ISSN: 2282-2224

kiwi INFORMA

Poste Italiane S.p.A. - Spedizione in Abbonamento Postale - 70% DCB Latina

SPECIALE NUMERO DOPPIO

ATTI DEL CONVEGNO

X Convegno Nazionale di Actinidicoltura e II Convegno Nazionale sulla Batteriosi dell' Actinidia da P.S.A.

ANNO 10° - N. 10-12/2014 & ANNO 11° - N. 1-3/2015
Periodico Scientifico Monotematico

kiwi INFORMA
PERIODICO SCIENTIFICO

N. 10-12 ANNO X OTTOBRE-DICEMBRE 2014
e N. 1-3 ANNO XI GENNAIO-MARZO 2015

Testata scientifica periodica, fondata da Ottavio Cacioppo registrata al Tribunale di Latina al n. 818 del 3 dicembre 2004

Direttore responsabile:
Ottavio Cacioppo
Cell. 348.3313812
e-mail: ottaviocacioppo@gmail.com
per info: 348.3313812 ▪ www.kiwiinforma.it

Edizioni:
Arma di Adriano Marchetto & C. s.a.s.
Via Santa Maria, 3351
Borgo Bainsizza (Latina)
Tel. 0773.643653
Fax 0773.643074
e-mail: arma@armasas.191.it

Redazione:
Ottavio Cacioppo,
Alvaro Morganti,
Luigina Morgante

Via Santa Maria, 3351
Borgo Bainsizza (Latina)

Cacioppo

Morganti

Morgante

Copertina:
Arch. Mauro Cacioppo

Stampa: **mese di Marzo 2015**
Legatoria Pontina
Via Legnano, 41 - Latina
Grafica: **Antonella Carullo**

Pubblicità:
Arma di Adriano Marchetto & C. s.a.s.
Tel. 0773.643653
Fax 0773.643074
e-mail: arma@armasas.191.it

Abbonamenti:
Via Santa Maria, 3351 Borgo Bainsizza (LT)
Tel. 0773.643653 ▪ www.kiwiinforma.it
e-mail: arma@armasas.191.it

© copyright
Vietata la riproduzione parziale o totale di testi e illustrazioni a termine di legge

Poste Italiane S.p.A.
Spedizione in Abbonamento Postale

Sommario

1. Editoriale
Adriano Marchetto **Pag. 3**

2. Considerazioni sul X Convegno Nazionale di Actinidicoltura e II Convegno Nazionale sulla Batteriosi da P.S.A.
Ottavio Cacioppo **Pag. 3**

3. Considerazioni sul X Convegno Nazionale di Actinidicoltura e II Convegno Nazionale sulla Batteriosi da P.S.A.
Carlo Fideghelli **Pag. 5**

4. Interventi Convegno da pag. 6 a Pag. 99

Copertina:
Atti X Convegno Nazionale sull'Actinidia
Arch. Mauro Cacioppo

Adriano Marchetto

EDITORIALE

Il X Convegno Nazionale di Actinidicoltura ed il II Convegno Nazionale sulla Batteriosi da P.S.A., si sono svolti nei giorni 3 e 4 dicembre 2014 presso il Club "Le Grugnole" ubicato in area territoriale tra i Comuni di Latina e Nettuno. La scelta di questa sede per l'interessantissimo avvenimento era parsa oltremodo ardita destando non poche perplessità la posizione periferica della località ed i disagi relativi a raggiungerla. All'atto pratico, però, si è rivelata proprio indovinata e tutto è filato via liscio. Pertanto un meritevole riconoscimento va dato senz'altro ai Comitati organizzativi appositamente preposti per il rilevante successo della doppia manifestazione. Analogo apprezzamento va alla Gestione del "Club Le Grugnole" che ha reso perfettamente agevole l'ingresso al proprio Centro Residenziale di genere turististico, alberghiero e gastronomico, mediante il rifacimento del manto stradale delle sue vie accesso. Per favorire al massimo l'accoglienza dei partecipanti il Club ha realizzato tempestivamente un notevole ampliamento delle strutture edili esterne creando nuove e robuste tettoie coperte destinate al passaggio verso il locale di ricevimento degli ospiti prima dell'immissione nella vasta sala delle conferenze, anche questa ben attrezzata ed idonea ad accogliere comodamente l'elevato numero dei convenuti. Al tirar delle somme la soddisfazione può essere ritenuta piena, nutrendo la fiducia che anche gli organizzatori, gli insigni relatori e tutti i presenti siano stati a loro agio e paghi dell'accoglienza ricevuta. Con l'auspicio che sulla retta tracciata si possa proseguire in futuro.

Adriano Marchetto

Ottavio Cacioppo

CONSIDERAZIONI SUL X CONVEGNO NAZIONALE DI ACTINIDICOLTURA E II CONVEGNO NAZIONALE SULLA BATTERIOSI DA P.S.A.

LATINA 3-4 DICEMBRE 2014

Nella primavera del 2013, mosso dal successo ottenuto con il Primo Convegno Nazionale sulla Batteriosi del kiwi da P.s.a., che si è tenuto a Latina a maggio del 2012, inoltrai richiesta alla S.O.I. (Società di Ortoflorofrutticoltura Italiana) di organizzarne un alto doppio incontro culturale.
Quasi subito ottenni la risposta positiva dal presidente della S.O.I., prof. Paolo Inglese e nominato coordinatore del Comitato organizzatore con l'impegno di confermare i membri dei Comitati che hanno operato nel 2012. Successivamente, anche il nuovo presidente della S.O.I., prof.ssa Stefania Pascale, confermava tale nomina.
A presiedere il Comitato Scientifico veniva chiamato il prof. Carlo Fideghelli.
L'incontro sui due Convegni, unificati per motivi logistici, si è svolto al "Club Le Grugnole" - Borgo Bainsizza (Latina). La sede è stata messa a disposizione dal sig. Adriano Marchetto, editore dell'unica rivista italiana, monotematica, "Kiwi Informa". A lui vanno i ringraziamenti degli organizzatori dell'evento anche per l'impegno dato ai fini dell'ottima riuscita dell'incontro. Questo si è caratterizzato per l'alto livello del contributo scientifico offerto dai numerosi lavori di ricerca e sperimentazione, per cui si devono ringraziare profondamente gli autori, così come il Comitato Scientifico, coordinato dal prof. Carlo Fideghelli, ed il Comitato Organizzatore, per l'ottimo impegno portato a termine.
Doveroso, altresì, il ringraziamento per il prezioso lavoro svolto dal personale impiegato per il buon funzionamento dell'apparato organizzativo, attento alla registrazione dei partecipanti ed al funzionamento dell'apparecchiatura elettronica.
Un vivo ringraziamento, infine, alle Istituzioni che hanno concesso il Patrocinio e alle varie Ditte che hanno sponsorizzato il convegno.
Nelle due interessanti giornate del doppio Convegno si è registrata la partecipazione di un pubblico competente, oltre 300 presenze al giorno, di persone provenienti da tutte le Regioni italiane e dai Paesi esteri (Portogallo e Argentina), a sancire, senza tema di smentite, un vero successo.

Ottavio Cacioppo - Presidente Comitato Organizzatore

Carlo Fideghelli

CONSIDERAZIONI SUL X CONVEGNO NAZIONALE DI ACTINIDICOLTURA E II CONVEGNO NAZIONALE SULLA BATTERIOSI DA P.S.A.

LATINA 3-4 DICEMBRE 2014

Il decimo Convegno nazionale sull'actinidia, associato al secondo Aggiornamento sulla batteriosi da *Pseudomonas syringae* pv. *actindiae* ha visto la presentazione di un buon numero di contributi, suddivisi in relazioni ad invito (10), comunicazioni verbali (16) e poster (5), in rappresentanza di 4 Centri del CRA, 9 Università, 5 strutture di ricerca territoriali, 6 organizzazioni private, 3 strutture di ricerca straniere.

Considerato l'impatto sulla coltivazione dell'actinidia della batteriosi da Psa, il maggior numero di interventi (13) ha riguardato questa patologia, con approfondimenti molto interessanti sulla diagnosi della malattia, la caratterizzazione molecolare del batterio, le strategie di controllo, sia mediante una corretta gestione agronomica del frutteto, importante anche per la qualità dei frutti e una migliore sostenibilità della produzione, sia mediante trattamenti chimici, selezione di genotipi meno sensibili.

Le relazioni sulla situazione della coltura in Italia e nel mondo e sugli aspetti commerciali hanno descritto una situazione, nel complesso, positiva per il nostro Paese che deve, comunque, tener conto di una forte espansione della coltura soprattutto in Grecia, in diretta concorrenza con l'offerta italiana sui mercati europei.

Il miglioramento genetico è, attualmente, molto attivo in Nuova Zelanda e Cina, oltre che in Italia che può contare su diversi centri pubblici (Università di Udine e Bologna, Università della Tuscia, CRA-Frutticoltura di Roma) oltre che diversi privati.

Interessante l'applicazione ai frutti di actinidia della tecnica basata sulla spettroscopia del vicino infrarosso, metodo non distruttivo, per determinare il giusto grado di maturazione per la migliore qualità e la migliore conservabilità dei frutti, aspetti di particolare importanza, in considerazione dell'accresciuta competitività internazionale e della necessità di meglio consolidare, per gli aspetti qualitativi, la produzione italiana, ancora lontana dai migliori standard neozelandesi.

Si ringraziano i colleghi componenti il Comitato Scientifico per l'importante lavoro svolto nel controllo e la revisione dei lavori presentati.

Carlo Fideghelli - Presidente Comitato Scientifico

X CONVEGNO NAZIONALE DI ACTINIDICOLTURA E II CONVEGNO NAZIONALE SULLA BATTERIOSI DELL'ACTINIDIA DA P.S.A.

Organizzato dalla S.O.I. (Società di Ortoflorofrutticoltura Italiana)

con la collaborazione scientifica di
CRA-FRU-ROMA, CRA-PAV-ROMA, Università di Viterbo, Kiwi Informa

** Il "Club Le Grugnole" si trova nel territorio di Nettuno, vicino a Borgo Bainsizza (Latina)*

Interventi:

3 DICEMBRE2014

E. Macchi, CSO Centro Servizi Ortofrutticoli, Ferrara
Situazione e prospettive della coltura nel mondo

O. Cacioppo, Kiwi Informa, Latina
Situazione e prospettive della coltura in Italia

S. Loreti, N. Pucci, E. Di Nicola, A. Gallelli, A. L'Aurora, S. Talocci, M. Pilotti
CRA-PAV, Roma
Diagnosi di *P. syringae* pv. *actinidiae:* criticità e punti di forza

G. M. Balestra, S. Ciarroni, M.C. Taratufolo, A. Mazzaglia, UniTus, Viterbo
Caratterizzazione delle popolazioni di *P. syringae* pv. *actinidiae*

M. Scortichini, CRA-FRU Roma, CRA-FRC Caserta
Strategie di controllo integrato del "cancro batterico" dell'actinidia

V. Michelotti(1), A. Lamontanara(1), L. Orrù(1), G. Buriani(2), A. Cellini(2), I. Donati(2), J. Vanneste(3), L. Cattivelli(1), F. Spinelli(2), G. Tacconi(1)
(1) CRA-GPG Fiorenzuola D'Arda; (2) Uni Bo, Bologna; (3) PFR, Ruakura, NZ
Analisi dell'espressione genica nell'interazione *Pseudomonas syringae* pv. *Actinidiae* – actinidia

V. Tagliavento, A. Mazzaglia, G. M. Balestra, UniTus, Viterbo
Caratterizzazione della flora batterica presente nella linfa di *Actinidia* spp. di piante sane e affette da *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*

F. Marocchi(1), M. Mastroleo(1), L. Penuzzi(2), M. Petriccione(2), L. Incroci(4), M. Scortichini(3) (5)
(1) Apofruit Italia, Aprilia; (2) Agronomo; (3) CRA-FRC, Caserta; (4) UniPi, Pisa;
(5) CRA-FRU e FRC, Roma, Caserta
Relazione tra suscettibilità del kiwi giallo e del kiwi verde a *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* e contenuto in cationi ed anioni nel terreno

A. Brunetti, N. Pucci, V. Lumia, V. Modesti, E. Di Nicola, A. Latini, A. Gallelli, G. Di Lernia, A. Matere, S. Loreti, M. Pilotti, CRA-PAV, Roma
Screening* di molecole/prodotti per il controllo di *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae

G. Tacconi(4), *I Donati*(1), *A. Cellini*(1), *G. Buriani*(1), *L. Giordani*(2), *G. Vittone*(2), *L. Tosi*(3), *S. Graziani*(8), *Callum Kay*(5), *R. Onorato*(5), *V. Giacomuzzi*(6), *J. Vanneste*(7), *G. Costa*(1), *F. Spinelli*(1)
(1) UniBo, Bologna; (2) CRESO, Cuneo; (3) AGREA, S. Giovanni Lupatoto (VR);
(4) CRA-GPG, Fiorenzuola d'Arda (PC); (5) ZESPRI Global Supply, Mount Maunganui, NZ;
(6) UniBz, Bolzano; (7) PFR, Ruakura, NZ; (8) Agrintesa, Faenza (RA)

Strategie di controllo di PSA in campo: 4 anni di sperimentazione in 4 diversi areali

M. Evangelisti, D. Frezza, M. C. Thaller, G. Di Lallo, Univ. Tor Vergata, Roma

Isolamento e caratterizzazione di batteriofagi specifici per *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae:* un nuovo approccio per il trattamento della batteriosi del kiwi

Sintesi del poster *R. Tomasone*(1), *C. Cedrola*(1), M. Pagano(2), L. Trentini(3), *P. Ferrante*(1), *M. Scortichini*(1)
(1) CRA-FRU, Roma; (2) CRA-ING, Roma; (3) Cso, (FE)

Prove preliminari di trattamento termico del legno di potatura del kiwi con la tecnica della "pirodisinfezione" al fine di contrastare la batteriosi *(Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae)*

G. Cipriani, UniUd, Udine

Nuove varietà e attività di miglioramento genetico in Italia e nel mondo

F. R. De Salvador, CRA-FRU, Roma

La protezione giuridica delle nuove varietà di kiwi in Italia e nella UE

O. Cacioppo, Kiwi Informa, Latina

Quattro anni di studio, 2011-2014, in provincia di Latina della nuova cultivar di kiwi neozelandese a polpa gialla G3

D. Bevilacqua(1), M. Terlizzi(1), A. Di Cintio(1), T. Rosato(1), A. Sartori(1), P. Ferrante(1), M. Scortichini(1), G. Cipriani(2),
(1) CRA-FRU, Roma; (2) UniUd, Udine

Selezione di materiale mutagenizzato per l'individuazione della resistenza o tolleranza a *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (PSA)

Sintesi da parte del chairman del poster:

Applicazione delle colture *in vitro* al miglioramento genetico di *Actinidia* spp. per la resistenza a PSA di

D. Bevilacqua, G. Cipriani, A. Sartori, P. Ferrante, M. Scortichini, A. Frattarelli, E. Caboni
CRA-FRU Roma

R. Muleo(1), C. Iacona(2), F. Loreti(2), M. Cirilli(1)
(1) Laboratorio di Ecofisiologia Molecolare e Biotecnologie delle Piante Arboree
Dipartimento di scienze e tecnologie per l'Agricoltura, le Foreste, la Natura e l'Energia
Università della Tuscia, Viterbo, Italia
(2) Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali, Università di Pisa, Pisa, Italia

Nuove varietà di A. deliciosa cv Hayward generati con variazione soma clonale

4 DICEMBRE2014

D. Neri(1), M. Bravetti(2), S. Polverigiani(3), D. Ceccarelli(1), C. Talento(1), S. Vocca(4)
(1) Centro di Ricerca per la Frutticoltura, CRA-FRU, Roma; (2) Agronomo libero professionista, Senigallia (AN); (3) Dip. di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università Politecnica delle Marche, Ancona; (4) Agritenax srl, Eboli (SA)

Effetti fisiologici di reti antigrandine fotoselettive su actinidia

Sintesi da parte del chairman dei poster:

- Monitoraggio della maturazione in pianta della cultivar Dori, e definizione del momento attuale di raccolta con l'utilizzo del kiwi-meter
di *G. Fiori, G. Costa,* Uni Bo, Bologna

- Confronto di diversi sistemi di impollinazione e scelta dello stadio fiorale ottimale in relazione alla tipologia di impollinazione in actinidiadi *G. Tacconi,* CRA-GPG, Fiorenzuola d'Arda (PC);
O. Cacioppo, Kiwi Informa, Latina; *G. Vittone,* CRESO, Cuneo

L. Ugolini(1), I. Malaguti(1), K. Carbone(2), T. Rosato(1), R. Tomasone(1), L. Lazzeri(1), M. Mari(3)
(1) CRA-CIN Bologna; (2) CRA-FRAU, Roma; (3) UniBo, Bologna

Impiego post raccolta di metaboliti naturali ad azione antifungina per il controllo della muffa grigia nell'actinidia e valutazione dell'impatto del trattamento sulla qualità dei frutti

C. Xiloyannis, UniBas, Matera

Acqua e nutrizione per ottimizzare la produzione, la qualità e la salute delle piante

O. Cacioppo(1), M. Marcon(2), G. Tacconi(3).
(1) Kiwi Informa, Latina; (2) Tecnoquadro, Latina; *(3) CRA-CPG, Fiorenzuola d'Arda (PC)*

Gestione dell'irrigazione e del controllo PSA mediante un sistema di monitoraggio pedoclimatico via Internet

R. Spinelli, Zespri Fresh Produce Italia, Cisterna (LT)

Tecniche di allevamento a cordone dell'actinidia, cultivar G3

G. Tacconi[4], *J. F. Mejia*[3], *L. Tosi*[2], *A. Giacopini*[2], *U. Mazzucchi*[4], *F. Favaron*[5], *L. Stella*[5], *F. Bertaiola*[6], *S. Paltrinieri*[3], *S. P. Fuentealba*[3], *A. Bertaccini*[3]
(1) CRA-GPG, Fiorenzuola d'Arda (PC); (2) AGREA, S. Giovanni Lupatoto (VR);
(3) Uni Bo, Bologna; (4) VPS, Castel San Pietro Terme (BO); (5) Uni Pd, Padova;
(6) Consorzio TK del Garda, S. Giovanni Lupatoto (VR)

Moria dell'actinidia nel veronese: anomalie climatiche, struttura del terreno e ruolo dei patogeni

O. Cacioppo, Kiwi Informa, Latina

Considerazioni su vari aspetti colturali di un actinidieto Hayward di 26 anni, in provincia di Latina, condotto a basso impatto ambientale

Comitato organizzatore	*Ottavio Cacioppo*	Presidente
	Carlo Fideghelli	
	Davide Neri	Presidente sezione Frutticoltura S.O.I.
	Francesco Baroncini	Segreteria S.O.I.
	Alvaro Morganti	
	Enrico Barcella	
	Rocco Barone	
	Mario Prova	
	Adriano Marchetto	Kiwi Informa

Comitato scientifico	*Carlo Fideghelli*	CRA-FRU
	Giorgio Balestra	Università-Viterbo
	Ottavio Cacioppo	Kiwi Informa
	Guido Cipriani	Università Udine
	Flavio Roberto De Salvador	CRA-FRU
	Stefania Loreti	CRA-PAV
	Eddo Rugini	Università Viterbo
	Marco Scortichini	CRA-FRU/CRA-FRC

Per informazioni:
Ottavio Cacioppo Mob. 348.3313812 ▪ e-mail: ottaviocacioppo@gmail.com
Carlo Fideghelli Tel. 06.79 34 81 10 - Fax 06.79 34 81 60
Mob. 328.2490864 ▪ e-mail: carlo.fideghelli@entecra.it

Patrocinio Concesso:

COMUNE DI LATINA – CIA Latina
COLDIRETTI Latina – CONFAGRICOLTURA Latina
CAMERA di COMMERCIO di LATINA
CRA Roma – FIDAF
CONAF – ODAF Latina – ADAF Latina
PROVINCIA di LATINA
CONSORZIO per la TUTELA I.G.P. KIWI LATINA

Elenco Sponsor:

ARMA di Adriano Marchetto & C. s.a.s.
Via Santa Maria, 3351 - 04010 BORGO BAINSIZZA (LT)
Tel. 0773.643653 - Fax 0773.643074 ▪ arma@armasas.191.it

SIPCAM ITALIA
Via Sempione, 195 - 20016 PERO (IM)
Tel. 02.35378400 ▪ info@sipcam.it

L. GOBBI
Via Vallecalda, 33 - 16013 CAMPO LIGURE (GE)
Tel. 010.920395 ▪ info@igobbi.it

MARCHEGIANI PONTINA TRATTORI s.r.l.
Via Migliara 47 n° 1150 - 04014 PONTINIA (LT)
Tel. 0773.86298 - 0773.867412 ▪ info@pontinatrattori.it

AGRITENAX s.r.l.
Via Maestri del Lavoro - 84025 EBOLI (SA)
Tel. 0828.332978 ▪ agritenax@agritenax.com

PEMPACORER Società Cooperativa Consortile Agricola
Uff. Comm.le Via San Silvestro, 38 - 48018 FAENZA (RA)
Tel. 0546.600811 ▪ commerciale@pempacorer.it

ZEOLI FRUIT
Via Quaglia - 04012 CISTERNA DI LATINA (LT)
Tel. 06.96871047 ▪ info@zeolifruit.com

CO.N.VI. VIVAI di Spada Renato e Sergio
Via Siepi, 29 - 49013 BRISIGHELLA (RA)
Tel. 0546.994077 - Cell. 335.7393771 ▪ info@vivaiconvi.eu

MARCHEGIANI

IN CAMPO, CON VOI

PONTINA TRATTORI SRL
Via Migliara 47, 1150 - 04014 PONTINIA (LT)
Tel. 0773 86298 / 867412 - Fax 0773 849024
info@pontinatrattori.it

MARCHEGIANI SRL
Piazza Pasubio, 15 - 04014 PONTINIA (LT)
Tel. 0773 868258 - Fax 0773 869100
info@marchegianisrl.net

www.pontinatrattori.com

È quasi primavera...
il letargo è finito!

