



Regione Lombardia

DIREZIONE GENERALE AGRICOLTURA, ALIMENTAZIONE E SISTEMI VERDI

Struttura Servizi alle imprese agricole e multifunzionalità

**SCHEDA INIZIALE PROGETTO DI RICERCA**

<b>Comparto prevalente</b>	Florovivaistico
<b>Titolo</b>	GENI BARCODING: diagnosi di patogeni per un verde sicuro
<b>Acronimo</b>	<b>GARDING</b>
<b>Sintesi progetto a cura del Proponente</b>	<p>L'impiego di misure di controllo per la circolazione del materiale vegetale è uno strumento essenziale per evitare l'introduzione di patogeni in nuovi areali, nei quali possono avere effetti devastanti. Queste misure di controllo vanno però incontro a molteplici limitazioni tecniche (imposte dai protocolli utilizzati) e pratiche (la necessità di commerciare materiale vegetale) che possono rendere difficoltoso raggiungere i necessari livelli di tutela dell'ambiente nei confronti di nuovi patogeni. Non potendo applicare una politica a "rischio zero" che blocchi del tutto l'importazione di materiale vegetale dall'esterno, una migliore tutela può essere ottenuta tramite l'implementazione di nuove tecniche diagnostiche, caratterizzate da una migliore efficienza e da tempistiche più brevi rispetto a quelle utilizzate attualmente. Il progetto si prefigge l'obiettivo di mettere a punto protocolli sensibili, accurati, rapidi, e ripetibili che utilizzino tecnologie di Next Generation Sequencing (NGS) per l'individuazione di patogeni da quarantena in piante d'importazione. Il progetto intende innanzitutto costruire un protocollo solido utilizzando numerosi campioni sperimentali contenenti acidi nucleici estratti da diversi organi di piante sane, mescolati a titolo noto con DNA di patogeni da quarantena di natura fungina o batterica (quali <i>Phytophthora ramosum</i> o <i>Xylella fastidiosa</i>), per valutare la sensibilità, accuratezza, e ripetibilità delle analisi svolte con i sequenziatori NGS. Durante il primo anno di progetto, si metterà a punto il protocollo per l'utilizzo di sequenziatori Illumina, amplificando una porzione di gene 16S rRNA (per i batteri) o ITS (per i funghi) in modo da ottenere un'identificazione delle specie presenti tramite una tecnica denominata metabarcoding. Questo approccio, utilizzando un gene target altamente conservato ed aspecifico, permetterà di individuare la presenza di microrganismi non-target all'interno del campione e quindi, possibilmente, di individuare anche patogeni che non vengono ricercati attivamente e possono passare inosservati ad altri metodi diagnostici. In parallelo, si procederà anche con l'individuazione in piante infettate in condizioni controllate con virus (es. <i>Impatiens Necrotic Spot Virus</i>) tramite sequenziamento dei piccoli RNA utilizzando la stessa piattaforma Illumina. Nel secondo anno, invece, si procederà con la messa a punto di un protocollo che utilizzi il sequenziatore portatile di terza generazione, MinION. In questo caso le analisi verranno svolte non tramite metabarcoding, ma amplificando specificamente porzioni di DNA dei patogeni in esame, che verranno poi sequenziate per ottenere una diagnosi in tempo reale. Tutti i risultati ottenuti in questa fase iniziale del progetto verranno validati mediante confronto con i protocolli attuali per la valutazione della presenza di patogeni da</p>

	<p>quarantena emessi dall'EPPO. Una volta messi a punto e validati i protocolli, durante il terzo anno si procederà con la valutazione di campioni non più ottenuti in laboratorio, ma presi dalle realtà produttive e ambientali della Lombardia. In particolare si lavorerà su piante ornamentali d'importazione, fornite dall'azienda partner Vivai Nord, e su campioni ambientali ottenuti da piante arboree presenti nei parchi della regione.</p> <p>I dati ottenuti dal progetto permetteranno di individuare nuove strategie che potranno essere impiegate nell'ambito della patologia vegetale per individuare in maniera tempestiva patogeni di nuova introduzione sul territorio. I risultati ottenuti potranno fornire importanti evidenze sperimentali a supporto dell'utilizzo di queste nuove tecnologie nel contesto dei patogeni da quarantena e potranno individuare quali siano le criticità nell'implementazione di queste tecniche nella diagnosi di routine. Inoltre, i dati ottenuti saranno utili per lo sviluppo di un database apposito e di una pipeline che possa ottimizzare i tempi e la qualità dell'analisi della grande mole di dati ottenuti dai sequenziatori, in modo da poter essere maggiormente fruibili dagli enti preposti al controllo fitosanitario in un futuro prossimo.</p>
<b>Durata progetto (mesi)</b>	36; Avvio progetto: luglio 2020
<b>Respons. progetto</b>	Prof. Massimo Delledonne – Università degli Studi di Verona
<b>Respons. scientifico</b>	Prof. Massimo Delledonne – Università degli Studi di Verona
<b>Partner</b>	Università degli Studi Milano Vivai Nord snc
<b>Collegamenti ad altri progetti</b>	Protocolli operativi di lotta integrata e biologica per il contenimento di <i>Tomato Spotted Wilt Virus</i> (TSWV) e tripidi vettori su insalate destinate alla filiera di IV Gamma – PROVIRVE. (FEASR – Programma di Sviluppo Rurale 2014-2020)
<b>Valore totale progetto €</b>	555.085,90
<b>Spesa a carico del bilancio regionale €</b>	443.566,49
<b>Compartecipazione € e %</b>	111.519,41 - 20,09%
<b>Anno di approvazione</b>	d.d.s. 05 marzo 2020 - n. 2955