

VAnviteLli pEr la RicErca

Relazione di monitoraggio uso risorse VALERE-2017

DiSTABiF

(approvato nel CdD 03/19 del 20 febbraio 2019)

Indice

Attività di ricerca del DiSTABiF	3
Attività RTD-A con risorse VALERE-2017	6
1. Relazione e CV dott.ssa A. Sparago	7
2. Relazione e CV dott.ssa M. T. Gentile	17
Progetti Valere 2017 dedicati agli RTD-A	27
1. Relazione dott. S. Di Maro	28
2. Relazione dott. L. Russo	32
Assegni di Ricerca su VALERE-2017	49
1. Relazione e CV dott.ssa C. Vetromile	50
2. Relazione e CV dott. A. Stinca	68
3. Relazione e CV dott.ssa F. Mottola	111
4. Relazione e CV dott.ssa C. Russo	129
Open access con risorse VALERE-2017	148
Posizioni attribuite al Dottorato di ricerca in Scienze Biomolecolari	184

Attività di ricerca del DiSTABiF

Il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche - DiSTABiF dell'Università degli studi della Campania Luigi Vanvitelli coniuga le competenze nel campo delle scienze biologiche, della tutela e del monitoraggio dell'ambiente e delle sue risorse con le conoscenze all'avanguardia nel campo del farmaco e delle biotecnologie avanzate idonee alla salvaguardia della salute dell'uomo.

Il Dipartimento persegue l'obiettivo di promuovere lo sviluppo di nuove linee di ricerca sulle tematiche d'avanguardia delle relazioni alimenti-salute-ambiente.

Al DiSTABiF afferiscono ad oggi 66 docenti, inquadrati in 32 SSD e appartenenti a 9 diverse Aree CUN. In particolare sono presenti 15 dei 19 docenti dell'Ateneo nell'Area03 (Scienze Chimiche, SSD CHIM/02, CHIM/03, CHIM/06, CHIM/08, CHIM/09, CHIM/10, CHIM/12), e 33 sui 92 presenti in Ateneo nell'area05 (Scienze Biologiche, ssd da BIO/01 a BIO/07, da BIO/09 a BIO/12, BIO/18, BIO/19). I restanti docenti appartengono alle aree CUN delle Scienze Fisiche-Area02 (1 nell'ssd FIS/07), delle Scienze della Terra (3 nei SSD GEO/02, GEO/05 e GEO/08), delle Scienze Mediche-Area06 (6 nei SSD MED/04, MED/08, MED/42, M-EDF/proveniente da MED/49), delle Scienze Agrarie e Veterinarie Area07 (3 nei SSD AGR/05 e AGR/14), dell'Ingegneria industriale e dell'Informazione Area09 (3 nei SSD ING-IND/25), di Scienze Giuridiche Area (1 nel SSD IUS/09).

Tutti i docenti sono impegnati in attività di ricerca nell'ambito delle Scienze e Tecnologie ambientali e delle Scienze Biologiche e Biomolecolari, coniugando le competenze nel campo delle scienze chimiche e biologiche e della bio-medicina con quelle dell'ingegneria chimica, della fisica ambientale, del diritto dell'ambiente, della pedologia e delle scienze della terra.

Tali essenziali competenze multidisciplinari sono oggi necessarie per svolgere in modo moderno e competitivo a livello internazionale ricerca e formazione nei seguenti campi:

- comprensione dei meccanismi molecolari alla base del funzionamento degli organismi viventi;
- tutela e monitoraggio dell'ambiente e delle sue risorse e nuove tecnologie per uno sviluppo sostenibile;
- applicazioni di conoscenze all'avanguardia nel campo del farmaco e delle biotecnologie alla salvaguardia dell'ambiente e della salute dell'uomo.

Coerentemente alle competenze presenti e alle linee di ricerca svolte i docenti del Dipartimento sono impegnati prevalentemente nei Dottorati di Ricerca dell'Ateneo accreditati Scienze Biomolecolari e Ambiente Design e Innovazione.

Al Dipartimento afferiscono i seguenti gruppi e linee di ricerca :

1. Analisi e progettazione di sistemi e tecnologie per il recupero e trattamento di rifiuti
2. Aspetti ambientali ed energetici dell'industria di processo e dei servizi
3. Biochimica degli Alimenti e della Nutrizione
4. Biochimica delle proteine, proteomica e spettrometria di massa
5. Biologia e Fisiologia cellulare
6. Biologia molecolare
7. Biologia vegetale
8. Chimica, struttura e bioattività di sostanze organiche naturali
9. Citogenetica molecolare
10. Drug Discovery: Progettazione, Sintesi e Veicolazione (DSD Lab)
11. ECOlogia e Biodiversità degli Ecosistemi Terrestri (ECOBET)
12. Epigenetica e malattie: meccanismi molecolari, modelli animali e nuove strategie terapeutiche
13. Fisiologia Vegetale
14. Igiene e tossicologia Ambientale

15. Metodologie isotopiche per i beni ambientali, culturali e analisi per la tracciabilità di prodotti alimentari
16. Microbiologia dell'interazione batterio-ospite
17. Monitoraggio e Risanamento delle Risorse Ambientali (MoRRA)
18. Neuropatologia molecolare
19. Struttura e funzione di peptidi, proteine e acidi nucleici

Le attività di ricerca del Dipartimento possono essere prevalentemente inquadrare nei seguenti settori stabiliti dal Consiglio Europeo della Ricerca (Settori ERC).

Life Sciences

- LS1 Molecular and Structural Biology and Biochemistry
- LS2 Genetics, Genomics, Bioinformatics and Systems Biology
- LS3 Cellular and Developmental Biology
- LS4 Physiology, Pathophysiology and Endocrinology
- LS5 Neurosciences and Neural Disorders
- LS6_7 Microbiology
- LS8 Evolutionary, Population and Environmental Biology
- LS9 Applied life Sciences and Non-Medical Biotechnology

Physical Sciences and Engineering

- PE4 Physical and Analytical Chemical Sciences
- PE5 Synthetic Chemistry and Materials
- PE8 Products and Processes Engineering
- PE10 Earth System Science

Attività RTD-A con risorse VALERE-2017

Le due posizioni di ricercatore a tempo determinato di tipo A assegnati al DiSTABIF sui fondi VALERE sono stati destinati ai SSD BIO/18 (Genetica) e MED/04 (Patologia generale) che rispondono alle aggiornate esigenze didattiche e scientifiche del Dipartimento. È da sottolineare che la dott.ssa Sparago ha conseguito l'abilitazione scientifica nazionale alla funzione di professore di seconda fascia e, in seguito a procedura di valutazione comparativa, ricopre attualmente il ruolo di ricercatore a tempo determinato – tipologia B (RTDb) presso il DiSTABiF nel SSD BIO/18.

TABELLA			
N° E RELAZIONI DELLE ATTIVITÀ RTDA CON RISORSE VALERE CON CV DEI CANDIDATI			
Ricercatore	SSD	relazione	CV
dott.ssa Angela Sparago	BIO/18	x	x
dott.ssa Maria Teresa Gentile	MED/04	x	x

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELLA CAMPANIA “LUIGI VANVITELLI”

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali Biologiche e Farmaceutiche

Relazione sull'attività di ricerca relativa allo studio:

i) dei meccanismi genetici ed epigenetici che regolano l'espressione genica in mammifero, con particolare riferimento all'imprinting genomico; ii) dei difetti molecolari nei disordini dell'imprinting nell'uomo e nei modelli animali. L'esecuzione dell'attività di ricerca richiederà l'applicazione di tecniche di analisi allele-specifiche dell'espressione genica, della metilazione del DNA, del legame al DNA di fattori proteici e delle modifiche della cromatina, anche con l'ausilio di tecniche di sequenziamento di nuova generazione (NGS).

Settore scientifico-disciplinare: BIO/18 Ricercatore a Tempo Determinato – Tipologia A dal

2/05/2018 Bando DR767 14/11/2017

Dott.ssa Angela Sparago

L'attività di ricerca è rivolta allo studio dell'imprinting genomico, un fenomeno epigenetico caratteristico dei mammiferi e di grande importanza per il normale sviluppo dell'embrione. I geni imprinted esprimono solo una delle due copie cromosomiche, in maniera dipendente dall'origine parentale della copia stessa. A determinare questa peculiare regolazione dell'espressione genica sono le regioni di controllo dell'imprinting (ICR), segmenti genomici caratterizzati da metilazione del DNA allele-specifica. La regione cromosomica umana 11p15.5 contiene un cluster di geni imprinted dove si riconoscono due regioni di controllo dell'imprinting: ICR1 (oggi denominata *H19/IGF2:IG-DMR*), metilata sull'allele paterno a partire dagli spermatozoi del genitore e poi in tutta la linea somatica dell'individuo figlio, e ICR2 (oggi denominata *KCNQ1OT1:TSS-DMR*), caratterizzata invece da metilazione specifica dell'allele materno, originata negli oociti del genitore e, anche in questo caso, mantenuta in tutta la linea somatica dell'individuo figlio. ICR1 è intergenica rispetto ai geni imprinted che essa regola: *IGF2* e *H19*. ICR2, invece, comprende il promotore di un long-non-coding RNA, intragenico e antisense rispetto al gene *KCNQ1*, noto come *KCNQ1OT1*. Espresso solo sul cromosoma paterno, *KCNQ1OT1* è responsabile del silenziamento della copia paterna di altri geni imprinted fiancheggiati, quali ad esempio *CDKN1C* e *KCNQ1* stesso.

Il nostro gruppo di ricerca da anni studia i difetti di metilazione di ICR1 e ICR2 che ricorrono in circa il 70% dei pazienti affetti dalla sindrome di Beckwith-Wiedemann (BWS), una patologia associata ad alterazioni della crescita corporea (gigantismo e tumori). L'acquisizione di metilazione della copia materna di ICR1, normalmente non metilata, e la perdita di metilazione della copia materna di ICR2, normalmente metilata, sono i difetti epigenetici ritrovati nei pazienti BWS, associati ad alterazione dell'espressione di geni imprinted che svolgono ruoli fondamentali per la crescita embrionale e fetale (*IGF2*, *CDKN1C* e *H19*). Negli anni, il nostro lavoro, applicato ad una coorte di pazienti BWS, ci ha consentito di individuare cause genetiche dei difetti epigenetici e di elucidare i meccanismi di regolazione dell'imprinting genomico nell'uomo. Nell'ambito di questi studi, sono state instaurate collaborazioni con centri clinici di genetica medica nazionali ed internazionali, che hanno incrementato la collezione di pazienti da studiare e contribuito all'analisi della correlazione genotipo-fenotipo (**pubbl.1**).

Recentemente abbiamo individuato varianti patogenetiche di *KCNQ1* associate a completa perdita di metilazione della copia materna di ICR2 e BWS. Aploinsufficienze di *KCNQ1* sono una delle maggiori cause di un'aritmia cardiaca congenita, nota come sindrome da QT lungo (LQTS). Coerentemente con ciò, in questi rari casi con mutazioni di *KCNQ1*, al fenotipo BWS si aggiunge il fenotipo LQTS se trasmesse per via materna. Le stesse mutazioni, trasmesse per via paterna, risultano associate solo con LQTS. Anche attraverso metodiche NGS, abbiamo raccolto evidenze che suggeriscono che queste mutazioni interferiscono con la trascrizione di *KCNQ1* attraverso ICR2 (compresa nell'introne 10). La trascrizione è fondamentale per instaurare la metilazione negli oociti di topo. Il nostro studio conferma per la prima volta nell'uomo questo stesso meccanismo perché

suggerisce fortemente che la mancata trascrizione di *KCNQ1* attraverso ICR2 risulta in una mancata deposizione di metilazione materna negli oociti e BWS nell'individuo figlio (**pubbl. 2**).

Pubblicazioni

1. Cammarata-Scalisi F, Avendaño A, Stock F, Callea M, **Sparago A**, Riccio A. Beckwith-Wiedemann syndrome: clinical and etiopathogenic aspects of a model genomic imprinting entity. Arch Argent Pediatr. 2018 Oct 1;116(5):368-373.
2. Valente FM, **Sparago A**, Freschi A, Hill-Harfe K, Maas SM, Frints SGM, Alders M, Pignata L, Franzese M, Angelini C, Carli D, Mussa A, Gazzin A, Gabbarini F, Acurzio B, Ferrero GB, Bliet J, Williams CA, Riccio A, Cerrato F. Transcription alterations of *KCNQ1* associated with imprinted methylation defects in the Beckwith-Wiedemann locus. Genet Med. 2019 Jan 12.

Caserta, 24 gennaio 2019

Angela Sparago



Curriculum Vitae

Nome e Cognome	Angela Sparago
Luogo e data di nascita	Caserta, 04/11/1977
In servizio presso	Dip.to di Scienze e Tecnologie Ambientali Biologiche e Farmaceutiche Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli" Via Vivaldi 43/V.le Lincoln 5, 81100 Caserta
Attuale qualifica professionale	RTD/B – SSD BIO/18
Telefono	0823 275720
e-mail	angela.sparago@unicampania.it

FORMAZIONE SCIENTIFICA

24 giugno 2002

Laurea in Scienze Biologiche conseguita presso l'Università degli Studi di Napoli "Federico II" con voto 110/110 e lode.

Titolo della tesi: "Caratterizzazione molecolare di pazienti affetti da Incontinentia Pigmenti: studio dello stato di inattivazione del cromosoma X".

18 dicembre 2006

Dottorato di Ricerca - 4 anni in "Progettazione ed Impiego di Molecole di Interesse Biotecnologico" (XVIII ciclo) conseguito presso il Dipartimento di Scienze Ambientali dell'Università della Campania "Luigi Vanvitelli", già denominata Seconda Università degli Studi di Napoli (SUN).

Titolo della tesi in Genetica: "New insights into epimutations associated with Beckwith-Wiedemann syndrome".

POSIZIONI POST-DOC

2006 - 2007

Borsa di studio conferita dal Centro Regionale di Competenza Genomica Funzionale (GEAR). Attività rientrante nella finalità di "Formazione di personale laureato per la ricerca ed il trasferimento tecnologico nel campo della genomica strutturale e funzionale" presso il Dipartimento di Scienze Ambientali dell'Università della Campania "Luigi Vanvitelli", già SUN.

2007 - 2008

Borsa di Eccellenza – 18 mesi conferita dall'Università della Campania "Luigi Vanvitelli", già SUN. Attività di ricerca relativa al progetto "Alterazioni dell'imprinting genomico da eccesso di crescita", presso il Dipartimento di Scienze Ambientali.

- 2009 - 2011** Borsa di studio FIRC – 3 anni. Attività di ricerca relativa al progetto “*IGF2-H19* imprinting defects in human cancer”, presso l’Istituto di Genetica e Biofisica Adriano Buzzati Traverso – CNR di Napoli.
- 2012** Contratto di collaborazione con la Fondazione Telethon relativo al progetto: “Growth disorders and genomic imprinting: genetic defects and molecular mechanisms”. Attività svolta presso l’Istituto di Genetica e Biofisica Adriano Buzzati Traverso – CNR di Napoli.
- 2013 - 2016** Assegno di ricerca – 3 anni conferito dall’Università della Campania “Luigi Vanvitelli”, già SUN. Attività di ricerca relativa al progetto “Influenza dei fattori ambientali sulle modifiche epigenetiche del genoma e conseguenze sulla salute dell’uomo”, presso il Dip.to di Scienze e Tecnologie Ambientali Biologiche e Farmaceutiche e l’Istituto di Genetica e Biofisica Adriano Buzzati Traverso – CNR di Napoli.
- 2016 - 2017** Assegno di ricerca – 1 anno conferito dall’Università degli Studi della Campania “Luigi Vanvitelli”. Attività di ricerca relativa al progetto “Studio di fattori proteici che controllano le modifiche epigenetiche”, presso il Dip.to di Scienze e Tecnologie Ambientali Biologiche e Farmaceutiche.
- 2018** Ricercatore a Tempo determinato, tipologia A (Legge n. 240/2010, art. 24, comma 3, lettera a)) presso il Dip.to di Scienze e Tecnologie Ambientali Biologiche e Farmaceutiche, per il Settore Scientifico-Disciplinare BIO/18 (Genetica).
- 2019** Ricercatore a Tempo determinato, tipologia B (Legge n. 240/2010, art. 24, comma 3, lettera b)) presso il Dip.to di Scienze e Tecnologie Ambientali Biologiche e Farmaceutiche, per il Settore Scientifico-Disciplinare BIO/18 (Genetica).

ABILITAZIONE SCIENTIFICA NAZIONALE

31 marzo 2017 Abilitazione Scientifica Nazionale per le funzioni di professore di II fascia nel settore concorsuale 06/A1 (Genetica Medica).

<https://asn16.cineca.it/pubblico/miur/esito-abilitato/06%252FA1/2/1>

12 aprile 2017 Abilitazione Scientifica Nazionale per le funzioni di professore di II fascia nel settore concorsuale 05/I1 (Genetica).

<https://asn16.cineca.it/pubblico/miur/esito-abilitato/05%252FI1/2/1>

IDONEITA' AL RUOLO DI RICERCATORE

agosto 2011 CNR (Bando n. 364.97, codice di riferimento NA39/3). Conseguimento di Idoneità come Ricercatore CNR III livello. Score: 81,70/110.

dicembre 2011 Università degli Studi di Napoli “Federico II” (UPDR/VII.1 n. 4238, codice identificativo R/01/2010). Conseguimento di Idoneità come Ricercatore, SSD Biologia Molecolare (BIO/11).

PREMI

- 2007** Premio di Dottorato AGI/Zanichelli 2007: menzione assegnata alla tesi dal titolo "New insights into epimutations associated with Beckwith-Wiedemann syndrome".
- 2012** Premio Bioeconomy Rome 2012 relativo all'eccellenza scientifica di giovani ricercatori italiani per gli studi nel campo delle malattie rare, neglette e della povertà.

FELLOWSHIPS NAZIONALI ED INTERNAZIONALI

- 2003** FEBS Short Term Fellowship. Selezione competitiva in ambito europeo su base curriculare e di valutazione del progetto "Analysis of imprinting control elements and other regulatory regions of the Beckwith-Wiedemann Syndrome IC2 domain in transgenic mice".
- 2009 - 2011** Borsa di studio triennale conferita dalla Fondazione Italiana per la Ricerca sul Cancro (FIRC). Selezione competitiva in ambito europeo su base curriculare e di valutazione del progetto: "IGF2-H19 imprinting defects in human cancer".

PERMANENZE IN ALTRI LABORATORI

- giugno - settembre 2003** Visiting scientist presso il Babraham Institute di Cambridge (UK) nel laboratorio del Dott. Wolf Reik finanziata mediante FEBS Short Term Fellowship. L'attività di ricerca ha riguardato lo studio delle interazioni intracromosomiche della regione ospitante i geni imprintati *Igf2* e *H19* di topo, analizzate mediante la metodica 3C.
- giugno - agosto 2015** Visiting scientist presso l'Istituto Scientifico Ospedale San Raffaele di Milano, divisione Dinamica della Cromatina del Prof. Marco E. Bianchi. L'attività di ricerca ha riguardato lo studio del contenuto istonico e nucleosomico di cellule mutanti per il gene *Nap1l1*.

ATTIVITÀ DI RICERCA

Parametri Bibliometrici⁽¹⁾

Numero totale delle citazioni: **919 (858 senza autocitazioni)**
Pubblicazioni con citazioni: **23**
Numero medio di citazioni per pubblicazione: **36,76 (919/25)**
Impact Factor totale: **179,125**
Pubblicazioni con Impact Factor: **24**
Impact Factor medio per pubblicazione: **7,165 (179,125/25)**
Indice di Hirsch: **15**
Numero di pubblicazioni come autore primo/corrispondente: **6**

Indicatori per la candidatura a professore I fascia (soglie D.M. 29 luglio 2016, n. 602)

Settore Concorsuale	SSD	soglie	N. di Articoli (10 anni)	N. di Citazioni (15 anni)	Indice H (15 anni)
05/I1	BIO/18	Richieste	17	433	11
		Raggiunte dalla candidata ⁽¹⁾	19	919	15

(1) ISI Web of Science 20/06/2018

ELENCO DELLE PUBBLICAZIONI IN EXTENSO INDICIZZATE

1. Bardaro T., Falco G., **Sparago A.**, Mercadante V., Tarantino E., Gean Molins E., Ursini M.V. & D'Urso M. "Two cases of misinterpretation of molecular results in Incontinentia Pigmenti, and a PCR-based method to discriminate *NEMO/IKKgamma* gene deletion". *Hum Mutat* 21 (1):8-11, 2003.
2. **Sparago A.**, Cerrato F., Vernucci M., Ferrero G.B., Silengo M.C. & Riccio A. "Microdeletions in the human *H19* DMR result in loss of *IGF2* imprinting and Beckwith-Wiedemann syndrome". *Nat Genet* 36(9):958-60, 2004.
3. Cerrato F., **Sparago A.**, Di Matteo I., Zou X., Dean W., Sasaki H., Smith P., Genesio R., Bruggemann M., Reik W. & Riccio A. "The two-domain hypothesis in Beckwith-Wiedemann Syndrome: Autonomous imprinting of the telomeric domain of the distal chromosome 7 cluster". *Hum Mol Genet* 14(4):503-11, 2005.
4. Cerrato F., **Sparago A.***, Farina L., Ferrero G.B., Silengo M.C. & Riccio A. Reply to "Microdeletion and *IGF2* loss of imprinting in a cascade causing Beckwith-Wiedemann syndrome with Wilms' tumor". *Nat Genet* 37(8):786-87, 2005.
* Primo autore in condivisione
5. **Sparago A.**, Russo S., Cerrato F., Ferraiuolo S., Castorina P., Selicorni A., Schwienbacher C., Negrini M., Ferrero G.B., Silengo M.C., Anichini C., Larizza L. & Riccio A. "Mechanisms causing imprinting defects in familial Beckwith-Wiedemann syndrome with Wilms' tumour". *Hum Mol Genet* 16(3):254-64, 2007.
6. Guala A., Guarino R., **Sparago A.**, Riccio A. & Franceschini P. "Familial posterior helical ear pits". *Am J Med Genet A* 143(23):2832-4, 2007.
7. Murrell A., Ito Y., Verde G., Huddleston J., Woodfine K., Silengo M.C., Spreafico F., Perotti D., De Crescenzo A., **Sparago A.**, Cerrato F. & Riccio A. "Distinct methylation changes at the *IGF2-H19* locus in congenital growth disorders and cancer". *PLoS ONE* 3(3):e1849, 2008.
8. Cerrato F., **Sparago A.**, Verde G., De Crescenzo A., Citro V., Cubellis M.V., Rinaldi M.M., Boccuto L., Neri G., Magnani C., D'Angelo P., Collini P., Perotti D., Sebastio G., Maher E.R. & Riccio A. "Different Mechanisms Cause Imprinting defects at the *IGF2/H19* locus in Beckwith-Wiedemann Syndrome and Wilms' Tumour". *Hum Mol Genet* 17(10):1427-35, 2008.
9. Priolo M., **Sparago A.***, Mammi C., Cerrato F., Laganà C. & Riccio A. "MS-MLPA is a specific and sensitive technique for detecting all chromosome 11p15.5 imprinting defects of BWS and SRS in a single-tube experiment". *Eur J Hum Genet*, 16(5):565-71, 2008.
* Primo autore in condivisione
10. Blik J., Verde G., Callaway J., Maas S., De Crescenzo A., **Sparago A.**, Cerrato F., Russo S., Ferraiuolo S., Rinaldi M.M., Fischetto R., Lalatta F., Giordano L., Ferrari P., Cubellis M.V., Larizza L., Temple I.K., Mannens M., Mackay D.J.G. & Riccio A. "Hypomethylation at multiple maternally methylated imprinted regions including *PLAGL1* and *GNAS* loci in Beckwith-Wiedemann syndrome". *Eur J Hum Genet* 17(5):611-9, 2008.
11. Riccio A., **Sparago A.**, Verde G., De Crescenzo A., Citro V., Cubellis M.V., Ferrero G.B., Silengo M.C., Russo S., Larizza L. & Cerrato F. "Inherited and Sporadic Epimutations at the *IGF2-H19* locus in Beckwith-Wiedemann syndrome and Wilms' tumor". *Endocr Dev* 14:1-9, 2009. Review.
12. Cardarelli L., **Sparago A.**, De Crescenzo A., Nalesso E., Zavan B., Cubellis M.V., Selicorni A., Cavicchioli P., Pozzan G.B., Petrella M. & Riccio A. "Silver-Russell syndrome and Beckwith-Wiedemann syndrome phenotypes associated with 11p duplication in a single family". *Pediatric Dev Pathol* 13(4):326-30, 2010.
13. Nativio R., **Sparago A.***, Ito Y., Weksberg R., Riccio A. & Murrell A. "Disruption of genomic neighbourhood at the imprinted *IGF2-H19* locus in Beckwith-Wiedemann syndrome and Silver-Russell syndrome". *Hum Mol Genet* 20(7):1363-74, 2011.
* Primo autore in condivisione

14. Chiesa N., De Crescenzo A., Mishra K., Perone L., Carella M., Palumbo O., Mussa A., **Sparago A.**, Cerrato F., Russo S., Lapi E., Cubellis M.V., Kanduri C., Cirillo Silengo M., Riccio A., Ferrero G.B.. "The KCNQ1OT1 Imprinting Control Region and non-coding RNA: new properties derived from the study of Beckwith-Wiedemann syndrome and Silver-Russell syndrome cases". *Hum Mol Genet* 21(1):10-25, 2012.
15. Beygo J., Citro V., **Sparago A.**, De Crescenzo A., Cerrato F., Heitmann M., Rademacher K., Guala A., Enklaar T., Anichini C., Cirillo Silengo M., Graf N., Prawitt D., Cubellis MV., Horsthemke B., Buiting K. & Riccio A. "The molecular function and clinical phenotype of partial deletions of the IGF2/H19 imprinting control region depends on the spatial arrangement of the remaining CTCF-binding sites". *Hum Mol Genet* 22(3):544-557, 2013.
16. Iglesias-Platas I., Court F., Camprubi C., **Sparago A.**, Guillaumet-Adkins A., Martin-Trujillo A., Riccio A., Moore G.E. & Monk D. "Imprinting at the PLAGL1 domain is contained within a 70-kb CTCF/cohesin-mediated non-allelic chromatin loop". *Nucleic Acids Res* 41(4):2171-2179, 2013.
17. De Crescenzo A., **Sparago A.**, Cerrato F., Palumbo O., Carella M., Miceli M., Bronshtein M., Riccio A. & Yaron Y. "Paternal deletion of the 11p15.5 centromeric-imprinting control region is associated with alteration of imprinted gene expression and recurrent severe intrauterine growth restriction". *J Med Genet* 50(2):99-103, 2013.
18. Baglivo I., Esposito S., De Cesare L., **Sparago A.**, Anvar Z., Riso V., Cammisa M., Fattorusso R., Grimaldi G., Riccio A. & Pedone P.V. "Genetic and epigenetic mutations affect the DNA binding capability of human ZFP57 in transient neonatal diabetes type 1". *FEBS Letters*, 587(10):1474-1481, 2013.
19. Court F., Camprubi C., Garcia C.V., Guillaumet-Adkins A., **Sparago A.**, Seruggia D., Sandoval J., Esteller M., Martin-Trujillo A., Riccio A., Montoliu L. & Monk D. "The PEG13-DMR and brain-specific enhancers dictate imprinted expression within the 8q24 intellectual disability risk locus". *Epigenetics & Chromatin*, 7(1):5, 2014.
20. De Crescenzo A., Citro V., Freschi A., **Sparago A.**, Palumbo O., Cubellis M.V., Carella M., Castelluccio P., Cavaliere M.L., Cerrato F. & Riccio A.. "A splicing mutation of the HMGA2 gene is associated with Silver-Russell syndrome phenotype". *J Hum Genet*, 60(6):287-293, 2015.
21. Boonen S. E., Freschi A., Christensen R., Valente F.M., Lildballe D.L., Perone L., Palumbo O., Carella M., **Sparago A.**, Riccio A. and Cerrato F. "Two maternal duplications involving the CDKN1C gene are associated with contrasting growth phenotypes". *Clinical Epigenetics*, 8:69, 2016.
22. Anvar Z., Cammisa M., Riso V., Baglivo I., Kukreja H., **Sparago A.**, Girardot M., Lad S., De Feis I., Cerrato F., Angelini C., Feil R., Pedone P.V., Grimaldi G. & Riccio A. "ZFP57 recognizes multiple and closely spaced sequence motif variants to maintain repressive epigenetic marks in mouse embryonic stem cells". *Nucleic Acids Res*, 44(3):1118-32, 2016.
23. Riso V., Cammisa M., Kukreja H., Anvar Z., Verde G., **Sparago A.**, Acurzio B., Lad S., Lonardo V., Sankar A., Helin K., Feil R., Fico A., Angelini C., Grimaldi G. & Riccio A. "ZFP57 maintains the parent-of-origin-specific expression of the imprinted genes and differentially affects non-imprinted targets in mouse embryonic stem cells". *Nucleic Acids Res*, 44(17):8165-78, 2016.
24. Freschi A., Hur S.K., Valente F.M., Ideraabdullah F.Y., **Sparago A.**, Gentile M.T., Oneglia A., Di Nucci D., Colucci-D'Amato L., Thorvaldsen J.L., Bartolomei M.S., Riccio A. & Cerrato F. "Tissue-specific and mosaic imprinting defects underlie opposite congenital growth disorders in mice". *PLoS Genet*, 14(2):e1007243, 2018.
25. **Sparago A.***, Cerrato F. & Riccio A. "Is ZFP57 binding to H19/IGF2:IG-DMR affected in Silver-Russell syndrome?". *Clin Epigenetics*, 10:23, 2018.
* Autore corrispondente in condivisione
26. Cammarata-Scalisi F., Avendaño A., Stock F., Callea M., **Sparago A.**, Riccio A. "Beckwith-Wiedemann syndrome: clinical and etiopathogenic aspects of a model genomic imprinting entity". *Arch Argent Pediatr*, 116(5):368-373, 2018.

27. Valente F.M., **Sparago A.**, Freschi A., Hill-Harfe K., Maas S.M., Frints S.G.M., Alders M., Pignata L., Franzese M., Angelini C., Carli D., Mussa A., Gazzin A., Gabbarini F., Acurzio B., Ferrero G.B., Bliiek J., Williams C.A., Riccio A., Cerrato F. "Transcription alterations of KCNQ1 associated with imprinted methylation defects in the Beckwith-Wiedemann locus". *Genet Med.* Jan 12 2019.

PARTECIPAZIONI A CONGRESSI NAZIONALI ED INTERNAZIONALI

1. **Sparago A.***, Bardaro T., Falco G., Mercadante V., Fimiani G., Miano MG., D'Urso M. e Ursini MV. "Studio di Inattivazione del cromosoma X in Pazienti affetti da Incontinentia Pigmenti quale Test di diagnostica molecolare". *V Congresso Nazionale SIGU, Verona, 2002.*
* Invito come oratore
2. **Sparago A.***, Cerrato F, Vernucci M. & Riccio A. "Deletion of two CTCF sites in the human *H19* DMR results in loss of *IGF2* imprinting and Beckwith-Wiedemann syndrome". *6° Convegno FISV, Riva del Garda, 2004.*
* Invito come oratore
3. Cerrato F., **Sparago A.***, Farina L., Verde G., Castaldo F., Cubellis M.V. e Riccio A. "Imprinting genomico e malattie umane: difetti genetici ed epigenetici nella sindrome di Beckwith-Wiedemann". *Giornate Scientifiche delle Facoltà di Medicina e Chirurgia, Facoltà di Scienze Ambientali e Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali dell'Università della Campania "Luigi Vanvitelli", già SUN, Napoli, 2005.*
* Invito come oratore
4. **Sparago A.**, Cerrato F., Farina L., Verde G., & Riccio A. "Different recombination events are associated with alternative methylation status of the *H19* locus in Beckwith-Wiedemann syndrome" *FEBS-IGB workshop, Epigenetic Bases of Genome Reprogramming, Capri, 2005.*
5. **Sparago A.**, Citro V., Anvar Z., Riso V., De Feis I., Angelini C., Grimaldi G. & Riccio A. "Role of cis-acting elements and trans-acting factors in genomic imprinting defects" *12° Congresso FISV, Roma, 2012.*
6. Cerrato F., **Sparago A.**, De Crescenzo A., Freschi A., Anvar Z., Riso V., Kukreja H., Cammisa M., Oneglia A., Lad S., Angelini C., Grimaldi G. & Riccio A. "Genomic imprinting defects: role of cis-acting elements and trans-acting factors" *FEBS-IGB workshop, Translating Epigenomes into Function: a Next Generation Challenge for Human Disease, Capri, 2013.*
7. **Sparago A.**, De Crescenzo A., Citro V., Freschi A., Oneglia A., Valente M.F., Cerrato F. & Riccio A. "Causes and effects of imprinted genes deregulation in growth disorders" *XVIII Convention Telethon, Riva del Garda, 2015.*
8. **Sparago A.**, Nair R., Agresti A., Cerrato F., Reik W., Bianchi M.E. & Riccio A. "Unraveling the role of NAP1L1 in mammalian chromatin" *Conference Genomic Imprinting in Development and Disease, Napoli, 2015.*
9. **Sparago A.**, Nair R., Agresti A., Cerrato F., Reik W., Bianchi M.E. & Riccio A. "Unraveling the role of NAP1L1 into the chromatin of mammals" *Gordon Research Conference, Chromatin Structure & Function, Les Diablerets, 2016.*
10. **Sparago A.***, Nair R., Agresti A., Cammisa M., Greco A., Albanese S., Auletta L., Reik W., Cerrato F., Bianchi M.E. & Riccio A. "Unraveling the role of NAP1L1 into the chromatin of mammals" *Congresso FISV 2016, Roma, 2016.*
* Invito come oratore
11. **Sparago A.**, Valente F.M., Freschi A., Kukreja H., Oneglia A., Acurzio B., Cerrato F. & Riccio A. "Molecular bases of imprinting disorders: *in cis* effects in Beckwith-Wiedemann and Silver-Russell syndromes" *XIX Convention Telethon, Riva del Garda, 2017.*
12. **Sparago A.**, Cerrato F. & Riccio A. "Gain or loss of methylation at the *H19/IGF2* Intergenic Differentially Methylated Region in Beckwith-Wiedemann and Silver-Russell syndromes: differential roles of CTCF and ZFP57 transcription factors binding" *Congresso AGI, Cortona, 2017.*

13. Cerrato F., **Sparago A.**, Valente F.M., Freschi A., Bliet J., Hill-Harfe K., Williams C., Ferrero G.B. & Riccio A. "KCNQ1 molecular defects shared in Beckwith-Wiedemann and Long QT1 syndromes" *Congresso Nazionale SIGU, Napoli, 2017.*

ATTIVITA' EDITORIALE

Ha svolto attività di revisore di articoli per le seguenti riviste: Clinical Genetics, American Journal Medical Genetics A, Plos One, Genetic Test, Molecular biomarkers and Biotechnology Progress.

ATTIVITA' DIDATTICA E DI FORMAZIONE

- 2005- ad oggi** Correlatore di diverse tesi di laurea specialistica/magistrale in Biotecnologie, Università della Campania "Luigi Vanvitelli", già SUN.
- 2015** Attività di docenza per lezioni di "Epigenetica Avanzata" nell'ambito del progetto PON01_02460 (codice di rif: CO.CO.CO 13/2014, Dip.to di Scienze Mediche Traslazionali, Università Federico II di Napoli).
- 2018- 2019** Docente di Genetica per la laurea triennale in Scienze Ambientali.

Caserta, 08 febbraio 2019

Angela Sparago



Relazione sull'attività di ricerca RTD-A

Dott.ssa Maria Teresa Gentile

Il 15 giugno 2018 ho preso servizio come RTD-A in Patologia Generale (MED/04) presso il Dipartimento di Scienze Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche.

La mia attività di ricerca si svolge nel laboratorio di Neuropatologia cellulare e molecolare ed è focalizzata sui meccanismi cellulari e molecolari di proliferazione e differenziamento di cellule neurali sane e trasformate. In particolare, in questi mesi mi sono occupata di indagare i meccanismi molecolari alla base della neuroplasticità neuronale mettendo a punto un modello in vitro di ischemia/riperfusione (Oxygen Glucose Deprivation, OGD) da trattare con molecole di derivazione naturale da testare come potenziali composti terapeutici. Il modello è stato realizzato con le cellule A1 mes c-myc. Si tratta di cellule neurali ottenute da mesencefalo di topo al 11esimo giorno di vita embrionale ed immortalizzate con c-myc. Tali cellule proliferano se coltivate in presenza di siero; in assenza di siero ed in presenza di cAMP, smettono di proliferare e vanno incontro a differenziamento neuronale. Una volta differenziate, le cellule sono state coltivate in mezzo privo di glucosio e contenente CoCl_2 al fine di mimare l'assenza di apporto di ossigeno e glucosio che si verifica negli episodi ischemici. In alcuni campioni si ripristinano le condizioni di partenza (mezzo completo) al fine di mimare episodi di ischemia/riperfusione e valutarne dal punto di vista molecolare i danni cellulari. Parallelamente, tale modello viene utilizzato allo scopo di individuare sostanze di origine naturale che possono avere un potenziale terapeutico nella prevenzione e nella cura del danno neuronale indotto da ischemia/riperfusione. I dati ottenuti da questo progetto saranno inseriti in un più ampio contesto, soggetto di un articolo in preparazione. Contemporaneamente, mi sono occupata dei meccanismi molecolari alla base dei processi di mimetismo vascolare in linee cellulari di glioblastoma umano. Il glioblastoma è un tumore del sistema nervoso centrale a prognosi infausta per il quale non è stata ancora trovata una cura efficace a causa della capacità di questo tumore di diventare resistente alle attuali terapie. Uno dei meccanismi responsabili di ciò è il mimetismo vascolare, cioè la capacità delle cellule di glioblastoma di trans-differenziare e dare origine a cellule in grado di formare vasi sanguigni del tutto simili a quelli formati dalle cellule endoteliali. Allo scopo di analizzare i meccanismi molecolari implicati in tale fenomeno, abbiamo messo a punto un modello in vitro di mimetismo vascolare coltivando le cellule di glioblastoma su una base di matrice extracellulare. In mezzo di coltura privo di siero, tali cellule sono in grado di formare strutture vascolari tridimensionali dotate di lume del tutto simili ai tubi formati, nello stesso tipo di esperimento, dalle cellule endoteliali. Anche in questo caso, oltre ad analizzare le vie di trasduzione intracellulare coinvolte, è stato valutato il potenziale terapeutico di sostanze di origine naturale. Da questo studio sono scaturiti due articoli, di cui uno pubblicato (1) ed uno in revisione. I dati ottenuti in questo periodo di attività di ricerca sono stati oggetto di due presentazioni orali al Second World Congress on Cancer (Bologna 23-25 luglio

2018) e una al 34° Congresso della Società Italiana di Patologia e Medicina Traslazionale (Catania 23-25 Ottobre 2018).

Accanto all'attività di ricerca in laboratorio, ho svolto attività di Editor in Chief per il volume pubblicato dalla casa editrice IntechOpen "Astrocyte: physiology and pathology" a cui hanno partecipato dieci autori internazionali e di cui sono co-autrice di un capitolo (2); e ho messo le mie competenze a disposizione del dipartimento come evidenziato dalla pubblicazione che ne è scaturita (4).

1. **Gentile MT**, Bifulco M., Colucci-D'Amato L. HUVEC Tube-formation Assay to Evaluate the Impact of Natural Products on Angiogenesis. *JoVE* in press, accepted July 2018.
2. Colucci D'Amato L., **Gentile MT**. Introductory chapter: The Importance of Astrocytes in the Research of CNS Diseases. *Astrocyte: physiology and pathology* . IntechOpen DOI: 10.5772/intechopen.74710
3. **Gentile MT.**, Colucci D'Amato L. Cytosolic Phospholipase A2 (pla2G4A). *Encyclopedia of Signaling Molecules*. DOI: 10.1007/978-1-4419-0461-4_101110 in press
4. Marino MM, Rega C, Russo R, Valletta M, **Gentile MT**, Esposito S, Baglivo I, De Feis I, Angelini C, Xiao T, Felsenfeld G, Chambery A, Pedone PV. Interactome mapping defines BRG1, a component of the SWI/SNF chromatin remodeling complex, as a new partner of the transcriptional regulator CTCF. *J Biol Chem*. 2019 Jan 18;294(3):861-873

Caserta 24.01.2019

CURRICULUM VITAE ET STUDIORUM

DATI ANAGRAFICI

Nome: Maria Teresa Gentile
Luogo e Data di Nascita: Peterborough (GB), 28/04/1972
Residenza: Viale degli Aranci, 34
81100 Caserta
Codice fiscale GNTMTR72D68Z114P
Tel.: 0823472624; 3208053443
e-mail: mariateresa.gentile@unicampania.it
Cittadinanza: Italiana/inglese
Lingue conosciute: Italiana
Inglese

FORMAZIONE

Dicembre 2015: Master intensivo di alta specializzazione in Europrogettazione più laboratorio di progettazione interattiva presso il Centro Studi R&S Europei

Dicembre 2006: Dottore di Ricerca in “Farmacologia e Fisiopatologia Respiratoria”, settore scientifico disciplinare BIO14, presso la Seconda Università degli Studi di Napoli

Febbraio 2003- 2006 Dottorato di Ricerca in “Farmacologia e Fisiopatologia Respiratoria”, settore scientifico disciplinare BIO14, presso la Seconda Università degli Studi di Napoli

Ottobre 2002: Vincitrice del Premio di Ricerca della Società Italiana dell’Ipertensione Arteriosa

Maggio 2001-Gennaio 2003 Borsa di Studio MURST nell’ambito del progetto “Basi cardiovascolari delle malattie neuronali” svolto presso l’IRCSS Neuromed, laboratorio diretto dal Prof. G. Lembo.

Marzo 1999-Aprile 2001: Borsa di Studio del MURST nell’ambito del piano di formazione di “Esperto qualificato in Biotecnologie applicate alla medicina” MURST P.O. 94/99 “Ricerca, Sviluppo Tecnologico ed Alta Formazione” Sottoprogramma 1 Misura 1 Alta Formazione- ruota n. 1027 del 22/10/98- progetto n. 1245/134. Il tirocinio pratico è stato svolto presso l’IRCCS Neuromed.

- Novembre 1999 Aprile 2000* Frequentazione del laboratorio diretto dal Prof. MJ Lohse presso l'Institut für Pharmakologie und Toxikologie, University of Würzburg, Germany, per l'apprendimento della tecnica di microiniezione di oociti fecondati.
- Dicembre 1998- Marzo 1999:* Borsa di Studio MURST nell'ambito del progetto "Basi cardiovascolari delle malattie neuronali" svolto presso l'IRCSS Neuromed, laboratorio diretto dal Prof. G. Lembo.
- Novembre 1998* Abilitazione alla professione di biologo
- Novembre 1997- Dicembre 1998:* Borsa di Studio del MURST nell'ambito del Piano Nazionale di Ricerca sui Farmaci (PNRF II) sul tema: "Nuovi meccanismi fisiopatologici suscettibili di sviluppi farmacologici (insulinoresistenza e aterosclerosi): metodologie idonee allo studio e alla realizzazione di animali transgenici." presso l'Istituto di Farmacologia dell'Università degli Studi di Milano, laboratorio del Prof. AL Catapano
- Febbraio 1997:* Laurea Quinquennale in Scienze Biologiche con indirizzo in Biologia Molecolare presso l'Università degli Studi di Napoli "Federico II", votazione 110/110 e Lode.
- Febbraio 1997:* È risultata vincitrice di una borsa di studio ESF (European Science Foundation) per la partecipazione al congresso "Immunogenetics of allergy: towards prevention and care", Oxford 27- 30 novembre 1997; e di una borsa di studio AAAI (American Academy of Allergy and Immunology) per il 53° AAAI Meeting, Washington 13-17 marzo 1998.
- Gennaio 1994- Novembre 1997:* Tirocinio pratico svolto nel Laboratorio diretto dalla dott.ssa Anna Ruffilli presso l'Istituto di Genetica e Biofisica (CNR), per lo svolgimento di una tesi di laurea sperimentale dal titolo "Cross-reattività immunologica tra l'allergene maggiore di *Paritaria officinalis* Par o 1 ed una metiltransferasi di *E. coli*."

ATTIVITA' LAVORATIVA

- Giugno 2007-Dicembre2007* Contratto di collaborazione coordinata e continuativa Fondazione Telethon
- Giugno 2007-Maggio 2009* Assunta a tempo determinato presso l'Istituto NEUROMED di Pozzilli, Polo Molise Università "La Sapienza" Roma, con la qualifica di Ricercatore
- AA 2009/2010* Incarico di Collaborazione Coordinata e Continuativa in qualità di docente del corso di primo sostegno in Elementi di Biologia generale, Corso di Laurea in Scienze Biologiche, Seconda Università di Napoli

- AA 2009-2010* Incarico di Collaborazione Coordinata e Continuativa in qualità di Tutor del corso di Patologia Generale (MED04), Corso di Laurea in Scienze Biologiche, Seconda Università di Napoli
- Novembre 2011-Febbraio 2012:* Incarico di Collaborazione Coordinata e Continuativa per lo svolgimento del progetto "Valutazione di potenziali attività biologiche del germoplasma vegetale della regione Campania" nell'ambito del Progetto di ricerca AGRIGENET (NETWORK PER LA SALVAGUARDIA E LA GESTIONE DELLE RISORSE GENETICHE AGRO-ALIMENTARI CAMPANE) finanziato dalla Regione Campania con decreto di concessione n. 147 del 14.05.2010 nell'ambito del "PSR 2007/13 attuazione della misura 214 - Pagamenti Agroambientali- azione f2. "Allevamento di specie vegetali autoctone in via di estinzione", in ottemperanza alla delibera del C.d.D. n. 02 del 05/04/2011.
- Febbraio 2013-febbraio 2014* Svolgimento di attività di ricerca ai sensi dell'articolo 22, legge n.240/2010 presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche della SUN sul tema "Estratti di rutacee spontanee (*Ruta graveolens*) e coltivate (*Citrus* sp): effetti biologici e potenzialità terapeutiche in malattie cronico-degenerative del SNC" nell'ambito del POR Campania FSE 2007/2013. SSD MED/04
- Luglio-Agosto 2014* Lavoro autonomo di natura occasionale Prot. n. 1210 del 07/07/2014 POS I. "Valutazione di potenziali attività biologiche di estratti da accessioni del germoplasma campano in via di estinzione" nell'ambito del progetto AGRIGENET (NETWORK PER LA SALVAGUARDIA E LA GESTIONE DELLE RISORSE GENETICHE AGRO-ALIMENTARI CAMPANE) finanziato dalla Regione Campania con decreto di concessione n. 147 del 14.05.2010 nell'ambito del "PSR 2007/13 attuazione della misura 214 - Pagamenti Agroambientali- azione f2. "Allevamento di specie vegetali autoctone in via di estinzione", in ottemperanza alla delibera del C.d.D. n. 02 del 05/04/2011.
- Gennaio-Aprile 2015:* borsa MED/04 Asse IV- az.III.8-Titolo: "Definizioni dello scenario economico e posizionamento dei prodotti alimentari campani e trasferimento tecnologico verso le PMI campane nel settore alimentare" nell'ambito del POR Campania FSE 2007/2013
- Giugno 2018* Ricercatore RTDa in Patologia generale (MED04) presso in Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali Biologiche e Farmaceutiche dell'Università della Campania "Luigi Vanvitelli".

ATTIVITÀ DIDATTICA

- AA 2018-2019* Docente di Patologia generale Corso di laurea magistrale a ciclo unico in FARMACIA e Fondamenti di Patologia generale Corso di laurea magistrale in SCIENZE DEGLI ALIMENTI E DELLA NUTRIZIONE UMANA
- A.A 2010- 2014* Cultore della materia in Patologia Generale (MED04) ed Immunologia presso il Dipartimento di scienze e tecnologie ambientali, biologiche e farmaceutiche della Seconda Università di Napoli
- A.A. 2009/2010* Tutor del corso di Patologia Generale (MED04), Corso di Laurea in Scienze Biologiche, Seconda Università di Napoli
- A.A. 2009/2010* Docente del corso di primo sostegno in Elementi di Biologia generale, Corso di Laurea in Scienze Biologiche, Seconda Università di Napoli
- A.A. 2007/2008* Docente di Biologia e Genetica (BIO13). Corso di Laurea delle Professioni Sanitarie in Fisioterapia, Università La Sapienza di Roma
- Docente di Biologia e Biochimica (BIO13). Corso di Laurea delle Professioni Sanitarie in Infermieristica, Università La Sapienza di Roma
- A.A. 2006/2007* Docente di Virologia nell'ambito del Corso Integrato di Microbiologia e Microbiologia Clinica (MED07). Corso di Laurea delle Professioni Sanitarie in Tecnico sanitario di Laboratorio Biomedico, Università La Sapienza di Roma
- Docente di Biologia e Genetica (BIO13). Corso di Laurea delle Professioni Sanitarie in Tecnico sanitario di Laboratorio Biomedico, Università La Sapienza di Roma
- Docente di Biologia e Biochimica (BIO13). Corso di Laurea delle Professioni Sanitarie in Infermieristica, Università La Sapienza di Roma
- A.A. 2005/2006* Docente di Virologia nell'ambito del Corso Integrato di Microbiologia e Microbiologia Clinica (MED07). Corso di Laurea delle Professioni Sanitarie in Tecnico sanitario di Laboratorio Biomedico, Università La Sapienza di Roma
- Gennaio 1999- Maggio 2009 Attività di Tutor di tirocinio per studenti del Corso di Laurea delle Professioni Sanitarie in Tecnico sanitario di Laboratorio Biomedico. Relatore e correlatore di numerose tesi di laurea.

Giugno 2009 ad ottobre 2014 Attività di supervisore e correlatore di tesi sperimentali e metodologiche in Patologia Generale di studenti laureandi in Biologia

ELENCO delle PUBBLICAZIONI

Gentile MT and Colucci D'Amato L. Cytosolic phospholipase A2 (pla2G4A) <http://hdl.handle.net/11591/364967>

Gentile MT and Colucci D'Amato L. Introductory chapter: the importance of astrocyte in the research of CNS disease <http://hdl.handle.net/11591/393539>

Marino MM, Rega C, Russo R, Valletta M, Gentile MT, Esposito S, Baglivo I, De Feis I, Angelini C, Xiao T, Felsenfeld G, Chambery A, Pedone PV. Interactome mapping defines BRG1, a component of the SWI/SNF chromatin remodeling complex, as a new partner of the transcriptional regulator CTCF. *J Biol Chem*. 2019 Jan 18;294(3):861-873.

Freschi A, Hur SK, Valente FM, Ideraabdullah FY, Sparago A, Gentile MT, Oneglia A, Di Nucci D, Colucci-D'Amato L, Thorvaldsen JL, Bartolomei MS, Riccio A, Cerrato F. Tissue-specific and mosaic imprinting defects underlie opposite congenital growth disorders in mice. *PLoS Genet*. 2018 Feb 22;14(2):e1007243.

Gentile MT, Russo R, Pastorino O, Cioffi S, Barbieri F, Illingworth EA, Grieco M, Chambery A, Colucci-D'Amato L. Ruta graveolens water extract inhibits cell-cell network formation in human umbilical endothelial cells via MEK-ERK1/2 pathway. *Exp Cell Res*. 2018 Mar 1;364(1):50-58

Nawa Y, Kaneko H, Oda M, Tsubonoya M, Hiroi T, Gentile MT, Colucci-D'Amato L, Takahashi R, Matsui H. Functional characterization of the neuron-restrictive silencer element in the human tryptophan hydroxylase 2 gene expression. *J Neurochem*. 2017 May 2. [Epub ahead of print] PubMed PMID:28464229.

Milan G, Napoletano S, Pappatà S, Gentile MT, Colucci-D'Amato L, Della Rocca G, Maciag A, Rossetti CP, Fucci L, Puca A, Grossi D, Postiglione A, Vitale E. GRN deletion in familial frontotemporal dementia showing association with clinical variability in 3 familial cases. *Neurobiol Aging*. 2017 May;53:193.e9-193.e16.

Gentile MT, Ciniglia C, Reccia MG, Volpicelli F, Gatti M, Thellung S, Florio T, Melone MA, Colucci-D'Amato L. Ruta graveolens L. Induces Death of Glioblastoma Cells and Neural Progenitors, but Not of Neurons, via ERK 1/2 and AKT Activation. *PLoS One*. 2015 Mar 18;10(3):e0118864
i.f. 3,54

Gentile MT, Nawa Y, Lunardi G, Florio T, Matsui H, Colucci-D'Amato L. Tryptophan hydroxylase 2 (tph2) in a neuronal cell line: modulation by cell differentiation and nrsf/rest activity. *J Neurochem*. 2012 Sep 7.
i.f. 4,068

Gentile MT, Reccia MG, Sorrentino PP, Vitale E, Sorrentino G, Puca AA, Colucci-D'Amato L. Role of Cytosolic Calcium-Dependent Phospholipase A2 in Alzheimer's Disease Pathogenesis. *Mol Neurobiol*. 2012 May 31.
i.f.: 6.068

Colucci D'Amato L., Gentile MT. Neural Stem Cell: Tools to Unravel Pathogenetic Mechanisms and to Test Novel Drugs for CNS Diseases <http://dx.doi.org/10.5772/55677>

Nizzari M, Barbieri F, Gentile MT, Passarella D, Caorsi V, Diaspro A, Tagliatela M, Pagano A, Colucci-D'Amato L, Florio T, Russo C. Amyloid- β Protein Precursor Regulates

Phosphorylation and Cellular Compartmentalization of Microtubule Associated Protein Tau. *J Alzheimers Dis.* 2012 Jan 1;29(1):211-27

i.f. 4.26

Severino, V; Farina, A.; Colucci-D'Amato, L.; Gentile, M. T.; Parente, A.; Chambery, A. Secretome profiling of mouse embryonic mesencephalon mes-c- myc A1 cell line during neural differentiation by shot-gun LC-MS/MS *FEBS JOURNAL JUN 2011*278413-413

Vecchione C, Carnevale D, Di Pardo A, Gentile MT , Damato A, Coccozza G, Antenucci G, Mascio G, Bettarini U, Landolfi A, Iorio L, Maffei A, Lembo G. Pressure -Induced Vascular Oxidative Stress Is Mediated Through Activation of Integrin-Linked Kinase 1/{beta}PIX/Rac-1 Pathway. *Hypertension.* 2009 Nov;54(5):1028-34.

i.f. 7.368

Vecchione C, Frati A, Di Pardo A, Cifelli G, Carnevale D, Gentile MT, Carangi R, Landolfi A, Carullo P, Bettarini U, Antenucci G, Mascio G, Busceti CL, Notte A, Maffei A, Cantore GP, Lembo G. Tumor necrosis factor-alpha mediates hemolysis-induced vasoconstriction and the cerebral vasospasm evoked by subarachnoid hemorrhage. *Hypertension.* 2009 Jul;54(1):150-6. *i.f.* 7.368

Gentile MT., Vecchione C., Marino G., Aretini A., Di Pardo A., Antenucci G., Maffei A., Cifelli G., Iorio L., Landolfi A., Frati G and Lembo G. Resistin impairs insulin-evoked vasodilation. *Diabetes.* 2008 Mar;57(3):577-83.

i.f. 7.955

Maffei A., Di Pardo A., Carangi R, Carullo P, Poulet R, Gentile MT, Vecchione C., Lembo G. Nebivolol induces NO release in the heart through iNOS activation. *Hypertension* 2007 Oct;50(4):652-6.

i.f.:6.32

Gentile MT., Poulet R., Di Pardo A., Cifelli G., Maffei A., Vecchione C., Passerelli F., Landolfi A., Carullo P., Lembo G. b- amyloid deposition in brain is enhanced in a mouse model of arterial hypertension. *Neurobiology of Aging* 2009 Feb;30(2):222-8.

i.f.: 5.32

Vecchione C, Gentile MT, Aretini A, Marino G, Poulet R, Maffei A, Passatelli F, Landolfi A, Vasta A, Lembo G. A novel mechanism of action for statins against diabetes-induced oxidative stress. *Diabetologia.* 2007 Apr;50(4):874-80

i.f.: 5.337

Maffei A, Vecchione C, Aretini A, Poulet R, Bettarini U, Gentile MT, Cifelli G, Lembo G. Characterization of nitric oxide release by nebivolol and its metabolites. *Am J Hypertens.* 2006 Jun;19(6):579-86

i.f.: 3.496

Gigante B, Morlino G, Gentile MT, Persico MG, De Falco S. Plgf-/-eNos-/- mice show defective angiogenesis associated with increased oxidative stress in response to tissue ischemia. *FASEB J.* 2006 May;20(7):970-2

i.f.: 7.064

Vecchione C, Aretini A, Marino G, Bettarini U, Poulet R, Maffei A, Sbroggiò M, Pastore L, Gentile MT, Notte A, Iorio L, Hirsch E, Tarone G, Lembo G. Selective Rac-1 inhibition protects from diabetes-induced vascular injury. *Circ Res.* 2006 Feb 3;98(2):218-25.

i.f.: 9.408

Poulet R, Gentile MT, Vecchione C, Distaso M, Aretini A, Fratta L, Russo G, Echart C, Maffei A, De Simoni MG, Lembo G. Acute hypertension induces oxidative stress in brain tissues. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2006 Feb;26(2):253-62. *i.f.:* 4.786

Vecchione C, Patrucco E, Marino G, Barberis L, Poulet R, Aretini A, Maffei A, Gentile MT, Storto M, Azzolino O, Brancaccio M, Colussi GL, Bettarini U, Altruda F, Silengo L, Tarone G, Wymann MP, Hirsch E, Lembo G. Protection from angiotensin II-mediated vasculotoxic and hypertensive response in mice lacking PI3Kgamma. *J Exp Med.* 2005 Apr 18;201(8):1217-28. *i.f.:* 13.965

Gentile MT, Vecchione C, Maffei A, Aretini A, Marino G, Poulet R, Capobianco L, Selvetella G, Lembo G. Mechanisms of soluble beta-amyloid impairment of endothelial function. *J Biol Chem.* 2004 Nov 12;279(46):48135-42. *i.f.:* 5.854

Gentile MT, Lembo G. Polymorphisms in human endothelin-converting enzyme (ECE-1) promoter can modulate ECE-1 gene expression. *J Hypertens.* 2003 Nov; 21(11):2013-4. *i.f.:* 5.218

Vecchione C, Maffei A, Colella S, Aretini A, Poulet R, Frati G, Gentile MT, Fratta L, Trimarco V, Trimarco B, Lembo G. Leptin effect on endothelial nitric oxide is mediated through Akt-endothelial nitric oxide synthase phosphorylation pathway. *Diabetes.* 2002 Jan;51(1):168-73. *i.f.:* 8.028

Vecchione C, Colella S, Fratta L, Gentile MT, Selvetella G, Frati G, Trimarco B, Lembo G. Impaired insulin-like growth factor I vasorelaxant effects in hypertension. *Hypertension.* 2001 Jun;37(6):1480-5. *i.f.:*6.331

Con la presente autorizzo, ai sensi della legge 675/96, al trattamento, archiviazione ed eventuale consegna a terzi dei dati personali da me indicati nel presente documento.

Maria Teresa Gentile

Relazioni progetti Valere 2017 dedicati agli RTD-A

Nell'ambito del bando di selezione per l'assegnazione di premialità a favore di ricercatori a tempo determinato di tipo A per proposte progettuali, sono stati finanziati due progetti ai dott. Salvatore DI MARO e Luigi RUSSO. È da sottolineare che entrambi i candidati, hanno conseguito l'abilitazione scientifica nazionale alla funzione di professore di seconda fascia e, in seguito a procedure di valutazione comparativa, ricoprono attualmente il ruolo di ricercatore a tempo determinato – tipologia B (RTDb) presso il DiSTABiF nei loro rispettivi SSD.

TABELLA		
N° E RELAZIONI PROGETTI VALERE DEDICATI AGLI RTD-A		
Ricercatore	SSD	relazione
dott. Salvatore Di Maro	CHIM/08	x
dott. Luigi Russo	CHIM/03	x

Relazione di attività del Dott. Salvatore Di Maro per il progetto dal titolo:

Selective Targeting of $\alpha\beta6$ Integrin Receptor as Alternative Strategy for Anticancer Intervention

Le integrine sono una famiglia di proteine di membrane glicosilate composte da due subunità e legate in maniera non covalente. Attualmente, 18 subunità ed 8 sono state scoperte come componenti di 24 tipi di distinte integrine, che servono come recettori di ligandi della matrice extracellulare con affinità variabile. Una volta che hanno interagito con i propri ligandi, le integrine regolano l'adesione cellula-cellula e quella cellula-matrice extracellulare, fornendo adesione e trazione durante il movimento cellulare. Inoltre, l'asse integrine/ligando gioca un ruolo fondamentale nel promuovere vari segnali che regolano diversi processi fisiologici, come la proliferazione cellulare, la migrazione, la sopravvivenza e la differenziazione. Inoltre, è stato dimostrato che la regolazione aberrante del sistema integrino è coinvolto in diversi processi patologici, inclusi infezioni virali, fibrosi e la progressione, l'invasione e le metastasi tumorali.

Tra i recettori delle integrine capaci di interagire con la sequenza amino acidica RGD, l'integrina $\alpha6$ ha recentemente catalizzato l'attenzione dei ricercatori, poichè essa rappresenta un recettore per diversi virus, incluso quello che origina la malattia mano-piede-bocca, ed è sovraespressa in diverse forme di tumore. In aggiunta alle canoniche protein di membrane contenenti il motive RGD (fibronectina, tenascina-C, and osteopontina), $\alpha\beta6$ lega anche il peptide associate alla latenza (LAP) di TGF- β , promuovendo l'attivazione di questa citochina. Inoltre, $\alpha\beta6$ interagisce con la proteina VP1 del virus che causa la malattia mani-bocca-piedi (FMDV), e le con le proteine che regolano l'ingresso del virus dell'Herpes e dell'Epstein-Barr. È interessante notare che sia la proteina LAP di TGF- β che quella VP1 del virus FMDV hanno in comune un motivo DLXXL(I) che è affiancato alla sequenza the RGD, che lega $\alpha\beta6$ organizzandosi in una struttura ad α -elica, che diventa discriminante per la specificità recettoriale. Attualmente, sono disponibili solo pochi esempi di ligandi per la proteina $\alpha6$, utilizzati soprattutto per la diagnosi tumorale; tra questi ricordiamo dei peptidi lineari composti da 10 e 20 amino acidi and e peptidi ciclizzati con un ponte disolfuro. Tuttavia, nessuno di questi agenti è attualmente considerato come agente terapeutico, probabilmente come conseguenza delle loro limitazioni farmacocinetiche, incluse bassa biostabilità e solubilità acquosa. inoltre, sono ancora mancanti i dati che potrebbero dare informazioni sulle minime caratteristiche strutturali per avere selettività per $\alpha6$, un prerequisito per poter convertire i peptidi in piccole molecole organiche, che sono generalmente considerate più adatte per essere sviluppati come farmaci.

In questo scenario, durante il progetto "Selective Targeting of $\alpha\beta6$ Integrin Receptor as Alternative Strategy for Anticancer Intervention", ci stiamo occupando della sintesi di nuovi ligandi a basso peso molecolare per il recettore $\alpha\beta6$. A partire dai risultati preliminari già in nostro possesso con i peptidi **2** e **3** (Figura 1), sono state sintetizzate due librerie di derivati (Tabella 1 e 2), ottenuti introducendo una costrizione conformazionale mediante ponte lattamico catena laterale-coda e sostituendo la posizione originariamente occupata dalla Leucina con una serie di derivati amino acidi naturali e non naturali

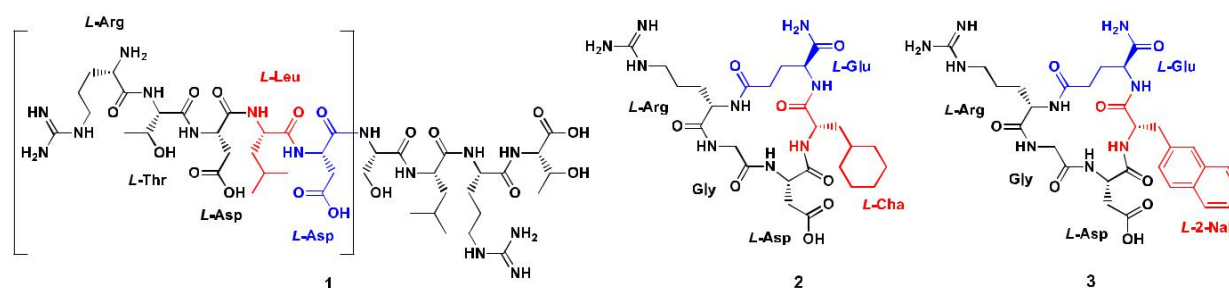


Figura 1. Struttura del peptide di partenza **1** e dei suoi analoghi ciclici **2** and **3**.

Un totale di trenta peptidi sono stati sintetizzati nella prima fase ed investigati preliminarmente per la loro capacità di interagire con il recettore $\alpha\beta6$. Solo i composti che hanno mostrato una IC_{50} inferiore a 100 nM sono stati considerati per le ulteriori indagini volte ad

osservare la loro capacità di interagire con altri recettori integrinici. Tra questi, due peptidi, riferiti qui come SDM17 e SDM09D hanno mostrato una elevata affinità per il recettore ed un buon grado di selettività rispetto alle isoforme recettoriali (>100).

Tabella 1. Prima serie di ligandi per il recettore $\alpha\beta6$

ID	Sequence	IC50 [nM] avb6	IC50 [nM] avb3	IC50 [nM] avb8	IC50 [nM] a5b1
SDM09*	[Arg-Gly-Asp-Cha-Glu]-CONH ₂	23 ± 1.6	420 ± 69	194 ± 42	
SDM11	[Arg-Gly-Asp-D-Cha-Glu]-CONH ₂	120 ± 19			
SDM15	[Arg-Gly-Asp-D-2Nal-Glu]-CONH ₂	577 ± 93			
SDM17	[Arg-Gly-Asp-Chg-Glu]-CONH ₂	1.3 ± 0.15	364 ± 96	174 ± 31	105 ± 11
SDM19	[Arg-Gly-Asp-D-Chg-Glu]-CONH ₂	608 ± 29			
SDM21	[Arg-Gly-Asp-Phg-Glu]-CONH ₂	24 ± 5.6	42 ± 15	558 ± 61	
SDM22	[Arg-Gly-Asp-D-Phg-Glu]-CONH ₂	36 ± 3.2	83 ± 26	731 ± 73	
SDM23	[Arg-Gly-Asp-tBuAla-Glu]-CONH ₂	101 ± 18			
SDM25	[Arg-Gly-Asp-hCha-Glu]-CONH ₂	33 ± 3.3	675 ± 197	412 ± 50	
SDM26	[Arg-Gly-Asp-D-hCha-Glu]-CONH ₂	113 ± 26			
SDM33	[Arg-Gly-Asp-1Nal-Glu]-CONH ₂	15 ± 1.7	120 ± 56	65 ± 9	
SDM35	[Arg-Gly-Asp-D-1Nal-Glu]-CONH ₂	63 ± 19	285 ± 99	>1000	
SDM37	[Arg-Gly-Asp-Igl-Glu]-CONH ₂	57 ± 6.8	460 ± 126	658 ± 135	
SDM39	[Arg-Gly-Asp-D-Igl-Glu]-CONH ₂	441 ± 122			
RTD_lin	RTDLSLRT	27 ± 0.7 (33)		100 ± 14 (100)	
Cilengitide	[Arg-Gly-Asp-D-Phe-(NMe)Val]		0.38 ± 0.06 (0.54)		15.4 ± 2.2 (15.4)

The IC50 of each compound was tested in duplicate.

■ reference IC50-value, IC50 of all other compounds in the respective row are referenced to this value

■ compounds with IC50 (avb6) <70 nM, futher investigated with avb3 and avb8

■ compound with the lowest IC50 in the respective row

■ IC50-values of our reference standards in previous experiments

Tabella 2. Seconda serie di ligandi per il recettore $\alpha\beta6$

ID	Sequence	IC50 [nM] avb6	IC50 [nM] avb3	IC50 [nM] avb8	IC50 [nM] a5b1
SDM08D	[Arg-Gly-Asp-L-2Nal-D-Glu]-CONH ₂	76 ± 11			
SDM09D	[Arg-Gly-Asp-Cha-D-Glu]-CONH ₂	9.1 ± 0.48	>1000	491 ± 81	194 ± 60
SDM11D	[Arg-Gly-Asp-D-Cha-D-Glu]-CONH ₂	229 ± 5.9			
SDM15D	[Arg-Gly-Asp-D-2Nal-D-Glu]-CONH ₂	>1000			
SDM17D	[Arg-Gly-Asp-Chg-D-Glu]-CONH ₂	7.5 ± 1.01	211 ± 59	630 ± 149	
SDM19D	[Arg-Gly-Asp-D-Chg-D-Glu]-CONH ₂	>1000			
SDM21D	[Arg-Gly-Asp-D-Phg-D-Glu]-CONH ₂	23 ± 1.4	0.35 ± 0.07	759 ± 241	
SDM22D	[Arg-Gly-Asp-D-Phg-D-Glu]-CONH ₂	207 ± 14			
SDM23D	[Arg-Gly-Asp-tBuAla-D-Glu]-CONH ₂	21 ± 4.3	>1000	682 ± 47	
SDM25D	[Arg-Gly-Asp-hCha-D-Glu]-CONH ₂	40 ± 7.3	490 ± 24	571 ± 71	
SDM26D	[Arg-Gly-Asp-D-hCha-D-Glu]-CONH ₂	29 ± 1.7	1.48 ± 0.31	948 ± 205	
SDM33D	[Arg-Gly-Asp-1Nal-D-Glu]-CONH ₂	15 ± 1.7	17 ± 6	180 ± 57	
SDM35D	[Arg-Gly-Asp-D-1Nal-D-Glu]-CONH ₂	156 ± 31			
SDM37D	[Arg-Gly-Asp-Igl-D-Glu]-CONH ₂	64 ± 12	>1000	644 ± 56	
SDM39D	[Arg-Gly-Asp-D-Igl-D-Glu]-CONH ₂	443 ± 99			
RTD_lin	RTDLSLRT	27 ± 0.7 (33)		100 ± 14 (100)	
Cilengitide	[Arg-Gly-Asp-D-Phe-(NMe)Val]		0.38 ± 0.06 (0.54)		15.4 ± 2.2 (15.4)

The IC50 of each compound was tested in duplicate.

