CREA – Centro di ricerca per la frutticoltura

Giornate Scientifiche SOI 2016

Bolzano 14-16 settembre 2016

Workshop sul Vivaismo Frutticolo (14 settembre ore 15.45-18.00)

Evoluzione scientifica e tecnologica nel vivaismo frutticolo alla luce del nuovo quadro normativo europeo

Moderatore ed Introduzione
Daniele Bassi – Dipartimento di Scienze Agrarie ed Ambientali, Milano

La qualificazione dei materiali di propagazione delle specie fruttifere nel rispetto delle nuove normative comunitarie
Bruno Caio Faraglia e Paolo Giorgetti - Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali DISR V – Servizio fitosanitario centrale, produzioni vegetali

Approcci molecolari per l'accertamento varietale nei fruttiferi
Ignazio Verde - CREA, Centro di ricerca per la frutticoltura, Roma
Marco Pancaldi – CAV, Centro attività vivaistiche, Tebano

Nuovi orizzonti nella diagnostica degli organismi nocivi e aspetti applicativi
Angelantonio Minafra e Pasquale Saldarelli - CNR - Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante – IPSP, Bari

La micropropagazione per la produzione massale e la crioconservazione del germoplasma frutticolo
Emilia Caboni - CREA, Centro di ricerca per la frutticoltura, Roma
Maurizio Lambardi – CNR – Istituto per la valorizzazione del legno e delle specie arboree, Sesto Fiorentino (FI)

Evoluzione delle tipologie delle piante fruttifere commercializzate
Alessio Martinelli – CIV, Consorzio Italiano Vivaisti, S. Giuseppe di Comacchio (FE)
Luigi Catalano – CIVI-Italia, Roma

La qualità dei materiali di propagazione dei fruttiferi: un concetto più ampio rispetto ai criteri normati
Davide Neri - CREA, Centro di ricerca per la frutticoltura, Roma

Interventi e discussione

Il workshop dopo una relazione introduttiva, che farà il punto sul recepimento della DIRETTIVA 2014/98/UE per quanto riguarda i requisiti specifici per il vivaismo e la commercializzazione delle specie da frutto e le norme riguardanti la certificazione dei materiali di pre-base, dei materiali di base e dei materiali certificati, svilupperà le basi scientifiche e tecniche di alcune innovazioni del vivaismo frutticolo.

La qualificazione dei materiali di propagazione delle specie fruttifere nel rispetto delle nuove normative comunitarie

Bruno Caio Faraglia e Paolo Giorgetti - Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali

DISR V – Servizio fitosanitario centrale, produzioni vegetali

La diffusione degli organismi nocivi è strettamente legata allo spostamento dei materiali vegetali ospiti connesso alla produzione ed al commercio di piante. Gli schemi di produzione certificata delle piante rappresentano una delle principali misure di mitigazione del rischio fitosanitario. Nel presente lavoro vengono affrontati gli aspetti principali di tali sistemi, nazionali ed europei e i cambiamenti normativi in atto, evidenziandone gli aspetti di qualità e i punti critici.

La recente modifica del quadro normativo, con l'introduzione di un livello di certificazione europeo, richiede un riassetto dell'organizzazione a livello nazionale e offre una buona opportunità per la piena valorizzazione del nostro sistema produttivo.

Una corretta organizzazione del settore vivaistico presuppone una stretta interconnessione tra tutti i soggetti interessati ed un buon livello di coordinamento delle attività di ognuno. La recente istituzione del Gruppo di lavoro permanente per la protezione delle piante, consentirà alle amministrazioni pubbliche, agli enti di ricerca, alle Università, ai rappresentanti delle Regioni, a alle associazioni di settore e alle organizzazioni agricole, di confrontarsi e condividere un approccio collettivo per la gestione dell'intero settore.

Il tavolo rappresenterà l'elemento chiave per promuovere il sistema vivaistico italiano nei confronti dei nostri competitor internazionali.

Approcci molecolari per l'accertamento varietale nei fruttiferi

Ignazio Verde - CREA, Centro di ricerca per la frutticoltura, Roma

Marco Pancaldi – CAV, Centro attività vivaistiche, Tebano

Keywords: SSR, prove DUS, Specie da Frutto, Marcatori Molecolari, Fingerprinting.

Attualmente i microsatelliti o SSR (Simple Sequence Repeat) rappresentano i marcatori di elezione nelle analisi di DNA fingerprinting: altamente polimorfici con molti alleli a un singolo locus, basati

sulla PCR, analizzabili in multiplex e distribuiti uniformemente nei genomi. I criteri di scelta di questi marcatori dovrebbero essere improntati ai seguenti aspetti: alto potere discriminante (multiallelico), singolo locus, facile lettura (assenza di bande stutter), distribuzione uniforme nel genoma (marcatori non strettamente associati), facilità di multiplexing. Un aspetto da considerare è anche la lunghezza del motivo ripetuto. I microsatelliti a motivo ripetuto più lungo risultano meno frequenti e anche meno polimorfici dei dinucleotidici ma hanno il vantaggio di essere facilmente leggibili per l'assenza di bande stutter e per la maggior lunghezza dei motivi ripetuti che permettono una più facile identificazione degli alleli anche in esperimenti condotti da laboratori diversi.

