente online attraverso i siti web dei punti vendita a distanza autorizzati già concessionari del gioco a distanza dell'Agenzia delle dogane e dei monopoli ("punti vendita a distanza"). Il prezzo di vendita di un biglietto è di 5,00 euro.

Ogni biglietto della Lotteria Italia pertanto è contraddistinto da una lettera iniziale, seguita da 6 cifre (caratteri alfanumerici) che lo completano. In ogni biglietto risultato vincente, l'attribuzione della lettera e dei numeri avviene mediante il sorteggio automatico da dispositivi informatico-meccanici distinti, separati tra loro, dove ciascuno estratto contribuisce in successione alla definizione finale.

Il caso, definiamolo così in questa fase preliminare di osservazioni, ha voluto che tre biglietti **P 474348**, **P 474343** e **P 474346** di 3° Categoria, quindi da 20.000 ciascuno, siano stati venduti in una stessa ricevitoria, a Ferno, paese di circa 7.000 abitanti, in provincia di Varese.

Il caso, nel caso è che i 3 biglietti abbiano stessa lettera e 5 cifre identiche, **P 47434**- variando solo nella ultima cifra (8, 3 e 6). **Il caso, nel caso, nel caso** è che i 3 biglietti vincenti appartengano allo stesso blocchetto in vendita presso un locale pubblico.

Il caso, nel caso, nel caso, nel caso è che due dei tre biglietti vincenti in oggetto, siano stati estratti in loro sequenza, cioè prima il n° **P 474348** e poi, subito a seguire, in successione il biglietto n° **P 474343**. Incredibile! I risultati di tali casi o – EVENTI – appaiono estremamente sorprendenti, eccezionali, impensabili, imprevedibili, sconcertanti, non comprensibili e pertanto, forse, NON accettabili se riconducibili al solo "caso". Ne è una prova che anche il Codacons (2) abbia espresso perplessità sull'accaduto e abbia inviato una richiesta di verifica della regolarità delle procedure di estrazione al fine di escludere eventuali danni da parte di altri milioni di possessori di biglietti della Lotteria Italia 2020.

Metodi – Il metodo richiede l'applicazione del Calcolo semplice delle Probabilità dei singoli casi-eventi; calcoli compositi delle probabilità dei casi-eventi registrati in addizione tra loro....

Obiettivi – Calcolare la probabilità degli eventi "rari". Un algoritmo può avere memoria degli eventi appena trascorsi? Può influenzare, contagiare gli eventi futuri, in un spazio-tempo definito?

Risultati – Il risultato del calcolo della Probabilità sopra citato, potrebbe ad un numero impressionante per quantità di zeri, cioè un numero alla base e con un esponente negativo elevatissimo. Lasciamo a chi è appassionato di statistica la verifica di queste affermazioni! Peraltro, il fatto che l'evento si sia realmente verificato, non spiega ragionevolmente tuttavia, come si sia potuto realizzare! L'uomo non è perfetto; ogni frutto della propria attività ha in sé quindi questo limite: pertanto, che il risultato di un evento straordinariamente improbabile, seppur avvenuto, sia proprio il prodotto della propria imperfezione?

Discussione - L'analisi preliminare dei dati alfanumerici, delle sequenze temporali, delle probabilità degli eventi relativi ai biglietti vincenti della Lotteria Italia 2019, pur necessitando di ulteriori approfondimenti, mostra fenomeni curiosi (bizzarri) e interessanti. Alcuni eventi registratisi, altamente improbabili, lascerebbero ipotizzare nella dinamica di sorteggio dei premi della Lotteria, in una dimensione spazio-tempo molto limitato (nell'intervallo



Fig. 1 – Biglietto tipo della Lotteria Italia 2019.

di alcune estrazioni), alcuni fenomeni dove il soft pur operando in modalità del tutto casuale, mantenesse quasi una memoria e traccia degli avvenimenti in corso; per descrivere quanto si è verificato, potremmo citare più per attualità, che per similitudine, forme di “contagio” e di “infezione” virale in soggetti umani da Nuovo Coronavirus 2019 (COVID-19); qui, sembra accertato che in uno spazio-tempo correlabile a interconnessioni dettate dalla globalizzazione, il virus “mantenga traccia e memoria” di luoghi, di eventi in tempi più o meno brevi. Pur nella casualità della Lotteria, è come se tra le lettere e numeri già estratti e quelli in procinto di esserlo, vi sia un filo (un *bit*) che li unisca, una scia, capace di originare in definitiva lettere e numeri in alcuni nuovi biglietti così incredibilmente e inspiegabilmente “vicini” da risultare in definitiva “strettamente” vincenti.

Una ipotesi “fantasiosa” potrebbe farci immaginare un “bug”, una disfunzione, una anomalia del sistema informatico durante le estrazioni – es. nell’algoritmo matematico - capace in teoria, di generare solo in modo del tutto casuale “la scelta” delle lettere e dei numeri che via via identificano un biglietto vincente, ma con qualche eccezione in realtà verificatasi. Trovare riscontro a tale ipotesi “fantasiosa” non è né facile, né in linea con gli obiettivi della presente nota; infatti ciò richiederebbe una approfondita e mirata analisi dei sistemi soft da parte di esperti matematici e di sicurezza informatica, con la condivisione e coinvolgimento non trascurabile delle Agenzie ministeriali.

Qui, può essere utile richiamare una celebre frase di Agatha Christie: “*Un indizio è un indizio, due indizi sono una coincidenza, ma tre indizi fanno una prova*”.

Tuttavia, l’art. 192 del Codice di Procedura Penale afferma che: *L’esistenza di un fatto non può essere desunta da indizi, a meno che questi siano gravi, precisi e concordanti.*

In Natura, a quali eventi potremmo paragonare la straordinaria *casualità* riscontrata nelle estrazioni dei già noti biglietti vincenti di 3° categoria della Lotteria Italia 2019?

Alla frequenza di mutazioni in microrganismi: NO

Alla probabilità di individuare 3 granelli di sabbia “imparentati” appartenenti ad una stessa famiglia di 20 individui, in un metro cubo di sabbia costituita da miliardi di miliardi di granelli NON imparentati. SI

Comunque la pensiate, a ciascuno la libertà di approvare o meno i primi risultati emersi.

Vi sollecitiamo a esprimere la vostra opinione e nel fornire ulteriori spunti operativi e/o critici.

Infine, come spunto provocatorio, provate ad immaginare se nella serata finale in diretta nazionale TV, il 6 gennaio 2020, il conduttore televisivo *Amadeus*, avesse dovuto comunicare la sequenza dei 5 biglietti vincenti di 1° Categoria (con 3 biglietti appartenenti al medesimo blocchetto, ecc. ecc. come già sopra descritto), come di seguito:

DIBT - GRS2020									
Premi di 1° CATEGORIA Lotteria Italia 2019									Simulazione 3/2020
N°	SERIE	NUMERI						Note (euro)	Venduto a
1	P	4	7	4	3	4	8	5 Milioni	Ferno (VA)
2	P	4	7	4	3	4	3	2,5 Milioni	Ferno (VA)
3	N	1	2	1	9	4	0	1,5 Milioni	Roma (RM)
4	C	1	2	7	9	2	2	1,0 Milioni	Lucca (LU)
5	P	4	7	4	3	4	6	500.000	Ferno (VA)
								Tot. 8,0 Milioni vinti a Ferno (VA)	

Quanto imbarazzo avrebbe assalito *Amadeus* e l’intero staff RAI e del Ministero delle Finanze?

Quale sarebbe stata l’opinione degli italiani verso la *Dea Bendata* di fronte a tale evento? Quali e quante teorie complottistiche si sarebbero sollevate? Crediamo che vi sia ampio materiale per spunti e riflessioni sulla natura umana, sul destino, sulla fortuna e non solo.

1) Ministero delle Finanze, 2020, Roma.

2) Codacons - Coordinamento delle associazioni per la difesa dell’ambiente e dei diritti degli utenti e dei consumatori.