■ reference IC50-value, IC50 of all other compounds in the respective row are referenced to this value

■ compounds with IC50 (avb6) <70 nM, futher investigated with avb3 and avb8

■ compound with the lowest IC50 in the respective row

■ IC50-values of our reference standards in previous experiments

I due composti che hanno prodotti i migliori risultati in questa prima fase dello studio sono stati utilizzati come “template” per lo sviluppo di analoghi con un profilo di selettività migliorato. In questa seconda fase dello studio, abbiamo proceduto modificando la conformazione

complessiva dei peptidi mediante uno studio di *N*-metilazione. Questa strategia è attualmente utilizzata per modificare la conformazione dei singoli legami amidici che costituiscono lo scheletro peptidico, stabilizzando la loro forma *cis*. Il risultato del cambio della conformazione di un singolo legame amidico da *trans* a *cis* può produrre dei cambiamenti dell'orientamento delle catene laterale degli amino acidi, offrendo l'opportunità di esplorare spazi recettoriali ancora non investigati. Anche la seconda serie di composti è stata preliminarmente testata su v 6 ed v 8, le due integrine che mostrano una maggiore somiglianza recettoriale, e solo quelli che hanno mostrato una affinità comparabile rispetto ai prodotti di partenza, sono stati valutati anche sulle altre integrine.

Tabella 3. Seconda generazione di ligandi v 6 ottenuti mediante uno studi di *N*-metilazione del backbone peptidico.

Cpd	Structure	IC ₅ v 6 (nM)	IC ₅ v 8 (nM)	IC ₅ v 5 (nM)	IC ₅₀ v 3 (nM)	IC ₅₀ 5 1 (nM)
SDM9D	[Arg-Gly-Asp-Cha-DGlu]CONH ₂	9.1 ÷ 0.48	491 ÷ 81	n.d	>1000	194 ÷ 60
SDM9D_A	[(Me)Arg-Gly-Asp-Cha-DGlu]CONH ₂	1203	> 5000	n.d.	n.d	n.d
SDM9D_B	[Arg-(Me)Gly-Asp-Cha-DGlu]CONH ₂	183	1328	n.d.	n.d	n.d
SDM9D_C	[Arg-Gly-(Me)Asp-Cha-DGlu]CONH ₂	1375	> 2500	n.d.	n.d	n.d
SDM9D_D	[Arg-Gly-Asp-(Me)Cha-DGlu]CONH ₂	4620	> 5000	n.d.	n.d	n.d
SDM9D_E	[Arg-Gly-Asp-Cha-(Me)DGlu]CONH ₂	68	2257,82	n.d.	n.d	n.d
SDM17	[Arg-Gly-Asp-Chg-Glu]CONH ₂	1.3 ÷ 0.15	174 ÷ 31	n.d	364 ÷ 96	105 ÷ 11
SDM17_A	[(Me)Arg-Gly-Asp-Chg-Glu]CONH ₂	54	2091,75	5537,45	3367	674,95
SDM17_B	[Arg-(Me)Gly-Asp-Chg-Glu]CONH ₂	106.2	3421.4	n.d.	n.d	n.d
SDM17_C	[Arg-Gly-(Me)Asp-Chg-Glu]CONH ₂	1203	4609,57	n.d	n.d	n.d
SDM17_D	[Arg-Gly-Asp-(Me)Chg-Glu]CONH ₂	1379	> 5000	n.d	n.d	n.d
SDM17_E	[Arg-Gly-Asp-Chg-(Me)Glu]CONH ₂	2	51,69	14143,28	923	114,37

n.d: not determined

Tra i 10 composti sintetizzati purtroppo nessuno ha mostrato una maggiore selettività, anzi il composto SDM17_E, ha mostrato un guadagno di affinità verso il recettore v 8. Questo dato potrebbe rappresentare un inaspettato sviluppo per questi composti. Infatti spesso i recettori v 6 ed v 8 collaborano nella regolazione dell'adesione cellulare e quindi avere a disposizione molecole capaci di inibire simultaneamente entrambe i recettori potrebbe rappresentare un vantaggio nella terapia antitumore. Ovviamente, ulteriori studi sono necessari al fine di valutare l'effettivo ruolo biologico del cross-talk tra questi due recettori.

Attualmente sono in fase di sintesi nuovi analoghi del composto SDM17 per investigare la corretta porzione in cui inserire un potenziale punto di attacco per un agente chelante, al fine di convertire questo ligando in un tracciante per la diagnosi PET.

Attualmente il progetto non ha condotto ancora ad alcun lavoro pubblicato, mentre due manoscritti sono in fase di preparazione o sottomessi.

1) Investigation of the Stereochemical-dependent DNA and RNA binding of Arginine-based nucleopeptides

Stefano Tomassi, Francisco Franco Montalban, Rosita Russo, Ettore Novellino, Anna Messere and Salvatore Di Maro *Symmetry*. Manuscript in preparation

2) Boosting Solid-Phase Peptide Synthesis with Ultrasounds

Francesco Merlino, Stefano Tomassi, Ali M. Yousif, Anna Messere, Luciana Marinelli, Paolo Grieco, Ettore Novellino, Sandro Cosconati, and Salvatore Di Maro. *Organic Letters*. Submitted

Progetto NEUROMET:

Relazione delle attività di ricerca

L'attività scientifica svolta dal dott. Luigi Russo nell'ambito del progetto NEUROMET, finanziato dal programma valere per RTD-A, è stata incentrata prevalentemente sullo studio del ruolo dei meccanismi di folding nella conversione della proteina prionica nativa nell'isoforma scrapie

1. Introduzione

1.1 Studio del ruolo dei meccanismi di folding nella conversione della proteina prionica nativa nell' isoforma scrapie

Le malattie da prione, note anche come Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili (TSE), sono patologie neurodegenerative letali la cui eziologia è associata alla conversione della proteina prionica nativa (PrP^{C}) nell' isoforma denominata scrapie (PrP^{Sc}) ed all'accumulo di quest'ultima nel tessuto cerebrale. Le caratteristiche comuni di queste patologie risiedono nell'inevitabile neurodegenerazione e nella conseguente letalità. La proteina prionica ha un peso complessivo di 33-35 kDa ed è una glicoproteina di 209 aminoacidi (residui 23-231 secondo la numerazione della proteina prionica umana HuPrP); come altre proteine di membrana è prodotta nel reticolo endoplasmatico rugoso (RER) e attraverso il complesso di Golgi raggiunge la membrana cellulare. Durante la biosintesi la proteina prionica è sottoposta a numerose modifiche post-traduzionali tra cui l'eliminazione dei residui 231-254 che consente l'aggiunta di un'ancora di glicosilfosfatidilinositolo (GPI) (Figura 1), funzionale della localizzazione preferenziale della proteina a particolari microdomini di membrana

denominati *lipid raft*. Altre modifiche post-traduzionali che avvengono a carico della PrP^C sono le glicosilazioni in posizione 181 e/o 197 che hanno origine a tre isoforme della proteina: monoglicosilata, diglicosilata e non glicosilata. La proteina prionica risulta espressa soprattutto nel sistema nervoso centrale; la quantità di proteina presente varia molto nelle diverse regioni cerebrali, tra tipi cellulari diversi e tra neuroni con un diverso fenotipo neurochimico.

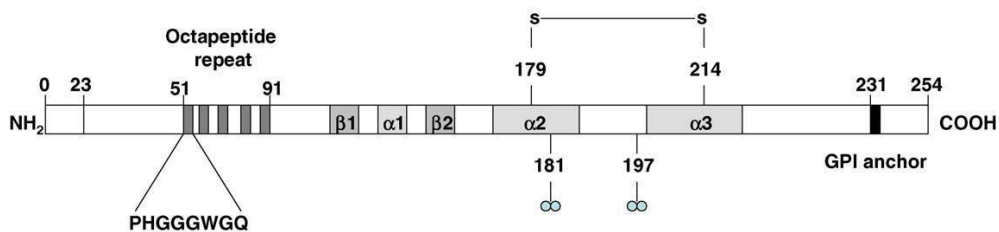


Figura 1: Schema di PrP^C. La molecola di PrP^C ha 254 amminoacidi di lunghezza, con le sequenze N-terminale e C-terminale che sono clivate subito dopo la traduzione. L'ancora GPI è attaccata a C-terminale dopo il clivaggio della sequenza di segnale e l'aggiunta di 2 glicosilazioni N-linked avviene a livello di Asn 181 e 197. Tre α -eliche sono presenti: 144-157 (α 1), 172-193 (α 2) e 200-227 (α 3). Un ponte disolfuro è formato tra l'D-eliche α 2 e α 3 a livello della Cys 179 e Cys 214. Due piccoli foglietti β sono presenti in posizione 129-131 (β 1) e 161-163 (β 2). Verso il dominio di N-terminale si trova la regione degli octarepeat (PHGGSWGQ) che ha ruolo fondamentale nell'interazione con metalli.

La struttura tridimensionale di PrP^C consiste in un dominio globulare C-terminale di oltre 100 amminoacidi (residui 121-131) ed una regione N-terminale di simile lunghezza (residui 23-120) ma strutturalmente flessibile e disordinata (Figura 2).

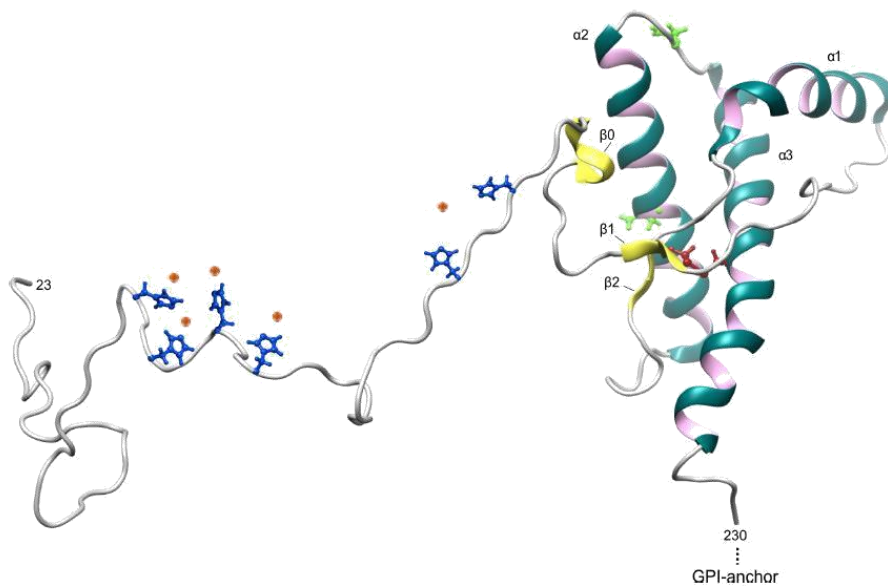


Figura 2: Rappresentazione schematica della struttura di PrP^C

Il dominio globulare all'estremità C-terminale della proteina prionica umana è organizzato in tre D-eliche intervallate da due foglietti E antiparalleli; questa struttura è stabilizzata da un singolo ponte disolfuro che lega le D-eliche 2 e 3 mediante i residui Cys179 e Cys214. Il dominio N-terminale, compreso tra i residui 51-91, contiene un segmento costituito da una sequenza codificante un nonapeptide seguita da quattro ripetizioni di una sequenza codificante un octapeptide. Questa regione contiene diversi siti di legame per ioni zinco e rame.

La parte centrale compresa tra il residuo 106 e 126 è una regione altamente conservata tra le diverse isoforme e mostra proprietà neurotossiche.

L'evento chiave delle malattie da prione è il cambiamento conformazionale della proteina nativa (PrP^C) nella sua isoforma patologica, PrP^{Sc} (Scrapie) (Figura 3); l'accumulo di quest'ultima è responsabile della neurodegenerazione.

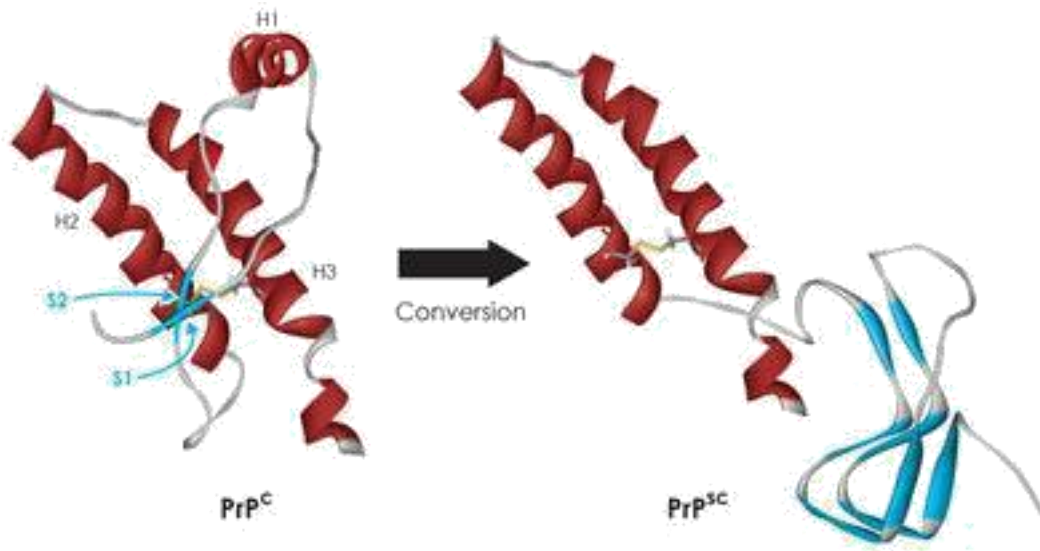


Figura 3: Cambio conformazionale della proteina nativa (PrP^{C}) nella sua isoforma patologica, PrP^{Sc} (Scrapie)

Le due isoforme condividono la stessa struttura primaria e le stesse modifiche post-traduzionali; PrP^{Sc} possiede però meno strutture D-eliche (30%) e più foglietti-E (43%) rispetto a PrP^{C} (42% D-elica e 3% foglietti-E). La conversione della conformazione da strutture ad D-eliche a strutture a foglietto-E rappresenta il punto chiave nella formazione di PrP^{Sc} . Questo cambiamento conformazionale comporta inevitabilmente delle modifiche nelle proprietà chimico-fisiche della proteina. PrP^{C} è solubile in detergenti non denaturanti mentre PrP^{Sc} non lo è; inoltre l'isoforma scrapie mostra una certa resistenza alla digestione da parte delle proteasi, a differenza della proteina nativa. La conversione spontanea dell' isoforma normale in quella patologica è un evento raro; l' ipotesi pionieristica di Prusiner si basa sostanzialmente su due modelli. Il primo modello (Figura 4), detto *template-assistance*, ipotizza un'interazione tra la proteina prionica infettiva esogena e la proteina prionica nativa con la conseguente conversione di quest'ultima nell'isoforma scrapie. Questo processo ha un'energia di attivazione molto alta e richiederebbe perciò uno *chaperone* ed una fonte di energia.

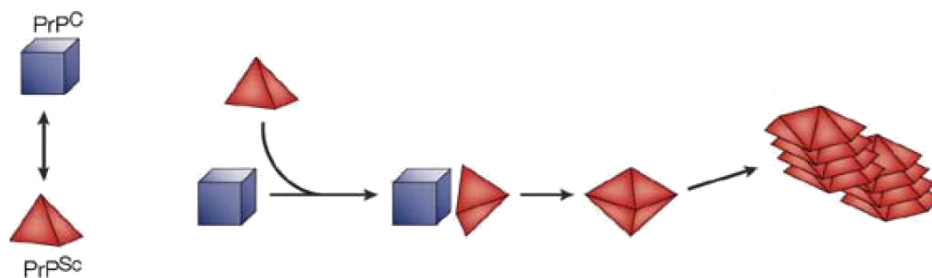


Figura 4: Rappresentazione del modello *template-assistance*

Il secondo modello, chiamato *seeding* o *nucleation-polymerization*, ipotizza che PrP^{C} e PrP^{Sc} esistano in equilibrio termodinamico reversibile. Il reclutamento e l'aggregazione in fibrille amiloidi di forme monomeriche di PrP^{Sc} avverrebbe solo quando diverse molecole di PrP^{Sc} si organizzano in strutture altamente ordinate. All'interno di questa struttura simil-cristallina, PrP^{Sc} diviene stabile; la frammentazione di aggregati di PrP^{Sc} aumenterebbe quindi il numero di nuclei di cristallizzazione capaci di reclutare altre PrP^{Sc} e determinare un'apparente replicazione dell'agente prionico (Figura 5).

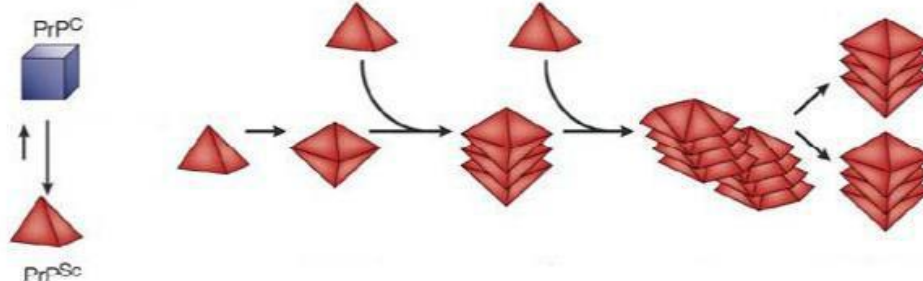


Figura 5: Rappresentazione del modello *seeding*

Allo stato attuale sembra che il modello *template-assistance* possa spiegare meglio i risultati sperimentali ottenuti in topi transgenici. Inoltre, ulteriori esperimenti hanno dimostrato che le molecole con la sequenza di PrP^{C} devono avere delle proprietà conformazionali per adattarsi al templatato PrP^{C} e quindi essere selezionate per la conversione. In tal senso, è stato ipotizzato che la forma nativa della proteina prionica debba subire un parziale unfolding a dare un intermedio PrP^* , che possa interagire direttamente con PrP^{Sc} e subire infine la conversione patogena. Allo state dell'arte però, il ruolo dello stato intermedio PrP^* nel processo di

conversione della proteina nativa (PrP^c) nella sua isoforma patologica, PrP^{Sc} (Scrapie) non è ancora ben chiaro. Di conseguenza, per comprendere il processo che porta alla formazione dell' isoforma patologica risulta essere di fondamentale importanza descrivere a risoluzione atomica i meccanismi di folding della proteina prionica e caratterizzare strutturalmente i possibili stadi intermedi. Quindi, in questa prima fase del progetto NEUROMET, mi sono occupato della caratterizzazione dei meccanismi di folding della proteina prionica umana *full-length* HuPrp²³⁻²³¹ e del mutante di delezione HuPrp⁹⁰⁻²³¹ mediante tecniche di dicroismo circolare (CD) e risonanza magnetica nucleare (NMR).

2. Materiali e Metodi

2.1 Preparazione dei campioni

L'espressione della proteina prionica è stata effettuata presso il Laboratorio di Biologia Molecolare della Scuola Internazionale Superiore di Studi Avanzati (SISSA) dal gruppo di ricerca diretto dal Prof. Giuseppe Legname. E' stata prodotta la proteina non marcata e doppiamente marcata con ¹³C e ¹⁵N (¹⁵N-¹³C-HuPrP) sia del frammento 23-231 (HuPrp²³⁻²³¹) che del frammento 90-231 (HuPrp⁹⁰⁻²³¹). I campioni per l'analisi NMR sono stati preparati prelevando 550 μ l di una soluzione di proteine ¹⁵N-¹³C disciolta in H₂O-acetato di sodio 20mM a cui sono stati aggiunti 50 μ l di ²H₂O. Sono stati preparati per ciascun frammento due campioni a pH 5.5 e 7 ad una concentrazione finale di 1mM. I campioni per l'analisi mediante dicroismo circolare dei due frammenti HuPrp⁹⁰⁻²³¹ e HuPrp²³⁻²³¹ della proteina prionica sono stati preparati sciogliendo 35 μ l di una soluzione madre di proteina (~ 1 mM) in 3 mL di una soluzione H₂O-acetato di sodio 20mM a pH 5.5 e 7.

2.2 Esperimenti di Dicroismo Circolare

Gli esperimenti di dicroismo circolare sono stati eseguiti presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche dell'Università degli Studi della Campania "L. Vanvitelli mediante uno spettropolarimetro JASCO-815 CD fornito di un Peltier per il controllo della temperatura. La stabilità termica dei due frammenti HuPrp⁹⁰⁻²³¹ e HuPrp²³⁻²³¹ è stata valutata registrando, a intervalli di 5 K in un range di 278-368 K (punto

addizionale a 371 K), una serie di spettri CD. Dopo la misurazione finale a 371 K, ciascun campione è stato raffreddato a 298K, ed è stato acquisito lo spettro finale. I dati sono stati raccolti usando una cuvetta in quarzo con la lunghezza del cammino ottico di 1 cm in un range di lunghezza d'onda di 200-260 nm con incrementi di 1 nm.

2.3 Esperimenti di Risonanza Magnetica Nucleare

Gli esperimenti NMR sono stati registrati mediante uno spettrometro Bruker Avance 600 MHz, equipaggiato con “cryoprobe” presso il Laboratorio di Risonanza Magnetica Nucleare del Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche dell' Università degli Studi della Campania “Luigi Vanvitelli”. La caratterizzazione NMR è stata eseguita a 298K.

Le assegnazioni (^1H , ^{15}N e ^{13}C) delle risonanze della “catena principale” e delle “catene laterali” dei due frammenti ^{15}N - ^{13}C -HuPrP²³⁻²³¹ e ^{15}N - ^{13}C -HuPrP⁹⁰⁻²³¹ sono state ottenute dall'analisi combinata di esperimenti etero-nucleari bidimensionali e tridimensionali quali 2D ^{13}C - ^1H HSQC, 2D ^{15}N - ^1H HSQC, 3D ^1H - ^{15}N NOESY-HSQC, 3D HNHA, 3D ^1H - ^{15}N TOCSY-HSQC, 3D (H)CCH-TOCSY e 3D ^1H - ^{13}C NOESY-HSQC.

Gli esperimenti nei quali viene rivelato il protone ammidico sono stati registrati utilizzando sequenze basate sull'ottimizzazione della sensibilità mediante gradienti di campo magnetico; in questi esperimenti, il disaccoppiamento del ^{15}N durante l'acquisizione è stato realizzato mediante la sequenza WALTZ16. Per gli esperimenti nei quali invece viene rivelato il protone alifatico, il disaccoppiamento del ^{13}C è stato realizzato con la sequenza GARP1.

Lo spettro monodimensionale protonico dei due frammenti ^{15}N - ^{13}C -HuPrP²³⁻²³¹ e ^{15}N - ^{13}C -HuPrP⁹⁰⁻²³¹ è stato acquisito a 600MHz con 16 K “data points”, portati poi a 32 K con uno “zero filling”, prima della trasformata di Fourier.

In tutti gli esperimenti la soppressione del segnale dell'acqua è stata realizzata mediante irradiazione a bassa potenza oppure mediante la sequenza WATERGATE.

2.4 Processing ed analisi degli spettri NMR

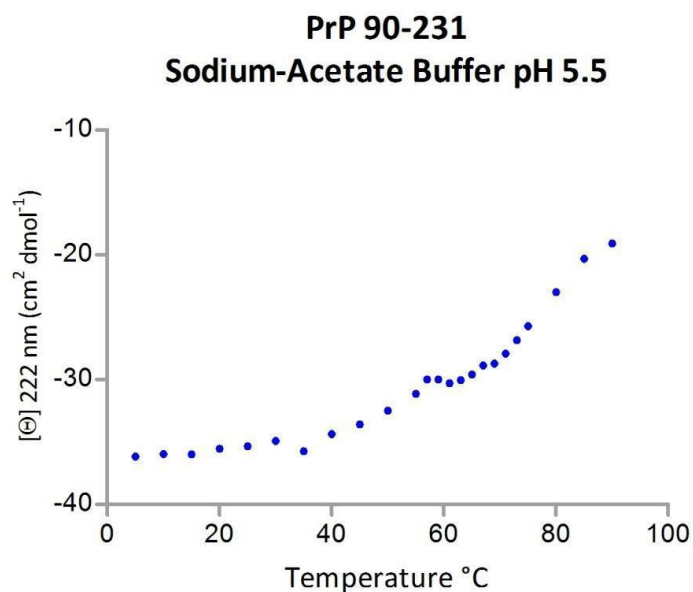
Gli esperimenti NMR sono stati processati con i programmi NMRDRAW e Bruker TOPSPIN. I chemical shift protonici sono stati calibrati usando come riferimento interno il TMS.

(Tetrametil silano) posto a 0 ppm; ^{13}C e ^{15}N sono stati calibrati indirettamente mediante un riferimento esterno. Ciascun FID registrato è stato moltiplicato per una opportuna funzione di pesatura, generalmente una “square shifted sine bell”, e i “data point” sono stati incrementati con uno “zero filling” prima della trasformata di Fourier in modo da ottenere matrici di dati. Il programma CARI è stato utilizzato per l’analisi degli spettri e la procedura di assegnazione.

3. Risultati

3.1 Analisi mediante dicroismo circolare (CD)

Il processo di unfolding termico dei campioni HuPrp⁹⁰⁻²³¹ e HuPrp²³⁻²³¹ è stato monitorato mediante CD a due differenti valori di pH (5.5 e 7). L’analisi ha messo in evidenza che a pH acido il frammento HuPrp⁹⁰⁻²³¹ presenta la formazione di un evidente stadio intermedio alla temperatura di 332K.



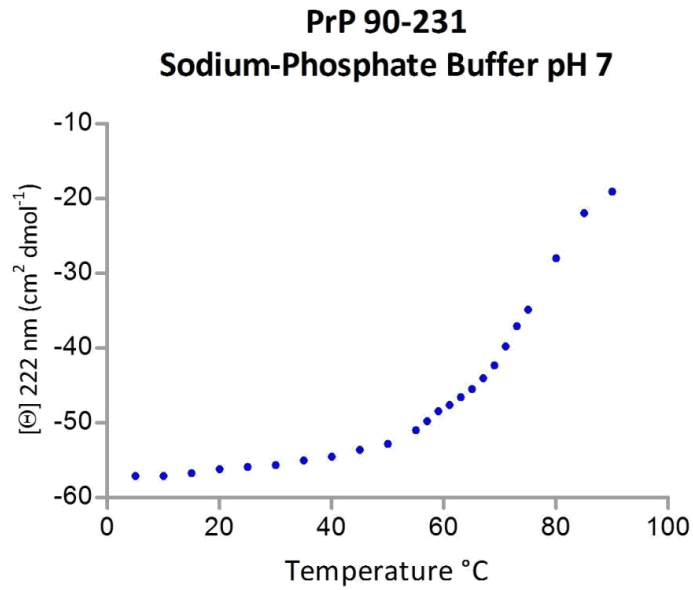
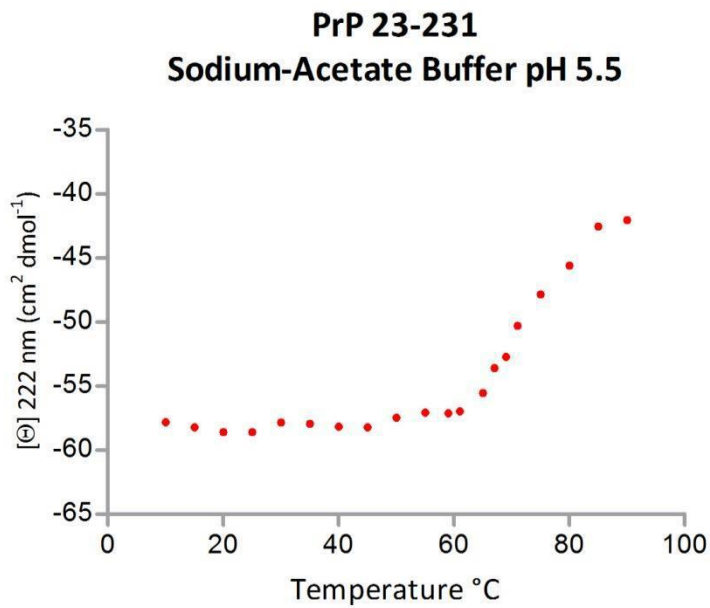


Figura 6: Unfolding termico del frammento HuPrp⁹⁰⁻²³¹ monitorato mediante CD a pH 5.5/7

Inoltre i dati CD hanno evidenziato (figura 7) che, contrariamente a quanto osservato per il frammento HuPrp⁹⁰⁻²³¹, la proteina prionica *full-length* (23-231) non presenta stadi intermedi stabili sia a pH 5.5 che a pH 7.



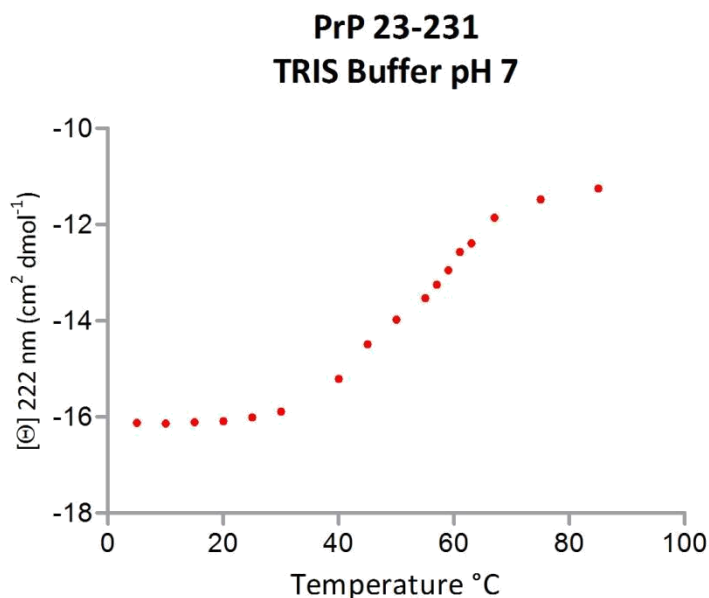


Figura 7: Unfolding termico del frammento HuPrp²³⁻²³¹ monitorato mediante CD a pH 5.5/7

In conclusione, la caratterizzazione mediante dicroismo circolare ha evidenziato che la proteina prionica *full-length* HuPrp²³⁻²³¹ a pH 5.5 e 7 presenta un meccanismo di folding che può essere descritto mediante un modello *two-state*. Differentemente, il frammento HuPrp⁹⁰⁻²³¹ è caratterizzato da un processo di folding più complicato che non può essere descritto da un semplice modello *two-state*, con la formazione di uno stadio intermedio alla temperatura di 332K. Quindi, per poter descrivere i dettagli strutturali a risoluzione atomica dello stadio intermedio è stata eseguita una caratterizzazione dei meccanismi di folding del frammento HuPrp⁹⁰⁻²³¹ a pH 5.5 utilizzando esperimenti di risonanza magnetica nucleare.

3.2 Analisi mediante Risonanza Magnetica Nucleare (NMR) del prione HuPrp⁹⁰⁻²³¹

Tutti gli esperimenti NMR sono stati acquisiti su un campione doppiamente marcato del frammento HuPrp⁹⁰⁻²³¹ (¹⁵N-¹³C HuPrp⁹⁰⁻²³¹).

Il confronto dell'esperimento NMR ¹H-¹⁵N HSQC registrato a pH 5.5 e a pH 7 T= 298 K (figura 8) ha messo in evidenza, considerando la buona dispersione delle risonanze sia nella dimensione del protone che dell'azoto, che il frammento HuPrp⁹⁰⁻²³¹ sia a pH acido che neutro assume una struttura terziaria stabile.

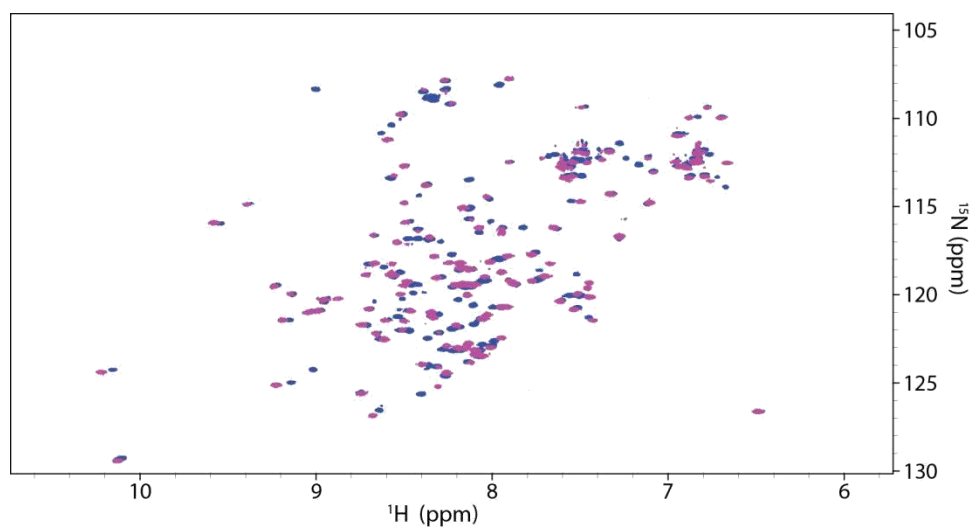


Figura 8: Sovrapposizione dello spettro ^1H - ^{15}N HSQC del frammento HuPrp⁹⁰⁻²³¹ acquisito a 600 MHz pH 5.5 (Blu) e a pH 7 (magenta) T=298 K.

Per ottenere una descrizione accurata dei cambiamenti strutturali indotti dalla variazione di pH e di temperatura è stata eseguita l'assegnazione delle risonanze del *backbone* del frammento ^{15}N - ^{13}C HuPrp⁹⁰⁻²³¹ a pH 5 e pH 7 T= 298K mediante l'acquisizione di esperimenti NMR *triple-resonance*. In particolare, sono stati registrati i seguenti esperimenti NMR: 3D HNCO, 3D CBCA(CO)HN e 3D HNCA. Per mostrare l'elevata qualità degli esperimenti acquisiti si riporta in figura 9 la proiezione 2D (HN-CD) dell'esperimento tridimensionale 3D HNCA.

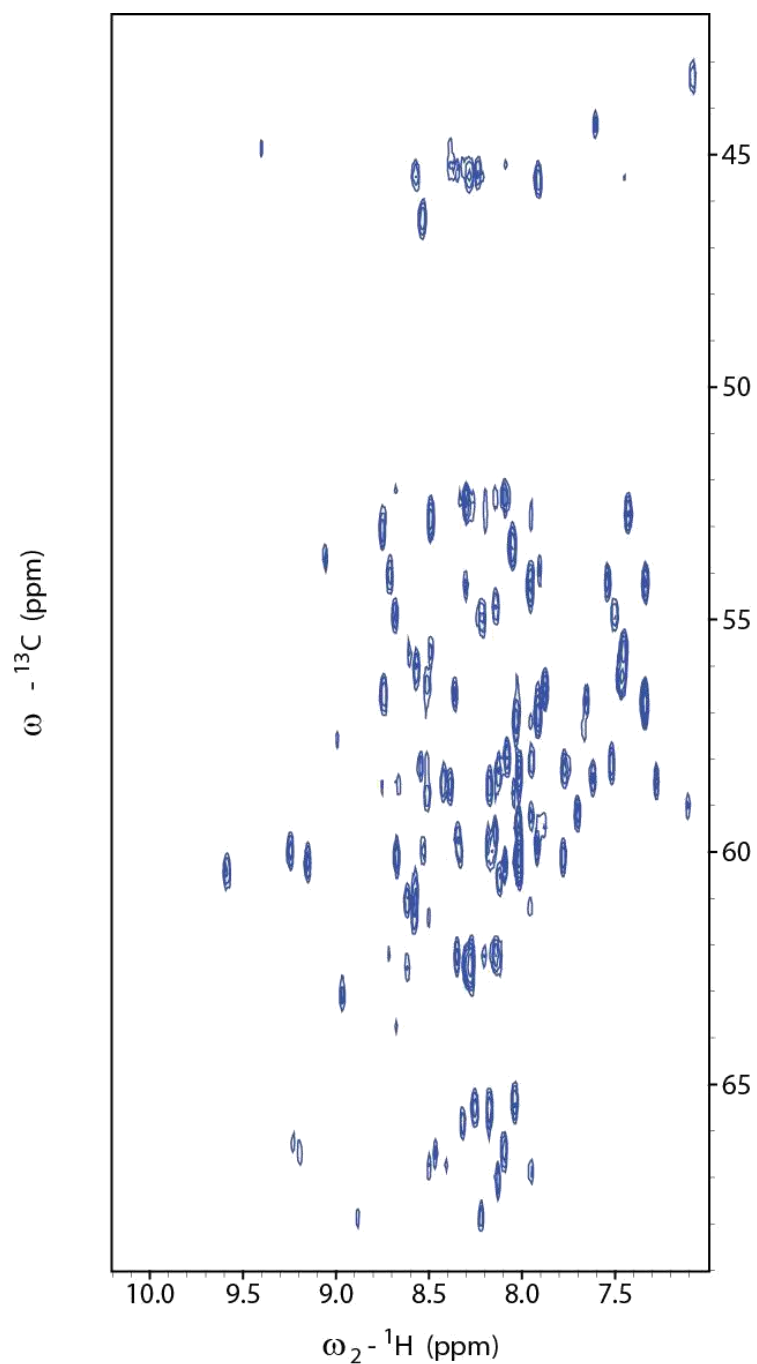
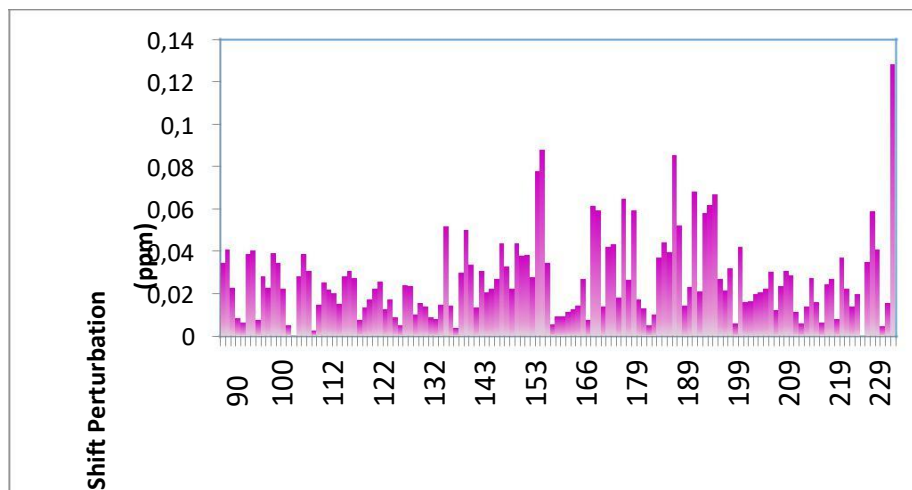


Figura 9: Proiezione 2D (HN-CD) dell' esperimento 3D HNCA acquisito sul campione ^{15}N - ^{13}C HuPrp⁹⁰⁻²³¹ a 600MHz, pH 5.5 e 298K.

L'analisi combinata di tali esperimenti ha permesso di assegnare tutti i chemical shifts del *backbone* del frammento HuPrp⁹⁰⁻²³¹ sia a pH acido che neutro. Mediante la metodologia del

Chemical Shift Perturbation (figura 10 sopra) è stato possibile evidenziare le regioni del frammento HuPrp⁹⁰⁻²³¹ che risentono maggiormente della variazione di pH. In particolare, i dati NMR hanno dimostrato che i residui della prima (D1) e seconda (D2) D-elica risentono maggiormente della variazione di pH (figura 10 sotto).



Chemical Shift Perturbation

δ (ppm)

Residue

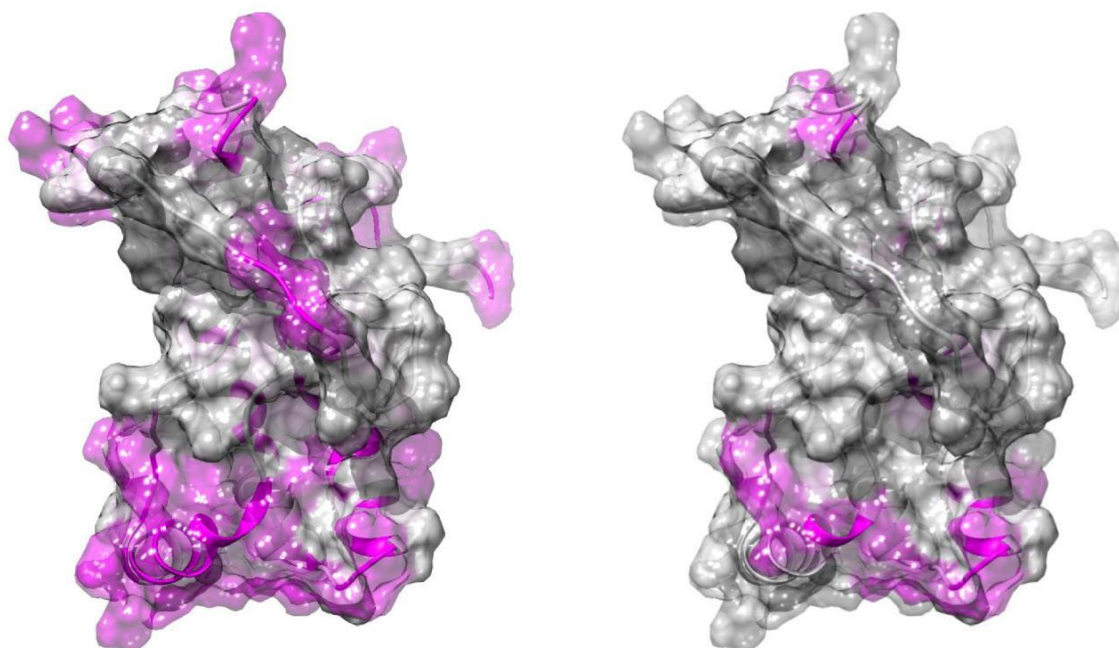


Figura 10: Chemical Shift Perturbation (sopra), Mapping sulla struttura NMR del frammento HuPrp⁹⁰⁻²³¹ dei residui che risentono maggiormente della variazione di pH (sotto) .

Terminata la caratterizzazione strutturale del frammento HuPrp⁹⁰⁻²³¹ si è passati alla descrizione dei meccanismi di folding mediante NMR. Quindi, sono stati acquisiti diversi esperimenti ¹H-¹⁵N HSQC al variare della temperatura da 288 K a 353 K. L'analisi degli esperimenti NMR, confermando i dati CD, ha evidenziato la presenza nel processo di folding del frammento HuPrp⁹⁰⁻²³¹ a pH 5.5 di un stadio intermedio stabile. Infatti, come riportato nella figura 11, la buona dispersione delle risonanze osservabili sia nella dimensione del protone che dell'azoto evidenzia che lo stadio intermedio presenta una struttura residuale.

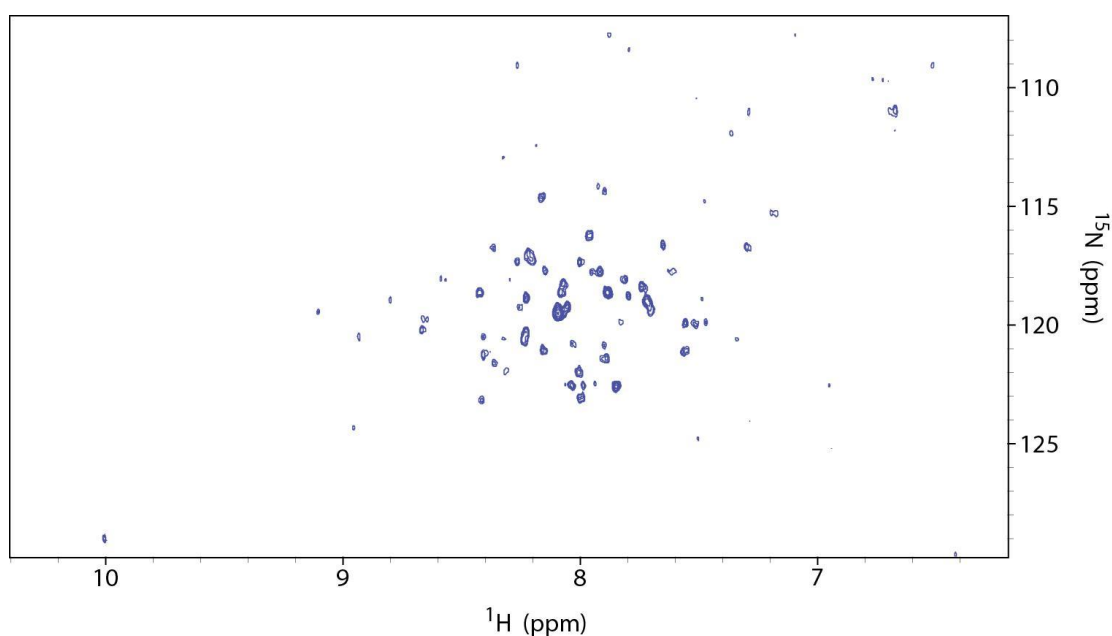


Figura 11: Esperimento ¹H-¹⁵N HSQC del frammento HuPrp⁹⁰⁻²³¹ acquisito a 600 MHz pH 5.5 (Blu) T=332 K.

In particolare, l'analisi dei chemical shifts ha messo in evidenza che lo stadio intermedio del frammento HuPrp⁹⁰⁻²³¹ è costituito dalle tre D-eliche (figura 12) del dominio globulare che risultano essere parzialmente conservate. Inoltre, i dati NMR (*Chemical Shifts*) (Tabella 1) mostrano che tale struttura residuale è stabilizzata dalla presenza del ponte disolfuro che risulta essere ancora presente a 332K.

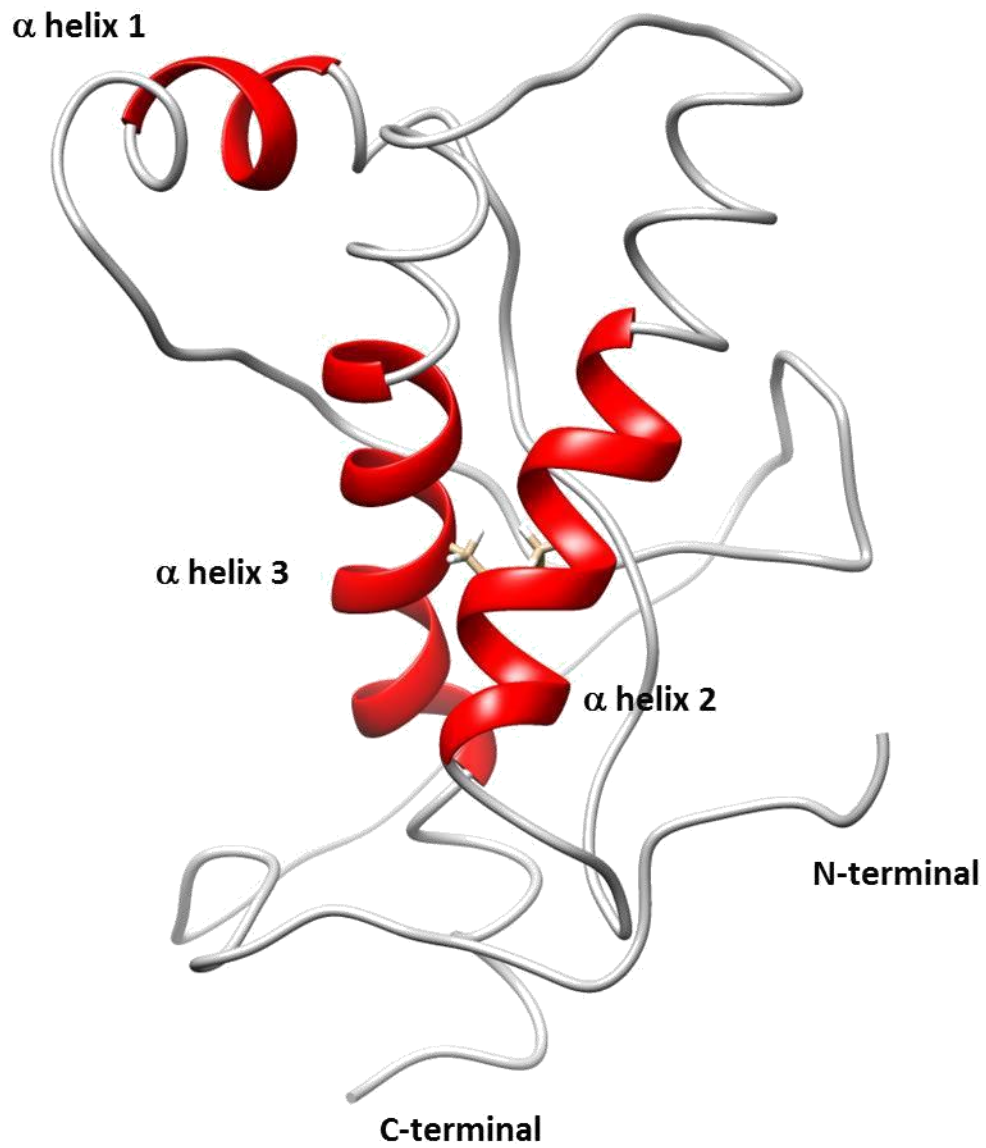


Figura 12: Struttura residuale dello stadio intermedio del frammento HuPrp⁹⁰⁻²³¹ a 332K.

	<u>CD Chemical shift</u>	<u>CE Chemical shift</u>
<u>Cys (S-S)</u> <u>(Valori di riferimento)</u>	<u>57.6 ± 2.3</u>	<u>38.4 ± 3.2</u>
<u>Cys (S-H)</u> <u>(Valori di riferimento)</u>	<u>62.6 ± 1.7</u>	<u>26.5 ± 1.1</u>
<u>Cys179</u> <u>(Osservati a 332K)</u>	<u>58.8</u>	<u>40.6</u>
<u>Cys214</u> <u>(Osservati a 332K)</u>	<u>59.7</u>	<u>41.9</u>

Tabella 1: Analisi dei chemical shifts delle cisteine a 332K

Publicazioni

Luigi Russo *et al.* “ High resolution structural characterization of PrP^C conformational intermediate involved in fibril formation ” in preparazione.

Assegni di Ricerca su VALERE-2017

Il DiSTABiF ha scelto, per gli assegni di ricerca su VALERE 2017, di attivare quattro assegni annuali piuttosto che due assegni biennali sulla base dell'elevato numero di settori scientifico-disciplinari che vi afferiscono; sono infatti presenti 32 SSD appartenenti a 9 differenti aree CUN.

Sulla base delle aggiornate esigenze scientifiche del Dipartimento, i quattro assegni sono stati quindi destinati ai SSD BIO/02 (Botanica Sistemática), BIO/06 (Anatomia comparata e citologia), FIS/07 (Fisica applicata), e MED/42 (Igiene).

È da sottolineare che due candidati, Adriano Stinca e Chiara Russo, al termine dell'assegno, hanno conseguito l'abilitazione scientifica nazionale alla funzione di professore di seconda fascia nei loro rispettivi SSD.

TABELLA			
N° E RELAZIONI ASSEGNI DI RICERVA CON CV DEI CANDIDATI			
Assegnista	SSD	relazione	CV
dott.ssa Carmela Vetromile	FIS/07	x	x
dott. Adriano Stinca	BIO/02	x	x
dott.ssa Filomena Mottola	BIO/06	x	x
dott.ssa Chiara Russo	MED/42	x	x

Università degli Studi della Campania “Luigi Vanvitelli”
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche

RELAZIONE ATTIVITA' SCIENTIFICA

ASSEGNO DI RICERCA

“Analisi, modellazione e simulazione di interventi di power saving per processi industriali”

Settore scientifico-disciplinare: FIS/07

Responsabile scientifico: Prof. Carmine Lubritto

Assegnista: Dott.ssa Carmela Vetromile

Sede della ricerca: Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche, Seconda Università degli Studi di Napoli

Durata assegno: 12 mesi a partire dal 1 Dicembre 2017

1 Introduzione

Il cambiamento climatico globale è legato a una maggiore concentrazione di CO₂ e di altri gas serra nell'atmosfera ed è considerato una delle più importanti emergenze universali. Inoltre, il cambiamento climatico globale è sempre più al centro delle decisioni politiche ed economiche, nonché oggetto di progetti di ricerca scientifica.

I cambiamenti climatici dipendono principalmente da un maggiore consumo energetico e questo spinge le persone a cercare nuove soluzioni e nuove tecnologie per ottimizzarne l'uso al fine di ridurre il consumo energetico globale, stimato in $13,5 * 10^{13}$ kWh per il consumo annuale di elettricità distribuito in vari settori. Una delle aree che consuma più energia è il settore delle costruzioni. Secondo l'UNEP (United Nation Environment Program), gli edifici utilizzano circa il 40% dell'energia globale, il 25% dell'acqua globale, il 40% delle risorse globali e rappresentano circa 1/3 delle emissioni di gas serra (GHG). Per questo motivo, gli edifici offrono il massimo potenziale per il risparmio energetico e, di conseguenza, una riduzione dei GHG.

Nella letteratura scientifica molti articoli si concentrano su edifici privati e pubblici. In particolare, sono state realizzate diverse campagne di monitoraggio per individuare l'indice chiave dell'energia nei centri commerciali o negli edifici di servizio/industriale-manifatturiero.

Altro settore di interesse prioritario per il consumo energetico è sicuramente quello idrico, inteso nello specifico come attività di depurazione delle acque reflue.

L'industria del trattamento delle acque reflue ha visto negli ultimi anni un aumento notevole dei costi energetici, che risultano in alcuni casi secondi solo al costo del personale dell'azienda: le cause principali sono da ricercarsi non solo nel forte incremento dei volumi trattati, ma anche nella necessità di conseguire standard qualitativi – dell'effluente depurato – sempre più stringenti. Ridurre il costo energetico di un impianto equivale a ridurre anche la sua *"Carbon Footprint"*, la quale rappresenta un importante parametro di sostenibilità ambientale oltre che un fattore economico. La quantità di energia richiesta dai trattamenti depurativi varia ampiamente, a seconda dell'assetto impiantistico, delle caratteristiche degli effluenti, delle tecnologie di trattamento impiegate, della qualità dell'effluente richiesta e della dimensione dell'impianto.

Nel seguito si riporta l'attività di ricerca svolta divisa in due fasi interconnesse:

- Nella prima fase si riporta l'attività di monitoraggio svolta per i tre settori sopra riportati: industriale, servizi, idrico.
- Nella seconda fase si riporta un esempio di definizione e messa a punto di un modello elettrico per stimare i consumi energetici ed avere un'idea chiara degli assorbimenti e le possibilità di intervento di efficientamento.

2 Monitoraggio energetico

Il monitoraggio dei consumi energetici è fondamentale come strumento di controllo e risparmio dei consumi.

Le principali motivazioni sono:

- ✓ Conoscere i consumi elettrici a un livello di dettaglio utile per attuare delle politiche di risparmio energetico efficienti, individuazione degli sprechi.
- ✓ Rendere evidenti i consumi extra soglia e rilevare eventuali anomalie e/o guasti.
- ✓ Valutare i trend di consumo (orarie, settimanali, stagionali, operativo).
- ✓ Identificare le aree con sprechi di energia.
- ✓ Certificare i propri consumi e le politiche di risparmio energetico attuate.

Di seguito si riportano le campagne di monitoraggio effettuate per i tre settori di riferimento.

2.1 Settore industriale

È stato effettuato un monitoraggio di uno stabilimento ubicato in provincia di Avellino, il cui oggetto sociale sono le lavorazioni meccaniche di precisione nel settore aeronautico, con particolare attenzione allo sviluppo delle lavorazioni, delle strategie e degli utensili dedicati, nonché progettazione e realizzazione (comprese le lavorazioni) di stampi automotive per deformazione plastica a freddo di lamiera, calibri di controllo, lavorazioni meccaniche di serie e stampaggio.

Il sito produttivo, destinato alle lavorazioni meccaniche di precisione, ha un consumo energetico elettrico pari a 319.460 kWh elettrici.

Il vettore energetico utilizzato in azienda è quello dell'energia elettrica per il funzionamento dei macchinari da produzione, per l'illuminazione interna, delle apparecchiature ICT, di tutti i dispositivi elettrici e la climatizzazione degli uffici.

Le utenze più energivore risultano essere quelle relative ai macchinari per le lavorazioni meccaniche di precisione.

Di seguito si riporta la ripartizione del fabbisogno energetico dello stabilimento, distinto per attività principali, servizi ausiliari e servizi generali.

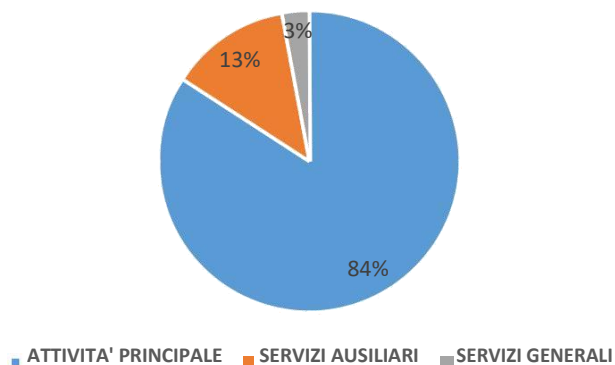


Figura 1 Ripartizione del fabbisogno energetico per uso

Dalla figura è evidente che il maggior consumo energetico elettrico è destinato all'alimentazione dei macchinari per le lavorazioni meccaniche di precisione, fondamentale per l'esercizio dell'attività stessa. Per questo settore è stato prodotto, grazie all'uso delle informazioni ricavate dagli assorbimenti e dall'audit, un modello elettrico per stimare il consumo energetico e le possibilità di intervento

2.2 Settore dei servizi

Per questo settore si è preso in considerazione un centro commerciale sito in Caserta. In particolare il centro occupa 28.000 m² per 16.000 m² di spazio utile lordo distribuito su 3 piani. Il centro commerciale è aperto dal lunedì alla domenica per 360 giorni all'anno. Sulla base di un'analisi statistica condotta sul numero di persone presenti nel centro commerciale durante l'anno di monitoraggio, si può dedurre che i periodi dell'anno con il maggior flusso di persone sono quelli delle vacanze di Pasqua e di Natale.

Il monitoraggio ha interessato solo i servizi comuni del centro commerciale, compresa l'illuminazione esterna (parcheggio, ingresso, ecc.), L'illuminazione interna (galleria commerciale, bagni, ecc.), Condizionamento dell'aria e altri servizi, ed escluderà il consumo di singoli negozi che hanno una contabilità elettrica indipendente dal centro commerciale.

Per identificare le fonti ad alta intensità energetica utilizzate nel centro commerciale, è stato effettuato un audit energetico preliminare basato sulle caratteristiche tecniche degli apparati. I risultati di questo audit sono riportati nella seguente tabella:

Categories	Note	Number	Total nominal power (kW)
External lighting	LED	183	35
	Incandescent light bulb		
	halogen lamp		
Internal lighting	LED	506	15
	halogen lamp		
Heat pumps	water source unit	5	230
A.H.U.	-	4	70
Moving walkways	Height: 3m	4	22
	Slope: 12°		
Elevators	-	2	50

Security cam	-	53	0.32
Return pump	Operating period: 5 days/week (on average)	5	27.5

Nella figura seguente si riporta l'assorbimento mensile del centro commerciale.

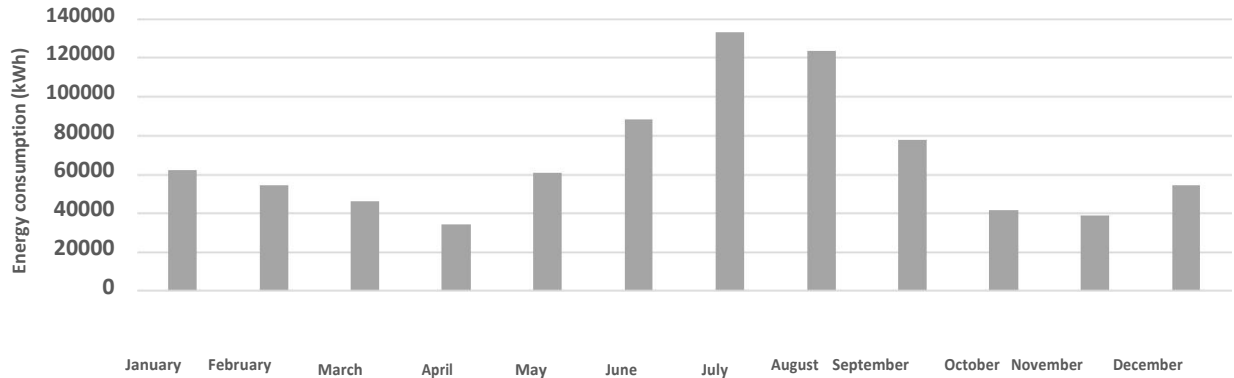


Figura 2 Trend consumi energetici mensili

Il maggior consumo estivo è dovuto per lo più all'assorbimento energetico dei sistemi di raffreddamento, i quali, entrando in funzione da metà maggio a metà settembre portano i consumi energetici ad andare oltre i 10000 kWh mensili.

La dipendenza del consumo energetico con le temperature esterne si nota anche dal fit nella figura seguente.

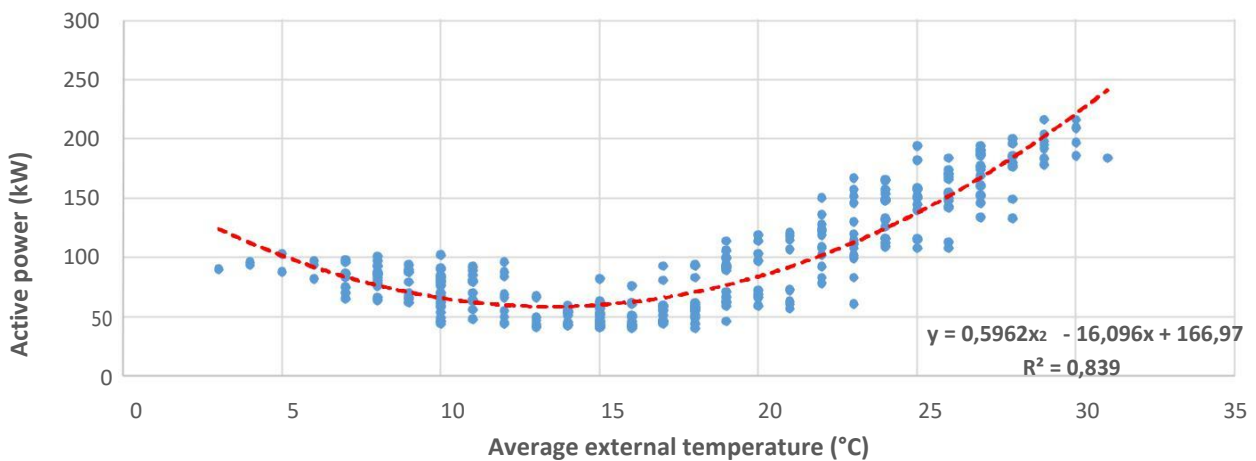


Figura 3 dipendenza della potenza attiva dalla temperatura esterna

Questa figura mostra la relazione tra la potenza attiva misurata durante l'anno (esclusi i giorni festivi) e la temperatura esterna media. In entrambi i casi, sono stati presi in considerazione solo i valori durante le ore di funzionamento del centro commerciale (9:00 - 21:00).

3 Settore idrico

Per questo settore di ricerca è stato preso in esame una società di servizi idrici integrati rivolta esclusivamente al comparto “ambientale” (collettamento e trattamento reflui). Ad oggi la società gestisce l’impianto di depurazione ubicato nel comune di Salerno e ha una rete di circa 85 km di collettori fognari a servizio dell’impianto. Quest’ultimo, con una capacità di progetto di 700.000 AE, è entrato in esercizio il 4 luglio del 1988 con la finalità di sottoporre ai processi depurativi i liquami civili ed industriali provenienti non solo dalla città di Salerno, ma anche dall’area industriale e dai comuni limitrofi, per una portata media annuale di 49Mm³ di reflui trattati.

La società gestisce anche le 10 stazioni di sollevamento (S1 – S6; S8 – S11) facenti parte della rete di collettori, di cui 6 presenti sul litorale salernitano e 4 sul litorale di Pontecagnano Faiano. Sette delle dieci stazioni di sollevamento sono impianti complessi, viste le relative dimensioni ed il numero delle apparecchiature installate, tra cui, per cinque stazioni, anche apposito comparto di grigliatura. Tutto l’impianto con annesse le stazioni di sollevamento, presenta un consumo medio annuale di circa 10 GWh totali. Nella figura seguente si riporta la ripartizione dei consumi energetici tra il depuratore e le stazioni di sollevamento.

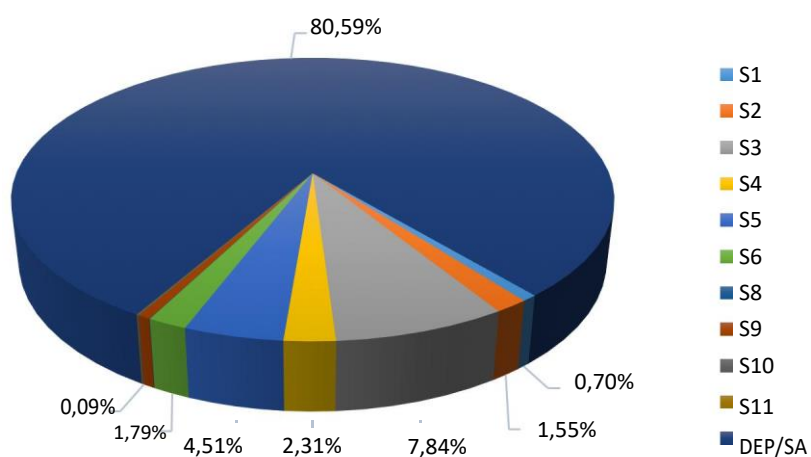


Figura 4 ripartizione consumi energetici

Come si può notare, il depuratore rappresenta circa l’81% dei consumi energetici totali. Di seguito si riporta anche l’andamento dei consumi mensili divisi per depuratore e stazioni di sollevamento.

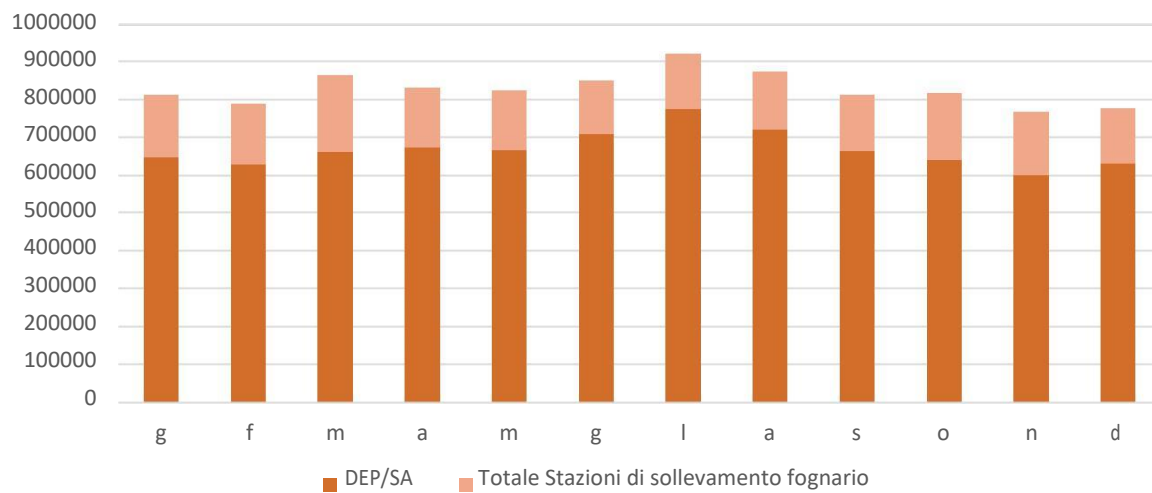


Figura 5 Andamento consumi mensili

ARTICOLI E REPORT PUBBLICATI

1. Di Cicco M.R., Spagnuolo A., Masiello A., Vetromile C., Lubritto C., Nappa M., Corbo G. (2018). Energy monitoring of a Wastewater Treatment Plant in Salerno, Campania region (Southern Italy). In: Proceedings of 2nd WaterEnergyNEXUS – International Conference Proc.
2. Di Cicco M.R., Spagnuolo A., Masiello A., Vetromile C., Lubritto C., Nappa M., Corbo G. (2018). Energy Audit of a large Wastewater Treatment Plant in Salerno (southern Italy) Water Science Technology, submitted
3. Spagnuolo, A., Petraglia, A., Vetromile, C., D'Onofrio, A., Lubritto, C. (2017) Simulation studies of the power consumptions of a base transceiver station Far East Journal of Electronics and Communications, 16 (1), pp. 147-165.