BreakOut
interruttore di dormienza

Vite: anticipa il risveglio delle gemme e migliora l'uniformità di germogliamento sul tralcio.

Ciliegio: anticipa il risveglio e migliora l'allegagione e fruttificazione della pianta.

Actinidia: anticipa il risveglio e migliora la sincronizzazione del germogliamento tra gemme dei maschi e delle femmine. Riduce il periodo di fioritura.

l.gobbi
Specialità per l'Agricoltura

Via Vallecalda, 33 - 16013 Campo Ligure (GE)
Tel.: +39 010 920 395 Fax: +39 010 921 400
e-mail: info@lgobbi.it www.lgobbi.it

CERADINI B&C

Vivaio Produzione e Commercio KIWI

Qualità, Sicurezza e Affidabilità!

GARANTITO 100% SODDISFATTO

I Love Kiwi!

Via Gardesane, 123 - 37139 Verona (ITALY) - Tel. **+39.045.85.10.268** - Fax **+39.045.85.18.981**

www.ceradinigroup.com - info@ceradinigroup.com

CERADINI_VIVAIO_fto_210x297_TRAC.indd 1 03/02/2012 12:03:58

Elisa Macchi

SITUAZIONE E PROSPETTIVE DELLA COLTURA NEL MONDO

SITUATION AND PERSPECTIVES OF THE KIWIFRUIT

E. Macchi
CSO Centro Servizi Ortofrutticoli - Chiesuol del Fosso, Ferrara
elisa.macchi@csoservizi.com

ABSTRACT
The world kiwifruit growing had a very important expansion phase up to 2009, with a 5% growing rate. In the following years the growing rate has beenaround 1%. After 2011 a slight decrease has been observed mainly due to Psa infection, particularly severe, in Italy and New Zealand. The three main producing countries, actually, are China, Italy and New Zealand. An increasing importance have also Chile and Greece. The release of new varieties of the species A. chinensis, very susceptible to Psa, more tolerant to bacterial disease as G3 and of avaible protocols to control the bacterium, will allow a new start of the kiwifruit industry expansion, according to an increasing demain of the market.

La coltivazione del kiwi nel mondo ha vissuto una fase di espansione importantissima, particolarmente evidente fino al 2009; il tasso medio di crescita degli impianti a livello mondiale si aggirava in quegli anni sul 5% annuo. Negli anni successivi, a livello complessivo, la crescita è stata meno evidente con un incremento medio annuo dell'1%. Dal 2000 al 2013 la superficie destinata a kiwi è cresciuta di oltre il 60%.

Un forte impulso alla coltivazione è stato dato dalla Cina, in termini di superfici, ma anche gli altri importanti paesi produttori hanno concorso alla crescita di questa coltivazione nel mondo negli anni duemila. In questo ultimo caso però è evidente che il forte periodo di espansione è durato fino al 2011, +64%; dopodiché si è assistito ad un lieve calo quantificabile in qualche punto percentuale.

Questa diminuzione è imputabile alla diffusione della PSA, evidente da ormai quattro anni, che ha comportato abbattimenti e diminuzioni dei rendimenti medi per ettaro.

La Nuova Zelanda ha subito le maggiori conseguenze della PSA con una drastica diminuzione della disponibilità di kiwi giallo, Hort 16 A, che da 30 milioni di vassoi del 2011-2012 è scesa su circa 9.000.000 nell'ultimo biennio.

Questo paese ha accelerato l'introduzione di nuove cultivar, in particolare la varietà G3, di cui nel 2013 si contano oltre 1.800 ettari, ancora però non in produzione. Anche Hayward ha subito un ridimensionamento, ma meno significativo, scendendo da circa 10.000 ettari del 2009 a 8.500 ettari nel 2013.

Sul piano produttivo l'offerta neozelandese che si

aggirava ante batteriosi su circa 350-360.000 tonnellate medie, oggi non arriva alle 300.000 tonnellate.
Anche il Cile, altro importante paese produttore dell'Emisfero Sud, ha visto una crescita importante della coltivazione del kiwi, con superfici arrivate a superare stabilmente gli 11.000 ettari, ma che nel 2014 vede un calo degli impianti.
L'andamento della produzione segue quello delle superfici, ad esclusione del 2014, caratterizzato da un importante calo dei rendimenti medi per ettaro.
Dal 2011 qualche infezione della PSA è comparsa e si stima che al 2013 siano circa 700 gli ettari interessati dalla batteriosi, ma il clima secco delle zone di coltivazione del kiwi non è favorevole alla diffusione della batteriosi.
Passando all'Emisfero Nord, dopo l'Italia, la Grecia si connota come tra i principali paesi sotto l'aspetto sia produttivo che commerciale. La produzione di questo paese è in progressiva e forte crescita e seppure dati provenienti da diverse fonti non siano omogeni fra di loro, si calcola da 2000 ad oggi un raddoppio del potenziale produttivo. Questo paese peraltro è l'unico tra i grandi produttori a non presentare PSA.
Gli altri paesi produttori di kiwi dell'emisfero Nord, ci si riferisce in particolare a Francia, Spagna, Portogallo, Corea del Sud, ecc., non sembrano attualmente in grado di modificare la struttura produttiva e commerciale dell'intero settore. Alcuni di essi infatti presentano una produzione in crescita ma contenuta, altri una certa stabilità della coltivazione.
Anche l'Italia, primo paese produttore dopo la Cina, ha vissuto un periodo di forte espansione degli investimenti, seguito negli ultimi anni da una contrazione ,dovuta sostanzialmente ai minori rinnovi e alla presenza di PSA. Se il potenziale produttivo dell'Italia si aggirava sulle 500.000 tonnellate, oggi l'offerta sembra non raggiungere le 450.000 tonnellate.
Siamo pertanto di fronte ad una coltivazione che, nonostante i recenti tentativi di ripresa, i cui effetti saranno comunque evidenti fra qualche anno, si è abbastanza ridimensionata negli ultimi anni.
Sul piano commerciale, prima della diffusione della batteriosi, la spinta eccessiva verso questa coltivazione, stava comportando qualche problema, dovuto appunto alla veloce e forse eccessiva crescita della disponibilità.
Oggi ci troviamo di fronte a quantitativi più facilmente gestibili, in un mercato che vede una crescita costante della domanda mondiale di questo prodotto; le importazioni mondiali di kiwi sono salite da 750.000 tonnellate a 1.250.000 tonnellate, con una crescita del valore ancora più significativa.
Nel prossimo futuro quindi è possibile prevedere una lieve ripresa della coltivazione, che non dovrebbe portare in tempi brevi ad un'eccedenza di mercato se l'industria del kiwi punterà sulla qualità, sulla promozione del prodotto e sui nuovi mercati.

Ottavio Cacioppo

SITUAZIONE E PROSPETTIVE DELLA COLTURA IN ITALIA

PRESENT STATE AND PERSPECTIVES OF THE KIWI INDUSTRY IN ITALY

O. Cacioppo
Kiwi Informa, Latina
ottaviocacioppo@gmail.com

ABSTRACT

The Italian situation of the kiwi industry is characterized by an increasing acreage and production, since early '70. An important stop of this trend has been observed starting 2008, when the bacterial disease caused by Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *severly damaged the kiwi orchards in all the most important areas where the crop was grown: Latium, Piedmont, Venetia and Emilia Romagna. Particularly the yellow flesh cultivars were stroken (Hort 16 A, Jintao, Soreli), but also the old green flesh Hayward has been badly damaged. In 2008 the official statistics showed a production of 518.000 t and a surface of 27.400 hectares, in 2014 the production was 414.337 t from 25.081 hectares.*

After China, Italy is the most important producing country, followed by New Zealand, Chile and Greece. Actually Psa is less dangerous than in previous years, both due to a less favourable climatic conditions to the bacterium and for a better knowledge of the disease and to the application of horticultural and phytosanitary practices to reduce the disease incidence.

INTRODUZIONE

La situazione dell'actinidicoltura italiana è caratterizzata da un incremento della superficie e della produzione che inizia nei primi anni '70 e subisce un arresto, dal 2008 in poi, a causa dell'esplosione di particolari biotipi di batteriosi da Psa sulle cultivar gialle (Hort 16 A, Jintao e Soreli). Nel 2008 si registrano globalmente 27.400 ettari e una produzione di 518.000 t, nel 2014 si scende a 25.081 ha e una produzione di 414.337 t. Ove, per ipotesi, non ci fosse stata la suddetta fitopatologia, con il ritmo degli investimenti actinidicoli di circa 1000 ha all'anno, oggi l'Italia potrebbe avere una superficie di 34.000 ha e una produzione di circa 600.000 t.

L'Italia, escludendo la Cina, risulta leader a livello mondiale. Seguono la Nuova Zelanda, il Cile e la Grecia che assieme, nel 2013, hanno raggiunto una superficie di 57.000, ha sul totale di circa 90.000 ha, e producono 1.064.000 t, pari all'80% della quantità totale, che è di 1.328.000 t. A causa della batteriosi e varie fisiopatie il Piemonte, il Veneto e l'Emilia Romagna denunciano perdite produttive con riduzione della superficie di coltivazione non indifferente.

Tab. 1

SUPERFICIE(Ha) E PRODUZIONE(T) ITALIANA DI KIWI DAL 1978 AL 2008

anni	Superficie	Produzione	anni	Superficie	Produzione
1978	700	800	1996	19.000	270.000
1980	1.000	1.000	1997	19.000	195.000
1982	1.863	8.000	1999	20,000	300.000
1984	4.446	23.265	2000	21.000	322.000
1986	8.959	45.000	2002	21.000	350.000
1988	15.926	112.050	2003	21.500	395.000
1990	19.758	250.000	2004	22.500	503.000
1991	19.103	235.000	2005	23.400	453.000
1992	19.108	335.000	2006	25.000	548.000
1993	19.923	270.000	2007	26.700	449.000
1994	19.720	240.000	2008	27.400	518.000
1995	19.000	250.000			

Fonte:Elaborazione personale su dati ufficiali.

PROSPETTIVE PER IL FUTURO

La questione della batteriosi del kiwi da Psa ha cambiato le prospettive di sviluppo di alcune Regioni actinidicole importanti del Nord (Piemonte, Veneto ed Emilia Romagna), in quanto la suindicata fitopatologia si è dimostrata, per motivi climatici e per nuovi biotipi più virulenti del patogeno, più severa anche nei confronti degli actinidieti a polpa verde (Hayward in particolare), rispetto alle Regioni del Sud.

In queste, infatti, i danni nei frutteti di queste varietà sono stati alquanto contenuti, mentre sulle cultivar gialle gli effetti sono stati molto pesanti, soprattutto a carico della cv Hort 16 A che, dei circa 800 Ha presenti nel 2008 in Provincia di Latina, ne sono rimasti solo 10.

I Neozelandesi, per rimpiazzarla, hanno introdotto, nel 2011, altre cultivar a pasta gialla, come la Gold 3, la quale risulta meno suscettibile alla batteriosi da Psa. Di questa nuova varietà dovrebbero esserci attualmente circa 700 ha, in massima parte in provincia di Latina. Le previsioni per il 2015 prospettano un aumento di superficie fino 1.400 ha.

La Regione Lazio, con 8000 ettari stimati nell'area I.G.P. Kiwi Latina, rimane la più importante area actinicola d'Italia. Il marchio, come è noto, è stato ottenuto nel 2004, ma dopo 10 anni non si può dire che i benefici siano soddisfacenti se si considera che soltanto i coltivatori di circa 235 ha risultano iscritti alla Camera di commercio di Latina che gestisce il marchio. Circa il 5% della produzione, pari a 7.750 t, viene ottenuto nel rispetto del disciplinare, che dovrà essere rivisto in alcuni parametri ai fini di una significativa rivalutazione. Infatti il disciplinare impone che il marchio può essere rilasciato ai frutti prodotti, lavorati e frigoconservati nell'area IGP Kiwi Latina.

Da un'indagine attenta è risultato che in detta area la capacità di frigoconservazione del kiwi è del 38% della produzione potenziale (140.000/160.000 t) pari a 53.200/60.800 t, per cui

86.800-99.200 t vanno lavorati in altre regioni, in particolare in Emilia Romagna. Quindi il disciplinare I.G.P. va modificato al fine di trovare un sistema di controllo efficace per tutelare le aree effettivamente ricadenti nel territorio di attribuzione del Marchio.

Tab.2

SUPERFICIE E PRODUZIONE DI KIWI IN ITALIA ANNI 2013 E 2014

Regione	Superficie (Ha)		Produzione (T)	
	2013	2014*	2013	2014*
Piemonte	4595	4381	95.702	87.500
Veneto	3744	3600	62.392	60.935
Emilia R.	3990	3800	75.987	87.799
Lazio	8000	8000	144.690	125.403
TOTALE PARZIALE	20.329	19.781	378.771	361.637
Altre Regioni	5197	5.300	48.493	52.700
TOTALE	25.526	25.081	427.264	414.337

Fonte: Elaborazione personale su dati ufficiali

***= Previsione. In Piemonte la superficie actinidicola, dal 2010 al 2014, è diminuita di 1.115 Ha (20%).**

Tab.3

ESPORTAZIONE DI KIWI ITALIANO NEL MONDO 2012/2013-2013/2014

000 €		000 Kg		€/Kg	
2012/13	2013/14	2012/2013	2013/2014	2012/2013	201372014
MONDO					
353.100	386.543	315.934	316.356	1,12	1,22
U.E. 28 INTRA					
234.049	252.264	214.611	209.764	1,09	1,20
U.E. 28 EXTRA					
119.052	134.298	101.324	106.592	1,17	1,26

Fonte: Elaborazione dati Eurostat

PAESI IN CUI SI ESPORTA DI PIU' (T) - CAMPAGNA COMMERCIALE 2013 / 2014

GERMANIA	52.300	POLONIA	17.410
SPAGNA	42.484	OLANDA	14.118
STATI UNITI	21.449	REGNO UN.	13.612
FRANCIA	21.207	BRASILE	11.445

TOTALE.....194.825 (62 %)

MONDO.....316.356 (100%)

Fonte: Elaborazione dati Eurostat

IGP Kiwi Latina

Il Regolamento (CE) N.1486/2004 della commissione del 20 agosto 2004 interessa la provincia di Latina e quella di Roma, un territorio di circa 8.000 ettari in massima parte della provincia di Latina. La Camera di Commercio della provincia di Latina, quale autorità pubblica designata ai sensi dell'art. 14 della Legge 526/99 per il prodotto agro-alimentare a Indicazione Geografica Protetta (IGP), svolge il compito di gestire il registro degli iscrittl e il rispetto del disciplinare di produzione con controlli a campione.

Poiché il 70-75% del kiwi italiano viene esportato, nel 2012/2013 il totale è stato di 315.934 t e 316.356 t nel 2013/2014. Da ciò si deduce che il consumo interno è di 159.000 t, comprendenti le 50.000 t di kiwi importati da altri paesi. Pertanto il consumo pro-capite italiano risulta di 2650 g.

I consumi pro-capite di kiwi, nei diversi paesi, risultano modesti se confrontati con quelli di specie diverse (mele, pere, pesche, agrumi, ecc.).

Vi sono paesi dell'E.U., come Germania, Polonia, Spagna, in cui i consumi stanno aumentando come in Brasile e nei paesi dell'Est europeo. Altre nazioni manifestano segni di maggiori consumi ad esempio quelli in via di sviluppo economico come l'India.

Fig. 1

Fig. 2

Fig. 3

Fig. 3 La Pianura Pontina è leader in Italia per l'actinidicoltura, grazie alle condizioni pedoclimatiche favorevoli.

Tab. 4 Consumo di kiwi

Paese	Abitanti (in milioni)	Consumo pro capite(kg)
Germania	80	1,6
Italia	58	2,0
Francia	57	1,4
Regno Unito	57	0,3
Spagna	39	1,4
Olanda	15	1,2
Belgio e Lussemburgo	10	1,3
Grecia	10	1,0
Portogallo	10	1,8
Danimarca	5	0,9
Irlanda	3	0,7
Totale Cee	345	1,4
Usa	240	0,2
Giappone	124	0,8
Nuova Zelanda	3	2,3
Cile	14	1,0

***Tab. 4** I dati sono di alcuni anni fa, ci sono stati incrementi nei consumi che oscillano dal 5% al 30%. Per esempio, in Italia, i consumi pro-capite attuale sono di 2,65 kg.*

Il commercio del kiwi è internazionale come ben evidenziato da A.R. Ferguson al recente convegno mondiale tenutosi in Cina.
La Cina, con 100.000 ha e una produzione di 1.100.000 t, è il paese leader al mondo: segue al 2° posto l'Italia. Occorre precisare che in Cina hanno iniziato a coltivare il kiwi, a livello industriale, alla fine degli anni '70. Le varietà coltivate sono moltissime, appartenenti alle specie deliciosa e chinensis, senza contare gli ibridi ottenuti dall'incrocio tra le due specie. Per il momento la Cina, che produce nello stesso periodo dell'Italia, esporta pochissimo quindi non esercita concorrenza alla nostra produzione.

Tab.5

PRODUZIONE MONDIALE DI KIWI NEL 2013 (T) TRA PARENTESI LE SUPERFICI (Ha)

EMISFERO NORD			EMISFERO SUD		
Cina	1.100.000	(100.000)	Cile	(12.500)	204.000
Francia	56.000	(4.500)	N. Zelanda	(12.500)	302.000
Grecia	150.000	(7.000)	Altri	(4.000)	46.000
Iran	32.000	(4.200)			
Italia	408.000	(25.081)			
Giappone	37.000	(3.500)			
USA	24.000	(1.575)			
Altri	69.000	(5.500)			
TOTALE	1.876.000	(151.856)		(29.000)	552.000

TOTALE 2.428,000 (180.856)

Fonte: A.R. Ferguson-Kiwifruit the word - Cina 2014. Tra parentesi le superfici (in Ha) inserite da O. Cacioppo.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Nel mondo, esclusa la Cina, si producono 1.348.000 t di kiwi, aggiungendo la produzione cinese si ha un totale di 2.448.000 t. i consumi procapite,sono bassi in molti paesi come negli U.S.A., in Inghilterra, Europa dell'Est, Brasile, India e Cina, e tanti altri, costituiscono un bacino potenziale notevole per incrementare i consumi del kiwi. Importante appare, per spiegare i segnali di incremento dei consumi, l'azione divulgativa svolta dai nutrizionisti di tutto il mondo, che esaltano le virtù antiossidanti dei frutti di kiwi e le loro numerose proprietà farmacologiche che ne consigliano l'inserimento in tutte le diete alimentari. Inoltre non si può perdere di vista l'obiettivo di produrre nel rispetto della qualità che è il risultato di una condizione degli actinidieti senza ricorrere all'uso di prodotti di forzatura per esaltare in modo abnorme le rese unitarie con la produzione di frutti che non hanno il gusto tipico della varietà, ma risultano, avvolte, sgradevoli con il risultato di perdere consumatori.
Si può quindi concludere riservando l'osservazione alla nostra Italia, che vi sono ampie possibilità ancora di estendere la coltivazione dell'Actinidia con conseguenti incrementi rilevanti di produzione e di esportazione e con la piena soddisfazione economica dei nostri bravi coltivatori.

Tab. 6

SITUAZIONE DELL'ACTINIDICOLTURA IN CINA , SUPERFICIE, PRODUZIONE CULTIVAR E QUOTAZIONI (RMB 10 = € 1,2) ANNO 2013

CULTIVAR	SPECIE	SUPERFICIE (Ha)	PRODUZIONE (T)	%	QUOTAZIONE (RMB/KG)
HAYWARD *	A. DELICIOSA	28,750	409,500	33,1	10,0
XUXIANG *	A. DELICIOSA	9,850	149,600	12,1	5,0
QINMEI *	A. DELICIOSA	8.170	150,800	12,2	5,0
MIUANG N. 1 *	A. DELICIOSA	8,500	90,000	7,3	1,5
EMIHOUTAO N.1^	A. DELICIOSA	3,560	58,300	4,7	10,0
GUICHANG *	A. DELICIOSA	2,000	20.000	1,8	1,0
YATE *	A. DELICIOSA	1,330	18.000	1,5	5,0
BRUNO *	A. DELICIOSA	670	15,000	1,2	7,0
WUZHI N.3 **	A. CHINENSIS	680	11,000	0,9	8,0
CUIYU **	A. CHINENSIS	670	9,000	0,7	-
CUIXIANG *	A. DELICIOSA	1,000	1,350	0,4	-
HUAYOU ***	A. DELIC. X CHINS ?	3,330	44,000	3,6	5
JINYAN ***	A. ERIANTHA X CHIN	7,680	39,600	3,2	20
GANMI N.3** (JINFENG)	A. CHINENSIS	700	10,500	0,9	6
JINTAO**	A. CHINENSIS	730	400		20
HONGYANG ****	A. CHINENSIS	16,630	100,000	8,1	28
ALTRE		17,560	106,450	8,6	
TOTALE		109,000	1,236,300		

Fonte: A.R. Ferguson.relazione presentata al Simposio in Cina 2014

*= polpa verde; **=polpa gialla; ***= ibrido di A. deliziosa e A. Chinensis;**** = polpa rossa e gialla ; ^=detta anche Jinkui.