TOWARD UNDERSTANDING DIFFERENCES IN LATERAL ROOT FORMATION FROM ARABIDOPSIS ROOT IN PRIMARY AND SECONDARY STRUCTURE

A. ROSSI¹, G.S. SCIPPA¹, A. MONTAGNOLI², D. CHIATANTE², C. CAPRARI¹, D. TRUPIANO¹

¹Department of Biosciences and Territory, University of Molise, Pesche (IS), Italy; ²Department of Biotechnology and Life Science, University of Insubria, Varese, Italy.

An important determinant of the architecture of the root system is the branching of the roots through the initiation of new lateral roots. In primary root, the competent pericycle cells are necessary to renew mitotic activity to become founder cells of the lateral root (1,2). The root in the secondary structure is also able to produce new lateral roots in sectors in which the primary tissues (including the pericycle) are released (3). Recently, Chiatante et al. (4) have suggested that only some stem cells in the vascular cambium of the roots are competent to initiate secondary lateral roots, and it is possible that their competence is inherited directly from those competent pericycle cells that were in front of the xylem.

In the present study, candidate *A. thaliana* mutant lines, J0121, a GAL4 Enhancer Trap J0121 that marks the pericycle cells associated with the xylem poles (5); GATA23 and RALF34, are specifically expressed in the pericycle xylem cells, controlling the identity of the cell of the founder of the lateral root, until new lateral root primordium emerges (6,7).

This marker lines were used to specifically mark xylem pole pericycle cells in root primary structure with the aims to: 1. verify by light/confocal microscopy if vascular cambium competence to initiate secondary lateral roots is inherited directly from competent xylem pole pericycle cells.

2. decipher, by tissue/cell “omic” analysis, molecular factors and mechanisms involved in secondary lateral root formation.

The roots of each mutant line were used to study expression patterns and involvement in the formation of the lateral root of the corresponding genes, in primary and secondary structures. In a first phase of experimentation, a series of sections were analyzed using the optical microscope showing, for each line, the achievement of a primary (xylem and pericycle phloem) and secondary (vascular change, secondary phloem and secondary xylem) radical structures. To visualize gene expression patterns in the primary structure, a series of cross-sectional and longitudinal sections were examined by confocal microscopy or GUS test. In a longitudinal section of the root in the primary structure of the mutant line J0121, the GFP marker is clearly visible in the section, which specifically marks the pericyclic cells associated with the xylem poles; while for the secondary structure there is still not enough data available. The GATA23 expression model has been clearly detected in the primary structure towards a xylematic pole where a new primordium of the lateral root begins. On the contrary, an unclear expression pattern was found in the secondary structure. Finally, by analyzing the radial expression model RALF34, no GUS coloring was detected in both primary and secondary structures.

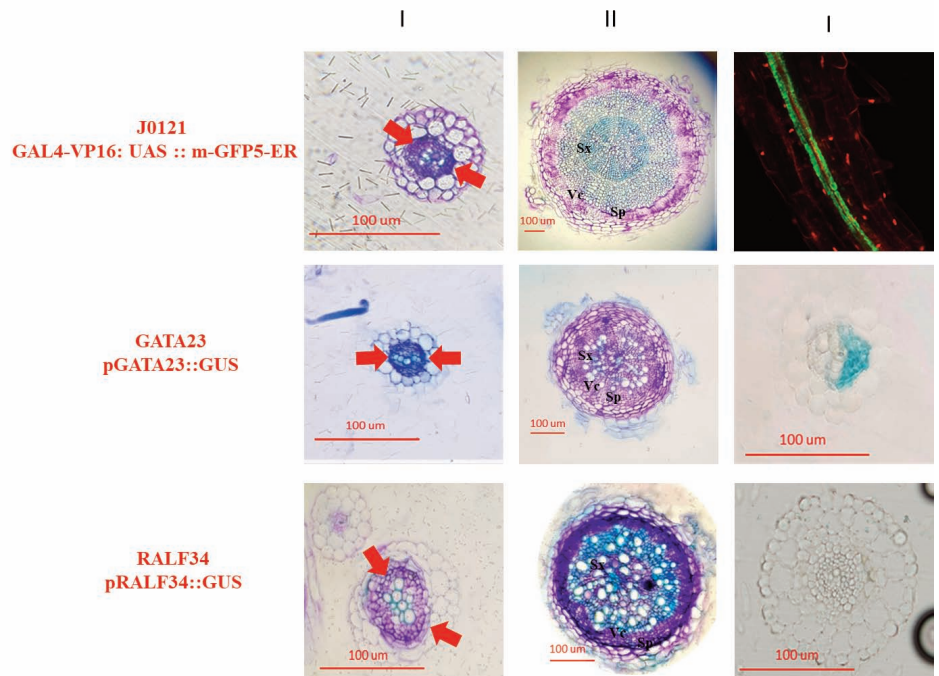


Fig. 1 – The diagram shows the three specific marker lines J0121 (GAL4-VP16: UAS :: m-GFP5-ER), GATA23 (pGATA23 :: GUS) and RALF34 (pRALF34 :: GUS) in the primary (I) and secondary (II) roots structures. The structures are visible both in cross section as regards the primary and secondary structure and cross section as regards the primary.

1) T. Beeckman, I. De Smet (2014) Current Biology, 24(10): 378-379

2) B.K. Möller, W. Xuan, T. Beeckman (2017) Current Opinion in Plant Biology, 35: 1-7

3) L. Dolan, K. Janmaat, V. Willemsen, P. Linstead, S. Poethig, K. Roberts, B. Scheres (1993) Development, 119 (1): 71-84

- 4) D. Chiatante, T. Rost, J. Bryant, G.S. Scippa (2018) *Annals of Botany*, 122: 697–710
- 5) B. Parizot, L. Laplaze, L. Ricaud, E. Boucheron-Dubuisson, V. Bayle, M. Bonke, I. De Smet, S.R. Poethig, Y. Helariutta, J. Haseloff, D. Chriqui, T. Beeckman, L. Nussaume (2008) *Plant Physiology*, 146(1):140-148
- 6) B. De Rybel, V. Vassileva, P. Parizot, M. Emeulenaere, W. Grunewald, D. Audenaert, J. Van Campenhout, P. Overvoorde, L. Jansen, S. Vanneste, B. Moller, M. Wilson, T. Holman, G. Van Isterdael, G. Brunoud, M. Vuylsteke, T. Vernoux, L. De Veylder, D. Inzé, D. Weijers, M.J. Bennett, T. Beeckman (2010) *Current Biology*, 20(19):1697-1706
- 7) E. Murphy, L. Dai Vu, L. Van den Broeck, Z. Lin, P. Ramakrishna, B. Van de Cotte, A. Gaudinier, T. Goh, D. Slane, T. Beeckman, D. Inzé, S.M. Brady, H. Fukaki, I. De Smet (2016) *Journal of Experimental Botany*, 67 (16): 4863-4875

VALUTAZIONE DEL RISCHIO DI INVESTIMENTO PER LA PUZZOLA IN ITALIA

L.F. RUSSO¹, R. BARRIENTOS^{2,3}, M. FABRIZIO¹, M. DI FEBBRARO¹, A. LOY¹

¹Università degli Studi del Molise, Department of Biosciences and The Territory, Contrada Fonte Lappone, 86090, Pesche, Isernia, Italy; ²Road Ecology Lab, Departamento de Biodiversidad, Ecología y Evolución, Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid, E-28040 Madrid, Spain;

³Universidad de Alcalá, Departamento de Ciencias de la Vida, Carretera Madrid-Barcelona, km. 33.6, E-28871, Alcalá de Henares, Spain.

Le infrastrutture stradali hanno un impatto rilevante sulla fauna, in quanto agiscono da barriere per gli spostamenti, frammentano e degradano gli habitat preferenziali delle specie, e determinano una mortalità accidentale a seguito delle collisioni con gli autoveicoli (1-3). I mammiferi carnivori sono tra i taxa che subiscono l'impatto più elevato degli investimenti stradali, a causa della bassa densità di popolazione, bassa fecondità e home range relativamente ampi (4,5). Inoltre i carnivori usano molto spesso le strade per muoversi o come zone di caccia, aumentando la probabilità di essere investiti (6).