4. Report per Piano Energetico Ambientale Regionale 2017

5. Report progetto di ricerca SIDEKO “Sistema Dati Energetici Aperti e Condivisi”

CARMELA VETROMILE

INFORMAZIONI PERSONALI

- * Nazionalità: Italiana
- * Data di nascita: 12 Ottobre 1974
- * Luogo di nascita: Oliveto Citra (SA)

ESPERIENZA LAVORATIVA

Dal 01/03/2014 al 31/10/2014

Rinnovo Assegno di ricerca, dal titolo “Valutazione mediante simulazioni dell’effetto di riduzione delle emissioni di gas serra per azioni di risparmio energetico previste dai piani di azione per l’energia sostenibile” da svolgersi presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali. Settore disciplinare FIS/07.

Dal 01/02/2013 al 01/02/2014

Assegno di ricerca, dal titolo “Valutazione mediante simulazioni dell’effetto di riduzione delle emissioni di gas serra per azioni di risparmio energetico previste dai piani di azione per l’energia sostenibile” da svolgersi presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali. Settore disciplinare FIS/07.

Dal 01/02/2012 al 01/02/2013

Assegno di ricerca, dal titolo “Realizzazione di piani di azione sostenibile: simulazione di emissioni di gas serra e analisi di azioni di risparmio energetico” da svolgersi presso il Dipartimento di Scienze Ambientali. Settore disciplinare FIS/07.

Dal 13/05/2011 al 03/11/2011

Caserta

Borsa di studio per attività di ricerca presso il Dipartimento di Scienze Ambientali della Seconda Università di Napoli, avente per oggetto “Processi di produzione di idrogeno: impatti ambientali”.

Dal 31 /05/2010 al 03/05/2011

Caserta

Borsa di studio per attività di ricerca presso il Dipartimento di Scienze Ambientali della Seconda Università di Napoli, avente per oggetto “Stima del potenziale di riduzione delle emissioni di inquinanti serra grazie all’uso di miscele di idrogeno e metano e di modelli di trasporto sostenibile”.

Dal 5/11/2009 al 03/05/2010

Caserta

Borsa di studio per attività di ricerca presso il Dipartimento di Scienze Ambientali della Seconda Università di Napoli, avente per oggetto “Simulazioni per l’individuazione di interventi di mobilità sostenibile, di analisi del potenziale di risparmio energetico e d’installazione di impianti basati su fonti rinnovabili in ambito provinciale”.

Dal 03/09/2008 al 03/09/2009

Caserta

Borsa di studio per attività di ricerca presso il Dipartimento di Scienze Ambientali della Seconda Università degli Studi di Napoli, avente per oggetto “Analisi dei Consumi Energetici di stazioni per le radio telecomunicazioni, mediante strumenti statistici e di simulazione”.

Dal 03/03/2008 al 03/09/2008

Aversa (CE)

Borsa di studio per attività di ricerca presso il Dipartimento di Ingegneria dell’Informazione della Seconda Università di Napoli, per la “Realizzazione del Piano Energetico della Provincia di Napoli” avente per oggetto “Realizzazione di modelli per la riduzione delle emissioni di CO₂ e di CO₂ equivalente prodotta nei settori: usi civili, attività produttive e trasporti”.

Dal 31/10/2007 al 31/01/2008

Caserta

Borsa di studio per attività di ricerca presso il Dipartimento di Scienze Ambientali della Seconda Università di Napoli, avente per oggetto “Indicatori ambientali e monitoraggio di campi elettromagnetici”.

Dall’ 08/01/2007 all’ 08/07/2007

Aversa (CE)

Collaborazione coordinata e continuativa con il Dipartimento di Ingegneria dell’Informazione, della Seconda Università di Napoli (SUN), per la “Realizzazione del Piano Energetico della Provincia di Napoli”, in particolare “Stima del fabbisogno energetico” e “Stima delle emissioni di CO₂ equivalente in atmosfera”.

Dal 20/09/2006 al 31/12/2006

Caserta

Collaborazione con il Dipartimento di Scienze Ambientali, della Seconda Università di Napoli, per la “Pianificazione ed il controllo ambientale delle stazioni radio base per la telefonia mobile”.

ATTIVITA’ DIDATTICA

Anno Accademico 2015/2016 e 2016/2017

Tutorato didattico specializzato in Fisica per il corso di laurea in Farmacia DiSTABiF-SUN

Tutor corso di formazione “Certificazione Energetica degli Edifici” accreditato dal MISE/MATTM/MIT ai sensi dell’art. 2 comma 5 del DPR

75/2013 con autorizzazione rilasciata il 19/12/2013, con prot. DIP-EN n.24968

Anno Accademico 2013/2014

Attività didattica per Corso abilitante alla professione di Certificatore Energetico degli Edifici. Argomenti: Fonte energetiche rinnovabili; Riciclo di moduli fotovoltaici; Analisi dell'impronta di carbonio nel ciclo di vita dei panni per la pulizia delle superfici, in fibra poliattiva, ad uso civile ed industriale.

Anno Accademico 2008/2009

Caserta

Collaborazione con la Facoltà di Scienze Ambientali, della Seconda Università di Napoli, nell'ambito delle attività di formazione relative al corso di "Fisica Ambientale Avanzata: Termodinamica dei processi energetici e scambi energetici radiativi".

Anno Accademico 2009/2010

Attività didattica per la materia di Fisica Ambientale, svolta nell'ambito del corso IFTS: "Tecnico superiore per il monitoraggio e la gestione del territorio e dell'ambiente esperto nell'individuazione dei fattori di inquinamento ambientale".

Tutor corso di formazione "Certificazione Energetica degli Edifici"
SACERT

ULTIMO IMPIEGO

Dal 01/12/2017 al 30/11/2018

Assegno di Ricerca in "Analisi, modellazione e simulazione di interventi di power saving per processi industriali" da svolgersi presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche – SSD FIS/07.

Dal 23/09/2011 in corso

Consulente per società private: *+39Energy srl* per le seguenti attività:

- Affiancamento ad oltre 20 PMI per la realizzazione di diagnosi energetiche e piani di monitoraggio energetico per la concessione di contributi a favore delle Piccole e Medie Imprese per la realizzazione di un piano di investimento aziendale di efficientamento energetico (POR F.E.S.R. 2014/2020 ASSE4 "Energia Sostenibile")
- Attività di diagnosi energetica, individuazione e proposta di interventi finalizzati al risparmio energetico per grandi e piccole imprese.
- Certificazioni energetiche per immobili esistenti e di nuova costruzione.

- Detrazioni IRPEF per spese di riqualificazione energetica degli edifici.
- Redazione di screening ambientali, relazioni paesaggistiche, valutazioni di impatto ambientale e relazioni elettromagnetiche per l'autorizzazione degli impianti di produzione di energia elettrica alimentati da fonti energetiche rinnovabili, in particolare:
 - Studio di Impatto Ambientale, con la sintesi non tecnica, ovvero la relazione di screening ove previsto dal D. Lgs 4/08 e s.m.i., di parchi fotovoltaici siti in Regione Campania e Molise.
 - Relazione Paesaggistica per impianto eolico sito in Regione Molise.
- Redazione di relazioni elettromagnetiche, ai sensi della L. 36/01, DPCM 08.07.2003 a firma di tecnico abilitato, riportante la tipologia del cavo, l'individuazione dei siti sensibili e delle sorgenti preesistenti, con allegate misure di fondo ante operam, nonché il calcolo previsionale del campo magnetico, di parchi fotovoltaici siti in Regione Campania.

Dal 30/10/2007 al 01/07/2012

Collaborazione con l'Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA) e con i Gestori di telefonia mobile per il progetto "Nuova Energia per le Telecomunicazioni: risparmio energetico ed applicazione di fonti energetiche rinnovabili per il fabbisogno di stazioni per le Radio telecomunicazioni".

Collaborazione con SEC (Scuola Europea per le Telecomunicazioni) per la pianificazione e l'impatto ambientale di stazioni radio base e radiotelevisive sul territorio del Comune di Blera (VT) e per attività di "Controllo e monitoraggio di campi elettromagnetici per la Regione Puglia".

Collaborazione con Delfino srl per l'attività di diagnosi energetica, individuazione e proposta di interventi finalizzati al risparmio energetico, e con Geos Energia srl per lo studio di fattibilità di impianti fotovoltaici.

Collaborazione con WIND spa per la redazione della Relazione di Sostenibilità Ambientale (VAS) relativa alla realizzazione di interventi di pianificazione di apparati e tecnologie per il miglioramento della qualità dei servizi tradizionali per la rete di telefonia fissa e mobile in tutte le province della Regione Puglia, con l'obiettivo di potenziare la capacità di traffico, di aumentare la copertura geografica del territorio e introdurre nuovi e superiori che consentirà di migliorare la qualità dei servizi tradizionali per fisso e mobile (voce e dati) e di erogare servizi innovativi.

ISTRUZIONE E FORMAZIONE

12/01/2018 *Dottorato di Ricerca in Ambiente, Design e Innovazione*

Dottorato di Ricerca in Ambiente, Design e Innovazione curriculum formativo in "Scienze e tecnologie sostenibili per l'ambiente e il territorio" – Settore Scientifico Disciplinare FIS/07, con una Tesi dal titolo "Gestione Energetica dei sistemi di telecomunicazioni mobili"

21/02/2010 *Abilitazione all'esercizio della professione di Certificatore Energetico*

23/02/2009 *Abilitazione all'esercizio della professione di Biologo* 29/10/2007

Laurea in Scienze e Tecnologie dell'Ambiente e del Territorio

Laurea magistrale in Scienze e Tecnologie dell'Ambiente e del Territorio, conseguita presso la Facoltà di Scienze Ambientali della Seconda Università di Napoli, discutendo una Tesi dal titolo: "Gli Impatti ambientali delle fonti e dei consumi energetici: il Piano Energetico delle Provincia di Napoli". Votazione 107/110.

20/07/2006 *Laurea in Scienze Ambientali*

Laurea magistrale in Scienze Ambientali, conseguita presso la Facoltà di Scienze Ambientali della Seconda Università di Napoli, discutendo una Tesi dal titolo: "Analisi, simulazioni e studio di indicatori ambientali per i campi elettromagnetici". Votazione 106/110.

Corsi di Formazione e Convegni:

20-23/04/2010 *European Energy Conference* Barcellona

26/02/2010 *Corso di Formazione FISCHER* Caserta

"Impianti Solari: verifica delle strutture e dimensionamento".

29-30/10/2009 *Convegno Nazionale ISS* Roma

"Salute e campi elettromagnetici: dalla ricerca alla protezione".

15-29/04/2008 *Corso di Formazione ANEA* Napoli

ATTESTATO di "Certificazione energetica degli edifici".

25/01/2008 *Convegno Geos Energia – Dip. di Scienze ambientali* Caserta

"Il fotovoltaico: un opportunità di sviluppo".

26-27/10/2007 *Convegno Energia e Scienza* Napoli
Ordine dei Chimici della Campania – "Realtà, progetti ed opportunità professionali per i prossimi anni".

01-02-03-04/10/2007 *Convegno INTELEC* Roma International telecommunications energy conference - "Energy and communication: engine of the human progress"

08-09-10/03/2007 *Formazione EnergyMed* Napoli Efficienza energetica: rapporti fra pubblica amministrazione, energy manager ed operatori.

Mobilità sostenibile: opportunità e prospettive.

La qualità dell'aria e le emissioni veicolari.

15/11/2006 *Corso di Formazione COMIECO* Caserta
Rifiuti di Imballaggio Cellulosici: aspetti tecnici e gestione.

15/11/2002 *Corso di Formazione ENEA* Roma
Ecomanagement, audit ambientale e sistemi di gestione integrata

CAPACITÀ E COMPETENZE PERSONALI

Madrelingua: Italiano

Altra Lingua: Inglese

CAPACITÀ E COMPETENZE RELAZIONALI

Ha praticato come attività sportive il nuoto e la ginnastica artistica, oggi invece pratica lo spinning.

Ha svolto lezioni private ad allievi di scuola media superiore relativamente a materie scientifiche ed umanistiche.

CAPACITÀ E COMPETENZE ORGANIZZATIVE

Ottima capacità di relazione e di lavorare in gruppo, eccellente capacità organizzativa, affidabilità, maturità personale, leadership, determinazione nel perseguire gli obiettivi, flessibilità.

CAPACITÀ E COMPETENZE TECNICHE E STRUMENTALI

Ottima conoscenza uso **PC**.

Buona conoscenza del Sistema Operativo **Windows**.

Ottima conoscenza del pacchetto **Microsoft Office**.

Buona conoscenza di software per analisi statistiche **Excel, R-Foudation for Statistical Computing**.

Ottimo utilizzo **Distanziometri** e **GPS**.

Ottimo utilizzo della strumentazione per le misure di campi elettromagnetici, analizzatore di spettro e relativi software per l'acquisizione dei dati sul PC.

Ottima conoscenza di software per la simulazione e previsione di campi elettromagnetici: **VICREM**.

Ottima conoscenza di software per la stima delle emissioni di CO₂ per i settori industriale, civile, trasporto e di impatto di fonti rinnovabili: **COPERT IV** e **GEMIS 4.3**.

Ottima conoscenza di software per la certificazione energetica degli edifici:
TERMOLOG EPIX 9, TERMIPLAN 2018 NAMIRIAL, BLUMATICA.

Ottimo utilizzo **TERMOCAMERA, TERMOFLUSSIMETRO, ANALIZZATORE DI RETE.**

CAPACITÀ E COMPETENZE ARTISTICHE

Eccellente conoscenza delle principali tecniche per il disegno tecnico e artistico.

Decoupage.

Ottima conoscenza dei programmi di disegno e trattamento delle immagini:
Photoshop.

PUBBLICAZIONI NAZIONALI E INTERNAZIONALI

Anno 2016

A. Spagnuolo, A. Petraglia, **C. Vetromile**, A. D'Onofrio, e C. Lubritto, *Simulation studies of the power consumptions of a base transceiver station on the energy consumption savings versus the service quality in mobile telecommunications*. Far East Journal of Electronics and Communications, Volume 16, Number 1, 2016, Pages 147-165. ISSN 0973-7006

Anno 2015

Spagnuolo, A. Petraglia, **C. Vetromile**, R. Formosi, and C. Lubritto, *Monitoring and optimization of energy consumption of base transceiver stations*. Energy (2015), Volume 81, Pages 286–293.
doi:10.1016/j.energy.2014.12.040

A. Petraglia, A. Spagnuolo, **C. Vetromile**, A. D'Onofrio, C. Lubritto. *Heat flows and energetic behavior of a telecommunication radio base station*“. Energy (2015), Volume 89, Pages 75–83.
doi:10.1016/j.energy.2015.07.044

13-17/10/2013 INTELEC 2013 Hamburg A. Spagnuolo, A. Petraglia, **C. Vetromile**, A. D'Onofrio, e C. Lubritto, *Studies on the energy consumption savings versus the service quality in mobile telecommunications*. Telecommunications Energy Conference, 2010. INTELEC 2013. 35st International, 2013, pagg. 1–4.

31/12/2010 “Energy and environmental aspects of mobile communication systems” Energy, vol.36, Issue 2, pp.1109 – 1114 (February 2011).

06/06/2010 INTELEC 2010 Orlando, FL, USA
“New models for BTS energy savings strategies” – Telecommunications Energy Conference (Proceedings), art. n. 5525710.

20/02/2009 INTELEC 2019 Corea del Sud
“Simulation analysis and test study of BTS power saving techniques” -
Telecommunications Energy Conference, 2009. INTELEC 2009. IEEE 31th
International, pp.1-4 (2009).

18/09/2008 INTELEC 2018 San Diego
“Telecommunication Power Systems: Energy Saving, Renewable Sources and
Environmental Monitoring”- Telecommunications Energy Conference, 2008.
INTELEC 2008. IEEE 30th International. IEEE Report CFF08INTC (2008)
pp. 159-163.

03/10/2007 INTELEC 2017 Roma
“New Energy for Telecommunications Power
Systems” – Telecommunications Energy Conference, 2007. INTELEC 2007.
IEEE 29th International. Report CFP071INTC (2007) pp.443.

CONVEGNI E REPORT

15/05/2006 *Convegno Internazionale di Radioprotezione* Parigi
“Monitoring Electro - Magnetic Field in Urban Areas: New Set-Ups and Results” –
Proceedings of the Second European IRPA Congress, Paris 2006.

15/09/2005 *Convegno Nazionale di Radioprotezione* Catania
“Due sistemi complementari di misura e controllo del campo elettromagnetico in ambiente
urbano”. Congresso AIRP, Catania 15-17 Settembre 2005.

02/04/2010 *Provincia di Caserta* Caserta
“Realizzazione del Piano Energetico Ambientale della Provincia di Caserta”
- Dipartimento di Scienze Ambientali, Dipartimento di Ingegneria
dell’Informazione e Dipartimento di Ingegneria Aerospaziale e Meccanica
della Seconda Università di Napoli.

01/2010 *Rapporto ISPRA* Roma
Presentazione dei risultati del progetto di ricerca “Impianti per Telecomunicazioni:
Ottimizzazione Energetica e Controllo Ambientale”. ISBN 978-88-448-0443-5.
ISPRA Sez. Editoria

31/03/2009 *Rapporto tecnico* Regione Puglia “Controllo e Monitoraggio dei
Campi Elettromagnetici per la Regione Puglia”.

10/03/2009 *Provincia di Caserta* Caserta
“Realizzazione delle Linee di Indirizzo Strategico nell’ambito del Piano
Energetico Ambientale della Provincia di Caserta” - Dipartimento di Scienze
Ambientali, Dipartimento di Ingegneria dell’Informazione e Dipartimento di
Ingegneria Aerospaziale e Meccanica della Seconda Università di Napoli.

25/02/2009 *ARPAC – Provincia di Napoli* Napoli
“Realizzazione del Piano Energetico Ambientale della Provincia di Napoli”
Dipartimento di Scienze Ambientali, Dipartimento di Ingegneria

dell'Informazione e Dipartimento di Ingegneria Aerospaziale e Meccanica della Seconda Università di Napoli.

31/12/08 *Rapporto Tecnico* Caserta
“Studio di fattibilità di impianti fotovoltaici da realizzare su immobili della Provincia di Caserta”.

20/07/2007 *ARPAC – Provincia di Napoli* Napoli
“Realizzazione della Banca Dati Energetica Propedeutica al Piano Energetico della Provincia di Napoli” - Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione e Dipartimento di Scienze Ambientali della Seconda Università di Napoli.

07-08-09/06/2006 *Convegno Nazionale di Radioprotezione* Biella
“Monitoraggio e modellazione dei campi elettromagnetici sul territorio della Regione Campania”.
“Controllo Ambientale degli agenti fisici: dal monitoraggio alle azioni di risanamento e bonifica”.

Piani di Azione di Energia Sostenibile (PAES) approvati dal **Joint Research Centre (JRC)** e pubblicati sul sito dell'Unione Europea.

I JOINT PAES approvati sono:

JOINT PAES “ALENTO MONTE STELLA”
http://mycovenant.eumayors.eu/docs/seap/3411_1373618224.pdf

JOINT PAES “BUSSENTO LAMBRO E MINGARDO”
http://mycovenant.eumayors.eu/docs/seap/6008_1374828584.pdf

JOINT PAES “AGROPOLI”
http://mycovenant.eumayors.eu/docs/seap/2118_1371204616.pdf

JOINT PAES “BATTIPAGLIA E MONTECORVINO PUGLIANO”
http://mycovenant.eumayors.eu/docs/seap/3346_1370245514.pdf

JOINT PAES “CALORE E ALBURNI”
http://mycovenant.eumayors.eu/docs/seap/5482_1373014728.pdf

JOINT PAES “EBOLI”
http://mycovenant.eumayors.eu/docs/seap/5165_1371805382.pdf

JOINT PAES “GELBISON CERVATI”
http://mycovenant.eumayors.eu/docs/seap/6007_1375260915.pdf

JOINT PAES “GOLFO DI POLICASTRO”
http://mycovenant.eumayors.eu/docs/seap/5462_1370598281.pdf

JOINT PAES “VALLO DI DIANO E TANAGRO”

http://mycovenant.eumayors.eu/docs/scap/5888_1372241149.pdf

JOINT PAES "TRENTOLA DUCENTA"

https://www.pattodeisindaci.eu/about-it/la-comunit%C3%A0-del-patto/firmatari/piano-d-azione.html?scity_id=5381

JOINT PAES "SESSA AURUNCA"

https://www.pattodeisindaci.eu/about-it/la-comunit%C3%A0-del-patto/firmatari/piano-d-azione.html?scity_id=7318

ULTERIORI INFORMAZIONI

"La Sottoscritta nata ad Oliveto Citra (SA) il 12/10/1974, dichiara di essere consapevole delle sanzioni penali, nel caso di dichiarazioni mendaci, di formazione o uso di atti falsi, richiamate dall'art. 76 del D.P.R. n.445 del 28/12/2000 in materia di Documentazione Amministrativa, inoltre si autorizza al trattamento dei dati sopra riportati, ai sensi dell'art. 13 del d.lgs.196/2003". La Sottoscritta dichiara di impegnarsi a garantire la propria disponibilità per l'esecuzione dell'incarico esclusivamente a favore del soggetto proponente.

RESO SOTTO FORMA DI DICHIARAZIONE SOSTITUTIVA DI CERTIFICAZIONE (art. 46 e 47 D.P.R. 445/2000).

Aggiornato al 30/10/2018



Università degli Studi della Campania

Luigi Vanvitelli

**Dipartimento di Scienze e Tecnologie
Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche**

**Bando di concorso per il conferimento di n. 58 assegni
per lo svolgimento di attività di ricerca
Decreto Prot. n. 134673 del 26.09.2017**

Relazione Finale del Progetto di Ricerca

***Analisi della biodiversità vegetale e del combustibile
in aree sperimentali di fuoco prescritto***

Caserta, 03.12.2018

Assegnista: *Dott. Adriano Stinca*

Tutor: *Prof.ssa Assunta Esposito*

1. Introduzione e obiettivi

Il bacino del Mediterraneo, per l'elevata ricchezza di endemiti e le minacce cui sono sottoposti gli habitat di quest'area, rappresenta uno dei principali hotspot del pianeta. Tra i fattori di disturbo figurano gli incendi i quali regolano la coesistenza delle specie e, di conseguenza, determinano le tipologie di vegetazione presenti. In quest'area la problematica degli incendi, ed in particolare quelli boschivi, negli ultimi anni è diventata una vera e propria emergenza in relazione soprattutto agli ettari interessati ed ai danni economici che ne derivano. La gestione di questo fenomeno è stata spesso affidata ad azioni finalizzate all'estinzione del fuoco che, non prendendo in considerazione le cause scatenanti gli incendi, non possono essere risolutive di tale emergenza. In tempi più recenti l'attenzione dei ricercatori è stata dunque rivolta ai fattori predisponenti il rischio di incendi e, tra questi, figura l'accumulo di biomasse secche. Tra le diverse tecniche di gestione di tali combustibili, figura il "fuoco prescritto" che è definito come *una tecnica di applicazione esperta, consapevole e autorizzata del fuoco su superfici pianificate, adottando precise prescrizioni e procedure operative, per conseguire specifici obiettivi integrati nella pianificazione territoriale*. Con questo approccio è possibile ottenere, pertanto, la prevenzione degli incendi boschivi mediante la riduzione delle biomasse senza alterare le caratteristiche del suolo e della vegetazione.

L'elemento chiave del fuoco prescritto è rappresentato dalle "*prescrizioni*", ovvero tutte quelle indicazioni di carattere progettuale relative a stagione e frequenza dell'intervento, finestre ambientali in cui operare (es. umidità della lettiera, umidità e temperatura dell'aria, velocità e direzione del vento, umidità dei combustibili) e tecniche di accensione da adottare (es. contro vento e pendenza). Le prescrizioni consentono dunque di evitare effetti indesiderati (es. scottatura della chioma degli alberi o erosione del suolo) e forniscono agli operatori uno strumento decisionale per lavorare in massima sicurezza e nei tempi pianificati.

Rispetto ad Australia, USA e Sud Africa, dove l'applicazione del fuoco prescritto è ormai consolidata, in Italia le ricerche su questo argomento ed il suo utilizzo sono ancora scarsi. La regione Campania risulta l'unica regione italiana ad aver autorizzato e regolamentato, di recente, l'applicazione della tecnica in campo agro-silvo-pastorale (Legge Regionale n. 20 del 13 giugno 2016) sebbene non si disponga ancora di conoscenze adeguate relative all'effetto del fuoco prescritto sulla maggior parte degli ecosistemi e, dunque, di idonei protocolli di applicazione.

Nel corso di questo progetto di ricerca sono stati quindi valutati gli effetti, a breve e medio termine, del fuoco prescritto su alcune fitocenosi del territorio del Parco Nazionale del Cilento,

Vallo di Diano e Alburni (Campania, Sud Italia) al fine di fornire indicazioni adeguate per finestre operative ed implementare i protocolli operativi di supporto alle operazioni di fuoco prescritto. In particolare, gli obiettivi specifici del progetto sono stati:

- valutare l'impatto ecologico del fuoco prescritto sulle comunità vegetali in termini di biodiversità e dinamismo della vegetazione;
- valutare l'efficacia del fuoco prescritto nel contenere e/o contrastare l'invasività di specie alloctone e, viceversa, nel favorire il mantenimento di specie di interesse conservazionistico;
- valutare le relazioni tra struttura della vegetazione e parametri del fuoco al fine di definire tipologie di combustibili per la modellizzazione previsionale di comportamento del fuoco prescritto;
- elaborare protocolli applicativi validi per la gestione delle aree esaminate.

2. Attività svolte

Le diverse fasi del lavoro sono state svolte, con piccoli aggiustamenti, secondo il cronoprogramma riportato nel progetto dell'Assegno di Ricerca. In particolare, i primi tre mesi sono stati dedicati all'analisi della letteratura disponibile (es. pubblicazioni scientifiche, report del Parco su attività di fuoco prescritto) e alla definizione dei protocolli d'indagine. Nel corso dei restanti nove mesi sono stati eseguiti i rilievi in campo, le attività di laboratorio per la determinazione dei campioni vegetali raccolti, l'archiviazione elettronica dei dati rilevati in un database e la stesura della presente relazione.

2.1. Materiali e metodi

2.1.1. Aree di studio

I siti indagati localizzati nel territorio del Parco Nazionale del Cilento, Vallo di Diano e Alburni, sono i seguenti.

- Ampelodesmeto, ubicato nel comune di San Mauro Cilento (area 1);
- Pineta a Pino d'Aleppo, ubicata nel comune di Centola (area 2);
- Cerreta, ubicata nel comune di Campora (area 3);
- Formazioni a specie aliene legnose (Acacia saligna, Ailanto, Ricino e Robinia), ubicate nel comune di Camerota (area 4).

Poiché nelle prime tre aree tra il 2009 ed il 2013 sono stati condotti esperimenti di fuoco prescritto, nel corso del 2018 sono stati eseguiti rilievi della vegetazione al fine di monitorarne l'evoluzione. In ciascun sito di studio, oltre all'area del contiere di fuoco prescritto, è stata individuata una superficie non trattata come controllo. L'area 4 invece, non essendo riportata nel progetto dell'Assegno di Ricerca, è stata aggiunta successivamente in quanto è stata riscontrata una forte espansione di queste piante legata alle attività antropiche perpetrate sul territorio. La conoscenza di queste formazioni, pertanto, risulta essenziale ai fine di predisporre progetti di contenimento o eradicazione.

La localizzazione cartografica dei 4 siti oggetto di studio è riportata in figura 1.

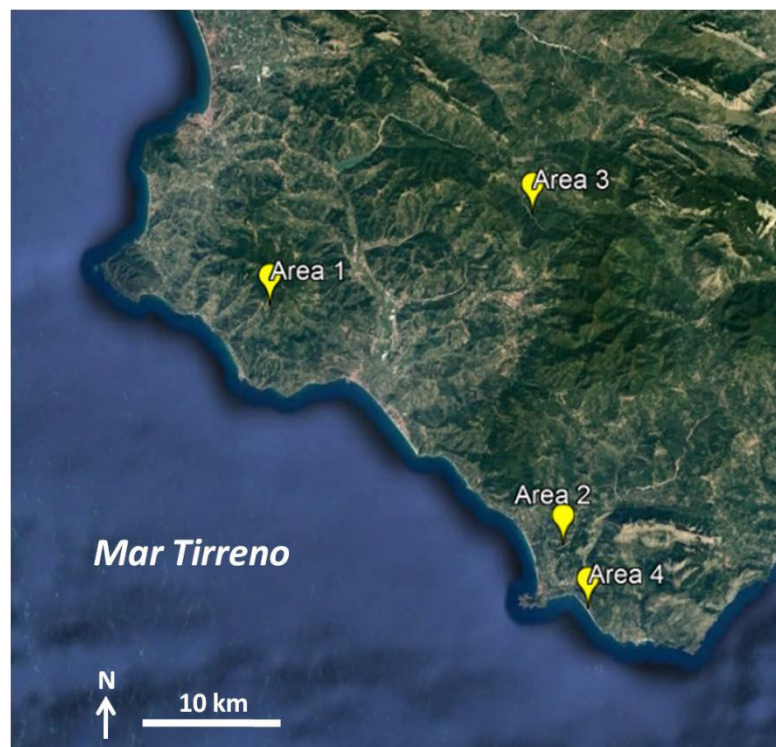


Figura 1. Localizzazione cartografica delle aree di studio nel Parco Nazionale del Cilento, Vallo di Diano e Alburni (Area 1: Ampelodesmeto, comune di San Mauro Cilento. Area 2: Pineta a Pino d'Aleppo, comune di Centola. Area 3: Cerreta, comune di Campora. Area 4: Formazioni a specie aliene legnose, comune di Camerota).

L'area 2, essendo stata interessata nel corso della primavera 2017 da un incendio e dunque poco prima di avviare il lavoro di campo, è stata esclusa dallo studio in quanto i dati eventualmente rilevati sarebbero stati certamente inficiati da tale fenomeno di disturbo.

2.1.2. Metodologia d'indagine

Nelle tre aree oggetto di monitoraggio, nel periodo primaverile-estivo 2018, sono stati condotti sopralluoghi e rilievi di campo sulla componente vegetale secondo protocolli diversificati per ciascun sito e di seguito descritti.

Area 1. Ampelodesmeto (San Mauro Cilento)

Il monitoraggio floristico-vegetazionale è stata eseguito mediante l'applicazione del metodo fitosociologico. Tale metodologia consente di mettere in evidenza i rapporti quali-quantitativi con cui le piante tendono ad occupare lo spazio, geografico ed ecologico, di un determinato territorio, in equilibrio dinamico con tutti i fattori ambientali, abiotici e biotici, che lo caratterizzano. Nel dettaglio, la metodica prevede l'individuazione, all'interno della fisionomia vegetazionale oggetto di analisi, di un ambito omogeneo dal punto di vista abiotico e biotico (area di saggio). All'interno di quest'ambito si procede al censimento di tutte le specie vegetali presenti attribuendo ad esse il relativo valore di copertura, inteso come grado di ricoprimento dell'area minima di saggio, secondo le seguenti 8 classi:

r: specie rara e che ricopre per meno dell'1%;

+: specie che ricopre per meno dell'1%;

1: specie che ricopre dall'1% al 5%;

2a: specie che ricopre dal 5% al 15%;

2b: specie che ricopre dal 15% al 25%;

3: specie che ricopre dal 25% al 50%;

4: specie che ricopre dal 50% al 75%;

5: specie che ricopre dal 75% al 100%.

Nel sito oggetto di indagine, la metodologia su indicata è stata applicata secondo due diverse scale di osservazione. La prima ha previsto l'esecuzione di n. 24 rilievi (n. 12 in aree interessate da fuoco prescritto [F] e n. 12 in aree controllo [C]) in plot di forma quadrata di 2x2 m (figura 2), mentre la seconda ha riguardato n. 6 rilievi (n. 3 in aree bruciate [FitoF] e n. 3 in aree controllo [FitoC]) in aree di saggio di 10x10 m (figura 3). Il lavoro di campo è stato svolto il 03-04.07.2017 e tutte le aree rilevate sono state scelte casualmente nel sito di studio.

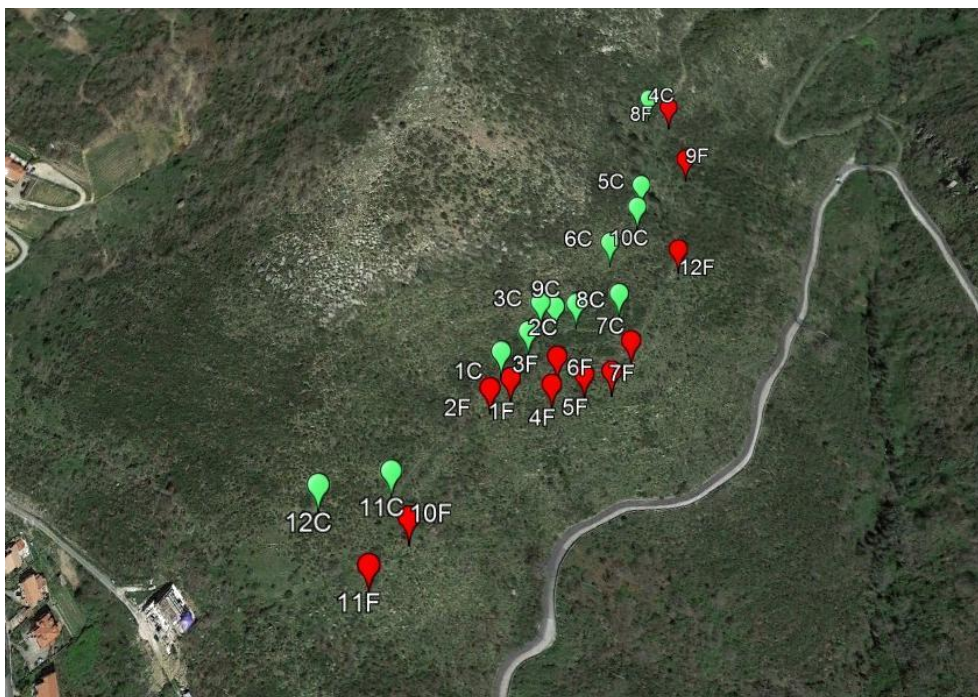


Figura 2. Localizzazione cartografica dei plot 2x2 m rilevati nell'ampelodesmeto di San Mauro Cilento (Area 1) (1F-12F: plot in aree trattate con fuoco prescritto, in rosso; 1C-12C: plot in aree controllo, in verde).



Figura 3. Localizzazione cartografica dei plot 10x10 m rilevati nell'ampelodesmeto di San Mauro Cilento (Area 1) (1FitoF-3FitoF: plot in aree trattate con fuoco prescritto, in rosso; 1FitoC-3FitoC: plot in aree controllo, in verde).

Ogni rilievo ha previsto anche il rilevamento dei dati stazionali, quali: coordinate geografiche (rilevate mediante l'utilizzo di un GPS portatile Garmin, WGS84 fuso 33 T), quota (m s.l.m.), esposizione, inclinazione (°), copertura rocciosità (%), copertura suolo nudo (%), copertura lettiera (%), copertura muschi e licheni (%), copertura totale della vegetazione (%), altezza (m) e copertura dei vari strati delle vegetazione (%). Per ciascuna area di saggio è stata anche realizzata la necessaria documentazione fotografica.

Area 3. Cerreta (Campora)

Anche in questo sito di studio per l'analisi della vegetazione ci si è avvalsi del metodo fitosociologico precedentemente descritto. Nel dettaglio, il 07-08.08.2018 sono stati eseguiti di n. 10 rilievi (n. 5 in aree interessate da fuoco prescritto [B] e n. 5 in aree controllo [C]) in plot di forma quadrata di 10x10 m nelle stesse aree in cui furono eseguiti i rilievi nel 2013 (figura 4).

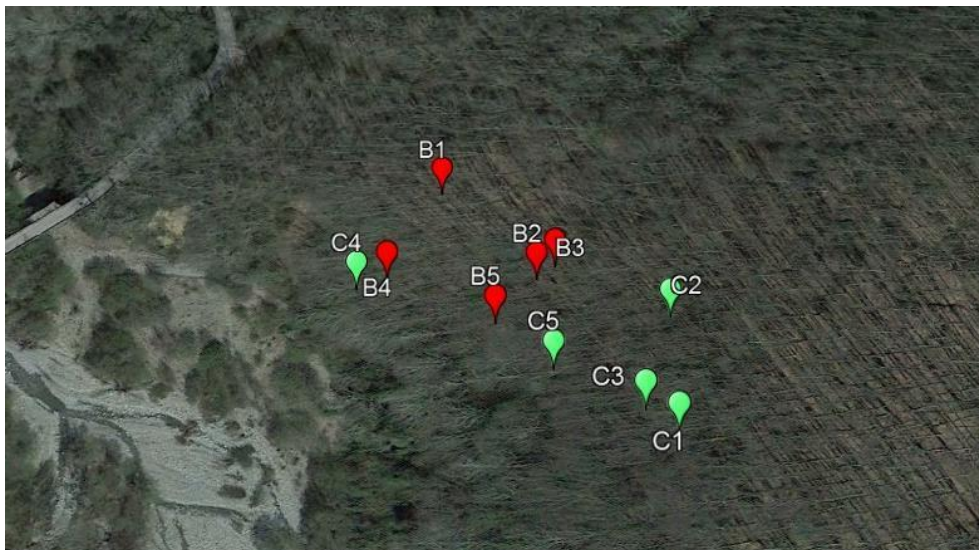


Figura 4. Localizzazione cartografica dei plot 10x10 m rilevati nella cerreta di Campora (Area 3) (1B-5B: plot in aree trattate con fuoco prescritto, in rosso; 1C-5C: plot in aree controllo, in verde).

All'interno di questi plot, al fine di caratterizzare il microhabitat, sono stati scelti casualmente 2 punti in corrispondenza dei quali sono stati posizionati orientati secondo i 4 punti cardinali ed a distanza di 1 m dal punto centrale, 4 subplot di 1x1 m (figura 5).

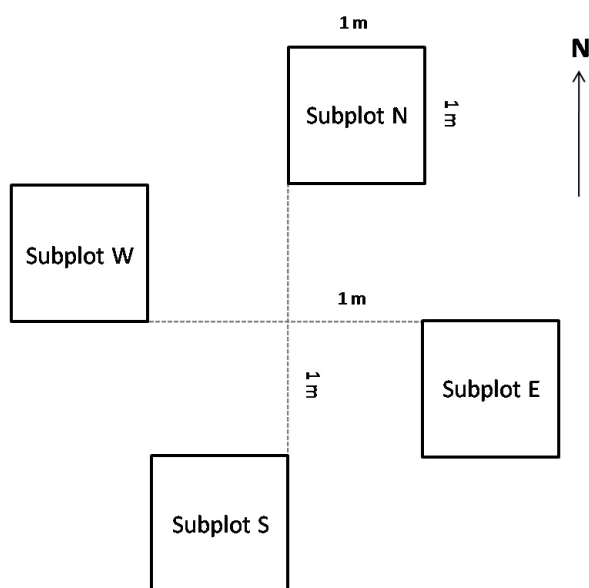


Figura 5. Schematizzazione dei subplot per lo studio del microhabitat nella cerreta di Campora (Area 3).

In tali subplot, oltre ai dati stazionali e strutturali della vegetazione, sono state censite tutte le specie vascolari, attribuito a ciascuna di esse il relativo valore di copertura percentuale assoluto e valutato il numero di plantule (altezza ≤ 30 cm) delle specie legnose forestali specificando anche la loro origine (gamica o agamica).

Area 4. Formazioni a specie aliene legnose (Camerota)

Anche in questo sito di studio per l'analisi della vegetazione ci si è avvalsi del metodo fitosociologico precedentemente descritto. Nel dettaglio, il 03.07.2018 sono stati eseguiti di n. 4 rilievi nelle seguenti fitocenosi (figura 6):

- Formazione ad *Acacia saligna* (As);
- Formazione ad *Ailanthus altissima* (Aa);
- Formazione a prevalenza di *Ricinus communis* (Rc);
- Formazione a *Robinia pseudoacacia* (Rp).

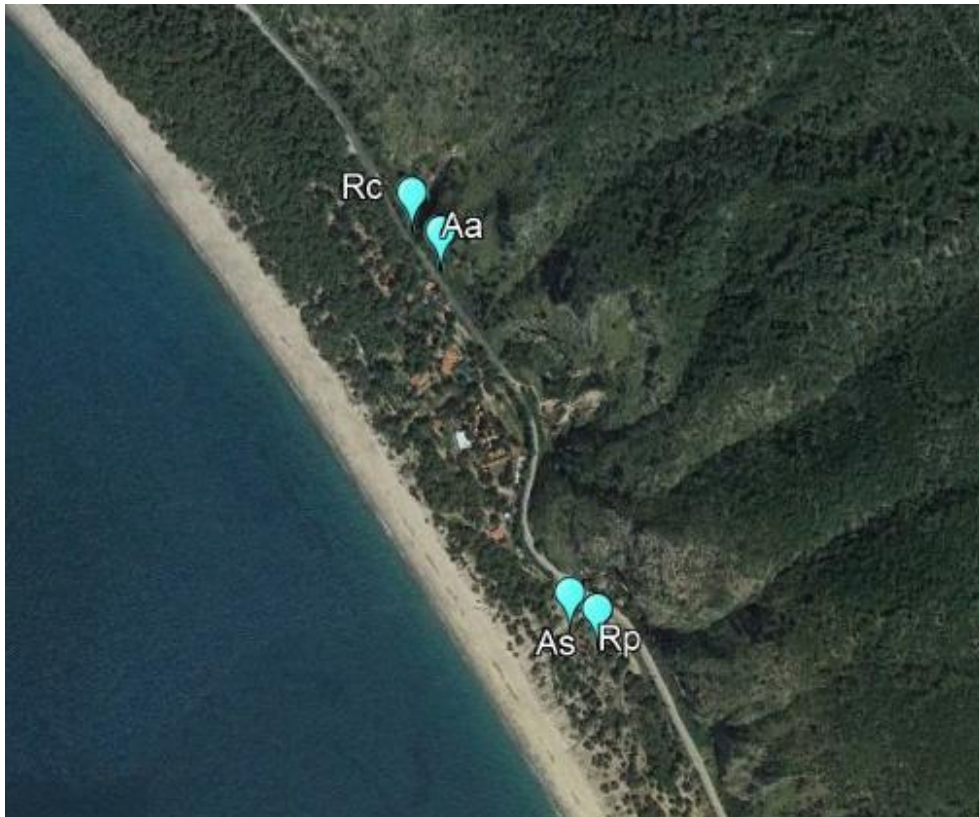


Figura 6. Localizzazione cartografica delle formazioni a specie aliene legnose rilevate a Camerota (Area 4) (As: cenosi ad *Acacia saligna*; Aa: cenosi ad *Ailanthus altissima*; Rc: cenosi a *Ricinus communis*; Rp: cenosi a *Robinia pseudoacacia*).

2.1.3. Analisi dati

Il riconoscimento delle specie rinvenute nel corso dei rilievi è stato eseguito direttamente in campo e, solo per le entità critiche, nei laboratori di Botanica del DISTABIF mediante l'utilizzo di flore analitiche standard quali *Flora Europaea* e *Flora d'Italia*. La nomenclatura delle specie è stata riportata secondo *An annotated checklist of the Italian vascular flora* e le successive integrazioni. I dati rilevati sono stati quindi elaborati statisticamente attraverso analisi semplici e multivariate.

3. Risultati

Di seguito vengono riportati i risultati relativi ai diversi siti di studio.

3.1. Area 1. Ampelodesmeto (San Mauro Cilento)

Una prima analisi dei rilievi eseguiti evidenzia una maggiore diversità floristica media nelle aree trattate con fuoco prescritto rispetto a quelle non trattate sia nei plot di 4 m² (figura 7) sia nelle aree di 25 m² (figura 8).

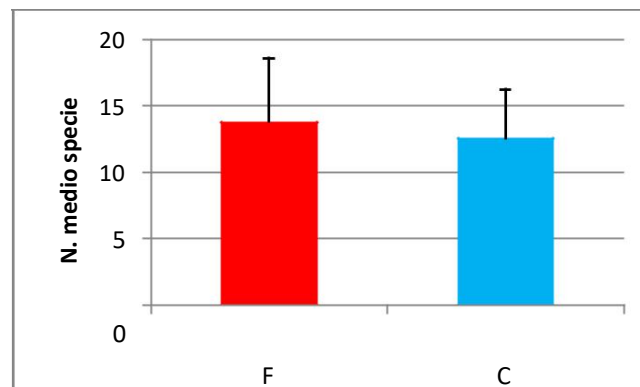


Figura 7. Numero medio delle specie rilevato nei plot di forma quadrata di 2x2 m in aree interessate da fuoco prescritto (F) e in aree controllo (C).

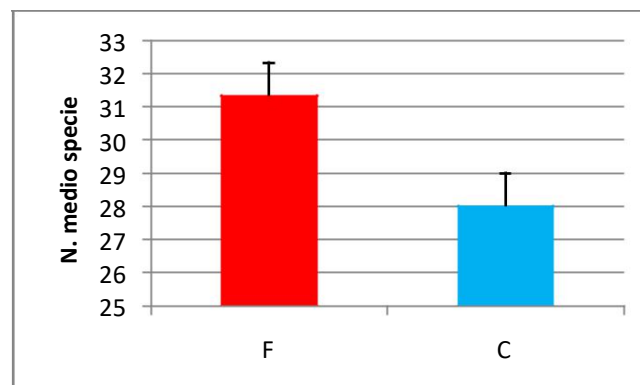


Figura 8. Numero medio delle specie rilevato nei plot di forma quadrata di 5x5 m in aree interessate da fuoco prescritto (F) e in aree controllo (C).

Nelle aree interessate dal fuoco prescritto non sono state rilevate specie aliene. Questi dati confermano l'effetto del fuoco prescritto nell'incrementare i livelli di biodiversità delle aree trattate.

3.2. Area 3. Cerreta (Campora)

L'analisi dei dati mostra differenze non significative del numero di specie medio tra i plot (100 m²) trattati e non trattati con fuoco prescritto sia nei rilievi del 2013 sia in quelli del 2018 (figura 9).

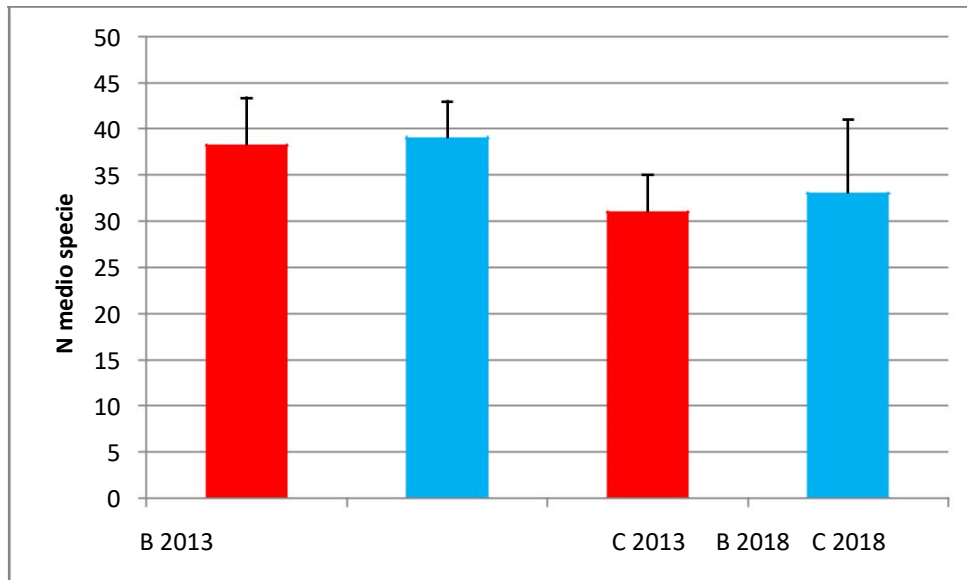


Figura 9. Numero medio delle specie rilevato nei plot di forma quadrata di 10x10 m in aree interessate da fuoco prescritto (B) e in aree controllo (C) rilevati nel 2013 e nel 2018.

Nei siti trattati con fuoco prescritto non sono stati riscontrati fenomeni invasivi da parte di specie alloctone.

Per quanto concerne i trend di alcune specie ritenute significative della cerreta indagata, è possibile notare come *Brachypodium sylvaticum* (Huds.) P. Beauv. subsp. *sylvaticum* e *Drymochloa drymeja* (Mert. & Koch) Holub subsp. *exaltata* (C.Presl) Foggi & Signorini siano positivamente stimolate dal fuoco prescritto (figure 10 e 11). Entrambe queste specie, infatti, mostrano un incremento della loro percentuale di copertura nei plot bruciati rilevati nel 2018 rispetto al 2013. Il dato di *B. sylvaticum* misurato nell'ultima campagna di rilevamenti, inoltre, risulta essere maggiore dei siti controllo.

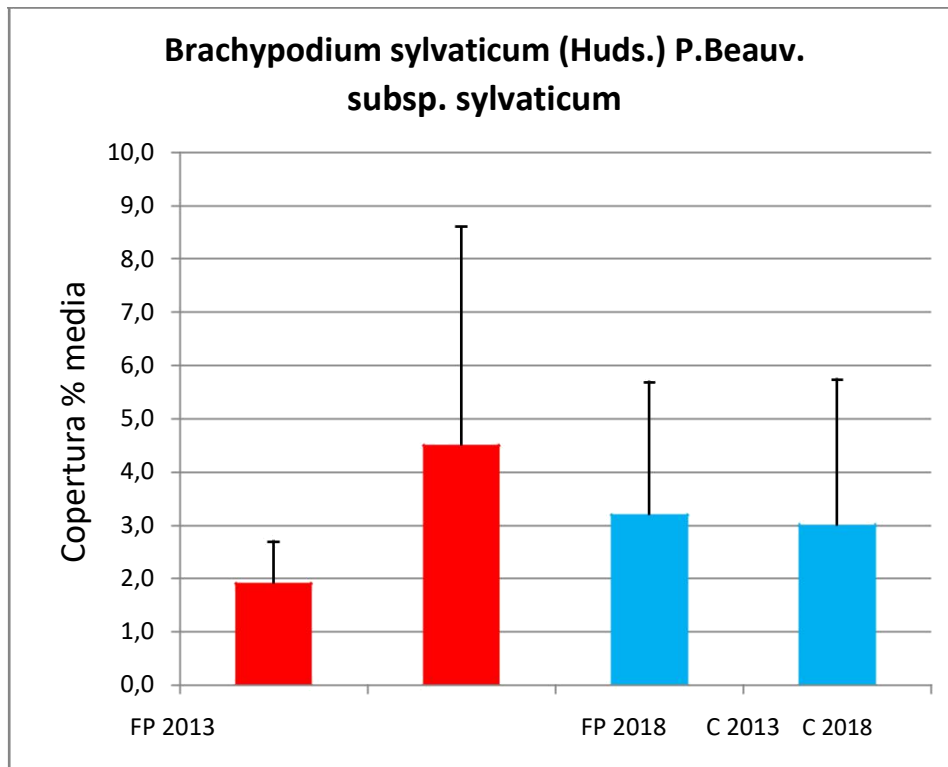


Figura 10. Copertura percentuale media di *Brachypodium sylvaticum* (Huds.) P. Beauv. subsp. *sylvaticum* nei plot di forma quadrata di 10x10 m in aree interessate da fuoco prescritto (FP) e in aree controllo (C) rilevati nel 2013 e nel 2018.

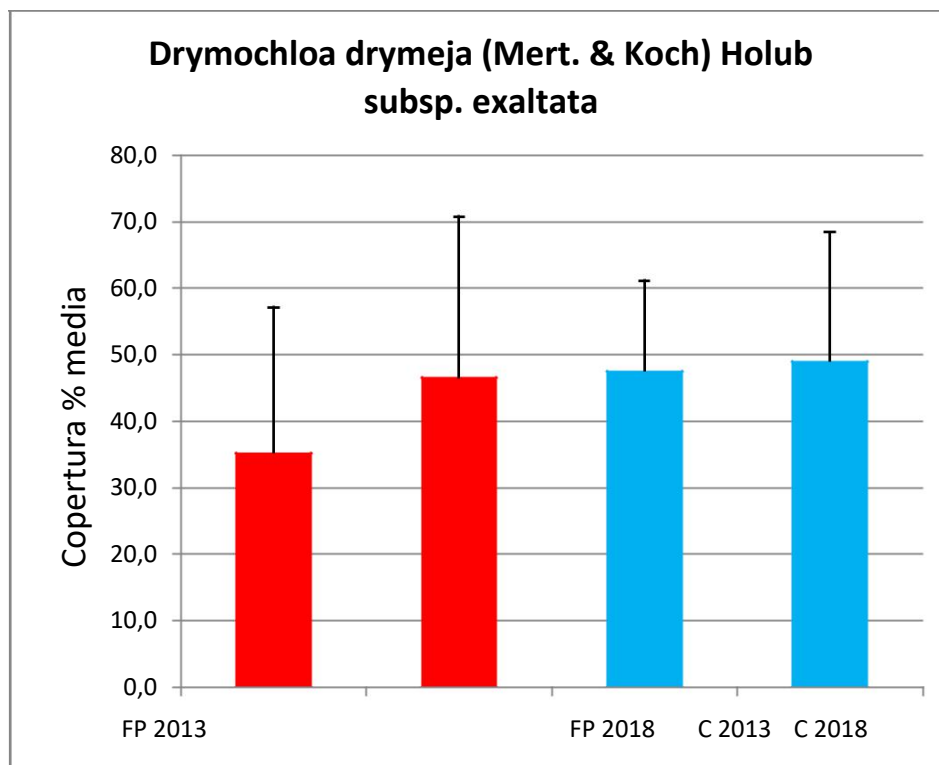


Figura 11. Copertura percentuale media di *Drymochloa drymeja* (Mert. & Koch) Holub subsp. *exaltata* (C.Presl) Foggia & Signorini nei plot di forma quadrata di 10x10 m in aree interessate da fuoco prescritto (FP) e in aree controllo (C) rilevati nel 2013 e nel 2018.

Molto interessante risulta essere anche l'andamento di *Lathyrus jordanii* Ten. in quanto nel 2018 è stata riscontrata una riduzione della sua copertura in tutti i plot rilevati. L'incidenza di questa specie, tuttavia, è diminuita di circa il 30% nei siti bruciati rispetto al del 50% nelle aree controllo.

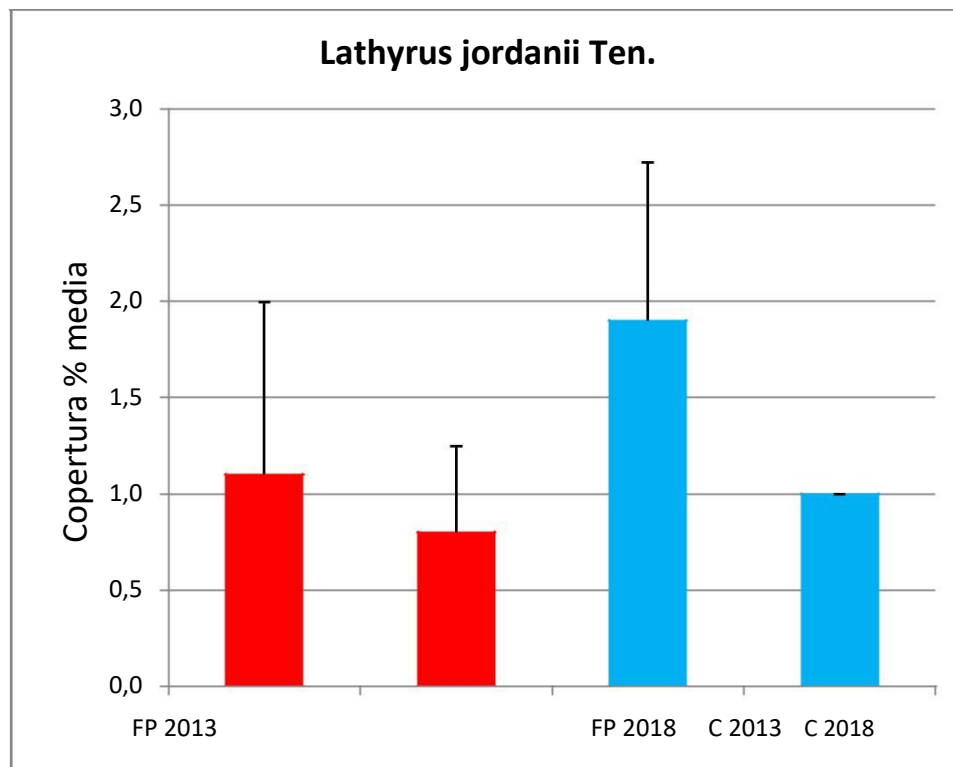


Figura 12. Copertura percentuale media di *Lathyrus jordanii* Ten. nei plot di forma quadrata di 10x10 m in aree interessate da fuoco prescritto (FP) e in aree controllo (C) rilevati nel 2013 e nel 2018.

Per quanto riguarda i dati rilevati nei 4 subplot di 1x1 m al fine di caratterizzare il microhabitat, a titolo esemplificativo si riporta il caso di *Drymochloa drymeja* (Mert. & Koch) Holub subsp. *exaltata* (C.Presl) Foggi & Signorini (figura 13). L'analisi del grafico evidenzia come questa specie presenti un livello di copertura media nettamente maggiore nei plot trattati rilevati del 2013. Tale differenza di copertura è invece quasi nulla nei rilievi del 2018. Questo andamento suggerisce che fuoco prescritto determina un disturbo i cui effetti sono in breve tempo assorbiti dall'ecosistema.

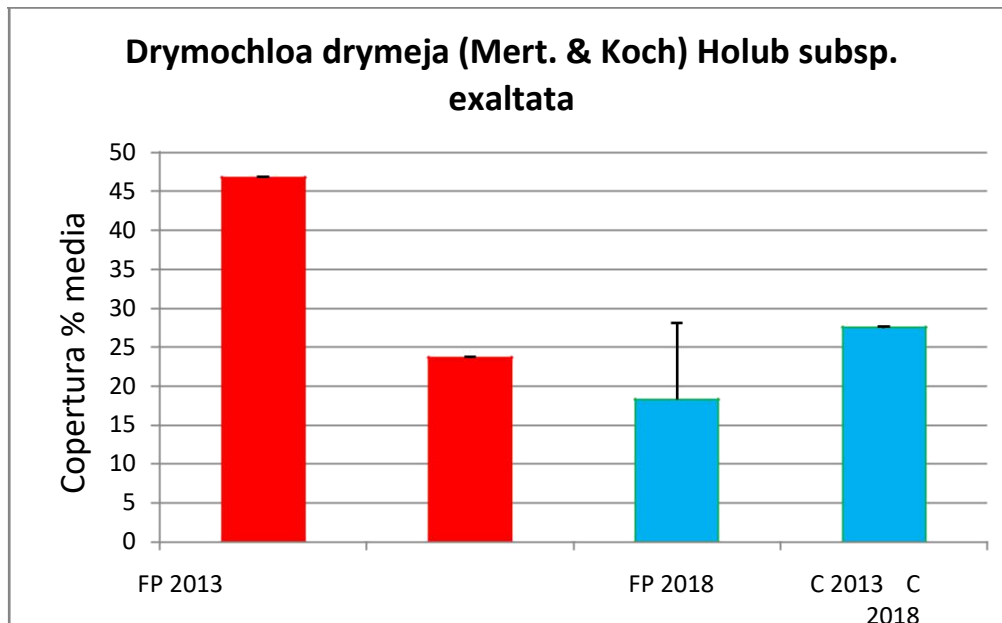


Figura 13. Copertura percentuale media di *Drymochloa drymeja* (Mert. & Koch) Holub subsp. *exaltata* (C.Presl) Foggi & Signorini nei subplot di forma quadrata di 1x1m m in aree interessate da fuoco prescritto (FP) e in aree controllo (C) rilevati nel 2013 e nel 2018.

3.3. Area 4. Formazioni a specie aliene legnose (Camerota)

I rilievi eseguiti, da considerare certamente preliminari visto il numero esiguo, hanno consentito di definire un primo quadro delle tipologie vegetazionali dominate da specie esotiche legnose del territorio del parco. Nel dettaglio le cenosi sono caratterizzate dalle seguenti specie:

- *Acacia saligna* (Labill.) H.L.Wendl. (origine Australia);
- *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle (origine Cina);
- *Ricinus communis* L. (origine Africa Tropicale);
- *Robinia pseudoacacia* L. (origine Nord America).

Si tratta di specie ampiamente invasive in Italia in grado di colonizzare in breve tempo i nuovi ambienti alterandone il funzionamento.

4. Produzione scientifica

Durante il periodo di svolgimento dell'Assegno di Ricerca l'assegnista ha prodotto i seguenti documenti di ricerca:

Comunicazioni orali a congressi, convegni e conferenze (relatore, *invited speaker)

- * **STINCA A.**, CHIRICO G.B., INCERTI G. & BONANOMI G., 2018 - *Invasion impact of the *Genista etnensis* (Raf.) DC. (Fabaceae) on Mt. Vesuvius*. Book of abstract of the 2nd Global Conference on Plant Science and Molecular Biology, 20-22 September 2018, Rome (Italy): 52.
- **STINCA A.**, D'AURIA G., FIORENTINO N., OTTAIANO L. & ESPOSITO A., 2018 - *Evidence of changes in reproductive strategies in promoting the invasiveness of *Pistia stratiotes* L.* Book of Abstracts of the V International Plant Science Conference, 113° Congresso della Società Botanica Italiana, 12-15 September 2018, Fisciano (Salerno, Italy): 64.
- **STINCA A.**, 2018 - *Flora biodeteriogenica e conservazione dei monumenti*. Convegno "Alberi e Monumenti. Interferenze e Manutenzione", 28 Maggio 2018, Napoli (Italia).
- **STINCA A.**, 2018 - *Le Orchidee del Golfo di Napoli*. Giornata di studio "Biodiversità e Orchidee" organizzata dal Comune di Sassano e dal Parco Nazionale del Cilento, Vallo di Diano e Alburni, 26 Maggio 2018, Sassano (Salerno, Italia).
- * **STINCA A.**, CHIRICO G.B., INCERTI G. & BONANOMI G., 2018 - *Da endemica a aliena in Italia: impatto dell'invasione di *Genista etnensis* (Raf.) DC. (Fabaceae) sul Vesuvio*. 52nd Congress of the Italian Society of Vegetation Science, 5-7 April 2018, Catania (Italy).
- **STINCA A.** & RICCIARDI M., 2018 - *The wild vascular plants buried by the 79 AD eruption of Vesuvius*. Book of Abstracts of the 14th Conference of Environmental Archaeology, 26-28 February 2018, Modena (Italy): 99-100.

Comunicazioni orali a congressi, convegni e conferenze (non relatore)

- BARTOLUCCI F., CONTI F., ALESSANDRELLO C., CIASCETTI G., DI CECCO M., DI CECCO V., FABRIZIO M., GENTILE C., **STINCA A.**, VITALE L., DI MARTINO L., 2018 - *Esperienze di monitoraggio delle piante di interesse comunitario dell'Appennino centrale nell'ambito del progetto LIFE 15NAT/IT/000946 FLORANET*. Workshop "Protocolli per il monitoraggio della flora di interesse comunitario: efficacia e possibilità di miglioramento sulla base dell'esperienza maturata per il 4° report", 14 Dicembre 2018, Roma (Italia).
- BONARI G., KNOLLOVÁ I., VLČKOVÁ P., SAĞLAM C., XYSTRAKIS F., CHYTRÝ M. & DATA CONTRIBUTORS (ACOSTA A.T.R., ANGIOLINI C., BERGMEIER E., BERTACCHI A., BOUBAKR S., COSTA J.C., DIDUKH Y., KADIK L., MOHAMED A., NETO C., PESARESI S., ROSATI L., SELVI F., SOTIRIOU A., **STINCA A.**, TURCATO C., VICIANI D.), 2018 - *European pine forest: preliminary results from the CircumMed+Euro PineForest project*. 2018 IAVS 61st Annual Symposium "Natural Ecosystems as Benchmarks for Vegetation Science", 22-27 July 2018, Bozeman (Montana, USA).
- CIASCETTI G., MARCANTONIO G., CONTI F., BARTOLUCCI F., DI CECCO M., DI CECCO V., DE CASTRO O., **STINCA A.** & DI MARTINO L., 2018 - *The LIFE project "FLORANET" for the conservation of endangered pasture plant species in three parks of central Italy*. Abstract Book of 15th Eurasian Grassland Conference: Cooperating for grassland conservation, 4-8 June 2018, Sulmona (L'Aquila, Italy).