S. Loreti

N. Pucci

A. Gallelli

A. L'Aurora

S. Talocci

E. Di Nicola

N. Pilotti

DIAGNOSI DI *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *ACTINIDIAE*: CRITICITÀ E PUNTI DI FORZA

DETECTION OF PSEUDOMONAS SYRINGAE *PV.* ACTINIDIAE: *STRENGTHS AND WEAKNESSES*

S. Loreti, N. Pucci, A. Gallelli, A. L'Aurora, S. Talocci, E. Di Nicola, M. Pilotti
Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Economia Agraria
Centro di Ricerca per la Patologia Vegetale CRA-PAV - Via C. G. Bertero 22, 00156 Roma
stefania.loreti@entecra.it

ABSTRACT

In the [roughly] six years since the outbreak of kiwifruit bacterial canker, much effort has been made detect the causal agent of the disease, the bacterium Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *(Psa). After the development of several molecular methods for Psa detection, validation of the methods became critical. National and international interlaboratory comparisons were thus conducted and are currently underway to establish useful performance criteria in order to draft an official protocol. Another crucial factor that had consequences on diagnostics was the characterization of Psa populations. On the basis of biochemical, molecular and pathogenicity tests, Psa was initially divided into four biovars, although one (the so-called biovar 4) presented various differential characteristics compared to the other three biovars. This impacted on diagnosis, as the majority of molecular methods developed after 2008 did not identify biovar 4 as Psa. Importantly, further studies reclassified the biovar 4 as a new pathovar of P. syringae (P. syringae pv. actinidifoliorum), thus re-establishing the reliability of the methods.*

Despite many critical limitations, namely I) the confusion caused by misclassification of the pathogen populations, II) the lack of specific methods for Psa detection, III) the need for a validation of the methods and IV) the lack of official protocols, - it is now possible to identify various strengths: the availability of several specific methods for Psa diagnosis, their validation (already done or in progress) and the recent pubblication of the Standart EPPO [PM7/120 (1)].

INTRODUZIONE

A circa sei anni dallo scoppio epidemico del cancro batterico dell'actinidia vengono di seguito individuati alcuni punti di forza e di debolezza relativamente alla diagnosi di *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa), l'agente causale della malattia.

Il primo metodo di diagnosi molecolare (PCR qualitativa) per il rilevamento specifico di Psa risale al 2002 ad opera di autori giapponesi (Koh and

Nou, 2002); questo metodo si è rivelato, tuttavia, produttore di falsi positivi, sia con alcune pathovar correlate filogeneticamente a Psa *(P. syringae* pv. *tomato, P. syringae* pv. *theae)* sia con alcuni ceppi di *P. syringae* pv. *syringae*, potenziale patogeno dell'actinidia.

A partire dal 2008 - anno in cui è stato segnalato nel Lazio - sono stati sviluppati vari metodi molecolari per la diagnosi specifica di Psa e delle rispettive popolazioni del batterio.

I) Il metodo di PCR qualitativa di Rees-George et al. (2010) che, tuttavia, ha individuato falsi positivi con ceppi di *P. syringae* pv. *tomato* e talora con *P. avellanae*; **II)** la duplex-PCR di Gallelli *et al.* (2011) basata sull'amplificazione di due target per Psa e di uno o nessun amplicone per batteri appartenenti ad altri generi o specie batteriche; **III)** il metodo di Biondi *et al.* (2013) basato su una nested-PCR in cui gli ampliconi prodotti sono sottoposti a digestione enzimatica per distinguere le varie popolazioni di Psa fra loro e da altre specie batteriche correlate filogeneticamente; **IV)** la multiplex-PCR di Balestra *et al.* (2013) in grado di produrre 'pattern' di bande differenti per le diverse popolazioni di Psa, distinguendole fra loro e da altri batteri fitopatogeni che non producono alcuna amplificazione; **V)** i due metodi di Gallelli *et al.* (2013) basati rispettivamente su una real-time PCR e su una PCR qualitativa in grado di individuare specificamente i ceppi responsabili dei recenti attacchi epidemici.

E' evidente che, a fronte dell'ampia gamma di metodi oggi disponibili, sorge la difficoltà di scegliere quelli più idonei per le analisi diagnostiche e la necessità di armonizzazione dei protocolli e dei relativi metodi. A tal fine, questi ultimi devono essere validati, ovvero rispondere a caratteristiche di sensibilità, specificità, accuratezza, riproducibilità e ripetibilità secondo le indicazioni dell'*EPPO diagnostic standart* PM 7/98 (2).

Questa attività necessita di studi di confronto fra laboratori (*'interlaboratory comparison'* - ITL) in cui gli stessi campioni vengono sottoposti all'analisi con le stesse metodiche, in Istituzioni diverse. Il primo ITL per Psa è stato organizzato nel 2011 dal CRA-PAV (Loreti *et al.,* 2013) e i risultati sono stati forniti all'*European Plant Protection Organization* (EPPO) per la stesura del protocollo diagnostico ufficiale EPPO. Attualmente nell'ambito di un Progetto EUPHRESCO (PSA-DID) è in corso la validazione di campioni di polline e legno (24 campioni totali) presso 13 laboratori afferenti a diversi paesi europei e non (Nuova Zelanda, Francia, Spagna, Grecia, Austria, Portogallo, Turchia e Italia). Questa attività prevede inoltre di saggiare vari ceppi di specie correlate filogeneticamente a Psa, di Pseudomona patogene per l'actinidia *(P. syringae* pv. *syringae, P. viridiflava),* di isolati non identificati appartenenti alla microflora di piante di actinidia malate o sane e di ceppi rappresentativi delle varie popolazioni di Psa. Ad oggi sono state infatti individuate - sulla base di caratteristiche biochimiche, molecolari e in base a prove di patogenicità - differenti popolazioni di Psa che, secondo Vanneste *et al.* (2013), sono distinguibili in quattro *biovar.*

La biovar 1 comprende ceppi isolati in Giappone e Italia prima del 2008, mentre la biovar 2 raggruppa i ceppi isolati in Corea. La biovar 3, anche denominata Psa-V (Virulent) include i ceppi virulenti responsabili dei recenti attacchi epidemici nelle varie parti del mondo e infine la biovar 4 (o Psa-LV, Low-Virulent) è caratterizzata da ceppi batterici meno aggressivi dei precedenti, in grado di determinare macchie fogliari ma nessun sintomo di cancri o avvizzimento sulle parti legnose. Recentemente si fa inoltre menzione di un'altra popolazione di ceppi 'low-virulent', isolata in Giappone e denominata Psa 5 (Sawada *et al.* 2014).

In particolare la biovar 4 è stata inclusa nella pathovar actinidiae (Vanneste *et al.,* 2013) malgrado alcune differenze con le altre tre biovar. *In primis* la diversa morfologia sui terreni KB (Vanneste *et al.,* 2013) e NSA (Ferrante and Scortichini, 2014), inoltre la negatività con i seguenti metodi molecolari, la multiplex-PCR (Balestra et al., 2013), la duplex-PCR di Gallelli *et al.* (2011) (Vanneste et al., 2013), la PCR-C e la real-time PCR (Gallelli *et al.,* 2013). Inoltre gli ampliconi della biovar 4 ottenuti con la PCR Biondi, forniscono una risposta analoga a *P. syringae* pv. *tomato* e *P. syringae* pv. *theae* quando digeriti con l'enzima *BCl*I e ai ceppi di Psa isolati prima del 2008 quando ristretti con *Alu*I e *Bfm*I (Loreti dati non pubblicati), non fornendo risultati conclusivi. Ferrante e Scortichini (2014) evidenziano un differente host-range fra biovar 1, 2, 3 e la biovar 4: le prime tre sviluppano sintomi su foglia di *Actinidia deliciosa,* mentre questo non avviene per la biovar 4; quest'ultima determina inoltre, diversamente dalle altre, avvizzimento su ciliegio e necrosi su frutto di peperone.

A fronte delle divergenze sull'includere o meno questa popolazione nella pathovar *actinidiae* è opportuno sottolineare che qualunque biovar di Psa venga rilevata nella pianta, questa sarà consi-

derata contaminata e sarà quindi soggetta alle misure fitosanitarie previste per la Psa, compresa la distruzione del materiale vegetale. Inoltre qualsiasi protocollo ufficiale dovrebbe inserire solo i metodi in grado di determinare tutte le biovar di Psa. Di conseguenza la maggior parte di quelli disponibili non potrebbero essere utilizzati in quanto forniscono una risposta negativa (o dubbia come nel caso del metodo Biondi *et al.,* 2013) quando applicati per la diagnosi della biovar 4. Gli unici metodi che resterebbero a disposizione sarebbero le PCR Koh and Nou (2002) e Rees-George *et al.* (2011) che è noto produrre dei falsi positivi con alcune specie correlate (Gallelli *et al.,* 2011; Loreti *et al.,* 2014; Vanneste *et al.,* 2013; Gallelli *et al.,* 2013).

In questo modo la diagnosi di Psa sarebbe fortemente minata dal rischio di ottenere dei falsi positivi e certamente non potrebbe fornire quei dati di specificità che ci si attende per un metodo di diagnosi affidabile.

D'altro canto, altri autori neozelandesi (Butler *et al.*, 2013) hanno individuato delle differenze nella popolazione di ceppi della biovar 4 (o LV) che hanno chiamato informalmente PsD *(Ps deliciosa),* inoltre Ferrante e Scortichini (2014) hanno affermato che la biovar 4 non debba appartenere alla pathovar *actinidiae,* che deve includere solo le biovar Psa 1, Psa 2 e Psa 3. Recentemente in uno studio di collaborazione fra neozeolandesi e francesi, sono state finalmente riconosciute le differenze fra le tre biovar (1,2,3) di Psa e la biovar 4 che viene attribuita ad una nuova pathovar: *P. syringae* pv. *actinidifoliorum* (Cunty et al., 2014).

In conclusione al momento in cui si manifesta uno scoppio epidemico così importante com'è stato quello della Psa su actinidia, uno dei punti critici è rappresentato dalla caratterizzazione delle popolazioni del patogeno. La conoscenza della struttura di popolazione ha infatti riflessi importanti sullo sviluppo di strategie di controllo efficaci, sull'emanazione di una legislazione fitosanitaria attendibile e sull'applicazione di una diagnosi affidabile del patogeno che deve poterne individuare tutte le popolazioni. Relativamente agli aspetti strettamente diagnostici, i punti critici salienti sono stati: l'assenza della disponibilità di metodi diagnostici specifici, la necessità dell'armonizzazione dei metodi nel frattempo sviluppati e l'assenza di protocolli ufficiali.

Quali punti di forza, va segnalato che numerosi metodi sono stati messi a punto dal 2008 ad oggi (Rees-George *et al.,* 2010; Gallelli *et al.,* 2011; Gallelli *et al.,* 2013; Biondi *et al.*, 2013; Balestra *et al.,* 2013) e relativamente all'armonizzazione degli stessi è già stato svolto un ITL nazionale (Loreti *et al.,* 2014) i cui risultati hanno contribuito alla stesura del protocollo ufficiale EPPO [Standart EPPO PM7/120 (1)], inoltre è in corso un nuovo ITL a livello internazionale. Per concludere, è opportuno segnalare un ultimo aspetto in cui si sovrappongono debolezze e punti di forza: i lunghi tempi della ricerca, che pur essendo una criticità, attraverso la verifica e la ripetibilità nel tempo dei risultati ne garantiscono l'attendibilità.

BIBLIOGRAFIA

BALESTRA G.M., M.C. TARATUFOLO, B.A. VINATZER AND A. MAZZAGLIA, 2013. *A multiplex PCR assay for detection of Pseudomonas syringae pv. actinidiae and differentiation of populations with different geographic origin. Plant Dis* 97: 472-478.

BIONDI E., A. GALEONE, N. KUZMANOVIC, S. ARDIZZI, C. LUCCHESE, A. BERTACCINI, 2013. *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* detection in kiwifruit plant tissue and bleeding sap. Annals Appl Biol 162: 60-70.

BUTLER M.I., STOCKWELL P.A., BLACK M.A., DAY R.C., LAMONT I.L., POULTER R.T.M., 2013. Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *from recent outbreaks of kiwifruit bacterial canker belong to different clones that originated in China.* PLoS ONE 8, e57464.

CUNTY, A., F. POLIAKOFF, C. RIVOAL, S. CESBRON, M. FISCHER-LE SAUX, C. LEMAIRE, M. A. JACQUES, C. MANCEAU AND J. L. VANNESTE, 2014. *Characterization of* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *(Psa) isolated from France and assignment of Psa biovar 4 to a de novo pathovar:* Pseudomonas syringae *pv.* actinidifoliorum *pv.* nov. Plant Pathol Doi: 10.1111:12297.

EPPO, 2010 PM 7/98 (2): *Specific requirements for laboratories preparing accreditation for a plant pest diagnostic activity.* Bull OEPP/EPPO Bull 44 (2): 117-147

EPPO, 2014 PM 7/120 (1): *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*. Bull OEPP/EPPO Bull 44 (3): 360-375.

FERRANTE P., SCORTICHINI M., 2014. *Redefining the global populations of* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *based on pathogenic, molecular and phenotypic characteristics.* Plant Pathology. Doi:10.1111:12236.

GALLELLI, A., L'AURORA, A., LORETI, S. 2011. *Gene sequence analysis for the molecular detection of* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae: *developing diagnostic protocols.* J. Plant Pathol. 93:425-435.

GALLELLI A., TALOCCI S., PILOTTI M. AND LORETI S., 2013. *Real-time and qualitative PCR for detecting* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *isolates causing recent outbreaks of kiwifruit bacterial canker.* Plant Pathology 63 (2): 264-272.

KOH J.K., NOU I.S., 2002. *DNA markers for the identification of* P. syringae *pv.* actinidiae. Mol and Cells 13: 309-314.

LORETI S., PUCCI N., GALLELLI A., P. MINARDI, S. ARDIZZI, G. M. BALESTRA, A. MAZZAGLIA, M.C. TARATUFOLO, 2014. *The Italian inter-laboratory study on the detection of* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae. Phytopath. medit. 53,1: 159-167.

REES-GEORGE J., VANNESTE J.L., CORNISH D.A. *ET AL.,* 2010. *Detection of* Pseudomo-nas syringae *pv.* actinidiae *using polymerase chain reaction (PCR) primers based on the 16S-23S rDNA intertranscribed spacer region and comparison with PCR primers based on other gene regions.* Plant Pathol. 59: 453-64.

SAWADA H., MIYOSHI T., AND IDE Y. (2014). *Novel MLSA group (Psa 5) of* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *causing bacterial canker of kiwifruit (Actinidia chinensis) in Japan.* Japanese Journal of Phytopathology, 80, 171-184.

VANNESTE J.L., YU J., CORNISH D.A. *ET AL.*, 2013. *Identification, virulence, and distribution of two biovars of* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *in New Zealand.* Plant Dis 97: 708-19.

Giorgio Mariano Balestra

Serena Ciarroni

Maria Claudia Taratufolo

Aneglo Mazzaglia

CARATTERIZZAZIONE DELLE POPOLAZIONI DI *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *ACTINIDIAE*

CHARACTERIZATION OF PSEUDOMONAS SYRINGAE PV. ACTINIDIAE POPULATIONS

G.M. Balestra, S. Ciarroni, M.C. Taratufolo, A. Mazzaglia
Dipartimento di Scienze e Tecnologie per l'Agricoltura, le Foreste, la Natura e l'Energia (DAFNE)
Università degli Studi della Tuscia - Via S. Camillo de Lellis, 01100 Viterbo, Italia.
balestra@unitus.it ▪ angmazza@unitus.it

ABSTRACT

The bacterial canker of kiwifruit, caused by Pseudomonas syringae pv. actinidiae (Psa), is an emblematic example of a devastating disease of this crop, especially with its extremely virulent type emerged since 2008. To examine the genetic structure of Psa an exhaustive worldwide collection of 137 strains was submitted to MLVA analysis: a panel of VNTR loci was identified and used to study the Psa complex. Results shows that this methodology can reveal a wider diversity among Psa populations throughout the world than previous assessments. The VNTRs loci were divided in two different panels; a first one using only few VNTR loci gives a well-structured population arrangement on world scale and a second one uses all the variable VNTR loci per each definite haplotype and is able to provide deeper insights within the ascertained populations. In fact, different clonal complexes were depicted that correlate mostly with the strains geographic origin. The efficiency of MLVA in resolving differences between Psa strains and the related implications concerning pathogen's spread are discussed.

INTRODUZIONE

Il cancro batterico dell'Actinidia da *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa) rappresenta oggi il principale fattore limitante nella coltivazione di questa importante specie frutticola.

I numerosi lavori (Mazzaglia *et al.*, 2011; Chapman *et al.*, 2012; Mazzaglia *et al.*, 2012; Balestra *et al.*, 2013; McCann *et al.*, 2013) ad oggi pubblicati sulla struttura genetica del batterio agente causale della malattia, hanno ripetutamente evidenziato la presenza di quattro biovar principalmente associate ad altrettante macroaree geografiche. Tra esse spicca, per aggressività, la biovar 3, responsabile della gravissima epidemia mondiale attualmente in atto, mentre la biovar 4 è associata ad una forma a scarsa virulenza, oggi ricondotta a nuova patovar con il nome di *Pseudomonas syringae* pv *actinidifoliorum* (Cunty *et al.* 2014).

Negli ultimi anni, soprattutto per tracciare ceppi a diversa aggressività di taxa batterici patogeni per l'uomo, è stata sviluppata ed efficacemente utilizzata una metodica molecolare ad altissima capacità di discriminazione, di facile applicazione ed

altamente riproducibile; tale tecnica il cui acronimo è MLVA (Multiple Locus VNTR Analysis, dove VNTR sta per Variable Number of Tandem Repeats) si basa sul riconoscimento di sequenze ripetute a tandem all'interno del genoma e sull'esame della variabilità, in termini di numero di sequenze ripetute, in ciascuno dei loci identificati (Pritchard *et al.*, 2000; Vergnaud and Pourcel, 2009; Sobral *et al.*, 2012).
In questo studio, tale metodologia è stata elaborata *ex-novo* per Psa, messa a punto ed applicata ad un'ampia collezione di isolati provenienti da tutto il mondo, caratterizzati da differenze relative ad anno di isolamento, ospite e grado di virulenza. Lo scopo era quello di ottenere informazioni più accurate sulla variabilità genetica della popolazione mondiale di Psa rispetto a quanto determinato con le tecniche molecolari tradizionali e, soprattutto, di migliorare drasticamente l'efficacia nel tracciare i diversi "tipi" del patogeno nella loro diffusione su scala nazionale ed internazionale.

MATERIALI E METODI

Come accennato, la tecnica scelta permette di rilevare differenze isolato-specifiche nel numero di ripetizioni consecutive di sequenze definite di DNA *(tandem repeats):* per fare ciò, il primo passaggio della ricerca è consistito, ovviamente, nell'identificazione dei loci con *tandem repeats* a numero variabile tra ceppo e ceppo. Ciò è stato possibile effettuando una comparazione tra le sequenze genomiche (WGS) di 3 ceppi diversi per provenienza ed epoca di isolamento: il "type strain" di Psa KW1, isolato in Giappone nel 1984, il ceppo italiano CFBP 7286, isolato nel 2008 ed il ceppo cinese CH2010-6, isolato nel 2010. I risultati ottenuti in questo screening *in silico* sono stati utilizzati per identificare i loci più promettenti e per disegnare dei primers sulle regioni fiancheggianti le ripetizioni, così da amplificare tramite una semplice *end-point* PCR, il tratto di DNA contenente la sequenza ripetuta. Gli amplificati di tutti e 3 i ceppi di confronto sono stati sequenziati per verificare l'effettiva presenza, dimensione e numero delle *tandem repeats.*
A questo punto, conoscendo le dimensioni delle ripetizioni e la lunghezza delle due regioni adiacenti *(flanking regions)* è possibile risalire al numero di ripetizioni presenti in un amplicone di dimensioni note. Poiché le sequenze ripetute sono spesso di dimensioni ridotte (<10 bp) per determinare l'esatta lunghezza degli amplificati è stata scelta la metodologia dell'elettroforesi capillare, che permette di raggiungere una precisione sufficiente per l'analisi (±2-3 nucleotidi). Tutti i loci VNTR identificati *in silico* sono stati saggiati su un primo gruppo ridotto di isolati.
Successivamente l'analisi è stata allargata a 137 ceppi di Psa rappresentativi di, praticamente, tutte le situazioni epidemiche note: 6 nazioni Europee, Turchia, Giappone, Corea, Nuova Zelanda, Cile e Cina, areale di origine dell'actinidia e presumibilmente anche del suo principale patogeno. I dati ottenuti sono stati analizzati con diversi approcci e specifici software; i risultati sono stati dapprima confrontati con quelli ad oggi acquisiti mediante altri approcci molecolari e quindi discussi *per sé*.

RISULTATI E CONCLUSIONI

L'analisi di confronto *in silico* dei 3 genomi scelti ha portato all'identificazione di circa 30 potenziali VNTR; alcuni di essi non mostravano variabilità tra i 3 ceppi e, sebbene ciò non indichi a priori assenza di variabilità in altri ceppi, sono comunque stati scartati in questa ricerca, focalizzando quindi l'attenzione solo su 18 di essi. Nella fase di screening sono quindi state saggiate 18 coppie di *primers* su un gruppo selezionato di 10 isolati di Psa; 5 di essi sono stati ulteriormente scartati per la trascurabile variabilità dimostrata.
I 13 loci VNTR selezionati sono stati infine amplificati ed analizzati su tutti i 137 ceppi della collezione di Psa considerata. Una approfondita analisi dei risultati ha permesso di scegliere 6 tra i 13 VNTRs aventi, già da soli, la capacità di ricostruire perfettamente la suddivisione comunemente accettata nelle 4 *biovars* accennate nell'introduzione nonché di riconoscere almeno altri 3 gruppi di isolati (*clonal complexes,* definiti come gruppi di isolati aventi in comune almeno 5 dei 6 loci VNTR.
L'applicazione della metodica con tutti i 13 loci identificati permette di riconoscere ulteriori sottogruppi all'interno delle 7 popolazioni identificate e di trarre interessanti considerazioni, di seguito sinteticamente riportate.
La prima chiara indicazione è la vastissima variabilità che si registra a carico dei ceppi batterici provenienti dalla Cina, paese di cui la specie *Actinidia* è originaria: la millenaria evoluzione naturale della specie ospite, e presumibilmente del suo principale patogeno, l'enorme variabilità delle specie e cultivar presenti, la vastità e diversità degli areali naturali e di coltivazione dell'actinidia

in Cina rendono facilmente conto della variabilità riscontrata nelle presenti ricerche, nonché lasciano facilmente presumere che tale variabilità sia in realtà ben più vasta.
Si conferma anche la straordinaria omogeneità dei ceppi appartenenti alla *biovar* 3, a prescindere dal loro luogo di isolamento; di particolare interesse è l'osservazione che alcuni ceppi, tutti provenienti dalla medesima area geografica della Cina, mostrano altissima affinità con essi, suggerendo una ipotetica provenienza della forma ipervirulenta oggi diffusa in quasi tutto il mondo.
Da questa indagine si rileva inoltre come la popolazione virulenta attualmente presente in Korea del Sud (Koh *et al.,* 2010), sia geneticamente separata da tutte le altre, incluse quelle riportate nel medesimo paese fino a pochi anni orsono, che pure risultano le più affini ad essa.
Tra i ceppi giapponesi, purtroppo ancora scarsamente rappresentati (solo 10 ceppi di anni e provenienze diverse) si riconosce l'omogeneità con essi di quelli più vecchi (anni '80) e l'affinità del ceppo isolato in Italia nel 1992. I ceppi più recenti, invece, mostrano una distribuzione piuttosto sparsa con la presenza di diversi *singletons* (ceppi singoli non affini ad altri). Viene infine confermato che la popolazione di Psa attualmente indicata come LV o Psa-4, cioè quella poco virulenta, risulta completamente diversa da tutti gli altri isolati di Psa, rendendo condivisibile la recentissima riclassificazione a diversa *patovar.*
I risultati ottenuti, nel loro complesso, confermano l'efficacia dell'analisi MLVA nel riconoscere varianti di uno stesso organismo e di ricondurre tali varianti ad origini geografiche e temporali diverse; l'importanza e l'efficacia di un simile strumento nel tracciare i movimenti delle diverse popolazioni a livello nazionale, internazionale e mondiale viene dunque ulteriormente sottolineata.