La puzzola europea (*Mustela putorius*) è un piccolo mustelide con abitudini notturne diffuso in gran parte del paleartico inserito nell'allegato V della Direttiva Habitat 92/43/CE. Negli ultimi anni questa specie ha subito un declino in gran parte del suo areale a causa dell'alterazione dell'habitat, della diminuzione di prede, della caccia (7), dell'ibridazione con il furetto (8), della competizione con il visone americano (9) e della mortalità stradale (6).

Il nostro obiettivo è stato quello di sviluppare una metodologia in grado di identificare le aree ad alto rischio di collisioni con gli autoveicoli della puzzola in cui concentrare interventi di mitigazione.

Sono stati raccolti 271 dati di presenza e 212 segnalazioni di esemplari investiti su strada all'interno del territorio italiano. I dati sono stati forniti da autorità regionali, ricercatori, associazioni, progetti di Citizen Science (www.inaturalist.org, www.therio.unimol.it:8080/therio/, www.ornitho.it), e raccolti attraverso l'analisi della letteratura.

I siti di collisioni sono stati utilizzati per costruire un modello di rischio di investimento sul territorio Italiano. Il modello è stato costruito utilizzando una serie di variabili che potenzialmente possono influenzare la presenza della specie e influire sulla probabilità di attraversamento delle strade e di investimento, rilevate in un buffer di 50 m intorno ai 212 siti e su 212 siti random selezionati lungo la rete viaria all'interno dell'areale della specie (18). Le variabili considerate includono la tipologia di strada (statale, provinciale, comunale (15)), la distanza dai centri urbani, da fiumi e laghi, la presenza di foreste di latifoglie, pascoli e distese erbose, la potenziale disponibilità di prede e la presenza di aree idonee per la specie.

Per generare una carta delle aree idonee sono stati utilizzati 172 dati di presenza della puzzola ottenuti filtrando le 271 localizzazioni originali con il package di R 'spThin' per ridurre l'autocorrelazione spaziale (10). Per la costruzione del modello sono state considerate 11 variabili: temperatura media annuale (BIO1), intervallo diurno medio (BIO2), stagionalità della temperatura (BIO4), intervallo annuale di temperatura (BIO7), temperatura media del trimestre più umido (BIO8), precipitazioni annuali (BIO12), precipitazioni del trimestre più caldo (BIO18), precipitazioni del trimestre più freddo (BIO19), elevazione, copertura del suolo e idrografia. Sono stati utilizzati sette algoritmi nella piattaforma Biomod2: generalized linear models (GLM), generalized additive models (GAM), generalized boosted models (GBM), classification t analysis (CTA), artificial neural network (ANN), multiple adaptive regression splines (MARS) e random forest (RF). I risultati sono stati mediati combinando i modelli ponderati sui punteggi AUC dei modelli con $AUC \geq 0,70$ (12).

Per definire la disponibilità di prede sono stati combinati i modelli di idoneità dell'habitat di 26 prede potenziali della puzzola forniti dal progetto Rete Ecologica Nazionale (13).

È stata quindi condotta un'analisi di regressione lineare sull'insieme delle 8 variabili rilevate in un buffer di 50 m intorno ai siti di investimento e ai 212 siti casuali lungo la rete viaria, usando una distribuzione binomiale (punti animali investiti vs. punti casuali).

Le variabili incluse nel modello con le migliori prestazioni sono state quindi combinate per una produrre una mappa del rischio stradale con una risoluzione di 100x100 m.

I risultati hanno evidenziato che i siti di investimento sono strettamente associati con i tratti di strade statali che attraversano foreste di latifoglie, mentre la presenza di aree idonee per la specie diminuisce il rischio di

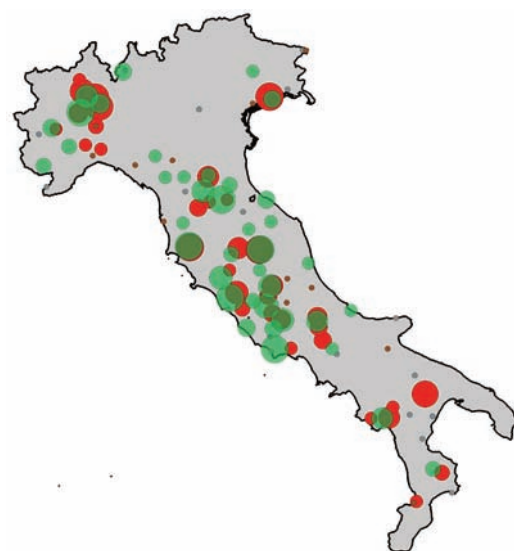


Fig. 1 – Distribuzione delle segnalazioni raccolte, in rosso i dati di roadkills e in verde i dati di presenza.

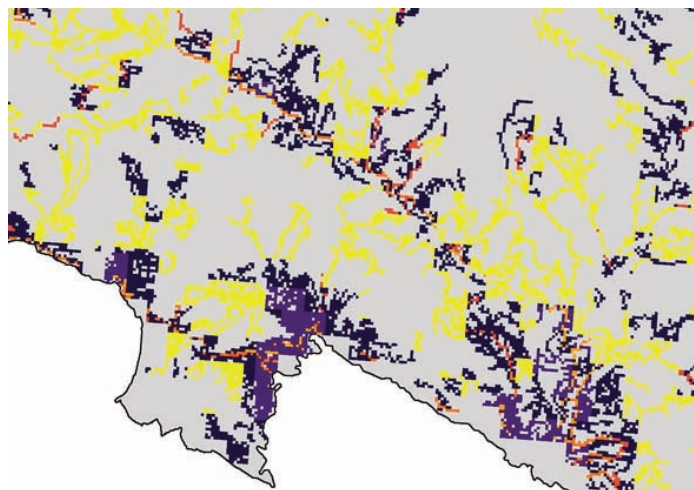


Fig. 2 – Dettaglio della mappa di rischio, i colori chiari rappresentano le zone con maggior rischio di investimento.

investimenti. Se da una parte la relazione significativa tra le strade statali e gli investimenti era già stata rilevata da altri autori (17), l'importanza delle foreste di latifoglie è un nuovo dato che sembra essere correlato alla struttura del paesaggio che favorisce i movimenti e gli attraversamenti di strade ad elevato flusso di traffico e velocità di percorrenza. Questo tipo di vegetazione viene spesso utilizzato dalla puzzola, probabilmente perché la fitta vegetazione fornisce protezione durante gli spostamenti tra aree idonee (14, 16). Inoltre la presenza di foreste lungo le carreggiate potrebbe impedire all'automobilisti di avvistare per tempo eventuali animali in procinto di attraversare la strada, soprattutto durante la notte.

- 1) M. Bhattacharya, R.B. Primack, J. Gerwein (2003) *Biol. Conserv.*, 109: 37-45
- 2) A.W. Coffin (2007) *J. Transp. Geogr.* 15: 396-406
- 3) M. D'Amico, F. Ascensão, M. Fabrizio, R. Barrientos, C. Gortázar (2018) *J. Wildl. Res.*, 64
- 4) A. Ceia-Hasse, L. Borda-de-Água, C. Grilo, H.M. Pereira (2017) *Glob. Ecol. Biogeogr.*, 26: 592-600
- 5) C. Grilo, J.A. Bissonette, M. Santos-Reis (2009) *Biol. Conserv.*, 142: 301-313
- 6) R. Barrientos, L. Bolonio (2009). *Biodivers. Conserv.*, 18: 405-418
- 7) E. Croose, J.W. Duckworth, S. Ruetz, D.V. Skumatov, V.V. Kolesnikov, A.P. Saveljev (2018) *Mammalia*, 82: 550-564
- 8) M. Costa, C. Fernandes, J.D.S. Birks, A.C. Kitchener, M. Santos-Reis, M.W. Bruford (2013) *Mol. Ecol.*, 22: 5130-5147
- 9) R. Barrientos (2015) *Biol. Conserv.*, 186: 28-34
- 10) M.E. Aiello-Lammens, R.A. Boria, A. Radosavljevic, B. Vilela, R.P. Anderson (2015) *Ecography (Cop.)*, 38: 541-545
- 11) W. Thuiller, B. Lafourcade, R. Engler, M.B. Araújo (2009) *Ecography (Cop.)*, 32: 369-373
- 12) M. Di Febbraro, M. Menchetti, D. Russo, L. Ancillotto, G. Aloise, F. Roscioni, D.G. Preatoni, A. Loy, A. Martinoli, S. Bertolino, E. Mori (2019) *Diversity and Distribution*, 25(4): 644-659
- 13) L. Boitani, A. Falcucci, L. Maiorano, A. Montemaggiore (2003) *Animal and Human Biology Department, University of Rome "La Sapienza". Nat. Conserv. Dir. Ital. Minist. Environment, Ist. Appl. Ecol. Rome*
- 14) C. Rondinini, V. Ercoli, L. Boitani (2006) *J. Zool.*, 269: 213-219
- 15) R. Barrientos, J. de Dios Miranda (2012) *Divers. Distrib.*, 18: 635-647
- 16) A. Baghli, R. Verhagen (2003) *Mamm. Rev.*, 33: 57-68
- 17) A.J. Seiler (2005) *Appl. Ecol.*, 42: 371-382
- 18) L.F. Russo, R. Barrientos, M. Fabrizio, M. Di Febbraro, A. Loy (in press) *Diversity and Distributions*.