Pubblicazione di articoli su riviste internazionali

- **STINCA A.**, RAVO M., GIACANELLI V. & CONTI F., in press - *Additions to the vascular flora of the islands of Procida and Vivara (Campania, southern Italy)*. Atti della Società Toscana di Scienze Naturali, Memorie Serie B. DOI: 10.2424/ASTSN.M.2018.14
- PERUZZI L., VICIANI D., ANGIOLINI C., ASTUTI G., BANFI E., BARDARO M.R., BIANCHETTO E., BONARI G., CANNUCCI S., CANTINI D., CASTAGNINI P., D'ANTRACCOLI M., ESPOSITO A., FERRETTI G., FIASCHI T., FOGGI B., FRANCESCHI G., GALASSO G., GOTTSCHLICH G., LASTRUCCI L., LAZZARO L., MANELI F., MARCHETTI D., MARSIAJ G., MUGNAI M., ROMA-MARZIO F., RUOCCO M., SALVAI G., **STINCA A.**, BEDINI G., in press - *Contributi per una flora vascolare di Toscana. X (606-663)*. Atti della Società Toscana di Scienze Naturali, Memorie Serie B. DOI: 10.2424/ASTSN.M.2018.12
- BONARI G., KNOLLOVÁ I., VLČKOVÁ P., XYSTRAKIS F., ÇOBAN S., SAĞLAM C., DIDUKH Y.P., HENNEKENS S.M., ACOSTA A.T.R., ANGIOLINI C., BERGMEIER E., BERTACCHI A., COSTA J.C., FARFARILLO E., GIGANTE D., GUARINO R., LANDI M., NETO C.S., PESARESI S., ROSATI L., SELVI F., SOTIRIOU A., **STINCA A.**, TURCATO C., TZONEV R., VICIANI V. & CHYTRÝ M., in press - *CircumMed+Euro Pine Forest Database: an electronic archive for Mediterranean and European pine forests*. Phytocoenologia. DOI 10.1127/phyto/2018/0311. Impact Factor 1,727 (2017).
- GALASSO G., DOMINA G., ALESSANDRINI A., ARDENGI N.M.G., BACCHETTA G., BALLELLI S., BARTOLUCCI F., BRUNDU G., BUONO S., BUSNARDO G., CALVIA G., CAPECE P., D'ANTRACCOLI M., DI NUZZO L., FANFARILLO E., FERRETTI G., GUARINO R., IAMONICO D., IBERITE M., LATINI M., LAZZARO L., LONATI M., LOZANO V., MAGRINI S., MEI G., MEREU G., MORO A., MUGNAI M., NICOLELLA G., NIMIS P.L., OLIVIERI N., PENNESI R., PERUZZI L., PODDA L., PROBO M., PROSSER F., RAVETTO ENRI S., ROMA-MARZIO F., RUGGERO A., SCAFIDI F., **STINCA A.** & NEPI C. 2018 - *Notulae to the Italian alien vascular flora: 6*. Italian Botanist, 6: 65-90.
- BARTOLUCCI F., DOMINA G., ARDENGI N.M.G., BACCHETTA G., BERNARDO L., BUCCOMINO G., BUONO S., CALDARARO F., CALVIA G., CARRUGGIO F., CAVAGNA A., D'AMICO F.S., DI CARLO F., FESTI F., FORTE L., GALASSO G., GARGANO D., GOTTSCHLICH G., LAZZARO L., MAGRINI S., MAIORCA G., MEDAGLI P., MEI G., MENNINI F., MEREU G., MISEROCCHI D., OLIVIERI N., PASSALACQUA N.G., PAZIENZA G., PERUZZI L., PROSSER F., REMPICCI M., ROMA-MARZIO F., RUGGERO A., SANI A., SAULLE D., STEFFANINI C., **STINCA A.**, TERZI M., TONDI G., TRENCHI M., VICIANI D., WAGENSOMMER R.P. & NEPI C., 2018 - *Notulae to the Italian native vascular flora: 6*. Italian Botanist, 6: 45-64.
- GIACCONE M., CIRILLO C., SCOGNAMIGLIO P., TEOBALDELLI M., MATAFFO A., **STINCA A.**, PANNICO A., IMMIRZI B., SANTAGATA G., MALINCONICO M. & BASILE B., 2018 - *Biodegradable mulching spray for weed control in the cultivation of ornamental shrubs in container*. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 5: 21.
- VISCONTI D., FIORENTINO N., **STINCA A.**, DI MOLA I. & FAGNANO M., 2018 - *Use of the native vascular flora for risk assessment and management of an industrial contaminated soil*. Italian Journal of Agronomy, 13 (s1): 23-33. Impact Factor 0,579 (2017).
- CALABRESE V., CARRANZA M.L., EVANGELISTA A., MARCHETTI M., **STINCA A.** & STANISCI A., 2018 - *Long term changes in the composition, ecology and structure of Pinus mugo scrubs in the Apennines (Italy)*. Diversity, 10 (3): 70. Impact Factor 2,03 (2016).
- ORSENIGO S., MONTAGNANI C., FENU G., GARGANO D., PERUZZI L., ABELI T., ALESSANDRINI A., BACCHETTA G., BARTOLUCCI F., BOVIO M., BRULLO C., BRULLO S., CARTA A., CASTELLO M., COGONI D., CONTI F., DOMINA G., FOGGI B., GENNAI M., GIGANTE D., IBERITE M., LASEN C., MAGRINI S., PERRINO E.V., PROSSER F., SANTANGELO A., SELVAGGI A., **STINCA A.**, VAGGE I., VILLANI M.C., WAGENSOMMER R.P., WILHALM T., TARTAGLINI N., DUPRÈ E., BLASI C. & ROSSI G., 2018 - *Red Listing plants under*

- full national responsibility: extinction risk and threats in the vascular flora endemic to Italy*. *Biological Conservation*, 224: 213-222. Impact Factor 3,762 (2014).
- FRATE L., CARRANZA M.L., EVANGELISTA A., **STINCA A.**, SCHAMINÉE J.H.J. & STANISCI A., 2018 - *Climate and land use change impacts on Mediterranean high-mountain vegetation in the Apennines since the 1950s*. *Plant Ecology & Diversity*, 11 (1): 85-96. Impact Factor 1,809 (2016).
 - BARTOLUCCI F., DOMINA G., ARDENGHI N.M.G., BANFI E., BERNARDO L., BONARI G., BUCCOMINO G., CALVIA G., CARRUGGIO F., CAVALLARO V., CHIANESE G., CONTI F., FACIONI L., DEL VICO E., DI GRISTINA E., FALCINELLI F., FORTE L., GARGANO D., MANTINO F., MARTINO M., MEI G., MEREU G., OLIVIERI N., PASSALACQUA N.G., PAZIENZA G., PERUZZI L., ROMA-MARZIO F., SCAFIDI F., SCOPPOLA A., **STINCA A.** & NEPI C., 2018 - *Notulae to the Italian native vascular flora: 5*. *Italian Botanist*, 5: 71-81.
 - BOUVET D., PISTARINO A., SOLDANO A., BANFI E., BARBO M., BARTOLUCCI F., BOVIO M., CANCELLIERI L., CONTI F., DI PIETRO R., FARAONI F., FASCETTI S., GALASSO G., GANGALE C., LATTANZI E., PECCENINI S., PERRINO E.V., MASIN R.R., ROMANO V.A., ROSATI L., SALERNO G., **STINCA A.**, TILIA A. & UZUNOV D., 2018 - *Contribution to the floristic knowledge of the head of the Po Valley (Piedmont, north Italy)*. *Italian Botanist*, 5: 57-69.
 - GALASSO G., DOMINA G., ADORNI M., ARDENGHI N.M.G., BONARI G., BUONO S., CANCELLIERI L., CHIANESE G., FERRETTI G., FIASCHI T., FORTE L., GUARINO R., LABADESSA R., LASTRUCCI L., LAZZARO L., MAGRINI S., MINUTO L., MOSSINI S., OLIVIERI N., SCOPPOLA A., **STINCA A.**, TURCATO C. & NEPI C., 2018 - *Notulae to the Italian alien vascular flora: 5*. *Italian Botanist*, 5: 45-56.
 - GALASSO G., CONTI F., PERUZZI L., ARDENGHI N.M.G., BANFI E., CELESTI-GRAPOW L., ALBANO A., ALESSANDRINI A., BACCHETTA G., BALLELLI S., BANDINI MAZZANTI M., BARBERIS G., BERNARDO L., BLASI C., BOUVET D., BOVIO M., CECCHI L., DEL GUACCHIO E., DOMINA G., FASCETTI S., GALLO L., GUBELLINI L., GUIGGI A., IAMONICO D., IBERITE M., JIMÉNEZ-MEJÍAS P., LATTANZI E., MARCHETTI D., MARTINETTO E., MASIN R.R., MEDAGLI P., PASSALACQUA N.G., PECCENINI S., PENNESI R., PIERINI B., PODDA L., POLDINI L., PROSSER F., RAIMONDO F.M., ROMA-MARZIO F., ROSATI L., SANTANGELO A., SCOPPOLA A., SCORTEGAGNA A., SELVAGGI A., SELVI F., SOLDANO A., **STINCA A.**, WAGENSOMMER R.P., WILHALM T. & BARTOLUCCI F., 2018 - *An updated checklist of the vascular flora alien to Italy*. *Plant Biosystems*, 152 (3): 556-592. Impact Factor 1,92 (2014).
 - MOTTI R., ESPOSITO A. & **STINCA A.**, 2018 - *New additions to the exotic vascular flora of Campania (southern Italy)*. *Annali di Botanica*, 8: 75-85.
 - BARTOLUCCI F., PERUZZI L., GALASSO G., ALBANO A., ALESSANDRINI A., ARDENGHI N.M.G., ASTUTI G., BACCHETTA G., BALLELLI S., BANFI E., BARBERIS G., BERNARDO L., BOUVET D., BOVIO M., CECCHI L., DI PIETRO R., DOMINA G., FASCETTI S., FENU G., FESTI F., FOGGI B., GALLO L., GOTTSCHLICH G., GUBELLINI L., IAMONICO D., IBERITE M., JIMÉNEZ-MEJÍAS P., LATTANZI E., MARCHETTI D., MARTINETTO E., MASIN R.R., MEDAGLI P., PASSALACQUA N.G., PECCENINI S., PENNESI R., PIERINI B., POLDINI L., PROSSER F., RAIMONDO F.M., ROMA-MARZIO F., ROSATI L., SANTANGELO A., SCOPPOLA A., SCORTEGAGNA A., SELVAGGI A., SELVI F., SOLDANO A., **STINCA A.**, WAGENSOMMER R.P., WILHALM T. & CONTI F., 2018 - *An updated checklist of the vascular flora native to Italy*. *Plant Biosystems*, 152(2): 179-303. Impact Factor 1,92 (2014).
 - BONANOMI G., INCERTI G., ABD EL-GAWAD A. M., SARKER T. C., **STINCA A.**, MOTTI R., CESARANO G., TEOBALDELLI M., SAULINO L., CONA F., CHIRICO G. B., MAZZOLENI S. & SARACINO A., 2018 - *Windstorm disturbance triggers multiple species invasion in a Mediterranean forest*. *iForest - Biogeosciences and Forestry*, 11: 64-71. Impact Factor 1,269 (2014).
 - ERCOLE S., FENU G., GIACANELLI V., PINNA M.S., ABELI T., ALEFFI M., BARTOLUCCI F., COGONI D., CONTI F., CROCE A., DOMINA G., FOGGI B., FORTE T., GARGANO D., GENNAI M., MONTAGNANI C., ORIOLO G.,

- ORSENIKO S., RAVERA S., ROSSI G., SANTANGELO A., SINISCALCO C., **STINCA A.**, SULIS E., TROIA A., VENA M., GENOVESI P. & BACCHETTA G., 2017 - *The species-specific monitoring protocols for the Italian flora of Community interest*. *Plant Sociology*, 54 (2, Suppl. 1): 77-83.
- **STINCA A.** & MOTTI R., 2017 - *Alien plant invasions in Astroni crater, a decades-long unmanaged forest in southern Italy*. *Atti della Società Toscana di Scienze Naturali, Memorie Serie B*, 124: 101-108.
 - PERUZZI L., VICIANI D., ANGIOLINI C., ASTUTI G., BANFI E., BENOCCI A., BONARI G., BRUNI G., CARAMANTE P., CARÉ M., CARTA A., CASTAGNINI P., CHELI A., CIAMPOLINI F., D'ANTRACCOLI M., FERRETTI G., FERRUZZI S., FIASCHI T., FOGGI B., FONTANA D., GALASSO G., GALLO L., GALVANI D., GESTRI G., GRAZZINI A., LASTRUCCI L., LAZZARO L., LOPPI S., MANGANELLI G., MUGNAI M., PIAZZINI S., PIERINI B., ROMA-MARZIO F., SANI A., SELVI F., SOLDANO A., **STINCA A.** & BEDINI G., 2017 - *Contributi per una flora vascolare di Toscana. IX (507-605)*. *Atti della Società Toscana di Scienze Naturali, Memorie Serie B*, 124: 73-86.

Pubblicazione di articoli su riviste nazionali

- MARINO G., **STINCA A.**, CELAJ O., LANDI N., BARBIERO D., MASTROIANNI A. & ESPOSITO A., in press - *Indagini morfometriche su Phaseolus vulgaris subsp. vulgaris 'Lenzariello'*. In: DOMINA G. & PERUZZI L. (Eds.), *Minilavori della Riunione scientifica del Gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione*. 19-20 ottobre 2018, Roma. Notiziario della Società Botanica Italiana.
- VIGGIANI G. & **STINCA A.**, 2018 - *Infestazioni su origano della cecidomia Asphondylia hornigi Wachtl.* *Protezione delle colture*, 11 (4): 29-31.
- ARRIGONI P.V., CECCHI L., DONATELLI A., LUCCIOLI E., BONINI I., BONARI G., ANGIOLINI C., VENENZONI R., NEPI C., BARTOLUCCI F., CANCELLIERI C., CONTI F., SCOPPOLA A., SELVI F., DOMINA G., **STINCA A.**, CHIANESE G., DELLAVEDOVA R., ARDENGHI N.M.G., ROSSI G. & DONNINI-MACCIÒ C., 2017 - *Erbari 3*. *Notiziario della Società Botanica Italiana*, 1: 225-233.
- EVIANO M., **STINCA A.**, ESPOSITO A., DEL GUACCHIO E. & IAMONICO D., 2017 - *Indagini morfometriche su Limonium remotispiculum (Plumbaginaceae)*. In: DOMINA G. & PERUZZI L. (Eds.), *Minilavori della Riunione scientifica del Gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione*. 27-28 ottobre 2017, Roma. *Notiziario della Società Botanica Italiana*, 1: 182-183.

Pubblicazione di capitoli di libri

- **STINCA A.**, BERNARDO L. & PERUZZI L., in press - *Appennino Meridionale*: 260-341. In: CONTI F., BARTOLUCCI F., DI MARTINO L. & MANZI A. (Eds.), *La flora endemica minacciata delle montagne italiane*. Club Alpino Italiano, Comitato Scientifico Centrale.
- **STINCA A.** & RICCIARDI M., 2018 - *Apiaceae*: 519-633. In: PIGNATTI S. (Ed.), *Flora d'Italia 2*. Edagricole, Bologna.
- **STINCA A.**, 2017 - *Oxalidaceae*: 353-360. In: PIGNATTI S. (Ed.), *Flora d'Italia 2*. Edagricole, Bologna.

Atti di congressi e poster

- AMITRANO C., ARENA C., IZZO L.G., **STINCA A.**, BARILE R., CONTI P. & DE MICCO V., 2018 - *Morpho-anatomical and physiological responses of Robinia pseudoacacia L. plants to anthropogenic dust deposition in the Vesuvius National Park*. *Book of Abstracts of the V*

International Plant Science Conference, 113° Congresso della Società Botanica Italiana, 12-15 September 2018, Fisciano (Salerno, Italy): 125.

- LAZZARO L., BOLPAGNI R., ACOSTA A.T.R., ADORNI M., ALEFFI M., ALLEGREZZA M., ANGIOLINI C., ASSINI S.P., BAGELLA S., BONARI G., BOVIO M., BRACCO F., BRUNDU G., BUFFA G., CACCIANIGA M., CARNEVALI L., CESCHIN S., CIASCHETTI G., COGONI A., DI CECCO V., FOGGI B., FRATTAROLI A.R., GENOVESI P., GENTILI R., GIGANTE D., LONATI M., LUCCHESI F., MAINETTI A., MARIOTTI M., MINISSALE P., PAURA B., PELLIZZARI M., PERRINO E., PIRONE G., POGGIO L., POLDINI L., POPONESSI S., PRISCO I., PROSSER F., PUGLISI M., ROSATI L., SELVAGGI A., SOTTOVIA L., SPAMPINATO G., STANISCI A., **STINCA A.**, VENANZONI R., VICIANI D., VIDALI M., VILLANI C. & LASTRUCCI L., 2018 - *An assessment of the impacts of invasive alien plants on habitats in Italy: first results from the ISPRA-SISV convention*. Book of Abstracts of Neobiota 2018. 10th International Conference on Biological Invasions: New Directions in Invasion Biology, 3-7 September 2018, Dublin (Ireland): 84.
- BRUNDU G., ALESSANDRINI A., ARDENGHI N.M.G., BARNI E., BEDINI G., CELESTI-GRAPOW L., CIANFAGLIONE K., COGONI A., DOMINA G., FASCETTI S., FERRETTI G., IBERITE M., LASTRUCCI L., LAZZARO L., LOZANO V., MAINETTI A., MARINANGELI F., MONTAGNANI C., ORSENIGO S., PECCENINI S., PERUZZI L., POGGIO L., PROIETTI C., PROSSER F., RANFA A., ROSATI L., SANTANGELO A., SELVAGGI A., SPAMPINATO G., **STINCA A.**, VACCA G., VILLANI M., SINISCALCO M.C., 2018 - *Presence and distribution of invasive alien plant species of Union concern in Italy: insights into national application of the Regulation (EU) No. 1143/2014*. Book of Abstracts of Neobiota 2018. 10th International Conference on Biological Invasions: New Directions in Invasion Biology, 3-7 September 2018, Dublin (Ireland): 83.
- BONARI G., KNOLLOVÁ I., VLČKOVÁ P., SAĞLAM C., XYSTRAKIS F., CHYTRÝ M. & DATA CONTRIBUTORS (ACOSTA A.T.R., ANGIOLINI C., BERGMIEER E., BERTACCHI A., BOUBAKR S., COSTA J.C., DIDUKH Y., KADIK L., MOHAMED A., NETO C., PESARESI S., ROSATI L., SELVI F., SOTIRIOU A., **STINCA A.**, TURCATO C., VICIANI D.), 2018 - *Towards a new electronic archive for European pine forest: CircumMed+Euro Pine Forest database*. Book of Abstract 27th Congress of the European Vegetation Survey (IAVS Working Group), Wrocław (Poland): 92.
- CALABRESE V., EVANGELISTA A., CARRANZA M., **STINCA A.** & STANISCI A., 2018 - *Pinete a Pino mugo dell'Appennino centrale e Global change*. 52nd Congress of the Italian Society of Vegetation Science, Catania (Italy), 5-7.04.2018.

Organizzazione di Workshop

- Componente del comitato organizzatore del *Workshop del Gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione della Società Botanica Italiana "Identificazione dei gruppi sistematici critici rilevati nel corso dell'escursione di studio sui Monti Casertani (Campania) del 2017"*. Caserta, 22-24 Marzo 2018.

Collaborazione alla stesura di Tesi di Laurea Magistrale

- Da Giugno 2018 a Novembre 2018 correlatore di Tesi di Laurea Magistrale in Biologia. Tesi sperimentale in Botanica sistematica dal titolo *Indagini morfometriche su Seseli polyphyllum (Apiaceae)*. Candidata: Maria Rosaria Iorio. Primo relatore: Assunta Esposito. Discussione Tesi: sessione prevista Giugno 2019. Attività svolte: Attività svolte: collaborazione alla raccolta di campioni vegetali in Campania e Abruzzo e alle relative analisi morfometriche.

- Da Giugno 2016 a Novembre 2018 correlatore di Tesi di Laurea Magistrale in Biologia. Tesi sperimentale in Botanica sistematica dal titolo *Indagini morfometriche su Limonium remotispiculum (Plumbaginaceae)*. Candidata: Melania Eviano. Primo relatore: Assunta Esposito. Discussione Tesi: 19.12.2018. Attività svolte: collaborazione alla raccolta di campioni vegetali in Campania, Basilicata e Calabria e alle relative analisi morfometriche.
- Da Dicembre 2017 a Giugno 2018 correlatore di Tesi di Laurea Magistrale in Biologia. Tesi sperimentale in Botanica sistematica dal titolo *Effetti di diverse intensità di incendio in un popolamento a Pinus pinaster nella Riserva Naturale Alto Tirone (Parco del Vesuvio)*. Candidata: Amalia Violo. Primo relatore: Assunta Esposito. Discussione Tesi: 27.06.2018. Attività svolte: collaborazione alla realizzazione di rilievi floristici e vegetazionali in aree sperimentali di fuoco prescritto ed in aree controllo localizzate nel Parco Nazionale del Vesuvio.

CURRICULUM SCIENTIFICO

ADRIANO STINCA

Dati personali

Data e luogo di nascita: 29.07.1980 - Castellammare di Stabia (Napoli).

Residenza e domicilio: via Privati, 46 - 80053 Castellammare di Stabia (Napoli).

Recapiti: tel. fisso +39 0818702241 - tel. mobile +39 3406284553 - e.mail adriano.stinca@unicampania.it, adriano.stinca@unina.it, adrianostinca@libero.it, adriano.stinca@epap.conafpec.it

Stato civile: celibe.

Formazione

- **Dottorato di Ricerca in Valorizzazione e Gestione delle Risorse Agro-Forestali** (XXIV ciclo). 08.05.2013. Scuola di Dottorato in Scienze Agrarie e Agro-Alimentari dell'Università degli Studi di Napoli Federico II. Titolo del progetto di ricerca Distribuzione, tassonomia ed impatto ecologico di specie aliene. Tutor Giuliano Bonanomi.
- **Laurea Specialistica in Scienze Agrarie**, indirizzo *Tecnico-gestionale (77/S* - Classe delle lauree specialistiche in Scienze e Tecnologie Agrarie). 21.07.2008. Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Napoli Federico II. Votazione **110/110 e lode**. Tesi sperimentale in Botanica agraria e forestale dal titolo *La flora vascolare spontanea del Sito Reale di Portici ed analisi della pericolosità delle entità biodeteriogene per il complesso monumentale*. Relatore Riccardo Motti.
- **Laurea in Scienze e Tecnologie Agrarie**, indirizzo *Valorizzazione delle risorse agroambientali* (20 - Classe delle lauree in Scienze e Tecnologie Agrarie, Agroalimentari e Forestali). 23.03.2005. Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Napoli Federico II. Votazione 108/110. Tesi sperimentale in Botanica agraria e forestale dal titolo *La flora dei Monti Marzano, Eremita e Paratiello (Appennino Campano - Lucano, Italia). Primo contributo*. Relatore Riccardo Motti.

Corsi, stage e workshop

29.11.2018 - Riunione scientifica del Gruppo per le Specie Alloctone della Società Botanica Italiana Onlus: *Invasioni biologiche: ricerca scientifica e progetti operativi sugli organismi vegetali alieni in Italia*. Acquario Civico, Milano.

19-20.10.2018 - Riunione scientifica del Gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione della Società Botanica Italiana Onlus: *Approfondimenti floristici e sistematici sulla flora d'Italia*. La Sapienza Università di Roma, Roma.

Escursione di studio del Gruppo per la Vegetazione e della Sezione Lombarda della Società Botanica Italiana Onlus "Flora e vegetazione delle Alpi Centrali (Retiche)". 13-16.07.2018.

Escursione di studio del Gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione della Società Botanica Italiana Onlus "Dalla Murgia delle Gravine al mare, nel settore occidentale dell'arco Ionico" (Puglia). 09-12.05.2018.

27-28.10.2017 - Riunione scientifica del Gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione della Società Botanica Italiana Onlus. La Sapienza Università di Roma, Roma.

Workshop "Cambiamenti climatici e vegetazione di altitudine sulle montagne mediterranee". 01-04.06.2017. Gruppo per la Vegetazione della Società Botanica Italiana Onlus, Parco Regionale delle Madonie.

Escursione di studio del Gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione della Società Botanica Italiana Onlus sui "Monti Casertani" (Campania). 03-06.05.2017.

Plant Traits 2.0. Giornate di Studi su "Lo stato dell'arte e le prospettive di ricerca sui caratteri morfo-funzionali delle piante in Italia". 09-10.02.2017. Gruppo di lavoro per l'Ecologia della Società Botanica Italiana Onlus, Bologna.

Riunione scientifica del Gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione della Società Botanica Italiana Onlus. 21-22.10.2016. La Sapienza Università di Roma, Roma.

Conferenza nazionale: Verso un piano nazionale di monitoraggio della biodiversità: i manuali per le specie e gli habitat di interesse comunitario. 19-20.10.2016. Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale, Roma.

Workshop “Cambiamenti climatici e vegetazione di altitudine sulle montagne mediterranee”. 23-26.06.2016.

Gruppo per la Vegetazione della Società Botanica Italiana Onlus, Parco Nazionale del Pollino.

Escursione di studio del Gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione della Società Botanica Italiana Onlus in “Alta Valle del Velino e dell’Aterno” (Appennino Laziale-Abruzzese). 15-18.06.2016. *Partecipazione al workshop svoltosi a Barisciano (L’Aquila) il 23-25.02.2017 per la determinazione dei gruppi sistematici critici.*

Riunione scientifica del Gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione della Società Botanica Italiana Onlus: **Approfondimenti floristici e sistematici sulla flora d’Italia.** 20-21.11.2015. La Sapienza Università di Roma, Roma.

Corso *Gestione eco-sostenibile delle risorse idriche.* 09.06.2015. Dipartimento di Agraria dell’Università degli Studi di Napoli Federico II, Portici (Napoli).

Escursione di studio del Gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione della Società Botanica Italiana Onlus in “Irpinia orientale” (Campania e Basilicata). 03-06.06.2015. *Partecipazione ai workshop svoltosi a Portici (Napoli) il 03-05.03.2016 ed a Barisciano (L’Aquila) il 04-05.04.2016 per la determinazione dei gruppi sistematici critici.*

Riunione scientifica del Gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione della Società Botanica Italiana Onlus: *Floristica, Sistematica ed Evoluzione.* 21-22.11.2014. La Sapienza Università di Roma, Roma.

Seminario *Senecione sudafricano (Senecio inaequidens), pianta esotica in rapida espansione in ambienti di interesse conservazionistico ed economico.* 11.11.2014. Parco Nazionale del Gran Sasso e Monti della Laga, Barisciano (L’Aquila).

Escursione di studio del Gruppo per la Floristica della Società Botanica Italiana Onlus in “Alta Valle Po” (Piemonte). 09-12.07.2014. *Partecipazione al workshop svoltosi a Torino il 27-28.03.2015 per la determinazione dei gruppi sistematici critici.*

Riunione scientifica del Gruppo per la Floristica della Società Botanica Italiana Onlus: *Contributi alla ricerca floristica in Italia.* 18-19.10.2013. La Sapienza Università di Roma, Roma.

Escursione di studio del Gruppo per la Floristica della Società Botanica Italiana Onlus sui “Monti della Maddalena” (Basilicata e Campania). 05-08.06.2013. *Partecipazione al workshop svoltosi a Roma il 27-28.02.2014 per la determinazione dei gruppi sistematici critici.*

Workshop *Il Profilo del consulente in Europa nel settore erboristico.* 23.04.2013. Napoli.

Escursione di studio del Gruppo per la Floristica della Società Botanica Italiana Onlus sui “Monti Sicani” (Sicilia). 03-06.05.2012. *Partecipazione al workshop svoltosi a Palermo il 14-16.02.2013 per la determinazione dei gruppi sistematici critici.*

Escursione di studio del Gruppo per la Floristica della Società Botanica Italiana Onlus sui “Monti della Daunia” (Puglia). 26-29.05.2011. *Partecipazione al workshop svoltosi a Bari il 23-25.02.2012 per la determinazione dei gruppi sistematici critici.*

Corso *Disegno Tecnico CAD.* Catalogo Interregionale di Alta Formazione (DGR 678/09). 06.04.2011. Associazione Multimediaform, Portici (Napoli).

Seminario *Campi Flegrei. La Natura del Parco. Valori, Criticità, Prospettive, Opportunità.* 25-26.02.2009. Ente Parco Regionale dei Campi Flegrei, Baia (Napoli).

Workshop *Sistemi di lotta integrata al Rhynchophorus ferrugineus (Punteruolo Rosso della Palma): un caso pratico, la dendrochirurgia.* 12.12.2008. Eboli (Salerno).

Corso **La valutazione della stabilità degli alberi. L’analisi strumentale.** 07.09.2008. Facoltà di Agraria dell’Università degli Studi di Napoli Federico II, Portici (Napoli).

Attività di ricerca

Dal 01.12.2017 al 30.11.2018 - Assegnista di ricerca presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali Biologiche e Farmaceutiche dell’Università della Campania Luigi Vanvitelli. **Analisi della biodiversità vegetale e del combustibile in aree sperimentali di fuoco prescritto** - Responsabile scientifico Prof.ssa Assunta Esposito.

Dal 27.06.2017 al 30.09.2020 - Esperto Botanico presso il Parco Regionale Sirente Velino. **Rilievi dati di campo sulle specie target nell’ambito dell’azione A4, C5, C6, C7 e E6 nel territorio del Parco Regionale Sirente Velino del Progetto Comunitario LIFE15 NAT/IT/000946 - FLORANET “Safeguard and valorization of the plant species of EU interest in the Natural Parks of the Abruzzo Apennine”** - CUP F52F16000090007. Principali attività svolte: rilievi in campo finalizzati al monitoraggio delle specie target (*Cypripedium calceolus* L., *Adonis distorta* Ten., *Androsace mathildae* Levier, *Iris marsica* I.Ricci & Colas., *Klasea hycopifolia* [Vill.] A.Love & D.Love, *Jacobaea vulgaris* Gaertn. subsp. *gotlandica* [Neuman] B.Nord., *Astragalus aquilanus* Anzal.), archiviazione ed elaborazione dei dati.

Dal 01.09.2016 al 31.08.2017 - Assegnista di ricerca presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali Biologiche e Farmaceutiche della Seconda Università degli Studi di Napoli. **Monitoraggio floristico/vegetazionale in aree sperimentali di fuoco prescritto del Parco Nazionale del Cilento, Vallo di Diano e Alburni** - Responsabile scientifico Prof.ssa Assunta Esposito.

Dal 24.10.2016 al 10.12.2016 - Partecipazione alla quarta fase del progetto **Liste Rosse** della Società Botanica Italiana. **Incarico per prestazione d'opera occasionale da parte della Società Botanica Italiana onlus nell'ambito della convenzione stipulata il 21.07.2016 tra il Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare e la Società Botanica Italiana onlus avente per oggetto "Azioni prioritarie per il raggiungimento degli obiettivi della Strategia Europea per la Biodiversità 2020 e della Strategia Nazionale per la Biodiversità 2011-2020" – CIG 67466442C1. Attività svolte nell'ambito dell'attività A "Completamento della Red List della flora vascolare spontanea italiana: valutazione dello stato di conservazione nazionale di 1000 taxa" - fase IV - Azione 3: Valutazione dello status di conservazione dei restanti 800 taxa e data-base completo per tutti i 1000 taxa oggetto della presente convenzione, con l'esclusione dei taxa estremamente diffusi sul territorio nazionale e di quelli rientranti nella categoria IUCN "DD".** Sede principale di lavoro: **Centro Ricerche Floristiche dell'Appennino** - Barisciano (AQ), 67021, via Provinciale km 4,2.

Dal 01.07.2015 al 11.04.2016 - **Incarico per prestazione d'opera occasionale da parte della Società Botanica Italiana onlus nell'ambito del contratto stipulato il 25.06.2015 tra l'Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA) e la Società Botanica Italiana onlus avente per oggetto Affidamento del servizio di definizione, sperimentazione e pubblicazione delle Schede di Monitoraggio delle specie vegetali italiane di interesse comunitario (Direttiva 92/43/CE, allegati II, IV, V) nell'ambito di un programma di "Supporto alla realizzazione di un Piano Nazionale di Monitoraggio delle specie ed habitat terrestri e delle acque interne di interesse comunitario, in sinergia con la rete degli osservatori/uffici regionali biodiversità, per l'attuazione della Strategia**

Nazionale per la Biodiversità" – COD CUP F86J14001700001 – COD CIG Z2214245E2 – COD. PROC. CRA16/2015/R0011700/11. Attività svolte: supporto alla definizione delle schede di monitoraggio per le specie vegetali elencate negli allegati II, IV e V della Direttiva Habitat presenti in Italia; verifica sul campo delle schede di monitoraggio, al fine di testarne l'operatività, attraverso l'applicazione per una specie vegetale selezionata; supporto alle attività di confronto e discussione sulle schede di monitoraggio, da realizzarsi tra ISPRA, MATTM, agenzie o enti delle Regioni e Province Autonome preposti al monitoraggio e successiva revisione delle stesse alla luce dei commenti ed input forniti dai soggetti coinvolti; supporto tecnico-scientifico nel Seminario Biogeografico organizzato dalla Commissione Europea e dal MATTM e nello scambio di informazioni con Regioni e Province Autonome; supporto ad ISPRA nelle attività relative ai Valori Favorevoli di Riferimento (VFR), in particolare approfondimento del concetto di VFR ed elaborazione su base teorica di una metodologia per il calcolo dei VFR, da testare su un subset di specie vegetali selezionate; supporto ad ISPRA nella redazione del volume di raccolta delle schede di monitoraggio per la stesura di testi, revisione delle bozze e raccolta ed elaborazione della documentazione fotografica e grafica. Sede principale di lavoro: **Centro Ricerche Floristiche dell'Appennino** - Barisciano (AQ), 67021, via Provinciale km 4,2.

Dal 17.03.2016 al 16.06.2016 - **Contratto di collaborazione scientifica** presso il Centro Museale "Musei delle Scienze Agrarie - MUSA" dell'Università degli Studi di Napoli Federico II. **Rilievi ed analisi di vegetazione, fenologia vegetale e parametri microclimatici nell'ambito dello studio sull'influenza dell'aumento della temperatura sulle cenosi vegetali pioniere del Vesuvio** - Progetto Prosieguito dello studio sull'influenza dell'aumento della temperatura sulle cenosi vegetali pioniere del Vesuvio - Responsabile scientifico Dott. Giuliano Bonanomi.

Dal 01.07.2015 al 31.01.2016 - **Borsista** presso il Dipartimento di Bioscienze e Territorio dell'Università degli Studi del Molise. **Supporto al rilevamento e all'analisi dei dati floristico-vegetazionali nelle aree permanenti in alta montagna** - Accordo di ricerca MEDIALPS (Disentangling anthropogenic drivers of climate impacts on alpine plant species: Alps vs. Mediterranean mountains) - Responsabile scientifico Prof.ssa Angela Stanisci.

Dal 08.10.2015 al 07.11.2015 - **Borsista** presso il Dipartimento di Agraria dell'Università degli Studi di Napoli Federico II. **Analisi di dati floristici e vegetazionali per la valutazione della biodiversità vegetale in aree del Parco Nazionale del Vesuvio sottoposte a forte carico turistico** - Progetto Monitoraggio della biodiversità delle specie vegetali e valutazione di indicatori dello stato di salute in specie modello nel territorio del Parco Nazionale del Vesuvio - Responsabile scientifico Prof.ssa Veronica De Micco.

Dal 01.03.2015 al 25.11.2015 - **Incarico per prestazione d'opera occasionale da parte della Società Botanica Italiana onlus nell'ambito della convenzione stipulata il 23.12.2014 tra il Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare e la Società Botanica Italiana onlus avente per oggetto "Attività di supporto per implementazione della Strategia Nazionale Biodiversità" – CIG 60539884F0 – CUP F86J14001920001. Attività svolte nell'ambito dell'attività C "Valutazione dello stato di conservazione nazionale di 600 taxa appartenenti alla flora vascolare spontanea italiana": raccolta dati sulla distribuzione e stato di minaccia secondo IUCN delle specie italiane, con particolare riferimento a quelle dell'Abruzzo e Marche, coinvolte nel progetto Liste Rosse MATTM/SBI, trasmissione secondo gli standard predisposti dal coordinatore di progetto Graziano Rossi.** Sede principale di lavoro: **Centro Ricerche Floristiche dell'Appennino** - Barisciano (AQ), 67021, via Provinciale km 4,2.

Dal 16.02.2015 al 15.06.2015 - **Borsista** presso il Centro Museale "Musei delle Scienze Agrarie - MUSA" dell'Università degli Studi di Napoli Federico II. **Rilievi ed analisi di vegetazione, substrato, fenologia vegetale e parametri microclimatici nell'ambito dello studio sull'influenza dell'aumento della temperatura sulle cenosi vegetali pioniere del Vesuvio** - Progetto Prosieguito dello studio sull'influenza dell'aumento della temperatura sulle cenosi vegetali pioniere del Vesuvio - Responsabile scientifico Dott. Giuliano Bonanomi.

Dal 20.09.2014 al 20.02.2015 - **Contratto di collaborazione scientifica** presso il Centro Interdipartimentale di Ricerca Ambiente (CIRAM) dell'Università degli Studi di Napoli Federico II. **Raccolta ed elaborazione dati floristici, fitosociologici e faunistici in un'area di 5 km di raggio intorno alla centrale elettrica del Mercure all'interno del Parco del Pollino al confine tra Calabria e Basilicata. I rilievi dovranno essere in totale: 2**

rilievi floristici e 5 faunistici. Rilievi sui biosensori digitali gladiolo, lolium e tabacco dopo un ciclo di esposizione - Convenzione CESI 4500000641 "Indagine floro-faunistica in un'area di cinque Km di raggio all'interno del Parco del Pollino al confine tra Calabria e Basilicata" e Convenzione CESI 5400000631 "Esposizione Biosensori" - Responsabile scientifico Prof. Massimo Fagnano.

Dal 01.11.2013 al 09.10.2014 - **Incarico per prestazione d'opera occasionale da parte della Società Botanica Italiana onlus nell'ambito della convenzione stipulata il 31.07.2013 tra il Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare e la Società Botanica Italiana onlus per la "Valutazione dello stato di conservazione di ulteriori 500 taxa appartenenti alla flora spontanea italiana" CIG 52591503DF – CUP F83J13000260001. Attività svolte: raccolta dati sulla distribuzione e stato di minaccia delle specie italiane, con particolare riferimento a quelle dell'Abruzzo e zone limitrofe, coinvolte nel progetto Liste Rosse MATTM/SBI 2014, trasmissione secondo gli standard predisposti dal coordinatore di progetto Graziano Rossi.** Sede principale di lavoro: **Centro Ricerche Floristiche dell'Appennino** - Barisciano (AQ), 67021, via Provinciale km 4,2.

Dal 05.08.2013 al 04.11.2013 - **Contratto di collaborazione scientifica** presso il Centro Museale "Musei delle Scienze Agrarie - MUSA" dell'Università degli Studi di Napoli Federico II. **Rilevamento di vegetazione, substrato e fenologia di specie invasive** - Progetto Parco Nazionale del Vesuvio, Cenosi Vegetali Pioniere - Responsabile scientifico Dott. Giuliano Bonanomi.

Dal 05.08.2013 al 04.10.2013 - **Contratto di collaborazione scientifica** presso il Centro Museale "Musei delle Scienze Agrarie - MUSA" dell'Università degli Studi di Napoli Federico II. **Rilevamento vegetazione di habitat oggetto del monitoraggio finalizzato all'individuazione siti di rifugio per chiroterteri** - Progetto Parco Nazionale del Vesuvio, Conservazione Chiroterrofauna - Responsabile scientifico Dott. Danilo Russo.

Dal 27.05.2013 al 26.08.2013 - **Tecnico Florista** (Collaborazione Continuata e Continuativa) presso il Parco Nazionale del Gran Sasso e Monti della Laga. **Studio della flora di interesse comunitario dei Siti di Natura 2000 della Regione Abruzzo compresi nel territorio del Parco Nazionale del Gran Sasso e Monti della Laga** -

Progetto "Predisposizione di indirizzi gestionali a integrazione della pianificazione esistente per la protezione e gestione dei siti Natura 2000 IT7110128, IT7120201, IT7110202, IT7120213, IT7130024, IT7110209" (PSR Abruzzo 2007-2013, Misura 323, CUP E95J12000060002). Principali attività svolte: rilievi in campo finalizzati al monitoraggio delle specie rare (Beni Ambientali Individui), archiviazione dei dati nel data base della flora vascolare del Parco, elaborazioni cartografiche, elaborazione di un disciplinare per la tutela dei Beni Ambientali Individui ai sensi del Piano del Parco (Bartolucci F., Stinca A., Tinti D. & Conti F., 2014 - I Beni Ambientali Individui del Parco Nazionale del Gran Sasso e Monti della Laga. La Flora. Relazione tecnica. Parco Nazionale del Gran Sasso e Monti della Laga. 190 pp., <http://www.gransassolagapark.it/studi-dettaglio.php?id=95>). Sede principale di lavoro: **Centro Ricerche Floristiche dell'Appennino** - Barisciano (AQ), 67021, via Provinciale km 4,2.

Dal 22.12.2012 al 21.02.2013 - **Contratto di collaborazione scientifica** presso il Dipartimento di Arboricoltura, Botanica e Patologia Vegetale della Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Napoli Federico II. **Raccolta ed elaborazione di dati su composizione e distribuzione di specie vegetali lungo gradienti ecologici di abbandono delle attività agrosilvopastorali** - Progetto FARO - Abbandono dell'agricoltura in area mediterranea: effetti sulla biodiversità e identificazione di bioindicatori - Responsabile scientifico Dott. Danilo Russo.

Dal 06.09.2012 al 05.03.2013 - **Contratto di collaborazione scientifica** presso il Dipartimento di Arboricoltura, Botanica e Patologia Vegetale della Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Napoli Federico II. **Indagini di campo finalizzate al censimento, alla localizzazione, alla definizione del concetto di status ed alla valutazione degli impatti sul territorio della Regione Campania delle piante vascolari aliene e ricerche di laboratorio sull'ecologia e la biologia di specie esotiche emergenti** - Progetto Piante Aliene della Regione Campania - Responsabile scientifico Dott. Riccardo Motti.

Dal 07.05.2012 al 06.01.2013 - **Contratto di collaborazione scientifica** presso il Dipartimento di Ingegneria Agraria e Agronomia del Territorio della Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Napoli Federico II. **Elaborazione dati floristici e fitosociologici nelle aree della Regione Campania ritenute idonee allo sviluppo delle biomasse da energia (aree saline: Litorale Domizio, aree contaminate: Agro-Aversano) servizi strumentali. Elaborazione indici di impatto sulla flora della diffusione di biomasse da energia nei territori del Litorale Domizio e dell'Agro-Aversano** - Progetto CRAA - Sviluppo di Filiere Agro energetiche nella Regione - Responsabile scientifico Prof. Massimo Fagnano.

Dal 01.11.2010 al 31.11.2011 - **Borsista** presso il Dipartimento di Arboricoltura, Botanica e Patologia Vegetale della Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Napoli Federico II. **Le piante aliene della Regione Campania** - Progetto Piante Aliene della Regione Campania - Responsabile scientifico Dott. Riccardo Motti.

Dal 28.06.2010 al 28.06.2011 - **Borsista** (borsa di studio post laurea) presso il Parco Nazionale della Majella. **Ricerca sull'abete bianco nel Parco Nazionale della Majella.** Principali attività svolte: reperimento documenti storici testimonianti la presenza dell'abete bianco nell'area di studio, indagine sull'utilizzo della specie negli impianti di rimboschimento, censimento ed analisi dei nuclei di abete bianco attualmente esistenti nell'area Parco.

Dal 01.06.2009 al 31.07.2009 - **Borsista** presso il Dipartimento di Arboricoltura, Botanica e Patologia Vegetale della Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Napoli Federico II. **Rilevamento floristico in aree sperimentali di**

Collaborazioni scientifiche

Dal 2003 ad oggi - **Collaboratore esterno** presso il **Laboratorio di Ecologia Applicata e Sistemi Dinamici del Dipartimento di Agraria dell'Università degli Studi di Napoli Federico II** (http://www.ecoap.unina.it/doc/staff/adriano_stinca.htm). Attività di ricerca nelle indagini floristiche, fitosociologiche, sistematiche e nelle analisi territoriali in ambiente mediterraneo.

Dal 2011 ad oggi - **Collaboratore** di *Chrobase.it* - Bedini G., Garbari F. & Peruzzi L. (Eds.), 2010 onwards - *Chrobase.it - Chromosome numbers for the Italian flora*. <http://www.biologia.uniipi.it/chrobase/>.

Dal 2011 ad oggi - **Esperto** nell'ambito del progetto *Delivering Alien Invasive Species Inventories for Europe* (DAISIE).

Da settembre 2012 ad oggi - Partecipazione al progetto **Taxa di piante vascolari descritti per l'Italia: censimento, tipificazione ed approfondimenti biosistemati** della Società Botanica Italiana.

Da settembre 2014 ad oggi - **Componente del comitato tecnico-scientifico** e rappresentante del Dipartimento di Agraria dell'Università di Napoli Federico II nell'ambito del protocollo di intesa stipulato tra il consorzio Agrorinasce (società consortile a responsabilità limitata costituita tra i Comuni di Casal di Principe, Casapesenna, S. Cipriano d'Aversa, S. Maria La fossa, S. Marcellino e Villa Literno) ed Istituzioni Universitarie (Dipartimento di Architettura dell'Università di Napoli Federico II, Dipartimento di Agraria dell'Università di Napoli Federico II, Dipartimento di Ingegneria Civile Desing Edilizia e Ambiente della Seconda Università di Napoli, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali Biotecnologiche e Farmaceutiche della Seconda Università di Napoli) al fine di sviluppare attività culturali, formative e di applicazione di tecniche e metodi per la realizzazione della seconda edizione del **Progetto Culturale "Degrado e Bellezza"**.

Da gennaio 2015 ad oggi - Partecipazione al progetto **Prodromo della vegetazione italiana** della Società Botanica Italiana. <http://www.prodromo-vegetazione-italia.org/>.

Da ottobre 2015 ad oggi - **Collaboratore esterno** presso il **Laboratorio di Storia della Vegetazione e Anatomia del Legno del Dipartimento di Agraria dell'Università degli Studi di Napoli Federico II** (<http://charcoalab.it/people/>). Attività di ricerca nelle **indagini archeobotaniche**.

Da aprile 2017 ad oggi - Partecipazione al progetto per la **Elaborazione di schede informative e gestionali delle specie aliene invasive di rilevanza Unionale, definizione di procedure di analisi del rischio e di rilevamento precoce e risposta rapida** nell'ambito delle attività previste dalla convenzione stipulata tra l'Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA), la Società Botanica Italiana onlus (SBI) e la Società Italiana di Scienza della Vegetazione (SISV) "Programma di lavoro a supporto dell'implementazione del regolamento 1143/2014 sulle specie esotiche invasive", nel quadro dell'aggiornamento della Banca Dati Nazionale specie Aliene.

Da marzo 2016 ad oggi - Partecipazione al progetto per la **Redazione di una banca dati dei nomi volgari consigliati dei taxa di piante vascolari presenti nel Mediterraneo e in Europa** nell'ambito delle attività della commissione per i nomi vernacolari dell'OPTIMA (Organisation for the Phyto-Taxonomic Investigation of the Mediterranean Area, <http://www.optima-bot.org>). Il dataset rientra in Euro+Med PlantBase - the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity (<http://www.emplantbase.org>).

Da settembre 2012 a maggio 2013 - Partecipazione alla prima fase del progetto **Liste Rosse** della Società Botanica Italiana. Rossi G., Montagnani C., Gargano D., Peruzzi L., Abeli T., Ravera S., Cogoni A., Fenu G., Magrini S., Gennai M., Foggi B., Wagensommer R.P., Venturella G., Blasi C., Raimondo F.M., Orsenigo S. (Eds.), 2013. *Lista Rossa della Flora Italiana. Policy Species e altre specie minacciate. Comitato Italiano IUCN e Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare*.

Incarichi professionali

Dal 11.11.2016 ad oggi - **Componente della Commissione Valutazione di Incidenza** del Comune di Baronissi (Salerno) ai sensi della Legge Regionale n. 16 del 07.08.2014 (Deliberazione di Giunta Comunale n. 318 del 11.11.2016, pubblicata il 21.11.2016).

Dal 22.01.2017 ad oggi - **Componente della Commissione per la certificazione delle collezioni botaniche** della Società Botanica Italiana onlus ai sensi dell'art. 9 e Allegato C del Regolamento della Società Botanica Italiana onlus.

Dal 01.09.2014 ad oggi - **Curatore volontario dell'Herbarium Porticense (PORUN)** del Centro Museale "Musei delle Scienze Agrarie" dell'Università degli Studi di Napoli Federico II.

Dal 2016 ad oggi - **Revisore regionale per la Campania** per l'aggiornamento della *Checklist della flora vascolare esotica italiana*.

Dal 2013 ad oggi - **Revisore tassonomico per il genere *Oxalis* L.** per l'aggiornamento della *Checklist della flora vascolare italiana*.

Attività didattiche

Dal 06.11.2018 al 06.11.2024 - **Abilitazione scientifica nazionale alle funzioni di Professore Universitario di seconda fascia per il settore concorsuale 05/A1 - Botanica** (Bando D.D. 1532/2016).

Dal 2009 ad oggi - **Collaborazione alle attività didattiche pratiche** finalizzate alla determinazione di entità vegetali mediante l'uso di guide analitiche nell'ambito dell'insegnamento **Botanica Sistemática e Forestale** del corso di Laurea in Scienze Forestali e Ambientali e dell'insegnamento **Botanica Generale e Sistemática** del corso di Laurea in Viticoltura ed Enologia della Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Napoli Federico II.

Dal 31.11.2015 ad oggi - **Culture della materia in Biodiversità Vegetale** (BIO/03, 7 CFU, Laurea Magistrale in Biologia), **Botanica Sistemática** (BIO/02, 4 CFU, Laurea Magistrale in Scienze e Tecnologie per l'Ambiente e il Territorio) e **Botanica Sistemática** (BIO/02, 2 CFU, Laurea a ciclo unico in Farmacia) presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche della Seconda Università degli Studi di Napoli (verbale Consiglio di Dipartimento n. 13 del 30.11.2015).

Da Giugno 2018 ad oggi - **Correlatore di Tesi di Laurea Magistrale in Biologia** presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche dell'Università della Campania Luigi Vanvitelli. Tesi sperimentale in Botanica sistemática dal titolo *Indagini morfometriche su *Seseli polyphyllum* (Apiaceae)*. Candidata: Maria Rosaria Iorio. Relatore: Assunta Esposito. Discussione Tesi: sessione prevista Giugno 2019.

Da Giugno 2016 a Dicembre 2018 - **Correlatore di Tesi di Laurea Magistrale in Biologia** presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche dell'Università della Campania Luigi Vanvitelli. Tesi sperimentale in Botanica sistemática dal titolo *Indagini morfometriche su *Limonium remotispiculum* (Plumbaginaceae)*. Candidata: Melania Eviano. Relatore: Assunta Esposito. Discussione Tesi: 18.12.2018.

Da Luglio 2017 a Giugno 2018 - **Correlatore di Tesi di Laurea Magistrale in Biologia** presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche dell'Università della Campania Luigi Vanvitelli. Tesi sperimentale in Botanica sistemática dal titolo *Effetti di diverse intensità di incendio in un popolamento a *Pinus pinaster* nella Riserva Naturale Alto Tirone (Parco del Vesuvio)*. Candidata: Amalia Violo. Relatore: Assunta Esposito. Discussione Tesi: 27.06.2018.

Da Febbraio 2016 a Marzo 2017 - **Correlatore di Tesi di Laurea Magistrale in Biologia** presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche dell'Università della Campania Luigi Vanvitelli. Tesi sperimentale in Botanica sistemática dal titolo *Effetto del fuoco prescritto su comunità vegetali mediterranee*. Candidata: Elisa Vecchio. Relatore: Assunta Esposito. Discussione Tesi: 31.03.2017.

14.07.2014 - **Abilitazione all'insegnamento nella classe di concorso A058 (Scienze e meccanica agraria e tecniche di gestione aziendale, fitopatologia ed entomologia agraria)** conseguita presso l'Università degli Studi di Napoli Federico II con la votazione di 100/100.

06.08.2017 - **Relatore e guida** di una escursione al Monte Alburno finalizzata all'analisi della flora e della vegetazione del sito nell'ambito dell'evento "Da Sant'Elia all'alba del paesaggio" organizzato dal Comune di Postiglione (Salerno).

20.07.2016 - **Relatore** su *Conoscere le piante: dal paesaggio alle molecole* alla Summer School 2016 (Caserta, 12-22 luglio 2016) organizzata dalla Seconda Università degli Studi di Napoli e dal Centro Studi ed Alta Formazione Maestri del Lavoro d'Italia e finalizzata all'orientamento universitario degli studenti delle scuole superiori.

06.06.2016 - **Relatore** su *Morfologia e tassonomia delle specie botaniche*. Training (Portici, 6-10 giugno 2016, Università degli Studi di Napoli Federico II, Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto di Bioscienze e Biorisorse) per la partecipazione dei migliori studenti delle scuole superiori italiane alle **XXVII Olimpiadi Internazionali della Biologia**, Hanoi 2016.

Dal 01.03.2016 al 01.04.2016 - **Incarico per prestazione di lavoro autonomo** da parte del Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente dell'Università degli Studi di Pavia. **Svolgimento di n. 3 seminari sul tema "Flora rara, minacciata ed endemica dell'Italia meridionale"** (3 ore) nell'ambito dei corsi di Geobotanica (L32) e Botanica Applicata (LM60) per l'anno accademico 2015/2016. Docente Prof. Graziano Rossi.

12.06.2015 - **Relatore** su *Morfologia e tassonomia delle specie botaniche*. Training (Portici, 8-12 giugno 2015, Università degli Studi di Napoli Federico II, Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto di Bioscienze e Biorisorse) per la partecipazione dei migliori studenti delle scuole superiori italiane alle **XXVI Olimpiadi Internazionali della Biologia**, Aarhus 2015.

30 marzo 2015 - **Relatore** su *Piante aliene e nuova regolamentazione comunitaria e Piante aliene in Campania* al Corso per Ispettori Fitosanitari 2014-2015 della Regione Campania - Progetto URCOFI - organizzato dal Dipartimento di Agraria dell'Università degli Studi di Napoli Federico II.

Dal 10.12.2014 al 04.02.2015 - **Docente come Esperto esterno in ambito PON** FSE 2012/13 e 2013/14-Piano Azione e Coesione, Cod. F-3-FSE04_POR_CAMPANIA-2013-190 CUP F65C13000160007. Titolo del progetto **Concentriamoci: il futuro parte dal centro**. Modulo **Realizzazione dei prodotti** (30 ore). Liceo Scientifico Linguistico Statale “V. Cuoco - T. Campanella” di Napoli.

Dal 05.02.2015 al 06.02.2015 - **Relatore** su *La flora e la vegetazione del Vesuvio* al Corso di aggiornamento professionale per Guide Vulcanologiche o Alpine del Presidio Permanente Vulcano Vesuvio organizzato dal Centro Museale “Musei delle Scienze Agrarie” dell’Università degli Studi di Napoli Federico II.

Dal 24.11.2014 al 26.11.2014 - **Docente di Scienze della terra** (classe I) e **Biologia** (classe II) - classe di concorso A060. Istituto di Istruzione Superiore Enzo Ferrari di Castellammare di Stabia. A.S. 2014/2015 (giorni 3).

Dal 01.06.2014 al 31.08.2014 - **Borsista** (borsa di studio post laurea) presso il Parco Nazionale della Majella.

Indagine nell’ambito del monitoraggio della flora di pregio del Parco Nazionale della Majella. Principali attività svolte: definizione degli areali di presenza e delle minacce incombenti e delle eventuali azioni di conservazione relativamente a *Crepis magellensis* F.Conti & Uzunov, *Epipactis savelliana* Bongiorno, De Vivo & Fori e *Ranunculus multident* Dunkel.

26 marzo 2014 - **Relatore** su *Le piante aliene in Campania. Stato delle conoscenze* al Corso per Ispettori Fitosanitari 2013-2014 della Regione Campania - Progetto URCOFI - organizzato dal Dipartimento di Agraria dell’Università degli Studi di Napoli Federico II.

Da febbraio 2014 a marzo 2014 - **Tutor Aziendale** del Dipartimento di Agraria dell’Università degli Studi di Napoli Federico II nell’ambito del progetto **Educare ad un futuro sostenibile attraverso le energie rinnovabili**, modulo **Il Real Bosco di Portici: storia e ambiente fisico e biologico** (7 ore), Legge n. 6 del 10.01.2000. Liceo Scientifico Statale “Filippo Silvestri” di Portici (Napoli).

Dal 01.09.2012 al 30.05.2013 - **Docente di Estimo** (classi IV-V) - classe di concorso A058. Istituto Tecnico Paritario per Geometri M. Mezzacapo di Napoli. A.S. 2012/2013 (giorni 275).

Dal 28.10.2010 al 27.10.2013 - **Culture della materia in Botanica Sistemica e Forestale** (BIO/02, 6 CFU, Laurea in Scienze Forestali e Ambientali) presso la Facoltà di Agraria dell’Università degli Studi di Napoli Federico II (verbale Consiglio di Facoltà n. 577 del 28.10.2010).

04.06.2013 - **Relatore** su *Tassonomia e riconoscimento di specie vegetali*. Training (Portici, 3-7 giugno 2013, Università degli Studi di Napoli Federico II, Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto di Genetica Vegetale, Associazione Nazionale Insegnanti Scienze Naturali) per la partecipazione dei migliori studenti delle scuole superiori italiane alle **XXIV Olimpiadi Internazionali della Biologia**, Berna 2013.

10.06.2012 - **Relatore e guida** nell’ambito di una escursione al Parco Nazionale del Vesuvio finalizzata all’analisi della flora e della vegetazione del sito. Training (Portici, 8-13 giugno 2012, Università degli Studi di Napoli Federico II, Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto di Genetica Vegetale - Istituto di Protezione delle Piante - Istituto per i Sistemi Agricoli e Forestali del Mediterraneo, Associazione Nazionale Insegnanti Scienze Naturali) per la partecipazione dei migliori studenti delle scuole superiori italiane alle **XXIII Olimpiadi Internazionali della Biologia**, Singapore 2012.

Dal 22.03.2012 al 23.03.2012 - **Presidente della Commissione d’esame** per l’accertamento dell’idoneità relativa al corso di *Operatore in marketing turistico* (qualifica professionale ai sensi della Legge 845/78) presso l’Istituto Professionale di Stato per i Servizi Commerciali e Turistici “Miano” di Napoli (nomina ricevuta dalla Regione Campania - Settore Orientamento, Ricerca, Sperimentazione e Programmazione nella Formazione Professionale).

Da 01.09.2011 al 30.06.2012 - **Docente di Estimo** (classe V) - classe di concorso A058. Istituto Tecnico Paritario per Geometri M. Mezzacapo di Marigliano (Napoli). A.S. 2011/2012 (giorni 303).

Dal 01.09.2010 al 30.06.2011 - **Docente di Economia e Contabilità** (classe IV) ed **Estimo** (classe V) - classe di concorso A058. Istituto Tecnico Paritario per Geometri M. Mezzacapo di Marigliano (Napoli). A.S. 2010/2011 (giorni 303).

10.06.2011 - **Relatore e guida** nell’ambito di una escursione al Parco Nazionale del Vesuvio finalizzata all’analisi della flora e della vegetazione del sito. Training (Portici, 6-10 giugno 2011, Università degli Studi di Napoli Federico II, Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto di Genetica Vegetale, Associazione Nazionale Insegnanti Scienze Naturali) per la partecipazione dei migliori studenti delle scuole superiori italiane alle **XXII Olimpiadi Internazionali della Biologia**, Taiwan 2011.

Dal 30.08.2010 al 31.08.2010 - **Docente di Tecnologia Rurale** (classe III), **Economia e Contabilità** (classi III-IV) ed **Estimo** (classe V) - classe di concorso A058. Istituto Tecnico Paritario per Geometri M. Mezzacapo di Marigliano (Napoli). A.S. 2009/2010 (giorni 2).

Dal 22.06.2010 al 13.07.2010 - **Docente Commissario Interno** agli **Esami di Stato** A.S. 2009/2010 di **Estimo** - classe di concorso A058. Istituto Tecnico Paritario per Geometri M. Mezzacapo di Marigliano (Napoli).

Da aprile 2010 a maggio 2010 - Docente come Esperto esterno in ambito PON annualità 2009-2010, obiettivo F-1-FSE-2009-2393, modulo alunni. Titolo progetto **La salvaguardia della natura: aula verde** (15 ore). 3° Circolo Didattico di Gragnano (Napoli).

Dal 01.09.2009 al 21.11.2009 e dal 14.12.2009 al 11.06.2010 - Docente di Tecnologia Rurale (classe III), **Economia e Contabilità** (classi III-IV) ed **Estimo** (classe V) - classe di concorso A058. Istituto Tecnico Paritario per Geometri M. Mezzacapo di Marigliano (Napoli). A.S. 2009/2010 (giorni 82 + 180).

Dal 2009 al 2010 - Tutor (assegnista per l'incentivazione delle attività di tutorato, didattico-integrative, propedeutiche e di recupero per l'anno accademico 2009/2010) presso la Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Napoli Federico II. Attività svolte: orientamento e assistenza studenti; supporto alle attività didattiche; partecipazione a manifestazioni di divulgazione dell'offerta didattica; supporto ai rapporti con le scuole.

Dal 18.05.2009 al 22.05.2009 - Relatore su Caratteri della vegetazione nell'analisi e nell'interpretazione del paesaggio irpino. Workshop Internazionale di Progettazione (corso intensivo Erasmus) Comparación de Imágenes de la Identidad de Paisajes Mediterráneos / Immagini dell'Identità dei Paesaggi Mediterranei a confronto. Alpujarra, Irpinia (Università degli Studi di Napoli Federico II, Facoltà di Architettura – Universidad de Granada, Escuela Técnica Superior de Arquitectura) nella sessione tenutasi in Irpinia.

Dal 2006 al 2008 - Collaborazione alle attività didattiche pratiche finalizzate alla determinazione di entità vegetali mediante l'uso di guide analitiche nell'ambito dell'insegnamento **Botanica Applicata** del corso di Laurea in Produzioni Vegetali della Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Napoli Federico II.

Dal 10.12.2008 al 12.06.2009 - Docente di Estimo (classe IV) ed **Economia e Contabilità** (classe IV) - classe di concorso A058. Istituto Tecnico Paritario per Geometri M. Mezzacapo di Marigliano (Napoli). A.S. 2008/2009 (giorni 185).

Dal 2005 al 2006 - Attività di tutorato presso la Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Napoli Federico II. Attività svolte: presidio sportello orientamento di facoltà; partecipazione a manifestazioni di divulgazione dell'offerta didattica; supporto ai rapporti con le scuole; supporto alle attività di tutorato; supporto all'organizzazione del tirocinio.

Altre esperienze professionali

Dal 22.01.2013 ad oggi - Agronomo libero professionista con esecuzione di *perizie tecnico-economiche, stime, progetti di sviluppo ed investimenti aziendali, consulenze alle aziende agricole e forestali, progettazione e gestione di aree verdi pubbliche e private, perizie fitostatiche finalizzate alla valutazione della stabilità degli alberi, analisi ambientali.*

Da maggio 2014 ad oggi - Collaborazione alle indagini botaniche svolte nell'ambito del monitoraggio ambientale previsto dal progetto "Opere di completamento piano viario – Parco archeologico – Collegamento tra tangenziale di Napoli (via Campana), rete viaria costiera e porto di Pozzuoli – Intervento C11 II Lotto".

Dal 13.02.2003 al 21.01.2013 - Agrotecnico libero professionista con esecuzione di *perizie tecnico-economiche, stime, progetti di sviluppo ed investimenti aziendali, consulenze alle aziende agricole e forestali, progettazione e gestione di aree verdi pubbliche e private, analisi ambientali.*

Da luglio 2018 a dicembre 2018 - Consulente per Agristudio S.r.l. (Società con sede in Firenze specializzata nella fornitura di consulenze, servizi, assistenza tecnica e project management principalmente in agricoltura, geologia ed ambiente). Realizzazione di **indagini floristico-vegetazionali - analisi della flora e della vegetazione, caratterizzazione degli habitat di interesse comunitario e valutazione del loro stato di conservazione** - nelle aree Natura 2000 del **Parco Nazionale della Sila** nell'ambito del progetto "PO FESR 2014-2020, Asse 6 - Piano di Azione 6.5.A.1 - Sub-Azione 1. Gruppo 1 Servizio 1 Habitat e specie vegetali - Area MAB".

Dal 28.03.2017 al 31.12.2017 - Consulente per Agriconsulting S.p.A. (Società con sede in Roma specializzata nella fornitura di consulenze, servizi, assistenza tecnica e project management principalmente in agricoltura, geologia ed ambiente) nell'ambito del piano di monitoraggio ambientale predisposto da ANAS per la costruzione della SS 652 "Fondovalle Sangro". Realizzazione di **rilievi floristici e vegetazionali con l'obiettivo di: 1. rilevare il consumo dei mosaici di fitocenosi per verificare l'effettivo consumo di suolo e delle foto cenosi ad esso associate, in presenza delle attività di cantiere; 2. analizzare lo stato delle fitocenosi per rilevare variazioni nella struttura delle formazioni vegetali e del rapporto quali-quantitativo delle specie ed evidenziare lo stato delle popolazioni vegetali; 3. rilevare fenomeni di ruderalizzazione e banalizzazione della flora mediante analisi della composizione floristica, per fasce campione poste ai lati del tracciato stradale.**

Dal 30.06.2011 al 13.08.2011 - Consulente per WWF Italia Onlus. Realizzazione di **indagine floristica-vegetazionale nel Vallone Porto (Positano)** nell'ambito del progetto di informazione e sensibilizzazione ambientale "All'interno del Vallone Porto" (PSR Campania 2007-2013 Misura 323).

Dal 14.10.2010 al 31.01.2011 - Rilevatore per il 6° Censimento Generale dell'Agricoltura nel territorio della Regione Campania predisposto dall'ISTAT (264 aziende rilevate). Attività svolte: partecipazione alle riunioni di

coordinamento, svolgimento del periodo di formazione, esecuzione delle interviste, compilazione dei questionari, trasmissione dei dati raccolti attraverso il sistema informativo SGR (Sistema di Gestione della Rilevazione).

Da marzo 2010 a marzo 2011 - Collaborazione gratuita alla realizzazione della **mappatura di dettaglio degli habitat**, dell'**analisi degli impatti della fruizione sugli habitat**, dell'**analisi storica dell'evoluzione dell'area nel SIC Pineta della Foce del Garigliano** nell'ambito del progetto PROVIDUNE LIFE 07/NAT/000519 "Conservazione e ripristino di habitat dunali prioritari nei siti delle Province di Cagliari, Matera e Caserta".

Da giugno 2007 a gennaio 2009 - Consulente per **Agristudio S.r.l.** Realizzazione di **indagini floristico-vegetazionali - rilievi fitosociologici, allestimento erbario, verifica cartografie, raccolta bibliografia naturalistica e analisi critica delle comunità vegetali** - nel **Parco Regionale dei Monti Picentini** nell'ambito del progetto "Database territoriale del Parco Regionale dei Monti Picentini".

Da agosto a ottobre 2008 - Consulente per **Agristudio S.r.l.** Realizzazione di **indagini floristico-vegetazionali - rilievi fitosociologici e verifica cartografie** - nel territorio dei **Monti Peloritani**, dei **Monti Iblei** e della **Sicilia Sud Orientale** nell'ambito dei progetti per la redazione dei Piani di Gestione dei siti Natura 2000 (SIC e ZPS) dei "Monti Peloritani", dei "Monti Iblei" e dei "Pantani della Sicilia Sud Orientale" e del progetto per la realizzazione della "Carta della Natura in scala 1:15.000 dell'intero territorio della Regione Siciliana".

Agosto 2008 - Consulente per **Agristudio S.r.l.** Realizzazione di **indagini floristico-vegetazionali - verifica cartografie** - nella **Piana di Catania** e nella **Sicilia Sud Orientale** nell'ambito del progetto per la realizzazione della "Carta della Natura in scala 1:15.000 dell'intero territorio della Regione Siciliana".

Da maggio a luglio 2008 - Consulente per **Agristudio S.r.l.** Realizzazione di **indagini floristico-vegetazionali - rilievi fitosociologici e verifica cartografie** - nel **Parco Regionale dei Monti Nebrodi** nell'ambito del progetto per la redazione del "Piano di Gestione dei Siti Natura 2000 (SIC e ZPS) denominato Monti Nebrodi" e del progetto per la realizzazione della "Carta della Natura in scala 1:15.000 dell'intero territorio della Regione Siciliana".

Da giugno 2007 a luglio 2008 - Consulente per **Agristudio S.r.l.** Realizzazione di **indagini floristico-vegetazionali - rilievi fitosociologici, raccolta bibliografia naturalistica, analisi critica delle comunità vegetali, analisi dei biotopi potenziali per le specie emergenti, protocolli per interventi di naturalizzazione** - nel **Parco Nazionale del Vesuvio** nell'ambito del progetto "Laboratorio permanente per il monitoraggio della biodiversità e realizzazione della cartografia della biodiversità del Parco Nazionale del Vesuvio" (POR Campania 2000-2006. Fondo FESR. Progetto Integrato VESEVO. Misura 1.9, Azione C, Iniziativa S22).

Dal 01.07.2007 al 10.10.2007 - **Volontario**, in qualità di socio dell'Associazione Onlus Ecologica Culturale di Escursionismo e Tutela Ambientale "Gruppo Stabiano Amici della Montagna" di Castellammare di Stabia (Napoli), nell'ambito del progetto **E...state a Quisisana** promosso dall'Assessorato all'Ambiente del Comune di Castellammare di Stabia (Napoli).

Da maggio a giugno 2007 - Collaborazione gratuita alla realizzazione di indagini mirate alla **valutazione della stabilità degli alberi (metodo VTA - Visual Tree Assessment)** ed all'**analisi dei principali aspetti della flora e della vegetazione attuale della Riserva Naturale Statale Cratere degli Astroni** nell'ambito del progetto "Restauro e riqualificazione ambientale della Riserva Naturale Statale Cratere degli Astroni".

Dal 02.08.2000 al 31.08.2000 - **Addetto al controllo qualità per AR Industrie Alimentari SPA**, sita in via Battimelli n. 25 - S. Antonio Abate (Napoli).

Organizzazione di congressi e workshop

Comitato organizzatore dell'*International Conference "TRACE 2019 - Tree-rings in Archaeology, Climatology and Ecology"*, San Leucio, Caserta (Italy), 7-10 May 2019.

Comitato organizzatore (proponente e coordinatore) del *Workshop del Gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione della Società Botanica Italiana "Identificazione dei gruppi sistematici critici rilevati nel corso dell'escursione di studio sui Monti Casertani (Campania) del 2017"*. Caserta, 22-24 Marzo 2018.

Comitato organizzatore (proponente e coordinatore) dell'*Escursione del Gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione della Società Botanica Italiana sui Monti Casertani (Campania)*, 3-6 Maggio 2017.

Comitato organizzatore (proponente e coordinatore) del *Workshop del Gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione della Società Botanica Italiana - seconda fase - "Identificazione dei gruppi sistematici critici rilevati nel corso dell'escursione di studio in Irpinia orientale (Campania e Basilicata) del 2015"*, Barisciano (L'Aquila), 4-5 Aprile 2016.

Comitato organizzatore (proponente e coordinatore) del *Workshop del Gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione della Società Botanica Italiana "Identificazione dei gruppi sistematici critici rilevati nel corso dell'escursione di studio in Irpinia orientale (Campania e Basilicata) del 2015"*, Portici (Napoli), 3-6 Marzo 2016.

Comitato organizzatore (segreteria) del *V International Symposium on Fig*, Naples (Italy), 31 August-3 September 2015.

- **Comitato organizzatore (proponente e coordinatore)** dell'*Escursione di studio del Gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione della Società Botanica Italiana in Irpinia orientale (Campania e Basilicata)*, 3-6 Giugno 2015.
- **Comitato organizzatore (segreteria)** dell'*International Symposium on Wood Structure in Plant Biology and Ecology (WSE)*, Naples (Italy), 17-20 April 2013.

Attività editoriali

i Dal 4 luglio 2018 ad oggi - **Subject Editor** per *Check List* (Brazil).
https://checklist.pensoft.net/browse_journal_groups.php?role_id=3&journal_name=checklist&journal_id=67&grp_id=0&p=9

Dal 23 aprile 2018 ad oggi - **Subject Editor** per *Nordic Journal of Botany* (USA; Impact Factor 2017: 0,846).
<http://www.nordicjbotany.org/about-journal/editorial-board>

Dal 19 aprile 2018 ad oggi - **Subject Editor** de *Systematic Botany* (USA; Impact Factor 2017: 1,515).