BIBLIOGRAFIA

BALESTRA G.M., TARATUFOLO M.C., VINATZER B.A., MAZZAGLIA A., 2013. *A multiplex PCR assay for detection of* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *and differentiation of populations with different geographic origin.* Plant Dis. 97:472-478.

CHAPMAN J.R., TAYLOR R.K., WEIR B.S., ROMBERG M.K., VANNESTE J.L., LUCK J., ALEXANDER B.J., 2012. *Phylogenetic relationships among global populations of* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae. Phytopathology. 102:1034-1044.

KOH Y.J., KIM G.H., JUNG J.S., LEE Y.S., HUR J.S., 2010. *Outbreak of bacterial canker on Hort16A (Actinidia chinensis Planchon) caused by* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae in *Korea.* New Zeal. J. Crop and Hort. 38 (4):275-282.

MAZZAGLIA A., RENZI M., BALESTRA G.M., 2011. *Comparison and utilization of different PCR-based approaches for molecular typing of* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *strains from Italy.* Can J Plant Pathol. 33(1):8-18.

MAZZAGLIA A., STUDHOLME D.J., TARATUFOLO M.C., CAI R., ALMEIDA N.F., GOODMAN T., GUTTMAN D.S., VINATZER B.A., BALESTRA G.M., 2012. Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *(PSA) isolates from recent bacterial canker of kiwifruit outbreaks belong to the same genetic lineage.* PLoS ONE. 7(5), art. no. e36518.

MCCANN H.C., RIKKERINK E.H.A., BERTELS F., ET AL. (16 co-authors), 2013. *Genomic analysis of the kiwifruit pathogen* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *provides insight into the origins of an emergent plant disease.* PLoS Pathog. 9(7):e1003503.

SOBRAL D., MARIANI-KURKDJIAN P., BINGEN E., VU-THIEN H., HORMIGOS K., LEBEAU B., LOISY-HAMON F., MUNCK A., VERGNAUD G., POURCEL C., 2012. *A new highly discriminatory multiplex capillary-based MLVA assay as a tool for the epidemiological survey of* Pseudo-monas aeruginosa *in cystic fibrosis patients.* Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 31:2247-2256.

PRITCHARD J.K., STEPHENS M., DONNELLY P., 2000. *Inference of population structure using multilocus genotype data.* Genetics. 155:945-959.

VERGNAUD G., POURCEL C., 2009. *Multiple locus variable number of tandem repeats analysis.* Molecular Epidemiology of Microorganisms. Methods and Protocols. Methods in molecular biology (Clifton, N.J.), 551:141-158.

CUNTY A., POLIAKOFF F., RIVOAL C., CESBRON S., FISCHER-LE SAUX M., LEMAIRE C., JACQUES MA., MANCEAU C., VANNESTE J.L., 2014. *Characterisation of* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *(Psa) isolated from France and assignment of strains Psa biovar 4 to a de novo pathovar:* Pseudomonas syringae *pv.* actinidifoliorum *pv. nov.* Plant Patho-logy. DOI: 10.1111-12297.

Marco Scortichini

STRATEGIE DI CONTROLLO INTEGRATO DEL "CANCRO BATTERICO" DELL'ACTINIDIA

AN INTEGRATED APPROACH TO CONTROL BACTERIAL CANKER OF KIWIFRUIT

M. Scortichini
C.R.A. Centro di ricerca per la Frutticoltura, Roma
marco.scortichini@entecra.it

ABSTRACT

Since few years from the occurrence of the first epidemics of bacterial canker of kiwifruit, caused by Pseudomonas syringae *pv. a*ctinidiae *(Psa), recorded during 2008 in Latium region (central Italy), thanks to the big efforts provided by researchers, it is now possible to illustrate some general points enabling the farmers to coexist with the disease. It should be stressed that the pathogen is not disappeared from the kiwifruit orchards and that where some relevant predisposing factors, such as autumn and winter frosts and heavy rain and hail, are present, the risk for a reappearance of the disease is still very high. Also a incorrect agronomical training of the orchard not taking into consideration some basic measures could result into an increase of pathogen virulence. It will provided some guidelines retained useful to prevent the spread of the bacterium in the areas where the disease has been found regarding the prevention, field control, choice of pollinators, artificial pollination, training system, irrigation, fertilization, pruning and field control. Such measures should be applied to both the green-fleshed and yellow-fleshed cultivars. The field monitoring of the orchards should to be continued also in the absence of symptoms to possibly avoid further epidemics.*

A pochi anni dalla prima epidemia in Italia di "cancro batterico" dell'actinidia, causato da *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa), e verificatasi nel corso del 2008 nel Lazio, è ora possibile, grazie alla notevole mole di risultati ottenuti nel frattempo dalla ricerca, fornire alcune linee guida generali che consentono di convivere con la malattia. E' bene sottolineare che tale convivenza non significa che il batterio sia scomparso dalle aree di coltivazione del kiwi e che, dove permangono alcuni fattori fortemente predisponenti la malattia, quali le gelate autunno-invernali unitamente ad altri eventi meteorici particolarmente avversi, come grandinate e persistenti o forti piogge, il rischio di una recrudescenza dell'avversità è sempre molto alto. Anche una gestione tecnico-agronomica dell'impianto che trascuri alcune norme di prevenzione fondamentali sottoporrebbe l'azienda alla possibilità di ulteriori, nuove infezioni da parte del patogeno. Vengono esposte alcune indicazioni ritenute utili al contenimento della pericolosità del batterio nelle zone dove questo è stato riscontrato inerenti la prevenzione, la scelta degli impollinatori, l'impollinazione artificiale, la forma di allevamento, l'irrigazione, la fertilizzazione, la potatura, la difesa Tali indicazioni andrebbero applicate sia per le cultivar a polpa verde che per quelle a polpa gialla. Si sottolinea, inoltre, come il monitoraggio aziendale sulla presenza del batterio deve continuare anche in assenza di sintomi per rilevare prontamente recrudescenze della malattia.

Vania Michelotti

Antonella Lamontanara

Luigi Orrù

Giampaolo Buriani

Antonio Cellini

Irene Donati

Joel Vanneste

Luigi Cattivelli

Francesco Spinelli

Gianni Tacconi

ANALISI DELL'ESPRESSIONE GENICA NELL'INTERAZIONE *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *ACTINIDIAE* - ACTINIDIA

EXPRESSION ANALYSIS OF THE INTERACTION BETWEEN PSEUDOMONAS SYRINGAE *PV.* ACTINIDIAE *AND KIWIFRUIT*

V. Michelotti(1), A. Lamontanara(1), L. Orrù(1), G. Buriani(2), A. Cellini(2), I. Donati(2), J. Vanneste(3), L. Cattivelli(1), F. Spinelli(2), G.Tacconi(1)

(1) Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura Genomics Research Centre
Via S. Protaso, 302, CAP I-29017 Fiorenzuola d'Arda, Piacenza, Italy
phone/fax +39 0523 983758/50
gianni.tacconi@entecra.it ▪ luigi.cattivelli@entecra.it
(2) Department of Agricultural Sciences Alma Mater Studiorum -University of Bologna
Viale Fanin 46, 40127 Bologna, Italy
phone/fax: +39 051 2096436/01 ▪ francesco.spinelli3@unibo.it
(3) Plant & Food Research, Ruakura, Private Bag 3123, Waikato Mail Centre, Hamilton, 3240 - New Zealand

Key words: kiwifruit, Psa, gene expression, defense mechanisms, RNA-seq, ASM

ABSTRACT

*To elucidate early molecular kiwifruit plant interaction during the infection of P*seudomonas syringae *pv.* actinidiae *(Psa), the gene expression was studied by RNA-seq at 3h, 24h and 48h after inoculation (fig. 1), both on acibenzolar-S-methyl (ASM)-pretreated (Barilli et al, 2010; Reglisnki et al., 2013) and untreated plants (fig. 2).*

Transcriptome analysis of A. chinensis, performed using 75 bp paired end Illumina tecnology, leads to the de novo assembly of 39,607 contigs (Trinity software) with an average size of 933 bp and N50 of 1,472 bp. The annotation was done using Blast2GO: BLASTx and BLASTn were performed against the NR protein, RefSeq protein and SwissProt/UniProt databases and against NR nucleotide database, respectively (E-value cut-off 1e-5). The BLASTx matches was used for further GO mappings to give a putative functional annotation. The functionality InterProScan in Blast2GO software allowed to retrieve domain/motif information in the InterPro and in other domain databases. Furthermore local BLASTx alignments was made against COGs database. Reads were mapped to the contigs using the CLC software to identify differentially expressed genes (DEGs), by R package DESeq. The analyses of DEGs suggest that in ASM untreated plants the early response involves a typical defense mechanism against pathogens, but with not adequate level to counteract the infection. On the other hand, in the ASM-pretreated plants molecular mechanisms which involve also a SAR response are activated and lead the plants toward the resistance. Moreover, the RNA-seq technology has permitted to identify differentially expressed genes involved in basal defense mechanisms, but also revealed novel differentially expressed genes and transcripts of unknown functions.

INTRODUZIONE

Nel presente lavoro è stato analizzato il meccanismo molecolare dell'interazione tra *Pseudomonas syringae* pv *actinidie* (Psa) ed actinidia, durante le diverse fasi dell'infezione, sia in piante suscettibili che in piante rese resistenti mediante applicazione di acibenzolar-S-methyl (ASM, Barilli *et al.*, 2010; Reglisnki *et al.*, 2013). L'espressione genica è stata analizzata, sia in piante sane che in piante sperimentalmente inoculate con Psa, mediante un approccio RNA-seq utilizzando la tecnologia di sequenziamento Illumina. Sulla base del sequenziamento è stato possibile ricostruire il trascrittoma di actinidia durante l'interazione con Psa e stabilire i geni differenzialmente espressi (DEGs) nelle diverse condizioni di crescita e di infezione. La comprensione dei geni attivati o spenti dalla pianta in risposta all'attacco patogeno permetteranno di capire quali siano i punti deboli della pianta, d'altro canto l'analisi dei geni modulati a seguito del trattamento con ASM, di per sè e in seguito ad inoculo, permetteranno di capire come la pianta diventa resistente. La conoscenza di questi fattori permetterà di comprendere meglio i meccanismi di attacco del patogeno, di azione dell'induttore di resistenza e di sviluppare marcatori molecolari che permetteranno di selezionare piante meno suscettibili *(fig. 1)*.

MATERIALI E METODI

L'esperimento è stato condotto con piantine micropropagate *in vitro* (radicate ed autotrofe in MS/2) di una accessione di *A. chinensis*. Il disegno sperimentale prevedeva 5 ripetizioni: 3 per l'analisi del trascrittoma, 1 per il controllo dei sintomi, 1 per l'analisi della colonizzazione di Psa. Metà delle piante sono state trattate, 15 giorni prima dell'infezione, con ASM (Bion50WG, Syngenta), mentre le piante di controllo sono state trattate con acqua. Per l'inoculo sperimentale è stato utilizzato *P. syringae* pv. *actinidiae* ceppo CFBP7286 ingegnerizzato con GFP (green fluorescent protein) in modo da poter controllare la colonizzazione batterica al microscopio confocale a scansione laser. L'infezione è stata eseguita immergendo le piante (senza rimuoverle dal mezzo di crescita) in una sospensione di Psa10^8 cfu/ml; le piante di controllo, non infettate, sono state immerse nel tampone *(fig. 2)*. L'espressione genica è stata analizzata sia in piante pretrattate con ASM che non trattate, sia sane che sperimentalmente inoculate, a 3, 24 e 48 ore dopo l'inoculo *(fig. 1)*. La preparazione delle 24 librerie RNA è stata fatta con il kit "TruSeq RNA sample preparation v2" usando 2 microgrammi di RNA totale. Il sequenziamento è stato realizzato con il sequenziatore Illumina GAIIx in "paired end 75 pb".

RISULTATI E DISCUSSIONE

Il sequenziamento degli mRNA di *A. chinensis* ha generato circa 730 milioni di sequenze.

L'assemblaggio *de novo,* eseguito con il software Trinity, ha prodotto 39.584 contigs (ovvero l'equi-

valente di putativi geni espressi) con una lunghezza media di 933 bp (N50 di 1.472 bp).
L'annotazione del trascrittoma è stata realizzata utilizzando il programma Blast2GO con il quale sono stati interrogati l'NR protein database, RefSeq e SwissProt/UniProt e l'NR nucleotide database (E-value cut-off di 1e-5). La funzione InterProScan presente in Blast2GO ha permesso di acquisire informazioni dal database InterPro e da altri database di domini e motivi proteici, quali ad esempio Pfam e SuperFamily.
Complessivamente sono stati annotati 34.540 contigs, cioè è stata attribuita una possibile funzione ad oltre l'85% dei geni putativi del trascrittoma. Inoltre, è stato eseguito un BLASTx in locale contro il database COGs (Clusters of Orthologous Groups) in base al quale l'intero trascrittoma di *A. chinensis* è stato classificato in 24 famiglie. Blast2GO è stato anche utilizzato per attribuire i termini della Gene Ontology (GO) e classificare il trascrittoma nelle tre categorie GO (Biological Process, Cellular Component and Molecular Function) ottenendo 101 categorie funzionali.

Per l'analisi d'espressione tutte le sequenze ottenute sono state mappate sul trascrittoma utilizzando il software CLC e, grazie all'utilizzo del pacchetto R di DESeq, sono stati identificati i geni che risultavano differentemente espressi (DEGs) tra una condizione sperimentale e l'altra. Dopo 3h dall'inoculo sperimentale il numero dei geni modulati è risultato essere di 2.747 nelle piante non trattate e di 2.379 in quelle pretrattate con ASM. Tra le 24 e le 48 h dopo l'inoculo il numero dei DEGs diminuisce: 272 e 341 rispettivamente nelle non trattate e pretrattate con ASM a 24 ore, 50 e 318 rispettivamente nelle non trattate e pretrattate a 48 ore. Inoltre, per classificare i DEGs e determinare se in essi fossero sovra-rappresentate specifiche categorie funzionali, è stato fatto un "arricchimento dei termini GO" con il pacchetto GOSeq di R. Complessivamente, dall'analisi dei DEGs e delle relative categorie funzionali è stato possibile descrivere come nelle piante pretrattate ASM siano stati attivati geni tipici della risposta sistemica acquisita (SAR) e come le piante siano state in grado di contrastare l'attacco del batterio.

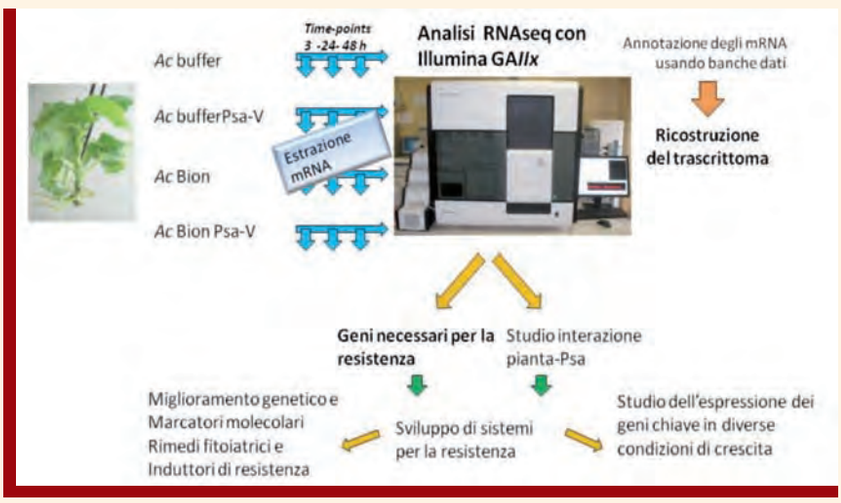


Fig. 1 *Schema di lavoro seguito per lo studio dei geni differenzialmente espressi e possibili applicazioni.*
Fig. 1 *Work flow of the gene-expression analysis in ASM pretreated and not pretreated plant, with and without PSA inoculation, at three different time-points. The possible applications are: discovery of key genes for resistance and susceptibility, development of molecular marker for breeding.*

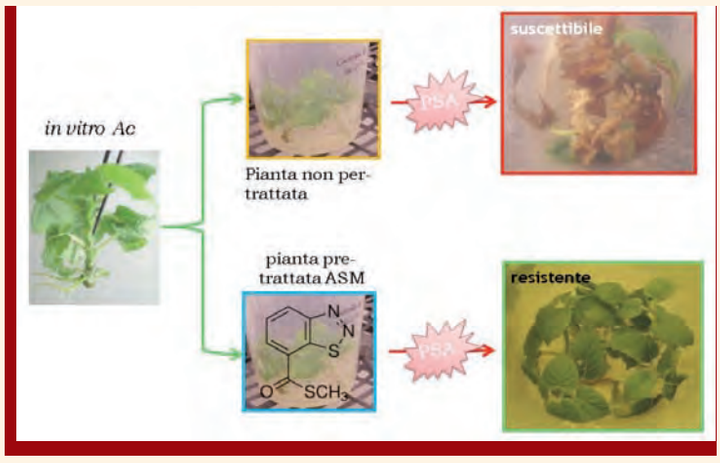


Fig. 2 *Confronto dell'effetto del trattamento con ASM di piantine in vitro fatto 15 giorni prima dell'infezione con Psa rispetto a quelle trattate con acqua: le piante trattate risultano resistenti.*
Fig. 2 *Comparison of the effect of ASM treatment of in vitro plant made 15 days before infection with PSA respect the untreated plant: the treated plants are resistant.*

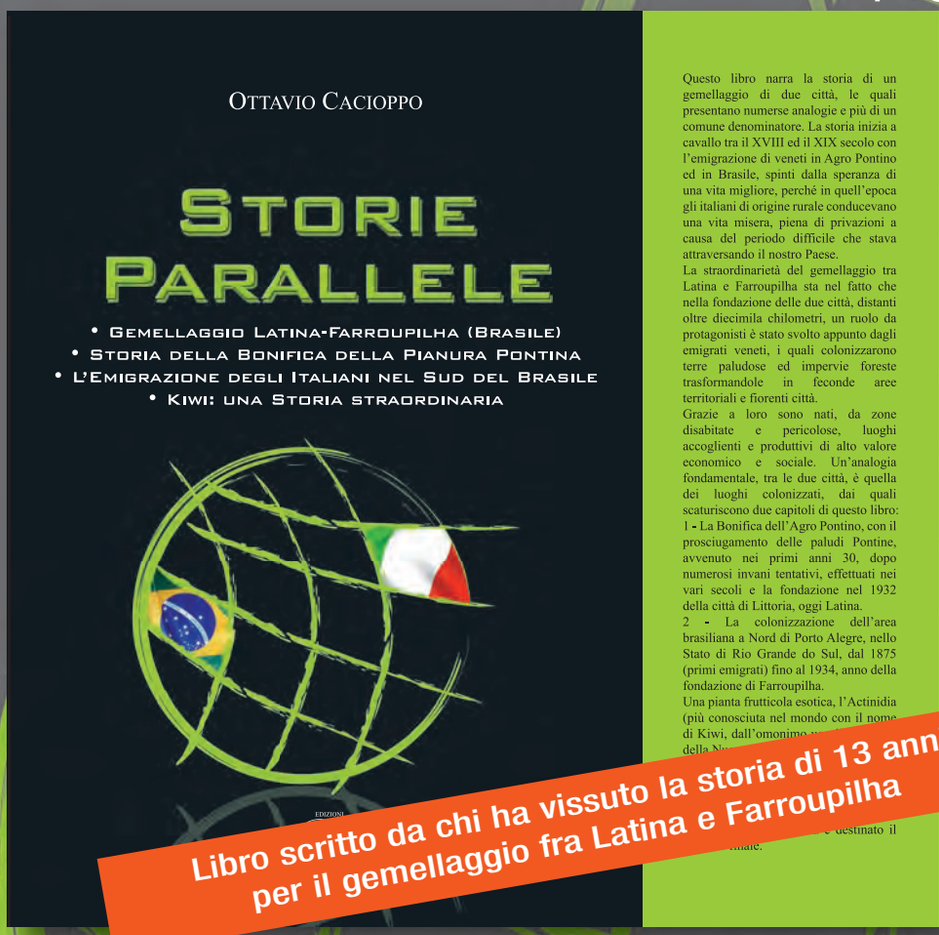
Ringraziamenti
Il lavoro è stato supportato dai progetti del MIPAAF Interact e Ardica e dal progetto europeo DROPSA. Di tanto si ringrazia sentitamente.