CARATTERIZZAZIONE TIPOLOGICO-STRUTTURALE DELL'EDILIZIA RESIDENZIALE IN MOLISE

A. SILVESTRI, D. BRUNETTI, C. CALLARI

Università degli Studi del Molise; DiBT, Via De Sanctis, Campobasso (Italia).

Il Progetto CARTIS (abbreviazione di “CARatterizzazione Tipologico-Strutturale a scala territoriale”), nasce nel 2014 dall'accordo-quadro tra DPC e ReLUIS, con l'obiettivo di sviluppare un archivio degli edifici ordinari residenziali presenti in Italia. I dati raccolti in questo database potranno essere utilizzati, fra l'altro, come input per analisi di vulnerabilità sismica a scala territoriale.

A partire dal 2017, al progetto CARTIS partecipa una UR Unimol che ad oggi ha sviluppato la caratterizzazione tipologico-strutturale di Campobasso e di altri nove comuni molisani (Fig. 1) per un totale di abitanti pari al 24% dell'intera popolazione del Molise.

n°	codice ISTAT	Comune	n° comparti	popolazione 2019	anno prima class. sismica	classe sismica	Unità di Ricerca	annualità	stato
1	70006	Campobasso	6	49049	1981	2	UNIMOL	2017	Completato
2	70084	Vinchiaturo	6	3311	1981	1	UNIMOL	2018	Completato
3	70023	Ferrazzano	2	3282	1981	2	UNIMOL	2018	Completato
4	70059	Ripalimosani	3	3084	1981	2	UNIMOL	2018	Completato
5	70008	Campodipietra	3	2472	1981	2	UNIMOL	2018	Completato
6	70003	Bojano	7	8033	1981	1	UNIMOL	2018-19	Completato
7	70004	Bonefro	2	1316	2003	2	UNIMOL	2019	Completato
8	70040	Monacilioni	1	483	1981	2	UNIMOL	2019	Completato
9	70014	Castellino del Biferno	1	555	1935	1	UNIMOL	2019-20	In lavorazione
10	70030	Jelsi	2	1795	1981	2	UNIMOL	2020	In lavorazione
totale:				73380					

Fig. 1 – Dati sui Comuni molisani analizzati dall'Unità di ricerca Unimol.

questa similitudine è spesso la conseguenza di stesse epoche di costruzione. La scheda è composta da n. 4 sezioni: alcune contengono informazioni generali per l'identificazione del Comune e dei comparti, altre sono relative alle tipologie costruttive (muratura o c.a.) e agli elementi strutturali che le caratterizzano.

Inoltre, a partire dall'annualità 2018, e con riferimento alle tipologie murarie, la UR Molise ha anche formulato un metodo empirico per la valutazione di un indice di vulnerabilità sismica, che sfrutta quasi tutte le numerose informazioni presenti nella scheda CARTIS. I metodi disponibili per le stime di vulnerabilità sismica possono essere classificati in funzione della scala presa in esame (dal singolo edificio alla scala territoriale), dei risultati (diretti, indiretti), dei metodi (meccanici, empirici o basati sul giudizio di esperti) o della loro natura quantitativa o qualitativa (3), (6). In tal senso, la metodologia qui proposta può essere classificata come territoriale, empirica, tipologica, indiretta (nei risultati) e quantitativa (nella misura). Essa fornisce un indice di vulnerabilità rappresentativo di una tipologia strutturale muraria, attraverso l'attribuzione di 11 punteggi e dei relativi pesi, mediante la seguente relazione:

$$I_v = \sum_{i=1}^{11} p_i h_i$$

dove p_i è il punteggio assegnato sulla base dell'esperienza ad ogni parametro di vulnerabilità P_i . Il peso h_i è una misura dell'influenza che il parametro P_i ha sulla vulnerabilità globale. Sia i valori dei p_i che dei pesi h_i sono stati determinati, anche mediante accurato confronto con alcuni dei metodi empirici già disponibili in letteratura. Tra questi, come riferimento si sono scelti i seguenti metodi: “scheda di 2° livello GNDT” (5); “Indice delle carenze strutturali gravi” (4); i metodi proposti da Vicente *et al.* (6); Brando *et al.* (1).

Una prima applicazione del metodo proposto (nel seguito indicato come CARTIS-M) ha interessato i caratteri murari del comune di Campobasso. Un confronto fra gli indici di vulnerabilità I_v calcolati con il metodo CARTIS-M e i sopraelencati metodi di riferimento è sintetizzato in Fig. 2. Si osserva che, ad eccezione del “Indice delle carenze...” (4), i metodi considerati forniscono valori molto simili tra loro. È possibile inoltre osservare come le

murature presenti nel “Centro medievale C01” presentino un I_v più elevato rispetto alle tipologie murarie dei comparti con epoche di costruzione più recenti. Si rimanda a (2) per una breve presentazione di come l'indice I_v possa essere utilizzato per il

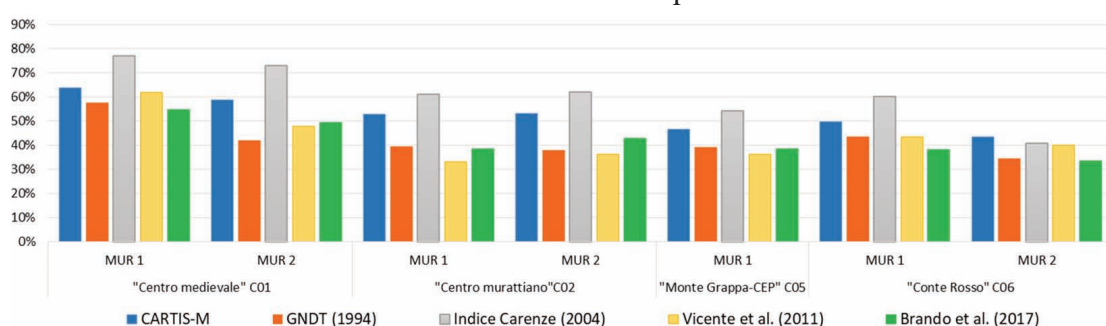


Fig. 2 – Confronto dell' I_v per le tipologie murarie di Campobasso tra il metodo proposto (CARTIS) e altri metodi esistenti.

calcolo del grado medio di danno e per il tracciamento delle relative curve di fragilità.