Dal 19 febbraio 2018 ad oggi - **Subject Editor** per *Annales Botanici Fennici* (Finland; Impact Factor 2017: 0,872).
<http://www.sekj.org/AnnBot.html>

Dall'8 dicembre 2017 ad oggi - **Subject Editor** per *Journal of Wildlife* (USA).
<https://openaccesspub.org/journal/jwl/editorial-board>

Da dicembre 2016 ad oggi - Membro del **Comitato Editoriale** del *Notiziario della Società Botanica Italiana* (Italia) e Responsabile della rubrica *Tesi Botaniche* della stessa rivista

Revisore per le seguenti riviste

Frontiers in Plant Science (Svizzera; Impact Factor 2017: 3,678).

PLoS ONE (USA; Impact Factor 2017: 2,766).

Pedosphere (Cina; Impact Factor 2017: 2,430).

Plant Biosystems (Regno Unito; Impact Factor 2017: 1,203).

BioInvasions Records (Finlandia; Impact Factor 2017: 1,189).

Phytotaxa (Nuova Zelanda; Impact Factor 2017: 1,185).

Acta Botanica Croatica (Croazia; Impact Factor 2017: 0,588).

Journal of Scientific Research and Reports (India).

One Ecosystem (Bulgaria).

Atti della Società italiana di Scienze naturali e del Museo civico di Storia naturale in Milano (Italia).

Publicazioni scientifiche

Articoli su riviste internazionali con referee con impact factor

- DE MICCO V., AMITRANO C., **STINCA A.**, IZZO L.G., ZALLONI E., BALZANO A., BARILE R., CONTI P. & ARENA C., in press - *Dust accumulation due to anthropogenic impact induces anatomical and photochemical changes in leaves of Centaurea ruber growing on the slope of the Vesuvius volcano*. *Plant Biology*. DOI: doi:10.1111/plb.12966 Impact Factor 2,156 (2016).
- CHELLI S., MARIGNANI M., BARNI E., PETRAGLIA A., PUGLIELLI G., WELLSTEIN C., ACOSTA A.T.R., BOLPAGNI R., BRAGAZZA L., CAMPETELLA G., CHIARUCCI A., CONTI L., NASCIBENE J., ORSENIGO S., PIERCE S., RICOTTA C., TARDELLA F.M., ABELI T., ARONNE G., BACARO G., BAGELLA S., BENESPERI R., BERNAREGGI G., BONANOMI G., BRUSA G., BUFFA G., BURRASCANO S., CACCIANIGA M., CALABRESE V., CANULLO R., CARBOGNANI M., CARBONI M., CARRANZA M.L., CATORCI A., CICCARELLI D., CITTERIO S., CUTINI M., DALLE FRATTE M., DE MICCO V., DEL VECCHIO S., DI MARTINO L., DI MUSCIANO M., FANTINATO E., FILIGHEDDU R., FRATTAROLI A., GENTILI R., GERDOL R., GIARRIZZO E., GIORDANI P., GRATANI L., INCERTI G., MAZZOLENI S., MONDONI A., MONTAGNANI C., MONTAGNOLI A.A., PAURA B., PETRUZZELLIS F., PISANU S., ROSSI G., SGARBI E., SINISCALCO C., SLAVIERO A., STANISCI A., **STINCA A.**, TOMASELLI M. & CERABOLINI B.E.L., in press - *Plant functional traits and the environment: a review of Italian studies*. *Plant Biosystems*. DOI: <https://doi.org/10.1080/11263504.2018.1559250> Impact Factor 1,92 (2014).

- BONARI G., KNOLLOVÁ I., VLČKOVÁ P., XYSTRAKIS F., ÇOBAN S., SAĞLAM C., DIDUKH Y.P., HENNEKENS S.M., ACOSTA A.T.R., ANGIOLINI C., BERGMEIER E., BERTACCHI A., COSTA J.C., FARFARILLO E., GIGANTE D., GUARINO R., LANDI M., NETO C.S., PESARESI S., ROSATI L., SELVI F., SOTIRIOU A., **STINCA A.**, TURCATO C., TZONEV R., VICIANI V. & CHYTRÝ M., in press - *CircumMed+Euro Pine Forest Database: an electronic archive for Mediterranean and European pine forests*. Phytocoenologia. DOI 10.1127/phyto/2018/0311. Impact Factor 1,727 (2017).
- VISCONTI D., FIORENTINO N., **STINCA A.**, DI MOLA I. & FAGNANO M., 2018 - *Use of the native vascular flora for risk assessment and management of an industrial contaminated soil*. Italian Journal of Agronomy, 13 (s1): 23-33. Impact Factor 0,579 (2017).
- CALABRESE V., CARRANZA M.L., EVANGELISTA A., MARCHETTI M., **STINCA A.** & STANISCI A., 2018 - *Long term changes in the composition, ecology and structure of Pinus mugo scrubs in the Apennines (Italy)*. Diversity, 10 (3): 70. Impact Factor 2,03 (2016).
- ORSENIGO S., MONTAGNANI C., FENU G., GARGANO D., PERUZZI L., ABELI T., ALESSANDRINI A., BACCHETTA G., BARTOLUCCI F., BOVIO M., BRULLO C., BRULLO S., CARTA A., CASTELLO M., COGONI D., CONTI F., DOMINA G., FOGGI B., GENNAI M., GIGANTE D., IBERITE M., LASEN C., MAGRINI S., PERRINO E.V., PROSSER F., SANTANGELO A., SELVAGGI A., **STINCA A.**, VAGGE I., VILLANI M.C., WAGENSOMMER R.P., WILHALM T., TARTAGLINO N., DUPRÉ E., BLASI C. & ROSSI G., 2018 - *Red Listing plants under full national responsibility: extinction risk and threats in the vascular flora endemic to Italy*. Biological Conservation, 224: 213-222. Impact Factor 3,762 (2014).
- FRATE L., CARRANZA M.L., EVANGELISTA A., **STINCA A.**, SCHAMINÉE J.H.J. & STANISCI A., 2018 - *Climate and land use change impacts on Mediterranean high-mountain vegetation in the Apennines since the 1950s*. Plant Ecology & Diversity, 11 (1): 85-96. Impact Factor 1,809 (2016).
- GALASSO G., CONTI F., PERUZZI L., ARDENGHI N.M.G., BANFI E., CELESTI-GRAPOW L., ALBANO A., ALESSANDRINI A., BACCHETTA G., BALLELLI S., BANDINI MAZZANTI M., BARBERIS G., BERNARDO L., BLASI C., BOUVET D., BOVIO M., CECCHI L., DEL GUACCHIO E., DOMINA G., FASCETTI S., GALLO L., GUBELLINI L., GUIGGI A., IAMONICO D., IBERITE M., JIMÉNEZ-MEJÍAS P., LATTANZI E., MARCHETTI D., MARTINETTO E., MASIN R.R., MEDAGLI P., PASSALACQUA N.G., PECCENINI S., PENNESI R., PIERINI B., PODDA L., POLDINI L., PROSSER F., RAIMONDO F.M., ROMA-MARZIO F., ROSATI L., SANTANGELO A., SCOPPOLA A., SCORTEGAGNA A., SELVAGGI A., SELVI F., SOLDANO A., **STINCA A.**, WAGENSOMMER R.P., WILHALM T. & BARTOLUCCI F., 2018 - *An updated checklist of the vascular flora alien to Italy*. Plant Biosystems, 152 (3): 556-592. Impact Factor 1,92 (2014).
- BARTOLUCCI F., PERUZZI L., GALASSO G., ALBANO A., ALESSANDRINI A., ARDENGHI N.M.G., ASTUTI G., BACCHETTA G., BALLELLI S., BANFI E., BARBERIS G., BERNARDO L., BOUVET D., BOVIO M., CECCHI L., DI PIETRO R., DOMINA G., FASCETTI S., FENU G., FESTI F., FOGGI B., GALLO L., GOTTSCHLICH G., GUBELLINI L., IAMONICO D., IBERITE M., JIMÉNEZ-MEJÍAS P., LATTANZI E., MARCHETTI D., MARTINETTO E., MASIN R.R., MEDAGLI P., PASSALACQUA N.G., PECCENINI S., PENNESI R., PIERINI B., POLDINI L., PROSSER F., RAIMONDO F.M., ROMA-MARZIO F., ROSATI L., SANTANGELO A., SCOPPOLA A., SCORTEGAGNA A., SELVAGGI A., SELVI F., SOLDANO A., **STINCA A.**, WAGENSOMMER R.P., WILHALM T. & CONTI F., 2018 - *An updated checklist of the vascular flora native to Italy*. Plant Biosystems, 152(2): 179-303. Impact Factor 1,92 (2014).
- BONANOMI G., INCERTI G., ABD EL-GAWAD A. M., SARKER T. C., **STINCA A.**, MOTTI R., CESARANO G., TEOBALDELLI M., SAULINO L., CONA F., CHIRICO G. B., MAZZOLENI S. & SARACINO A., 2018 - *Windstorm disturbance triggers multiple species invasion in a Mediterranean forest*. iForest. - Biogeosciences and Forestry, 11: 64-71. Impact Factor 1,269 (2014).
- BRUNDU G., PERUZZI L., DOMINA G., BARTOLUCCI F., GALASSO G., PECCENINI S., RAIMONDO F.M., ALBANO A., ALESSANDRINI A., BANFI E., BARBERIS G., BERNARDO L., BOVIO M., BRULLO S., BRUNU A., CAMARDA I., CARTA L., CONTI F., CROCE A., IAMONICO D., IBERITE M., IIRITI G., LONGO D., MARSILI S., MEDAGLI P., MARIOTTI M.G., PENNESI R., PISTARINO A., SALMERI C., SANTANGELO A., SCASSELLATI E., SELVI F., **STINCA A.**, VACCA G., VILLANI M., WAGENSOMMER R.P. & PASSALACQUA N.G., 2017 - *At the intersection of cultural and natural heritage: Distribution and conservation of the type localities of Italian endemic vascular plants*. Biological Conservation, 214: 109-118. Impact Factor 4,022 (2016).
- ITO Y., OHI-TOMA T., NEPI C., SANTANGELO A., **STINCA A.**, TANAKA N. & MURATA J., 2017 - *Towards a better understanding of the Ruppia maritima complex (Ruppiaaceae): Notes on the correct application and typification of the names R. cirrhosa and R. spiralis*. Taxon, 66 (1): 167-171. Impact Factor 2,477 (2016).
- **STINCA A.** & PIGNATTI S., 2016 - *A new combination in Smyrniium (Apiaceae)*. Phytotaxa, 284 (2): 137. Impact Factor 1,240 (2016).
- STANISCI A., EVANGELISTA A., FRATE L., **STINCA A.** & CARRANZA M. L., 2016 - *VIOLA - Database of High Mountain Vegetation of Central Apennines*. Phytocoenologia, 46 (2): 231-232. Impact Factor 1,727 (2017).
- CELESTI-GRAPOW L., BASSI L., BRUNDU G., CAMARDA I., CARLI E., D'AURIA G., DEL GUACCHIO E., DOMINA G., FERRETTI G., FOGGI B., LAZZARO L., MAZZOLA P., PECCENINI S., PRETTO F., **STINCA A.** & BLASI C., 2016 -

- Plant invasions on small Mediterranean islands: An overview*. Plant Biosystems, 150 (5): 1119-1133. Impact Factor 1,390 (2016).
- BONANOMI G., **STINCA A.**, CHIRICO G. B., CIASCETTI G., SARACINO A. & INCERTI G., 2016 - *Cushion plant morphology controls biogenic capability and facilitation effects of Silene acaulis along an elevation gradient*. Functional Ecology, 30 (7): 1216-1226. Impact Factor 5,630 (2016).
 - **STINCA A.**, GALASSO G. & BANFI E., 2016 - *First Italian record of Paspalum notatum Flügge (Poaceae) and its typification*. Acta Botanica Croatica, 75 (1): 153-156. Impact Factor 0,516 (2016).
 - PARRELLA G., GIORGINI M., NAPPO A. G. & **STINCA A.**, 2016 - *Urtica membranacea: a new host for Tomato yellow leaf curl virus and Tomato yellow leaf curl Sardinia virus in Italy*. Plant Disease, 100 (2): 539. Impact Factor 3,173 (2016).
 - **STINCA A.** & MOTTI R., 2015 - *A new combination in Helosciadium (Apiaceae) for the flora of North Africa*. Phytotaxa, 217 (1): 100. Impact Factor 1,240 (2016).
 - ADAMO P., MINGO A., COPPOLA I., MOTTI R., **STINCA A.** & AGRELLI D., 2015 - *Plant colonization of brownfield soil and post-washing sludge: effect of organic amendment and environmental conditions*. International Journal of Environmental Science and Technology, 12 (6): 1811-1824. Impact Factor 1,915 (2016).
 - **STINCA A.**, CHIRICO G. B., INCERTI G. & BONANOMI G., 2015 - *Regime Shift by an Exotic Nitrogen-Fixing Shrub Mediates Plant Facilitation in Primary Succession*. PLoS ONE, 10 (4): e0123128. Impact Factor 2,806 (2016).
 - PERUZZI L., DOMINA G., BARTOLUCCI F., GALASSO G., PECCENINI S., RAIMONDO F. M., ALBANO A., ALESSANDRINI A., BANFI E., BARBERIS G., BERNARDO L., BOVIO M., BRULLO S., BRUNDU G., BRUNU A., CAMARDA I., CARTA L., CONTI F., CROCE A., IAMONICO D., IBERITE M., IIRITI G., LONGO D., MARSILI S., MEDAGLI P., PISTARINO A., SALMERI C., SANTANGELO A., SCASSELLATI E., SELVI F., SOLDANO A., **STINCA A.**, VILLANI M. C., WAGENSOMMER R. P. & PASSALACQUA N. G., 2015 - *An inventory of the names of vascular plants endemic to Italy, their loci classici and types*. Phytotaxa, 196 (1): 1-217. Impact Factor 1,240 (2016).
 - BONANOMI G., INCERTI G., **STINCA A.**, CARTENI F., GIANNINO F. & MAZZOLENI S., 2014 - *Ring formation in clonal plants*. Community Ecology, 15 (1): 77-86. Impact Factor 0,782 (2016).
 - PARRELLA G., GRECO B., CENNAMO G. & **STINCA A.**, 2013 - *Araujia sericifera New Host of Alfalfa mosaic virus in Italy*. Plant Disease, 97 (10): 1387. Impact Factor 3,173 (2016).
 - INCERTI G., GIORDANO D., **STINCA A.**, SENATORE M., TERMOLINO P., MAZZOLENI S. & BONANOMI G., 2013 - *Fire occurrence and tussock size modulate facilitation by Ampelodesmos mauritanicus*. Acta Oecologica, 49: 116-124. Impact Factor 1,420 (2016).
 - MOTTI R. & **STINCA A.**, 2011 - *Analysis of the biodeteriogenic vascular flora at the Royal Palace of Portici in southern Italy*. International Biodeterioration & Biodegradation, 65 (8): 1256-1265. Impact Factor 2,962 (2016).

Articoli su riviste internazionali con referee con impact factor submitted

- **STINCA A.** & MEI G., submitted - *First discovery of Ehrharta erecta (Poaceae, Ehrhartoideae) in Sicily and its distribution in Italy*. Rendiconti Lincei. Impact Factor 0,986 (2017).
- VISCONTI D., FIORENTINO N., CAPORALE A., **STINCA A.**, MOTTI R., ADAMO P. & FAGNANO M., submitted - *Analyses of native vegetation for detailed characterization of a soil contaminated by tannery waste*. Environmental Pollution. Impact Factor 4,358 (2016).
- CROCE A., **STINCA A.**, SANTANGELO A. & ESPOSITO A., submitted - *Exploring vascular flora biodiversity of two protected sandy coastal areas in southern Italy*. Rendiconti Lincei. Impact Factor 0,986 (2017).

Articoli su riviste internazionali con referee senza impact factor

- **STINCA A.**, RAVO M., GIACANELLI V. & CONTI F., in press - *Additions to the vascular flora of the islands of Procida and Vivara (Campania, southern Italy)*. Atti della Società Toscana di Scienze Naturali, Memorie Serie B. DOI: 10.2424/ASTSN.M.2018.14
- PERUZZI L., VICIANI D., ANGIOLINI C., ASTUTI G., BANFI E., BARDARO M.R., BIANCHETTO E., BONARI G., CANNUCCI S., CANTINI D., CASTAGNINI P., D'ANTRACCOLI M., ESPOSITO A., FERRETTI G., FIASCHI T., FOGGI B., FRANCESCHI G., GALASSO G., GOTTSCHLICH G., LASTRUCCI L., LAZZARO L., MANELI F., MARCHETTI D., MARSIAJ G., MUGNAI M., ROMA-MARZIO F., RUOCCO M., SALVAI G., **STINCA A.**, BEDINI G., in press - *Contributi per una flora vascolare di Toscana. X (606-663)*. Atti della Società Toscana di Scienze Naturali, Memorie Serie B. DOI: 10.2424/ASTSN.M.2018.12
- GALASSO G., DOMINA G., ALESSANDRINI A., ARDENGHI N.M.G., BACCHETTA G., BALLELLI S., BARTOLUCCI F., BRUNDU G., BUONO S., BUSNARDO G., CALVIA G., CAPECE P., D'ANTRACCOLI M., DI NUZZO L., FANFARILLO E., FERRETTI G., GUARINO R., IAMONICO D., IBERITE M., LATINI M., LAZZARO L., LONATI M., LOZANO V., MAGRINI S., MEI G., MEREU G., MORO A., MUGNAI M., NICOLELLA G., NIMIS P.L., OLIVIERI N., PENNESI R.,

- PERUZZI L., PODDA L., PROBO M., PROSSER F., RAVETTO ENRI S., ROMA-MARZIO F., RUGGERO A., SCAFIDI F., **STINCA A.** & NEPI C., 2018 - *Notulae to the Italian alien vascular flora: 6*. Italian Botanist, 6: 65-90.
- BARTOLUCCI F., DOMINA G., ARDENGHI N.M.G., BACCHETTA G., BERNARDO L., BUCCOMINO G., BUONO S., CALDARARO F., CALVIA G., CARRUGGIO F., CAVAGNA A., D'AMICO F.S., DI CARLO F., FESTI F., FORTE L., GALASSO G., GARGANO D., GOTTSCHLICH G., LAZZARO L., MAGRINI S., MAIORCA G., MEDAGLI P., MEI G., MENNINI F., MEREU G., MISEROCCHI D., OLIVIERI N., PASSALACQUA N.G., PAZIENZA G., PERUZZI L., PROSSER F., REMPICCI M., ROMA-MARZIO F., RUGGERO A., SANI A., SAULLE D., STEFFANINI C., **STINCA A.**, TERZI M., TONDI G., TRENCHI M., VICIANI D., WAGENSOMMER R.P. & NEPI C., 2018 - *Notulae to the Italian native vascular flora: 6*. Italian Botanist, 6: 45-64.
 - GIACCONE M., CIRILLO C., SCOGNAMIGLIO P., TEOBALDELLI M., MATAFFO A., **STINCA A.**, PANNICO A., IMMIRZI B., SANTAGATA G., MALINCONICO M. & BASILE B., 2018 - *Biodegradable mulching spray for weed control in the cultivation of ornamental shrubs in container*. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 5: 21.
 - BARTOLUCCI F., DOMINA G., ARDENGHI N.M.G., BANFI E., BERNARDO L., BONARI G., BUCCOMINO G., CALVIA G., CARRUGGIO F., CAVALLARO V., CHIANESE G., CONTI F., FACIONI L., DEL VICO E., DI GRISTINA E., FALCINELLI F., FORTE L., GARGANO D., MANTINO F., MARTINO M., MEI G., MEREU G., OLIVIERI N., PASSALACQUA N.G., PAZIENZA G., PERUZZI L., ROMA-MARZIO F., SCAFIDI F., SCOPPOLA A., **STINCA A.** & NEPI C., 2018 - *Notulae to the Italian native vascular flora: 5*. Italian Botanist, 5: 71-81.
 - BOUVET D., PISTARINO A., SOLDANO A., BANFI E., BARBO M., BARTOLUCCI F., BOVIO M., CANCELLIERI L., CONTI F., DI PIETRO R., FARAONI F., FASCETTI S., GALASSO G., GANGALE C., LATTANZI E., PECCENINI S., PERRINO E.V., MASIN R.R., ROMANO V.A., ROSATI L., SALERNO G., **STINCA A.**, TILIA A. & UZUNOV D., 2018 - *Contribution to the floristic knowledge of the head of the Po Valley (Piedmont, north Italy)*. Italian Botanist, 5: 57-69.
 - GALASSO G., DOMINA G., ADORNI M., ARDENGHI N.M.G., BONARI G., BUONO S., CANCELLIERI L., CHIANESE G., FERRETTI G., FIASCHI T., FORTE L., GUARINO R., LABADESSA R., LASTRUCCI L., LAZZARO L., MAGRINI S., MINUTO L., MOSSINI S., OLIVIERI N., SCOPPOLA A., **STINCA A.**, TURCATO C. & NEPI C., 2018 - *Notulae to the Italian alien vascular flora: 5*. Italian Botanist, 5: 45-56.
 - MOTTI R., ESPOSITO A. & **STINCA A.**, 2018 - *New additions to the exotic vascular flora of Campania (southern Italy)*. Annali di Botanica, 8: 75-85.
 - ERCOLE S., FENU G., GIACANELLI V., PINNA M.S., ABELI T., ALEFFI M., BARTOLUCCI F., COGONI D., CONTI F., CROCE A., DOMINA G., FOGGI B., FORTE T., GARGANO D., GENNAI M., MONTAGNANI C., ORIOLO G., ORSENIGO S., RAVERA S., ROSSI G., SANTANGELO A., SINISCALCO C., **STINCA A.**, SULIS E., TROIA A., VENA M., GENOVESI P. & BACCHETTA G., 2017 - *The species-specific monitoring protocols for the Italian flora of Community interest*. Plant Sociology, 54 (2, Suppl. 1): 77-83.
 - **STINCA A.** & MOTTI R., 2017 - *Alien plant invasions in Astroni crater, a decades-long unmanaged forest in southern Italy*. Atti della Società Toscana di Scienze Naturali, Memorie Serie B, 124: 101-108.
 - PERUZZI L., VICIANI D., ANGIOLINI C., ASTUTI G., BANFI E., BENOCCI A., BONARI G., BRUNI G., CARAMANTE P., CARÉ M., CARTA A., CASTAGNINI P., CHELI A., CIAMPOLINI F., D'ANTRACCOLI M., FERRETTI G., FERRUZZI S., FIASCHI T., FOGGI B., FONTANA D., GALASSO G., GALLO L., GALVANI D., GESTRI G., GRAZZINI A., LASTRUCCI L., LAZZARO L., LOPPI S., MANGANELLI G., MUGNAI M., PIAZZINI S., PIERINI B., ROMA-MARZIO F., SANI A., SELVI F., SOLDANO A., **STINCA A.** & BEDINI G., 2017 - *Contributi per una flora vascolare di Toscana. IX (507-605)*. Atti della Società Toscana di Scienze Naturali, Memorie Serie B, 124: 73-86.
 - SALERNO G., **STINCA A.**, GIACCONE M., SCOGNAMIGLIO P. & BASILE B., 2017 - *Ethnobotanical use of fig (Ficus carica L.) in Southern Italy*. Acta Horticulturae, 1173: 371-375.
 - BARTOLUCCI F., DOMINA G., ADORNI M., CECCHI L., CHIANESE G., CONTI F., D'ANTRACCOLI M., GALASSO G., GHILLANI L., GIARDINI M., GUGLIELMONE L., MORELLI V., OLIVIERI N., LÓPEZ TIRADO J., ROMA-MARZIO F., SCOPPOLA A., SELVI F., **STINCA A.**, STURLONI S., TOMASELLI V., VERONICO G. & NEPI C., 2017 - *Notulae to the Italian native vascular flora: 4*. Italian Botanist, 4: 43-51.
 - GALASSO G., DOMINA G., BONARI G., BUONO S., CHIANESE G., CORTESI G., FRANGINI G., IAMONICO D., OLIVIERI N., PERUZZI L., PIERINI B., ROMA-MARZIO F., SCOPPOLA A., SOLDANO A., **STINCA A.**, TOMASELLI V., VERONICO G. & NEPI C., 2017 - *Notulae to the Italian alien vascular flora: 4*. Italian Botanist, 4: 33-41.
 - **STINCA A.**, CHIANESE G., D'AURIA G., DEL GUACCHIO E., FASCETTI S., PERRINO E.V., ROSATI L., SALERNO G. & SANTANGELO A., 2017 - *New alien vascular species for the flora of southern Italy*. Webbia, 72 (2): 295-301.
 - ORSENIGO S., ASTUTI G., BARTOLUCCI F., CITTERIO S., CONTI F., GARRIDO-BECERRA J.A., GENTILI R., DEL GALDO G.G., JIMÉNEZ-MARTÍNEZ J.F., KARRER G., LAHORA A., MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ F., MENDOZA-FERNÁNDEZ A.J., MERLO M.E., MONTAGNANI C., MOTA J., NICOLELLA G., PÉREZ-GARCÍA F.J., PERUZZI L., ROBLES J., ROMA-MARZIO F., SALMERÓN-SÁNCHEZ E., SÁNCHEZ-GÓMEZ P., SERRA L., **STINCA A.** & FENU G., 2017 - *Global and Regional IUCN Red List Assessments: 3*. Italian Botanist, 3: 83-98.
 - ROSATI L., ROMANO V.A., BARTOLUCCI F., BERNARDO L., BOUVET D., CANCELLIERI L., CARUSO G., CONTI F., FARAONI F., BANFI E., GALASSO G., LATTANZI E., LAVEZZO P., PECCENINI S., PERRINO E.V., SALERNO G.,

- SCIANDRA A., SOLDANO A., **STINCA A.**, TOTTA C. & FASCETTI S., 2017 - *Contribution to the floristic knowledge of the Maddalena Mountains (Basilicata and Campania, southern Italy)*. Italian Botanist 3: 73-82.
- GALASSO G., DOMINA G., ARDENGHI N.M.G., ASSINI S., BANFI E., BARTOLUCCI F., BIGAGLI V., BONARI G., BONIVENTO E., CAUZZI P., D'AMICO F.S., D'ANTRACCOLI M., DINELLI D., FERRETTI G., GENNAI M., GHEZA G., GUIGGI A., GUZZON F., IAMONICO D., IBERITE M., LATINI M., LONATI M., MEI G., NICOLELLA G., OLIVIERI N., PECCENINI S., PERALDO G., PERRINO E.V., PROSSER F., ROMA-MARZIO F., RUSSO G., SELVAGGI A., **STINCA A.**, TERZI M., VANNINI J., VERLOOVE F., WAGENSOMMER R.P., WILHALM T. & NEPI C., 2017 - *Notulae to the Italian alien vascular flora: 3*. Italian Botanist, 3: 49-71.
 - BARTOLUCCI F., DOMINA G., ADORNI M., ALESSANDRINI A., ARDENGHI N.M.G., BANFI E., BARAGLIU G.A., BERNARDO L., BERTOLLI A., BIONDI E., CAROTENUTO L., CASAVECCHIA S., CAUZZI P., CONTI F., CRISANTI M.A., D'AMICO F.S., DI CECCO V., DI MARTINO L., FAGGI G., FALCINELLI F., FORTE L., GALASSO G., GASPARRI R., GHILLANI L., GOTTSCHLICH G., GUZZON F., HARPKE D., LASTRUCCI L., LATTANZI E., MAIORCA G., MARCHETTI D., MEDAGLI P., OLIVIERI N., PASCALE M., PASSALACQUA N.G., PERUZZI L., PICOLLO S., PROSSER F., RICCIARDI M., SALERNO G., **STINCA A.**, TERZI M., VICIANI D., WAGENSOMMER R.P. & NEPI C., 2017 - *Notulae to the Italian native vascular flora: 3*. Italian Botanist, 3: 29-48.
 - **STINCA A.**, 2017 - *Orchis italica Poir. (Orchidaceae): rediscovery after four centuries of a presumably extinct species in Mt. Vesuvius, Italy*. Annali di Botanica, 7: 71-74.
 - SALERNO G. & **STINCA A.**, 2017 - *First European record of Solandra maxima (Sessé & Moc.) P.S.Green (Solanaceae)*. Annali di Botanica, 7: 67-70.
 - **STINCA A.**, RAVO M., GIACANELLI V. & CONTI F., 2017 - *Integrazioni alla flora vascolare dell'Isola di Capri (Campania, Sud Italia)*. Atti della Società Toscana di Scienze Naturali, Memorie Serie B, 123 (2016): 65-70.
 - EVANGELISTA A., FRATE L., **STINCA A.**, CARRANZA M.L. & STANISCI A., 2016 - *VIOLA - the vegetation database of the central Apennines: structure, current status and usefulness for monitoring EU habitats*. Plant Sociology, 53 (2): 47-58.
 - BARTOLUCCI F., DOMINA G., ADORNI M., ARGENTI C., ASTUTI G., BANGONI S., BULDRINI F., CAMPOCHIARO M. B., CARRUGGIO F., CECCHI L., CONTI F., CRISTAUDO A., D'AMICO F. S., D'AURIA G., DI GRISTINA E., DUNKEL F.-G., FORTE L., GANGALE C., GHILLANI L., GOTTSCHLICH G., MANTINO F., MARIOTTI M., NOVARO C., OLIVIERI N., PALLADINO G., PASCALE M., PEPE A., PERRINO E. V., PERUZZI L., PICOLLO S., PUNTILLO D., ROMA-MARZIO F., ROSIELLO A., RUSSO G., SANTINI C., SELVI F., SCAFIDI F., SCOPPOLA A., **STINCA A.**, VILLA M. & NEPI C., 2016 - *Notulae to the Italian native vascular flora: 2*. Italian Botanist 2: 73-92.
 - GALASSO G., DOMINA G., ARDENGHI N. M. G., ARRIGONI P., BANFI E., BARTOLUCCI F., BONARI G., BUCCOMINO G., CIASCHETTI G., CONTI F., COPPI A., DI CECCO V., DI MARTINO L., GUIGGI A., LASTRUCCI L., LEPORATTI M. L., LÓPEZ TIRADO J., MAIORCA G., MOSSINI S., OLIVIERI N., PENNESI R., ROMITI B., SCOPPOLA A., SOLDANO A., **STINCA A.**, VERLOOVE F., VILLA M. & NEPI C., 2016 - *Notulae to the Italian alien vascular flora: 2*. Italian Botanist, 2: 55-71.
 - **STINCA A.**, CROCE A., D'AURIA G., SALERNO G., SANTANGELO A., ROSATI L. & MOTTI R., 2016 - *Nuovi dati sulla flora vascolare aliena della Campania (Sud Italia)*. Atti della Società Toscana di Scienze Naturali, Memorie Serie B, 122 (2015): 89-110.
 - CONTI F., BARTOLUCCI F., MANZI A., PAOLUCCI M., SANTUCCI B., PETRICCIONE B., MIGLIO M., CIASCHETTI G. & **STINCA A.**, 2016 - *Integrazioni alla flora vascolare dell'Italia Centrale*. Atti della Società Toscana di Scienze Naturali, Memorie Serie B, 122 (2015): 33-42.
 - GALASSO G., DOMINA G., ADORNI M., ARDENGHI N. M. G., BANFI E., BEDINI G., BERTOLLI A., BRUNDU G., CALBI M., CECCHI L., CIBEI C., D'ANTRACCOLI M., DE BASTIANI A., FAGGI G., GHILLANI L., GIARDINI M., IBERITE M., KLEIH M., LATINI M., LAZZERI V., LIGUORI P., MARHOLD K., MASIN R., MAURI S., MENEGUZZO E., MEREU G., NICOLELLA G., OLIVIERI N., PECCENINI S., PERRINO E.V., PERUZZI L., PETRAGLIA A., PIERINI B., PROSSER F., ROMA-MARZIO F., ROMANI E., SAMMARTINO F., SELVAGGI A., SIGNORILE G., **STINCA A.**, VERLOOVE F. & NEPI C., 2016 - *Notulae to the Italian alien vascular flora: 1*. Italian Botanist, 1: 17-37.
 - BARTOLUCCI F., DOMINA G., ADORNI M., ALESSANDRINI A., ANGIULLI F., ARDENGHI N.M.G., BANFI E., BARBERIS G., BEDINI G., BONARI G., CALBI M., FENAROLI F., GALASSO G., GESTRI G., GHILLANI L., GOTTSCHLICH G., IBERITE M., LATINI M., LAZZERI V., NICOLELLA G., OLIVIERI N., PERRINO E.V., PERUZZI L., PISANI G., ROMA-MARZIO F., RUSSO G., SCUTELLÀ F., SILETTI G.N., **STINCA A.**, WAGENSOMMER R.P. & NEPI C., 2016 - *Notulae to the Italian native vascular flora: 1*. Italian Botanist, 1: 5-15
 - CUCCUINI P., NEPI C., ABUHADRA M.N., CECCHI L., FREITAG H., LUCCIOLI E., MAIER STOLTE M., MARCUCCI R., PERUZZI L., PIGNOTTI L., **STINCA A.**, WALLNÖFER B. & WOOD J., 2015 - *The Libyan Collections in FI (Herbarium Centrale Italicum and Webb Herbarium) and Studies on the Libyan Flora by R. Pampanini – Part 1*. Bocconea, 27 (2): 3-132.
 - **STINCA A.**, GIACCONE M., BASILE B. & MOTTI R., 2015 - *Peach [Prunus persica (L.) Batsch]: an alien species of the Italian vascular flora*. Acta Horticulturae, 1084: 445-451.
 - **STINCA A.**, D'AURIA G. & MOTTI R., 2014 - *Manihot esculenta (Euphorbiaceae), a new alien species in Italy*. Hacquetia, 13 (2): 355-357.

- **STINCA A.**, CONTI P., MENEGAZZI G., CHIRICO G. B. & BONANOMI G., 2013 - *Invasion impact of the nitrogen-fixing shrub Genista aetnensis on Vesuvius Grand Cone*. Procedia Environmental Sciences, 19: 865-874.
- BRUNDU G., **STINCA A.**, ANGIUS L., BONANOMI G., CELESTI-GRAPPO L., D'AUZIA G., GRIFFO R., MIGLIOZZI A., MOTTI R. & SPIGNO P., 2012 - *Pistia stratiotes L. and Eichhornia crassipes (Mart.) Solms.: emerging invasive alien hydrophytes in Campania and Sardinia (Italy)*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 42 (3): 568-579.
- **STINCA A.** & MOTTI R., 2009 - *The vascular flora of the Royal Park of Portici (Naples, Italy)*. Webbia, 64 (2): 235-

266.

- **Articoli su riviste internazionali con referee senza impact factor submitted**
- MOTTI R., BONANOMI G. & **STINCA A.** - *The biodeteriogenic vascular flora of Villa Rufolo (Amalfi coast, Italy)*. Conservation and Management of Archaeological Sites.

Articoli su riviste nazionali con referee

- MARINO G., **STINCA A.**, CELAJ O., LANDI N., BARBIERO D., MASTROIANNI A. & ESPOSITO A., 2018 - *Indagini morfometriche su Phaseolus vulgaris subsp. vulgaris „Lenzariello“*. In: DOMINA G. & PERUZZI L. (Eds.), *Minilavori della Riunione scientifica del Gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione*. 19-20 ottobre 2018, Roma. Notiziario della Società Botanica Italiana, 25-26.
- CECCHI L., NEPI C., ROMA-MARZIO F., GERACE S., AMADEI L., PERUZZI L., LASTRUCCI L., ARMELI MINICANTE S., DONATELLI A., **STINCA A.**, ESPOSITO A., SANTANGELO A., ROSATI L., SALERNO G., FASCETTI S., CHIANESE G., LICANDRO G. & MARCUCCI R., 2018 - *Erbari 5*. Notiziario della Società Botanica Italiana, 2: 1-7.
- VIGGIANI G. & **STINCA A.**, 2018 - *Infestazioni su origano della cecidomia Asphondylia hornigi Wachtl.* Protezione delle colture, 11 (4): 29-31.
- ARRIGONI P.V., CECCHI L., DONATELLI A., LUCCIOLI E., BONINI I., BONARI G., ANGIOLINI C., VENENZONI R., NEPI C., BARTOLUCCI F., CANCELLIERI C., CONTI F., SCOPPOLA A., SELVI F., DOMINA G., **STINCA A.**, CHIANESE G., DELLAVEDOVA R., ARDENGHI N.M.G., ROSSI G. & DONNINI-MACCIÒ C., 2017 - *Erbari 3*. Notiziario della Società Botanica Italiana, 1: 225-233.
- EVIANO M., **STINCA A.**, ESPOSITO A., DEL GUACCHIO E. & IAMONICO D., 2017 - *Indagini morfometriche su Limonium remotispiculum (Plumbaginaceae)*. In: DOMINA G. & PERUZZI L. (Eds.), *Minilavori della Riunione scientifica del Gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione*. 27-28 ottobre 2017, Roma. Notiziario della Società Botanica Italiana, 1: 182-183.
- **STINCA A.**, 2017 - *Tesi Botaniche. Editoriale. Linee Guida*. Notiziario della Società Botanica Italiana, 1 (1): 139.
- NEPI C., RAFFAELLI M., CLEMENTI M., MIOLA A., ARDENGHI N.M.G., CUCCUINI P., MIRANDA S., CECCHI L., MILLOZZA A., ISOCRONO D., GUGLIELMONE L., D'ANTRACCOLI M., ROMA-MARZIO F., ASTUTI G., MACCIONI S., AMADEI L., PERUZZI L., **STINCA A.**, CONTI F., DI PIETRO R., DI CARLO F., ARMELI MINICANTE S., CEREGATO A., MARCUCCI R., TOMASI G., BERTOLLI A. & PROSSER F., 2016 - *Erbari 1*. Notiziario della Società Botanica Italiana, 0: 102-114.
- PARRELLA G., COZZOLINO A., MANCO E., **STINCA A.**, FORMISANO G. & GIORGINI M., 2016 - *Identificata in Campania la specie Italy (= biotipo T) del complesso di specie Bemisia tabaci*. Protezione delle colture, 4: 28-30.
- DOMINA G., MARINO P., CASTELLANO G., AMATO F., CAMBRIA S., CANCELLIERI L., CRISAFULLI A., CRISTAUDO A., FARAONI F., GALESÌ R., GUARINO R., LATTANZI E., LAVEZZO P., LONGO D., MAIORCA G., PECCENINI S., PERRINO E.V., SALERNO G., SCOLASTRI A., SOLDANO A., **STINCA A.**, WAGENSOMMER R.P., XIBILLA L. & RAIMONDO F.M., 2015 - *Contributo alla conoscenza floristica dei monti Sicani (Sicilia): resoconto dell'escursione del Gruppo di Floristica (S.B.I.) nel 2012*. Informatore Botanico Italiano, 47 (2): 155-177.
- CIASCHETTI G., CONTI F., BARTOLUCCI F., DI MARTINO L., DI CECCO M., MANZI A., MARCANTONIO G., MINUTILLO F. & **STINCA A.**, 2015 - *Contributo alla flora del Parco Nazionale della Majella*. Micologia e Vegetazione Mediterranea, 30 (1): 65-72.
- **STINCA A.** & MOTTI R., 2015 - *Notulae alla flora esotica d'Italia, 12: 250*. Tagetes erecta L. Informatore Botanico Italiano, 47 (1): 79.
- BARTOLUCCI F. & **STINCA A.**, 2015 - *Notulae alla checklist della flora vascolare italiana, 19: 2118*. Thymus spinulosus Ten. Informatore Botanico Italiano, 47 (1): 70-71.
- EVANGELISTA M., SOLDANO A. & **STINCA A.**, 2015 - *Nota n. 699*. Oxalis dillenii Jacq. In: SELVAGGI A., SOLDANO A., PASCALE M. & DELLAVEDOVA R. (Eds.), *Note floristiche piemontesi n. 604-705*. Rivista piemontese di Storia naturale, 36: 326-327.
- WAGENSOMMER R.P., MARRESE M., PERRINO E.V., BARTOLUCCI F., CANCELLIERI L., CARRUGGIO F., CONTI F., DI PIETRO R., FORTINI P., GALASSO G., LATTANZI E., LAVEZZO P., LONGO D., PECCENINI S., ROSATI L., RUSSO G., SALERNO G., SCOPPOLA A., SOLDANO A., **STINCA A.**, TILIA A., TURCO A., MEDAGLI P. & FORTE L., 2014 - *Contributo alla conoscenza floristica della Puglia: resoconto dell'escursione del Gruppo di Floristica (S.B.I.) nel 2011 nel settore meridionale dei Monti della Daunia*. Informatore Botanico Italiano, 46 (2): 175-208.

- **STINCA A. & MOTTI R.**, 2014 - *Notulae alla checklist della flora vascolare italiana*, 17: 2057-2059. *Populus canescens (Aiton) Sm.* - *Euphorbia platyphyllos L. subsp. platyphyllos* - *Solanum villosum Mill. subsp. villosum*. *Informatore Botanico Italiano*, 46 (1): 79-80.
- **STINCA A. & MOTTI R.**, 2013 - *Notulae alla flora esotica d'Italia*, 8: 175. *Amaranthus hypochondriacus L.* *Informatore Botanico Italiano*, 45 (1): 108.
- **STINCA A.**, RAVO M. & MOTTI R., 2013 - *Notulae alla flora esotica d'Italia*, 8: 173-174. *Ficus rubiginosa Desf. ex Vent.* - *Yucca aloifolia L.* *Informatore Botanico Italiano*, 45 (1): 108.
- **STINCA A.**, D'AURIA G., SALERNO G. & MOTTI R., 2013 - *Ulteriori integrazioni alla flora vascolare aliena della Campania (Sud Italia)*. *Informatore Botanico Italiano*, 45 (1): 71-81.
- **STINCA A. & MOTTI R.**, 2013 - *Aggiornamenti floristici per il Somma-Vesuvio e l'Isola di Capri (Campania, Sud Italia)*. *Informatore Botanico Italiano*, 45 (1): 35-43.
- **STINCA A.**, D'AURIA G. & MOTTI R., 2012 - *Integrazioni alla flora vascolare aliena della Campania (Sud Italia)*. *Informatore Botanico Italiano*, 44 (2): 287-293.
- **STINCA A.**, D'AURIA G. & MOTTI R., 2012 - *Sullo status invasivo di Bidens bipinnata, Phoenix canariensis, Pistia stratiotes e Tradescantia fluminensis in Campania (Sud Italia)*. *Informatore Botanico Italiano*, 44 (2): 295-299.
- **STINCA A.**, D'AURIA G. & MOTTI R., 2012 - *Notulae alla flora esotica d'Italia*, 6: 135. *Macfadyena unguis-cati (L.) A. H. Gentry*. *Informatore Botanico Italiano*, 44 (1): 190.
- **STINCA A. & MOTTI R.**, 2012 - *Notulae alla flora esotica d'Italia*, 6: 134. *Hibiscus syriacus L.* *Informatore Botanico Italiano*, 44 (1): 190.
- **STINCA A. & MOTTI R.**, 2011 - *Notulae alla flora esotica d'Italia*, 5: 90. *Nephrolepis cordifolia C. Presl*. *Informatore Botanico Italiano*, 43 (2): 373.
- MOTTI R. & **STINCA A.**, 2008 - *Checklist della flora vascolare aliena della provincia di Napoli*. In: GALASSO G., CHIOZZI G., AZUMA M. & BANFI E. (Eds.), *Le specie alloctone in Italia: censimenti, invasività e piani di azione*. *Memorie della Società Italiana di Scienze Naturali e del Museo Civico di Storia Naturale di Milano*, 36 (1): 77.
- MOTTI R. & **STINCA A.**, 2005 - *Primo contributo alla conoscenza della flora del massiccio dei Monti Marzano, Eremita e Paratiello (Salerno-Potenza)*. *Informatore Botanico Italiano*, 37 (1, parte A): 356-357.

Libri, capitoli di libri e pubblicazioni didattico-divulgative

Libri

- DI MASSA G. & **STINCA A.**, 2017 - *La Valle dei Mulini di Gragnano*. Regione Campania, Direzione Generale per l'Ambiente e l'Ecosistema. Serimania Pavin, Gragnano (Napoli). 80 pp.
- RICCIARDI M., MOTTI R. & **STINCA A.**, 2016 - *Flora illustrata del Vesuvio. Storia, paesaggi, vegetazione*. Doppiovoce, Napoli. 197 pp. ISBN 978-88-89972-60-1.
- **STINCA A.**, 2014 - *Le Orchidee della Penisola Sorrentina e dei Monti Lattari*. Regione Campania, Assessorato all'Ecologia e alla Tutela dell'Ambiente. Nicola Longobardi Editore, Castellammare di Stabia (Napoli). 127 pp. ISBN 978-88-8090-413-7.
- LA MAGNA G., MAGLIO G. & **STINCA A.**, 2011 - *Positano. Il Vallone Porto*. WWF. Con-fine edizioni, Monghidoro (Bologna). 160 pp. ISBN 978-88-96427-19-4.

Capitoli di libri

- **STINCA A.**, BERNARDO L. & PERUZZI L., in press (2019) - *Appennino Meridionale*: 260-341. In: CONTI F., BARTOLUCCI F., DI MARTINO L. & MANZI A. (Eds.), *La flora endemica minacciata delle montagne italiane*. Club Alpino Italiano, Comitato Scientifico Centrale.
- **STINCA A. & RICCIARDI M.**, 2018 - *Apiaceae*: 519-633. In: PIGNATTI S. (Ed.), *Flora d'Italia 3*. Edagricole, Bologna.
- **STINCA A.**, 2017 - *Oxalidaceae*: 353-360. In: PIGNATTI S. (Ed.), *Flora d'Italia 2*. Edagricole, Bologna.
- **STINCA A.**, BARTOLUCCI F. & CONTI F., 2016 - *Adonis distorta Ten.*: 62-63. In: ERCOLE S., GIACANELLI V., BACCHETTA G., FENU G. & GENOVESI P. (Eds.). *Manuali per il monitoraggio di specie e habitat di interesse comunitario (Direttiva 92/43/CEE) in Italia: specie vegetali*. ISPRA, Serie Manuali e linee guida.
- **STINCA A.**, BARTOLUCCI F. & CONTI F., 2016 - *Androsace mathildae Levier*: 68-69. In: ERCOLE S., GIACANELLI V., BACCHETTA G., FENU G. & GENOVESI P. (Eds.). *Manuali per il monitoraggio di specie e habitat di interesse comunitario (Direttiva 92/43/CEE) in Italia: specie vegetali*. ISPRA, Serie Manuali e linee guida.
- **STINCA A.**, BARTOLUCCI F. & CONTI F., 2016 - *Astragalus aquilanus Anzal.*: 84-85. In: ERCOLE S., GIACANELLI V., BACCHETTA G., FENU G. & GENOVESI P. (Eds.). *Manuali per il monitoraggio di specie e habitat di interesse comunitario (Direttiva 92/43/CEE) in Italia: specie vegetali*. ISPRA, Serie Manuali e linee guida.

- **STINCA A.**, BARTOLUCCI F. & CONTI F., 2016 - *Iris marsica I. Ricci & Colasante*: 170-171. In: ERCOLE S., GIACANELLI V., BACCHETTA G., FENU G. & GENOVESI P. (Eds.). *Manuali per il monitoraggio di specie e habitat di interesse comunitario (Direttiva 92/43/CEE) in Italia: specie vegetali*. ISPRA, Serie Manuali e linee guida.
- **STINCA A.**, BARTOLUCCI F. & CONTI F., 2016 - *Jonopsidium savianum (Caruel) Ball ex Arcang.*: 174-175. In: ERCOLE S., GIACANELLI V., BACCHETTA G., FENU G. & GENOVESI P. (Eds.). *Manuali per il monitoraggio di specie e habitat di interesse comunitario (Direttiva 92/43/CEE) in Italia: specie vegetali*. ISPRA, Serie Manuali e linee guida.
- GENNAI M., FOGGI B., FENU G., MONTAGNANI C., **STINCA A.**, 2016 - *Ruscus aculeatus L.*: 236-237. In: ERCOLE S., GIACANELLI V., BACCHETTA G., FENU G. & GENOVESI P. (Eds.). *Manuali per il monitoraggio di specie e habitat di interesse comunitario (Direttiva 92/43/CEE) in Italia: specie vegetali*. ISPRA, Serie Manuali e linee guida.
- **STINCA A.**, BARTOLUCCI F. & CONTI F., 2016 - *Senecio jacobea L. subsp. gotlandicus (Neuman) Sterner*: 250-251. In: ERCOLE S., GIACANELLI V., BACCHETTA G., FENU G. & GENOVESI P. (Eds.). *Manuali per il monitoraggio di specie e habitat di interesse comunitario (Direttiva 92/43/CEE) in Italia: specie vegetali*. ISPRA, Serie Manuali e linee guida.
- **STINCA A.**, BARTOLUCCI F. & CONTI F., 2016 - *Serratula lycopifolia (Vill.) A.Kern.*: 252-253. In: ERCOLE S., GIACANELLI V., BACCHETTA G., FENU G. & GENOVESI P. (Eds.). *Manuali per il monitoraggio di specie e habitat di interesse comunitario (Direttiva 92/43/CEE) in Italia: specie vegetali*. ISPRA, Serie Manuali e linee guida.
- **STINCA A.**, BARTOLUCCI F. & CONTI F., 2016 - *Thesium ebracteatum Hayne*: 264-265. In: ERCOLE S., GIACANELLI V., BACCHETTA G., FENU G. & GENOVESI P. (Eds.). *Manuali per il monitoraggio di specie e habitat di interesse comunitario (Direttiva 92/43/CEE) in Italia: specie vegetali*. ISPRA, Serie Manuali e linee guida.
- **STINCA A.**, 2014 - *Oxalidaceae*: 296. In: BOVIO M., **Flora Vascolare della Valle d'Aosta. Repertorio commentato e stato delle conoscenze**. Testolin editore, Sarre (Aosta). 662 pp. ISBN 978-88-909-4664-6.
- **STINCA A.**, CHIRICO G. B. & BONANOMI G., 2013 - *Analisi dell'impatto di Genista aetnensis (Biv.) DC. (Fabaceae) sul Vesuvio*: 41-62. In: *Verifica di protocolli sperimentali e orientamenti di gestione forestale per il contenimento delle specie esotiche in Riserva Forestale di Protezione "Tirone - Alto Vesuvio"*. Ente Parco Nazionale del Vesuvio, Ottaviano (Napoli). 80 pp. Tradotto anche in inglese e francese.
- MIGLIOZZI A. & **STINCA A.**, 2012 - *La Piana Campana: trasformazioni del paesaggio*: 89-100. In: SIMEONE M. M. (ed.), **dal Degrado alla Bellezza. La riabilitazione dei paesaggi degradati nell'Agro Aversano**. Edizioni Scientifiche Italiane, Napoli. 250 pp. ISBN 978-88-495-2515-1.
- **STINCA A.**, 2011 - *Caratteri della vegetazione nell'analisi e nell'interpretazione del paesaggio dell'Irpinia*: 87-104. In: MONTERO M. M. (Ed.), *Alpujarra_Irpinia. Taller Internacional de Urbanismo y Arquitectura del Paisaje*. Escuela Técnica Superior de Arquitectura, Universidad de Granada. Facoltà di Architettura, Università degli Studi di Napoli Federico II. 250 pp. ISBN 978-84-694-3326-3.
- MOTTI R., **STINCA A.** & RICCIARDI M., 2009 - *Flora e Vegetazione*: 17-64. In: CARPINO F. & SAMMICHELI F. (Eds.), *Laboratorio per il monitoraggio della biodiversità e cartografia del Parco Nazionale del Vesuvio*. Ente Parco Nazionale del Vesuvio, Napoli. 216 pp. ISBN 88-87925-26-7.

Capitoli di libri in pubblicazione

- **STINCA A.**, MOTTI R. & RICCIARDI M., in pubblicazione - *Lonicera stabiana Guss. ex Pasquale*. In: GUARINO R. & LA ROSA M., *Flora Italiana Digitale*, CD.
- **STINCA A.**, MOTTI R. & RICCIARDI M., in pubblicazione - *Santolina neapolitana Jord. et Fourr.* In: GUARINO R. & LA ROSA M., *Flora Italiana Digitale*, CD.

Pubblicazioni didattico-divulgative

- **STINCA A.**, 2018 - *Flora vascolare e problematiche di biodeterioramento in aree archeologiche e contesti monumentali*. Arbor, 3: 20-24.
- **STINCA A.**, D'AURIA G., BONANOMI G., MIGLIOZZI A., UCCIERO E., GRIFFO R. & MOTTI R., 2011 - *Lattuga e giacinto d'acqua invadono la Campania*. L'Informatore Agrario, 15: 67-68.
- LA MAGNA G., MAGLIO G. & **STINCA A.**, 2011 - *Positano. Il Vallone Porto*. WWF.
- D'AURIA G. & **STINCA A.**, 2010 - *Lattuga d'acqua*. Pista stratiotes L. Progetto Piante Aliene della Regione Campania. Assessorato all'Agricoltura, Servizio Fitosanitario Regionale. Università degli Studi di Napoli Federico II, Dipartimento di Arboricoltura, Botanica e Patologia Vegetale.

Premi

- Costituente del gruppo di lavoro risultato vincitore del Concorso di idee indetto dalla Regione Campania (decreto dirigenziale n. 28 del 28.11.2011, n. 31 del 07.11.2012 e n. 40 del 20.12.2012 "Modelli sperimentali per una

pianificazione e una progettazione innovativa: idee per la valorizzazione dei paesaggi campani” con il progetto dal titolo *Il paesaggio: vista, udito, olfatto, gusto, tatto* (decreto dirigenziale n. 17 del 09.09.2013).

Lavori in fase di completamento

Articoli scientifici

- *New floristic records for the Somma-Vesuvius volcanic complex in Southern Italy, with the rediscovery of a some presumably extinct species.*
- *Contributo alla conoscenza floristica della Campania e della Basilicata: resoconto dell'escursione del Gruppo di Floristica, Sistematica ed Evoluzione (S.B.I.) nel 2015 in Irpinia orientale.*
- **Analisi dell'ecologia di *Pistia stratiotes* L.**
- **Analisi dell'epifitismo su *Phoenix canariensis* Hort. ex Chabaud nell'Italia meridionale**
- *La flora vascolare della provincia di Napoli.*
- *La flora vascolare dei Monti Marzano, Eremita e Paratiello (Salerno - Potenza, Italia).*
- *Aggiunte alla flora vascolare della Penisola Sorrentina (Napoli - Salerno, Italia).*
- *La flora vascolare aliena della regione Campania (Sud Italia).*
- *Il genere *Oxalis* L. (Oxalidaceae) in Italia.*
- *La dinamica della vegetazione pioniera del Vesuvio (Napoli, Italia).*
- *La flora vascolare urbana della città di Castellammare di Stabia (Napoli, Sud Italia).*
- *Analisi della flora vascolare biodeteriogenica dei principali siti archeologici della Campania: Pompei, Paestum, Ercolano, Cuma, Baia, Stabiae, Oplontis (Sud Italia).*
- *Analisi della flora vascolare biodeteriogenica dei castelli di Napoli (Sud Italia).*
- **Improving Resilience of Historical “Old Growth” Forest in the bay of Naples (Italy).**
- **Ophioglossum lusitanicum* L. subsp. *lusitanicum* (Ophioglossaceae): cenologia e distribuzione in Campania (Sud Italia).*
- **Dactylis glomerata* subsp. *hackelii* (Asch. & Graebn.) Cif. & Giacom. (Poaceae): cenologia e distribuzione in Campania (Sud Italia).*
- *Analisi della banca semi e della presenza di nematodi nei substrati impiegati nel vivaismo in Italia.*

Libri

- **Stinca A., D'Auria G., Griffo R. & Motti R., *Le piante aliene della Campania. Regione Campania.***
- **Stinca A., *Le piante endemiche esclusive della Campania. Centro Museale “Musei delle Scienze Agrarie - MUSA” dell'Università degli Studi di Napoli Federico II.***

Partecipazioni a congressi, convegni e conferenze

Comunicazioni orali (speaker, * invited speaker)

- *** STINCA A.,** CHIRICO G.B., INCERTI G. & BONANOMI G., 2018 - *Invasion impact of the *Genista etnensis* (Raf.) DC. (Fabaceae) on Mt. Vesuvius.* Book of abstract of the 2nd Global Conference on Plant Science and Molecular Biology, 20-22 September 2018, Rome (Italy): 52.
- **STINCA A.,** D'AURIA G., FIORENTINO N., OTTALANO L. & ESPOSITO A., 2018 - *Evidence of changes in reproductive strategies in promoting the invasiveness of *Pistia stratiotes* L.* Book of Abstracts of the V International Plant Science Conference, 113^o Congresso della Società Botanica Italiana, 12-15 September 2018, Fisciano (Salerno, Italy): 64.
- **STINCA A.,** 2018 - *Flora biodeteriogenica e conservazione dei monumenti.* Convegno “Alberi e Monumenti. Interferenze e Manutenzione”, 28 Maggio 2018, Napoli (Italia).
- **STINCA A.,** 2018 - *Le Orchidee del Golfo di Napoli.* Giornata di studio “Biodiversità e Orchidee” organizzata dal Comune di Sassano e dal Parco Nazionale del Cilento, Vallo di Diano e Alburni, 26 Maggio 2018, Sassano (Salerno, Italia).
- *** STINCA A.,** CHIRICO G.B., INCERTI G. & BONANOMI G., 2018 - *Da endemica a aliena in Italia: impatto dell'invasione di *Genista etnensis* (Raf.) DC. (Fabaceae) sul Vesuvio.* 52nd Congress of the Italian Society of Vegetation Science, 5-7 April 2018, Catania (Italy).
- **STINCA A. & RICCIARDI M.,** 2018 - *The wild vascular plants buried by the 79 AD eruption of Vesuvius.* Book of Abstracts of the 14th Conference of Environmental Archaeology, 26-28 February 2018, Modena (Italy): 99-100.

- **STINCA A.**, SCOGNAMIGLIO M., D'ABROSCA B., IZZO A., SICUREZZA G., FIORENTINO A. & ESPOSITO A., 2017 - *An integrated and multiscaling approach to study the allelopathic role of Carex distachya Desf. in plant communities of Mediterranean coastal vegetation*. Book of Abstracts of the 8th World Congress of Allelopathy, 24-28 July 2017, Marseille (France): 71.
- MIGLIOZZI A., MOTTI R. & **STINCA A.**, 2016 - *Paesaggi ed emergenze floristiche dei Valloni della Costiera Amalfitana*. Convegno Internazionale di Studi "Paesaggi e culture dell'acqua e della terra nelle valli protoindustriali venete e amalfitane" organizzato dal Centro di Cultura e Storia Amalfitana, 20-21 Dicembre 2016, Amalfi (Salerno, Italia).
- **STINCA A.**, 2016 - *Il ruolo degli erbari nella ricerca scientifica*. Giornata scientifica "Nicola Pedicino: avventurosa storia di un botanico molisano" organizzato da Associazione Culturale Insieme, Università degli Studi del Molise, 15 Ottobre 2016, San Giuliano del Sannio (Campobasso, Italia).
- MOTTI R. & **STINCA A.**, 2016 - *Biodiversità e Paesaggio a rischio in Costiera Amalfitana: la minaccia delle specie alloctone invasive*. Convegno "Biodiversità e paesaggio a rischio. Proposte per l'eliminazione delle specie vegetali alloctone invasive in Costiera Amalfitana" organizzato da Università degli Studi di Napoli Federico II, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Associazione Costiera Amalfitana Riserva Biosfera, 8 Luglio 2016, Tramonti (Salerno, Italia).
- **STINCA A.**, 2015 - *Rinascerà il bosco del Palazzo Ducale?* Incontro-dibattito "Adotta un albero per la rinascita del bosco del Castello Ducale" organizzato dalle Figlie della Carità di San Vincenzo de' Paoli, 3 Ottobre 2015, Marigliano (Napoli, Italia).
- **STINCA A.**, 2014 - *Le Orchidee della Penisola Sorrentina e dei Monti Lattari*. Convegno "Collezioni e Collezionisti" organizzato dall'Associazione per la Diffusione di Piante fra Amatori, 28 Novembre 2014, Salerno (Italia).
- * **STINCA A.**, PARRELLA G., GRECO B., D'AURIA G., CENNAMO G. & MOTTI R., 2012 - *Impatti fitosanitari dell'invasione di Araujia sericifera Brot. in Campania (Sud Italia): identificazione di isolati del sottogruppo LA e IB del Cucumber mosaic virus*. Riassunti 107° Congresso della Società Botanica Italiana (addendum relazioni), Benevento (Italia): 4.

Comunicazioni orali (non relatore)

- GALASSO G., CONTI F., PERUZZI L., ARDENGHI N.M.G., BANFI E., CELESTI-GRAPPOW L., ALBANO A., ALESSANDRINI A., BACCHETTA G., BALLELLI S., BANDINI MAZZANTI M., BARBERIS G., BERNARDO L., BLASI C., BOUVET D., BOVIO M., CECCHI L., DEL GUACCHIO E., DOMINA G., FASCETTI S., GALLO L., GUBELLINI L., GUIGGI A., IAMONICO D., IBERITE M., JIMÉNEZ-MEJÍAS P., LATTANZI E., MARCHETTI D., MARTINETTO E., MASIN R.R., MEDAGLI P., PASSALACQUA N.G., PECCENINI S., PENNESI R., PIERINI B., PODDA L., POLDINI L., PROSSER F., RAIMONDO F.M., ROMA-MARZIO F., ROSATI L., SANTANGELO A., SCOPPOLA A., SCORTEGAGNA A., SELVAGGI A., SELVI F., SOLDANO A., **STINCA A.**, WAGENSOMMER R.P., WILHALM T. & BARTOLUCCI F., 2018 - *An updated checklist of the vascular flora alien to Italy*. Giornata di studio "La Flora in Italia: stato delle conoscenze, nuove frontiere, divulgazione", 7 Dicembre 2018, Sapienza Università di Roma, Roma (Italia).
- BARTOLUCCI F., PERUZZI L., GALASSO G., ALBANO A., ALESSANDRINI A., ARDENGHI N.M.G., ASTUTI G., BACCHETTA G., BALLELLI S., BANFI E., BARBERIS G., BERNARDO L., BOUVET D., BOVIO M., CECCHI L., DI PIETRO R., DOMINA G., FASCETTI S., FENU G., FESTI F., FOGGI B., GALLO L., GOTTSCHLICH G., GUBELLINI L., IAMONICO D., IBERITE M., JIMÉNEZ-MEJÍAS P., LATTANZI E., MARCHETTI D., MARTINETTO E., MASIN R.R., MEDAGLI P., PASSALACQUA N.G., PECCENINI S., PENNESI R., PIERINI B., POLDINI L., PROSSER F., RAIMONDO F.M., ROMA-MARZIO F., ROSATI L., SANTANGELO A., SCOPPOLA A., SCORTEGAGNA A., SELVAGGI A., SELVI F., SOLDANO A., **STINCA A.**, WAGENSOMMER R.P., WILHALM T. & CONTI F., 2018 - *An updated checklist of the vascular flora native to Italy*. Giornata di studio "La Flora in Italia: stato delle conoscenze, nuove frontiere, divulgazione", 7 Dicembre 2018, Sapienza Università di Roma, Roma (Italia).
- BARTOLUCCI F., CONTI F., ALESSANDRELLO C., CIASCHETTI G., DI CECCO M., DI CECCO V., FABRIZIO M., GENTILE C., **STINCA A.**, VITALE L., DI MARTINO L., 2018 - *Esperienze di monitoraggio delle piante di interesse comunitario dell'Appennino centrale nell'ambito del progetto LIFE 15NAT/IT/000946 FLORANET*. Workshop "Protocolli per il monitoraggio della flora di interesse comunitario: efficacia e possibilità di miglioramento sulla base dell'esperienza maturata per il 4° report", 14 Dicembre 2018, Roma (Italia).
- BONARI G., KNOLLOVÁ I., VLČKOVÁ P., SAĞLAM C., XYSTRAKIS F., CHYTRÝ M. & DATA CONTRIBUTORS (ACOSTA A.T.R., ANGIOLINI C., BERGMEIER E., BERTACCHI A., BOUBAKR S., COSTA J.C., DIDUKH Y., KADIK L., MOHAMED A., NETO C., PESARESI S., ROSATI L., SELVI F., SOTIRIOU A., **STINCA A.**, TURCATO C., VICIANI D.), 2018 - *European pine forest: preliminary results from the CircumMed+Euro PineForest project*. 2018 IAVS 61st Annual Symposium "Natural Ecosystems as Benchmarks for Vegetation Science", 22-27 July 2018, Bozeman (Montana, USA).
- CIASCHETTI G., MARCANTONIO G., CONTI F., BARTOLUCCI F., DI CECCO M., DI CECCO V., DE CASTRO O., **STINCA A.** & DI MARTINO L., 2018 - *The LIFE project "FLORANET" for the conservation of endangered pasture plant species in three parks of central Italy*. Abstract Book of 15th Eurasian Grassland Conference: Cooperating for grassland conservation, 4-8 June 2018, Sulmona (L'Aquila, Italy).

- CHELLI S., MARIGNANI M., BARNI E., THE ITALIAN PLANT TRAITS CONSORTIUM (includes **STINCA A.**), 2017 - *Plant Traits 2.0 in Italy: back to the future*. Book of Abstracts of the IV International Plant Science Conference, 112° Congresso della Società Botanica Italiana, 20-23 September 2017, Parma (Italy): 31.
- EVANGELISTA A., FRATE L., **STINCA A.**, CARRANZA M.L. & STANISCI A., 2016 - *Gli habitat di Direttiva nel database VIOLA (high mountain Vegetation Of central Apennines database)*. Atti 50° Congresso della Società Italiana di Scienza della Vegetazione, Abetone (Pistoia, Italia): 17.
- ERCOLE S., FENU G., GIACANELLI V., PINNA M.S., ABELI T., ALEFFI M., BARTOLUCCI F., COGONI D., CONTI F., CROCE A., DOMINA G., FOGGI B., FORTE T., GARGANO D., GENNAI M., MONTAGNANI C., ORIOLO G., ORSENIGO S., RAVERA S., ROSSI G., SANTANGELO A., SINISCALCO C., **STINCA A.**, TROIA A., VENA M. & BACCHETTA G., 2016 - *Towards the identification of species-specific methodologies monitoring the Italian flora of Community interest*. Book of Abstracts of the X International Meeting Biodiversity Conservation and Management, Sardinia (Italy): 28.
- TEOBALDELLI M., SAULINO L., CONA F., MIGLIOZZI A., GIORDANO D., **STINCA A.**, BONANOMI G., D'URSO G., MAZZOLENI S. & SARACINO A., 2015 - *Impact of catastrophic wind storm events on Mediterranean holm oak urban forests*. Abstract-book, 10th SISEF (Società Italiana di Selvicoltura ed Ecologia Forestale) National Congress, Firenze (Italy): 98.
- DOMINA G., ALEFFI M., ALESSANDRINI A., BACCHETTA G., BAGELLA S., BARTOLUCCI F., BONINI I., BOUVET D., CAMPISI P., CARTA A., CECCHI L., CONTI F., FORTINI P., GIORDANA F., GALASSO G., IBERITE M., KLEIH M., LONGO D., GUARINO R., MAGRINI S., MARTELLOS S., MORELLI V., PASTA S., PERUZZI L., PECCENINI S., PROSSER F., SCOPPOLA A., SELVAGGI A., SELVI F., **STINCA A.**, TINTI D., TODESCHINI R., TOMISCH C. & VENANZONI R., 2013 - *1, 10, 100 how many floristic databases are there in Italy?* Abstracts XIV OPTIMA (Organisation for the Phyto-Taxonomic Investigation of the Mediterranean Area) Meeting, Palermo (Italy): 24.
- MOTTI R., **STINCA A.** & D'AURIA G., 2012 - *Le piante aliene segnalate e/o affermate in Campania. Indagini in corso. Seminario Virus, fitoplasmi e piante aliene di recente introduzione in Campania*. Regione Campania, Settore SIRCA, Servizio Fitosanitario Regionale. Napoli (Italia), 12 Aprile. 9 pp.