BIBLIOGRAFIA

BARILLI, E., PRATS, E., & RUBIALES, D., 2010. *Benzothiadiazole and BABA improve resistance to* Uromyces pisi (Pers.) *Wint. in* Pisum sativum *L. with an enhancement of enzymatic activities and total phenolic content.* European Journal of Plant Pathology, 128(4), 483-493.

REGLISNKI T., VANNESTE J.L., WURMS K., GOULD E. SPINELLI F., RIKKERINK E., 2013. *Using fundamental knowledge of induced resistance to develop control strategies for bacterial canker of kiwifruit caused by* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae. Frontiers in plant sciences 4: 24.

Il libro **"Storie Parallele"**, 233 pagine, è in vendita a € **15,00** sul prezzo di copertina (€ **18,00**) comprese spese di spedizione.



Per gli abbonati, in regola con il pagamento del canone, le spese di spedizione sono a carico della Casa Editrice ARMA.

Il libro è in vendita anche presso le librerie del Centro di Latina ed in quella di Latina Fiori.

Casa Editrice:
ARMA
Via Santa Maria, 3351
Borgo Bainsizza
04010 (LT)

Tel. +39
0773 643653
Fax +39
0773 643074
arma@armasas.191.it

SIMEONI

SIMEONI PERICLE KIWIPLANTS

PIANTE SELEZIONATE
E CERTIFICATE
A RADICE NUDA E IN VASO
DI TALEA E MERISTEMA
PER IMPIANTI
AD ALTA RESA

HAYWARD

LEADER DEL MERCATO

SORELI

IL GIALLO VINCENTE
DI GRANDE PEZZATURA

SIMEONI PERICLE Azienda Agricola Vivai
Via Camolli, 9 - 33077 Sacile (PN) - Italy
Tel. +39 0434 780509 - Fax +39 0434 70746
Cell. +39 336 248841
E-mail: info@simeonikiwiplants.it
www.simeonikiwiplants.it

Vincenzo Tagliavento *Angelo Mazzaglia* *Giorgio Mariano Balestra*

CARATTERIZZAZIONE DELLA FLORA BATTERICA PRESENTE NELLA LINFA DI PIANTE DI *ACTINIDIA* SPP. SANE ED AFFETTE DA *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *ACTINIDIAE*

CHARACTERIZATION OF THE BACTERIAL COMMUNITY LIVING IN THE SAP OF ACTINIDIA SPP. PLANTS BOTH HEALTHY AND INFECTED BY PSEUDOMONAS SYRINGAE PV. ACTINIDIAE

V. Tagliavento, A. Mazzaglia, G.M. Balestra
Dipartimento di Scienze e Tecnologie per l'Agricoltura, le Foreste, la Natura e l'Energia (DAFNE)
Università degli Studi della Tuscia - Via S. Camillo de Lellis, 01100 Viterbo, Italia.
tagliavento@unitus.it ▪ balestra@unitus.it angmazza@unitus.it

ABSTRACT

The kiwifruit bacterial canker caused by Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *(Psa) is a global and fatal threat to the cultivation of* Actinidia *spp. worldwide. It has been demonstrated, in the recent past, that this bacterium is able to colonize and to move in the vascular system of the kiwifruit plants (Renzi et al., 2012). It seems furthermore able to invade both, the xylem and the phloem vases of the* Actinidia *plants. This research analyzed both, qualitatively and quantitatively, the whole microbial populations retrievable in the sap of symptomatic and asymptomatic plants of* A. deliciosa, *cv Hayward, and of* A. chinensis, *cv Jin Tao. Sap samples were collected monthly from pre-selected plants and plated on different media in order to obtain a complete analyses of the bacterial charge in the sap along the different seasons. All the bacterial strains isolated during repeated samplings were firstly characterized physiologically, identified by 16S and ITS ribosomal typing and, those different from Psa, were also tested for their antagonistic ability respect to known Psa strains. Moreover, they have been characterized also for their potential ability to produce fluorescent pigments as well as, levan capsule, their response to Gram straining, hypersensitive response (HR) and to the ability to biofilm production. Currently, data are still under evaluation. Remarkable preliminary results suggest the presence of few recurring bacterial genotypes with difference between diseased and healthy plants.*

INTRODUZIONE

Riguardo al batterio *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa) agente del cancro batterico dell'actinidia, molti degli aspetti inerenti la sintomatologia e la sua capacità di sopravvivenza epifitica sono stati studiati (Renzi et al., 2012), mentre, riguardo al comportamento del patogeno all'interno delle piante di *Actinidia* spp. numerosi sono ancora i punti da approfondire e chiarire. Il presente studio è stato svolto sulla caratterizzazione degli isolati batterici presenti all'interno della linfa di piante di *A. deliciosa* e *A. chinensis,* sia sane che affette da Psa. La caratterizzazione della flora batterica è stata sia di tipo qualitativo che di tipo quantitativo prendendo in esame il periodo stagionale di maggior attività (primavera) all'interno delle piante di actinidia.

MATERIALI E METODI

I campionamenti per la sperimentazione sono stati effettuati in un frutteto sito nel comune di Montefiascone, in provincia di Viterbo, per quanto riguarda piante naturalmente infette da Psa, mentre campioni di linfa da piante sane sono stati prelevati dal frutteto dell'azienda agraria "Nello Lupori" dell'Università degli Studi della Tuscia di Viterbo.

I prelievi di linfa sono stati effettuati nel periodo da Marzo a Maggio del 2013 e del 2014. Sono stati presi in considerazione diversi parametri per discriminare i campioni di linfa come ad esempio il pH e l'elettroconducibilità; successivamente ogni campione è stato studiato mediante l'impiego di differenti substrati nutritivi e da questi sono stati isolati in purezza i diversi ceppi batterici colturabili. L'identificazione di questi ceppi batterici è avvenuta tramite metodologie di biologia molecolare, sequenziando nella maggior parte i geni 16S e ITS, ma altri geni sono stati indagati dove non è stato possibile risalire ad un'identificazione della specie in modo inequivocabile. Gli isolati batterici sono stati saggiati per la produzione di pigmenti fluorescenti e della capsula di levano; sono stati sottoposti alla colorazione di Gram, al saggio di ipersensibilità (HR) su foglia di tabacco, per la loro capacità di produrre biofilm (Caiazza *et al.* 2007), come d'inibire lo sviluppo d'isolati noti di Psa.

RISULTATI E CONCLUSIONI

Psa è stato isolato in tutti i campioni di linfa prelevati in piante affette da cancro batterico, evidenziando la specifica capacità di questo patogeno di svolgere endofiticamente gran parte del proprio ciclo biologico all'interno delle piante di actinidia *(Fig. 1).* Rispetto a quanto rilevato nella linfa di piante sane, la presenza di Psa nella linfa di piante di *Actinidia* spp. affette da cancro batterico, altera i valori di pH e di elettroconducibilità. All'interno della linfa sono presenti diversi generi batterici, sia gram negativi sia positivi; il genere batterico maggiormente presente è rappresentato da *Pseudomonas.* Vengono discussi i potenziali ruoli delle popolazioni batteriche presenti nella linfa in associazione a Psa.

BIBLIOGRAFIA

CAIAZZA N. C., MERRITT J. H., BROTHERS K. M., O'TOOLE G. A., 2007. *Inverse Regulation of Biofilm Formation and Swarming Motility by* Pseudomonas aeruginosa *PA14.* Journal of Bacteriology, 3603-3612.

RENZI, M., COPINI, P., TADDEI, A. R., ROSSETTI, A., GALLIPOLI, L., MAZZAGLIA, A., BALESTRA, G. M., 2012. *Bacterial canker on kiwifruit in Italy: anatomical changes in the wood and in the primary infection sites.* Phytopathology, Vol. 102, pp. 827-840.

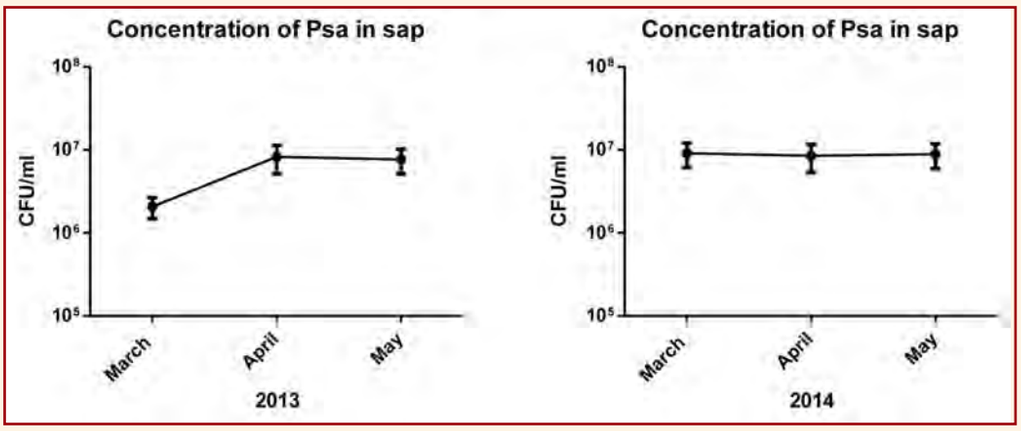


Fig. 1 *Presenza di Psa nella linfa di piante di Actinidia spp. affette da cancro batterico, nel biennio 2013-2014.*

Fabio Marocchi

Marco Mastroleo

Luigi Pennuzzi

M. Petriccione

Marco Scortichini

RELAZIONE TRA SUSCETTIBILITÀ DEL KIWI GIALLO E DEL KIWI VERDE A *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *ACTINIDIAE* E CONTENUTO IN CATIONI ED ANIONI NEL TERRENO

RELATIONSHIPS BETWEEN YELLOW-FLESHED AND GREEN-FLESHED KIWIFUIT TREE SUSCEPTIBILITY TO PSEUDOMONAS SYRINGAE *PV.* ACTINIDIAE *AND CATIONS AND ANIONS CONTENT IN THE SOIL*

F. Marocchi(1), M. Mastroleo(1), L. Pennuzzi(2), M. Petriccione(3), L. Incrocci(4), M. Scortichini(3,5)
(1) Apofruit Italia - Ufficio Tecnico di Aprilia (LT) - (2) Agronomo
(3) C.R.A. - Unità di ricerca per la Frutticoltura, Caserta
(4) Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari, Agro-Ambientali, Università di Pisa
(5) C.R.A. - Centro di Ricerca per la Frutticoltura, Roma
marco.scortichini@entecra.it

ABSTRACT

Field surveys allowed to ascertain a different response to bacterial canker of kiwifruit induced by Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *to yellow-fleshed* (Actinidia chinensis) *and green-fleshed* (A. deliciosa) *kiwifruit trees cultivated in the provinces of Latina and Rome. Soil analyses revealed a differential content and ratio of some macro and micronutrient in the aqueous solution. For both species, principal component analysis revealed a positive relationships between an high level of tree susceptibility to the disease and low pH and calcium content in the soil.*

INTRODUZIONE

Nelle province di Latina e Roma, *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* ha causato notevoli danni alle coltivazioni di kiwi giallo *(Actinidia chinensis)* e di kiwi verde *(A. deliciosa),* immediatamente dopo il suo rinvenimento nell'areale di coltivazione (2008-2009). I monitoraggi intrapresi al fine di

accertare la diffusione e la gravità dell'epidemia hanno consentito di individuare alcune zone che, pur trovandosi nell'area di presenza del batterio, mostravano danni sensibilmente minori rispetto a quelli evidenziati per altre aziende limitrofe. In queste zone, le aziende meno colpite avevano cultivar, età e tipologie di impianto ed adottavano tecniche agronomiche molto simili e/o del tutto uguali ad altre aziende vicine che mostravano, al contrario, un incidenza e gravità della malattia notevolmente superiore. Tali differenze hanno suggerito di prendere in considerazione il fattore "terreno" quale possibile parametro da porre in relazione alla differente suscettibilità mostrata dagli impianti di kiwi giallo e di kiwi verde nei confronti del patogeno. Si è, conseguentemente, intrapreso uno studio al fine di verificare se il contenuto in anioni-cationi ed alcuni rapporti tra questi, rinvenuti nella soluzione circolante del terreno, potessero essere messi in relazione ad una suscettibilità più o meno elevata della pianta nei confronti di *P. s.* pv. *actinidiae.*

MATERIALI E METODI

Per ogni singola azienda è stato stabilito il livello di infezione mediante una scala di attribuzione di gravità dei sintomi da 1 a 5. Per tutte le aziende i rilievi sono stati effettuati in primavera, in modo da rilevare anche i danni provenienti dalle gelate invernali. **1:** sola presenza di maculature fogliari; **2:** presenza di maculature fogliari, rami avvizziti, cancri sui cordoni; **3:** presenza di maculature fogliari, rami avvizziti, cancri sui cordoni, presenza di essudati su cordoni e tronco sul 30% delle piante; **4:** presenza di maculature fogliari, rami avvizziti, cancri sui cordoni, presenza di essudati su cordoni e tronco sul 40-70% delle piante; **5:** presenza di maculature fogliari, rami avvizziti, cancri sui cordoni, presenza di essudati su cordoni e tronco sul 70-100% delle piante.

Per lo studio sono state prelevati ed analizzati campioni di terreno in 15 aziende di kiwi giallo e 80 aziende kiwi verde situate nei comuni di Aprilia, Latina, Cisterna di Latina, Priverno, Sabaudia, Sermoneta (provincia di Latina) e di Ardea, Ariccia, Lanuvio, Lariano, Pomezia, Velletri (provincia di Roma). In alcune aziende che mostravano livelli di infezioni differenti in differenti corpi aziendali, sono stati prelevati più campioni rappresentativi, per un numero complessivo di 37 campioni di kiwi giallo e 118 di kiwi verde. Le caratteristiche fisico-chimiche del terreno e Il contenuto in anioni-cationi dell'estratto acquoso sono stati determinati secondo le metodiche previste dai Metodi ufficiali di analisi chimica dei suoli (MUACS) e dall'American Public Health Association (APHA) Standard Methods, rispettivamente. I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica mediante analisi delle componenti principali (PCA), utilizzando il software SPSS, versione 20.0 (SPSS Inc.).

RISULTATI E DISCUSSIONE

Le analisi statistiche effettuate mediante PCA hanno consentito di verificare che esiste una stretta correlazione tra suscettibilità della pianta e contenuto di alcuni cationi e/o di loro rapporti nella soluzione circolante. In particolare è emerso che, sia per il kiwi giallo ed il kiwi verde, ad un livello di infezione alto corrisponde un pH acido, un rapporto medio-basso del calcio rispetto agli altri cationi nella capacità di scambio cationico del terreno, e, soprattutto, un contenuto basso di calcio nell'analisi dell'estratto acquoso. Per quanto riguarda il kiwi verde si nota, inoltre, una dinamica infettiva differente anche in funzione del contenuto in magnesio nell'estratto acquoso che risulta basso in terreni ospitanti piante molto danneggiate dalla malattia. Questo studio consente di affrontare la gestione fitosanitaria degli impianti di kiwi giallo e di kiwi verde colpiti da *P. s.* pv. *actinidiae* anche mediante tecniche di fertilizzazioni, da stabilire azienda per azienda sulla base delle analisi del terreno, in modo di ristabilire un livello ottimale di alcuni cationi nella soluzione circolante e nella pianta stessa.

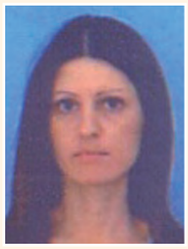
A. Brunetti

N. Pucci

V. Lumia

V. Modesti

E. Di Nicola


A. Latini

A. Gallelli

G. Di Lernia

A. Matere

S. Loreti

M. Pilotti

SCREENING DI MOLECOLE/PRODOTTI PER IL CONTROLLO DI *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *ACTINIDIAE*, AGENTE DEL CANCRO BATTERICO DEL KIWI

SCREENING OF MOLECULES/CHEMICALS TO CONTROL PSEUDOMONAS SYRINGAE *PV.* ACTINIDIAE, *AGENT OF THE KIWIFRUIT BACTERIAL CANKER*

A. Brunetti, N. Pucci, V. Lumia, V. Modesti, E. Di Nicola, A. Latini, A. Gallelli, G. Di Lernia, A. Matere, S. Loreti, M. Pilotti

Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria Centro di Ricerca per la Patologia Vegetale
Via C. G. Bertero 22, 00156 Roma
stefania.loreti@entecra.it ▪ massimo.pilotti@entecra.it

ABSTRACT

In recent years Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *(Psa) has caused severe damage to kiwifruit plantations worldwide. Thus it is still crucial to find environmentally-friendly products that are able to effectively control the disease. In this work we developed a leaf disk assay by which a high number of products have been screened in terms of their capacity to condition symptom development after treatment and Psa inoculation. The*

assay is time and space-saving, and easy to set up. The assay is based on a multi-phase flow, standardized in terms of duration, temperature and lighting conditions, as well as product and pathogen concentration. In brief: leaf disks were pre-treated with the product-containing solution, then were challenge-inoculated with Psa, and incubated in a climate chamber until the development of necrotic symptoms. A necrosis index was then calculated using McKinney's formula, which enabled the identification of relevant compounds, out of the 34 that were screened.
Fosetyl-Al, BABA, saccharin and isotyanil were able to reduce symptom development, and Fosetyl-Al was the most effective. On the other hand, Maxim, triclopyr, jasmonic acid and Bion enhaced the development of necrosis. Controls ruled out that any phytotoxic effect had enhanced deviously Psa-caused-necrosis. The direct effect of the compounds on bacterial growth and viability was also tested in in vitro cultures and highlighted that Fosetyl-Al negatively conditions growth and viability in a dose-dependent fashion. Similarly antimicrobial activity was found in some essential oils, out of the 20 that were tested: thyme, oregano, garlic, cumin, cinnamon and cloves. Unfortunately these oils were found to be phytotoxic on leaf disks, when antimicrobial doses were applied. Time-point-based Real-Time PCR was also performed in order to quantify bacterial amount in product-treated/Psa-inoculated leaf disks compared with non-treated/Psa-inoculated controls. Leaf disk assay was promising also to compare susceptibility/resistance levels of Actinidia genotypes. It also highlighted evident differences between Psa strains able to induce hypersensitive response on tobacco (HR-positive), highly virulent on leaf disks, and HR-negative Psa strains that resulted not able to cause necrosis on leaf disks.

INTRODUZIONE

Pseudomonas syringae pv. *actinidiae* (Psa), agente del cancro batterico dell'actinidia, ha causato ingenti danni a carico di cultivar di actinidia a polpa gialla e verde. Le ricerche di questi ultimi anni hanno sviluppato alcuni protocolli basati sull'impiego di prodotti per il controllo (agro-farmaci, biostimolanti, induttori di resistenza) aventi una capacità più o meno evidente di contenere o rallentare il progresso della malattia senza tuttavia essere completamente risolutivi relativamente alla capacità eradicante o preventiva (Scortichini *et al.* 2011; Balestra *et al.* 2014).
Oltre a ciò sono stati avviati programmi di miglioramento genetico per la resistenza che necessitano un lungo lavoro di fenotipizzazione su progenie molto numerose (Bevilacqua *et al.*, 2013). Un lavoro reso complesso anche dal fatto che nel processo di selezione non solo si ricerca il tratto "resistenza a Psa", ma quest'ultimo deve associarsi alle altre caratteristiche che definiscono gli standard qualitativi per la coltivazione del kiwi (ad esempio quelli relativi al frutto). Poichè tale lavoro è tutt'ora in corso, anche lo sviluppo di strategie di lotta basate sull'utilizzo di agrofarmaci e induttori di resistenza rimane un punto cruciale.
L' obiettivo di questo studio è stato lo sviluppo di un saggio di inoculazione su disco fogliare rapido e realizzabile in spazi contenuti, e che dunque consentisse di saggiare l'effetto di un elevato numero di molecole/prodotti potenzialmente efficaci per il controllo di Psa. Ulteriori obbiettivi sono stati l'applicazione del saggio al fine di valutare differenze di virulenza tra i ceppi di Psa e differenze nei livelli di suscettibilità/resistenza di genotipi di kiwi.

MATERIALI E METODI

Il ceppo Psa CRA-PAV 1625 è stato isolato da cancri in attiva produzione di essudato in piante severamente colpite, in provincia di Latina. Il ceppo è stato caratterizzato secondo metodologie note in letteratura (Gallelli *et al.*, 2011a; 2011b). Di seguito viene riportato ilsaggio di *screening* di molecole su disco fogliare. I dischi fogliari sono stati ottenuti da piante di *Actinidia chinensis* cv Belen e *A. deliciosa* cv Hayvard, avendo cura di prelevare le foglie sempre allo stesso stadio - con lamine fogliari espanse ed aventi lo stesso grado di consistenza. I dischi sono stati randomizzati, trattati preventivamente con i prodotti in studio a concentrazioni note e successivamente inoculati con una sospensione del batterio pari a 10^8 CFU mL^{-1}. Dopo incubazione in condizioni controllate si è provveduto al rilievo visivo dei sintomi a 7-10 e 13-15 giorni dall'inoculo.
Sono stati saggiati 34 prodotti, fra ormoni vegetali, molecole di sintesi ad azione ormono-simile, molecole inorganiche, estratti vegetali. Una parte di questi prodotti sono noti come induttori di resistenza. Per ogni prodotto gli esperimenti sono stati ripetuti dalle 4 alle 10 volte per dimostrare la ripetibilità del risultato. Al fine di valutare gli effet-

ti del trattamento è stata individuata una scala basata su 8 classi di merito che si differenziano in base alla entità della necrosi su ciascun disco fogliare. I dati sono stati elaborati con la formula di Mc Kinney, per ottenere l'indice di severità delle necrosi. Ogni esperimento ha incluso controlli non trattati ed inoculati (e non inoculati) e tutti i controlli necessari per evidenziare eventuali effetti di fitotossicità dei prodotti utilizzati.