- 1) G. Brando, G. De Matteis, E. Spacone (2017) *Engineering Structures*, 153: 81-96, Elsevier Ltd.
- 2) D. Brunetti, A. Silvestri, C. Callari (2020) *Atti delle Giornate della Ricerca Scientifica*, Dipartimento di Bioscienze e Territorio, luglio 2020.
- 3) M. Dolce, A. Martinelli (2005) *Progetto SAVE – Task 2 – Inventario e vulnerabilità degli edifici pubblici e strategici dell'Italia centro-meridionale*. Vol. II - Analisi di vulnerabilità e rischio sismico, INGV/GNDT Istituto Nazionale di geofisica e Vulcanologia / Gruppo Nazionale per la Difesa dai Terremoti, L'Aquila.
- 4) M. Ferrini, L. Decanini, A. Pagliuzzi, S. Scarparoloet (2004) *Edifici in muratura in zona sismica rilevamento delle carenze strutturali. Manuale per la compilazione della scheda delle carenze. Regione Toscana.*
- 5) GNDT (2007) *Manuale per il rilevamento della vulnerabilità sismica degli edifici. Istruzione per la compilazione della scheda di 2° livello. Regione Abruzzo. CNR – Istituto per le Tecnologie della Costruzione.*
- 6) R. Vicente, S. Parodi, S. Lagomarsino, H. Varum, J.A.R. Mendes da Silva (2011) *Bull Earthquake Eng*, 9: 1067-1096
- 7) G. Zuccaro, D. De Gregorio, M. Dolce, E. Speranza, C. Moroni (2014) *Manuale per la compilazione della scheda di 1° livello per la caratterizzazione tipologico-strutturale dei comparti urbani costituiti da edifici ordinari. CARTIS 2014.*
- 8) G. Zuccaro, M. Dolce, D. De Gregorio, E. Speranza, C. Moroni (2015) *GNGTS 2015, sessione 2.3.*

ASSISTED PHYTOREMEDIATION OF A FORMER MINE SOIL USING BIOCHAR AND IRON SULPHATE: EFFECTS ON AS SOIL IMMOBILIZATION AND ACCUMULATION IN THREE *SALICACEAE* SPECIES

M. SIMIELE^{1*}, M. LEBRUN^{1,2}, F. MIARD², D. TRUPIANO¹, P. POUPART³, O. FORESTIER³, G.S. SCIPPA¹, S. BOURGERIE², D. MORABITO²

¹Dipartimento di Bioscienze e Territorio, Università degli Studi del Molise, 86090 Pesche, Italy; ²INRA USC1328, LBLGC EA1207, rue de Chartres, University of Orleans, BP 6759, 45067 Orléans Cedex 2, France; ³Office Nationale des Forêts, Pôle national des ressources génétiques forestières, 44290 Guéméné-Penfao, France; *Corresponding author: Dipartimento di Bioscienze e Territorio, Università degli Studi del Molise, 86090 Pesche, Italy. e-mail: melissa.simiele@studenti.unimol.it

Since the intensification of human activities such as mining and the use of pesticides and fertilizers in agriculture, the contamination of soil by metal(loid)s has increased dramatically (1). Arsenic is a highly toxic metalloid, it has been listed as a priority pollutant (2) and it is a major issue for both the environment and the human health (3). Therefore, the remediation of arsenic polluted soils has become an important societal objective. Phytoremediation is a cost-effective and environmentally friendly technology to remediate contaminated sites. Phytoremediation involves growing of plants on a polluted matrix with the intentions of removing, transforming or stabilizing contaminants (4). Among plants that can be used to remediate polluted soils, *Salicaceae* (willows and poplars) are well known as phytostabilizers (5). However, plant establishment and growth on contaminated sites can be difficult due to high metal(loid) concentrations and poor fertility conditions. For these reasons, assisted phytoremediation, which consists in applying soil amendments to ameliorate soil conditions and thus plant growth, is often required. Inorganic or organic amendments can be used in order to allow plant growth. One of these organic amendments is biochar. Biochar, obtained from plant biomass or animal wastes pyrolyzed under minimal oxygen supply, showed beneficial effects on soil properties and plant growth. However, it should be noted that arsenic bioavailability in soils can increase to various extent upon the application of biochar (6). Therefore, to effectively immobilize arsenic upon the application of biochar, iron sulphate can be employed considering its high affinity to arsenic (7). Indeed, iron sulphate, can decrease arsenic mobility and bioavailability through adsorption or surface precipitation mechanisms (8). The combination of biochar and iron sulphate can be a possible strategy to immobilize arsenic while improving soil fertility.

This study focused on a technosol derived from a former tin mine extraction site located in Abbaretz (France) and highly contaminated by arsenic. A 1.5 year open-top mesocosm experiment of assisted phytoremediation was set up under field condition using a combination of biochar and iron sulphate. The study was performed in PVC tubes and three treatments were realized: (i) Abbaretz contaminated soil alone (AB), (ii) Abbaretz amended with 2% biochar added only on the top third of the tube (AB + 1/3 BC) and (iii) Abbaretz amended with 2% biochar added in the all height of the tube (AB + BC). Non-rooted cuttings of three different *Salicaceae* species (*Populus euramericana* clone I45/51, *Salix purpurea* and *Salix viminalis*) were planted in the tubes (Fig. 1). Soil pore water and plant analyses were performed in order to investigate the effect of the two different modalities of biochar amendment application (biochar added on the soil upper layer and biochar addition on all the soil surface) combined with iron sulphate addition on: i) the physico-chemical properties of the contaminated soil and ii) the growth and metal(loid) uptake of the three *Salicaceae* species. Results showed that soil physico-chemical characteristics were improved (acidity decrease, electrical conductivity increase) following biochar addition whereas arsenic mobility in the soil was raised. Even if no diversity was observed between the different biochar application methods at the top of the tubes, differences were shown at the bottom. Indeed, soil pore water pH and electrical conductivity were higher and arsenic concentration was lower when

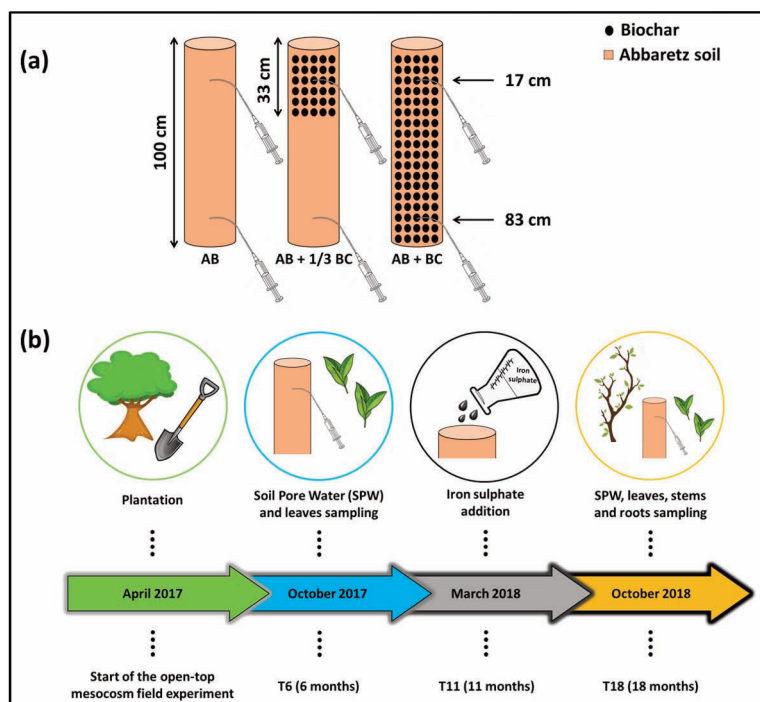


Fig. 1 – (a) Experimental design showing the three treatments placed in tubes. RhizonTM with syringes showed the places where soil pore water was sampled. (b) Experimental schedule with the main activities and the sampling times (months).

the homogeneous soil-biochar mixture was used with respect to the use of biochar on the soil upper layer. Moreover, considering only the two biochar treatments, a better *Salicaceae* growth was shown with the homogeneous application of biochar. However, the three *Salicaceae* species did not grow well on the amended Abbaretz contaminated soil while the non-amended soil allowed their growth. Indeed, the mobility of arsenic in soils increased with the application of biochar and, consequently, this could have led to an increased arsenic uptake to the disadvantage of absorption of nutrient (e.g. phosphorus). Despite high concentrations in metal(loid)s in soil, arsenic tended to be stabilized onto the root system and among the three *Salicaceae* species tested, and in non-amended soil, *S. purpurea* also produced an important aboveground biomass. So, this species can be used as a successful phytostabilization plant to reclaim an arsenic contaminated soil (a soil with the characteristics of the polluted Abbaretz soil), without introducing biochar and/or iron sulphate into the matrix. Our results showed that the effects of biochar, combined with iron sulphate, on soil properties, plant metal(loid) uptake and plant growth depended on the level at which amendment is incorporated to soil, soil and amendment characteristics and plant species.