Passando a trattare gli aspetti più pratici del DNA fingerprinting va evidenziato che in Italia, ma anche in altri paesi quali Francia e Spagna, la tecnica dei microsatelliti inizia a essere accettata da alcuni tribunali quale strumento probatorio in sede di disputa per dimostrare la moltiplicazione abusiva di materiale vegetale protetto da privativa. In questo caso è importante che il campione sospettato di frode commerciale sia messo a confronto con la pianta certa di riferimento della varietà per cui l'ideale è appoggiarsi a laboratori che - come nel caso del CAV - dispongano delle fonti, ovvero dei materiali capostipiti usati per la registrazione delle varietà al Registro nazionale della certificazione genetico – sanitaria. La disponibilità di ampi database SSR con le frequenze alleliche per la specie indagata è altresì un requisito importante per dare indicazioni di probabilità in caso di identità tra genotipi ritenuti diversi.

In sede UPOV è inoltre attivo il gruppo di lavoro BMT (Biochemical and Molecular Techniques) che sta valutando come il DNA fingerprinting possa essere integrato nelle prove di campo DUS (distinguibilità, uniformità e stabilità) a fianco dei descrittori morfo-fenologici.

I continui sviluppi della genomica e la costante riduzione dei costi aprono infine la strada anche ad approcci più potenti che includono l'uso dei Single Nucleotide Plymorphism (SNP) come marcatori e delle tecnologie di Next Generation Sequencing (NGS).

Nuovi orizzonti nella diagnostica degli organismi nocivi e ricadute applicative

Angelantonio Minafra e Pasquale Saldarelli

Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante (IPSP) – CNR - Bari

Gli sviluppi nelle tecnologie di sequenziamento ad alta processività e nella analisi bioinformatica aprono nuove prospettive nella scoperta e diagnosi di virus e viroidi delle piante. Nuovi virus sono descritti con una frequenza dapprima inimmaginabile sia associati a malattie nuove o già note come pure in piante asintomatiche.

Lo studio delle malattie virali delle piante ne ha largamente beneficiato, consentendo di risolvere eziologie restate a lungo irrisolte ma, allo stesso tempo la mole di informazioni e la velocità con cui sono generate richiede grandi sforzi di indagine biologica successiva alla scoperta.

Inoltre l'identificazione di nuovi agenti virali, di cui non si conosce ancora appieno il grado di patogenicità, pone interrogativi relativi al loro impatto sulla biosicurezza, sugli scambi commerciali internazionali e sulla legislazione che regola la propagazione vivaistica e la sua certificazione.

E' indubbio che queste tecnologie rappresentano una svolta nella diagnosi degli organismi nocivi consentendoci di ottenere una istantanea sull'intero contenuto di virus e viroidi che si replicano in una pianta, senza dover disporre di informazioni preliminari. Così come è facile prevederne un futuro impiego su più ampia scala e con costi più contenuti. Il loro pieno potenziale si manifesta in tutte le fasi di produzione del materiale di propagazione vegetale, con maggior benefici per le specie legnose che, se soggette a innesto e/o propagazione vegetativa, perpetuano tali agenti talvolta anche in maniera asintomatica. In queste specie l'indagine metagenomica si propone in sostituzione dei saggi biologici, consentendo di ridurre tempi e costi nel licenziamento di nuove varietà o selezioni clonali. L'indagine metagenomica del materiale vegetale capostipite consente di definire uno stato sanitario "superiore" altrimenti non raggiungibile con le tecniche sierologiche e molecolari correntemente utilizzate, che essenzialmente mirano a rilevare specificamente i singoli patogeni noti. Al contrario, l'utilizzo di tali tecniche a "valle", in pieno campo permette di giungere ad una diagnosi rapida nel caso di patologie dalla eziologia ignota. Le tecniche di sequenziamento massale infine risultano molto efficaci nella diagnosi di patogeni da quarantena o organismi alieni, di grande importanza per gli aumentati movimenti globali di materiale vegetale, che sempre più frequentemente minacciano l'agricoltura europea e nazionale.

Questo nuovo paradigma diagnostico richiede una accurata analisi delle implicazioni biologiche e patologiche del "viroma" delle piante a causa della sua elevata ed inattesa complessità. Principi di associazione eziologica, di coinfezione di varianti molecolari e di sinergie fra differenti agenti patogeni devono essere rivisti alla luce di questi nuovi scenari nei quali inserire il ruolo di specifici 'agenti chiave' nella genesi della malattia. E' richiesto pertanto da parte dei diversi attori del sistema vivaistico (autorità di controllo, ricerca, servizi fitosanitari e operatori imprenditoriali) uno sforzo di comprensione delle potenzialità di queste tecniche e dei vantaggi che, dal loro utilizzo, potrebbero generarsi.