Per i prodotti che hanno mostrato gli effetti più evidenti, sia come diminuzione dei sintomi che come aumento di suscettibilità, la presenza di Psa all'interno dei dischi fogliari è stata quantificata mediante Real-Time PCR (Gallelli *et al.,* 2013), in esperimenti basati su *time-point.*

E' stato inoltre valutato l'effetto diretto di tutti i 34 prodotti sul batterio mediante valutazione della crescita batterica in coltura liquida addizionata di dosi crescenti del prodotto in studio e mediante conta delle colonie su terreno solido. Con tale metodologia è stato inoltre valutato l'effetto diretto di 20 olii essenziali sulla crescita e la vitalità di Psa. Gli olii che hanno mostrato un marcato effetto batteriostatico/battericida sono stati poi saggiati su disco fogliare.

RISULTATI

L'inoculazione dei dischi fogliari con il batterio produceva la comparsa di minute lesioni necrotiche già a partire da 5-7 giorni dopo l'inoculazione, col tempo tali lesioni aumentavano in numero e dimensioni fino alla completa coalescenza, corrispondente alla necrosi totale del disco fogliare (a partire da 13-20 giorni dopo inoculazione). Il saggio si è mostrato adeguato per la realizzazione degli obbiettivi proposti: I) è risultato ripetibile ed affidabile per la valutazione dell'effetto dei prodotti sulla manifestazione sintomatologica in seguito all'inoculazione; II) ha permesso la distinzione di ceppi virulenti di Psa, che hanno prodotto sintomi evidenti, da ceppi HR-negativi che, al contrario, non hanno prodotto sintomi; III) quando applicato al confronto di varietà diverse, ha confermato la già nota minor suscettibilità della cv. Hayward rispetto alla cv. Belen.

A seconda del prodotto utilizzato, il trattamento ha mostrato effetti opposti nel condizionare la manifestazione dei sintomi, oppure assenza di effetti significativamente diversi dal controllo non trattato e inoculato. In particolare: Fosetyl-Al (trietilfosfonato di alluminio), BABA (acido ß-aminobutirrico, un aminoacido vegetale non proteico), isotianyl e saccarina, hanno ridotto la severità dei sintomi, ciascuno con diversa intensità. Maxim (un fitoregolatore autorizzato in kiwi), triclopyr (una molecola di sintesi ad azione auxino-simile che è il principio attivo di Maxim), Bion (la formulazione commerciale di acibenzolar-S-methyl, che è un analogo dell'acido salicilico), acido jasmonico (JA) e chinetina, hanno aumentato la severità dei sintomi, ciascuno con diversa intensità, senza mostrare fitotossicità.

Gli esperimenti di PCR Real-Time hanno evidenziato che c'è un incremento della quantità di batterio nei dischi trattati con Bion rispetto al controllo non trattato. Il trattamento con Fosetyl-Al ha determinato un incremento di Psa nei *time-point* più precoci (fino a 12 ore) e una diminuzione in quelli più tardivi (fino a 10 giorni) rispetto al controllo non trattato.

Relativamente all'effetto sulla crescita batterica, BABA, saccarina, isotyanil, JA, Triclopyr non hanno manifestato effetti diretti, mentre il Fosetyl-Al e alcuni olii essenziali (timo, origano cannella, chiodi di garofano, cumino, aglio) hanno esercitato forti effetti di inibizione dose-dipendente.

Non è stato possibile verificare l'effetto degli olii essenziali su disco fogliare a causa della loro fitotossicità.

In conclusione, mediante una valutazione dell'effetto su disco fogliare e dell'effetto diretto sulla crescita del batterio, sono stati saggiati 54 prodotti fra induttori di resistenza, fitoregolatori naturali e di sintesi, molecole inorganiche, estratti vegetali ed olii essenziali (che non vengono riportati in elenco completo per brevità).

Alcuni prodotti, come il Maxim, hanno manifestato un effetto di incremento dei sintomi, aspetto di rilevante importanza in quanto trattamenti effettuati con finalità diverse dal controllo dei patogeni (es. aumento della pezzatura frutti etc.) potrebbero involontariamente aumentare la suscettibilità delle piante al cancro batterico. Risultati incoraggianti sono stati ottenuti con Fosetyl-Al e BABA che hanno invece determinato una evidente riduzione dei sintomi su disco fogliare. La sperimentazione in pieno campo è pertanto urgente al fine di validare i prodotti selezionati.

BIBLIOGRAFIA

BALESTRA G.M., L. GALLIPOLI, V. TAGLIAVENTO, A. ANSELMI,A. ERCOLANI, M. RENZI, E. MARIOTTI, S. CIARRONI, A. MAZZAGLIA, 2014. *Cancro batterico del kiwi: strategie di convivenza.*

Informatore Agrario 22: 50-53.

BEVILACQUA D., TERLIZZI M., DI CINTIO A., ROSATO T., SARTORI A., FERRANTE P., ALBERTI F., SCORTICHINI M., CIPRIANI G., 2013. *Selezione per la resistenza o tolleranza a* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *(PSA) di genotipi mutagenizzati tramite EMS*. Italus Hortus 12: 92.

GALLELLI A., L'AURORA A., LORETI S., 2011a. *Gene sequence analysis for the molecular detection of* Pseudomonas syringae *pv* actinidiae: *developing diagnostic protocols*. Journal of Plant Pathology, 93: 425-435.

GALLELLI A., TALOCCI S., L'AURORA A., LORETI S., 2011b. *Detection of* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae, *causal agent of bacterial canker of kiwifruit, from symptomless fruits, twigs, and from pollen.* Phytopathologia Mediterranea, 50: 473-483.

GALLELLI A., TALOCCI S., PILOTTI M., LORETI S., 2013. *Real-time and qualitative PCR for detecting the* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *isolates that caused the recent outbreaks of kiwifruit bacterial canker.* Plant Pathology, 63: 264-276.

SCORTICHINI M., S. MARCELLETTI, P. FERRANTE, E. FIORILLO, A. D'ALESSIO, F. MAROCCHI, M. MASTROLEO, S. SIMEONI, A. NASTRI, 2011. *Cancro del kiwi: tecniche di controllo a confronto.* Informatore Agrario 18: 38-43.

Gianni Tacconi

Irene Donati

Antonio Cellini

Giampaolo Buriani

Luca Giordani

Graziano Vittone

Lorenzo Tosi

Sauro Graziani

Callum Kay

Rosario Onorato

Valentino Giacomuzzi

Joel Vanneste

Guglielmo Costa

Francesco Spinelli

STRATEGIE DI CONTROLLO DI PSA IN CAMPO: 4 ANNI DI SPERIMENTAZIONE IN 4 DIVERSI AREALI

STRATEGY OF PSA CONTROL: 4 YEARS OF FIELD TRIALS IN 4 DIFFERENT CULTIVATION AREAS IN ITALY

G. Tacconi(4), I. Donati(1), A. Cellini(1), G. Buriani(1), L. Giordani(2), G. Vittone(2), L. Tosi(3), S. Graziani(8), C. Kay(5), R. Onorato(5), V. Giacomuzzi(6), J. Vanneste(7), G. Costa(1), F. Spinelli(1)
(1) Department of Agricultural Sciences, Alma Mater Studiorum - University of Bologna
V.le Fanin 46, 40127 Bologna - Italy ▪ guglielmo.costa@unibo.it ▪ francesco.spinelli3@unibo.it
(2) Consorzio Ricerca e Sperimentazione per l'Ortofrutticoltura Piemontese
C.so Nizza 21 CAP I-12100 Cuneo Italy
(3) AGREA Centro Studi
Via Garibaldi 5/16, 37057 S.Giovanni Lup. (VR) Italy
(4) CRA-GPG Genomics Research Centre
Via S. Protaso, 302, CAP I-29017 Fiorenzuola d'Arda, Italy - gianni.tacconi@entecra.it
(5) ZESPRI GLOBAL Supply, 400 Maunganui Road, Mount Maunganui, New Zealand
(6) Faculty of Science and Technology, Free University of Bolzano
Piazza Università 5, 39100 Bolzano (Italy)
(7) Plant & Food Research Ltd, Ruakura, Private Bag 3123, Waikato Mail Centre, Hamilton, 3240 - New Zealand
(8) Agrintesa Soc. Coop. Agricola
Via G. Galilei, 15 - 48018 Faenza RA.

Key words: difesa, batteriosi, kiwi, Psa, rame, acibenzolar-S-methyl
Key words: Actinidia deliciosa, *Psa, field trials, control*

ABSTRACT

The present work reports the results obtained in four consecutive years of control trials performed in four different Italian locations. Since the trials relied on natural infection, the experiments have been performed on newly planted parcels on Actinidia deliciosa *(cv Hayward). The tested products were ones resulted effective against Psa in artificial inoculation tests: coppers, resistance inducers, sterilants, biostimulants, biological control agents. For the trials common experimental designs, spray protocols and symptom assessment methods were adopted; symptomatology, negative effects and phytotoxicity were monitored. The replication of the trials in four different locations allowed the influence of environmental factors to be minimized thus strengthening the reliability of the results. The results showed that the commercial products based on copper oxide or sulfate and acybenzolar-S-methyl, applied alone or in combination, were the most effective.*

INTRODUZIONE

Fino a pochi anni fa non si conoscevano metodi efficaci di controllo di *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa): nel 2011 è iniziata una sperimentazione in condizioni di pieno campo.

Dopo un primo screening di prodotti con test di inoculo in serra, solo i prodotti che hanno dimostrato una certa efficacia sono stati testati, per 4 anni, in campi sperimentali allestiti *ad hoc* in 4 diversi areali di coltivazione: Cuneo, Verona, Faenza, Latina.

L'utilizzo di protocolli comuni ha permesso il confronto dei risultati ottenuti dai diversi gruppi di ricerca in condizioni di inoculo naturale, rafforzando l'affidabilità dei risultati.

MATERIALI E METODI

I campi sperimentali sono stati allestiti con piante (cv Hayward) esenti da Psa, verificato con l'analisi molecolare (Rees-George *et al.*, 2010). Le sostanze attive utilizzate appartengono alle seguenti categorie: prodotti a base di rame quali ossido rameoso (Cobre Nordox®), rame solfato neutralizzato (Selecta Disperss®); induttori di resistenza ovvero acibenzolar-S-methyl (ASM, Bion 50WG), potassio fosfito (Alexin 95PS®), fosetil alluminio (Aliette®); microorganismi antagonisti quali *Bacillus subtilis* (Serenade Max®), *Pantoea agglomerans* (P10C), *Pseudomonas fluorescens* (BCA- UNIBO), disinfettanti (Bioprotek).

Tutte le tesi prevedevano l'applicazione fogliare ogni 15 giorni con un volume di 1000 l/ha (ASM radicale 4 l), alle dosi di etichetta. I rilievi sono stati fatti in giugno e luglio su 50 foglie per plot, rilevando la percentuale di foglie con spot (incidenza) e la superficie fogliare interessata dalle necrosi (severità) ed in febbraio per la presenza di essudati. Alcuni campioni di foglie sintomatiche sono state analizzate in laboratorio per la conferma della presenza di Psa.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Nel triennio 2011 -2013, le infezioni da Psa sono state particolarmente intense. Si riportano i risultati delle prove condotte a Verona nel biennio 2012-2013 in quanto rappresentative degli altri areali e contemplanti i prodotti comuni a tutte le prove. I prodotti a base di rame, sia ossido che solfato, e di ASM hanno mostrato un notevole contenimento delle infezioni su foglia, soprattutto se miscelati tra loro e distribuiti con trattamenti fogliari *(fig. 3)*. Inoltre, per l'ossido di rame, nel 2013, sono state testate due diverse tempistiche di applicazione: a cadenza fissa (15 giorni) o in previsione di pioggia con ripristino della copertura dopo 30 mm *(fig. 2)*. Questo ha permesso di evidenziare una efficacia simile sia nelle tesi a intervento fisso che in quella in base alle piogge, con la differenza che nel secondo caso sono stati fatti solo 5 trattamenti anziché 8 *(fig. 2)*.

La presenza di essudati a fine inverno (febbraio 2014) ha permesso di rilevare una loro correlazione positiva con i sintomi fogliari della primavera precedente. Ulteriori osservazioni saranno necessari per stabilire se effettivamente la prevenzione dei sintomi evita la presenza di esudati. Riguardo ai possibili effetti negativi, il rame ha mostrato in alcuni casi una lieve fitotossicità, probabilmente legata allo stadio di crescita ed alle condizioni climatiche, senza tuttavia evidenziare alcun calo nelle performance produttive.

Fig. 1 *Esempio del campo prove allestito a Verona nel 2011, con* A. deliciosa *cv Hayward, accanto ad un actinidieto infetto che ha fatto da fonte di inoculo naturale. Il disegno sperimentale consta di 10 tesi in 4 ripetizioni (schema a sinistra).*
Fig. 1 *Example of a field trial set up in Verona in 2011 (*A. deliciosa *cv Hayward) near an infected orchard that acts as natural infection source. The experimental design with 10 thesis in 4 repetitions is reported on the left.*

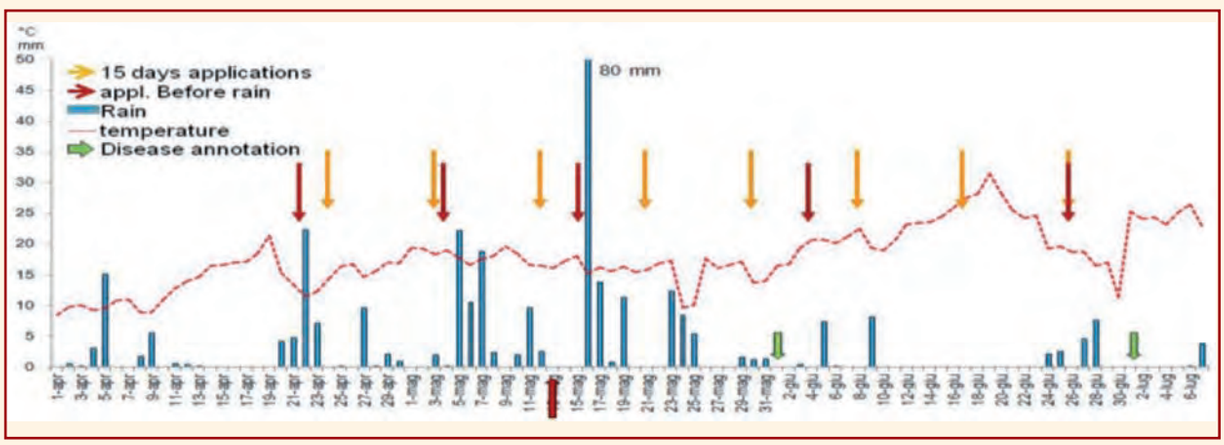


Fig. 2 *Cadenza dei trattamenti a Verona nel 2013: l'applicazione basata sulla previsione di pioggia è solo per la tesi con rame (freccia rossa). I primi sintomi sono stati registrati il 13 maggio ed i rilievi sono stati fatti agli inizi di giugno e luglio.*
Fig. 2 *Example of a timing of application of the tested products in Verona in 2013: the flexible application basing on the rainfall forecast is only for of copper thesis (red arrow). The first symptoms appear on 13 May and the symptoms check was done on the beginning of June and July.*

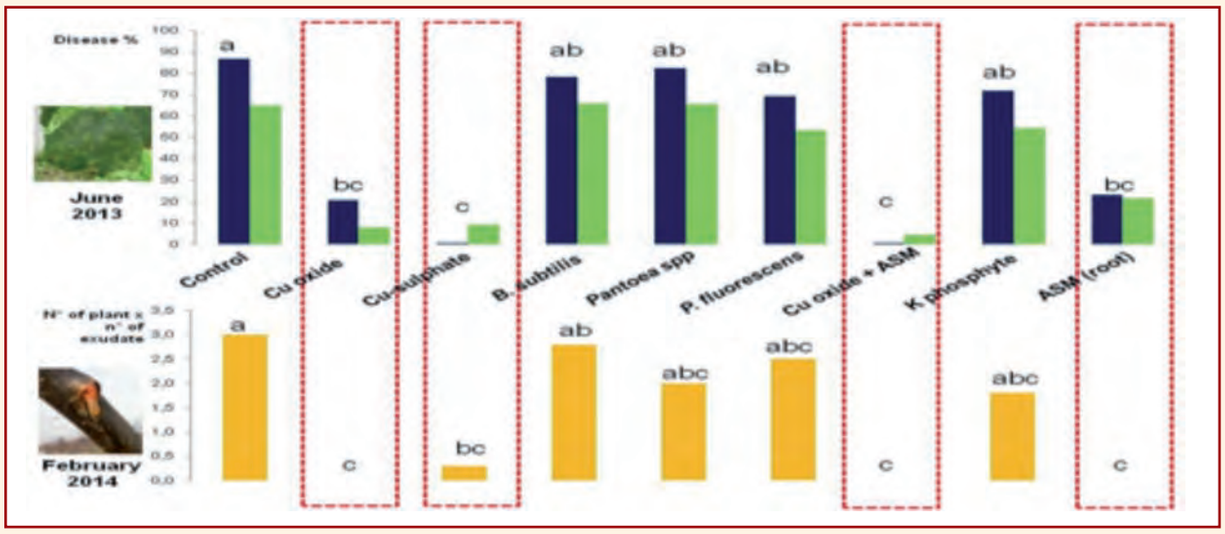


Fig. 3 *Esempio dei risultati ottenuti a Verona nel 2013 - 2014. Percentuale di malattia nelle varie tesi (parte superiore) (ANOVA e test di Tukey P<0.05)e la comparsa di essudati sulle stesse a fine inverno (parte inferiore): si nota una correlazione tra le due sintomatologie.*

Fig. 3 *Example of the results obtained in Verona on 2013 - 2014. Percentage of disease in the different thesis (upper part) (ANOVA e test di Tukey P<0.05).and the exudates appearance on the same plots at the end of winter (lower part): the two symptoms are quite correlated.*

RINGRAZIAMENTI

Vanno ai gruppi di ricerca che hanno aderito volontariamente al progetto e la ricerca è stata supportata dalle realtà locali: Regione Piemonte ed istituzioni locali di Cuneo; Consorzio Tutela Kiwi del Garda a Verona con il contributo di Camera di Commercio IAA di Verona, Provincia di Verona, Comuni di Villafranca, Valeggio S.M., Somma-campagna, Sona; CRPV ed Agrintesa in Emilia Romagna; Zespri a Latina. Si ringrazia anche il personale tecnico di ciascun partner.

BIBLIOGRAFIA

REES-GEORGE J., J. L. VANNESTE, D. A. CORNISH, I. P. S. PUSHPARAJAH, J. YU,M. D. TEMPLETON, K. R. EVERETT, 2010. *Detection of* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *using polymerase chain reaction (PCR) primers based on the 16S-23S rDNA intertranscribed spacer region and comparison with PCR primers based on other gene regions.* Plant Pathology 59, 453-464.

pempacorer

ORGANIZZAZIONE DI PRODUTTORI ORTOFRUTTICOLI

l'amore conta

Pempacorer Soc. Cons. Agr. a r.l. Via Cà del Vento, 21- 48012 Bagnacavallo (RA)
Tel. +39 0545 68033 Fax +39 0545 68038 - commerciale@pempacorer.it - www.pempacorer.it

CENTRO DI RITIRO PRODOTTI ORTOFRUTTICOLI LATINA
Via Crocetta di Carano, 6 - 04011 Campoverde (LT) - Info: Paolo Brandolini 335 5855990

cooperativa terremerse
territori e mercati in rete

www.studiopagina.it

Matteo Evangelisti

Domenico Frezza

Maria Cristina Thaller

Gustavo Di Lallo

ISOLAMENTO E CARATTERIZZAZIONE DI BATTERIOFAGI SPECIFICI PER *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *ACTINIDIAE:* UN NUOVO APPROCCIO PER IL TRATTAMENTO DELLA BATTERIOSI DEL KIWI

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF BACTERIOPHAGES INFECTING PSEUDOMONAS SYRINGAE *PV.* ACTINIDIAE: *A NEW APPROACH TO THE CONTROL OF THE BACTERIAL CANKER OF KIWI FRUIT*

M. Evangelisti, D. Frezza, M. C. Thaller, G. Di Lallo
Dipartimento di Biologia, Università di Roma "Tor Vergata"
matteo_eva82@yahoo.it ▪ dilallo@uniroma2.it

ABSTRACT

This study describe the isolation and characterization of bacteriophages infecting Psa. The goal is to evaluate their potential use as treatment of kiwifruit bacteriosis. For this purpose, the isolation and the biological properties of selected bacteriophages, such as replication cycle, host range, morphology and stability in function of pH and temperature, are analyzed.

INTRODUZIONE

Il fitopatogeno *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae (Psa),* l'agente causale del cancro batterico del kiwi, di recente ha causato gravi perdite economiche nelle coltivazioni di Actinidia, principalmente in Italia e Nuova Zelanda. Le strategie convenzionali adottate, basate prevalentemente su pesticidi chimici, non hanno fornito un adeguato controllo dell'infezione. Pertanto, è consigliabile sostituire o integrare i metodi chimici di controllo con metodi biologici non tossici ed eco-compatibili. Un'opzione interessante è rappresentata dall'uso di batteriofagi, ovvero virus che uccidono i batteri in modo altamente selettivo. Vi è un interesse crescente nell'utilizzo di batteriofagi come agenti di controllo biologico di batteri fitopatogeni, anche in virtù del fatto che essi sono specifici per il batterio patogeno e non alterano la componente batterica benefica; inoltre, non sono tossici, infettivi o dannosi per l'uomo, animali e piante. La potenzialità dei fagi come strumenti di lotta biologica è stata compresa fin dalla loro scoperta avvenuta nella seconda decade del secolo scorso,

ma il loro impiego è stato bloccato dall'avvento degli antibiotici che si sono imposti come la "soluzione finale" per il controllo delle infezioni batteriche. I dati recenti sulla diffusione delle resistenze agli antibiotici mostrano quanto preoccupante sia la situazione e ciò ha portato alla "riscoperta" della terapia fagica e all'impiego dei fagi per il controllo di patogeni umani come pure di fitopatogeni (Thiel, 2006). In campo agricolo diversi studi mostrano già risultati incoraggianti, anche se molti ostacoli devono ancora essere superati (Di Lallo, 2014).