These results have to be considered in regards to the field application. In more details, biochar could be applied only at the upper 30 cm of the soil for plants with a shallow root system whereas a deeper biochar application (around 1 m) would be needed for plants with a more extended root systems, such as trees. Therefore, further studies are needed to assess: i) the difference between the different ways of applying biochar in field; ii) the combination of biochar and iron sulphate in phytoremediation processes and iii) the mechanisms of interaction involved in plant-bacteria-amendment association in soils contaminated by arsenic.

- 1) K. Hockmann, S. Tandy, M. Lenz, R. Reiser, H.M. Conesa, M. Keller, B. Studer, R. Schulin (2015) Chemosphere 134: 536-543
- 2) USEPA (2015) [http:// water.epa.gov/scitech/methods/cwa/pollutants.cfm/](http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/pollutants.cfm/)
- 3) A.P. Puga, L.C.A. Melo, C.A. de Abreu, A.R. Coscione, J. Paz-Ferreiro (2016) Soil Tillage Res., 164: 25-33
- 4) A.M. Paz-Alberto, G.C. Sigua (2013) Am. J. Clim. Chang., 2: 71-86
- 5) A. Evlard, K. Sergeant, S. Ferrandis, B. Printz, J. Renaut, C. Guignard, R. Paul, J.-F. Hausman, B. Campanella (2014) International Journal of Phytoremediation, 16(11): 1148-1169
- 6) T. Namgay, B. Singh, B.P. Singh (2010) Aust. J. Soil Res., 48: 638-647
- 7) W. Hartley, N.W. Lepp (2008) Sci. Total Environ., 390(1): 35-44
- 8) M. Komárek, A. Vaněk, V. Ettler (2013) Environ. Pollut., 172: 9-22

UNA BUONA PRATICA DEL PROGETTO LIFE CALLIOPE: LA PROPAGAZIONE E L'IMPIANTO DI ECOTIPI LOCALI DI SPECIE DUNALI E DI MACCHIA MEDITERRANEA NELLA COSTA ABRUZZESE

F.P. TOZZI¹, A. DEL VECCHIO², F. IANNOTTA¹, A. STANISCI¹

¹Dipartimento di Bioscienze e Territorio, Università degli Studi del Molise, Via Duca degli Abruzzi 86039 - Termoli (CB); ²Vivaio Forestale Regionale "Le Marinelle", Contrada Marinelle 86038 - Petacciato (CB).

Il Progetto LIFE17 NAT/IT/000565 "CALLIOPE" (Coastal dune hABitats, subLittoraL sandbanks, marIne reefs: cOnservation, Protection and thrEats mitigation) si pone l'obiettivo di proteggere e conservare gli ambienti di duna costiera e di fondale sublitoraneo lungo la costa italiana dell'Adriatico Centrale (Abruzzo) e nordoccidentale di Cipro e di mitigare le minacce antropiche dirette e indirette che insistono in questi habitat, come la pesca di frodo, la rimozione della vegetazione, la presenza e diffusione di specie vegetali alloctone e la mancanza di tutela normativa comunitaria (1).

Gli enti coinvolti sono la Regione Abruzzo, l'Università degli Studi del Molise, l'Università Frederick di Cipro, il Ministero dell'Ambiente e dello Sviluppo Rurale di Cipro e il Centro Italiano di Ricerche e Studi per la Pesca (C.I.R.S.P.E.).

Gli interventi previsti negli ambienti di costa sabbiosa sono finalizzati alla protezione e al recupero degli habitat dunali di interesse comunitario attraverso l'installazione di passerelle in legno per il raggiungimento pedonale della spiaggia e dissuasori per la delimitazione delle dune con vegetazione autoctona, la bioricostruzione delle dune degradate e l'eradicazione di *Acacia saligna*, specie vegetale esotica invasiva presente lungo le coste cipriote (2). Tali attività permettono la riduzione del calpestio diffuso da parte dei fruitori delle spiagge, che causa erosione, frammentazione degli habitat e rarefazione della copertura vegetale, e la riqualificazione ambientale degli ambienti dunali. A questo scopo sono state svolte da parte di Envix-Lab dell'Università del Molise anche attività di propagazione di specie vegetali autoctone per la fornitura di piantine da utilizzare negli interventi di bioricostruzione delle dune, in collaborazione con il Vivaio Forestale Regionale "Le Marinelle" di Petacciato (CB).

In particolare, sono stati raccolti semi e talee e propagati ecotipi locali di specie vegetali native di avanduna (*Ammophila arenaria*, *Elymus farctus*, *Echinophora spinosa*, *Eryngium maritimum*, *Medicago marina*, *Lotus creticus*, *Calystegia soldanella* ed *Otanthus maritimum*) e di macchia mediterranea (*Pistacia lentiscus*, *Myrtus communis*, *Rhamnus alaternus*, *Phillyrea latifolia*, *Cistus creticus*, *Quercus ilex*, *Viburnum tinus* e *Juniperus oxycedrus* subsp. *macrocarpa*), quest'ultime, anche al fine di creare una barriera naturale ai lati dell'accesso retrodunale delle passerelle per favorire l'uso esclusivo delle stesse.

Le attività di propagazione delle specie dunali hanno consentito di creare una sinergia tra i tecnici dell'Università, addetti alla raccolta e alla preparazione del materiale vegetale da propagare (Fig. 1) ed il personale dei Vivai Forestali Regionali del Molise, impegnato nella coltivazione delle specie tipiche degli ambienti mediterranei.

Durante la prima fase si è provveduto all'organizzazione di un evento di formazione con i tecnici dell'Università per il personale del Vivaio Forestale, con l'obiettivo di divulgare gli obiettivi del progetto LIFE CALLIOPE e l'importanza della conservazione in situ e ex-situ delle specie vegetali dunali autoctone.

Successivamente, è stata effettuata la raccolta del materiale vegetale, ovvero semi, rizomi e talee, per la propagazione delle specie di interesse e la produzione delle relative piantine. La raccolta si è svolta in diversi siti idonei in Molise e Puglia, prelevando una quantità inferiore al 20% della

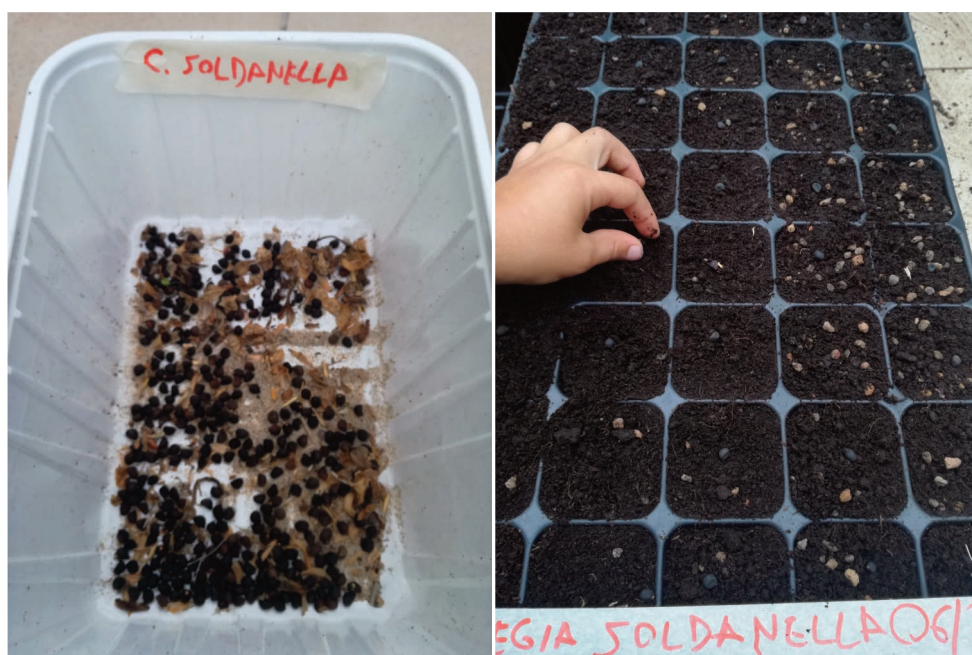


Fig. 1 – Pulizia e semina dei semi di *Calystegia soldanella*.

produzione di semi totali maturi per pianta e per sito secondo il protocollo della Rete Italiana Banche del Germoplasma (RIBES) che segue gli standard internazionali come il “Seed Collecting Manual for Wild Species” elaborato da ENSCONET (European Native Seed Conservation Network), raccogliendo da almeno 50 piante e assicurando un contributo di semi il più possibile da genotipi materni (2). Inoltre, si è provveduto alla georeferenziazione dei punti di prelievo e all’annotazione delle caratteristiche climatiche e ambientali e delle informazioni relative alle piante madri, al fine di preparare un protocollo per la propagazione delle specie coinvolte e la crescita delle relative plantule.