Abstract e poster

- AMITRANO C., ARENA C., IZZO L.G., **STINCA A.**, BARILE R., CONTI P. & DE MICCO V., 2018 - *Morpho-anatomical and physiological responses of Robinia pseudoacacia L. plants to anthropogenic dust deposition in the Vesuvius National Park*. Book of Abstracts of the V International Plant Science Conference, 113° Congresso della Società Botanica Italiana, 12-15 September 2018, Fisciano (Salerno, Italy): 125.
- LAZZARO L., BOLPAGNI R., ACOSTA A.T.R., ADORNI M., ALEFFI M., ALLEGREZZA M., ANGIOLINI C., ASSINI S.P., BAGELLA S., BONARI G., BOVIO M., BRACCO F., BRUNDU G., BUFFA G., CACCIANIGA M., CARNEVALI L., CESCHIN S., CIASCHETTI G., COGONI A., DI CECCO V., FOGGI B., FRATTAROLI A.R., GENOVESI P., GENTILI R., GIGANTE D., LONATI M., LUCCHESI F., MAINETTI A., MARIOTTI M., MINISSALE P., PAURA B., PELLIZZARI M., PERRINO E., PIRONE G., POGGIO L., POLDINI L., POPONESSI S., PRISCO I., PROSSER F., PUGLISI M., ROSATI L., SELVAGGI A., SOTTOVIA L., SPAMPINATO G., STANISCI A., **STINCA A.**, VENANZONI R., VICIANI D., VIDALI M., VILLANI C. & LASTRUCCI L., 2018 - *An assessment of the impacts of invasive alien plants on habitats in Italy: first results from the ISPRA-SISV convention*. Book of Abstracts of Neobiota 2018. 10th International Conference on Biological Invasions: New Directions in Invasion Biology, 3-7 September 2018, Dublin (Ireland): 84.
- BRUNDU G., ALESSANDRINI A., ARDENGGI N.M.G., BARNI E., BEDINI G., CELESTI-GRAPPOW L., CIANFAGLIONE K., COGONI A., DOMINA G., FASCETTI S., FERRETTI G., IBERITE M., LASTRUCCI L., LAZZARO L., LOZANO V., MAINETTI A., MARINANGELI F., MONTAGNANI C., ORSENIGO S., PECCENINI S., PERUZZI L., POGGIO L., PROIETTI C., PROSSER F., RANFA A., ROSATI L., SANTANGELO A., SELVAGGI A., SPAMPINATO G., **STINCA A.**, VACCA G., VILLANI M., SINISCALCO M.C., 2018 - *Presence and distribution of invasive alien plant species of Union concern in Italy: insights into national application of the Regulation (EU) No. 1143/2014*. Book of Abstracts of Neobiota 2018. 10th International Conference on Biological Invasions: New Directions in Invasion Biology, 3-7 September 2018, Dublin (Ireland): 83.
- BONARI G., KNOLLOVÁ I., VLČKOVÁ P., SAĞLAM C., XYSTRAKIS F., CHYTRÝ M. & DATA CONTRIBUTORS (ACOSTA A.T.R., ANGIOLINI C., BERGMEIER E., BERTACCHI A., BOUBAKR S., COSTA J.C., DIDUKH Y., KADIK L., MOHAMED A., NETO C., PESARESI S., ROSATI L., SELVI F., SOTIRIOU A., **STINCA A.**, TURCATO C., VICIANI D.), 2018 - *Towards a new electronic archive for European pine forest: CircumMed+Euro Pine Forest database*. Book of Abstract 27th Congress of the European Vegetation Survey (IAVS Working Group), Wrocław (Poland): 92.
- CALABRESE V., EVANGELISTA A., CARRANZA M., **STINCA A.** & STANISCI A., 2018 - *Pinete a Pino mugo dell'Appennino centrale e Global change*. 52nd Congress of the Italian Society of Vegetation Science, Catania (Italy), 5-7.04.2018.
- **STINCA A.**, DI SALVATORE M. & CARAFA A.M., 2017 - *Ballota pseudodictamnus (L.) Benth.: micromorphological diversity of trichomes*. Book of abstract of the IV International Plant Science Conference, 112° Congresso della Società Botanica Italiana, Parma: 67.

- DE MICCO V., IZZO L.G., AMITRANO C., **STINCA A.**, ARONNE G., BARILE R., CONTI P. & ARENA C., 2017 - *Anthropogenic impact in the Vesuvius National Park: effect of dust accumulation on leaves of Centaurea ruber (L.) DC. subsp. ruber*. Book of abstract of the IV International Plant Science Conference, 112° Congresso della Società Botanica Italiana, Parma: 40.
- **STINCA A.**, PARRELLA G., GRECO B., D'AURIA G., CENNAMO G. & MOTTI R., 2017 - *Impatti fitosanitari dell'invasione di Araujia sericifera Brot. in Campania (Sud Italia): identificazione di isolati del sottogruppo IA e IB del Cucumber mosaic virus*. Workshop dell'Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante "Le competenze dell'Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante per l'innovazione dell'agroalimentare italiano", Portici (Napoli), 11-12.05.2017.
- ROCCO D., AGRELLI D., GONZALEZ M.I., MINGO A., MOTTI R., **STINCA A.**, COPPOLA I. & ADAMO P. 2017 - *Spontaneous plant colonization of brownfield soil and sludges and effects on substrate properties and pollutants mobility*. European Geosciences Union. General Assembly 2017, Vienna 23-28.04.2017.
- VISCONTI D., GIOIA L., FIORENTINO N., **STINCA A.**, AGRELLI D., MOTTI R., ADAMO P. & FAGNANO M., 2016 - *Accumulation of Zn and Cr in Native Plants Growing on a Farmland Polluted by Illegal Tannery Sludges Disposal: Preliminary Results*. Atti del XLV Convegno della Società Italiana di Agronomia, Sassari: 42-43.
- VISCONTI D., GIOIA L., FIORENTINO N., **STINCA A.**, CAPORALE A. G., MOTTI R., ADAMO P. & FAGNANO M., 2016 - *The Potential of Native Plants to Accumulate Heavy Metals from an Industrial Polluted Soil: Preliminary Results*. Atti del XLV Convegno della Società Italiana di Agronomia, Sassari: 34-35.
- FRATE L., EVANGELISTA A., **STINCA A.**, SCHAMINÉE J. H. J., HENNEKENS S. M., CARRANZA M. L. & STANISCI A., 2016 - *Vegetation databases and long-term analysis of high mountain EU habitats: detecting ecological and structural changes in central Apennines*. 25th European Vegetation Survey meeting (IAVS Working Group), Rome 6-9 April 2016.
- EVANGELISTA A., FRATE L., **STINCA A.**, CARRANZA M. L. & STANISCI A., 2016 - *VIOLA: database of high mountain Vegetation of central Apennines*. Book of Abstract 25th European Vegetation Survey meeting (IAVS Working Group), Rome: 41.
- EVANGELISTA A., FRATE L., **STINCA A.**, CARRANZA M. L. & STANISCI A., 2016 - *VIOLA: database of high mountain vegetation of central Apennines*. Atti delle Giornate della Ricerca Scientifica. Dipartimento di Bioscienze e Territorio. Marzo 2016. Università degli Studi del Molise: 109.
- SALERNO G., **STINCA A.**, GIACCONE M., SCOGNAMIGLIO P. & BASILE B., 2015 - *Ethnobotanical use of Figs (Ficus carica L.) in Southern Italy*. Book of Abstract V International Symposium on Fig, Naples: 108.
- **STINCA A.**, RICCIARDI M., 2014 - *A walk through the botanical landscape of Capri Island*. In: Bartiromo A., *Field trip book. 6PV – Fossil and extant plants in sedimentary and volcanic environments of the Campania Region (south Italy)*, 01-05.09.2014. 9th European Palaeobotany and Palynology Conference, Padova 26-31.08.2014: 95-105.
- **STINCA A.**, BONANOMI G., PERRINO E. V., MOTTI R., 2014 - *Epiphytic biodiversity on Phoenix canariensis chabaud in Southern Italy*. Book of abstract of the International Plant Science Conference, 109° Congresso della Società Botanica Italiana, Firenze: 61.
- **STINCA A.**, CHIRICO G. B. & BONANOMI G., 2014 - *Primary succession on slopes exposed to intense erosion: the case of Vesuvius Grand Cone*. European Geosciences Union. General Assembly 2014, Vienna 27.04-02.05.2014. Geophysical Research Abstracts, 16.
- **STINCA A.**, CONTI P., MENEGAZZI G., CHIRICO G. B. & BONANOMI G., 2013 - *Invasion impact of the nitrogen-fixing shrub Genista aetnensis on Vesuvius Grand Cone*. International Conference on Monitoring and Modeling Soil-Plant-Atmosphere Processes, Naples 19-20.06.2013.
- **STINCA A.**, D'AURIA G., SPIGNO P., GRIFFO R. & MOTTI R., 2013 - *La flora vascolare aliena della Campania*. Riassunti 108° Congresso della Società Botanica Italiana, Baselga di Piné (Trento): 147.
- **STINCA A.**, GIACCONE M., BASILE B. & MOTTI R., 2013 - *Prunus persica (L.) Batsch: an alien species of the Italian vascular flora*. VIII International Peach Symposium, Matera 17-20.06.2013.
- **STINCA A.**, CONTI P., MENEGAZZI G., CHIRICO G. B. & BONANOMI G., 2013 - *Why is Vesuvius Grand Cone becoming green?* International Conference on Monitoring and Modeling Soil-Plant-Atmosphere Processes, Naples 19-20.06.2013.
- PARRELLA G., NAPPO A. G., GRECO B., GIORGINI M. & **STINCA A.**, 2013 - *Urtica membranacea Poiret new host for TYLCV, TYLCSV, and Rec type A recombinant*. Proceedings First International Whitefly Symposium, Kolymbari (Crete, Greece): 183.
- **STINCA A.**, D'AURIA G., MOTTI R., MAZZOLENI S. & BONANOMI G., 2012 - *Note sull'ecologia di Pistia stratiotes L., una macrofita aliena emergente del Bacino del Mediterraneo*. Riassunti 22° Congresso della Società Italiana di Ecologia, Alessandria: 238.
- ADAMO P., COPPOLA I., MOTTI R., MINGO A. & **STINCA A.**, 2012 - *Effect of revegetation with native plants on soils and sludges polluted by heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons*. 4th International Congress Eurosoil, Bari 2-6.07.2012.

- COPPOLA I., MOTTI R., MINGO A., **STINCA A.** & ADAMO P., 2012 - *Spontaneous revegetation of brownfield soils and sludges: effect of organic amendments and environmental conditions*. Urban Environmental Pollution. Creating Healthy, Liveable Cities, Amsterdam 17-20.06.2012. Poster premiato dal comitato scientifico.
- **STINCA A.**, D'AURIA G., BONANOMI G., MIGLIOZZI A., GRIFFO R. & MOTTI R., 2011 - *Idrofite aliene in Campania (Sud Italia)*. Riassunti 21° Congresso della Società Italiana di Ecologia, Palermo: 178-179.
- **STINCA A.** & BONANOMI G., 2011 - *Implicazioni ecosistemiche dell'invasione di *Genista aetnensis* (Biv.) DC. sul Vesuvio (Campania, Sud Italia)*. Riassunti 21° Congresso della Società Italiana di Ecologia, Palermo: 197.
- **STINCA A.**, MOTTI R. & RICCIARDI M., 2010 - *Alien invasions in old-growth forests: the case study of the Astroni Crater (Naples, Italy)*. Convegno Nazionale *Boschi Vetusti in Italia Identificazione, Caratterizzazione, Gestione*. Prati di Tivo, Pietracamela (Teramo), 25-26 giugno.
- **STINCA A.**, MOTTI R. & RICCIARDI M., 2009 - *Aspetti di vegetazione primaria del Vesuvio (Napoli, Italia)*. Riassunti 104° Congresso della Società Botanica Italiana, Campobasso: 299.
- MOTTI R., RICCIARDI M. & **STINCA A.**, 2008 - *La flora vascolare del Real Sito di Portici*. Atti Giornate Scientifiche 2008 del Polo delle Scienze e Tecnologie per la Vita dell'Università di Napoli Federico II, Portici (Napoli). Poster premiato dal comitato scientifico.
- MOTTI R., RICCIARDI M. & **STINCA A.**, 2008 - *Analisi della pericolosità della flora vascolare biodeteriogenica in ambiente urbano: il caso del Palazzo Reale di Portici*. Atti Giornate Scientifiche 2008 del Polo delle Scienze e Tecnologie per la Vita dell'Università di Napoli Federico II, Portici (Napoli).
- **STINCA A.**, MOTTI R. & RICCIARDI M., 2008 - *Il genere *Oxalis* L. (Oxalidaceae) in Italia*. Riassunti 103° Congresso della Società Botanica Italiana, Reggio Calabria: 266.

Competenze linguistiche

Maggio 1999 - Attestato di superamento con merito esame **Trinity College London** Grade 2 – *Spoken English for Speakers of Other Languages*.

Competenze informatiche

06.04.2011 - **Certificazione ECDL CAD 3D (Computer Aided Design 3D)** conseguita presso l'Associazione Multimediaform (Portici, Napoli).

28.07.2008 - Certificazione competenze informatiche **IC3 (Internet and Computing Core Certification)** conseguita presso il 3° Circolo Didattico di Castellammare di Stabia (Napoli).

Ottima conoscenza del pacchetto Microsoft Office.

Abilitazioni professionali ed iscrizioni in Albi od elenchi

Dal 22.01.2013 ad oggi - Iscrizione all'**Ordine dei Dottori Agronomi e Dottori Forestali della Provincia di Napoli - Sezione A** con numero 1083 (iscrizione all'Ente di Previdenza ed Assistenza Pluricategoriale - EPAP dal 22.04.2013 con n. 028579 W).

Dal 2013 ad oggi - Iscrizione al Servizio Info-Terremoti dell'**Istituto Nazionale di Geofisica e Vulcanologia**.

17.01.2013 - Conseguimento dell'**abilitazione alla professione di Dottore Agronomo**.

Dal 17.07.2008 ad oggi - Iscrizione nell'elenco degli esperti dell'**Istituto Nazionale di Economia Agraria**.

Dal 13.02.2003 al 04.04.2013 - Iscrizione al **Collegio Interprovinciale degli Agrotecnici e degli Agrotecnici Laureati di Napoli e Caserta** con numero 293.

14.12.2002 - Conseguimento dell'**abilitazione alla professione di Agrotecnico** con la votazione di 90/100.

Iscrizione a società scientifiche

i Dal 18.09.2018 - Socio della **American Society of Plant Taxonomists**.
<https://members.aspt.net/civicism/profile/view?reset=1&id=8471&gid=25>

i Dal 01.01.2006 ad oggi - Socio della **Società Botanica Italiana Onlus**.

i Dal 21.04.2017 - Socio della **Società Italiana di Scienza della Vegetazione**.

Dal 07.01.2015 ad oggi - Socio della **Società Toscana di Scienze Naturali**.

Autorizzo il trattamento dei dati ai sensi del Decreto Legislativo 196/2003 e del Regolamento (UE) 2016/679.

Adriano Stinca



Valutazione della genotossicità di nanoparticelle di biossido di titanio (TiO₂) in spermatozoi umani *in vitro*

S.S.D BIO/06 - D.R. n 789 del 22/11/2017 ANATOMIA COMPARATA E CITOLOGIA

Relazione finale Dr. Filomena Mottola

Abstract

Le nanoparticelle di biossido di titanio (n-TiO₂) sono una varietà di nanoparticelle ingegnerizzate solitamente utilizzate oggi nei prodotti di consumo, in grado di compromettere il sistema riproduttivo maschile grazie alla loro capacità di attraversare la barriera del emato-testicolare. Questo studio, svolto presso il dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali Biologiche e Farmaceutiche dell'Università della Campania Luigi Vanvitelli, nell'ambito dell'assegno di ricerca annuale settore BIO/06 D.R. n 789, presenta nuovi dati sugli effetti genotossici di due concentrazioni di n-TiO₂ (1 µg/L e 10 µg/L) per tempi diversi, in spermatozoi umani *in vitro*. La genotossicità è stata evidenziata utilizzando diversi approcci sperimentali (test Cometa, test TUNEL, RAPD-PCR, stabilità genomica del template (%GTS)). I risultati hanno mostrato una perdita statisticamente significativa dell'integrità del DNA dello spermatozoo e un aumento della soglia di frammentazione del DNA degli spermatozoi esposti. Inoltre, l'analisi RAPD-PCR ha evidenziato una variazione dei profili polimorfici del DNA spermatico esposti a n-TiO₂, che comporta una riduzione della percentuale di GTS. Questa ricerca fornisce prove della genotossicità di n-TiO₂ sullo sperma umano, che probabilmente si verifica attraverso la produzione di stress ossidativo.

Introduzione

L'ampio uso della nanotecnologia, il numero e la varietà di nanoparticelle (NPs) a cui gli organismi possono essere esposti, aumenta la preoccupazione per il potenziale effetto negativo, in particolare per la salute umana. Si tratta di particelle con dimensioni inferiori a 100 nm che ritroviamo in prodotti di uso quotidiano come articoli sportivi, pneumatici, indumenti resistenti alle macchie, protezioni solari, e molto sfruttate in medicina data la loro capacità di veicolare farmaci all'organo bersaglio (Sazid H, 2018). Tra le varietà di nanoparticelle ingegnerizzate oggi utilizzate, le nanoparticelle di biossido di titanio (TiO₂) sono tra le più usate nei prodotti di consumo: cosmetici e creme solari per le loro efficienti proprietà di assorbimento di raggi UV senza dispersione della luce visibile. Considerate precedentemente come biologicamente inerti per gli organismi esposti sono state recentemente classificate dall'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC) come potenzialmente cancerogene per l'uomo (es. Gruppo 2B), sulla base dei risultati di studi scientifici riguardol la loro cancerogenicità (Baan et al., 2006).

Dato l'ampio uso di n-TiO₂ e quindi la sua massiccia presenza nell'ambiente, l'attenzione dello studio è stata focalizzata sull'impatto sul potenziale riproduttivo maschile, in particolare gli effetti genotossici di n-TiO₂ sugli spermatozoi umani *in vitro*. È noto che le n-TiO₂, data la loro dimensione (scala nanometrica) sono in grado di attraversare la barriera emato-testicolare e indurre infiammazione, citotossicità e le alterazioni dell'espressione genica che portano a compromissione del sistema riproduttivo nei topi (Lan and Yang 2012).

Questo lavoro di ricerca presenta dati riguardanti il danno al DNA di spermatozoi umani esposti *in vitro* a due concentrazioni di n-TiO₂ per tempi diversi. Dunque, liquidi seminali di pazienti sottoposti a test di screening di base, provenienti dal Polo Ostetrico e Ginecologico dell'Università della

Campania, sono stati trattati con n-TiO₂ (1 µg/L e 10 µg/L) per 15, 30, 45 e 90 minuti; gli effetti sulle cellule spermatiche sono stati evidenziati utilizzando diversi approcci sperimentali: Test Comet; Test TUNEL, RAPD-PCR e stabilità genomica del templatato (GTS%).

Metodi

Sono stati selezionati 56 liquidi seminali di pazienti tra i 25 ei 43 anni con buoni parametri secondo le linee guida 2010 dell'OMS. I campioni sono stati purificati mediante centrifugazione discontinua in gradiente di densità del 45-90% per recuperare la popolazione cellulare altamente mobile e vitale. Ciascun campione purificato è stato diviso in quattro aliquote (1 * 10⁶ spermatozoi/ml) trattate con 1 µg/ L di n-TiO₂, 10 µg/L di n-TiO₂, benzene alla concentrazione di 0,4 µl/ml usata come controllo positivo (Rocco et al 2012) e aliquota non trattata usata come controllo negativo. L'incubazione è stata eseguita in MEM a 37 ° C. Dopo l'esposizione i campioni sono stati lavati con i 1xPBS e i parametri seminali rivalutati.

Successivamente, una parte della sospensione cellulare è stata utilizzata per la preparazione dei vetrini per il test Comet che mostra l'integrità del genoma, test Tunel che analizza il processo apoptotico (45 µl), e la restante parte (200 µl) utilizzata per l'isolamento del DNA per l'amplificazione mediante RAPD-PCR allo scopo di indagare a livello molecolare la natura degli squilibri genetici determinati dal trattamento e calcolare la percentuale di stabilità genomica (GTS%).

Risultati

L'esposizione a 1 µg/L e 10 µg/L n-TiO₂ per 15, 30, 45 e 90 minuti non ha indotto variazioni statisticamente significative della vitalità, mentre la motilità (progressiva e non progressiva) è risultata ridotta dopo 45 e 90 minuti di trattamento con entrambe le concentrazioni scelte.

I dati del test Comet hanno mostrato una perdita statisticamente significativa dell'integrità del DNA degli spermatozoi per tutti i tempi di esposizione per entrambe le concentrazioni testate. In particolare il danno al DNA è risultato maggiore alla massima concentrazione. I valori ottenuti per i campioni non trattati indicano una percentuale di DNA nella coda della cometa pari a 17,46 ± 2,31 (15 min) a 18,42 ± 1,03 (30 min), 21,79 ± 0,76 (45 min) e 23,15 ± 1,05 (90 min). Invece, la percentuale di DNA della coda dello sperma esposto a 1 µg / L n-TiO₂ va da 19,32 ± 1,55 (15 min) a 26,42 ± 0,76 (30 min), 32,45 ± 0,86 (45 min) e 48,54 ± 2,03 (90 min). I risultati dopo il trattamento a 10 µg / L n-TiO₂ hanno mostrato valori del DNA della coda che vanno da 22,49 ± 1,17 (15 min) a 30,59 ± 0,61 (30 min), 43,16 ± 0,57 (45 min) e 60,05 ± 1,50 (90 minuti). I campioni trattati con benzene hanno mostrato una percentuale di DNA della coda pari a 38,00 ± 1,5 (15 min), 42,00 ± 0,50 (30 min) e 43,70 ± 1,80 (45 min), 67 ± 2,4 (90 min).

I risultati del test TUNEL hanno evidenziato un aumento statisticamente significativo (valore p ≤ 0,05) della frammentazione del DNA spermatico per entrambe le concentrazioni di n-TiO₂ testate e per tutti i tempi di esposizione. La percentuale di DFI dei campioni non trattati è stata di 11,12 ± 1,27 dopo 15 minuti, 18,33 ± 1,72 dopo 30 minuti, 18,83 ± 2,04 dopo 45 minuti e 17,63 ± 1,45 dopo 90 minuti. La percentuale di DFI dopo diversi tempi di esposizione a 1 µg / L n-TiO₂ varia da 20,13 ± 0,70 (15 min) a 38,26 ± 0,70 (30 min), 25,6 ± 0,23 (45 min) e 23,00 ± 1,0 (90 min). Il trattamento a 10 µg / L n-TiO₂ ha indotto valori di DFI% compresi tra 25,50 ± 1,25 (15 min) e 45,20 ± 0,50 (30 min).

Riguardo il pattern polimorfico relativo ai controlli negativi si sono osservate bande a 190, 270, 450, 500, 510, 560, 650, 850, 910, 950, 1000 bp. Il trattamento con 1 µg/L di n-TiO₂ ha indotto solo la comparsa di nuove fasce rispetto al controllo; in dettaglio due bande dopo 15 e 30 minuti di

esposizione, tre bande dopo 45 minuti e quattro bande dopo 90 minuti. I pattern elettroforetici relativi agli esperimenti effettuati alle concentrazioni di 10 µg/ L n-TiO₂ hanno mostrato la comparsa di una nuova banda e la scomparsa di quattro bande rispetto al controllo dopo 15 minuti, mentre 30 minuti di trattamento hanno indotto la comparsa di una band e la scomparsa di cinque gruppi. Dopo 45 e 90 minuti di esposizione alla stessa concentrazione, si sono verificate tre nuove bande e la scomparsa di quattro bande rispetto al controllo 4,50 ± 0,60 (45 min) e 24,45 ± 0,85 (90 min).

I profili polimorfici ottenuti da RAPD-PCR sono stati utilizzati per valutare la percentuale di stabilità del genoma (GTS%) nello sperma umano esposto *in vitro* a n-TiO₂. Il trattamento con 1 µ/ L di n-TiO₂ ha indotto una diminuzione della stabilità genomica del 18% dopo 15 e 30 minuti, il 27% dopo 45 minuti e il 36% dopo 90 minuti. La stabilità del genoma dei campioni trattati con 10 µg/L di n-TiO₂ è stata ridotta del 45% dopo 15 minuti, 54% dopo 30 minuti e 63% dopo 45 e 90 minuti di esposizione.

Conclusioni

I risultati di questo studio mostrano una genotossicità evidente delle nanoparticelle di biossido di titanio anche a basse concentrazioni, determinando una perdita dell'integrità del genoma con conseguente innesco di morte cellulare programmata in spermatozoi umani. Il danno genotossico sembra esplicarsi attraverso la formazione di specie radicaliche in quanto i risultati della RAPD-PCR evidenziano un maggior numero di scomparse di bande nei profili dei campioni trattati con n-TiO₂ piuttosto che eventi di comparse di nuove bande; ciò indica la formazione di addotti al DNA e/o rotture nella doppia elica che molto spesso potrebbero essere dovute all'azione di specie reattive dell'ossigeno, note per essere i principali mediatori del danno al DNA indotto da agenti genotossici. In considerazione di questo, aumenta la preoccupazione per la salute riproduttiva, in particolar modo per i maschi esposti inconsapevolmente, a causa dell'ampia diffusione di queste nanoparticelle nell'ambiente, con il rischio di generare di disordini genetici del DNA degli spermatozoi che potrebbero essere trasmessi alla prole.

Tuttavia si rendono necessari studi *in vivo*, per valutare l'incidenza delle nanotecnologie sull'infertilità e sugli aborti spontanei anche dopo tecniche di fecondazione *in vitro*.

Bibliografia

Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F, Coglianò V; Carcinogenicity of carbon black, titanium dioxide, and talc. WHO International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. *Lancet Oncol.* (2006).

Lan Z, Yang WX. Nanoparticles and spermatogenesis: how do nanoparticles affect spermatogenesis and penetrate the blood-testis barrier. *Nanomedicine.* (2012).

Sazid H, Jinmyoung J, Jinyoung, Byungji K, Gary B B, Zhi-Gang S, Dokyoung K, Aman P M, Tarmo M, Tarnbet T, Santina C, Salvatore G, Michael J S, Erkki R. Antibiotic-loaded nanoparticles targeted to the site of infection enhance antibacterial efficacy. *Nat Biomed Eng.* (2018).

Pubblicazioni 2018

1. P. Guidi, S. Corsolini, M. Bernardeschi, L. Rocco, M. Nigro, D. Baroni, **F. Mottola**, V. Scarcelli, M. Santonastaso, A. Falleni, C. Della Torre, I. Corsi, K. Pozo, G. Frenzilli, (2018). Dioxin-like compounds bioavailability and genotoxicity assessment in the Gulf of Follonica, Tuscany (Northern Tyrrhenian Sea). *MARINE POLLUTION BULLETIN*, vol. 126, p. 467-472,

2. M. Santonastaso, A. Natella, R. Ianniello, **F. Mottola**, A. Avitabile, L. Rocco, C. Trotta (2018) Effetto protettivo della curcumina sulla qualità di spermatozoi crioconservati. 2° congresso nazionale Società Italiana Riproduzione Umana (SIRU).
3. **F. Mottola**, N. Scudiero, C. Iovine, L. Rocco (2018). *In vivo* evaluation of ellagic acid effect in *Danio rerio* embryos. European Journal of Histochemistry. Vol. 62: p. 25-26.
4. M. Santonastaso, **F. Mottola**, N. Colacurci, C. Iovine, S. Pacifico, M. Cammarota, F. Cesaroni, L. Rocco (accepted for publication) *In vitro* genotoxic effects of titanium dioxide nanoparticles (n-TiO₂) in human sperm cells. Mol Rep. Devel



INFORMAZIONI PERSONALI

Nome **FILOMENA MOTTOLA**
Indirizzo **VIA MAZZINI N°6 - 81030 -LUSCIANO (CE)**
Telefono **081/8143055-3457154405**
E-mail **mena.mottola@gmail.com**
Nazionalità **Italiana**
Data di nascita **29/10/1984**

ESPERIENZE LAVORATIVE

Data Dal 1 Dicembre 2018 al 30 Novembre 2018
Nome e indirizzo del datore di lavoro **Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche.**
Università degli studi della Campania Luigi Vanvitelli (CASERTA)
Tipo di impiego **Assegno di ricerca: Valutazione della genotossicità di nanoparticelle di biossido di titanio (TiO₂) in spermatozoi umani *in vitro***

Data Dal 16 Giugno 2016 al 16 Giugno 2017
Nome e indirizzo del datore di lavoro **Dipartimento di Scienze Agro-Ambientali e Territoriali (DI.S.A.A.T.)**
Università di Bari "Aldo Moro".
Distaccamento presso **Istituto per il sistema produzione animale in ambiente Mediterraneo (ISPAAM) Consiglio Nazionale delle Ricerche**, Via Argine, 1085, 80147 Napoli
Tipo di impiego **Assegno di ricerca: Miglioramento nella gestione dell'impresa pesca e recupero di aree naturali nelle marinerie pugliesi GEST.IMP.ESCA**
Principali mansioni e responsabilità Valutazione della lunghezza dei telomeri in specie marine mediante q-PCR.

Data Dal 15 Luglio 2016 al 17 Luglio 2016
Nome e indirizzo del datore di lavoro **laboratorio di Epidemiologia Molecolare e Genetica**
Istituto di Fisiologia Clinica (IFC-CNR), via G. Moruzzi 1 - 56124 Pisa
Tipo di impiego **Attività formativa di ricerca**
Principali mansioni e responsabilità Valutazione della lunghezza dei telomeri mediante q-PCR.

Data Dal 1 Agosto 2016 al 31 ottobre 2016
Nome e indirizzo del datore di lavoro **Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche.**
Università degli studi della Campania Luigi Vanvitelli (CASERTA).
Tipo di impiego **Incarico di prestazione occasionale "Allestimento colture cellulari da liquido amniotico e villi coriali"**
"Esami sul cariotipo fetale (amniocentesi) a pazienti ospedalieri" dell'Azienda Universitaria AOU-SUN, CUP B21E15000200005
Principali mansioni e responsabilità Preparazione di colture cellulari da liquido amniotico e villi coriali, esecuzione di cariotipi mediante bandeggio GTG per diagnosi prenatale

Data 2-24 Settembre 2015
Nome e indirizzo del datore di lavoro **Healt in Progress**
Piazza Ettore Vitale, 48 80126 Napoli
Principali mansioni e responsabilità **Docente** per il corso: Tecniche per La Valutazione del Rischio Genetico in Gravidanza: potenzialità e limiti

	Data	22-26-27 Maggio 2014
	Nome e indirizzo del datore di lavoro	Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche (DiSTABIF) Seconda Università degli Studi di Napoli (CASERTA).
	Tipo di impiego	TUTOR per il Corso E.C.M. di aggiornamento teorico-pratico "La diagnostica di Laboratorio nella Seminologia"
	Principali mansioni e responsabilità	Collaborazione allo svolgimento di lezioni e tirocinio pratico
	Data	19 – 21 Novembre 2013
	Nome e indirizzo del datore di lavoro	Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche (DiSTABIF) Seconda Università degli Studi di Napoli, Via Vivaldi, 43 Caserta
	Tipo di impiego	TUTOR per il Corso E.C.M. di aggiornamento teorico-pratico "La diagnostica di Laboratorio nella Seminologia"
	Principali mansioni e responsabilità	Collaborazione allo svolgimento di lezioni e tirocinio pratico
	Data	25 Ottobre 2013
	Nome e indirizzo del datore di lavoro	Healt in Progress Piazza Ettore Vitale, 48 80126 Napoli
	Tipo di impiego	Docente per il corso di aggiornamento teorico pratico sulle "predizioni del rischio di aneuploidie fetali e disordini ipertensivi della gravidanza nel primo trimestre".
	Principali mansioni e responsabilità	Le nuove tecniche di screening genetico nel primo trimestre: dal cariotipo tradizionale a quello molecolare
	Data	Dal 17 gennaio 2013 al 21 maggio 2013
	Nome e indirizzo del datore di lavoro	CE.FO.R.S. S.R.L. indirizzo S.S. 87 Km 20,700 Marcianise (CE)
	Tipo di impiego	Docente per il corso "Addetto alla lavorazione dei prodotti lattiero-caseari" P.O.R Campania FSE 2007 / 2013 – D.D. 21572012 Catalogo formativo ammortizzatori sociali 2012
	Principali mansioni e responsabilità	Controllo qualità
	Data	Dal 20 Giugno 2011 al 30 Settembre 2011
	Nome e indirizzo del datore di lavoro	Polish Academy of Science - Institute of Genetics and Animal Breeding Varsavia (Jastrzebiec) Poland
	Tipo di impiego	Erasmus Placement
	Principali mansioni e responsabilità	Preparazione di microcapillari per micromanipolazione, recupero di oociti ed embrioni di topo, allestimento di colture embrionali e di oociti di topo, micromanipolazione di embrioni di topo, chirurgia su topi (embryo transfert, ovariectomie), test di comportamento sui topi. Estrazione DNA ed RNA, amplificazione mediante saggi di PCR e Real Time PCR, costruzione di librerie di cDNA.
	Data	Dal 1 Giugno al 20 Giugno 2011
	Nome e indirizzo del datore di lavoro	Instytut Zootechniki Państwowy , National Research Institute of Animal Production –Balice (Poland)
	Tipo di impiego	Erasmus Placement
	Principali mansioni e responsabilità	Recupero e allestimento di colture per maturazione in vitro di oociti di pecora
	Data	Gennaio 2009/marzo 2010
	Nome e indirizzo del datore di lavoro	Laboratorio di Citogenetica e Biologia Molecolare SUNFert - Dipartimento di Scienze della Vita -Seconda Università degli Studi di Napoli - Via Vivaldi, 43 - 81100 – Caserta
	Tipo di impiego	Biotecnologo collaborazione volontaria
	• Principali mansioni e responsabilità	Estrazione DNA ed RNA, amplificazione mediante saggi di PCR, screening molecolare per HPV, fibrosi cistica e fattori della coagulazione, allestimento di colture cellulari dal liquido amniotico e da sangue periferico ed esecuzione dei relativi cariotipi.
	Data	Dal 1 giugno al 31 luglio 2009
	Nome e indirizzo del datore di lavoro	Istituto diagnostico Varelli, via Cornelia dei Gracchi 65, Napoli -
	Tipo di impiego	Biotecnologa - Collaborazione occasionale
	Principali mansioni e responsabilità	Estrazione DNA ed RNA, amplificazione mediante saggi di PCR e Real Time PCR, screening molecolare per HPV, HCV, HBV, fibrosi cistica e fattori della coagulazione, allestimento di colture cellulari dal liquido amniotico e da sangue periferico ed esecuzione dei relativi cariotipi, screening delle principali aneuploidie cromosomiche mediante tecnica FISH.

Data	AA 2009/2010
Nome e indirizzo del datore di lavoro	Università degli studi della Campania Luigi Vanvitelli - Via Vivaldi, 43 - 81100 - Caserta
Tipo di impiego	Tutor per il master in Biotecnologie Applicate alla Riproduzione Assistita
Data	Dal 4 settembre 2006 al 4 settembre 2007
Nome e indirizzo del datore di lavoro	Comune di Lusciano
Tipo di impiego	Servizio Civile Nazionale progetto "Ancora
Principali mansioni e responsabilità	Insieme" Assistenza anziani e disabili

ISTRUZIONE E FORMAZIONE

Data	18 Dicembre 2015
Nome e tipo di istituto di istruzione o formazione	Scuola di Dottorato per le Scienze della Vita e dell'ambiente - Università degli studi della Campania Luigi Vanvitelli
Principali materie / abilità professionali oggetto dello studio	Dottorato di ricerca in Biologia Computazionale
Titolo della tesi	Ciclo XXVIII <i>Antigenotossicità di curcuma e acido α-lipoico in amniociti umani</i>
Data	08 Ottobre 2012
Nome e tipo di istituto di istruzione o formazione	Università degli Studi di Teramo Facoltà di Medicina Veterinaria - Laurea Magistrale in Biotecnologie della Riproduzione (LM.9)
Titolo della tesi	<i>Caratterizzazione mediante tecniche di citogenetica molecolare di un marker cromosomico sovranumerario causa di infertilità maschile.</i>
Crediti Universitari acquisiti	120
Principali materie / abilità professionali oggetto dello studio	Allattamento di colture cellulari e trattamento di campioni da sangue periferico. Harvesting di colture cellulari e bandeggio di cromosomi metafisici con tecniche GTG, CBG e Ag-NOR. Ricostruzione cariotipo con utilizzo del software GENIKON versione 3.7. Estrazione di DNA, amplificazione mediante PCR, Screening molecolare di fibrosi cistica e microdelezioni del cromosoma Y. Costruzione e marcatura di sonde specifiche per FISH su metafasi linfocitarie. Analisi FISH su spermatozoi per la determinazione di aneuploidie cromosomiche. Analisi del liquido seminale e test di frammentazione del DNA spermatico.
Votazione	110/110 e lode
Data	15 Dicembre 2008
Nome e tipo di istituto di istruzione o formazione	Università degli studi della Campania Luigi Vanvitelli – Facoltà di Scienze MM.FF.NN. - Master Universitario di I° livello in: Biotecnologie Applicate alla Riproduzione Assistita
Titolo della tesi	Sindrome dell'Ovaio Policistico
Crediti Universitari acquisiti	60
Votazione	110/110 e Lode
Data	29 Maggio 2008
Nome e tipo di istituto di istruzione o formazione	Università degli studi della Campania Luigi Vanvitelli – Interfacoltà di Biotecnologie- Laurea in Biotecnologie Mediche
Titolo della Tesi	Uomo Ambiente e salute
Votazione	99/110
Data	Luglio 2003
Nome e tipo di istituto di istruzione o formazione	Liceo Socio Psico Pedagogico

FORMAZIONE POST-LAUREAM

Data	22 Febbraio 2013
Nome e tipo di istituto di istruzione o formazione	Dipartimento di scienze della vita – Seconda Università degli studi di Napoli
Principali materie / abilità professionali oggetto dello studio	Corso di aggiornamento teorico-pratico: L'iter diagnostico dell'infertilità maschile.

Data	11 Novembre 2009
Nome e tipo di istituto di istruzione o formazione	Società di Genetica Umana.
Principali materie / abilità professionali oggetto dello studio	Corso di aggiornamento in strumenti di bioinformatica per l'analisi di tecnologie Microarray
Data	21-22-23 Aprile 2009
Nome e tipo di istituto di istruzione o formazione	Facoltà di Scienze MM.FF.NN. - Seconda Università di Napoli
Principali materie / abilità professionali oggetto dello studio	Corso di training e aggiornamento professionale per l'analisi del liquido seminale: test di base e recenti applicazioni.
Data	dal 15 Settembre 2008 al 15 Dicembre 2008
Nome e tipo di istituto di istruzione o formazione	Clinic Center Hera: laboratorio di PMA Giugliano In Campania (Na)
Principali materie / abilità professionali oggetto dello studio	Attività di tirocinio: tecniche di procreazione medicalmente assistita umana, assistenza Pick-up ovocitario, ICSI-IMSI, Embryo Transfer.

MADRELINGUA

italiano

ALTRE LINGUE

INGLESE

Capacità di lettura

BUONO

Capacità di scrittura

BUONO

Capacità di espressione orale

BUONO

**CAPACITÀ E COMPETENZE
INFORMATICHE**

Conoscenza e utilizzo dei sistemi operativi Apple e Microsoft e relativi applicativi. Conoscenza e utilizzo di software di analisi dati scientifici e creazione di grafici (GraphPad PRISM).

TITOLI ACCADEMICI

Data Dal 15 Ottobre 2013 ad oggi

Culture della materia per l'insegnamento di **BIOLOGIA e TECNICHE**

DELLA RIPRODUZIONE per il corso di laurea magistrale in Biologia. *Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche*- Università degli studi della Campania Luigi Vanvitelli, Caserta

Culture della materia per l'insegnamento di **BIOTECNOLOGIE DELLA RIPRODUZIONE DELLA RIPRODUZIONE** per il corso di laurea magistrale in Biologia. *Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche*- Università degli studi della Campania Luigi Vanvitelli, Caserta

Culture della materia per l'insegnamento di **ANATOMIA COMPARATA** per il corso di laurea triennale in Scienze Biologiche. *Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche*- Università degli studi della Campania Luigi Vanvitelli, Caserta

Culture della materia per l'insegnamento di **ANATOMIA UMANA** per il corso di laurea triennale in Scienze Biologiche. *Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche*- Università degli studi della Campania Luigi Vanvitelli, Caserta

Conoscenza e utilizzo di tecniche per lo studio del danno al DNA:

valutazione della lunghezza della sequenza telomerica mediante q-PCR in diverse specie animali (bufalo, bovino, capra) e uomo

Espressione genica

Comet Assay

Diffusion Assay

RAPD-PCR

DCFH-Assay

Test di frammentazione del DNA in spermatozoi e cellule del cumulo ooforo (TUNEL Assay)

**ALTRE CAPACITÀ E
COMPETENZE PROFESSIONALI**

Estrazione automatica di acidi nucleici (DNA e RNA) da cellule e tessuti e manuale mediante metodo fenolo-cloroformio e isopropanolo-cloroformio;
 RT-PCR
 Preparazione di colture cellulari di linee embrionali di spigola
 Allestimento e gestione stabulario
 Conoscenze approfondite delle linee guida nazionali ed internazionali concernenti il campo della genetica, citogenetica e infertilità di coppia

**CAPACITÀ E COMPETENZE
 RELAZIONALI ED ORGANIZZATIVE**

Spiccata attitudine al lavoro di gruppo e abilità a lavorare nel rispetto delle scadenze. Ottima la predisposizione al lavoro in ambiente multietnico e forti capacità di adattamento grazie soprattutto all'intensa esperienza maturata all'estero (Erasmus Placement). Ottima anche la capacità di gestione ed organizzazione del lavoro e delle risorse umane. Capacità di comunicare in modo chiaro, sintetico ed efficace grazie all'attività svolta come tutor universitario e docente per corsi di formazione.

PATENTE

B

BREVETTI

Brevetto subacqueo "Open Water Diver" n°1707EJ8474, rilasciato il 21 Luglio 2017
 Presso: Professional Association of Diving Instructors (PADI).

PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE

- I. M. Santonastaso, **F. MOTTOLA**, N. Colacurci, C. Iovine, S. Pacifico, M. Cammarota, F. Cesaroni, L. Rocco (accepted for publication) In vitro genotoxic effects of titanium dioxide nanoparticles (n-TiO₂) in human sperm cells. Mol Rep. Devel
- II. Rocco L., Santonastaso M., **MOTTOLA F.**, Costagliola D., Suero T., Pacifico S., Stingo V. (2015). Genotoxicity assessment of TiO₂ nanoparticles in the teleost Danio rerio. ECOTOXICOLOGY AND ENVIRONMENTAL SAFETY, 113:223-30.
- III. Della Torre C., Buonocore F., Frenzilli G., Corsolini S., Brunelli A., Guidi P., Kocan A., Mariottini M., **MOTTOLA F.**, Nigro M., Pozo K., Randelli E., Vannuccini ML., Picchiotti S., Santonastaso M., Scarcelli V., Focardi S., Marcomini A., Rocco L., Scapigliati G., Corsi I. (2015). Influence of titanium dioxide nanoparticles on 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin bioconcentration and toxicity in the marine fish European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). ENVIRONMENTAL POLLUTION, 196:185-93.
- IV. Rocco L., **MOTTOLA F.**, Santonastaso M., Saputo V., Cusano E., Costagliola D., T. Suero T., Stingo V. (2015) Anti-genotoxic ability of α -tocopherol and Anthocyanin to counteract fish DNA damage induced by musk xylene. ECOTOXICOLOGY, 24(9):2026-35.
- V. Rocco L., Santonastaso M., Nigro M., **MOTTOLA F.**, Costagliola D., Bernardeschi M., Guidi P., Lucchesi P., Scarcelli V., Corsi I., Stingo V., Frenzilli G. (2015) Genomic and chromosomal damage in the marine mussel *Mytilus galloprovincialis*: effects of the combined exposure to titanium dioxide nanoparticles and cadmium chloride. MARINE ENVIRONMENTAL RESEARCH, 111:144-8.
- VI. Nigro M., Bernardeschi M., Costagliola D., Della Torre C., Frenzilli G., Guidi P., Lucchesi P., **MOTTOLA F.**, Santonastaso M., Scarcelli V., Monaci F., Corsi I., Stingo V., Rocco L. (2015). n-TiO₂ and CdCl₂ co-exposure to titanium dioxide nanoparticles and cadmium: Genomic, DNA and chromosomal damage evaluation in the marine fish European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). AQUATIC TOXICOLOGY, 168:72-7.

COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE

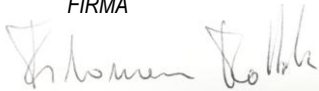
1. M. Santonastaso, A. Natella, R. Ianniello, **F. MOTTOLA**, A. Avitabile, L. Rocco, C. Trotta (2018) Effetto protettivo della curcumina sulla qualità di spermatozoi crioconservati. 2° congresso nazionale Società Italiana Riproduzione Umana (SIRU).
2. **F. MOTTOLA**, N. Scudiero, C. Iovine, L. Rocco (2018). In vivo evaluation of ellagic acid effect in *Danio rerio* embryos. European Journal of Histochemistry. Vol. 62: p. 25-26.
3. **F. MOTTOLA**, M. Santonastaso, C. Iovine, M. Ferrara, V. Feola, M. Di Donato, F. Farina, N. Colacurci, L. Rocco (2017). Effetto benefico della curcumina sul DNA di spermatozoi crioconservati XX CONGRESSO NAZIONALE SIGU Stato: INVIATO - ID: 914

4. Concetta Iovine, **FILOMENA MOTTOLA**, Marianna Santonastaso, Nicola Colacurci, Massimo Ferrara, Veronica Feola, Federica Farina, Lucia Rocco (2017). Synergic effect of curcumin and ellagic acid on genomic stability of human amniotic cells. 59th CONGRESS OF THE ITALIAN SOCIETY OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY (SIB): p022
5. M. Santonastaso, **F. MOTTOLA**, N. Colacurci, C. Iovine, S. Pacifico, M. Ferrara, V. Feola, M. Cammarota F. Cesaroni, L. Rocco (2017). In vitro genotoxic effects of titanium dioxide nanoparticles (TiO₂ NPS) in human sperm cells. EUROPEAN JOURNAL OF HISTOCHEMISTRY; VOL. 61; SUPP. 1
6. Santonastaso M., **MOTTOLA, F.**, Mele D., Rocco L., Caprio F., Colacurci, N. (2016). Intracellular oxidative stress in granulosa cells impact on ART success in reduced ovarian reserve. HUMAN REPRODUCTION VOL 31, SUPP. 1, 446
7. Santonastaso M., **MOTTOLA, F.**, Caprio F., Stingo V., Colacurci, N., Rocco L. (2016). Negative impact on ovarian reserve due to intracellular oxidative stress in human granulosa cells. EUROPEAN JOURNAL OF HISTOCHEMISTRY. Vol 60, N. 1s, 14.
8. **MOTTOLA F.**, Santonastaso M., Feola, V., Iovine, C., Stingo, V., Rocco, L. (2016) In Vitro modulation of cadmium genotoxicity by TiO₂ nanoparticles in *Dicentrarchus labrax* embryonic cells (DLEC). EUROPEAN JOURNAL OF HISTOCHEMISTRY. Vol 60, N. 1s, 10.
9. **MOTTOLA F.**, Iovine C., Feola V., Santonastaso M., Stingo V., Rocco L. (2016). In vitro effects of TiO₂ nanoparticles and cadmium in a fish cell line derived from sea bass *Dicentrarchus labrax*. In: Atti 45th Meeting of European Environmental Mutagenesis and Genomics Society: p029.
10. **MOTTOLA F.**, Costagliola D, Ferrara M, Suero T, Napolitano A, Savarese G, Ruggiero R, Santonastaso M, Rocco L. (2015). Curcuma e acido α -lipoico proteggono il DNA di amniociti umani dallo stress ossidativo. In: Atti XVIII Congresso Nazionale Società Italiana Genetica Umana: p135.
11. **MOTTOLA F.**, Santonastaso M., Suero T., Feola V., Pacifico S., Stingo V., Rocco L. (2015). In vivo modulation of cadmium genotoxicity by TiO₂ nanoparticles in zebrafish (*Danio rerio*). In: Atti 44th Meeting of European Environmental Mutagenesis and Genomics Society: p082.
12. **MOTTOLA F.**, Santonastaso M., Costagliola D., Napolitano A., Suero T., Feola V., Stingo V., Fuggi A., Rocco L. (2015). Valutazione in vitro del potenziale anti-genotossico di *Prunus avium* (L.) nei confronti del danno al DNA indotto dal muschio xylene. In: Atti Covegno "Recupero, caratterizzazione e valorizzazione della Biodiversità frutticola e orticola della Regione Campania": p12.
13. Rocco L., M. Santonastaso M., Caprio F., **Mottola F.**, Stingo V., Colacurci N. (2015). Titanium dioxide nanoparticles reduce human sperm DNA stability. HUMAN REPRODUCTION VOL 30, SUPP. 1, 151-152.
14. **MOTTOLA F.**, Guidi P., Santonastaso M., Bernardeschi M., Suero T., Scarcelli V., Stingo V., M. Nigro M., Rocco L., Frenzilli G. (2014). Valutazione del danno indotto al DNA da nanoparticelle di TiO₂ e dalla sua co-esposizione con diossina in specie marine di interesse alimentare. In: Atti I° Congresso Nazionale della società Italiana di Nanotossicologia: 24.
15. Rocco L., Canesi L., Frenzilli G., Della Torre C., Poiana G., Faleri C., Buonocore F., Bocci E., Balbi T., Bernardeschi M., Brunelli A., Corsolini S., Guidi P, **MOTTOLA F.**, Randelli E., Picchietti S., Santonastaso M., Scarcelli V., Smerilli A., Stingo V., Marcomini A., Nigro M., Scapigliati G., Focardi S., Corsi I. (2014). Ecotossicologia marina di nanomateriali: tossicità e bioaccumulo di nanoparticelle di biossido di titanio in specie ittiche in presenza di cadmio e 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-diossina. In: Atti I° Congresso Nazionale della società Italiana di Nanotossicologia: 18.
16. Santonastaso M., **MOTTOLA F.**, Pacifico S., Costagliola D., Stingo V., Rocco L. (2014). Effetti genotossici delle nanoparticelle di TiO₂ nel teleosteo di acqua dolce *Danio rerio*. In: Atti I° Congresso Nazionale della società Italiana di Nanotossicologia: 25.
17. Della Torre C., Canesi L., Frenzilli G., Rocco L., Pojana G., Bocci E., Balbi T., Bernardeschi M., Faleri C., Guidi P., **MOTTOLA F.**, Santonastaso M., Scarcelli V., Smerilli A., Stingo V., A. Marcomini A., Nigro M., Focardi S.E., Corsi I. (2014). Titanium dioxide nanoparticles modulate the response to Cadmium in the gills of marine mussel *Mytilus galloprovincialis*. In: Atti 24th Annual Meeting SETAC Europe: 454.
18. Santonastaso M., **MOTTOLA F.**, Cesaroni F., Suero T., Napolitano A., Stingo V., Rocco L. (2014). Danno ossidativo e fertilità maschile: antiossidanti preziosi alleati. In: Giornate Scientifiche di Ateneo: VIS-2_9.
19. Rocco L., D'Eufemia D., Santonastaso M., Caprio F., **MOTTOLA F.**, Colacurci N. (2014). Selezione di gameti per il successo della PMA: nuovi biomarker dalle cellule del cumulo ooforo. In: Giornate Scientifiche di Ateneo: VIS-2_9.
20. **MOTTOLA F.**, Santonastaso M., Costagliola D., Ferrara M., Stingo V., Rocco L. (2014). Sigaretta elettronica: ingannevole alternativa al tabacco. In: Giornate Scientifiche di Ateneo: VIS-2_8.

21. Guidi P., Frenzilli G., Bernardeschi M., Scarcelli V., Ghezzani C., Rocco L., **MOTTOLA F.**, Santonastaso M., Costagliola D., Napolitano A., Stingo V., Corsi I., Nigro M. (2014). Influence of titanium dioxide nanoparticles on cadmium genotoxicity in the marine fish european sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and in the marine mussel *Mytilus galloprovincialis*. A trojan horse effect?. In: Study Days - Sixth Edition."Research and application of ecotoxicological methods in aquatic environments and contaminated matrices".
22. Santonastaso M., Bernardeschi M., Costagliola D., Frenzilli G., Guidi P., **MOTTOLA F.**, Nigro M., Scarcelli V., Suero T., Stingo V., Rocco L. (2014). Marine environmental contamination by titanium dioxide nanoparticles (n-TiO₂): a genotoxicological study in two edible species. In: 2nd Marine NanoEcoSafety Workshop:32.
23. Santonastaso M., Frenzilli G., Bernardeschi M., Costagliola D., Guidi P., **MOTTOLA F.**, Nigro M., Scarcelli V., Suero T., Stingo V., Corsi I., Rocco L. (2014). Co-exposure to titanium dioxide nanoparticles and cadmium: Genomic, DNA and chromosomal damage evaluation in the marine mussel (*Mytilus galloprovincialis*) and in the fish European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). In: 2nd Marine NanoEcoSafety Workshop:34.
24. Rocco L., **MOTTOLA F.**, Santonastaso M., Martucci G., Stingo V. (2013). Valutazione in vivo del danno indotto al DNA dal TiO₂ e dalla sua co-esposizione con diossina. In: Giornate Scientifiche di Ateneo: VIS-2_6.
25. Rocco L., Costagliola D., **MOTTOLA F.**, Ferrara M., Stingo V. (2013). Characterization of a small supernumerary marker chromosome invdup(15). The 19th International Chromosome Conference:195.
26. Rocco L., Costagliola D., Ferrara M., **MOTTOLA F.**, Napolitano A., Santonastaso M., Suero T., Stingo V. (2013). Antiossidanti e DNA spermatico: effetto antigenotossico di α -tocoferolo e antocianina. In: Atti XVI Congresso Nazionale Società Italiana Genetica Umana: p044.
27. Costagliola D., Ferrara M., **MOTTOLA F.**, Napolitano D., Suero T., Rocco L. (2012). Un caso di trisomia 12p in diagnosi citogenetica prenatale. XV CONGRESSO NAZIONALE SIGU:p429.
28. Rocco L., Costagliola D., Ferrara M., **MOTTOLA F.**, Suero T. (2012). Diagnosi prenatale di una traslocazione non bilanciata (12;21)(p10;q10). Giornate Scientifiche Di Ateneo: VIS-3_13.
29. Rocco L., **MOTTOLA F.**, Valentino I.V., Palmieri M., Costagliola D., Stingo V. (2010). Marker cromosomico sovranumerario invdup (15) in un adulto oligozoospermico. XIII Congresso Nazionale S.I.G.U: 366
30. Rocco L., Bencivenga S., **MOTTOLA F.**, Valentino I.V., Stingo V. (2009). Influenza delle varianti polimorfiche del cromosoma 9 sull'infertilità. XII Congresso Nazionale S.I.G.U: 39
31. Stingo V., Bencivenga S., **MOTTOLA F.**, Valentino I.V., Galileo C., Morra N. (2009). Diagnosi prenatale di un mosaicismo 45,XO/46,XY. Giornate Scientifiche Di Ateneo
32. Rocco L., Bencivenga S., Valentino I.V., **MOTTOLA F.**, Galileo C., Fasano R. (2009). Gli eteromorfismi cromosomici: l'inversione pericentrica del cromosoma 9. Giornate Scientifiche Di Ateneo
33. Rocco L., Morra N., Cesaroni F., **MOTTOLA F.**, Stingo V. (2009) Valutazione in vitro dell'attività genotossica di diversi farmaci su cellule spermatiche umane. 70° Congresso UZI:p191.

Il sottoscritto, consapevole che chiunque rilasci dichiarazioni mendaci è punito ai sensi del codice penale e delle leggi speciali in materia, ai sensi e per gli effetti dell'art. 76 D.P.R. n. 445/2000 dichiara l'autenticità di quanto riportato nel presente curriculum

DATA
01/02/2019

FIRMA


RELAZIONE FINALE ASSEGNO DI RICERCA

*Il ruolo dei cannabinoidi nella prevenzione e riduzione del
cancro e dell'invecchiamento*

Assegnista: Dott.ssa Russo Chiara

Tutor: Dott.ssa Lavorgna Margherita

Periodo: 1/12/17-30/11/18

Il cannabidiolo (CBD) e la cannabidivarina (CBDV) sono fitocannabinoidi contenuti nella *Cannabis*, un genere di pianta delle angiosperme, dell'ordine delle Urticales e della famiglia delle Cannabaceae. Entrambi sono composti terpenofenolici a 21 atomi di carbonio che includono un anello di dibenzopirano ed una catena alchilica (Figura 1). Il CBD è strutturalmente correlato al noto 9-tetraidrocannabinolo (THC) e si ritrova insieme al suo analogo propilico (CBDV) nelle piante di *C. sativa* e *C. indica*. La *Cannabis* può esercitare effetti sull'organismo umano grazie ad un sistema perfettamente organizzato: *il sistema endocannabinoide*. Nello specifico, i recettori cannabinoidi (CB1 e CB2) sono recettori metabotropici, appartenenti alla numerosa famiglia dei recettori accoppiati alla proteina G (GPCR). Tali recettori di membrana consistono in sette domini trans membrana (7TM) con un terminale amminico extracellulare ed un terminale carbonilico intracellulare (Howlett et al., 2002). Tali recettori sono diversamente dislocati nell'organismo ed infatti i CB1 sono tra i GPCR più abbondanti e più ampiamente distribuiti nell'encefalo, mentre i recettori CB2 sono espressi principalmente a livello periferico e non sono correlati a effetti psicoattivi. Ad oggi, svariati sono gli effetti farmacologici noti di queste due molecole che, a differenza del THC, non hanno proprietà psicotrope. CBD e CBDV sono antiepilettici, anticonvulsivanti e antipsicotici (Fernández-Ruiz et al., 2013; Hill et al., 2012); inoltre, è stato dimostrato che il cannabidiolo previene l'infiammazione e mostra un'elevata attività antitumorale (Massi et al., 2013).

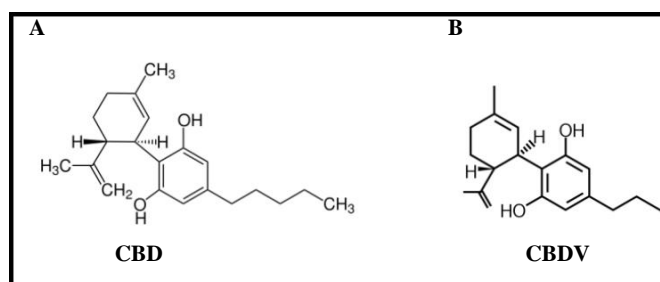


Figura 1: Strutture chimiche delle due molecole: CBD e CBDV

Ad oggi, però, pochi sono gli studi riportati in letteratura circa l'attività antiproliferativa di Cannabidiolo e Cannabidivarina su cellule tumorali. Inoltre poco è noto anche in merito al loro ruolo nell'invecchiamento cellulare. Pertanto, lo scopo del presente lavoro di ricerca è stato proprio quello di valutare la tossicità cellulare indotta dai fitometaboliti su diverse linee tumorali mediante test preliminari di vitalità cellulare come MTT assay (test spettrofotometrico riguardante la riduzione dei Sali di tetrazolio in formazano ad opera delle succinato deidrogenasi mitocondriali) e Casy assay (test di conta cellulare basata su passaggio cellulare in campo elettrico). Test di genotossicità sono stati effettuati mediante Comet assay (valutazione del danno al DNA con corsa elettroforetica dei nuclei in campo elettrico a pH basico) con e senza l'ausilio di enzimi (FPG ed Endo III) ossidanti le basi puriniche e pirimidiniche del DNA, rispettivamente. Inoltre, per la determinazione di effetti severi sul DNA, il test dei micronuclei è stato utilizzato non solo per la valutazione di nuclei atipici di dimensioni ridotte rispetto ai nuclei cellulari normali, ma anche per effettuare una valutazione di cellule apoptotiche, necrotiche e picnotiche, nonché di nuclei cariolitici carioessici. Lo studio riguardante l'invecchiamento cellulare è stato effettuato studiando la lunghezza telomerica delle cellule trattate con i fitocannabinoidi, mediante qPCR.

Parte dei risultati ottenuti nel presente progetto di ricerca sono già stati pubblicati nel lavoro di Russo et al. (2018) dal titolo "Low doses of widely consumed cannabinoids (cannabidiol and cannabidivarin) cause DNA damage and chromosomal aberrations in human-derived cells" ed alcune delle figure e tabelle riportate nella presente relazione sono estrapolate dal lavoro (in formato PDF) allegato.

Per valutare l'eventuale riduzione della vitalità cellulare indotta dai cannabinoidi, i dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica utilizzando il programma Graphpad Prism Analysis 5, attraverso il quale le percentuali di effetto, ottenute da test indipendenti, sono state interpolate al fine di valutare l'IC₅₀, cioè la concentrazione di composto capace di ridurre del 50% la proliferazione cellulare, con i rispettivi limiti fiduciali al 95%, attraverso una *non-linear regression* (log agonist vs. normalized response- variable slope). Sono state utilizzate le linee cellulari di carcinoma polmonare (A-549), epatico (Hep-G2), colon-rettale (Caco-2) e mammario (MDA-MB-231). Inoltre, al fine di comparare l'attività citotossica indotta su cellule tumorali con l'attività citotossica esplicata dai cannabinoidi nei confronti di cellule *normal-like*, i test di citotossicità sono stati effettuati anche nei confronti di fibroblasti dermici umani non trasformati (TelCOFS02MA). I valori di IC₅₀, ottenuti dopo 72h di esposizione, sono riportati in Tabella 1 in cui sono stati calcolati anche gli indici di selettività (SI), dati dal rapporto IC₅₀ normal cells/IC₅₀ cancer cells, per valutare se l'attività citotossica dei cannabinoidi fosse selettivamente rivolta alle sole cellule tumorali.

Tabella 1. Valori di IC₅₀, espressi in µM con un intervallo di confidenza pari al 95%, ottenuti mediante MTT assay a 72 h su differenti linee cellulari Caco-2, MDA-MB-231, Hep-G2, A549 e TelCOFS02MA per CBD e CBDV, con rispettivi indici di selettività ottenuti dal rapporto tra IC₅₀ delle cellule fisiologiche e IC₅₀ delle cellule tumorali.

Cell line	IC ₅₀		SI	
	CBD	CBDV	CBD	CBDV
TelCOFS02MA	31.89 (25.05 – 40.61)	42.30 (26.30 – 66.44)	-	-
A549	27.66 (23.82 – 32.12)	32.91 (27.89 – 38.82)	1.15	1.28
Hep-G2	15.80 (11.33 – 22.05)	19.75 (13.86 – 28.11)	2.02	2.14
Caco-2	35.24 (28.23 – 43.98)	46.02 (40.01 – 52.93)	0.90	0.92
MDA-MB-231	25.84 (23.61 – 28.28)	38.09 (32.39 – 44.83)	1.23	1.11

I più bassi indici di selettività sono stati ottenuti per le Caco-2 a contatto sia con il CBD che con il CBDV (rispettivamente 0.90 e 0.92), mentre i più alti valori di SI fanno riferimento alle cellule di carcinoma epatico (rispettivamente 2.02 e 2.14). Dunque, in accordo con Dermingan e collaboratori (2015), per i quali un valore di SI > 2 è indice di un'alta citotossicità selettiva del campione sulle cellule tumorali comparate a quelle non tumorali, è stato evidente che sia CBD che CBDV esercitano una citotossicità selettiva nei confronti di cellule di epatocarcinoma Hep-G2, risultando in tal modo le cellule di elezione su cui approfondire lo studio. Successivamente, trattando le HepG2 con i cannabinoidi per 24 h, la vitalità cellulare è stata valutata mediante l'utilizzo del conta-cellule CASY[®]. I risultati, riportati in Figura 2, sono stati ottenuti mediante analisi statistica utilizzando One-way Anova Dunnett's Multiple Comparison Test (Dunnett's MTC), grazie al quale è stata valutata la differenza statistica di attività dei singoli campioni in relazione al controllo negativo. La significatività statistica dei risultati è stata espressa per **p*<0.05. Le concentrazioni di non significativa riduzione della vitalità cellulare sono state scelte per la valutazione del danno genotossico effettuata mediante Comet assay e riportata in Figura 3. Il Comet assay (Single Cell Gel Electrophoresis o SCGE) è un saggio utile

non solo per valutare la genotossicità di sostanze *in vitro*, ma anche per analizzare danni al DNA *in vivo* negli studi di biomonitoraggio. Grazie a questa tecnica le cellule, sospese in gel di agarosio e piastrate su un vetrino, vengono prima sottoposte a lisi con detergenti per liberare il DNA, poi ad elettroforesi (neutra o alcalina) e quindi trattate con coloranti fluorescenti. Al microscopio a fluorescenza, le cellule non danneggiate si presentano con un nucleo tondeggianti e compatto, mentre le cellule danneggiate presentano una distensione più o meno accentuata del DNA con formazione di una struttura "a cometa" la cui coda è costituita da frammenti che sono migrati verso l'anodo e la cui testa risulta costituita dal resto del nucleo non danneggiato. Maggiore è infatti la frammentazione nucleare ottenuta a seguito della corsa elettroforetica e maggiore è l'entità del danno cellulare. Dunque, dopo 24h è stato possibile osservare un danno significativo al DNA già alla concentrazione di 2 μM sia di CBD che di CBDV. Inoltre, il danno al DNA è stato valutato anche mediante l'ausilio di enzimi (FPG ed Endo III) ossidanti le basi puriniche e pirimidiniche del DNA, ed i risultati, riportati rispettivamente nelle Figure 4 e 5, evidenziano un significativo danno al materiale genetico già alla concentrazione di 0.66 μM . In Tabella 2, invece, sono riportati i dati circa la valutazione del danno severo al materiale genetico (apprezzabile per mezzo di alterazioni delle dimensioni nucleari) attraverso la valutazione del numero di micronuclei appartenenti a cellule binucleate (BMNi), del numero totale di micronuclei ossia piccoli nuclei addizionali che presentano un diametro di 1/3 rispetto a quello dei nuclei normali (MNi), di nuclei con estroflessioni definiti germogli (Nbuds), di ponti nucleoplasmatici (NPB) che originano durante l'anafase da cromosomi dicentrici oltre che di cellule apoptotiche e necrotiche. La prima concentrazione di CBD e di CBDV capace di determinare un danno evidente al materiale genetico con formazione sia di germogli nucleari sia di cellule apoptotiche che necrotiche è pari a 0.073 μM . Si deduce, dunque, che i fitocannabinoidi sono capaci di apportare danni al nucleo delle cellule tumorali già a tempi minimi di esposizione e a concentrazioni che possono essere presenti nell'ordine di nanomoli. I risultati di tale studio mostrano, dunque, che CBD e CBDV causano la formazione di comete, l'ossidazione delle basi del DNA e l'induzione di micronuclei che si formano come conseguenza dell'aberrazione cromosomica strutturale e numerica. Tali effetti sono stati osservati a concentrazioni simili a quelle presenti nel plasma di individui che fumavano Cannabis (Haney et al., 2016; Ohlsson et al., 1986). Infatti, le più alte concentrazioni di CBD rilevate a livello plasmatico negli individui sottoposti a questo studio *in vivo* (dopo aver fumato) erano in un range compreso tra 0,25 e 2,18 μM (Haney et al., 2016; Ohlsson et al., 1986), valori non molto diversi da quelli riportati in Tabella 2.

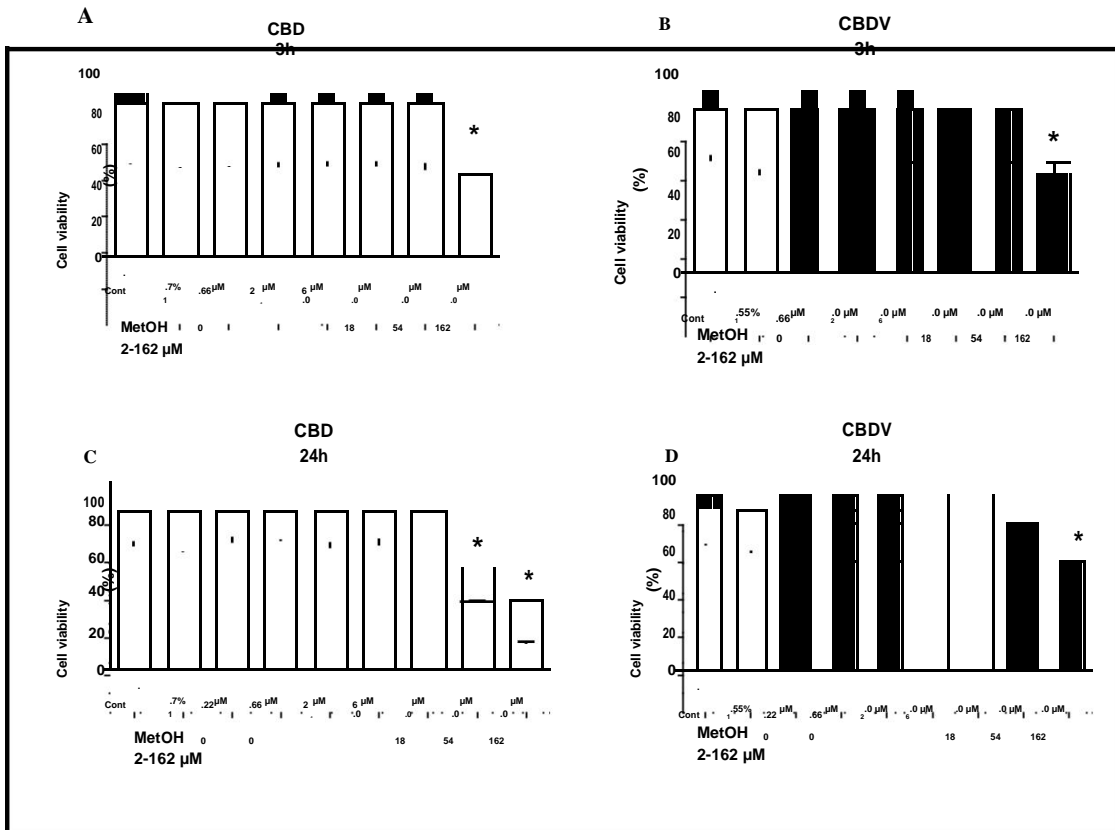


Figura 2: Impatto del trattamento (24 h) con CBD e CBDV sulla vitalità delle HepG2. Le barre indicano la media \pm DS di tre esperimenti indipendenti. Gli asterischi indicano la significativa differenza dal controllo negativo ($*p \leq 0.05$, ANOVA), Russo et al., 2018.