MATERIALI E METODI

Il ceppo *Psa* CRA-FRU 8.43 (*Psa* 8.43), responsabile delle recenti epidemie in Italia, è stato utilizzato per l'isolamento e l'amplificazione dei batteriofagi. I batteriofagi sono stati isolati sia da materiale vegetale di piante infettate da *Psa* sia da acque reflue della rete fognaria di Roma. Dopo isolamento e purificazione dei diversi batteriofagi, è stata determinata la morfologia attraverso l'osservazione al microscopio elettronico a trasmissione (TEM). La morfologia ha permesso di classificare i batteriofagi in base al gruppo morfologico di appartenenza. Di seguito è stato studiato il ciclo di replicazione virale per determinare la natura litica o temperata dei fagi e, eventualmente, valutata la frequenza di lisogenizzazione. Le caratteristiche del ciclo replicativo, quali durata della fase di latenza e volume di scoppio, sono state determinate attraverso l'esperimento "one-step". La vitalità dei fagi in funzione del pH e della temperatura è stata valutata per intervalli di pH compresi tra 2.0 e 11.0 e temperature fino a 60°C per un tempo di esposizione di 1 h. Lo spettro d'ospite dei fagi è stato analizzato attraverso piastramento per singola placca su 37 ceppi di *Psa*, come pure su ceppi di diverse specie di batteri del genere *Pseudomonas.*

Infine, i genomi di due batteriofagi sono stati completamente sequenziati e le ORF tradotte sono state comparate con le proteine note presenti nella banca dati GenBank, utilizzando BLASTP.

RISULTATI E CONCLUSIONI

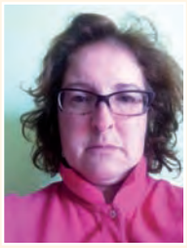
Due fagi sono stati caratterizzati maggiormente (Di Lallo *at al.,* 2014). Il fago φPSA1, isolato da foglie infette di kiwi, è risultato essere un fago temperato appartenente alla famiglia dei *Siphoviridae.* La sua capacità di lisogenizzare *Psa* 8.43 esclude la possibilità di un suo impiego come agente di controllo biologico per contrastare la diffusione dell'epidemia di *Psa* poiché i batteri lisogeni acquisiscono immunità nei confronti del fago. Il suo spettro d'ospite è limitato ai ceppi di *Psa* della recente epidemia mentre i ceppi di epidemie anteriori risultano immuni. Il fago riveste comunque un'utilità nella tipizzazione dei ceppi di *Psa* proprio per la capacità di distinguere tra quelli responsabili dell'ultima epidemia e quelli di epidemie passate. Il fago φPSA2, invece, è un fago litico della famiglia dei *Podoviridae* che si è mostrato altamente efficiente nell'infettare *Psa;* è, inoltre, caratterizzato da un ampio spettro d'ospite che si estende anche ad altri pathovar di *P. syringae.* Per queste caratteristiche φPSA2 può essere considerato un valido candidato per la terapia fagica della batteriosi da Psa. Ulteriori studi sono in corso per la messa a punto di un trattamento su foglie di kiwi infettate artificialmente in laboratorio. Infine, un terzo fago è in via di caratterizzazione: φPSA12 è stato scelto fra i diversi fagi isolati in quanto capace di infettare i batteri resistenti a φPSA2. Questo fago potrebbe essere impiegato per la formulazione di un cocktail di fagi allo scopo limitare la selezione di batteri resistenti a un singolo fago che potrebbero inficiare il trattamento. In conclusione, la terapia fagica presenta potenzialità interessanti come nuovo approccio al trattamento della batteriosi del kiwi e in futuro potrà trovare la sua collocazione all'interno di programmi di lotta integrata che prevedono un uso bilanciato e razionale di pesticidi chimici, attivatori delle difese innate e agenti di controllo biologici.

BIBLIOGRAFIA

DI LALLO G. Kiwi Informa, anno 10°, N. 4-6/2014: 18-25.

DI LALLO G, EVANGELISTI M, MANCUSO F, FERRANTE P, MARCELLETTI S, TINARI A, SUPERTI F, MIGLIORE L, D'ADDABBO P, FREZZA D, SCORTICHINI M, THALLER MC., 2014. *Isolation and partial characterization of bacteriophages infecting* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae, *causal agent of kiwifruit bacterial canker.* J Basic Microbiol. doi: 10.1002/jobm.201300951.

THIEL K., 2006. *Old dogma, new tricks-21st Century phage therapy.* Nature Biotechnology 22: 31- 36.



Roberto Tomasone *Carla Cedrola* *Mauro Pagano* *Luciano Trentini* *Patrizia Ferrante* *Marco Scortichini*

PROVE PRELIMINARI DI TRATTAMENTO TERMICO DEL LEGNO DI POTATURA DEL KIWI CON LA TECNICA DELLA "PIRODISINFEZIONE" PER CONTRASTARE LA BATTERIOSI *(PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *ACTINIDIAE)*

HEAT TREATMENT OF KIWIFRUIT PRUNINGS BY APPLICATION OF A 'PYRO-DISINFECTION' TECHNIQUE TO CONTAIN BACTERIAL CANKER (PSEUDOMONAS SYRINGAE *PV.* ACTINIDIAE): *PRELIMINARY TRIALS*

R. Tomasone(1), C. Cedrola(1), M. Pagano(2), Luciano Trentini(3), P. Ferrante(1), M. Scortichini(1)
(1) Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura, CRA-FRU
Via Fioranello 52, 00134 Roma, Italia
(2) Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura, CRA-ING
Via della Pascolare 16, 00016 Monterotondo (RM), Italia
(3) CSO Centro Servizi Ortofrutticoli (FE), Italia
marco.scortichini@entecra.it ▪ roberto.tomasone@entecra.it ▪ patrizia.ferrante79@gmail.it

ABSTRACT

The effectiveness of an open-flame heat treatment for disinfecting kiwifruit prunings was assessed in relation to exposure time and heat intensity, using both a test bench and field equipment. Temperature of wood cuttings exposed to heat was measured via infrared thermometry. Disinfection of treated samples was verified through biological assays through isolation of bacteria and identification of Psa by duplex-PCR. Temperature increased instantaneously at flame start, thermal levels remained above the 60 °C threshold for periods of time increasing with flame exposure duration. All treated samples did not show any microbial growth and disinfection was achieved starting with the shortest treatment time (2 seconds).

INTRODUZIONE

Le misure fitosanitarie di prevenzione e di contenimento sono fondamentali per contrastare la diffusione del cancro batterico del kiwi *(Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae).* Tra queste è compre-

sa la rimozione delle potature dal campo, in quanto il Psa può sopravvivere su foglie e rami recisi lasciati a terra, costituendo fonte di inoculo (Scortichini, 2012). La potatura invernale produce quantitativi elevati di legno, inoltre in impianti affetti da Psa è consigliata una potatura più intensa per rimuovere anche rami di età maggiore (2-4 anni) nei quali il batterio può sopravvivere (Nati *et al.*, 2011; Mazzaglia *et al.*, 2011). La potatura verde produce residui erbacei che, se provenienti da piante infette, possono costituire fonte di inoculo. La destinazione prevalente delle potature di kiwi è la bruciatura a bordo campo, soluzione efficace anche nel ridurre gli inoculi dei patogeni. Non è richiesta una meccanizzazione specifica, ma la movimentazione dei residui comporta tempi di lavoro elevati ed inoltre una parte delle ramaglie sfugge alla raccolta. In misura minore viene effettuata la trinciatura in campo delle potature, in alternativa esse possono essere valorizzate per uso energetico o per compostaggio. Per l'attuale normativa è vietata sia la trinciatura in campo del materiale che l'allontanamento al di fuori del perimetro aziendale.

Al fine di migliorare la gestione dei residui, le Officine Mingozzi hanno realizzato una macchina operatrice innovativa(1), capace di effettuare la contemporanea trinciatura e pirodisinfezione del materiale presente a terra, mediante trattamento termico con fiamma. Il materiale trinciato potrà quindi essere rilasciato a terra. La stessa tecnica viene proposta anche per abbattere l'inoculo su foglie cadute e su potature verdi. All'avanzare del cantiere nell'interfilare, il legno di potatura presente a terra viene raccolto dalla trinciasarmenti e trinciato, poi trasferito nella sezione di trattamento termico dove viene investito dalla fiamma (prodotta da 8 bruciatori alimentati con GPL in fase gassosa). Il flusso turbolento di gas surriscaldati investe il materiale in transito nella 'camera calda', aumentandone la temperatura. Per la progettazione del prototipo sono state condotte prove preliminari (in laboratorio) al fine di definire l'efficacia del trattamento termico in funzione del tempo di esposizione alla fiamma, valutando l'innalzamento termico del materiale naturalmente infetto ed effettuando saggi microbiologici. Dopo aver costruito la macchina, sono state condotte prove di campo a diverse velocità di avanzamento (tempo di esposizione) al fine di definire il dosaggio termico specifico, ossia la quantità di gas che dovrà essere impiegata per unità di superficie affinché sia possibile conseguire una buona disinfezione del materiale di potatura.

MATERIALI E METODI

Prove preliminari di laboratorio. Un banco prova è stato utilizzato per effettuare trattamenti di tipo statico, secondo modalità semplificate, variando il tempo di esposizione alla fiamma *(fig. 1)*. Per produrre la fiamma è stato utilizzato un bruciatore di GPL, montato su asta telescopica verticale, con una potenza termica nominale circa 38 kW. La pressione del gas GPL in fase di lavoro è stata di circa 1.4 bar a cui ha corrisposto un consumo di circa 3,0 kg/h di gas. Tralci sintomatici per Psa sono stati trinciati e disposti in strato sottile orizzontale e trattati con tempi di esposizione alla fiamma di 2, 4 ed 8 secondi. Il rilievo termico continuo sul legno è stato effettuato durante il trattamento mediante termometria ad irraggiamento, con intervallo di acquisizione di 1 secondo (termometro manuale modello IRtec P500+). Sono stati effettuati saggi microbiologici per verificare l'efficacia di disinfezione sui campioni trattati e su campioni di controllo (non trattati) prelevati dagli stessi rami infetti. Porzioni di tessuto sono state prelevate dai campioni e passate in soluzione fisiologica sterile (30-45 min.), da cui poi sono state prelevate aliquote (100 µl) da trasferire in provette con substrato liquido di crescita. Le provette sono state incubate a temperatura ambiente per 24 h e la crescita è stata valutata per intorbidamento del brodo.

Fig. 1
Banco prova.

(1) Progetto finanziato dall' ENAMA (Ente Nazionale per la Meccanizzazione Agricola) "Selezione tecnica per la concessione di contributi allo sviluppo di linee di meccanizzazione Innovative" (bando ENAMA 2013)

Sono state preparate anche piastre con substrato solido NSA, strisciando diluizioni decimali per isolamento di colonie. La successiva identificazione del Psa è stata effettuata mediante analisi molecolare con tecnica di duplex-PCR (Gallelli *et al.* 2011).

Prove preliminari di campo. La macchina è stata provata in un actinidieto infetto nel comune di Velletri, effettuando (in settembre) la potatura di piante sintomatiche e disponendo il materiale di risulta in andana al centro dell'interfila (distanza tra le file di 4,5 m) così da completare il trattamento mediante un solo passaggio al centro del filare *(fig. 2)*. Sono state impiegate due velocità di avanzamento, 750 e 1500 m h^{-1}, per confrontare una tesi lenta con una veloce, corrispondenti a tempi di esposizione alla fiamma in camera calda di circa 4 e 2 secondi, rispettivamente. Alcuni tralci con sintomi evidenti di Psa sono stati colorati e disposti in andana al fine di consentire il recupero di campioni trattati dopo il passaggio della macchina. Dagli stessi tralci infetti sono stati prelevati campioni di controllo prima del trattamento. I saggi microbiologici sui campioni (trattati e controllo) sono stati effettuati analogamente alle prove su banco.

Fig. 2 *Macchina al lavoro nell'intrfilare.*

RISULTATI E CONCLUSIONI

Prove preliminari di laboratorio. Per ciascuna tesi è stata ottenuta una distinta curva di innalzamento termico. In generale l'andamento termico, comune nelle tre tesi, è caratterizzato da un innalzamento istantaneo all'accensione ed un calo quasi altrettanto rapido allo spegnimento della fiamma. Le temperature massime raggiunte nelle tesi 4" ed 8" sono ben più alte di quella ottenuta nel trattamento di 2" *(tabella 1)*.

Il tempo di permanenza al di sopra di soglie termiche specifiche (60 e 80 °C) aumenta con il tempo di trattamento (tesi di 2", 4" e 8"). I saggi microbiologici effettuati sui campioni trattati hanno dato esito negativo per tutte le tesi, a partire dal tempo di esposizione più breve, mentre dai campioni di controllo è stato sempre possibile isolare il batterio e verificarne l'identità. L'efficacia del trattamento è stata riscontrata già con un tempo di esposizione di appena 2 secondi.

Tabella 1: risultati delle prove di laboratorio

Tesi	2"	4"	8"
Tempo di trattamento (s)	2	4	8
Temperatura max (°C)	350	540	560
Permanenza > 60 °C (s)	13	24	75
Permanenza > 80 °C (s)	7	12	42

Prove preliminari di campo. Nella tabella 2 sono riportati i risultati operativi della macchina nei diversi test di campo. L'efficacia della 'pirodisinfezione' è stata confermata dai saggi microbiologici, per entrambe le velocità di avanzamento. Infatti, le analisi di laboratorio hanno confermato l'assenza di microrganismi nei campioni trattati con la fiamma. Il batterio è stato invece isolato dai campioni di controllo non trattati e l'identità del Psa verificata tramite analisi duplex-PCR. Già alla velocità di avanzamento maggiore (1500 m h^{-1}) si ottiene la disinfezione del materiale mantenendo una buona capacità oraria di lavoro, con un tempo di trattamento congruo ed un consumo di GPL, per unità di superficie, sostenibile. La sperimentazione in campo della macchina, ha mostrato ottimi risultati. Ulteriori prove consentiranno di mettere a punto la tecnica in funzione della massa dei residui presenti a terra, definendo il consumo di GPL ed il costo del trattamento in situazioni diverse di campo. La macchina potrà essere utilizzata sia in regime di conduzione convenzionale sia in regime di agricoltura biologica che ammette l'impiego del GPL quale carburante alternativo.

Tabella 2: risultati delle prove di campo

Tesi	lenta	veloce
Velocità di trattamento (m/h)	750	1500
Fronte di lavoro (m)	4,5	4,5
Capacità di lavoro oraria (ha/h)	0,34	0,68
Tempo di lavoro unitario (h/ha)	2,96	1,48
Consumo di GPL (kg/ha)	71	35
Costo trattamento per GPL (€/ha)	124	62

BIBLIOGRAFIA

SCORTICHINI M., 2012. *Cancro batterico del kiwi: genoma svelato, difesa più facile.* L'informatore Agrario 2/2012: 72-74.

NATI C., SPINELLI R., SPINELLI R., MAGAGNOTTI N., 2011. *Biomassa dalle potature di kiwi. Un solo passaggio costa meno.* Terra e Vita 26/2011.

MAZZAGLIA A., RENZI M., TARATUFOLO M.C., ROSSETTI A., BALESTRA G.M., 2011. *Tecniche di campo e nutrizione contro il cancro del kiwi.* L'informatore Agrario 10/2011: 64-67.

GALLELLI A., L'AURORA A., LORETI S., 2011. *Gene sequence analysis for molecular detection of* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae: *developing diagnostic protocols.* Journal of plant pathology, 93: 425-435.

Guido Cipriani

NUOVE VARIETÀ DI ACTINIDIA E ATTIVITÀ DI MIGLIORAMENTO GENETICO IN ITALIA E NEL MONDO

NEW KIWI VARIETIES AND BREEDING ACTIVITY IN ITALY AND ITALY AND IN THE WORLD

G. Cipriani
Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università di Udine
Via delle Scienze 206 - 33100 Udine (Italia)
guido.cipriani@uniud.it

ABSTRACT

Kiwi is commercially grown since year '30 of the last century and since more than 40 years in Italy. The available genetic resources for breeding activity, out of China, are fairly limited.
Neverthenless, a breeding activity is carried on in countries where the industry has an important economical role, New Zealand and Italy, particularly. The availability of molecular survey tools will allows to utilize the MAS with a key role in breeding activity.

INTRODUZIONE

Il genere *Actinidia* comprende più di cinquanta specie i cui frutti sono tutti eduli. La varietà Hayward, appartenente alla specie *A. deliciosa,* è stata la cultivar di riferimento commerciale fino alla fine degli anni 90 del secolo scorso. Nel 1998 è iniziata la prima commercializzazione con quantitativi significativi della varietà a polpa gialla conosciuta come Zespri Gold o Hort16A, frutto dei programmi di miglioramento genetico dei ricercatori neozelandesi dell'attuale Plant and Food Research. Le varietà a polpa gialla appartengono a selezioni della specie *A. chinensis,* specie molto affine alla *A. deliciosa,* tanto che i tassonomisti cinesi le considerano varietà botaniche. La ricerca di nuove varietà ha determinato un intenso lavoro di selezione di nuovi genotipi a polpa gialla e, più recentemente, a polpa parzialmente rossa (Ferguson, 2008).
I paesi maggiori produttori sono da alcuni anni l'Italia, la Nuova Zelanda, il Cile e la Grecia.
Dati recenti pongono al primo posto la Cina, paese d'origine della maggior parte delle specie e selezioni di actinidia.
Le actinidie sono tra le specie vegetali di più recente addomesticazione; l'*A. deliciosa* è stata coltivata al di fuori della Cina solamente nel ventesimo secolo e i primi impianti commerciali risalgono agli anni trenta del secolo scorso.
L'*A. chinensis* è ancora di più recente coltivazione, solamente negli anni sessanta sono presenti alcuni impianti in Cina e solamente alla fine degli anni

90 al di fuori di quel paese (Testolin, 2009).
Il primo programma di miglioramento genetico in Italia è stato avviato presso l'IPSA di Persolino (Faenza) (Ossani, 1994). Attività di miglioramento genetico sono in corso presso Centro di ricerca per la frutticoltura di Roma, le Università di Bologna, Udine e Viterbo e presso alcune aziende private. Il materiale genetico a disposizione è piuttosto limitato e la variabilità genetica disponibile non molto elevata.

LE RISORSE GENETICHE

Le oltre 50 specie di actinidia e il gran numero di genotipi presenti ancora in alcune aree della Cina consente di affermare che il genere contiene una grande varietà di caratteri interessanti per il mercato: colori, gusti, forme dei frutti, *habiti* vegetativi, adattabilità a climi e suoli. Presso numerosi istituzioni scientifiche cinesi, ma soprattutto presso il *Whuan Botanical Garden,* appartenente alla *Chinese Academy of Sciences,* sono raccolte non meno di un migliaio di accessioni (Ferguson e Huang, 2003). Al di fuori della Cina, la più importante fonte di germoplasma si trova in Nuova Zelanda, presso la stazione sperimentale di *Te Puke* del *Plant and Food Research.* Le oltre 200 accessioni sono state recentemente sottoposte a un forte stress determinato dalla comparsa del pericoloso agente patogeno batterico *Pseudomonas syringeae* pv *actinidieae.* Molti genotipi sono risultati sensibili alla malattia e sono andati persi in campagna e mantenuti attraverso delle opportune tecniche *in vitro.*
In Italia le collezioni più importanti si trovano presso le Università di Bologna e Udine e presso il Centro di ricerca per la frutticoltura di Roma, in questo ultimo caso molto ridimensionate dalla perdita del materiale vegetale a causa del cancro batterico.
La ristretta base genetica su cui si basa la actinidicoltura mondiale ha reso l'attacco dell'agente patogeno particolarmente devastante per alcune aree in Italia e Nuova Zelanda. Per quanto sia conclamata una diversa sensibilità delle accessioni disponibili, è del tutto evidente che sarebbe necessario poter disporre di maggiori risorse genetiche provenienti dalla Cina.
Purtroppo da molti anni la Cina ha deciso di chiudere le frontiere allo scambio di materiale vegetale di specie native (Testolin, 2009).

BASI SCIENTIFICHE DEL MIGLIORAMENTO GENETICO

La maggior parte dei caratteri di interesse agronomico sono sotto il controllo genetico di molti geni che determinano un effetto quantitativo misurabile e variabile tra genotipi diversi. Al fine di poter utilizzare le informazioni che derivano dallo studio dei caratteri quantitativi ai fini del miglioramento genetico, è indispensabile preliminarmente valutare l'ereditabilità di ogni singolo carattere di interesse. Risulta anche opportuno valutare l'attitudine combinativa generale *(GCA, General Combining Ability)* e specifica *(SCA, Specific Combining Ability)* delle linee parentali da utilizzare negli incroci. Ereditabilità elevate permettono di ottenere buoni risultati anche con selezioni fenotipiche eseguite su singoli individui, mente per valori di ereditabilità basse (inferiori a 0,2) si eseguono selezioni tra famiglie e entro famiglie. Non sono molti gli studi sull'ereditabilità in actinidia, in genere confinati alle due specie commercialmente importanti *A. deliciosa* e *A. chinensis.* La capacità di un genotipo di trasferire alla progenie i caratteri migliorativi che porta sono misurati dalla GCA e SCA. Nel primo caso, un parentale esprimerà il proprio potenziale migliorativo in incroci con numerosi partner e nel secondo solamente in una combinazione di incrocio con un particolare partner.
Le actinidie sono specie dioiche e per tale motivo è necessario determinare il valore dei potenziali genitori maschili attraverso la valutazione dell'attitudine combinativa. In tal modo si acquisiscono informazioni riguardo al potenziale migliorativo delle linee parentali maschili nei confronti dei caratteri legati al frutto *(progeny test).*
I *progeny test* sono utilizzati ampliamente nei programmi di miglioramento genetico dell'Università di Udine in entrambe le specie di interesse commerciale, *A. chinensis* e *A. deliciosa,* ma anche su altre specie tra cui l'*A. arguta (berry kiwi)* sulla quale è rinato un certo interesse anche per la ipotizzata minore suscettibilità alla batteriosi dell'actinidia.