Per ogni specie target è stato raccolto un numero sufficiente di semi, tuttavia per alcune specie si è provveduto anche al prelievo di rizomi e/o talee, al fine di avere maggiori informazioni sul tipo di propagazione più efficiente. In tabella vengono elencate le specie target e il numero di piantine in produzione (Tab. 1).

Tab. 1 - Numero di piantine in produzione per ciascuna specie target.

SPECIE DI AVANDUNA	Nome Scientifico	Nome Comune	Numero piantine in produzione
	<i>Ammophila arenaria</i>	Sparto pungente	1000
	<i>Elymus farctus</i>	Gramigna delle spiagge	1000
	<i>Echinophora spinosa</i>	Finocchio litorale spinoso	300
	<i>Eryngium maritimum</i>	Calcretappola marina	300
	<i>Medicago marina</i>	Erba medica marina	1000
	<i>Lotus creticus</i>	Ginestrino delle spiagge	1000
	<i>Calystegia soldanella</i>	Vilucchio marittimo	500
	<i>Otanthus maritimum</i>	Santolina bianca delle spiagge	300
SPECIE RETRODUNALI	Nome Scientifico	Nome Comune	Numero piantine in produzione
	<i>Pistacia lentiscus</i>	Lentisco	1000
	<i>Myrtus communis</i>	Mirto	1000
	<i>Rhamnus alaternus</i>	Alaterno	500
	<i>Phyllirea latifolia</i>	Ilatro	500
	<i>Cistus creticus</i>	Cisto	1000
	<i>Quercus ilex</i>	Leccio	400
	<i>Viburnum tinus</i>	Viburno	200

La propagazione, la coltivazione e l’acclimatazione delle plantule è avvenuta presso il Vivaio Forestale Regionale “Le Marinelle” dove ci sono condizioni climatiche ed ambientali adatte essendo, tale struttura, collocata in ambiente retrodunale. Questa fase è di notevole importanza prima dell’impianto in natura che avverrà nel periodo autunnale e invernale per beneficiare dei periodi con maggior apporto di piogge e massimizzare così l’efficacia di attecchimento delle piante.

Con la successiva messa a dimora di tali piantine nelle aree target della costa abruzzese sarà possibile contrastare sia l’alterazione della morfologia dunale che la diffusione di specie alloctone e permettere il recupero degli habitat dunali e retrodunali così importanti per la stabilità del sistema costiero (3,4).

La collaborazione tra Università del Molise e i Vivai Forestali Regionali del Molise è di grande rilevanza per la messa a sistema di buone pratiche per la propagazione e la coltivazione di specie native utili ad interventi di riqualificazione ambientale e di ricostituzione di corridoi ecologici fondamentali per il mantenimento della biodiversità degli ambienti costieri adriatici.

1) <https://www.facebook.com/LifeCalliope.it/>

2) M. Scirocco, A.T.R. Acosta, I. Prisco, F.P. Tozzi, A. Stanisci (2020) *Reticula*, 23

3) A.T.R. Acosta, S. Ercole (Eds) (2015) ISPRA, Serie Rapporti, 215/2015.

4) A. Stanisci, A.T.R. Acosta, M.L. Carranza, M. De Chiro, S. Del Vecchio, L. Di Martino, A.R. Frattaroli, S. Fusco, C.F. Izzi, G. Pirone, I. Prisco (2014) *Plant Sociology*, 51: 51-56

QUALI CAMBIAMENTI VEGETAZIONALI SONO AVVENUTI NEI MONTI DEL MATESE NEGLI ULTIMI 10 ANNI?

M. VARRICCHIONE¹, A. STANISCI¹, C. GIANCOLA², V. DI CECCO³, A. STINCA⁴, M.L. CARRANZA¹

¹Dipartimento di Bioscienze e Territorio, Università degli Studi del Molise, C. da Fonte Lappone 86090, Pesche, Italia; ²Giardino della Flora Appenninica Piazza Stanislao Falconi, 3, 86082 Capracotta, Italia; ³Majella Seed Bank, Parco nazionale della Majella, Lama dei Peligni, Italia; ⁴Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche, Università della Campania Luigi Vanvitelli, Via Vivaldi 43, 81100 Caserta, Italia.

Numerosi ecosistemi risultano minacciati in maniera più o meno evidente dagli effetti del cambiamento climatico, e tra quelli maggiormente sensibili ci sono gli ecosistemi altomontani (1,2). Nell'Appennino centrale durante il periodo 1950-2014 è stato registrato un aumento significativo della temperatura media annuale pari a 1,7 °C (3). Gli ecosistemi distribuiti tra il limite superiore della vegetazione arborea (treeline) ed il piano nivale sono caratterizzati da una flora altamente specializzata e ricca di specie endemiche (4-6), ed ospitano numerosi habitat di interesse conservazionistico (allegato I, Direttiva Habitat 92/43/ECC).

L'obiettivo della presente ricerca è stato quello di analizzare i cambiamenti floristici, strutturali e funzionali avvenuti nell'ultimo decennio nelle praterie altomontane del Massiccio del Matese.

Sono stati analizzati i dati di vegetazione raccolti secondo il protocollo GLORIA (GLObal Observation Research Initiative in Alpine environments) che prevede il monitoraggio di aree permanenti nei 4 versanti (E, W, N, S) in due vette del Matese (MAT1 a ca. 1800 m s.l.m. e MAT2 a ca. 2000 m s.l.m.) negli anni 2007 e 2015.

Il Massiccio del Matese rappresenta uno dei principali gruppi montuosi dell'Appennino centro-meridionale, nonché il Sito LTER (Long Term Ecological Research Network, <http://www.lteritalia.it/?q=siti/appennino-centro-meridionale-majella-matese>) di alta quota più meridionale di Italia. Si estende in senso nord-ovest sud-est tra le regioni del Molise e della Campania e presenta vette di altezze modeste, infatti, le più alte sono Monte Miletto (2050 m s.l.m.), La Gallinola (1923m s.l.m.) e Monte Mutria (1923 m s.l.m.) (7). Le praterie altomontane presenti sono costituite in parte da praterie secondarie formatesi dalle secolari ed intensive pratiche silvo-pastorali della zona (pascolo bovino ed ovino). Infatti, il limite superiore del bosco è a stretto contatto con prati-pascolo continui (Alleanza *Phleo ambiguus-Bromion erecti*) o con la vegetazione primaria di rupi e ghiaioni (Alleanze *Festucion dimorphae*, *Saxifragion australis*). Mentre, le vette più elevate, tra i 1800 e i 2000 metri, sono ricoperte da praterie alpine discontinue (Alleanze *Festucion violaceae*, *Seslerion apenninae*).

I dati floristici sono stati sottoposti ad analisi multivariata, attraverso una Principal Component Analysis (PCA), seguita da una Similarity Percentage Procedure (SIMPER) per identificare il contributo di ogni specie alle differenze temporali (2007-2015) e spaziali (tra vette e versanti). Le differenze temporali e spaziali nella struttura e nell'ecologia della vegetazione sono state quantificate attraverso il confronto delle forme biologiche di Raunkier (8) e degli indicatori di Ellenberg (9). Infine, per valutare la presenza di differenze significative è stato utilizzato il Mann-Whitney test.