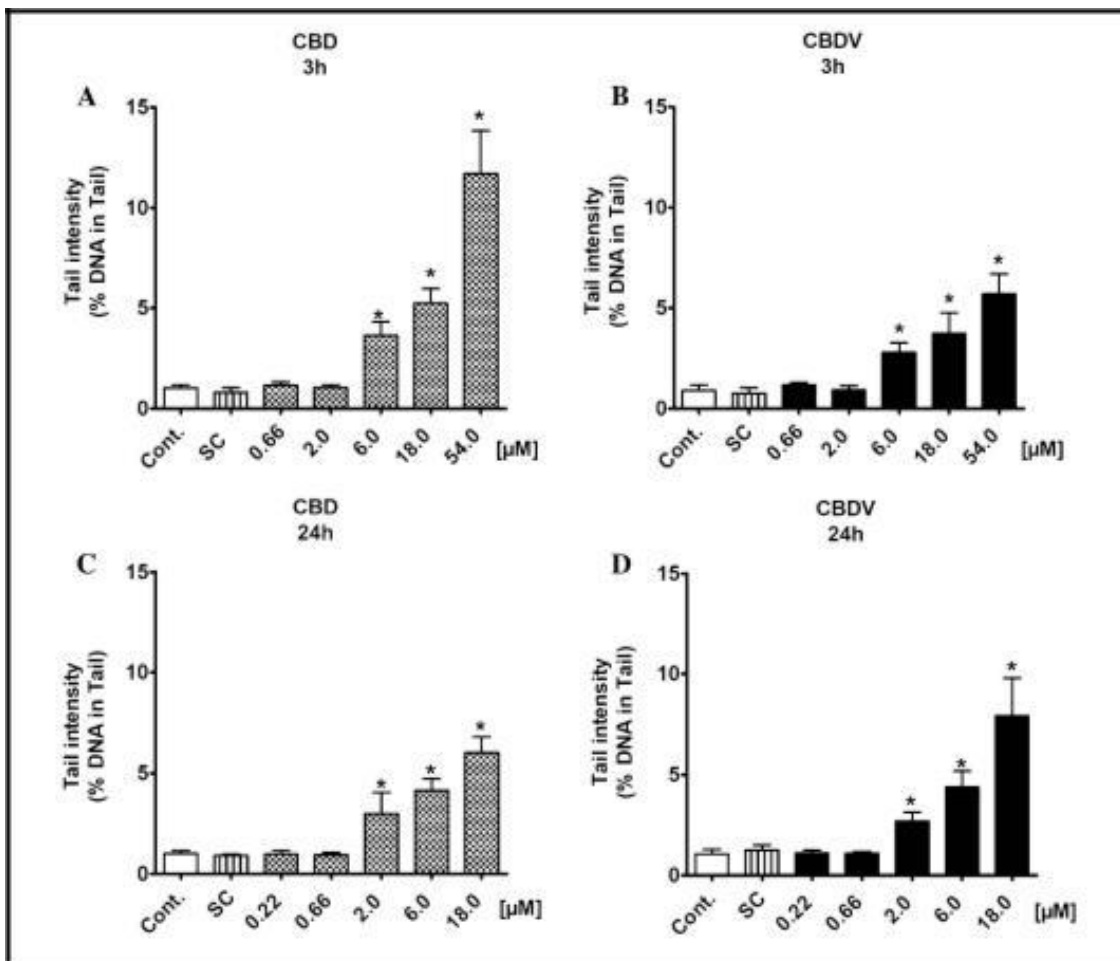


Figura 3: Danno genotossico ottenuto trattando le HepG2 con cannabinoidi per 3 e 24 h. Il metanolo è stato usato come controllo solvente. Le Barre indicano i valori medi \pm SD ottenuti in tre esperimenti

indipendenti. La significativa differenza rispetto al controllo negativo è riportata per $p \leq 0.05$, ANOVA. Russo et al., 2018.

Figura 4: Formazione di purine ossidate in HepG2 esposte ai cannabinoidi per 3 h. Il metanolo è stato usato come controllo solvente. Le Barre indicano i valori medi \pm SD ottenuti in tre esperimenti indipendenti. La significativa differenza rispetto al controllo negativo è riportata per $p \leq 0.05$, ANOVA. Russo et al., 2018.

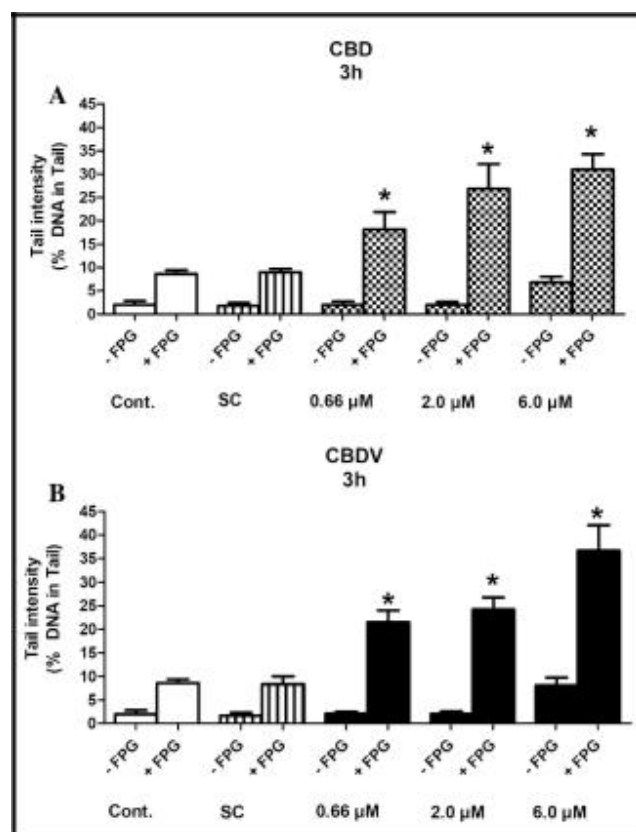


Figura 5: Formazione di pirimidine ossidate in HepG2 esposte ai cannabinoidi per 3 h. Il metanolo è stato usato come controllo solvente. Le Barre indicano i valori medi \pm SD ottenuti in tre esperimenti indipendenti. La significativa differenza rispetto al controllo negativo è riportata per $p \leq 0.05$, ANOVA. Russo et al., 2018.

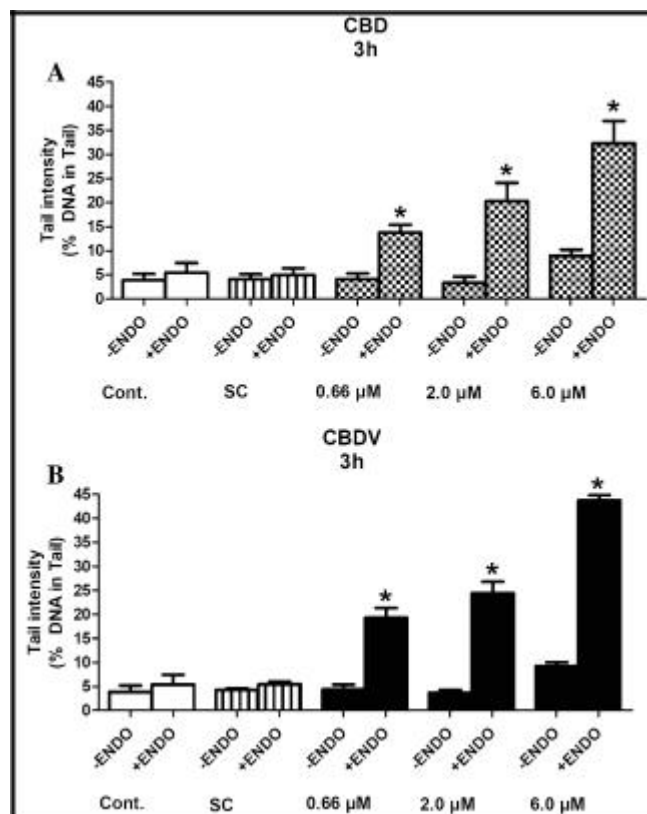


Tabella 2. Impatto dei fitocannabinoidi (μM) sulla formazione di MN e di diverse aberrazioni cromosomiche dopo 3 h di esposizione: cellule binucleate con micronuclei (BN-MNi), numero totale di micronuclei (MNi), germogli nucleari (Nbuds), ponti nucleoplasmatici (NPB) e cellule necrotiche e apoptotiche. La significativa differenza rispetto al controllo negativo è riportata per $p \leq 0.05$, ANOVA. Russo et al., 2018.

Compounds	Concentrations (μM)	CPBI	CT	BN-MN ^a	MNi ^b	Nbuds	NPBs	Necrosis	Apoptosis
		Mean \pm SD	%	Mean (%) \pm SD	Mean (%) \pm SD	Mean (%) \pm SD	Mean (%) \pm SD	Mean (%) \pm SD	Mean (%) \pm SD
Neg. Ctrl	0	2.04 \pm 0.03	–	5.25 \pm 0.35	5.75 \pm 0.35	4.75 \pm 0.35	3.50 \pm 0.71	6.25 \pm 0.35	3.00 \pm 0.71
CBD	0.07	2.00 \pm 0.08	3.92	6.50 \pm 1.41	6.50 \pm 1.41	16.00 \pm 2.12*	5.25 \pm 0.35	16.25 \pm 1.77*	13.50 \pm 0.71*
	0.22	1.93 \pm 0.04	10.60	21.00 \pm 1.41*	31.00 \pm 2.12*	25.50 \pm 2.83*	8.50 \pm 1.41*	21.00 \pm 0.70*	25.25 \pm 3.18*
	0.66	1.83 \pm 0.04	20.22	31.25 \pm 2.47*	46.25 \pm 3.89*	37.25 \pm 1.06*	10.00 \pm 1.41*	30.75 \pm 1.77*	29.00 \pm 1.41*
	2.00	1.72 \pm 0.01	30.76	39.25 \pm 3.89*	53.25 \pm 2.47*	43.00 \pm 2.83*	14.00 \pm 0.71*	33.50 \pm 2.12*	37.25 \pm 1.77*
SC ^c		1.80 \pm 0.00	23.05	5.00 \pm 1.41	6.25 \pm 0.35	5.50 \pm 1.41	3.25 \pm 1.06	6.75 \pm 1.06	3.00 \pm 0.71
CBDV	0.07	1.95 \pm 0.05	9.17	6.00 \pm 0.71	6.00 \pm 0.71	15.25 \pm 1.77*	6.00 \pm 2.12	15.25 \pm 2.47*	13.75 \pm 1.77*
	0.22	1.93 \pm 0.04	10.60	26.00 \pm 2.83*	29.75 \pm 1.77*	36.25 \pm 3.18*	10.00 \pm 0.71*	18.50 \pm 1.41*	21.75 \pm 1.06*
	0.66	1.79 \pm 0.01	24.03	32.00 \pm 0.71*	45.50 \pm 1.41*	40.00 \pm 2.12*	13.25 \pm 1.77*	24.5 \pm 1.41*	28.75 \pm 3.89*
	2.00	1.77 \pm 0.03	25.97	41.25 \pm 2.47*	51.25 \pm 3.89*	45.75 \pm 2.47*	16.00 \pm 2.12*	34.75 \pm 2.47*	30.00 \pm 2.83*
SC ^c		1.81 \pm 0.02	22.54	5.00 \pm 0.00	5.75 \pm 0.35	5.00 \pm 0.71	3.25 \pm 0.35	6.25 \pm 1.06	3.00 \pm 0.71
Pos. Ctrl	500 $\mu\text{g}/\text{mL}$	1.80 \pm 0.01	23.54	42.25 \pm 5.30*	56.75 \pm 1.06*	35.50 \pm 1.41*	11.75 \pm 1.06*	16.25 \pm 1.77*	9.25 \pm 3.18

Inoltre, la lunghezza telomerica delle cellule trattate con i fitocannabinoidi, è stata studiata mediante qPCR. Dunque, il DNA è stato isolato secondo il metodo Quick C-Circle Preparation (QCP). La concentrazione di DNA è stata valutata allo spettrofotometro NanoDrop ND-1000 e quindi il DNA è stato quantificato mediante iQuant Range dsDNA Quantification Kit (Genecopoeia, Rockville, MD, USA). La reazione a catena della polimerasi multiplex (MMqPCR) è stata ottenuta mediante l'utilizzo della sonda fluorescente SYBR. Le sequenze telomeriche utilizzate come primer sono state quelle riportate in O' Callaghan et al. (2008): (5'-CGG TTT GTT TGG GTT TGG GTT TGG GTT TGG GTT TGG GTT-3'), (5'-GGC TTG CCT TAC CCT TAC CCT TAC CCT TAC CCT TAC CCT-3'). Il software BioRad CFX Manager 3.2 è stato utilizzato per registrare i dati grezzi Cycle Thresholds (Ct). Il numero di nanogrammi di DNA è stato calcolato utilizzando curve standard su ciascuna piastra per i test T (segnali Telomerici nei campioni di DNA) e S (nei segnali del gene a copia singola). Nessuna significativa differenza nella lunghezza telomerica è stata osservata trattando le HepG2 con cannabinoidi per 24h fino alla concentrazione di 18 μM .

Concludendo, è dunque possibile affermare che gli effetti indotti dal trattamento con i cannabinoidi su linee cellulari sono differenti. In particolare la potenziale attività citotossica e genotossica dei cannabinoidi nei confronti di linee cellulari tumorali risulta confermata. Sebbene ci sia ancora tanto da studiare, è possibile ritenere che questi dati siano un importante contributo nella comprensione dell'attività specifica dei cannabinoidi su alcune cellule cancerose umane, ed in particolare sulle cellule di epatocarcinoma umano. Ciononostante, altri studi sono necessari per dimostrare come queste molecole naturali potrebbero essere usate come approcci complementari alle chemioterapie attualmente utilizzate per diversi tipi di cancro e per studiare i meccanismi molecolari alla base dell'attività antitumorale.

Bibliografia:

- Dermingan R., Karagoz A., Pekmez M., Önay-Uçar E., Artun T.F., Gürer Ç., Mat A. (2015). *In vitro* Anticancer activity and cytotoxicity of Some *Papaver* Alkaloids on cancer and normal cell lines. *Mitteilungen Klosterneuburg*, 13(3): 22-26.
- Fernandez-Ruiz J., Berrendero F., Hernandez M.L., Ramos J.A. (2000). The endogenous cannabinoid system and brain development. *Trends Neurosci*, 23: 14-20.
- Haney M., Malcolm R.J., Babalonis S., et al. (2016). Oral Cannabidiol does not Alter the Subjective, Reinforcing or Cardiovascular Effects of Smoked Cannabis. *Neuropsychopharmacology*, 41(8):1974-82.
- Hill A.J., Mercier M.S., Hill T.D.M., Glyn S.E., Jones N.A., Yamasaki Y., Futamura T., Duncan M., Stott C.G., Stephens G.J., Williams C.M., Whalley B.J. (2012). Cannabidiol is anticonvulsant in mouse and rat. *British Journal of Pharmacology*, 167: 1629–1642.
- Howlett A.C., Barth F., Bonner T.I., Cabral G., Casellas P., Devane W.A., Felder C.C., Herkenham M., Mackie K., Martin B.R., Mechoulam R., Pertwee R.G. (2002). International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacological Reviews*, 54(2): 161-202.
- Massi P., Solinas M., Cinquina V., Parolaro D. (2013). Cannabidiol as potential anticancer drug. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 75(2): 303–312.
- O'Callaghan N. J., Dhillon V. S., Thomas P., Fenech M. (2008). A quantitative real-time PCR method for absolute telomere length. *Biotechniques*, 44(6): 807-809.
- Ohlsson A., Lindgren J.E., Andersson S., Agurell S., Gillespie H., Hollister L.E. (1986). Single-dose kinetics of deuterium-labelled cannabidiol in man after smoking and intravenous administration. *Biomedical and Environmental Mass Spectrometry* 13(2):77–83.
- Russo C., Ferk F., Mišić M., Ropek N., Nersesyan A., Mejri D., Holzmann K., Lavorgna M., Isidori M., Knasmüller S. (2018). Low doses of widely consumed cannabinoids (cannabidiol and cannabidiol) cause DNA damage and chromosomal aberrations in human-derived cells. *Archives of Toxicology*, in press.

Caserta, 4/12/18

Assegnista: Dott. ssa Russo Chiara

Tutor: Dott. ssa Lavorgna Margherita

ACADEMIC RESUME

CHIARA RUSSO

Personal Profile

Full Name	Chiara Russo
Address	Via Principi Normanni, 24. 81043, Capua (CE)
Mobile	(+39) 3247782500
E-mail	chiara.russo@unicampania.it ; chiara.russo2@biologo.onb.it
Nationality	Italian
Date of birth	26/02/1986
ORCID	0000-0001-6026-1059
National Order of Biologist	Registered in the National Council of Biologists, Section A [National (ITALIAN) Order of Biologists], AA_077652
Master of Science	Biology

Occupational field and Research interests

PhD in Molecular and Cellular Biology

Involved in the study of:

- the role of cannabinoids in the prevention and reduction of cancer and aging
- the effects of persistent xenobiotics and their binary mixtures on the environment and human health (ecotoxicity, cytotoxicity, genotoxicity, mutagenicity, estrogen-like activity);
- epidemiological studies for the evaluation of genotoxic effects in children and adults after exposure to environmental pollutants;
- cyclodextrin inclusion complexes with pharmaceuticals: cytotoxic activity on tumoral cells and antimicrobial activity on different bacterial pathogen strains;
- evaluation of the antioxidant properties, the antigenotoxicity, the antimutagenicity and the cytoprotection exerted by different natural matrices.

Work experience

From 01/12/2017 to 30/11/2018

RESEARCH GRANT

“THE ROLE OF CANNABINOIDS IN THE PREVENTION AND REDUCTION OF CANCER AND AGING”

Tutor: Prof. Margherita Lavorgna

University of Campania "Luigi Vanvitelli", via Vivaldi 43, 81100 Caserta, ITALY

From 07/04/2017 to 31/10/2017

PLS TUTORING CONTRACT

“BASIC SCIENCE LABORATORY”

University of Campania "Luigi Vanvitelli", via Vivaldi 43, 81100 Caserta, ITALY

From 03/2016 to 12/2016

RESEARCH FELLOWSHIP

“EVALUATION OF THE EARLY EFFECTS IN CHILDREN ORAL MUCOSAL CELLS AFTER EXPOSURE TO ENVIRONMENTAL POLLUTANTS”

Second University of Naples, via Vivaldi 43, 81100 Caserta, ITALY

From 09/2015 to 12/2015

TUTORING CONTRACT FOR STUDENTS WITH DISABILITIES

“STRUCTURES AND FUNCTION OF ORGANIC FOOD-RELATED COMPOUNDS”

Second University of Naples, via Vivaldi 43, 81100 Caserta, ITALY

From 02/2015 to 05/2015

RESEARCH FELLOWSHIP - TEMASAV PROJECT

“OMICS ANALYSIS TO DETERMINE THE HEALTH AND ENVIRONMENTAL EFFECTS OF ANTI-CANCER DRUGS”

Department of School for the Environment, University of Massachusetts (UMASS), USA

01/2015

TUTORING CONTRACT FOR STUDENTS WITH

DISABILITIES “FOOD SCIENCE AND HUMAN NUTRITION”

Second University of Naples, via Vivaldi 43, 81100 Caserta, ITALY

From 07/2014 to 10/2014

TUTORING FOR STUDENTS WITH DISABILITIES ATTENDING

“FOOD SCIENCE AND HUMAN NUTRITION” MASTER OF SCIENZE

Second University of Naples, via Vivaldi 43, 81100 Caserta, ITALY

From 03/2012 to 06/2012

RESEARCH COLLABORATION

"ASSESSMENT OF ESTROGEN-LIKE ACTIVITY THROUGH THE DETERMINATION OF pS2 GENE EXPRESSION"

Second University of Naples, via Vivaldi 43, 81100 Caserta, ITALY

From 01/2012 to 04/2012

TEACHING SUPPORT CONTRACT

"DIETETICS LABORATORY"

Second University of Naples, via Vivaldi 43, 81100 Caserta, ITALY

Education

AY. 2016/2017

Advanced course in “THE R PLATFORM FOR STATISTICAL ANALYSIS OF BIOMEDICAL DATA”

Dipartimento di Sanità Pubblica della Scuola di Medicina e Chirurgia dell'Università degli Studi di Napoli “Federico II”, Via S.Pansini 5; Napoli (NA), ITALY

18/12/2014

PhD in "MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY", SSD: *Hygiene 6/M1 (MED/42)*

Second University of Naples, via Vivaldi 43, 81100 Caserta, ITALY

From 2011

Teaching Assistant in GENERAL AND APPLIED HYGIENE

Second University of Naples, via Vivaldi 43, 81100 Caserta, ITALY

07/2011

Qualification to THE PROFESSION OF BIOLOGIST

Second University of Naples, via Vivaldi 43, 81100 Caserta, ITALY

24/03/2011

Master of Science degree in BIOLOGY

110/110 with honors

Second University of Naples, via Vivaldi 43, 81100 Caserta, ITALY

29/10/2008

Master's degree in BIOTECHNOLOGY APPLIED TO ASSISTED REPRODUCTION 110/110 with honors

Second University of Naples, via Vivaldi 43, 81100 Caserta, ITALY

28/05/2008

Bachelor's degree in BIOLOGICAL SCIENCES 110/110

Second University of Naples, via Vivaldi 43, 81100 Caserta, ITALY

Training/ internships

From 9/2017 to 12/2017

RESEARCH ON GENOTOXICITY AND CYTOTOXICITY OF CANNABINOIDS IN HUMAN LIVER CELLS

Acquired skills: qPCR, telomere length assessments, Comet assay with and without FPG and ENDOIII, Micronucleus assay, MTT ASSAY, LDH ASSAY, BrdU Cell Proliferation ELISA

Institute of Cancer Research, Medical University of Vienna, Vienna, AUSTRIA
Research Supervisor: Prof. Siegfried Knasmüller

26-27/11/2015

COURSE IN RAPID SCREENING OF AQUATIC ORGANIC POLLUTION AND TOXICITY USING BIOSAYS AND BIOSENSORS

Department of Environmental Chemistry (IDAEA-CSIC); GLOBAQUA, Barcelona, SPAIN

From 2/2015 to 4/2015

RESEARCH ON 'OMICS ANALYSIS (cDNA LIBRARIES) AND MICROARRAY IN DAPHNIDS

Department of School for the Environment, University of Massachusetts (UMASS) in Boston, USA

Research Supervisor: Prof. Helen Poynton

06/2013

COURSE IN MICRONUCLEUS ASSAY

National Institute of Biology (NIB); Department of Genetic Toxicology and Cancer Biology, Ljubljana, SLOVENIA

Supervisor: Prof. Metka Filipič

From 4/2011

ACUTE/CHRONIC TOXICITY AND GENOTOXICITY (COMET ASSAY) ON *D. magna* and *C. dubia* CRUSTACEANS.

TOXICITY TESTS ON the crustacean *T. platyurus*, the rotifer *B. calyciflorus* and the alga *P. subcapitata*.

MICROBIAL SUSCEPTIBILITY TEST AND MIC ON *P. aeruginosa*, *E. coli* and *S. aureus*;

MTT ASSAY, LDH ASSAY, BrdU Cell Proliferation ELISA ON: MCF-7, MDA-MB 231, HEPG2, A549, CACO-2 TUMORAL CELLS, ON LYMPHOCYTES, and ON FIBROBLASTS.

ENDOCRINE-DISRUPTING TESTS ON MCF-7 CELLS AND ON *S. cerevisiae* YEAST.

COMET ASSAY and MICRONUCLEUS ASSAY ON LYMPHOCYTES AND TUMORAL CELLS.

EVALUATION OF GENOTOXICITY USING SOS CHROMOTEST AND UMU TEST.

MUTAGENICITY EVALUATION USING *S. tiphimurium* TA98, TA100, TA1535 STRAINS.

EVALUATION OF **THE ANTIOXIDANT ACTIVITY** BY ORAC ASSAY, ABTS ASSAY, DPPH ASSAY, DETERMINATION OF POLYPHENOLS,

REDUCING POWER, CHELATION OF IRON IONS, INHIBITION OF SELF-OXIDATION OF VITAMIN C.

Second University of Naples, via Vivaldi 43, 81100 Caserta,

ITALY Supervisor: Prof. Marina Isidori

From 7/2008 to 9/2008

ANALYSIS OF SEMINAL FLUID, SEMEN ANALYSIS, MAINTENANCE OF OOCYTES AND SPERM IN CULTURE, IVF, ICSI

Center for Reproductive Medicine and Biology "Caran Srl", Caserta, ITALY

From 6/2007 to 10/2007

CLINICAL BIOCHEMICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL TESTS

Medical Diagnostic Center (CDM) -Laboratory clinical analysis - A.Borrelli & C., Capua (CE), ITALY

Scientific publications in peer-reviewed journals

1. **Russo C.**, Lavorgna M., Česen M., Kosjek T., Heath E., Isidori, M. 2018. Evaluation of acute and chronic ecotoxicity of cyclophosphamide, ifosfamide, their metabolites/transformation products and UV treated samples. *Environmental Pollution*, 233: 356-363
2. **Russo C.**, Ferk F., Mišik M., Ropek N., **Nersesyan A.**, **Mejri D.**, **Holzmann K.**, **Lavorgna M.**, Isidori M., Knasmüller S. 2018. Low doses of widely consumed cannabinoids (cannabidiol and cannabidiol) cause DNA damage and chromosomal aberrations in human-derived cells. *Archives of Toxicology*, DOI: <https://doi.org/10.1007/s00204-018-2322-9>
3. **Russo C.**, **Isidori M.**, **Deaver J.A.**, **Poynton H.C.** 2018. Toxicogenomic responses of low level anticancer drug exposures in *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, 203: 40-50.
4. **Russo C.**, **Kundi M.**, **Lavorgna M.**, **Parrella A.**, **Isidori M.** 2018. Benzalkonium Chloride and Anticancer Drugs in Binary Mixtures: Reproductive Toxicity and Genotoxicity in the Freshwater Crustacean *Ceriodaphnia dubia*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 74(4): 546-556
5. Piscitelli C., Lavorgna M., Isidori M., **Russo C.**, De Prisco R., Abbamondi G. R., Iodice C., Tommonaro G. 2017. Antioxidant and antiproliferative activities of different cultivars of tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) on tumoral cell lines. *Journal of Advances in Biology*, 10(2): 2061-2072 (NOT IN SCOPUS)
6. D'Abrosca B., Lavorgna M., Scognamiglio M., **Russo C.**, Graziani V., Piscitelli C., Fiorentino A., Isidori M. 2017. 2D-NMR investigation and in vitro evaluation of antioxidant, antigenotoxic and estrogenic/antiestrogenic activities of strawberry grape. *Food and Chemical Toxicology*, 105: 52-60
7. Di Donato C., Lavorgna M., Fattorusso R., Isernia C., Isidori M., Malgieri G., Piscitelli C., **Russo C.**, Russo L., Iacovino R., 2016. Alpha- and beta-cyclodextrin inclusion complexes with 5-fluorouracil: Characterization and cytotoxic activity evaluation. *Molecules*, 21(12). DOI:10.3390/molecules21121644
8. Isidori M., Lavorgna M., **Russo C.**, Kundi M., Žegura B., Novak M., Filipič M., Mišik M., Knasmueller S., de Alda M.L., Barceló D., Žonja B., Česen M., Ščančar J., Kosjek T., Heath E., 2016. Chemical and toxicological characterisation of anticancer drugs in hospital and municipal wastewaters from Slovenia and Spain. *Environmental Pollution*, 219: 275-287
9. Isidori M., Piscitelli C., **Russo C.**, Smutná M., Bláha L., 2016. Teratogenic effects of five anticancer drugs on *Xenopus laevis* embryos. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 133: 90-96

10. Kundi M., Parrella A., Lavorgna M., Criscuolo E., **Russo C.**, Isidori M., 2016. Prediction and assessment of ecogenotoxicity of antineoplastic drugs in binary mixtures. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(15): 14771-14779
11. Lavorgna M., **Russo C.**, D'Abrosca B., Parrella A., Isidori M., 2015. Toxicity and genotoxicity of the quaternary ammonium compound benzalkonium chloride (BAC) using *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia dubia* as model systems. *Environmental pollution*, 210: 34-39
12. Parrella A., Lavorgna M., Criscuolo E., **Russo C.**, Isidori M., 2014. Eco-Genotoxicity of six anticancer drugs using comet assay in daphnids. *Journal of Hazardous Materials*, 286: 573–580
13. Parrella A., Kundi M., Lavorgna M., Criscuolo E., **Russo C.**, Isidori M., 2014. Toxicity of exposure to binary mixtures of four anti-neoplastic drugs in *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia dubia*. *Aquatic Toxicology*, 157: 41–46
14. Parrella A., Lavorgna M., Criscuolo E., **Russo C.**, Isidori M., 2014. Estrogenic activity and cytotoxicity of six anticancer drugs detected in water systems. *Science of the Total Environment*, 485-486(1): 216-222
15. Parrella A., Lavorgna M., Criscuolo E., **Russo C.**, Fiumano V., Isidori M., 2014. Acute and chronic toxicity of six anticancer drugs on rotifers and crustaceans. *Chemosphere*, 115:59-66
16. Temussi F., DellaGreca M., Pistillo P., Previtiera L., Zarrelli A., Criscuolo E., Lavorgna M., **Russo C.**, Isidori M., 2013. Sildenafil and tadalafil in simulated chlorination conditions: Ecotoxicity of drugs and their derivatives. *Science of the Total Environment*, 463-464: 366-373
17. Iacovino R., Rapuano F., Caso J.V., Russo A., Lavorgna M., **Russo C.**, Isidori M., Russo L., Malgieri G., Isernia C., 2013. β -cyclodextrin inclusion complex to improve physicochemical properties of pipemidic acid: Characterization and bioactivity evaluation. *International Journal of Food Science and Technology*, 14(7): 13022-13041
18. Parrella A., Caterino E., Cangiano M., Criscuolo E., **Russo C.**, Lavorgna M., Isidori M. 2012. Antioxidant properties of different milk fermented with lactic acid bacteria and yeast. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(12): 2493-2502

National and International meetings

12/2014

Fourth Annual Meeting Cytothreat “Fate and effects of cytostatic pharmaceuticals in the environment and the identification of biomarkers for and improved risk assessment on environmental exposure” Seventh Framework Programme, Theme [ENV.2010.1.2.2-2] Cytothreat, Barcelona, Spain

10/2013

Third Annual Meeting Cytothreat “Fate and effects of cytostatic pharmaceuticals in the environment and the identification of biomarkers for and improved risk assessment on environmental exposure” Seventh Framework Programme, Theme [ENV.2010.1.2.2-2] Cytothreat, Barcelona, Spain

06/2013

Cytothreat Briefing on Statistical Approach for mixture analysis of cytostatics, coordinated by Prof. Kundi, Ljubljana, Slovenia

10/2012

Second Annual Meeting Cytothreat “Fate and effects of cytostatic pharmaceuticals in the environment and the identification of biomarkers for and improved risk assessment on environmental exposure” Seventh Framework Programme, Theme [ENV.2010.1.2.2-2] Cytothreat, Napoli, Italy

National and International congresses

11/2017

12th International Conference and 5th Asian Congress on Environmental Mutagens with the 33rd Annual Meeting of KSOT/KEMS. ICEM-ACEM 2017. Seoul, Korea

- Isidori M., **Russo C.**, Piscitelli C., Aramo C., Lavorgna M.

“Sarno river basin area (Southern Italy): early genomic instability events assessed by Micronucleus analysis and Single-Cell gel Electrophoresis in children exposed to environmental pollutants”;

- Lavorgna M., Piscitelli C., **Russo C.**, Isidori M.

“Antigenotoxic and antiproliferative properties of lipophilic extracts of four tomato cultivars”

9/2017

10th Micropol & Ecohazard Conference-YWP Day 2017. IWA-YWP Workshop. Boku Wien, Austria

- **Russo C.** oral presentation

“Comet Assay on the freshwater crustacean *Daphnia magna* Straus: a sensitive tool for genotoxicity assessment in the Biomonitoring of Aquatic Ecosystems”

12/2014

Pharmaceuticals in wastewaters and surfate waters under multistressors situation: fate, adverse effects, risks and removal technologies, Barcelona, Spain: ISBN 978-84-937882-9-2

- **Russo C.** oral presentation:
“Exposure to binary mixtures on four anticancer drugs in crustaceans: chronic and genotoxic effects”;
- Parrella A., Kundi M., Lavorgna M., Criscuolo E., **Russo C.**, Isidori M
poster presentation
“Toxic and genotoxic effects of BAC and its binary mixtures with four cytostatics in the crustacean *Ceriodaphnia dubia*”

10/2014

3rd International Summit on Toxicology & Applied Pharmacology Chicago, USA; Journal of Clinical Toxicology, Volume 4, Issue 4, ISSN: 2161-0495

- ¾ Lavorgna M., Isidori M., Criscuolo E., **Russo C.**, Parrella A.
“Agonist/antagonist activity of three pesticides on the estrogen receptor alpha in a recombinant yeast assay”

4/2013

7th Conference on Experimental and Translational Oncology (CETO 2013), Portoroz, Slovenia: ISBN 978-961-91302-4-7

- ¾ Criscuolo E., Lavorgna M., **Russo C.**
“Ecotoxicological antimetabolites effects: 5-Fluorouracil vs Capecitabine”

10/2012

1st Cytothreat workshop “The effects of residues of cytostatics and other pharmaceuticals on non-target organisms” with scientific works:

- **Russo C.**, oral presentation:
- “Biological effects of Capecitabine on experimental models”
- Criscuolo E., Cangiano M., Russo A.R., **Russo C.**, Schiavone L., Isidori M. “Environmental Effects of Doxorubicin”
- Cangiano M., Criscuolo E., Russo A.R., **Russo C.**, Schiavone L., Isidori M. “Estrogenic activity and cytotoxicity of some cytostatic drugs”

10/2010

Acts of the 45th National Congress of the Italian Society of Hygiene "The Prevention and Public Health at the service of the country: the hygienist to the new demands of health" (Cagliari) with scientific contributions from the titles:

- Lavorgna M., Cangiano M., Criscuolo E., Fatigati V., Isidori M., Papa G., **Russo C.**, Schiavone L., Parrella A. “Antioxidant activity, Mutagenic / genotoxic and antimutagenic / antigenotoxic Extracts Methanol from plants of the Mediterranean area”

- Parrella A, Cangiano M., Criscuolo E., Fatigati V., Lavorgna M., Papa G., **Russo C.**, Schiavone L., Isidori M. “Evaluation Of The Effects Of Estrogen-like: Packaging Contaminants”
- Isidori M., Cangiano M., Criscuolo E., Fatigati V., Lavorgna M., Papa G., **Russo C.**, Schiavone L., Temussi F., Parrella A. “Environmental Effects And Risk From Exposure To Drugs And Their Derivatives In Aquatic Environment”

Reviewer Activity for the following journals

Advances in Biology, Chemosphere, Hindawi, Science of the total environment

Participation in Seminars/Training courses

11/2012

Presentation of scientific results

Second University of Naples, via Vivaldi 43, 81100 Caserta, ITALY

05/2011

Stem cell research and clinical applications

Second University of Naples, via Vivaldi 43, 81100 Caserta, ITALY

04/2009

The analysis of the seminal fluid: basic tests and recent applications

Second University of Naples, via Vivaldi 43, 81100 Caserta, ITALY

05/2006

The meaning of life between science and ethics

Second University of Naples, via Vivaldi 43, 81100 Caserta, ITALY

Language competences

English

2018

ENGLISH LANGUAGE CERTIFICATE C2

OVERALL GRADE: MERIT

LEARNING RESOURCE NETWORK

2016

ENGLISH LANGUAGE CERTIFICATE B2

READING: INDIPENDENT USER

USE OF ENGLISH: PROFICIENT USER

WRITING: INDIPENDENT USER

LISTENING: INDIPENDENT USER

SPEAKING: PROFICIENT USER

CAMBRIDGE ENGLISH LANGUAGE ASSESSMENT

2000

ENGLISH LANGUAGE CERTIFICATE
ARDMORE LANGUAGE SCHOOLS, UK

Computer skills

7/2017

Certificate in: “The R platform for statistical analysis of biomedical data”

Advanced course

Dipartimento di Sanità Pubblica della Scuola di Medicina e Chirurgia dell’Università degli Studi di

Napoli “Federico II”, Via S.Pansini 5; Napoli (NA), ITALY

From 2015

MeV v4.8.1,

11/2014

European Informatics Passport (Eipass)

Centro Polifunzionale “IL FARO”, Via Nazionale delle Puglie 7, Casalnuovo di Napoli (NA) , ITALY

From 2011

Statistical analysis of data using Prism, Calc, Logit, Rat. Graphic representation of data using Origin, GraphPad

02/2004

European Computer Driving License (ECDL)

High School Science, Via Napoli 1, Capua (CE), ITALY

Social skills and competences

2016-now

Participation to Theatre Academy

School of Theatre: “Il Pendolo”, Via seminario, Capua, ITALY

4/2017

BLS for Healthcare Providers Course

American Heart Association, ECM2 srl, Formello, Rome, ITALY

1/2015

Diploma in Naturopathy

Italian Association of Wellness Operators (AIOB), Giugliano, ITALY

01/2010

Certificate of Competence in Criminology / Graphology - Training course in criminology POLIBIO: Centre for Legal Studies– PSICOGIURIDICO, ITALY

04/2007

Certificate of Participation: course of Volunteers to make smile clown therapy in hospital wards of pediatrics and geriatrics, course of child psychology and psychology of development

Institute for research, documentation and training "HOMO RIDENS", ITALY

Open access con risorse VALERE-2017

TABELLA	
N° ED ELENCO DEI PRODOTTI OPEN ACCESS CON RISORSE VALERE 2017	
1.	Luciano Pirone, Joshua Edison Pitzer, Gianluca D'Abrosca, Roberto Fattorusso, Gaetano Malgieri, Emilia Maria Pedone, Paolo Vincenzo Pedone, Roy Martin Roop, Ilaria Baglivo. Identifying the region responsible for brucella abortus MucR higher order oligomer formation and examining its rol regulation. Sci Rep. 2018; 8: 17238. doi: 10.1038/s41598-018-35432-1.
2.	Huvec tube-formation assay to evaluate the impact of natural products on angiogenesis. Maria Teresa Gentile – Luca Colucci D'Amato. JOVE in press
3.	Unveiling the enigmatic structure of TdCMO transcripts in durum wheat. Loredana Ciarmiello, Antimo Di Maro, Pasqualina Woodrow, Maria Grazia Annunziat Ioanniskafantaris, Antonio Mirto, Federica Iannuzzi, Amodio Fuggi, Petronia Carill Agronomy, 2018, 8(11), 270; https://doi.org/10.3390/agronomy8110270 MDPI.

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

Identifying the region responsible for *Brucella abortus* MucR higher-order oligomer formation and examining its role in gene regulation

Luciano Pirone², Joshua Edison Pitzer³, Gianluca D'Abrosca¹, Roberto Fattorusso¹, Gaetano Malgieri¹, Emilia Maria Pedone², Paolo Vincenzo Pedone¹, Roy Martin Roop II³ & Ilaria Baglivo¹

MucR is a member of the Ros/MucR family of prokaryotic zinc-finger proteins found in the α -proteobacteria which regulate the expression of genes required for the successful pathogenic and symbiotic interactions of these bacteria with the eukaryotic hosts. The structure and function of their distinctive zinc-finger domain has been well-studied, but only recently the quaternary structure of the full length proteins was investigated demonstrating their ability to form higher-order oligomers. The aim of this study was to identify the region of MucR involved in higher-order oligomer formation by analysing deletion and point mutants of this protein by Light Scattering, and to determine the role that MucR oligomerization plays in the regulatory function of this protein. Here we demonstrate that a conserved hydrophobic region at the N-terminus of MucR is responsible for higher-order oligomer formation and that MucR oligomerization is essential for its regulatory function in *Brucella*. All these features of MucR are shared by the histone-like nucleoid structuring protein, (H-NS), leading us to propose that the prokaryotic zinc-finger proteins in the MucR/Ros family control gene expression employing a mechanism similar to that used by the H-NS proteins, rather than working as classical transcriptional regulators.

The Ros/MucR protein family^{1,2} includes prokaryotic zinc-finger proteins such as Ros from *Agrobacterium tumefaciens*³ and MucR from *Brucella* spp.^{4–6}, both of which regulate genes required for the virulence of these strains in their respective plant and animal hosts^{2,5–7}. Also included in this family are MucR from *Sinorhizobium meliloti*^{7,8}, and from *Sinorhizobium fredii*⁹; RosR from *Rhizobium etli*¹⁰ and from *Rhizobium leguminosarum*¹¹ which regulate genes required for the successful symbiosis of these bacteria with plants. Additionally, the structural homologs MucR1 and MucR2 play important roles in coordinating the orderly expression of the cell cycle genes in *Caulobacter crescentus*¹². Many structural features related to the DNA-binding domains of Ros from *Agrobacterium tumefaciens* and Mls from *Mesorhizobium loti* have been described^{13–21}. One of the interesting features of these and other Ros/MucR homologs is that direct binding studies suggest that these proteins recognize A-T rich regions in and around bacterial promoters that have little sequence consensus^{12,22–25}. Recently, we demonstrated that the AT-rich DNA targets sites for the *Mesorhizobium* Mls and *Brucella* MucR contain T-A steps, and that these proteins contact DNA mostly in the minor groove and are able to form higher-order oligomers²⁶. Furthermore, we have shown that MucR from *Brucella abortus* is able to recognize multiple AT-rich sites in the promoter of its own gene and that it is a heat-stable protein with a T_m of 63 °C²⁷. The ability to bind

¹Department of Environmental, Biological and Pharmaceutical Sciences and Technologies, University of Campania "Luigi Vanvitelli", Caserta, 81100, Italy. ²Institute of Biostructures and Bioimaging, C.N.R, Naples, 80134, Italy. ³Department of Microbiology and Immunology, Brody School of Medicine, East Carolina University, Greenville, NC, USA. Luciano Pirone and Joshua Edison Pitzer contributed equally. Correspondence and requests for materials should be addressed to P.V.P. (email: paolov.pedone@unicampania.it) or R.M.R. (email: ROOPR@ecu.edu) or I.B. (email: ilaria.baglivo@unicampania.it)

Protein	Theoretical molecular weight monomer	Experimental Molecular weight by Static LS	ExMw/ThMw
MucR	16024 Da	167000 (± 1 , 0%) Da	10.40
MucR ₃₃₋₁₄₂	12559 Da	132600 (± 2 , 0%)	10.50
MucR ₄₅₋₁₄₂	11330 Da	11510 (± 0 , 6%)	1.01
MucR ₅₇₋₁₄₂	9905 Da	10740 (± 3 %)	1.08
MucR _{33-142 mut}	12334 Da	12690 (± 0 , 7%)	1.02

Table 1. Light Scattering (LS) analysis of the MucR deletion mutants. The theoretical molecular weight of the monomer calculated by ProtParam tool (<http://web.expasy.org/protparam/>) is reported in the second column; the results by LS in the third column; the ratio between the experimental weights found and the monomer weights are reported in the fourth column.

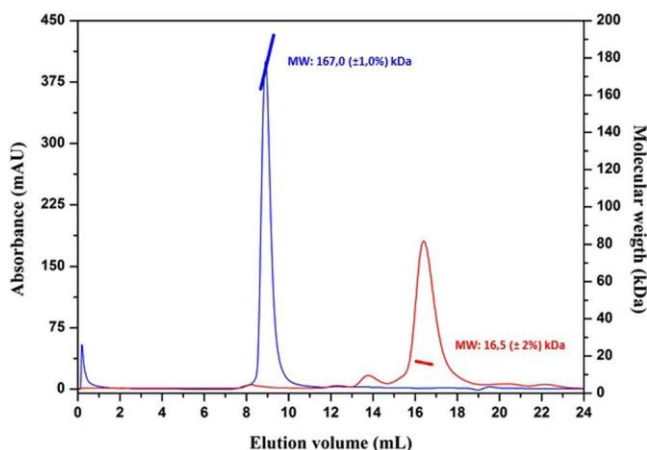


Figure 2. Gel-filtration light-scattering analysis of MucR (blue) and MucR^{L36L39I40A} (red). The solid lines represent the signals of the eluted proteins at 280 nm. The molecular weight of each peak calculated by LS of MucR (reported in blue) and MucR^{L36L39I40A} (reported in red) is also reported.

(Table 1). The results obtained under the conditions tested show that the deletion mutant MucR₃₃₋₁₄₂ is still able to form higher-order oligomers showing a decameric state, whereas the deletion mutant MucR₄₅₋₁₄₂ turns out to be in a monomeric state. The same result was obtained with the deletion mutant MucR₅₇₋₁₄₂ (Table 1) lacking the N-terminal region and comprising only the region corresponding to the Ros DNA-binding domain whose structure was solved by NMR¹⁵. These results identify the region spanning from the alanine in position 33 to that in position 44 as responsible for oligomerization. This amino acid sequence contains two leucines in position 36 and 39, and an isoleucine in position 40 that constitute a hydrophobic region highly conserved in MucR homologs (Suppl. Fig. 1). We thus designed a mutant version of MucR₃₃₋₁₄₂, named MucR_{33-142mut}, in which these three conserved amino acids were mutated into alanines. Analysed by LS, MucR_{33-142mut} turned out to be a monomer under the conditions tested, indicating that the conserved residues leucine 36, leucine 39 and isoleucine 40 are involved in higher-order oligomer formation (Table 1). To investigate the role of this highly conserved hydrophobic region in the full-length MucR, we expressed and purified the MucR^{L36L39I40A} mutant, a version of MucR in which the leucines 36 and 39, and the isoleucine 40 are mutated into alanines. Performing LS analysis, we found that MucR^{L36L39I40A} turns out to be a monomer losing its quaternary decameric structure (Fig. 2) indicating that the here identified highly conserved hydrophobic region in the second putative α -helix at the N-terminus of MucR is responsible for higher-order oligomer formation.

NMR analysis of MucR structure and oligomerization. We performed a structural analysis of the studied proteins by means of NMR spectroscopy. The NMR study started with the analysis of the DOSY experiment recorded for the MucR₅₇₋₁₄₂ deletion mutant. This experiment gave a diffusion coefficient (D_t) of $1.22 (\pm 0.12) \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ sec}^{-1}$, which is very similar to the value measured for Ros87, thus confirming the monomeric form of MucR₅₇₋₁₄₂ also at the NMR concentration used⁴³. Figure 3, panel a, reports the ¹H-¹⁵N HSQC spectrum of the same protein. The spectrum is consistent with a well-defined native structure with extensive tertiary interactions. It shows a large number of resonances well dispersed over a chemical shift range of about 3 ppm in the proton dimension and 25 ppm in the ¹⁵N dimension. This feature clearly indicates the presence of β -strands, as this kind of secondary structure is typically associated with a good dispersion of the NMR signals. The more crowded region in the centre of the spectrum is likely to contain resonances from helical structures which lead to a minor degree of dispersion.

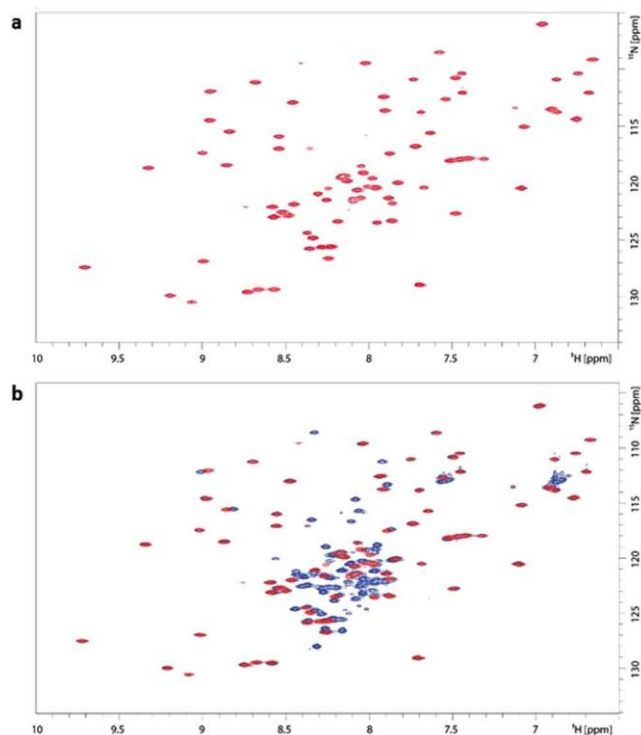


Figure 3. (a) ^1H - ^{15}N HSQC spectrum of MucR₅₇₋₁₄₂ acquired at 600 MHz and at 298 K; (b) superposition of MucR₅₇₋₁₄₂ and MucR^{L36L39I40A} ^1H - ^{15}N HSQC spectra acquired at 600 MHz and at 298 K. The spectrum of MucR₅₇₋₁₄₂ is in red whereas that of MucR^{L36L39I40A} is in blue.

The same spectra were then recorded for the wild-type full-length protein MucR and for the full-length mutant MucR^{L36L39I40A}. Consistent with the data acquired using other techniques, the wild-type full-length protein gave very low quality spectra bearing only a few broad signals suggesting the presence of high-order oligomers. The behaviour of the protein remained the same also when lowering the concentration, indicating a concentration independent tendency of this protein to form oligomers. Quite opposite is the behaviour of MucR^{L36L39I40A}. This triple point mutant gave good quality spectra (Fig. 3b) which are consistent with a well-defined monomeric tertiary structure ($D_t = 1.18 (\pm 0.13) \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ sec}^{-1}$). Figure 3, panel b, reports the superposition of the spectra recorded for the MucR₅₇₋₁₄₂ mutant with those of MucR^{L36L39I40A} and shows how the DNA-binding domain, apart from minor local differences, is essentially contained within the structure of MucR^{L36L39I40A}.

MucR^{L36L39I40A} fails to form the slow mobility protein-DNA complex observed in EMSA of MucR. To investigate the ability of the mutant protein MucR^{L36L39I40A} to bind DNA, we performed electrophoretic mobility shift assays (EMSAs) using one of the MucR DNA-binding site, named Site1, previously identified in the *mucR* gene promoter and located at -174 bp from the ATG start codon²⁷. Comparing the protein/DNA complexes formed by MucR and MucR^{L36L39I40A}, it is evident that the mutant protein is unable to form the slow mobility MucR/DNA complex indicated by the arrow in Fig. 4 and in Suppl. Fig. 2. It is likely that the mutant MucR^{L36L39I40A} cannot form higher-order oligomer bound to DNA, but only the DNA-protein complexes with lower molecular masses which turn to be faster in their electrophoretic mobility. The results observed by EMSAs are in line with NMR data, which show that the DNA-binding domain is not altered by the mutation at the N-terminus of the protein and with those obtained by LS which demonstrates that MucR^{L36L39I40A} is not able to form higher-order oligomers.

The region of MucR responsible for oligomerization is necessary for its wild-type regulatory function in *B. abortus* 2308. The *B. abortus mucR* mutant CC092 displays a delay in its ability to form colonies on agar plates compared to its parent strain *B. abortus* 2308⁴, and rescue of this growth defect by genetic complementation with plasmid-borne copies of mutated *mucR* alleles has proven to be a useful tool for structure/ function analysis of the MucR protein. To investigate whether or not MucR requires the region responsible for oligomerization to rescue the growth defect exhibited by *B. abortus* CC092, we performed a genetic complementation experiment transforming this *mucR* mutant with the plasmids containing the wild-type gene *mucR* (pJep011) and the mutated *mucR*^{L36L39I40A} gene (pJep120). Transcription of the *mucR* wild-type and *mucR*^{L36L39I40A} in the *B. abortus* transformants was verified by q-RT PCR, and colony formation by these strains was monitored during cultivation on Schaedler blood agar supplemented with bovine blood⁴. Unlike the native *mucR* gene, a plasmid-borne copy of the *mucR*^{L36L39I40A} allele did not restore the capacity of the *B. abortus* CC092 *mucR* mutant

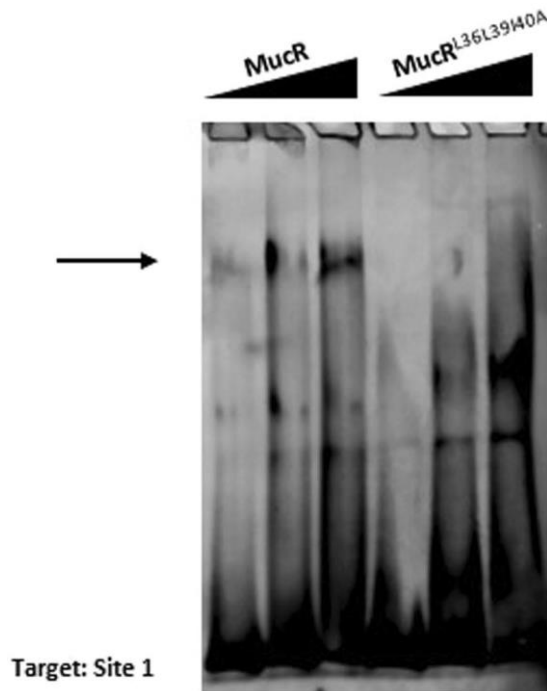


Figure 4. MucR and MucR^{L36L39I40A} binding to Site 1 by EMSA. The increasing amount of the protein used is indicated on the top of the lanes as well as the name of the proteins. The target sequence Site1 was previously identified in the promoter of *mucR* gene at -174 bp from the ATG start codon²⁷. The arrow indicate the protein/DNA complex formed by MucR with Site1 which does not appear in the EMSAs of MucR^{L36L39I40A}.

to form the same sized colonies as the parental 2308 strain following 72 h growth on agar plates (Fig. 5). These results strongly suggest that oligomerization is required for the normal physiologic function of MucR.

Microarray analysis indicates that MucR controls the expression of more than 90 genes in *B. abortus* 2308⁴. Genes that have been found to be direct targets of MucR repression by EMSA analysis (J. Pitzer, unpublished data) include the gene encoding the LuxR-type quorum sensing regulator BabR⁴⁴, the gene encoding the c-diGMP degrading phosphodiesterase BpdB⁴⁵, the gene encoding the polar adhesin BtaE⁴⁶ and the *mucR* gene itself⁴. EMSA analysis (J. Pitzer, unpublished data) also indicates that the operon encoding the Fe²⁺ transporter FtrABCD⁴⁷ is a direct target of MucR activation in *Brucella*. To investigate whether or not the MucR^{L36L39I40A} mutant is able to regulate these genes, we used q-RT PCR analysis to compare the transcription patterns of *babR*, *bpdB*, *btaE*, *mucR* and *ftrA* in *B. abortus* 2308, the isogenic *mucR* mutant CC092, and derivatives of the *mucR* mutant carrying plasmid-borne copies of the native *mucR* gene (JEP15) or the mutant *mucR*^{L36L39I40A} gene (JEP120). The results clearly show that the mutant MucR^{L36L39I40A} has lost its ability to repress *btaE*, *bpdB*, *babR* and *mucR* expression, or activate *ftrA* expression, with the same efficiency as the wild-type MucR (Fig. 6). These experimental findings strongly suggest that MucR oligomerization is essential for its regulatory function in *Brucella*.

Discussion

The Ros/MucR prokaryotic zinc-finger proteins are global transcriptional regulators in the α -proteobacteria, where they work in concert with other transcriptional regulators to coordinate the expression of genes required for the symbiotic^{8-10,48,49} and pathogenic^{3-6,50} interactions of these bacteria with their eukaryotic hosts, and the orderly progression of the aquatic bacterium *Caulobacter crescentus* through its well-described developmental cycle¹². Studies employing transposon mutagenesis⁵¹, transcriptomic^{4,6,8,9,52} and proteomic analyses⁵³, and chromatin immunoprecipitation coupled with high throughput DNA sequencing (ChIPseq)¹² have shown that many genes involved in basic metabolic and physiologic processes and virulence and symbiotic properties in a variety of different α -proteobacteria are regulated by Ros/MucR homologs, and in most cases these genes appear to be targets of Ros/MucR repression. The zinc-finger domains of these proteins have been studied in detail both structurally and functionally^{1,13-20,54}. Previous studies have shown that these proteins bind AT-rich DNA

sequences^{12,13,22-25}. We recently demonstrated that AT-rich DNA sequences containing T-A steps are necessary

and sufficient for DNA-binding of the Ros/MucR proteins and that these proteins contact DNA mainly in the minor groove²⁶.

From a structural standpoint, the prokaryotic and eukaryotic C₂H₂ zinc-finger domains share similarities, including their ability to bind DNA, the tetrahedral coordination of a structural zinc ion and the presence of $\beta\beta\alpha$ secondary structures¹⁵. On the other hand, the prokaryotic C₂H₂ zinc-finger shows some peculiarities such as the second α -helix,

the flexibility of the zinc-coordination sphere and the larger hydrophobic core that together with the zinc-finger motif constitutes the DNA-binding domain^{1,14–18}. Our recent studies with full-length Ros/MucR

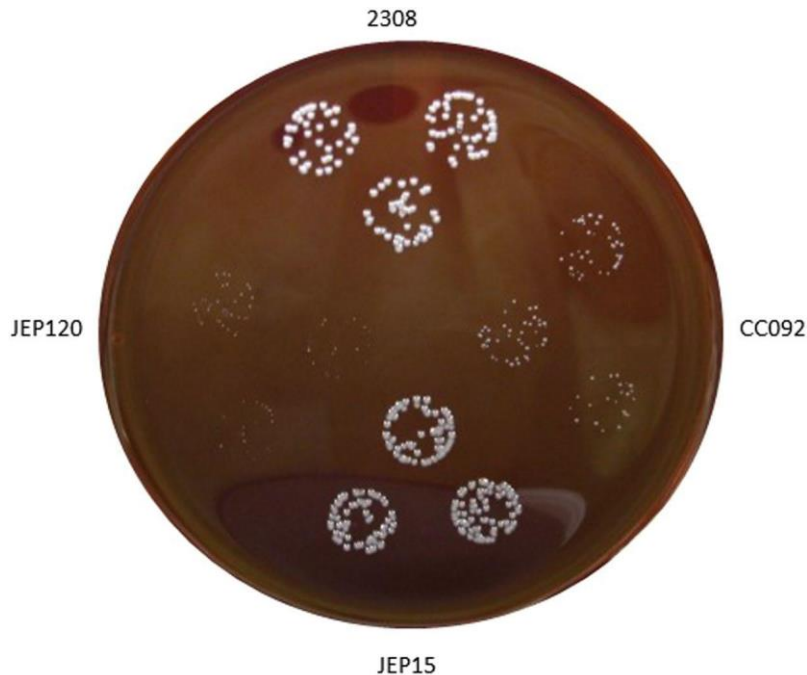


Figure 5. Colony formation by *B. abortus* 2308, an isogenic *mucR* mutant CC092 and derivatives of CC092 carrying plasmid-borne copies of *mucR* (JEP15) or *mucR*^{L36L39I40A} (JEP120) following 72 h incubation at 37 °C on Schaedler agar supplemented with 5% defibrinated bovine blood.

proteins has determined that these proteins form higher-order oligomers²⁶, are stable at high temperature and are able to bind multiple sites present in the promoters of their target genes^{26,27}. These combined experimental findings have led us to propose that the Ros/MucR proteins regulate gene expression in the same manner as the DNA structuring protein H-NS, which is found in many other Gram-negative bacteria⁵⁵.

In the present study, we define a hydrophobic region including residues L36, L39 and I40 as being responsible for higher-order oligomer formation by the *Brucella* MucR, and show that a targeted mutation of this region is sufficient to get the protein to switch from a decameric state to a monomeric one. This finding together with the predicted structure of the MucR N-terminus suggests the possibility that the second α -helix comprising the hydrophobic region identified here at the N-terminus of MucR could be involved in the formation of higher-order oligomers. Our data clearly demonstrate that the absence of the first α -helix at the N-terminus of MucR is not sufficient to change the oligomeric state of the protein. In fact, the deletion mutant 33–142 containing this first α -helix is still able to form higher-order oligomers, whereas the 45–142 deletion mutant of MucR lacking the first α -helix and the hydrophobic region L36L39I40, presents only a monomeric state. The MucR^{L36L39I40A} mutant demonstrates that this hydrophobic region included in the second α -helix at the N-terminus of MucR has an essential role in oligomerization. More structural studies are necessary to understand how the interaction between MucR monomers might occur and whether or not other secondary structure elements have a role in stabilizing the higher-order oligomers. In H-NS more than one region is involved in higher-order oligomer formation^{56–58} whereas in the case of MucR, the mutation of three residues at the N-terminus is sufficient to get a switch from higher-order oligomers to a monomer. The presence of H-NS lower-order oligomers in solution was thoroughly investigated^{29,57–63} showing many different degrees of H-NS oligomers depending on both different experimental conditions and/or portions of the protein analysed. All the studies agreed in pointing out the crucial role of higher-order oligomer formation for proper H-NS function. Our findings with MucR cannot exclude the existence of lower-order oligomers which could be present at very low concentration in solution and contribute to the formation of higher-order oligomers similar to the H-NS. However, we can state that the main region forming higher-order oligomers is located at the N-terminus of MucR and that the hydrophobic region that this protein shares with all of the MucR/Ros homologs plays a major role in building the higher-order oligomers. Our preliminary results indicate that there are about 5.5×10^4 MucR molecules for *B. abortus* cells, or about 3.6% of the total cellular protein (J. Pitzer, unpublished data). This is consistent with the number of H-NS and other nucleoid-associated proteins that have been reported in other bacteria which ranges from 10^4 to 10^5 molecules per cell corresponding to μ M concentration^{56,64}. This high intracellular level of MucR also indicates that the *in vitro* experimental conditions used here to observe its oligomerization are likely to be physiologically relevant.

The observation that the *mucR*^{L36L39I40A} allele cannot repress the *btaE*, *bpdB*, *babR* or *mucR* expression and cannot activate the *frtA* expression in *B. abortus* indicates that MucR must be able to form oligomers to retain its wild-type regulatory function. These experimental findings also provide further support for our hypothesis that MucR plays a similar role to that proposed for H-NS in terms of its ability to serve as a transcriptional regulator. Its capacity to form extensive oligomers allows H-NS to compact DNA, and accordingly, it plays an important role in establishing and maintaining nucleoid structure in bacteria^{59–66}. But the members of H-NS protein family

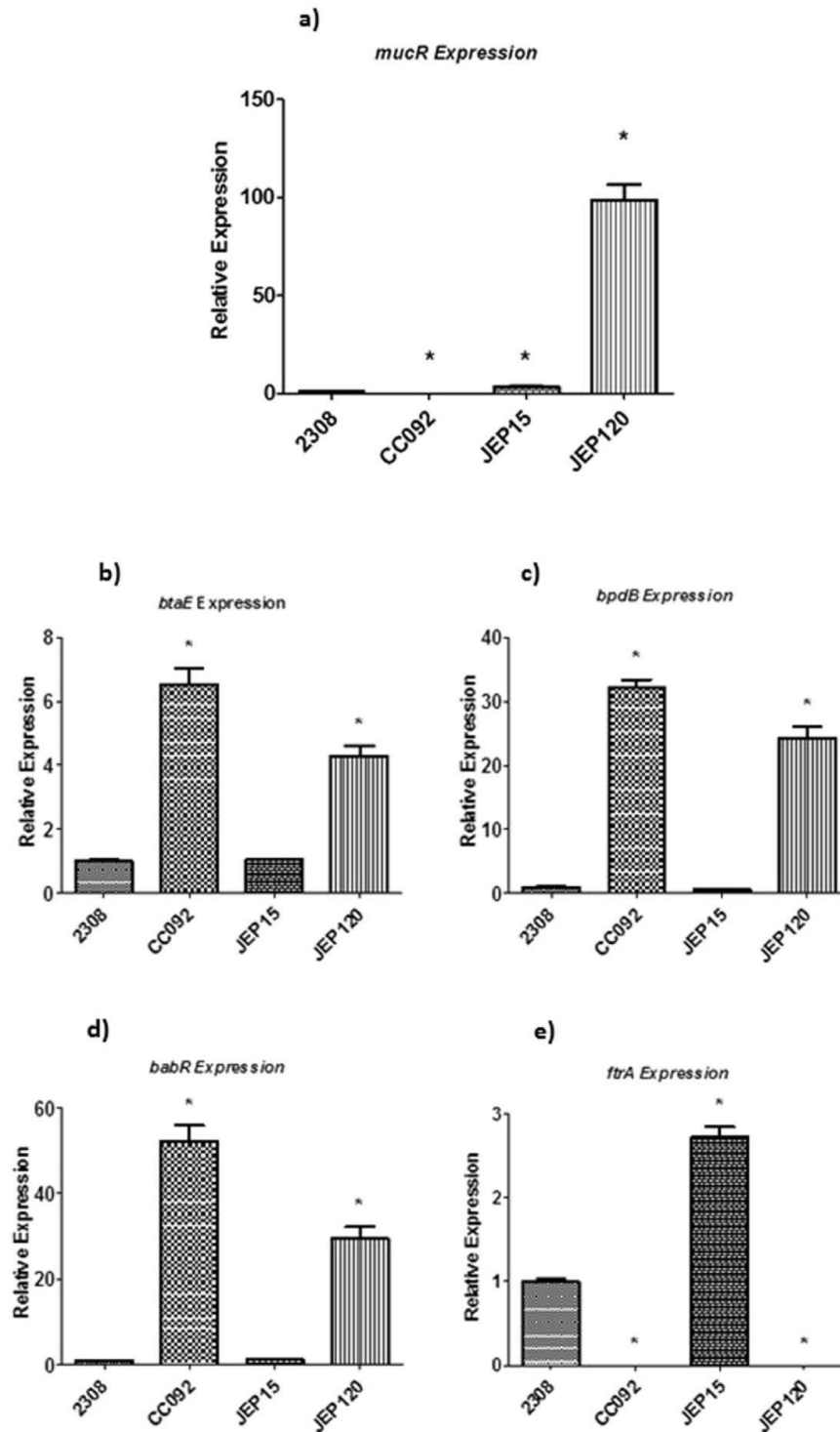


Figure 6. Relative expression of (a) *mucR*, (b) *btaE*, (c) *bpdB*, (d) *babR* and (e) *ftrA* in *B. abortus* 2308, an isogenic *mucR* mutant (CC092), the *mucR* mutant carrying a plasmid-borne copy of *mucR* (JEP15), and the *mucR* mutant carrying a plasmid-borne copy of the *mucR*^{L36L39I40A} (JEP120) determined by q-RT PCR. RNA was obtained from mid-log phase bacterial cultures grown in brucella broth. The results presented are from a single representative experiment with three technical replicates for each experimental condition. The experiment was repeated three times with equivalent results. * $P < 0.05$ for comparisons of 2308 vs. the other three strains using the Student t-test.

also play an important role in regulating prokaryotic gene expression. The capacity of these proteins to bind to AT-rich regions in and around bacterial promoters, oligomerize and make these promoters inaccessible to RNA polymerase allows H-NS proteins to serve as global gene ‘silencers’^{38,39,41}. Experimental evidence suggests that the

gene silencing capacity of H-NS proteins is important for both protecting bacteria from the uncontrolled expression of xenogeneic genes acquired by horizontal gene transfer and preventing the gratuitous expression

of genes that only provide bacteria with a fitness benefit in a particular environment (e.g. genes required for virulence in a mammalian host)^{30–39}. Notably, previous genetic and biochemical studies suggest that MucR and its homologs function predominately as transcriptional repressors in the α -proteobacteria^{4,6,8,12,51} and that they work in concert with antagonistic transcriptional activators in these bacteria to ensure that virulence, symbiosis and cell cycle genes are only expressed when they are needed by these bacteria⁶⁷. However, it is important to note that the inability of the *mucR*^{L36L39I40A} allele to activate *ftxA* transcription in *B. abortus* gene is also compatible with the proposed role of MucR as an H-NS-like regulator. Specifically, in addition to its negative effects, the nucleoid structuring role of H-NS proteins can also have positive effects on the transcription of some genes because this structuring provides easier access of RNA polymerase and transcriptional activators to their promoter regions³³.