La micropropagazione per la produzione massale, la conservazione e il risanamento del germoplasma frutticolo

Emilia Caboni[1], *Maurizio Lambardi*[2]

[1]Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria, Centro di ricerca per la frutticoltura (CREA-FRU), [2]Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto per la Valorizzazione del Legno e delle Specie Arboree (CNR-IVALSA),

La micropropagazione e le tecnologie in vitro, in generale, sono da tempo diventati strumenti di straordinaria importanza per la propagazione e la conservazione del germoplasma frutticolo. A livello vivaistico, ad esempio, la micropropagazione garantisce oggi la produzione di oltre 30 milioni di piante di elevata qualità genetico-sanitaria, con procedure sviluppate in circa 25 laboratori commerciali, distribuiti in modo relativamente omogeneo sul territorio nazionale.

Circa i ¾ di questa produzione sono portinnesti e varietà da frutto, settore nel quale l'Italia vanta una leadership di esperienza ed efficienza, riconosciuta a livello mondiale. La sperimentazione nel settore è svolta in numerosi laboratori afferenti alle diverse istituzioni di ricerca (Università, CNR, CREA, ENEA, agenzie regionali e altri enti pubblici) e contribuisce a produrre innovazione tecnologica e nuove procedure, spesso attraverso proficue collaborazioni con il settore commerciale. L'attività si svolge ad ampio raggio, ma con particolare attenzione allo sviluppo di nuovi sistemi di coltura (quale, ad esempio, la coltura liquida in immersione temporanea) e al miglioramento del processo micropropagativo di specie "recalcitranti", quale, attualmente, il nocciolo. Questo positivo "fermento sperimentale" ha di recente prodotto un manuale SOI, ricco di informazioni derivanti dalla pratica quotidiana dei laboratori di coltura in vitro, alla stesura del quale hanno collaborato oltre 140 autori. La micropropagazione è, inoltre, uno strumento di strategica importanza nella preservazione del germoplasma frutticolo, attraverso l'applicazione di tecniche di conservazione a medio (coltura in crescita rallentata) e lungo termine (crioconservazione) di germogli e microgemme provenienti da vitrocoltura. E', inoltre, da ricordare che la conservazione in azoto liquido potrebbe diventare un interessante sistema di risanamento del germoplasma da virus, batteri e fitoplasmi; questa tecnica, denominata crioterapia, è stata recentemente introdotta nell'attività sperimentale dei laboratori di ricerca e richiede ulteriori conferme sulla sua effettiva efficacia e sulle possibilità di trasferimento alla pratica vivaistica.

Evoluzione delle tipologie delle piante fruttifere commercializzate

Alessio Martinelli – CIV, Consorzio Italiano Vivaisti, S. Giuseppe di Comacchio (FE)

Luigi Catalano – CIVI-Italia, Roma

Il vivaismo frutticolo da sempre ricopre un ruolo chiave per l'evoluzione dell'intera filiera frutticola.

Si pensi all'adozione e proposizione di nuovi portinnesti che hanno permesso la realizzazione di sistemi di allevamento ad alta densità, piuttosto che all'innovazione varietale che permette lo sviluppo della frutticoltura a tutte le latitudini, con lunghi calendari di maturazione.

Anche la qualità del materiale di propagazione commercializzato offre la possibilità di optare per produzioni garantite, prodotte volontariamente nell'ambito di programmi ufficiali di certificazione o per iniziativa di singole organizzazioni.

Circa le caratteristiche morfologiche delle piante prodotte, l'astone tradizionale - innestato o autoradicato, rappresenta solo una delle innumerevoli varianti tra le quali può scegliere il frutticoltore.

La formazione della pianta può essere parzialmente o totalmente eseguita in vivaio, offrendo così un ulteriore servizio di alto valore al frutticoltore.

Il vivaismo professionale è in grado di soddisfare appieno l'esigenza dei frutticoltori per la realizzazione di sistemi d'impianto e di allevamento che permettano il raggiungimento di performance produttive di alta qualità e redditizie.

La qualità dei materiali di propagazione dei fruttiferi: un concetto più ampio rispetto ai criteri normati

Davide Neri - CREA, Centro di ricerca per la frutticoltura, Roma

La disponibilità di nuovi materiali e nuove tecniche di propagazione obbliga a considerare in modo nuovo oltre allo stato sanitario e alla corrispondenza genetica anche la qualità agronomica del materiale e la sua vocazione verso cicli produttivi innovativi e programmati.

Lo stato fisiologico e riproduttivo, la manifestazione di comportamenti epigenetici quali il rinvigorimento e il ringiovanimento, la plasticità delle radici e la loro reattività dopo il trapianto sono fattori importanti per ottenere rapide crescite e veloce entrata in produzione.

Per alcune specie come la fragola e il lampone la piante programmata in vivaio diventa oggi essenziale per colture fuori suolo e fuori stagione. Il controllo della differenziazione a fiore e dell'architettura della pianta in vivaio determina il risultato economico dell'intero ciclo produttivo.