Dall'analisi dei dati floristici tramite SIMPER si è riscontrato un aumento significativo sul Matese della copertura della specie *Festuca laevigata* subsp. *crassifolia*, specie tipica delle praterie della fascia del limite superiore del bosco. Il confronto tra le due vette a differente altitudine ha evidenziato un cambiamento significativo maggiore

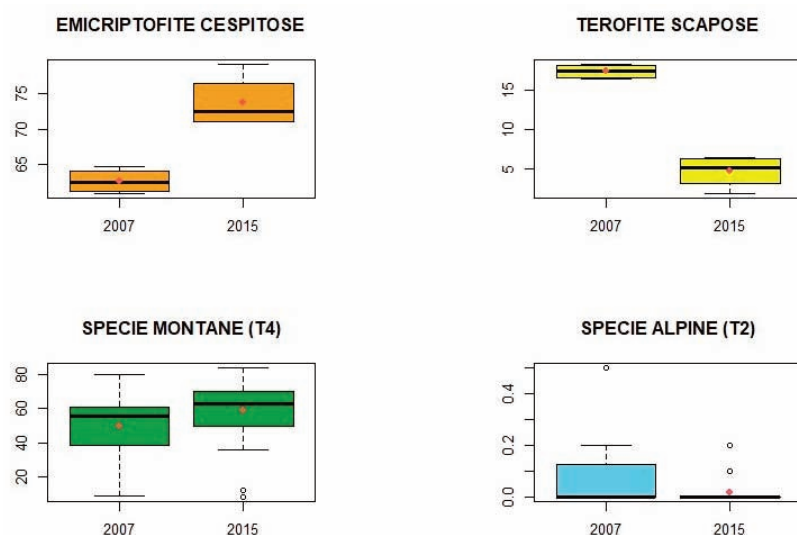


Fig. 1 – Cambiamenti della struttura e della composizione delle praterie altomontane dei Monti del Matese, evidenziati dai box-plots derivati dal Mann-Whitney test effettuato sulle forme biologiche di Raunkier e sugli indici Temperatura di Ellenberg.

nella vetta più bassa (MAT1, 1800 m s.l.m.) e principalmente nel suo versante orientale.

Per quanto riguarda l'analisi delle forme biologiche di Raunkier si è riscontrato un aumento significativo della copertura delle specie Emicriptofite cespitose (H caesp), dal 62,7% del 2007 al 73,7% del 2015; ed una diminuzione significativa delle specie Terofite scapose (T scap) dal 17,4% del 2007 al 4,67% del 2015 (Fig. 1).

Dall'analisi dell'indice di Temperatura di Ellenberg, è emersa una diminuzione significativa della copertura delle specie alpine (T2), passata da 0,52% nel 2007 a 0,01% nel 2015; ed un aumento significativo nel tempo della copertura delle specie montane (T4), passata da 49,8% del 2007 al 58,5% nel 2015 (Fig. 1).

Tendenze simili si sono osservate in altre vette del Mediterraneo (3,10,11) dove sono state associate ai cambiamenti globali, determinati dall'aumento delle temperature e dal cambiamento di uso del suolo (diminuzione della pressione di pascolo).

I risultati ottenuti sono in linea con studi precedenti in ecosistemi di alta quota (e.g. 12) e contribuiscono a migliorare le conoscenze sui cambiamenti ecologici nella vegetazione alpina dell'Appennino centro-meridionale.

- 1) W. Thuiller, S. Lavorel, M.B. Araújo, M.T. Sykes, I.C. Prentice (2005) PNAS, 102(23): 8245-8250
- 2) M. Gottfried, H. Pauli, A. Futschik, M. ... G. Grabherr (2012) Nat. Climate Change, 2: 307-320
- 3) A. Evangelista, L. Frate, M.L. Carranza, F. Attorre, G. Pelino, A. Stanisci (2016) AoB Plants, 8
- 4) A. Stanisci, M.L. Carranza, G. Pelino, A. Chiarucci (2010) Plant Ecol., 212: 595-600
- 5) H. Van Gils, F. Conti, G. Ciaschetti, E. Westinga (2012) Plant Biosyst., 146, sup1: 276-287
- 6) B.Z. Carlson, C.F. Radin, I. Boulangeat, S. Lavergne, W. Thuiller, P. Choler (2013) Alp. Botany, 123: 41-53
- 7) G. Corso, C. Giancola, M.L. Carranza, A. Stanisci (2007) Estimo e Territorio, 5: 29-36
- 8) C.C. Raunkjær (1934) Oxford University Press: Oxford, UK.
- 9) H. Ellenberg, (1974) Scr. Geobot., 9: 7-122
- 10) L. Frate, M.L. Carranza, A. Evangelista, A. Stinca, J.H.J. Schaminée, A. Stanisci (2018) Plant Ecology and diversity, 18(1): 85-96
- 11) H. Pauli, M. Gottfried, S. Dullinger, O. ... G. Grabherr (2012) Science, 336, 353. DOI:10.1126/science.1219033
- 12) M. Rogora, L. Frate, M.L. Carranza, M. ... G. Matteucci (2018) Science of The Total Environment, 624: 1429-1442
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.155>.

Indice degli Autori

Acosta A.T.R.	38	Miard F.	59
Angelo M.	44	Monaco P.	40
Baldacchini C.	13	Montagnoli A.	53
Barrientos R.	55	Morabito D.	59
Berardinelli F.	15	Musci G.	17, 34
Bourgerie S.	59	Naclerio G.	40
Brunetti D.	6, 57	Natale A.R.	44
Bruno A.	36	Noorhussain A.	42
Bucci A.	40	Ottaviano G.	11, 32
Calfapietra C.	13	Pagliani T.	19
Callari C.	6, 57	Pallottini V.	15
Capobianco G.	21	Palmieri M.	44
Caprari C.	53	Porsia M.	47
Caretti G.	15	Poupart P.	59
Carli E.	49	Proietti E.	49
Carranza M.L.	19, 38, 63	Ranalli G.	51
Casiraghi M.R.	36	Ristorini M.	13
Casolare R.	8	Rossi A.	53
Castiglia M.	28	Russo L.F.	55
Chiatante D.	53	Saiz-Ladera C.	22
Chini M.G.	10	Salerno G.	49
Colardo M.	15, 22	Santone A.	8, 21
Colella B.	15, 17, 22	Santucci de Magistris F.	28, 30
Cutone A.	17, 34	Scippa G.S.	53, 59
De Bonis L.	11, 32	Segatto M.	15, 22, 34
de Francesco M.C.	19	Sferra G.	40
Del Vecchio A.	61	Sgrigna G.	13
Diamente S.	26	Silvestri A.	6, 57
Di Bartolomeo S.	15, 17, 22	Simiele M.	59
Di Cecco V.	63	Simoncini S.	32
Di Febbraro M.	26, 38, 55	Stanisci A.	19, 61, 63
Di Giacomo U.A.	21	Stinca A.	63
Di Iorio G.	24	Tonini C.	15
D'Onofrio D.	19	Tóth E.	40
Fabrizio M.	55	Toumi M.	40
Fierro T.	28, 30	Tozzi F.P.	61
Forestier O.	59	Trupiano D.	53, 59
Fortini P.	42, 49	Varricchione M.	63
Frate L.	19	Velasco G.	22
Fuoco C.	22		
Galimberti A.	36		
Garfi V.	13		
Giancola C.	49, 63		
Giangrande F.	32		
Giulio S.	38		
Iamónico D.	42		
Ianiro G.	34		
Iannone G.	22		
Iannotta F.	61		
Jamwal P.S.	36		
La Banca V.	34		
Lebrun M.	59		
Loy A.	24, 26, 36, 55		
Malavasi M.	38		
Marino D.	44		
Martinelli F.	8		
Marzioletti F.	38		
Mastrogiuseppe L.	24		
Mercaldo F.	8, 21		