Previous studies have provided evidence that Ros/MucR proteins in other α -proteobacteria form oligomeric complexes^{11,68}, and the data presented here suggest that the ability to form these complexes plays an important role in the capacity of these proteins to function as transcriptional regulators. The capacity to bind to low consensus AT-rich regions of DNA in and around the promoters of the genes they regulate also seems to be a shared feature of the Ros/MucR proteins that have been characterized^{7,12,13,22–25,69}. Further biochemical and genetic studies will be necessary to fully understand how MucR homologs function as transcriptional regulators, but a model in which they recognize AT-rich sequences containing T-A steps in DNA as nucleation sites, bind other AT-rich regions, form high-order oligomers and prevent access to bacterial promoters by RNA polymerase is certainly consistent with the data presented here and with the information available in the literature with regard to the capacity of these proteins to serve as transcription repressors. This suggests that from a functional standpoint, perhaps the Ros/MucR family of zinc-finger prokaryotic proteins should be considered to be new members of the family of so-called H-NS-‘like’ gene silencers^{30,32,35–37}. Although the role of H-NS as a global gene silencer is well established, not all bacteria, including the majority of the α -proteobacteria, possess an H-NS homolog⁵⁵. However, other small nucleoid binding proteins that have no significant amino acid identity^{48,32,34} with H-NS have

been found to perform a similar regulatory role. The MvaT and MvaU proteins in *Pseudomonas* and the

Lsr2 protein in *Mycobacterium*³⁰, for instance, are small nucleoid binding proteins that also recognize AT-rich regions containing T-A steps in DNA, bind to these regions and form oligomers, and serve as global repressors of gene expression.

Conclusion

The experimental findings presented here show that the hydrophobic region defined by the amino acids L36L39I40 at the N-terminus of the *Brucella* MucR is required for this protein to be able to form higher-order oligomers and to perform its normal function as a transcriptional regulator. Based on these and earlier findings^{26,27}, a new functional model is arising for the prokaryotic zinc-finger proteins in the Ros/MucR family. Specifically, these proteins appear to be binding to low consensus AT-rich regions in DNA and functioning as H-NS-‘like’ gene silencers, unlike their counterparts in eukaryotes which function mainly as DNA sequence-specific transcriptional regulators⁷⁰.

Methods

Cloning, protein expression and purification. The DNA fragments encoding for MucR^{L36L39I40A}, MucR_{33–142}, MucR_{33–142mut}, MucR_{45–142}, MucR_{57–142} were generated by PCR. Primers were designed on the basis of the wild-type *mucR* gene sequence (GenBank: SH030402.1) to get the deletions or the point mutations of the wild-type gene. The sequence of the primers are shown in the Suppl. Table 1; the template used for PCRs was the pET-22b(+) plasmid containing the wild-type *mucR* gene previously published²⁶. The PCR products encoding for MucR_{33–142}, MucR_{33–142mut}, MucR_{45–142}, MucR_{57–142} were digested with NdeI/EcoRI restriction enzymes and cloned into pET-22b(+) expression vector digested with the same enzymes; the PCR product encoding for MucR^{L36L39I40A} was digested with NcoI/EcoRI restriction enzymes and cloned into the pET-11D expression vector digested with NcoI/EcoRI as well. All the proteins were expressed as previously reported¹ in *E. coli* host strain BL21(DE3) grown in Luria Bertani medium (for proteins to be analysed by Light Scattering) or grown in a minimal medium¹ containing 0.5 g/L ¹⁵NH₄ Cl as the only nitrogen source (for proteins to be analysed by NMR). The expression was induced for 1 h at 28 °C with 1 mM IPTG. Protein purification was carried out as previously reported¹. The proteins were eluted from a Mono S HR 5/5 cation exchange chromatography column in the 0.3–0.6 M NaCl concentration range.

Light Scattering. For molecular weight measurements, a MiniDAWN Treos spectrometer (Wyatt Instrument Technology Corp.) equipped with a laser operating at 658 nm was used connected on-line to a size-exclusion chromatography column. Samples at 1 mg/ml were loaded onto a Superdex 200 column (10 × 30 cm, GEHealthcare) equilibrated in the same buffer used for the final purification procedure and connected to a triple-angle light scattering detector equipped with a QELS (Quasi-Elastic Light Scattering) module⁷¹. A constant flow rate of 0.5 ml/min was applied. Elution profiles were detected by a Shodex interferometric refractometer and a mini Dawn TREOS light scattering system. Data were analyzed using the Astra 5.3.4.14 software (Wyatt Technology). The experiments were carried out in duplicate.

NMR spectroscopy. The NMR spectra of the proteins purified as described above were recorded at 298 K on a Bruker Avance III HD 600 MHz equipped with cryoprobe at the Department of Environmental, Biological and Pharmaceutical Science and Technology, University of Campania - Luigi Vanvitelli (Caserta, Italy). The NMR

samples of MucR, MucR^{L36L39I40A} and MucR_{57–142} contained 200 μ M or 500 μ M of purified ¹⁵N labelled proteins in a 20 mM phosphate buffer, 0.3 M NaCl at pH = 6.8.

The ¹H-¹⁵N HSQC spectra of MucR, MucR_{57–142} and MucR^{L36L39I40A} were acquired at 298 K using 256 complex points for ¹⁵N (F1) and 2048 for ¹H (F2). The translational diffusion coefficient (D_{trans})⁷² was obtained by using the PFG diffusion measurements with the PG-SLED (pulse gradient-stimulated echo longitudinal encode-decode) sequence⁷³.

Data were processed using the TopSpin 3.5 software (Bruker) and analyzed with the CARA software as previously reported¹⁶ (downloaded from cara.nmr.ch+).

Electrophoretic Mobility Shift Assay (EMSA). The EMSA experiments were performed as previously described^{74, 75}. In detail, 0.4, 0.6 or 0.8 μ g of each protein were incubated 10 min on ice in binding buffer (25 mM HEPES pH 7.9, 50 mM KCl, 6.25 mM MgCl₂, 5% glycerol) with 5 pmol of double-stranded oligonucleotides Site 1 (5'-GTTGCCTATTATTAATGAATATGGTTTGA-3') previously published as a target site of MucR and located at -174 bp from the ATG start codon of *mucR* gene²⁷. The protein/DNA ratio for each sample was 5, 8, 10 when 0.4, 0.6, 0.8 μ g of protein were used respectively. To obtain a negative control, 0.8 μ g of each protein were incubated with 5 pmol of the double-stranded oligonucleotide NC (5'-CGCGGCACGACCGGTCGGGTGGCAC-3') in the same binding buffer whose composition has been already described above. The total volume of each reaction mixture was 20 μ l. After incubation on ice, the samples were loaded onto a 5% polyacrylamide gel in 0.5X TBE and run at room temperature for 70 min at 200 V. Gels were stained 20 minutes using DiamondTM Nucleic Acid Dye (Promega) following the manufacturer's instructions and imaged by Typhoon Trio+ scanner (GE Healthcare). The results by EMSAs shown in this study are representative of more than 10 replicates.

Genetic complementation of a *Brucella mucR* mutant. Genetic complementation of the *B. abortus mucR* mutant CC092⁴ with a wild-type version of the corresponding gene was performed as previously described²⁶. The Q5 Site Directed Mutagenesis kit (NEB) was used to make *mucR*^{L36L39I40A} gene using the mutagenesis primers mucRL36AL39AI40A SDM and R (Suppl. Table 1) and plasmid pJep011 which encodes the wild-type *Brucella mucR*²⁶ as a template. The mutagenesis primers were designed using the web-based NEB Base Changer Program available at www.neb.com. The nucleotide sequence of the *mucR*^{L36L39I40A} gene confirmed by DNA sequence analysis.

The *B. abortus mucR* mutant CC092 was transformed by electroporation with either the pJep011²⁶ or pJep120 plasmid and selected on Schaedlar agar supplemented with 5% defibrinated bovine blood (SBA)⁴ containing 45 μ g/ml kanamycin. The *B. abortus* strains were grown to mid log phase in brucella broth, and diluted in this medium to a cell density of approximately 10⁴ colony forming units (CFU) per ml. Twenty-five microliters (25 μ l) of each bacterial cell suspension was spotted onto SBA plates, the plates incubated at 37 °C under 5% CO₂, and the bacterial colonies produced by the individual strains observed and photographed after 72 h cultivation on this medium.

q-RT PCR. Total RNA was isolated from *B. abortus* cells following growth to mid log phase in brucella broth (BD) using previously described procedures⁴. cDNA was generated from the final RNA preparation using the SuperScript III First Strand kit (Invitrogen) following the manufacturer's protocol. The cDNA preparations were then used as the templates for real-time RT-PCR with SsoAdvanced Sybr Green Supermix (Bio-Rad) to evaluate the relative levels of gene-specific mRNA transcripts in the total cellular RNA preparations. The gene-specific oligonucleotide primers used for amplification of the experimental (*babR* [BAB1_0190], *bpdB* [BAB1_0512], *ftaA* [BAB2_0840], *btaE* [BAB1_0069], *mucR* [BAB1_0594] and control (*GAP* [BAB1_1741] and 16 S rRNA [BAB1_2223]) transcripts are listed in Suppl. Table 1. The parameters used for the PCR reaction were a single denaturing step for 30 sec at 95 °C, followed by 40 cycles (denature for 15 sec at 95 °C, anneal/extend for 30 sec at 60 °C) of amplification. Fluorescence from SYBR green incorporation into double-stranded DNA was measured with a Bio-Rad CFX96 Thermocycler and analyzed on Bio-Rad Maestro Software. The results were confirmed by three biological and three technical replications. Data were analysed by the 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} method. Student T-test was used to evaluate the statistical significance of the results.

Data Availability

Data generated or analysed during this study are included in this published article (and its Supplementary Information files). The unpublished data are available from the corresponding author on reasonable request.

References

1. Baglivo, I. *et al.* The structural role of the zinc ion can be dispensable in prokaryotic zinc-finger domains. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106**, 6933–6938 (2009).
2. Netti, F. *et al.* An experimentally tested scenario for the structural evolution of eukaryotic Cys2His2 zinc fingers from eubacterial ros homologs. *Mol. Biol. Evol.* **30**, 1504–1513 (2013).
3. Close, T. J., Tait, R. C. & Kado, C. I. Regulation of Ti plasmid virulence genes by a chromosomal locus of *Agrobacterium tumefaciens*. *J. Bacteriol.* **164**, 774–781 (1985).
4. Caswell, C. C. *et al.* Diverse genetic regulon of the virulence-associated transcriptional regulator MucR in *Brucella abortus*. *Infection and Immunity* **81**, 1040–1051 (2013).
5. Mirabella, A. *et al.* *Brucella melitensis* MucR, an orthologue of *Sinorhizobium meliloti* MucR, is involved in resistance to oxidative, detergent, and saline stresses and cell envelope modifications. *J. Bacteriol.* **195**, 453–465 (2013).
6. Dong, H. *et al.* The effects of MucR on expression of type IV secretion system, quorum sensing system and stress responses in *Brucella melitensis*. *Vet. Microbiol.* **166**, 535–542 (2013).
7. Keller, M. *et al.* Molecular analysis of the *Rhizobium meliloti mucR* gene regulating the biosynthesis of the exopolysaccharides succinoglycan and galactoglucan. *Mol. Plant. Microbe Interact.* **8**, 267–277 (1995).
8. Mueller, K. & González, J. E. Complex regulation of symbiotic functions is coordinated by MucR and quorum sensing in *Sinorhizobium meliloti*. *J. Bacteriol.* **193**, 485–496 (2011).

9. Jiao, J. *et al.* MucR is required for transcriptional activation of conserved ion transporters to support nitrogen fixation of *Sinorhizobium fredii* in soybean nodules. *Mol. Plant Microbe Interact.* **29**, 352–361 (2016).
10. Bittinger, M. A. *et al.* *rosR*, a determinant of nodulation competitiveness in *Rhizobium etli*. *Mol. Plant Microbe Interact.* **10**, 180–186 (1997).
11. Janczarek, M. & Skorupska, A. The *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* RosR: transcriptional regulator involved in exopolysaccharide production. *Mol. Plant Microbe Interact.* **20**, 867–881 (2007).
12. Fumeaux, C. *et al.* Cell cycle transition from S-phase to G1 in *Caulobacter* is mediated by ancestral virulence regulators. *Nat. Commun.* **5**, 4081, <https://doi.org/10.1038/ncomms5081> (2014).
13. Esposito, S. *et al.* A novel type of zinc finger DNA binding domain in the *Agrobacterium tumefaciens* transcriptional regulator Ros. *Biochemistry* **45**, 10394–10405 (2006).
14. Baglivo, I. *et al.* Molecular strategies to replace the structural metal site in the prokaryotic zinc finger domain. *Biochim. Biophys. Acta.* **1844**, 497–504 (2014).
15. Malgieri, G. *et al.* The prokaryotic Cys2His2 zinc-finger adopts a novel fold as revealed by the NMR structure of *Agrobacterium tumefaciens* Ros DNA-binding domain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**, 17341–6 (2007).
16. D'Abrosca, G. *et al.* The (unusual) aspartic acid in the metal coordination sphere of the prokaryotic zinc finger domain. *J. Inorg. Biochem.* **161**, 91–98 (2016).
17. Palmieri, M. *et al.* Structural Zn(II) implies a switch from fully cooperative to partly downhill folding in highly homologous proteins. *J. Am. Chem. Soc.* **135**, 5220–5228 (2013).
18. Palmieri, M. *et al.* Deciphering the zinc coordination properties of the prokaryotic zinc finger domain: The solution structure characterization of Ros87 H42A functional mutant. *J. Inorg. Biochem.* **131**, 30–36 (2014).
19. Malgieri, G. *et al.* Zinc to cadmium replacement in the prokaryotic zinc-finger domain. *Metallomics* **6**, 96–104 (2014).
20. Russo, L. *et al.* NMR assignments of the DNA binding domain of M14 protein from *Mesorhizobium loti*. *Biomol. NMR Assign.* **4**, 55–57 (2010).
21. Russo, L. *et al.* Towards understanding the molecular recognition process in prokaryotic zinc-finger domain. *Eur. J. Med. Chem.* **91**, 100–108 (2015).
22. D'Souza-Ault, M. R. *et al.* Analysis of the Ros repressor of *Agrobacterium virC* and *virD* operons: molecular intercommunication between plasmid and chromosomal genes. *J. Bacteriol.* **175**, 3486–3490 (1993).
23. Bertram-Drogatz, P. A. *et al.* The regulatory protein MucR binds to a short DNA region located upstream of the *mucR* coding region in *Rhizobium meliloti*. *Mol. Gen. Genet.* **254**, 529–538 (1997).
24. Bertram-Drogatz, P. A. *et al.* The *Sinorhizobium meliloti* MucR protein, which is essential for the production of high-molecular-weight succinoglycan exopolysaccharide, binds short DNA regions upstream of *exoH* and *exoY*. *Mol. Gen. Genet.* **257**, 433–441 (1998).
25. Bahlawane, C. *et al.* *Sinorhizobium meliloti* regulator MucR couples exopolysaccharide synthesis and motility. *Mol. Plant Microbe Interact.* **21**, 1498–1509 (2008).
26. Baglivo, I. *et al.* M1 proteins from *Mesorhizobium loti* and MucR from *Brucella abortus*: an AT-rich core DNA-target site and oligomerization ability. *Sci Rep* **7**, 15805, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16127-5> (2017).
27. Baglivo, I. *et al.* MucR binds multiple target sites in the promoter of its own gene and is a heat-stable protein: Is MucR a H-NS-like protein? *FEBS Open Bio*, **8**, 711–718.
28. Lang, B. *et al.* High-affinity DNA binding sites for H-NS provide a molecular basis for selective silencing within proteobacterial genomes. *Nucleic Acids Res.* **35**, 6330–6337 (2007).
29. Castang, S. & Dove, S. L. High-order oligomerization is required for the function of the H-NS family member MvaT in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol* **78**, 916–931 (2010).
30. Gordon, B. R. *et al.* Structural basis for recognition of AT-rich DNA by unrelated xenogeneic silencing proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. US A* **108**, 10690–10695 (2011).
31. Cordeiro, T. N. *et al.* Indirect DNA Readout by H-NS Related protein: Structure of the DNA Complex of the C-terminal Domain of Ler. *Plos Pathogen* **7**, e1002380 (2011).
32. Ding, P. *et al.* A Novel AT-Rich DNA Recognition Mechanism for Bacterial Xenogeneic Silencer MvaT. *Plos Pathogen* **11**, e1004967 (2015).
33. Dorman, C. J. H-NS: A Universal Regulator For a Dynamic genome. *Nature Rev Microbiol.* **2**, 391–399 (2004).
34. Castang, S., McManus, H. R., Turner, K. H. & Dove, S. L. H-NS family members function coordinately in an opportunistic pathogen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**, 18947–18952 (2008).
35. Lucchini, S. *et al.* H-NS Mediates the Silencing of Laterally Acquired Genes in Bacteria. *Plos Pathogen* **2**, e81 (2006).
36. Navarre, W. W. *et al.* Selective Silencing of Foreign DNA with Low GC Content by the H-NS Protein in *Salmonella*. *Science* **313**, 236–238 (2006).
37. Navarre, W. W. Silencing of xenogeneic DNA by H-NS – facilitation of lateral gene transfer in bacteria by a defense system that recognizes foreign DNA. *Genes dev.* **21**, 1456–1471 (2007).
38. Dorman, C. J. H-NS, the genome sentinel. *Nat. Rev. Microbiol.* **5**, 157–161 (2007).
39. Will, W. R., Navarre, W. W. & Fang, F. C. Integrated Circuits: How Transcriptional Silencing and Counter-silencing Facilitate Bacterial Evolution. *Curr Opin Microbiol* **0**, 8–13 (2015).
40. Ulissi, U., Fabbretti, A., Sette, M., Giuliadori, A. M. & Spurio, R. Time-resolved assembly of a nucleoprotein complex between *Shigella Flexneri* virF promoter and its transcriptional repressor H-NS. *Nucleic Acids Res.* **42**, 13039–13050 (2014).
41. Ayala, J. C., Silva, A. J. & Benitez, J. A. H.-N. S. An overarching regulator of the *Vibrio cholera* life cycle. *Res. Microbiol.* **168**, 16–25 (2017).
42. Jones, D. T. Protein secondary structure prediction based on position-specific scoring matrices. *J. Mol. Biol.* **292**, 195–202 (1999).
43. Arena, G. *et al.* Zinc(II) complexes of ubiquitin: speciation, affinity and binding features. *Chemistry*, **17**, 11596–603.
44. Rambow-Larsen, A. A., Rajashekara, G., Petersen, E. & Splitter, G. Putative quorum-sensing regulator BlxR of *Brucella melitensis* regulates virulence factors including the type IV secretion system and flagella. *J. Bacteriol.* **190**, 3274–3282 (2008).
45. Petersen, E. *et al.* *Brucella melitensis* cyclic di-GMP phosphodiesterase BpdA controls expression of flagellar genes. *J. Bacteriol.* **193**, 5683–5691 (2011).
46. Ruiz-Ranwez, V. *et al.* BtaE, an adhesin that belongs to the trimeric autotransporter family, is required for full virulence and defines a specific adhesive pole of *Brucella suis*. *Infect. Immun.* **81**, 996–1007 (2013).
47. Elhassanny, A. E. *et al.* The ferrous iron transporter FtrABCD is required for the virulence of *Brucella abortus* 2308 in mice. *Mol. Microbiol.* **88**, 1070–1082 (2013).
48. Janczarek, M. *et al.* *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* *rosR* is required for interaction with clover, biofilm formation and adaptation to the environment. *BMC Microbiol.* **10**, e284 (2010).
49. Acosta-Jurado, S. *et al.* The *Sinorhizobium fredii* HH103 MucR1 global regulator is connected with the nod regulon and is required for efficient symbiosis with *Lotus burtii* and *Glycine max* cv. Williams. *Mol. Plant Microbe Interact.* **29**, 700–712 (2016).
50. Wu, W. *et al.* Mariner mutagenesis of *Brucella melitensis* reveals genes with previously uncharacterized role in virulence and survival. *BMC Microbiol.* **6**, e102 (2006).
51. Bittinger, M. A. & Handelsman, J. Identification of genes in the RosR regulon of *Rhizobium etli*. *J. Bacteriol.* **182**, 1706–1713 (2000).

52. Rachwal, K. *et al.* Transcriptome profiling of a *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* *rosR* mutant reveals the role of the transcriptional regulator RosR in motility, synthesis of cell-surface components, and other cellular processes. *BMC Genomics* **16**, e1111 (2015).
53. Rachwal, K. *et al.* The regulatory protein RosR affects *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* protein profiles, cell surface properties, and symbiosis with clover. *Front. Microbiol.* **7**, e1302 (2016).
54. Chou, A. Y. *et al.* *Agrobacterium* transcriptional regulator Ros is a prokaryotic zinc finger protein that regulates the plant oncogene *ipt*. *Proc. Natl. Acad. USA* **95**, 5293–5298 (1998).
55. Tendeng, C. & Bertin, P. N. H-NS in Gram-negative bacteria: a family of multifaceted proteins. *Trends in Microbiol.* **11**, 511–518 (2003).
56. Esposito, D. *et al.* H-NS oligomerization domain structure reveals the mechanism for high order self-association of the intact protein. *J Mol Biol* **324**, 841–850 (2002).
57. Bloch, V. *et al.* The H-NS dimerization domain defines a new fold contributing to DNA recognition. *Nat Struct Biol* **10**, 212–218 (2003).
58. Arold, S. T., Leonard, P. G., Parkinson, G. N. & Ladbury, J. E. H-NS forms a superhelical protein scaffold for DNA condensation. *Proc. Natl. Acad. Sci. US A* **107**, 15728–15732 (2010).
59. Winardhi, R. S., Yan, J. & Kenney, L. J. H-NS Regulates Gene Expression and Compacts the Nucleoid: Insights from Single-Molecule Experiments. *Biophys J* **109**, 1321–1329 (2015).
60. Renault, M. R., Garcia, J. C. T. N., Baldus, M. & Pons, M. Protein oligomers studied by solid-state NMR – the case of the full-length nucleoid-associated protein histone-like nucleoid structuring protein. *FEBS J.* **280**, 2916–2928 (2013).
61. Stella, S., Spurio, R., Falconi, M., Pon, C. L. & Gualerzi, C. O. Nature and mechanism of the *in vivo* oligomerization of nucleoid protein H-NS. *EMBO J.* **24**, 2896–2905 (2005).
62. Smyth, C. P. *et al.* Oligomerization of the chromatin-structuring protein H-NS. *Mol Microbiol* **36**, 962–972 (2000).
63. Ceschini, S. *et al.* Multimeric self-assembly equilibria involving the histone-like protein H-NS. A thermodynamic study. *J Biol Chem* **275**, 729–734 (2000).
64. Tupper, A. E. *et al.* The chromatin-associated protein H-NS alters DNA topology *in vitro*. *EMBO J.* **13**, 258–268 (1994).
65. Ueguchi, C., Suzuki, T., Tanaka, T. Y. K. & Mizuno, T. Systematic Mutational Analysis Revealing the Functional Domain Organization of *Escherichia coli* Nucleoid Protein H-NS. *J. Mol. Biol.* **263**, 149–162 (1996).
66. Dorman, C. J. & Kane, K. A. DNA bridging and antibridging: a role for bacterial nucleoid-associated proteins in regulating the expression of laterally acquired genes. *FEMS Microbiol Rev* **33**, 587–592 (2009).
67. Panis, G., Murray, S. R. & Viollier, P. H. Versatility of global transcriptional regulators in alpha-Proteobacteria: from essential cell cycle control ancillary function. *FEMS Microbiol. Rev.* **39**, 120–133 (2015).
68. Bahlawane, C. *et al.* Fine-tuning of galactoglucan biosynthesis in *Sinorhizobium meliloti* by differential WggR (ExpG)-, PhoB-, and MucR-dependent regulation of two promoters. *J. Bacteriol.* **190**, 3456–3466 (2008).
69. Cooley, M. B., D'Souza, M. R. & Kado, C. I. The *virC* and *virD* Operons of the *Agrobacterium* Ti Plasmid Are Regulated by the *ros* Chromosomal Gene: Analysis of the Cloned *ros* Gene. *J. Bacteriol.* **173**, 2608–2616 (1991).
70. Malgieri, G. The prokaryotic zinc-finger: structure, function and comparison with the eukaryotic counterpart. *FEBS J.* **282**, 4480–4496 (2015).
71. Contursi, P. *et al.* C68 from the *Sulfolobus islandicus* plasmid-virus pSSVx is a novel member of the AbrB-like transcription factor family. *Biochem. J.* **435**, 157–66 (2011).
72. Wilkins, D. K. *et al.* Hydrodynamic radii of native and denatured proteins measured by pulse field gradient NMR techniques. *Biochemistry* **38**, 16424–16431 (1999).
73. Gibbs, S. J. & Johnson, C. S. Jr. A PFG-NMR experiment for accurate diffusion and flow studies in the presence of eddy currents. *J Magn Reson* **93**, 395–402 (1991).
74. Baglivo, I. *et al.* Genetic and epigenetic mutations affect the DNA binding capability of human ZFP57 in transient neonatal diabetes type 1. *FEBS Lett.* **587**, 1474–1481 (2013).
75. Anvar, Z. *et al.* ZFP57 recognizes multiple and closely spaced sequence motif variants to maintain repressive epigenetic marks in mouse embryonic stem cells. *Nucleic Acids Res.* **44**, 1118–1132 (2016).

Acknowledgements

This work was supported by Ministero della Salute funding CUP C75E17000050001 granted to I.B. Work in the Roop laboratory was funded by a grant (AI112745) from the National Institute of Allergy and Infectious Diseases. This work was also supported by VALERE project of University of Campania “Luigi Vanvitelli”.

Author Contributions


L.P.: performed static Light Scattering. J.E.P.: performed genetic complementation; q-RT-PCRs. G.D. and G.M.: performed NMR experiments. R.F. and G.M.: analysed NMR spectra and data. E.M.P. and L.P.: analysed Light Scattering data; contributed to write the manuscript. P.V.P. and R.M.R. II: analysed data, contributed to conceive the project and to write the manuscript. I.B.: conceived the project, designed the experiments; wrote the manuscript; performed cloning; expression and protein purifications; EMSAs. All the authors revised the manuscript.

Additional Information

Supplementary information accompanies this paper at <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35432-1>.

Competing Interests: The authors declare no competing interests.

Publisher's note: Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

 **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.



Article

Unveiling the Enigmatic Structure of TdCMO Transcripts in Durum Wheat

Loredana F. Ciarmiello ^{1,†}, Antimo Di Maro ^{1,†}, Pasqualina Woodrow ^{1,†,*},
Maria Grazia Annunziata ², Ioannis Kafantaris ³, Antonio Mirto ¹, Federica Iannuzzi
¹, Amodio Fuggi ¹ and Petronia Carillo ^{1,†}

¹ Department of Environmental, Biological and Pharmaceutical Science and Technology, Università della Campania Luigi Vanvitelli, Naples, via Vivaldi, 43, I-81100 Caserta, Italy; lorymail80@libero.it (L.F.C.); antimo.dimaro@unicampania.it (A.D.M.); antonio.mirto@hotmail.it (A.M.); ricafede@gmai.it (F.I.); amodio.fuggi@unicampania.it (A.F.); petronia.carillo@unicampania.it (P.C.)

² Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology, Am Mühlenberg 1, 14476 Potsdam-Golm, Germany; annunziata@mpimp-golm.mpg.de

³ Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, 41500 Larissa, Greece; kafantarisioannis@gmail.com

* Correspondence: pasqualina.woodrow@unicampania.it; Tel.: +39-0823-274560

† These authors contributed equally to this work.

Received: 2 October 2018; Accepted: 19 November 2018; Published: 21 November 2018



Abstract: Durum wheat is one of the oldest and most important edible cereal crops and its cultivation has considerable economic importance in many countries. However, adverse conditions, such as high irradiance and increasing salinity of soils, could lead to a decrease in productivity over the next few decades. Durum wheat plants under salinity are able to accumulate glycine betaine to osmotically balance the cytosol and reduce oxidative stress, especially in young tissues. However, the synthesis of this fundamental osmolyte is inhibited by high light in *T. durum* even under salinity. Choline monooxygenase is the first enzyme involved in the glycine betaine biosynthetic pathway. Thus, to explain the glycine betaine inhibition, we analyzed the effect of both salinity and high light on the putative TdCMO gene expression. Thirty-eight TdCMO different transcripts were isolated in the young leaves of durum wheat grown in different stress conditions. All translated amino acid sequences, except for the TdCMO1a6 clone, showed a frame shift caused by insertions or deletions. The presence of different transcripts could depend on the presence of duplicated genes, different allelic forms, and alternative splicing events. TdCMO1a6 computational modeling of the 3D structure showed that in durum wheat, a putative CMO-like enzyme with a different Rieske type motif, is present and could be responsible for the glycine betaine synthesis.

Keywords: salinity; high light; choline monooxygenase gene; glycine betaine; *Triticum durum* L.

1. Introduction

Plants frequently undergo environmental stresses that are harmful factors that decrease crop growth and productivity [1]. Among the abiotic stresses, salinity is one of the major environmental constraints that modern agriculture has to cope with [2], affecting germination, plant vigor, and crop yield of plants over 800 million ha of land worldwide and 32 million ha of dry land agriculture [3]. Moreover, due to climate change and land and water quality pauperization, salt stress together with drought, will become a hot topic of crop studies [3]. Plant response mechanisms involve the expression/activation of stress-protective proteins and changes in metabolism [4–6]. Particularly, one of the basic strategies ubiquitously adopted in response to salinity stress involves salt sequestration

into the vacuole, and the synthesis and accumulation of compatible solutes [7]. These latter are small molecules, water soluble, and uniformly neutral with respect to the perturbation of cellular functions, even when present at high concentrations [8,9]. Among the best known compatible solutes, glycine betaine (GB) has been reported to increase greatly under salt and drought stresses [8], and constitutes one of the major metabolites found in durum wheat under salinity, as in other Poaceae [10–13]. It acts not only as an osmoregulator, but also stabilizes protein structures and activities, and maintains the integrity of membranes by preventing stress-related oxidative damages.

In higher plants, GB is synthesized from choline in two oxidation steps, via betaine aldehyde. The first step is catalyzed by choline mono-oxygenase (CMO; EC 1.14.15.7) in the presence of ferredoxin, whereas the second step is catalyzed by betaine aldehyde dehydrogenase (BADH; EC 1.2.1.8) in a NAD⁺-dependent reaction. Both enzymes are localized in the stroma of chloroplasts. The biosynthesis of GB is stress-inducible [14] and it has been suggested that GB can be derived from salt-stress-induced photorespiratory serine [15]. Particularly, in durum wheat, GB preferentially accumulates in younger tissues after several days of imposed stress [16]. In many halophytes, GB concentration in the leaves contributes significantly to control the ion and water homeostasis maintaining the normal cellular turgor; and since many crop plants do not accumulate GB, crop improvement genetic programs are focused on the analysis of the GB biosynthetic pathway. Therefore, recent research has especially focused on the introduction of choline-oxidizing enzymes such as choline dehydrogenase, choline oxidase, and choline monooxygenase (CMO) in GB non-accumulating plants, or producing GB hyper-accumulating plants [17–19].

After being identified as a unique plant oxygenase containing a Rieske-Type [2Fe-2S] center, CMO was first cloned from spinach by RT-PCR using primers corresponding to amino acid sequences in the iron-sulfur center [20]. Afterwards, it was also cloned from sugar beet [21] *Amaranthus tricolor* L. [22], and *Atriplex prostrata* Boucher [23].

Durum wheat is one of the oldest and most important edible cereal crops, of which Italy was the world's leading producer with a yield of 4.47 million tons in 2017 [24]. Its consistency, together with its high protein content and gluten strength, make it the ideal choice for producing bread, pasta, and bakery products. Durum wheat is well adapted to the Mediterranean environment, but such regions are currently experiencing increasing salt stress problems resulting from seawater intrusion into aquifers [8] and this plant is a salt-sensitive species due to its poor ability to exclude sodium from the leaf blades [10,25]. Therefore, further research on adaptive responses to abiotic stresses is needed.

In a previous study, we found an intriguing inhibition of GB synthesis in durum wheat plants under high light, even in the presence of salt stress, despite the fundamental role of this osmolyte [8]. Subsequently, we discovered that the fine tuning of few specific primary metabolites, such as GABA, amides, minor amino acids, and hexoses, remodeled metabolism and defense processes, playing a key role in the response to salinity and high light [26,27]. However, the reason for GB inhibition in such conditions remained unclear. Therefore, to shed light on the mechanisms underlying the specific inhibition of GB synthesis under high light, we investigated the effects of salinity both in low and high light conditions on the expression of CMO, the first of the two key enzymes involved in its synthesis. From the preliminary results, we had noticed that under high light, no differences were present in BADH expression; therefore, we focused our attention on CMO rather than on BADH. Our study allowed us to isolate thirty-eight TdCMO different transcripts, each one with a unique structural composition. Thirty-seven out of thirty-eight transcripts were non-functional and one, the TdCMO1a6 clone, was in a correct frame of open reading. The deduced amino acid sequence from TdCMO1a6 showed similarity to the Rieske-like iron-sulfur protein.

2. Materials and Methods

2.1. Plant Material and Growth Conditions

Durum wheat (*Triticum durum* Desf. Cultivar Ofanto genome constitution AABB cod.39) seeds were selected by CRA, Cereal Research Experimental Institute (Foggia, Italy). The growth conditions and the experimental design was performed according to [28,29].

2.2. Isolation of TdCMOTranscripts

Total RNA was extracted from leaf tissue using the RNasy plant RNA extraction kit (Qiagen, Milano, Italy) and poly(A)⁺. RNA was purified from 700 µg of leaf RNA using an Oligotex mRNA purification kit (Qiagen). First-strand cDNA was obtained using the Superscript cDNA synthesis kit (Invitrogen, Monza, Italy). RNA samples (2 µg) were reverse transcribed in a 20 µL reaction using the Thermo Script RT-PCR system for first-strand cDNA synthesis (Invitrogen, Monza, Italy). Three-microliter aliquots from this reaction were amplified by PCR using the degenerate primers designed for the final 1eson (CMO1 for: 5⁰-GGCTCGAGCTCGAYCGYGTCT) and final 10 eson (CMO3 rev: 5⁰-GGCAGTGGAAGTGGTGCATGGC-3) for *Leymuschinensis*CMO mRNA (ID: GenBank/EU003877), respectively. Primers for actin P1 and P2 were used as the internal control [28]. PCR amplification with Taq DNA polymerase was performed in a 30-cycle reaction under the following conditions: 94 °C for 45 s, 56 °C for 30 s, 72 °C for 60 s. PCR amplification products were purified from the agarose gel and cloned into a pGEM-T Easy Vector system (Promega, Milano, Italy) by mixing 3 µL of amplified product with 50 ng of pGEM-T Easy Vector, 3U T4 ligase, and 1X ligation buffer in a 10 µL volume. The ligation product was cleaned with sec-butanol and precipitated with ethanol. The sample was resuspended in 10 µL of 0.5 M Tris-EDTA and transformed into *Escherichia coli* cells. The clones were sequenced using an ABI 377 automated DNA sequencer (Applied Biosystems, Monza, Italy).

2.3. cDNA Sequence Analysis

Sequence data were analyzed and compared to the GenBank-NCBI databases using the BLAST network service [30], ClustalW (<http://align.genome.jp/clustalw/>) and Mega 6 programs were used to generate most multiple sequence alignments using default settings [31]. All positions containing gaps and missing data were eliminated. The nucleotide sequence data reported are available in the GenBank Data Library under the accession numbers LT627195–LT627232.

2.4. Sequence Analysis and Homology Modeling

Amino acid sequences of Mb from vertebrates were obtained from the Uniprot database (<http://www.uniprot.org/>). Sequence alignment was performed using the ClustalW tool available on line (<http://www.ch.embnet.org/software/ClustalW.html>). A model of the 3D structure of common pheasant Mb was obtained using the automated I-TASSER service available at the site <https://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER/>. The online procedure yielded the 3D model on the basis of multiple-threading alignments by LOMETS and iterative TASSER simulations [32].

3. Results

3.1. Choline Monooxygenase Transcripts Isolation

To isolate the putative TdCMO gene transcripts in durum wheat, a RT-PCR analysis was carried out. Total RNA was isolated from young leaves (each sample constituted a pool of 30 leaves) of durum wheat grown in different conditions: control (LLC; 0 mM NaCl, 350 µmol m⁻² s⁻¹ PAR), high salinity (LLS; 100 mM NaCl, 350 µmol m⁻² s⁻¹ PAR), high light (HLC; 0 mM NaCl, 900 µmol m⁻² s⁻¹ PAR), and high light and salinity (HLS; 100 mM NaCl, 900 µmol m⁻² s⁻¹ PAR). All RT-PCR reactions were performed as triplicates on three independent biological replicates.

Even if the wheat genome has been completely sequenced, both nucleotide sequences and transcripts codifying choline monoxygenase (CMO) protein in *T. durum* genome has never been characterized until now. Therefore, RT-PCR analyses were performed using a degenerate oligonucleotide primer combined with a specific primer. In particular, the CMO1 degenerate primer was designed from the WYTDPGF motif present in the N-terminal region; the CMO3 specific primer was designed on the AMHHFHC motif present in the Carbossi-terminal sequence. The primers were designed on the amino acid sequence alignments belonging to the *Leymuschinensis* Trin. (an. EU003877), *Oryza sativa* L. (an. AJ578494), and *Hordeum vulgare* L. (an. AB434467) species deposited in GenBank. Unexpectedly, the results of the combination of these primers showed two types of transcription products with a different molecular size of 900 bp and 1000bp, respectively (Figure 1). A primer pair for the β -actin gene was used as the internal control for each RT-PCR reaction. The results of the RT-PCR analysis showed that the 900bp fragments were strongly expressed in the HLC and HLS samples (Figure 1). Whereas, the 1000 bp fragments were strongly expressed in all samples, with the exception of the LLS sample (Figure 1). The fragments were excised, cloned, and 10 clones for each band were sequenced.

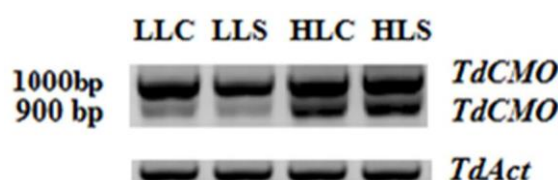


Figure 1. Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)-amplified putative choline monoxygenase (TdCMO) genes. LLC, cDNA from low light control leaves; LLS, cDNA from low light salt-stressed leaves; HLC, cDNA from high light control leaves; HLS, cDNA from high light salt-stressed leaves. Weight size marker are indicated on the left and the name of the PCR product on the right.

In order to reveal the nature of the isolated transcription products, searches by BLASTN, BLASTX, TBLASTX, and BLASTP were conducted. The results of the transcript analysis showed high homology with choline monoxygenase transcripts isolated in different monocots such as *Brachypodium distachyon* L. (LOC100839185), *Sorghum bicolor* L. (LOC8063819), *Panicum hallii* L. (LOC112998400), *Dendrobium catenatum* L. (LOC110093278), *Elaeagnus angustifolia* L. (LOC105049342), and *Setaria italica* L. (LOC101767591). To examine the TdCMO transcript structure and base compositions, a detailed study was done on 80 clones. The obtained nucleotide sequences as well as the deduced amino acid ones were compared by Mega 6. Alignment of nucleotide sequences revealed the presence of 38 different transcripts with a similar molecular size, while the remaining 42 sequences were additional copies of some transcripts (Supplementary Figures S1–S3). Amino acid alignments showed a high conservation of the carboxy-terminal region, unlike the N-terminal region that was highly variable. As a whole, the low conservation observed between the TdCMO clones within the N-terminal region was due to the absence of little amino acid stretches within the second exon. In fact, the ExPASy Proteomics Server (<http://www.expasy.ch/tools/dna.html>) analysis showed that all TdCMO transcripts, except for the TdCMO1a6 clone, contained premature stop codons in different positions. Stop codons were principally due to the presence of punctiform mutations (deletions, substitutions, insertions) and small insertions/deletions (indel) that changed the reading frame.

In addition, we observed alternative splicing (AS) events in the same transcripts that led to partial exon skipping (ES) and/or intron retention (IR) (Supplementary Figure S1).

3.2. Influence of Salt and Light Stresses of the TdCMO1a6 Expression

To evaluate TdCMO1a6 expression in LLS, HLC, and HLS compared to LLC, qRT-PCR analysis was performed using a specific primer pair (Figure 2). As shown in Figure 2, LLS TdCMO1a6 expression was 70% lower than LLC, while HLC expression was about 12-fold higher when compared

to LLC. HLS TdCMO1a6 gene expression was two-fold higher than that of LLC; however, it remained substantially lower than HLC (Figure 2).

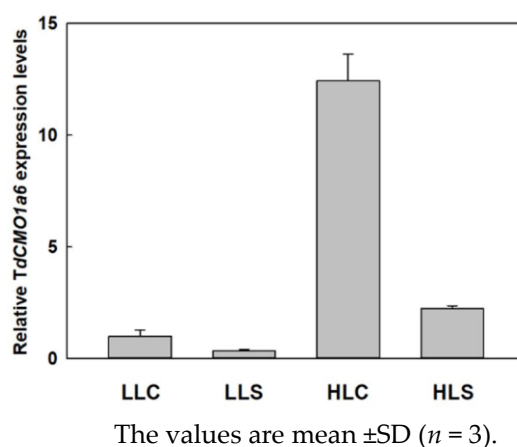


Figure 2. Relative putative TdCMO1a6 gene expression levels. The experiments were performed on three biological replicates. Transcript levels were normalized using the actin gene. The abbreviations indicate: LLC, cDNA from low light control leaves; LLS, cDNA from low light salt-stressed leaves; HLC, cDNA from high light control leaves; HLS, cDNA from high light salt-stressed leaves.

3.3. Chromosomal Localization and Functional Domain Characterization

In order to determine if putative TdCMO genes were present as orthologous or paralogous in the *T. durum* genome, a search by the Grain Gene (<http://wheat.pw.usda.gov/GG3/>) and URGI database (https://urgi.versailles.inra.fr/blast/?dbgroup=wheat_all&program=blastn) was performed. Throughout the search, the results showed that putative TdCMO genes were localized on chromosomes of both the A and B sub-genomes. In addition, for the 2AL, 4BL, 6BL, and 7AL chromosomes, putative TdCMO genes were localized on three or more different positions.

Two highly conserved regulatory domains are present within CMO proteins: the iron–sulfur clusters (2Fe–2S) coordinated by two cysteine residues and two histidine residues and mononuclear non-heme iron binding [33]. The analysis of the amino acid conserved domains was conducted by a Motif Finder database search (<http://motif.genome.ad.jp>).

The alignment of amino acid sequences by Mega 6.0 showed that all 900 bp TdCMO clones lacked the Cys-X-His-(X15-17)-Cys-X-X-His domain because of the deletion of the third exon. The same motif was present only in eight of the 1000 bp TdCMO transcripts (Table 1, Figures S1–S3). Similarly, a mononuclear non-heme Fe binding motif Glu/Asp-X3-4-Asp-X2-His-X4-5-His was conserved in only thirteen of the 1000 bp clones and in seven of the 900 bp ones. Only seven of the 1000 bp clones showed the presence of both conserved domains, however, they were not codified for the presence of stop codons in different positions (Supplementary Figure S1).

In order to obtain structural information on the putative TdCMO1a6 protein, we performed a computational modeling of the 3D structure using the software I-TASSER. The program yielded a 3D model of the protein product with a C-score of 1.01 (Figure 3). The C-score is a confidence score for estimating the quality of predicted models by I-TASSER. The calculation was based on the significance of threading template alignments and the convergence parameters of the structure assembly simulations. The C-score is typically in the range of (−5, 2), with higher C-score values for high confidence models and vice-versa. Putative aromatic-ring hydroxylating dioxygenase from *Ruegeria* sp. (pdb code: 3N0Q, 3VCA, 3N0Q, 3VCA), cumene dioxygenase from *Pseudomonas fluorescens* (1WQL), and naphthalene 1,2-dioxygenase from *Rhodococcus* sp. (2B1X were used as structure templates for the I-TASSER algorithm).

Table 1. Clones showing the presence of intact conserved domains. LLC, control plants; LLS, salt stressed plants; HLC, high light stressed plant; HLS, light and salt stressed plants. Amino acids involved in binding domain are underlined.

Treatments	Clones	Fragments Size	Rieske 2Fe-2S	Non-Heme Fe Binding Motif
LLC	1a2, 1a3	1000 bp	HNVCRH <u>H</u> ASLLACGSGQ	VFCD <u>N</u> YLDGGY <u>H</u> VPYA <u>H</u> GALA
LLS	2a1,2a2,2a4, 2a5		KTCFQ <u>C</u> PY <u>H</u> GWT	
HLS	4a1			
LLC	1a2, 1a3, 1a4, 1a5, 1a6	900 bp	NOT FOUND	VFCD <u>N</u> YLD <u>R</u> GY <u>H</u> FSY <u>S</u> H <u>G</u> ANA VFCD <u>N</u> YLD <u>R</u> GY <u>H</u> VPYA <u>H</u> GALA
LLS	2a1, 2a2, 2a3,2a5			
HLC	3a6			
HLS	4a6			
LLC	1b1, 1b5	900 bp	NOT FOUND	VFCD <u>N</u> YLD <u>R</u> GY <u>H</u> FSY <u>S</u> H <u>G</u> ANA VFCD <u>N</u> YLD <u>R</u> GY <u>H</u> VPYA <u>H</u> GALA
HLC	3b4			
LLC	1b6			
HLC	3b5			

The generated structure (Figure 3) showed that the hypothetical protein belonged mainly to the class characterized by the Rieske-like iron–sulfur domain, responsible for electron transfer [34]. In Figure 3, the specific three-dimensional positions corresponding to the amino acid residues present in mononuclear non-heme iron binding (i.e., Asp187, Asp191, His195, and His200; region A in Figure 3) and the ‘Rieske’ motif (i.e., Val67, Met70, Ala86, and H89; region B in Figure 3) are highlighted. In particular, the amino acid residues necessary for the structure of the non heme-motif, and only the second histidine residue in the Rieske motif were conserved. The 3D model analysis carried out by both the COFACTOR [35] and COACH [36] programs, showed that in the putative TdCMO1a6 protein structure, two ligands were presented. These models deduce protein functions, such as ligand-binding sites, using structure comparison and protein–protein networks. The former contains iron (amino acid residues involved: Asn188, His195, His200, and Asp306) and the latter contains a [FE2S2] cluster (amino acid residues involved: Cys66, Val68, Ile69, Phe71, Ala86, Tyr88, His89, Gly90, and Trp91).

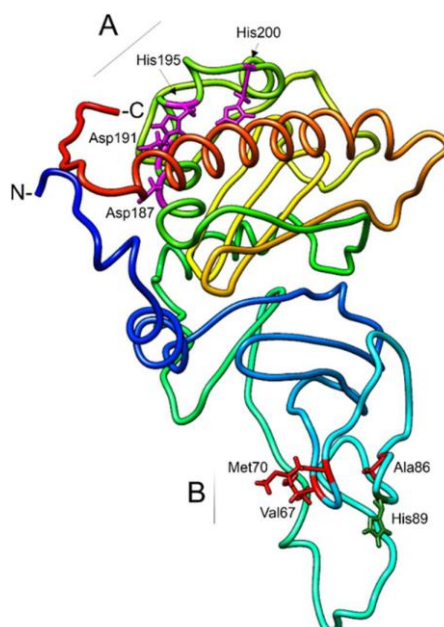


Figure 3. 3D-molecular model obtained for the putative protein product of TdCMO1a6. In this model, the structure topology is shown. Regions A and B highlight the “non heme-motif” and “Rieske” motif, respectively.

4. Discussion

GB is one of the main osmolytes and protectants present in durum wheat and other cereals during the seedling stage [8], which is, together with germination, the most sensitive phase of durum wheat growth to salinity [37,38]. Its biological functions have been studied extensively in higher plants such as spinach, barley, maize, and durum wheat [8], but little information is available on its synthesis. Several studies have shown no GB accumulation in different plant species. However, only in durum wheat has it been demonstrated that, notwithstanding the unquestioned role of GB as an osmolyte, its synthesis was inhibited under high light, even in the presence of salt stress [8,26].

A preliminary study showed that CMO, but not BADH, expression changed under high light when compared to the control treatment (Supplementary Figure S4); therefore, to shed light on the inhibition of GB under high light, our study focused on the analysis of the TdCMO expression by RT-PCR using degenerate primer pairs.

A total of 38 TdCMO different transcripts were isolated under the different treatments, 37 of which were non-coding for the presence of premature stop codons due to short or long indels. Indels in the TdCMO transcripts were randomly distributed and some of them were conservative or moderately conservative, as previously observed in microsatellite evolution (stepwise mutation model) [39]. It is well known that mutations in the redundant gene copies accelerate the genetic evolution, generating new proteins with different functions [40,41]. Several reports have shown that the transcripts containing premature stop codons can be translated into truncated proteins or small peptides. In plants and animals, small interfering peptides (siPEPs) and micro-proteins (MIPS) have been isolated and described. Functional analysis has shown that they contain specific DNA binding domains that can act positively or negatively on the transcription.

The TdCMO intronic sequence composition was constituted of 70% pyrimidine content. In fact, a distinguishing feature is the high composition of UA-rich sequences distributed through the entire length of introns. UA rich sequences are essential for efficient processing, since splicing events occur preferentially between UA-rich introns and GC-rich exons. AS also provides another level of gene regulation by modulating protein productivity, function, and transcript stability. Moreover, about 60% of intron retention occurred in TdCMO transcripts isolated from the HLC or HLS samples, suggesting that alternative splicing could play an important role in modulating the abundance of transcripts in response to individual light stress or combined high light and salinity stresses.

Our results are, thus, consistent with previous studies that showed an increase of alternative splicing with different functions after changes in light intensity [42,43]. In fact, it is well known in higher plants that gene expression may be altered by different transduction signals activated in response to light changes. In addition, light plays an important role in the modulation of chromatin modification and transcriptional activation [44]. Mano et al. [45] reported different light-regulated alternative splicing of two APX protein isoforms located in the stroma and in the thylakoid chloroplast-membrane, suggesting the presence of a new mechanism of mRNA maturation related to peroxisomal transition. Similarly, Wu and co-workers [46] showed a rapid induction of intron retention in chloroplast-encoded ribosomal protein genes in *Physcomitrella patens* after light stress.

The presence of different transcripts in durum wheat was also due to the presence of duplicated putative TdCMO genes and different allelic forms. In fact, the evolutionary turnover of herbaceous polyploid plants is quite fast. During the course of evolution, upon polyploidization, the TdCMO ancestral sequence could diversify into sub-heterogeneous families, undergoing an independent selective pressure causing the accumulation of different mutations over generations. In addition, the different locus positions confirmed the presence of putative TdCMO genes as orthologous and paralogous in the durum wheat genome. In fact, the comparison of the genomic distribution across the A and B sub-genomes revealed a high number of genes with similar proportions (60.1% to 61.3%), and the average level of synteny for genes located on sub-genome chromosomes was 51% for A and 50% for B [47]. The genetic duplication improves the diversification of gene function as it promotes the accumulation of new mutations on the redundant copy, creating “genome equivalents”

that undergo a lower selective pressure [48]. Several genetic and epigenetic processes are implicated in the regulation of gene duplication, which affects activation, genetic silencing, and loss or new function acquisition deriving from different allelic variants of the same gene. After chromosome duplications, the changes can be stable, or show a gradual and stochastic change [49]. It has been documented by OrthoMCL that for each wheat chromosome, the percentage of genes that has undergone lineage-specific intra-chromosomal duplication is approximately 35%, and for each chromosome, the gene duplicates are on average about 73% [49–51]. The latter phenomenon is due to unequal crossing-over and replication-dependent chromosome breakage or to the activity of transposable elements.

In addition, durum wheat (*T. durum*, AABB, $2n = 4x = 28$) is an allotetraploid formed through hybridization between two separate but related diploid species, *T. monococcum* or *T. urartu* (AA, $2n = 14$) and an as yet unidentified wild goat grass such as *T. searsii* or *T. speltoides* (BB, $2n = 14$). Consequently, different allelic variants (isogenes) are present in the durum wheat genome. In fact, one polyploidy consequence is the increase of heterozygosity and the allele frequency changes, which is in contrast to the inbreeding depression. Polyploid genomes produce genotypic and phenotypic ratios deviating from diploid genomes [51], and as a consequence, polyploid plants can evolve more quickly in unexpected directions [51].

Finally, a detailed analysis of the TdCMO amino acid sequences showed that the amino acids involved in the binding domains were present in only a few of the non-coding clones. In addition, TdCMO1a6, the only transcript present in ORF, lacked the two cysteine residues and one histidine residue involved in the coordination of the Rieske-type [2Fe-2S] cluster. In particular, the first Cys and His were replaced with Val and Met, respectively, while the second Cys was replaced with an Ala.

Hibino and coworkers [52], using site-specific mutations within the CMO protein in spinach, showed that changes of Cys-181 to Ser, Thr, and Ala and His-287 to Gly, Val, and Ala inhibited the accumulation of GB, indicating that Cys-181 and His-287 were essential for the Fe-S cluster and mononuclear Fe-binding, respectively. However, the similarity between the TdCMO1a6 first domain and that of *Ruegeria* sp., *Pseudomonas fluorescens*, and *Rhodococcus* sp. suggests a possible alternative pathway for the production of GB in durum wheat similar to that of bacterial choline oxidase. Sakamoto and Murata [13] reported that plants unable to produce GB, once transformed with bacterial choline oxidase, were able to produce this important compatible osmolyte acquiring resistance to salinity.

Therefore, in our lab, a number of experiments are in progress to isolate the entire transcript codified by this enzyme and verify its catalytic capacity.

Supplementary Materials: The following are available online at <http://www.mdpi.com/2073-4395/8/11/270/s1>, Figure S1: Alignment of the nucleotide sequences of the TdCMO clones, Figure S2: Alignment of the deduced amino acid sequences of the 1000 bp TdCMO clones, Figure S3: Alignment of the deduced amino acid sequences of the 900 bp TdCMO clones, Figure S4: TdCMO and TdBADH gene expression changes and GB accumulation.

Author Contributions: P.W., P.C., and L.F.C. conceived and designed the project; P.W., L.F.C., I.K., M.G.A., A.M., and F.I. carried out the experiments; P.W., A.D.M., and L.F.C. analyzed and discussed the data; P.W., L.F.C., P.C., and A.D.M. wrote the manuscript; and A.F. contributed reagents/materials and revised the manuscript.

Funding: This study was supported by the University of Campania “Luigi Vanvitelli” Programma VALERE: Vanvitelli per la Ricerca.

Conflicts of Interest: The authors declare that they have no conflicts of interest.

References

1. Gao, J.P.; Chao, D.Y.; Lin, H.X. Understanding abiotic stress tolerance mechanisms: Recent studies on stress response in rice. *J. Integr. Plant Biol.* **2007**, *49*, 742–750. [CrossRef]
2. Rodziewicz, P.; Swarczewicz, B.; Chmielewska, K.; Wojakowska, A.; Stobiecki, M. Influence of abiotic stresses on plant proteome and metabolome changes. *Acta Physiol. Plant* **2014**, *36*, 1–19. [CrossRef]

3. FAOSTAT (Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database). FAO Online Statistical Database on Annual Population Estimation and Year of Projection. Available online: <http://faostat3.fao.org/download/O/OA/E> (accessed on 7 May 2018).
4. Ciarmiello, L.F.; Woodrow, P.; Piccirillo, P.; De Luca, A.; Carillo, P. Transcription Factors and Environmental Stresses in Plants. In *Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance*, 1st ed.; Paraviz, A., Saiema, R., Eds.; Elsevier: Eastbourne, UK, 2014; Volume 1, pp. 19–40.
5. Kafantaris, I.; Woodrow, P.; Carillo, P. R gene expression changes related to *Cercosporahydrangeae* L. *Mol. Biol. Rep.* **2013**, *40*, 4173–4180. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Woodrow, P.; Pontecorvo, G.; Ciarmiello, L.F.; Annunziata, M.G.; Fuggi, A.; Carillo, P. Transcription factors and genes in abiotic stress. In *Crop Stress and Its Management: Perspectives and Strategies*; Springer Science: London, UK, 2012; pp. 317–357.
7. Hasegawa, P.M.; Bressan, R.A.; Zhu, J.K.; Bohnert, H.J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **2000**, *51*, 463–499. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Carillo, P.; Parisi, D.; Woodrow, P.; Pontecorvo, G.; Massaro, G.; Annunziata, M.G.; Fuggi, A.; Sulpice, R. Salt-induced accumulation of glycine betaine is inhibited by high light in durum wheat. *Funct. Plant Biol.* **2011**, *38*, 139–150. [[CrossRef](#)]
9. Guerriero, G.; Behr, M.; Hausman, J.F.; Legay, S. Textile Hemp vs. Salinity: Insights from a targeted gene expression analysis. *Genes* **2017**, *8*, 242. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Munns, R.; Tester, M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* **2008**, *59*, 651–681. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Annunziata, M.G.; Ciarmiello, L.F.; Woodrow, P.; Maximova, E.; Fuggi, A.; Carillo, P. Durum wheat roots adapt to salinity remodeling the cellular content of nitrogen metabolites and sucrose. *Front. Plant Sci.* **2016**, *7*, 2035. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Carillo, P.; Mastrolonardo, G.; Nacca, F.; Fuggi, A. Nitrate reductase in durum wheat seedling as affected by nitrate nutrition and salinity. *Funct. Plant Biol.* **2005**, *32*, 209–219. [[CrossRef](#)]
13. Ferchichi, S.; Hessini, K.; Dell'Aversana, E.; D'Amelia, L.; Woodrow, P.; Ciarmiello, L.F.; Fuggi, A.; Carillo, P. *Hordeum vulgare* and *Hordeummaritimum* responde to extended salinità stress displaying different temporal accumulation pattern of metabolites. *Funct. Plant Biol.* **2018**, *45*, 1096. [[CrossRef](#)]
14. Sakamoto, A.; Murata, N. The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: Clues from transgenic plants. *Plant Cell Environ.* **2002**, *25*, 163–171. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Di Martino, C.; Delfino, S.; Pizzuto, R.; Loreto, F.; Fuggi, A. Free amino acids and glycine betaine in leaf osmoregulation of spinach responding to increasing salt stress. *New Phytol.* **2003**, *158*, 455–463. [[CrossRef](#)]
16. Carillo, P.; Mastrolonardo, G.; Nacca, F.; Parisi, D.; Verlotta, A.; Fuggi, A. Nitrogen metabolism in durum wheat under salinity: Accumulation of proline and glycine betaine. *Funct. Plant Biol.* **2008**, *35*, 412–426. [[CrossRef](#)]
17. Chen, W.P.; Li, P.H.; Chen, T.H.H. Glycinebetaine increases chilling tolerance and reduces chilling-induced lipid peroxidation in *Zea mays* L. *Plant Cell Environ.* **2000**, *23*, 609–618. [[CrossRef](#)]
18. Chen, T.H.H.; Murata, N. Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: Mechanisms and biotechnological applications. *Plant Cell Environ.* **2011**, *34*, 1–20. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Mitsuya, S.; Kuwahara, J.; Ozaki, K.; Saeki, E.; Fujiwara, T.; Takabe, T. Isolation and characterization of a novel peroxisomal choline monooxygenase in barley. *Planta* **2011**, *234*, 1215–1226. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Rathinasabapathi, B.; Burnet, M.; Russell, B.L.; Gage, D.A.; Liao, P.C.; Nye, G.J.; Scott, P.; Golbeck, J.H.; Hanson, A.D. Choline monooxygenase, an unusual iron-sulfur enzyme catalyzing the first step of glycine betaine synthesis in plants: Prosthetic group characterization and cDNA cloning. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 3454–3458. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Russell, B.L.; Rathinasabapathi, B.; Hanson, A.D. Osmotic Stress induces expression of choline monooxygenase in sugar beet and Amaranth. *Plant Physiol.* **1998**, *116*, 859–865. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Meng, Y.L.; Wang, Y.M.; Zhang, D.B.; Naosuke, N.I.I. Isolation of a choline monooxygenase cDNA clone from *Amaranthus tricolor* and its expressions under stress conditions. *Cell Res.* **2001**, *11*, 187–193. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Wang, L.W.; Showalter, A.M. Cloning and salt-induced, ABA-independent expression of choline monooxygenase in *Atriplexprostrata*. *Physiol. Plant.* **2004**, *120*, 405–412. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

24. ISTAT (Istituto Nazionale di Statistica). Available online: <https://www.istat.it/it/agricoltura> (accessed on 9 January 2018).
25. Cuin, T.A.; Zhou, M.; Parsons, D.; Shabala, S. Genetic behavior of physiological traits conferring cytosolic K^+/Na^+ homeostasis in wheat. *Plant Biol.* **2012**, *14*, 438–446. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Woodrow, P.; Ciarmiello, L.F.; Annunziata, M.G.; Pacifico, S.; Iannuzzi, F.; Mirto, A.; d' Amelio, L.; Dell' Aversana, E.; Piccolella, S.; Fuggi, A.; et al. Durum wheat seedling responses to simultaneous high light and salinity involve a fine reconfiguration of amino acids and carbohydrate metabolism. *Phys. Plant.* **2016**, *159*, 290–312. [[CrossRef](#)]
27. Carillo, P. GABA shunt in durum wheat. *Front. Plant Sci.* **2018**, *9*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Woodrow, P.; Pontecorvo, G.; Fantaccione, S.; Fuggi, A.; Kafantaris, I.; Parisi, D.; Carillo, P. Polymorphism of a new Ty1-copia retrotransposon in durum wheat under salt and light stresses. *Theor. Appl. Genet.* **2010**, *121*, 311–322. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Woodrow, P.; Pontecorvo, G.; Ciarmiello, L.F.; Fuggi, A.; Carillo, P. Ttd1a promoter is involved in DNA-protein binding by salt and light stresses. *Mol. Biol. Rep.* **2011**, *38*, 3787–3794. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Blast. Available online: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>.
31. Tamura, K.; Stecher, G.; Peterson, D.; Filipiński, A.; Kumar, S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* **2013**, *30*, 2725–2729. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Yang, J.; Yan, R.; Roy, A.; Xu, D.; Poisson, J.; Zhang, Y. The I-TASSER Suite: Protein structure and function prediction. *Nat. Methods* **2015**, *12*, 7–8. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Ferraro, D.J.; Gakhar, L.; Ramaswamy, S. Rieske heme oxygenase: Structure-function of Rieske heme oxygenases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2005**, *338*, 175–190. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Iwata, S.; Saynovits, M.; Link, T.A.; Michel, H. Structure of a water soluble fragment of the 'Rieske' iron-sulfur protein of the bovine heart mitochondrial cytochrome bc₁ complex determined by MAD phasing at 1.5 Å resolution. *Structure* **1996**, *4*, 567–579. [[CrossRef](#)]
35. Zhang, C.; Freddolino, P.L.; Zhang, Y. COFACTOR: Improved protein function prediction by combining structure, sequence and protein-protein interaction information. *Nucleic Acids Res.* **2017**, *45*, W291–W299. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Yang, J.; Roy, A.; Zhang, Y. Protein-ligand binding site recognition using complementary binding-specific substructure comparison and sequence profile alignment. *Bioinformatics* **2013**, *29*, 2588–2595. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Ashraf, M.; Foolad, M.R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Exp. Bot.* **2007**, *59*, 206–216. [[CrossRef](#)]
38. Borrelli, G.; Ficco, D.; Giuzio, L.; Pompa, M.; Cattivelli, L.; Flagella, Z. Durum wheat salt tolerance in relation to physiological, yield and quality characters. *Cereal Res. Commun.* **2011**, *39*, 525–534. [[CrossRef](#)]
39. Landergot, U.; Naciri, Y.; Schneller, J.J.; Holderegger, R. Allelic configuration and polysomic inheritance of highly variable microsatellites in tetraploid gynodioecious *Thymus praecox* agg. *Theor. Appl. Genet.* **2006**, *113*, 453–465. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Laemmli, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **1970**, *227*, 680–685. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Kalyna, M.; Simpson, C.G.; Syed, N.H.; Lewandowska, D.; Marquez, Y.; Kusenda, B.; Marshall, J.; Fuller, J.; Cardle, L.; McNicol, J.; et al. Alternative splicing and nonsense-mediated decay modulate expression of important regulatory genes in Arabidopsis. *Nucleic Acids Res.* **2012**, *40*, 2454–2469. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Syed, N.H.; Kalyna, M.; Marquez, Y.; Barta, A.; Brown, J.W.S. Alternative splicing in plants—coming of age. *Trends Plant Sci.* **2012**, *17*, 616–623. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Mano, S.; Hayashi, M.; Nishimura, M. A leaf-peroxisomal protein, hydroxypyruvate reductase, is produced by light-regulated alternative splicing. *Cell Biochem. Biophys.* **2000**, *32*, 147–154. [[CrossRef](#)]
44. Fisher, A.J.; Franklin, K.A. Chromatin remodelling in plant light signalling. *Physiol. Plant.* **2011**, *142*, 305–313. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Mano, S.; Yamaguchi, K.; Hayashi, M.; Nishimura, M. Stromal and thylakoid-bound ascorbate peroxidases are produced by alternative splicing in pumpkin. *FEBS Lett.* **1997**, *413*, 21–26. [[CrossRef](#)]
46. Wu, H.P.; Su, Y.S.; Chen, H.C.; Chen, Y.R.; Wu, C.C.; Lin, W.D.; Tu, S.L. Genome-wide analysis of light-regulated alternative splicing mediated by photoreceptors in *Physcomitrella patens*. *Genome Biol.* **2014**, *15*, R10. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

47. International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC). A chromosome-based draft sequence of the hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum*) genome. *Science* **2014**, *345*, 6194. [[CrossRef](#)]
48. Koszul, R.; Cabouret, S.; Dujon, B.; Fischer, G. Eukaryotic genome evolution through the spontaneous duplication of large chromosomal segments. *EMBO J.* **2004**, *23*, 234–243. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Comai, L. The advantages and disadvantages of being polyploid. *Nat. Rev. Genet.* **2005**, *6*, 836–846. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Soltis, P.S.; Soltis, D.E. The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 7051–7057. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Cronn, R.C.; Small, R.L.; Wendel, J.F. Duplicated genes evolve independently after polyploid formation in cotton. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 14406–14411. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Hibino, T.; Waditee, R.; Araki, E.; Ishikawa, H.; Aoki, K.; Tanaka, Y.; Takabe, T. Functional characterization of choline monooxygenase, an enzyme for betaine synthesis in plants. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 41352–41360. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



© 2018 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Posizioni attribuite al Dottorato di Ricerca in Scienze Biomolecolari

TABELLA					
DISTRIBUZIONE SUL PROGRAMMA "VALERE" DELLE BORSE AGGIUNTIVE DI DOTTORATO DI RICERCA PER IL XXXIII E XXXIV CICLO					
DOTTORATO	Valere 2017 XXXIII ciclo		Valere 2018 XXXIV ciclo		Totale
	Borse Addizionali Valere Plus finalizzati a studenti che hanno conseguito il titolo di studio all'estero	Borse Ordinarie Programma Valere Plus	Borse Addizionali Valere Plus finalizzati a studenti che hanno conseguito il titolo di studio all'estero	Borse Ordinarie Programma Valere Plus	
SCIENZE BIOMOLECOLARI <i>(Coord. A. RICCIO)</i>	2	1	2	1	6

Breve descrizione delle borse aggiuntive attivate nell'ambito del Dottorato di ricerca in Scienze Biomolecolari per il XXXIII e XXXIV ciclo sul programma VALERE PLUS

Il corso di Dottorato in Scienze Biomolecolari dell'Università degli studi della Campania Luigi Vanvitelli ha beneficiato, per il XXXIII e XXXIV ciclo, delle risorse messe a disposizione dall'Ateneo nell'ambito del programma "VALERE" plus. In particolare, per il XXXIII ciclo, sono state assegnate due borse aggiuntive per il concorso riservato a studenti che hanno conseguito il titolo di studio all'estero. Tali risorse si sono aggiunte alla borsa per concorso riservato attivata su fondi CNR sulla base della convenzione in essere con il Dottorato in Scienze Biomolecolari. Relativamente alle borse destinate al concorso non riservato, è stata attivata per il XXXIII ciclo una borsa sui fondi VALERE plus che si è aggiunta alle 6 borse ordinarie, di cui 5 attivate sui fondi di Ateneo ed 1 in convenzione con il CNR.

Nell'ambito del XXXIV ciclo, sono state ugualmente assegnate sui fondi VALERE plus due borse aggiuntive per il concorso riservato a studenti che hanno conseguito il titolo di studio all'estero ed una destinata al concorso non riservato oltre alle 11 borse ordinarie, di cui 6 attivate sui fondi di Ateneo, 2 in convenzione con il CNR, 1 finanziata dall'IRCCS "Casa Sollievo della Sofferenza" e 2 bandite su progetti POR.

Complessivamente, le risorse aggiuntive finanziate nell'ambito del programma "VALERE" plus hanno potenziato la dimensione internazionale del Dottorato di ricerca in Scienze Biomolecolari mediante attrazione di candidati con il titolo di studio d'accesso conseguito in terra straniera. Ulteriori benefici sono inoltre derivati dalla possibilità di usufruire di risorse aggiuntive per le borse ordinarie da destinare a giovani ricercatori ampliando la competitività del Dottorato stesso sul piano nazionale ed internazionale.