

“La moria del kiwi – Valutazione sull’impiego di innovativi portinnesti come mezzo agronomico per prevenire lo sviluppo dei sintomi” – KIPOTRA

Annualità 2024

Sottoprogetto 1 - Monitoraggio territoriale dei nuovi portinnesti, rilievi agropomologici e prova sperimentale per riduzione stress ambientali

Il progetto Kipotrà si pone l’obiettivo di approfondire la conoscenza sui portinnesti dell’actinidia come mezzo di prevenzione nei confronti della sindrome multifattoriale Moria del kiwi. Questa esigenza nasce dall’analisi dei risultati ottenuti in progetti di ricerca precedenti come Kiris, finalizzato a comprendere meglio le cause dell’origine della malattia e a valutare contromisure agronomiche efficaci quali coperture ombreggianti, irrigazione climatizzante e, appunto, l’impiego di portinnesti.

Nel corso delle attività sperimentali sono stati monitorati otto actinidi, messi a dimora tra il 2020 e il 2024, siti nei comuni di Lagnasco, Verzuolo e Cavour, di cui 4 con portinnesto Z1, due con portinnesto Bounty 71 e due con portinnesto Yanoon. Al fine di valutare e confrontare le performance agronomiche dei diversi portinnesti, sono stati installati in tutti gli appezzamenti sensori per il monitoraggio dei parametri ambientali, quali temperatura e umidità relativa, e sensori di temperatura nel suolo con apposito datalogger. L’obiettivo è stato quello di correlare, a seconda del portinnesto, eventuali variazioni di accrescimento/sensibilità alla moria dei diversi materiali.

Grazie all’impiego di tensiometri per la valutazione dello stato idrico del suolo, posizionati a due diverse profondità (20 e 40 cm), è stato possibile determinare il grado di umidità del suolo, funzione della pressione negativa esercitata dalle radici delle piante (kPa) per sottrarre l’acqua al terreno. Questo, in aggiunta al monitoraggio delle irrigazioni effettuate da parte dei produttori e alla determinazione delle precipitazioni grazie alle capannine meteo distribuite sul territorio, ha consentito di definire l’input totale di acqua restituita (m3/ha). Sottraendo la stima dell’evapotraspirato reale (ETc) a questo valore, è stato ricavato il bilancio idrico semplificato per ogni actinidi. L’intento è stato quello di comprendere e confrontare la gestione delle irrigazioni sui diversi portinnesti e valutare quali tra questi necessiti di maggiori attenzioni.

Nel corso della stagione, sono stati effettuati rilievi biometrici, che hanno previsto il monitoraggio dei diametri dei tronchi e dei frutti per valutare lo stato di salute delle piante e il loro accrescimento, e fisiologici, consistenti nella misurazione dello SPAD (contenuto in clorofilla delle foglie).

Alla raccolta, sono state effettuate analisi sulla produttività (kg/pianta) e sulla qualità dei frutti (°Brix, percentuale di Sostanza Secca, peso, calibro, durezza), ma i risultati necessitano di altri anni di sperimentazione per essere raffrontati e valutati a causa della giovane età degli impianti e delle diverse epoche di impianto.

Infine, è stato valutato l’utilizzo del caolino, distribuito in chioma con atomizzatore spalleggiato, per il contenimento della temperatura fogliare in estate e per verificare se la riduzione di questo stress incidesse sulla sintomatologia della moria del kiwi.



Dalla prima analisi dei dati emerge che: tutti i materiali presentano un buon adattamento alle condizioni pedoclimatiche piemontesi e in fase di allevamento si sono dimostrati più tolleranti alla moria rispetto al confronto con Hayward autoradicata; il vigore di Z1 è più contenuto e richiede una maggior attenzione nella gestione irrigua; Bounty 71 ha manifestato problemi di disaffinità con Hayward; dal punto di vista produttivo Z1 induce una produzione iniziale inferiore ad Hayward autoradicata, Bounty 71 non si differenzia; la qualità dei frutti di tutte le combinazioni d'innesto è elevata e non evidenzia differenze da Hayward autoradicata; dal punto di vista fitopatologico Z1 ha mostrato una maggior sensibilità a eriofide, per quanto riguarda la batteriosi da PSA non sono state rilevate differenze. Per Yanoon, di più recente introduzione (2023), è stato rilevato un buon sviluppo degli apparati radicali che esplorano il suolo più in profondità rispetto ad Hayward autoradicata.

