

Titolo

Protocollo diagnostico per il fitoplasma 'Candidatus Phytoplasma mali', agente degli scopazzi del melo-Apple proliferation (AP)

Descrizione estesa del risultato

Gli scopazzi del melo sono una grave malattia ad eziologia fitoplasmatica che induce gravi perdite di produzione di tipo qualitativo e quantitativo in tutti gli areali italiani di coltivazione del melo. Il patogeno è inserito nella Direttiva europea 2000/29 come organismo nocivo da quarantena ed è oggetto di un Decreto di Lotta Obbligatoria D.M. 23 febbraio 2006. Pertanto il fitoplasma è soggetto a normative fitosanitarie che prevedono, tra l'altro, l'immediata estirpazione delle piante infette. Essendo, inoltre, i fitoplasmi patogeni di tipo sistemico per i quali non è possibile alcun intervento di tipo chimico, il loro controllo è basato sull'applicazione di tutte le norme atte a prevenire la loro introduzione e/o la loro diffusione in campo. In questo contesto la disponibilità di sistemi diagnostici sensibili e specifici è prerogativa a qualsiasi sistema di contenimento. Inoltre, secondo le recenti disposizioni europee, i laboratori fitosanitari preposti alla diagnosi degli organismi nocivi da quarantena devono essere inseriti all'interno di reti laboratoristiche nazionali ed europee, che utilizzano sistemi diagnostici armonizzati e validati secondo normativa ISO 17025. Nell'ambito del progetto ARNADIA, è stato prodotto un protocollo di diagnosi per l'identificazione di AP comprendente due diverse metodologie molecolari: una PCR convenzionale (PCR-diretta seguita PCR-nested) e un protocollo di real time PCR, basato su chimica SYBR® Green. Il protocollo comprende anche un flusso di lavoro per la scelta del metodo molecolare da utilizzare per l'identificazione del fitoplasma a partire da matrice vegetale (foglia e/o sottocorticale) a seconda del tipo di campione da valutare e della stagione vegetativa in cui viene effettuata l'analisi. Per ciascun metodo sono stati calcolati i parametri di validazione ISO 17025: sensibilità analitica, sensibilità e specificità diagnostica, accuratezza, ripetibilità e riproducibilità. Per definire il protocollo finale è stato istituito un Gruppo di lavoro, coordinato dal CRA-PAV, costituito dalle principali istituzioni scientifiche italiane coinvolte nello studio di malattie da fitoplasmi (Università di Milano, Università di Udine, Università di Bologna, CNR-IVV di Torino). Diversi protocolli molecolari pubblicati su riviste scientifiche a carattere internazionale sono stati messi a confronto nei diversi laboratori sulla base del calcolo dei parametri di validazione inclusi nella normativa ISO 17025. Tutti i protocolli sono stati valutati utilizzando un panel di campioni di riferimento target (AP-positivi) e non-target (specie ospiti del fitoplasma esenti da infezione, altri fitoplasmi e batteri filogeneticamente vicini ad AP, batteri patogeni delle pomacee). Una volta selezionati i metodi da includere nel protocollo finale, questi sono stati oggetto di un ringtest tra i Laboratori dei Servizi Fitosanitari regionali, per la dimostrazione dell'efficacia dei metodi selezionati, definita analiticamente mediante il calcolo del parametro di validazione della riproducibilità.

Il protocollo definitivo, una volta approvato dal Comitato Fitosanitario nazionale del MiPAAF, è stato messo a disposizione su piattaforma informatica (www.strateco.it), risultando, pertanto immediatamente accessibile e fruibile da Enti di Ricerca e tutti i laboratori fitosanitari preposti, in Italia, all'analisi di campioni vegetali.

Il protocollo è immediatamente utilizzabile dai laboratori di analisi italiani autorizzati alla diagnosi di patogeni da quarantena.

Per qualsiasi chiarimento o approfondimento è possibile contattare il referente della scheda descritta.

Responsabile del risultato

GRAZIELLA PASQUINI
Via C. G. Bertero, 22, 00156 – ROMA ()
Tel.: +39-06-820701
E-mail: graziella.pasquini@crea.gov.it

Anno

2014

Classificazione del risultato

Comparto produttivo: Produzioni vegetali fresche e trasformate
COMPARTO FRUTTICOLO
Frutticole comuni e produzioni derivate

Particolari categorie di prodotti/comparti produttivi: PARTICOLARI CATEGORIE DI PRODOTTI IN GENERALE
Particolari categorie di prodotti/comparti produttivi in generale

Categorie di ambiti di ricerca: TEMATICHE TECNICHE SU SPECIFICHE FASI DELLE FILIERE
PRODUTTIVE
Piante, coltivazione e produzione primaria (varietà, genetica, coltivazione biologica, agrotecniche, difesa, ecc.)
DIFESA E RELATIVI INPUT
Difesa e relativi input in generale

Parole chiave

pomacee, protocolli, diagnostica, fitoplasmi/fitoplasmosi

Trasferibilità del risultato

Si, trasferibilità immediata

Natura del risultato

di prodotto

Aree interessate

Aree a clima mediterraneo
Aree montane
Abruzzo
Basilicata
Calabria
Campania
Emilia Romagna

Friuli-Venezia Giulia
Lazio
Liguria
Lombardia
Marche
Molise
Piemonte
Provincia Aut. di Bolzano
Provincia Aut. di Trento
Puglia
Sardegna
Sicilia
Toscana
Umbria
Valle d'Aosta
Veneto

