

Ricerca corrente IZSve 13/14

Cambiamenti climatici e nuovi patogeni negli allevamenti di ostrica concava: sviluppo e valutazione di nuovi metodi diagnostici per la ricerca di *Vibrio aestuarianus*, *Vibrio splendidus*, OsHV-1 e relative varianti

Responsabile Scientifico: Giuseppe Arcangeli

In Italia, la produzione di molluschi bivalvi si basa principalmente su due specie: *Mytilus galloprovincialis* e *Ruditapes philippinarum* per un totale di circa 120.00 tonnellate (Mediterranean Aquaculture Producers Association - AMA 2013). Per questo motivo l'acquacoltura nazionale è vulnerabile e in questi ultimi anni è iniziato un tentativo di diversificare la produzione. Una scelta potrebbe essere l'allevamento di ostriche della specie *Crassostrea gigas*, la quale risulta più produttiva rispetto a *Ostrea edulis*, che cresce più lentamente ed è influenzata da malattie come *marteiliosi* e *bonamiosi*, endemiche in Italia. L'allevamento di *C. gigas* presenta però altri problemi, come ad esempio la cosiddetta "mortalità estiva". Lo studio dei casi di mortalità in *Crassostrea gigas* è in continua evoluzione dal momento che ci sono diverse teorie riguardanti le cause scatenanti. Negli ultimi anni la ricerca ha cambiato più volte direzione, inizialmente indicando come unica causa di mortalità una singola variante di *Ostreid Herpes Virus 1* (OsHV-1 μ Var), successivamente coinvolgendo vibriosi (*V. splendidus* prima, *V. aestuarianus* poi), per poi riconoscere che ci potrebbero essere influenze di altre specie *Vibrio*. Recentemente, i ricercatori del laboratorio di riferimento europeo IFREMER hanno reso pubblica l'esistenza di diverse varianti del *Ostreid Herpes Virus 1*, che si differenziano per specifiche microdelezioni del genoma.

I metodi di identificazione per *Vibrio* in *Crassostrea gigas* attualmente in uso nei nostri laboratori consistono in un'analisi batteriologica, molto costosa ed indaginosa. Ad oggi non esistono metodi pubblicati ufficiali che permettano di identificare *Vibrio* direttamente da matrice bivalve.

Lo sviluppo dei metodi di identificazione di *Vibrio splendidus* e *Vibrio aestuarianus* direttamente dalla matrice, permetterà al laboratorio di essere più efficiente, riducendo i tempi di analisi e i costi ed aumentando le capacità di monitoraggio.

Per quanto riguarda la detection di *Ostreid Herpes Virus*, viene applicata una metodica di SybrGreen real-time PCR la quale non riesce però a discriminare la variante. In caso di positività, l'analisi continua con una PCR end point, che è in grado di distinguere il virus "di riferimento" dalle varianti tramite sequenziamento dell'amplificato, ma non discriminare le diverse varianti virali.

Per questo motivo verrà messa a punto una metodica in Real-Time PCR che permetta una rilevazione più precisa del virus.

La fase di validazione sul campo, che verrà svolta monitorando due allevamenti nazionali di *C. gigas*, servirà per testare l'efficacia diagnostica dei metodi sviluppati. La validazione dei metodi messi a punto consisterà nella valutazione dei seguenti parametri: Limit of Detection, ripetibilità, riproducibilità, specificità e Ring-Trial finale.

Questo tipo di approccio diagnostico permetterà di collezionare un numero elevato di dati, in modo tale da studiare eventuali correlazioni tra mortalità, presenza di agenti patogeni e parametri ambientali. Inoltre fornirà gli elementi necessari per determinare il giusto sistema di campionamento in caso di mortalità piuttosto che in ambito di monitoraggio.