Figura 1 Pianta trattata con caolino distribuito in chioma

Sottoprogetto 2- Analisi fisiologiche delle piante innestate con i portinnesti in valutazione: parametri fisiologici misurati sugli actinidi con portinnesti individuati nel Sottoprogetto 1

Allo scopo di valutare se l'utilizzo di un portinnesto possa indurre una riduzione della conduttanza idraulica della pianta, che è noto essere già gravemente danneggiata nelle piante colpite da moria a causa dello stress climatico, è stato effettuato uno studio dello stato idrico della parte aerea della pianta mediante analisi fisiologiche (scambi gassosi fogliari, relative water content, water use efficiency) presso l'azienda Quaglia Alessandro, dove erano disponibili appezzamenti uguali per età e conduzione agronomica, differenti soltanto per il portinnesto utilizzato: Bounty e Z1. Una caratterizzazione è stata effettuata anche per il portinnesto Yanoon disponibile presso l'azienda Brunetti Paolo; non è stato possibile però confrontare questo portinnesto con gli altri due, in quanto l'età delle piante e la conduzione agronomica erano significativamente differenti.

Le analisi sono state condotte in diverse stagioni (estate ed autunno ed in diverse ore del giorno del giorno (mattino e pomeriggio), così da poter valutare il comportamento in condizioni di maggiore o minore stress evapotraspirativo.

In linea generale è stato rilevato uno stato di maggior stress rispetto a quanto rilevato negli anni precedenti su piante di Hayward non innestate, che potrebbe essere dovuto ad un impedimento da parte del punto di innesto della normale regolazione del flusso linfatico in risposta alle variazioni ambientali; tuttavia il comportamento del portinnesto Z1 rispetto al Bounty indica un minor ostacolo rispetto ad una risposta adattativa rapida della pianta al mutare della temperatura durante il giorno, consentendo una migliore protezione delle foglie dal surriscaldamento soprattutto d'estate al pomeriggio.

I dati rilevati possono essere considerati dati preliminari in uno studio sul comportamento fisiologico della pianta in risposta all'innesto relativamente all'efficienza della conduttanza idraulica. Tuttavia sarebbe necessario ripetere le prove in più anni e con più rilievi nello stesso anno per poter trarre delle conclusioni in merito.

Sottoprogetto 3- Analisi fitopatologiche

Attività 3.1 – Isolamento e caratterizzazione biologica e molecolare di potenziali agenti patogeni

È stato condotto uno studio approfondito sugli oomiceti del genere *Phytophthora*, che svolgono un ruolo primario nell'emergenza della moria del kiwi. A tal fine sono stati effettuati monitoraggi in campo e campionamenti dell'apparato radicale in otto actinidi dislocati sul territorio piemontese.

Frammenti di radice sintomatica sono stati prelevati al margine tra tessuto sano e marcescente, disinfettati e posti su terreno selettivo per oomiceti (Corn Meal Agar arricchito con antibiotici e antifungini). I miceli sviluppati sono stati successivamente isolati e portati in purezza mediante sub-culture ripetute. I ceppi purificati sono stati conservati in brodo di terra per analisi successive.

Per la caratterizzazione molecolare, gli isolati sono stati coltivati in brodo liquido (Potato Dextrose Broth) sotto agitazione. Il micelio raccolto è stato sottoposto a estrazione del DNA genomico mediante kit commerciale (OMEGA Fungal DNA Mini Kit). Il DNA è stato quantificato con spettrofotometro e conservato a -20 °C.

L'identificazione molecolare è stata eseguita tramite amplificazione e sequenziamento della regione ITS (Internal Transcribed Spacer), utilizzando i primer ITS1 e ITS4. I prodotti amplificati sono stati separati su gel di agarosio, visualizzati con colorante specifico, purificati e inviati per il sequenziamento.

Parallelamente, è stato validato il saggio qPCR specifico per *Phytophthora vexans*, sviluppato nell'ambito del progetto KIRIS, seguendo le linee guida EPPO PM 7/98 (5). Il metodo è stato saggiato su 29 isolati target di *P. vexans* e 27 isolati di 18 specie non target. La specificità del saggio è stata confermata mediante confronto delle sequenze ottenute, tramite BLASTN, con quelle depositate nel database GenBank. La sensibilità è stata valutata tramite curve standard ottenute da diluizioni seriali di DNA (20 ng – 2 fg), mostrando una soglia di rilevabilità media di 20 fg, con efficienza PCR superiore al 94% e R^2 pari a 0,99. Non è stata rilevata amplificazione nelle specie non target sotto tale soglia.