Impatto dal punto di vista tecnico

gestione delle informazioni su scala territoriale e per diversi scenari
ottimizzazione delle attività produttive
razionalizzazione delle tecniche di difesa

Impatto dal punto di vista socioeconomico

miglioramento qualitativo
aumento competitività
estensione della commercializzazione delle produzioni

Impatto dal punto di vista ambientale

aumento e conservazione sostenibilità dell'attività agricola
sostenibilità ambientale delle produzioni
altro

Presupposti di contesto

formazione imprenditori/lavoratori
impianti/attrezzatura/laboratori specifici
personale specializzato

Soggetti istituzionali da coinvolgere

Servizi Fitosanitari Regionali
Parco scientifico e tecnologico
Università

Ditte vivaistiche
Laboratori di analisi
Enti di ricerca

Potenziali utilizzatori

Laboratori pubblici per la qualità alimentare
Laboratori di analisi
Servizi Fitosanitari Regionali
Enti di ricerca
Università

Modalità di diffusione

Sito web/internet
Da individuare di concerto con i referenti istituzionali e non che occorre coinvolgere
Corsi di formazione

Pubblicazioni

Pasquini, G.; Bertaccini, A.; Bianco, P. A.; Casati, P.; Costantini, E.; Ferretti, L.; Gentili, A.; Martini, M.; Marzachi, C.; Palmano, S.; Paltrinieri, S.; Barba, M. (2013): Progetto ARNADIA: definizione di protocolli nazionali di diagnosi per 'Candidatus Phytoplasma mali' e 'Candidatus Phytoplasma prunorum', Vol. 23 p. 171-178

Progetto / Ricerca di riferimento

Titolo del progetto

Armonizzazione della diagnosi e valutazione del rischio di patogeni da quarantena e nocivi ai vegetali e ai prodotti vegetali - ARNADIA-ARON

Coordinatore del progetto

MARINA BARBA
Via C.G. Bertero 22, 00156 – ROMA ()
Tel.: +39-06-820701
E-mail: marina.barba@crea.gov.it

Ente finanziatore

DISR 5 - Servizio fitosanitario centrale, produzioni vegetali

Breve descrizione del progetto e dei suoi obiettivi

Il Progetto si articola in due sottoprogetti come di seguito indicato:

1. Sottoprogetto ARNADIA

Questo sottoprogetto si propone di definire ed armonizzare protocolli di diagnosi per la identificazione dei principali patogeni vegetali agenti di malattie economicamente rilevanti e/o coperti da norme fitosanitarie attraverso la cooperazione tra diverse Istituzioni scientifiche nazionali.

Per ogni patogeno preso in considerazione tre Istituzioni scientifiche nazionali notoriamente competenti sull'argomento verranno coinvolte nelle attività. Una struttura scientifica coordinerà la messa a punto del protocollo diagnostico, che verrà verificato attraverso l'effettuazione di un ringtest finale nei laboratori delle tre istituzioni scientifiche e, quando possibile, verrà validato su un numero molto elevato di isolati da parte di uno dei laboratori coinvolti o da parte di un laboratorio accreditato per la diagnosi fitosanitaria.

Per alcuni dei patogeni presi in considerazione verranno provati e validati protocolli già disponibili a livello europeo sugli isolati rinvenuti nel territorio nazionale ed eventuali punti critici verranno implementati e ottimizzati. Ciò consentirà di ottenere proposte di aggiornamento per l'adeguamento dei protocolli alla luce delle nuove conoscenze scientifiche acquisite.

Per altri patogeni sarà invece necessaria la messa a punto di nuovi protocolli che tengano conto della variabilità molecolare del patogeno stesso e delle più recenti tecnologie riportate nella diagnostica. Il protocollo scelto dovrà infatti rispondere ai requisiti di: sensibilità, riproducibilità, facilità e brevità di esecuzione ma, soprattutto, alla specificità nell'individuare tutte le varianti. Ciò allo scopo di evitare la diffusione di ceppi particolarmente virulenti o di introdurre nuove varianti, che possono avere un impatto negativo nel nuovo ambiente di introduzione.

2. Sottoprogetto ARON

Il Sottoprogetto ARON si occuperà degli aspetti epidemiologici e di impatto economico di:

- organismi nocivi di recente segnalazione ed introduzione nel territorio nazionale, e per questo denominati emergenti;
- ceppi particolarmente aggressivi di patogeni già presenti sul nostro territorio, selezionatisi nell'arco degli anni e che stanno, attualmente, compromettendo alcune colture importanti e per questo denominati riemergenti;
- ceppi ricombinanti di alcuni patogeni le cui proprietà biologiche hanno subito modifiche per interazioni genetiche naturali (ricombinazione genetica) a seguito della coesistenza di specie o ceppi diversi sullo stesso ospite, definiti varianti emergenti
- organismi già noti dei quali è sempre più evidente e consistente l'attività nociva, a causa di nuove condizioni che scaturiscono da alterati andamenti climatici o dalla presenza di ospiti o di tecniche colturali di recente introduzione.

U.O. / Partner coinvolti nella realizzazione del risultato

Non sono presenti Unità operative collegate al risultato

Referenti istituzionali già coinvolti nella ricerca

Non sono presenti Referenti già coinvolti per il risultato