La selettività del saggio è stata verificata testando la presenza del patogeno in DNA totale estratto da radici di *Actinidia deliciosa* cv. Hayward, senza interferenze significative. Il saggio si è dimostrato ripetibile e riproducibile, con risultati coerenti tra laboratori diversi e su campioni sintomatici, asintomatici e artificialmente inoculati.

Attività 3.2- Studio del microbioma delle radici dei portinnesti

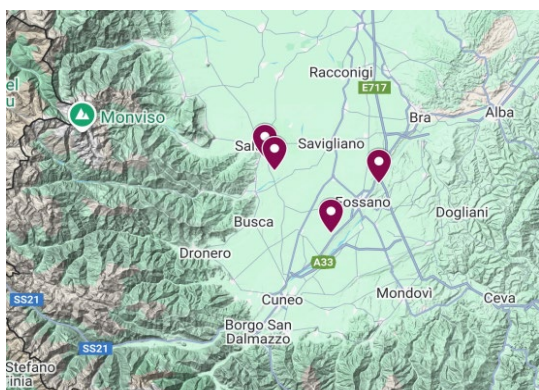


Figura 2 Rappresentazione delle località campionate, per ogni sito sono stati considerati un campo sano ed uno colpito

L'attività, condotta tra aprile e ottobre 2024, ha previsto il campionamento di suolo e radici in quattro comuni della provincia di Cuneo, in ciascuno dei quali sono stati selezionati un actinidieta sano e uno affetto da moria. I prelievi sono stati eseguiti in cinque repliche biologiche per sito, con conservazione dei campioni a -80°C e successiva separazione della rizosfera dalle radici.

Il DNA totale è stato estratto con un kit commerciale ottimizzato per le diverse matrici, e il microbioma delle radici è stato caratterizzato tramite la tecnica di sequenziamento del DNA metabarcoding, utilizzando primer specifici per batteri, funghi e oomiceti.

Dal sequenziamento sono stati ottenuti, per ciascun campione, tra $2,06 \times 10^8$ e $2,11 \times 10^8$ read paired-end, per un totale di circa 384 Gb di dati grezzi. L'analisi tassonomica mediante Kaiju (db "nr+euk") ha permesso l'assegnazione a un taxon putativo del 20–25% dei read, con predominanza del dominio batterico. Il microbiota era costituito per oltre il 40% da generi rari (<0,1% in tutti i campioni).

Tra i generi più abbondanti:

- *Bradyrhizobium* (media 10%), più abbondante nei campioni non innestati;
- *Nocardioides* (media 5,9%), prevalente nei campioni sani;
- Altri generi rappresentativi (>2%): *Streptomyces*, *Solirubrobacter*, *Mycobacterium*, *Gaiella*, *Nitrospira*, con abbondanze influenzate dalla presenza/assenza di innesto e dallo stato fitosanitario.

L'analisi di diversità alfa ha evidenziato:

- Maggiore ricchezza e uniformità nei campioni innestati, per tutte le metriche (indice di Shannon, equitabilità di Pielou);
- Assenza di differenze significative tra campioni sani e malati.

L'analisi di diversità beta (Adonis) ha rivelato un effetto significativo del portinnesto sull'assemblaggio microbico ($R^2 = 0,96$; $q = 0,006$), indipendentemente dallo stato di salute delle piante.

In particolare:

- *Candidatus udaeobacter* risultava più abbondante nei campioni non innestati, associati a suoli più acidi e stress microbico sistemico;
- Nei campioni innestati con Z1 erano invece più rappresentati *Nitrospira*, *Luteitalea* e *Hyphomicrobium*, suggerendo una maggiore stabilità microbica e resilienza agli stress ambientali.

I dati indicano che il portinnesto Z1 è associato a una comunità microbica più stabile e funzionalmente resiliente, rispetto alla cv. Hayward. La composizione microbica suggerisce una migliore risposta agli stress edafici per Z1, potenzialmente legata a un ruolo favorevole del microbiota nella protezione della pianta.