SELEZIONE ASSISTITA DA MARCATORI

L'uso di marcatori molecolari *(Marker Assisted Selection)* o, più in generale, di informazioni sulla sequenza del DNA *(Genomic-assisted breeding)* ha aperto la possibilità di effettuare la selezione dei genotipi migliori non più utilizzando solamente informazioni fenotipiche che, spesso, richiedo-

no molto tempo per poter essere raccolte. Specie dioiche e altamente eterozigoti come le actinidie richiedono l'analisi di migliaia di semenzali alla ricerca dei ricombinanti desiderati, soprattutto quando si intende aumentare il numero di caratteri per i quali si intende fare selezione. Marcatori associati alle caratteristiche dei frutti consentono di selezionare gli individui desiderati in fase molto precoce, all'emergenza dei semenzali dopo la semina.

Anche la selezione precoce di alcuni caratteri ad ereditabilità mendeliana semplice, quale il determinante del sesso, consente un notevole risparmio di denaro e lavoro. Ricercatori neozelandesi hanno prodotto una mappa genetica in cui il determinante del sesso appare in prossimità di alcuni marcatori utili per la selezione assistita. Una mappa ad alta densità di marcatori di singolo nucleotide (SNP) è stata recentemente prodotta dai ricercatori dell'Università di Udine e alcuni marcatori candidati strettamente associanti al determinante del sesso sono in corso di investigazione.

BIBLIOGRAFIA

TESTOLIN R., 2009. *Il miglioramento genetico dell'actinidia in Italia.* 16: 73-77.

OSSANI V., 1994. *Otto anni di esperienze e tentativi di miglioramento genetico dell'actinidia.* Rivista di Frutticoltura e di Ortofloricoltura 56: 59-61.

FERGUSON A.R., HUANG H.W., 2003. *Genetic resources of kiwifruit: Domestication and Breeding.* Horticultural review 33: 121.

FERGUSON A.R., SEAL A.G., 2008. *Kiwifruit. In Temperate Fruit crop breeding.* JF Hancock ed.: 235-263.

Flavio Roberto De Salvador

LA PROTEZIONE GIURIDICA DELLE NUOVE VARIETÀ DI KIWI IN ITALIA E NELLA COMUNITÀ EUROPEA

THE PLANT VARIETY RIGHT SYSTEM FOR NEW KIWIFRUIT VARIETIES IN ITALY AND IN THE EUROPEAN COMMUNITY

F. R. De Salvador
CRA-Consiglio per la ricerca e la sperimentazione in agricoltura
CRA-Centro di ricerca per la frutticoltura – Roma
Via Fioranello, 52 – 00134 Roma
fr.desalvador@gmail.com

ABSTRACT

The process to develop a successful plant variety takes a long time, requires knowledge, significant economic investment and skilled, scientific staff. A new variety, once released, can easily be multiplied by others. The original breeder is thus deprived of the long-term opportunity to benefit from his investment. Sustained and long-term breeding efforts are only worthwhile if there is a chance to be rewarded for the investment made.

It is, therefore, critical to provide an effective system of plant variety protection, which encourages the development of new plant varieties, allowing both the breeder and society at large to benefit. On the basis of these considerations, a Diplomatic Conference (International Convention for the Protection of New Varieties of Plants, "UPOV Convention") held in Paris in December 1961, established the "Union Internationale pour la Protection des Obtentions Végétales" (UPOV), an intergovernmental organization of legal personality dedicated to the protection of new plant varieties in recognition of the intellectual property rights of the breeder. Countries that have ratified the UPOV Convention are called to respect the rules set out, harmonizing their national plant variety right (PVR) systems accordingly. In Italy, the office entrusted with the management of PVR is the Italian Patent and Trademark Office (UIBM) of the Ministry of Economic Development. At the level of the European Union, the responsible body for PVR is the Community Plant Variety Office (CPVO), established in 1995 and located in Angers (France). This paper summarizes the procedure for submitting national and European plant variety right applications.

INTRODUZIONE

Da migliaia di anni l'uomo coltiva le piante selezionandole in modo più o meno inconsapevole a fini alimentari o di altra utilità. Solo a partire dalla fine del XVIII° secolo è iniziato un sistematico lavoro di incrocio e selezione nelle diverse specie. Tali attività, che richiedono tempi molto lunghi e notevole impegno, devono trovare un riscontro economico al fine di incentivare ulteriormente il

settore, con benefici che ricadono sul costitutore, ma si estendono in generale a tutta la società.
Al fine di proteggere e riconoscere l'impegno, in risorse umane e finanziarie, profuso nella creazione di una nuova varietà ed evitarne l'uso da parte di terzi a titolo gratuito è stata creata a Parigi, nel 1961, la Union Internationale pour la Protection des Obtentions Végétales (UPOV convention) che, aggiornata negli anni successivi, ha definito un sistema internazionale di protezione delle nuove costituzioni vegetali e il riconoscimento dei relativi diritti di proprietà intellettuale.
L'UPOV è una organizzazione intergovernativa indipendente, attualmente costituita da 72 Paesi *(Fig.1),* la cui missione è promuovere un sistema effettivo di protezione del materiale vegetale e incoraggiare la creazione e lo sviluppo di nuove varietà. Tutti i Paesi che hanno ratificato la Convenzione sono chiamati al rispetto delle norme in essa contenute, armonizzando i rispettivi sistemi di privativa nazionali.

LA PRIVATIVA VEGETALE

La protezione giuridica di una varietà vegetale in tutti i Paesi aderenti alla Convenzione UPOV si fonda su due elementi di base che sono: l'oggetto della privativa, cioè la varietà, e il costitutore o "breeder", che ha scoperto/creato e sviluppato la varietà. Condizioni ulteriori e necessarie per proporre la privativa sono il presupposto di *"novità"* della varietà stessa, la sua chiara *"distinguibilità"* (Distincness), l'*uniformità* (Uniformity) e la *stabilità* (Stability) (DUS).
Il concetto di *"novità",* nell'ambito delle privative, fa prevalente riferimento ad aspetti di gestione e sfruttamento commerciale della varietà da parte del costitutore o degli aventi causa, nel senso che tale requisito non risulta rispettato se il materiale che si intende proteggere è stato oggetto di transazioni commerciali anteriormente ad 1 anno nel Paese in cui viene presentata la domanda o anteriormente a 4 anni in uno qualsiasi dei Paesi aderenti alla convenzione internazionale UPOV.
La reale condizione di unicità della varietà proposta per la privativa è invece contemplata nella "distinguibilità" concetto per cui la stessa, si considera distinta quando è chiaramente diversa anche per un solo carattere da qualsiasi altra varietà la cui esistenza è notoriamente conosciuta al momento del deposito della domanda.
I concetti di uniformità e stabilità sono più intuitivi e si riferiscono al mantenimento dei principali caratteri fenologici, morfologici e carpologici durante la propagazione della varietà.
Quanto precedentemente illustrato costituisce la premessa per definire a grandi linee il quadro di riferimento per tutte le privative vegetali e quindi anche per l'actinidia.
A livello europeo l'Organismo responsabile delle privative vegetali è il CPVO (Community Plant Variety Office) che, operativo dal 1995, fa comunque riferimento alla Convenzione UPOV.

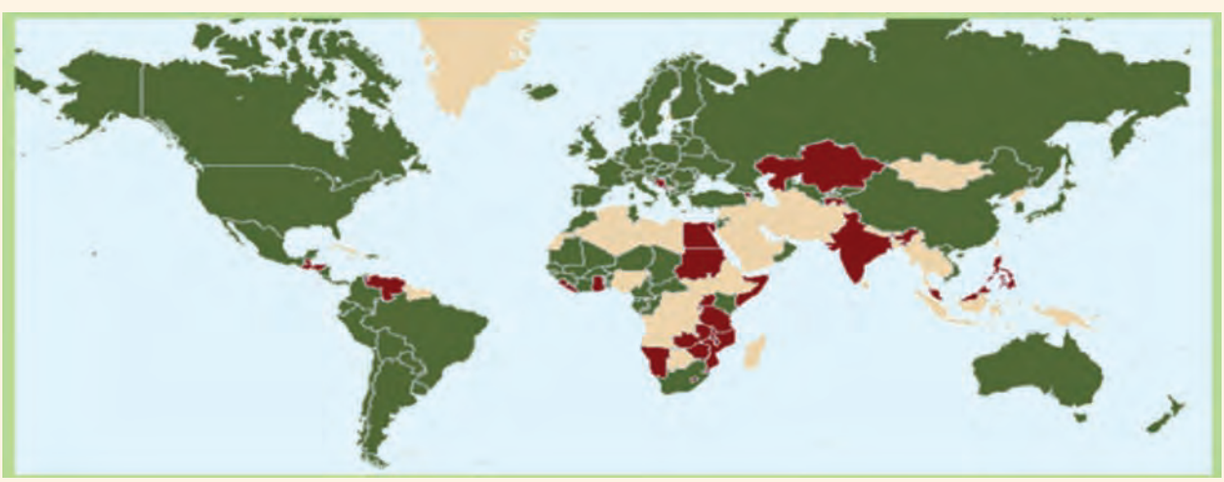


Fig. 1 *Paesi che hanno aderito alla Convenzione UPOV (n° 72 in verde); in corso di adesione (n°16 in rosso).*

Il numero totale di domande di privative europee presentate nel settore dei fruttiferi è elevato *(Fig. 2)* in particolare per alcune specie quali pesco, fragola, melo e albicocco, mentre per altre è molto più ridotto; per l' actinidia fino ad oggi sono state presentate 56 domande di cui 14 sono state rigettate o risultano decadute.
Attualmente, dichiarati come *Actinidia spp.* Lindl. sono attivi n°16 brevetti, n°8 sono in corso di esame; come *Actinidia chinensis* sono attivi n°4 brevetti, n°9 sono in corso di esame; come *Actinidia deliciosa* sono in esame n°5 varietà.
L'interesse verso il brevetto di tipo europeo per la specie actinidia è crescente e ne è riprova la presentazione per il 2015, di n° 6 di domande preliminari, che il CPVO ha trasmesso al CRA-FRU, unico Ufficio Esaminatore europeo, per la specie in questione.
A livello italiano, il numero delle privative presentate nel settore dei fruttiferi all'Ufficio Italiano Brevetti e Marchi del Ministero delle Attività Produttive è inferiore a quello europeo *(Fig. 3)*, anche se viene rispettato l'ordine di grandezza relativamente ad alcune specie quali pesco, fragola, melo.
Per l'actinidia risultano n°10 brevetti attivi, n°3 domande respinte, n°3 domande ritirate, n°1 domanda in corso .

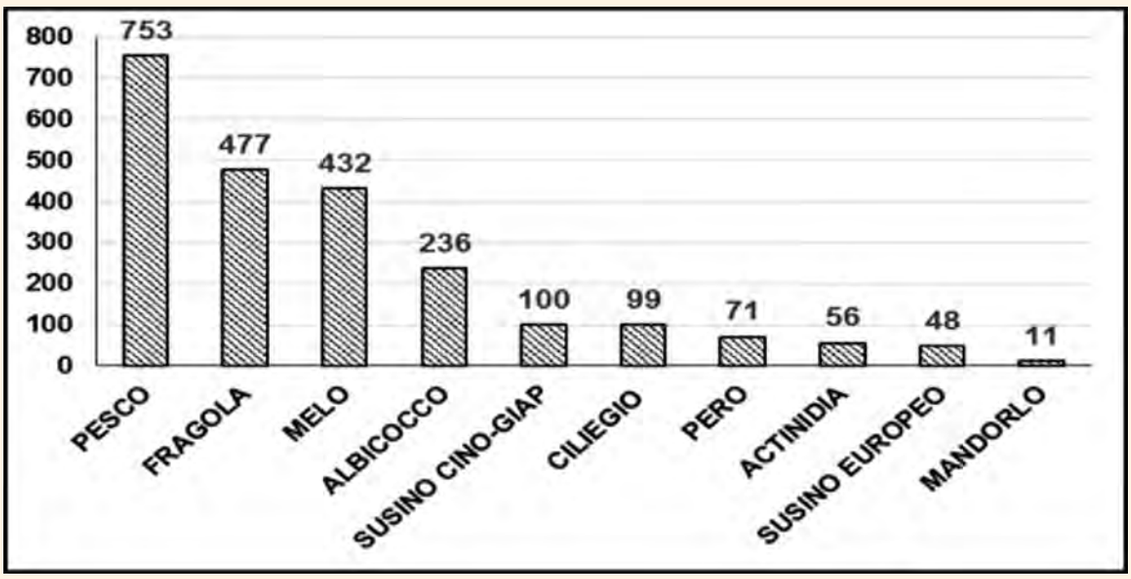


Fig. 2 *Numero di privative europee di fruttiferi depositate presso il CPVO (1995-2014)* (fonte: CPVO).

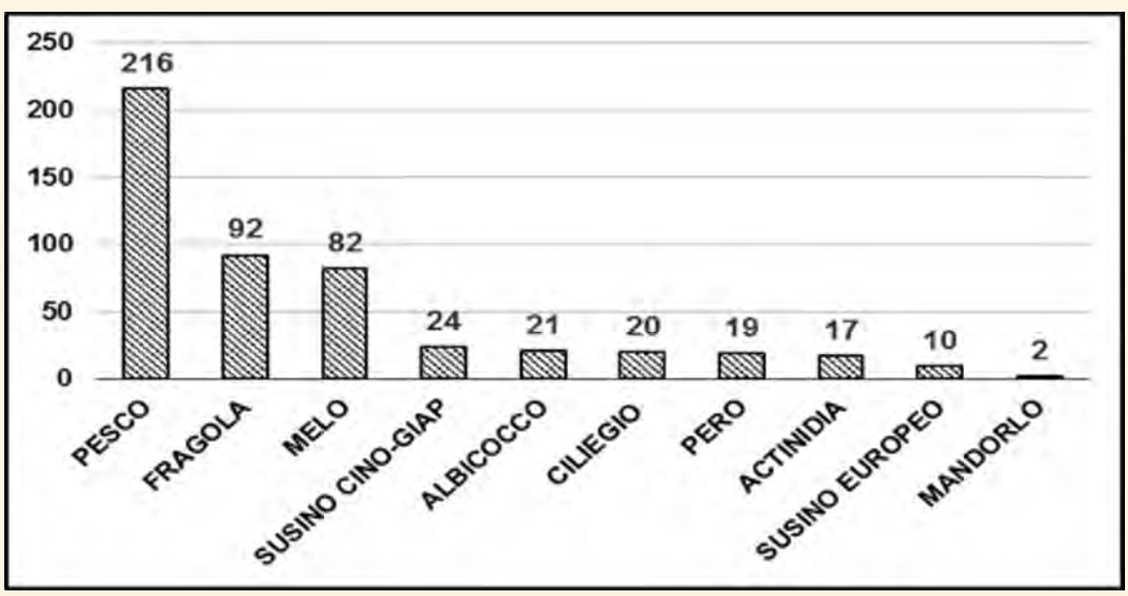


Fig. 3 *Numero di privative italiane depositate presso l'Ufficio Italiano Brevetti e Marchi del Ministero delle Attività Produttive (1995-2014)* (fonte: Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali)

PROCEDURE PER DOMANDA DI PRIVATIVA EUROPEA

Nel rispetto delle condizioni generali (Novelity, Distincness, Uniformity, Stability) il costitutore o l'avente diritto, può proporre l'istanza di privativa costituita da:

– domanda;
– questionario tecnico;
– proposta di denominazione varietale;
– modulo di notifica (in caso di domanda presentata all'UIBM);
– nota con dettaglio del pagamento;
– ricevuta del pagamento al CPVO di € 650,00;
– documentazione fotografica che metta in evidenza le caratteristiche distintive della cultivar (parti di pianta, frutto, ecc.).

L'istanza di privativa può essere compilata on-line (https://cpvoextranet.cpvo.europa.eu), inviata, a mezzo posta, direttamente al CPVO, oppure all'Ufficio Italiano Brevetti e Marchi che lo inoltrerà al CPVO.

L'arco temporale di apertura e chiusura dei termini per la domanda è stabilito preliminarmente e pubblicato sul sito del CPVO (http://www.cpvoeuropa.eu/main/en/home/documents-and-publications/s2-gazette).

Nel caso dell'actinidia le domande possono essere presentate dal 30 aprile fino al 15 dicembre di ogni anno.

Successivamente alla presentazione della domanda il CPVO, verificata la regolarità della stessa, chiede un rapporto preliminare all'Ufficio Esaminatore al fine di accertare la possibilità tecnica di valutare la nuova varietà.

Il CPVO, ottenuto il parere dall'Ufficio Esaminatore, notificherà al proponente la privativa la richiesta di predisporre il materiale idoneo all'esecuzione del DUS test, da consegnare, secondo tempi e modalità previste dalla Gazzetta S2 (http://www.cpvo.europa.eu/main/en/home/documents-and-publications/s2-gazette), all'Ufficio Esaminatore incaricato.

Nel caso dell'actinidia il periodo utile di consegna del materiale all'Ufficio Esaminatore va dal 1 marzo fino al 30 aprile dell'anno successivo al deposito della domanda.

E' richiesta la consegna di "n°8 piante di un anno, innestate su Hayward o auto radicate"[1], accompagnate da un certificato attestante l'assenza dei principali patogeni della specie e specificatamente il test di negatività per *Pseudomonas syringae* pv *actinidiae*.

Entro il 30 aprile dovrà essere versata al CPVO la tassa di esame annuale, che nel caso dell'actinidia è di € 2.500,00.

Tale importo dovrà essere versato annualmente fino a conclusione da parte dell'Ufficio Esaminatore della valutazione tecnica (DUS Test). Trattasi normalmente di 3 o 4 anni in quanto l'esame può considerarsi esaurito, dopo che la varietà in osservazione ha fornito almeno due anni di produzione significativa.

Conclusa tale fase l'Ufficio Esaminatore redigerà un rapporto finale che, se positivo, confermerà l'esistenza per la varietà in esame delle condizioni di Distinguibilità, Uniformità e Stabilità. Acquisito tale rapporto il CPVO, accertata anche l'assenza di impedimenti formali (denominazione non conforme agli standard, eventuali osservazioni sul rapporto finale dell'Ufficio Esaminatore) potrà rilasciare il certificato di brevetto. Il brevetto europeo, se mantenuto attivo con il pagamento della tassa annuale di € 250,00, durerà 30 anni.

PROCEDURA PER DOMANDA DI PRIVATIVA ITALIANA

I principi e i requisiti generali sono quelli previsti dall'UPOV.

La domanda può essere depositata presso le Camere di Commercio o inviata mediante posta all'Ufficio Italiano Marchi e Brevetti (UIBM). Alla domanda devono essere allegati:

– la descrizione della varietà;
– la riproduzione fotografica della varietà;
- informazione e documentazione utile all'esame della domanda;
– la dichiarazione del costitutore (art. 165 del CPI=Codice della Proprietà Industriale D.lgs 10/02/2005 e successivi aggiornamenti) in merito alla novità della varietà e eventuale esistenza di diritti da parte di terzi;
– documenti comprovanti le priorità eventualmente rivendicate;
– attestazione di pagamento della tassa prima concessione € 236,00.

(1) secondo il testo della G.U. dell'UE.

L'UIBM, accertata la ricevibilità della domanda, nonché la regolarità formale della stessa, trasmette al Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali una copia della domanda con la relativa documentazione allegata, invitando il richiedente a versare, entro sessanta giorni, il compenso dovuto per i controlli tecnici nella misura prevista nell'Allegato 1 al D.M. 16/05/2012.
Trascorsi trenta giorni senza che il richiedente abbia fornito prova dell'avvenuto pagamento del predetto compenso, la domanda si considera rifiutata.
Per l'actinidia l'importo relativo al ciclo di prova è di € 1000,00.
Il Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali, dopo le prove di comparazione varietale, affidate a Istituzioni pubbliche competenti, formula un parere vincolante sui requisiti sostanziali di validità della privativa, avvalendosi della Commissione consultiva di cui all'art. 170, comma 3 bis CPI. Nei dieci giorni successivi all'approvazione del verbale, trasmette all'UIBM i pareri espressi dalla Commissione consultiva sulla base dei risultati delle prove varietali.
Per le varietà vegetali approvate in sede di commissione consultiva l'UIBM concede i titoli di protezione entro il termine di 90 giorni dalla data di ricezione del parere della Commissione
A partire dalla data di concessione della privative occorre versare la tassa di mantenimento, pena la decadenza della stessa, per i 30 anni di durata del brevetto.
La prima annualità va pagata entro quattro mesi dalla data di concessione della privativa, mentre le annualità successive entro il mese corrispondente a quello della concessione, secondo delle tariffe crescenti previste dall'allegato 1 del D.M. 16-5-2012.

CONCLUSIONI

Le privative vegetali, oltre che un sistema di tutela del costitutore di una nuova varietà, sono un elemento di valorizzazione del materiale vegetale, ma anche del prodotto, che nel caso dell'actinidia ha consentito agli agricoltori di spuntare prezzi più elevati e aumentare conseguentemente il reddito aziendale.

Ottavio Cacioppo

QUATTRO ANNI DI STUDIO, 2011-2014, IN PROVINCIA DI LATINA, DELLA NUOVA CULTIVAR DI KIWI NEOZELANDESE A POLPA GIALLA G3

FOUR YEARS RESEARCH, 2011-2014, IN LATINA PROVINCE, OF THE NEW ZEALANDER KIWI YELLOW FLESH CULTIVAR G3

O. Cacioppo
Kiwi Informa, Latina
ottaviocacioppo@gmail.com

ABSTRACT

Due to the very severe damages caused by the bacterial disease Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae, *the yellow flesh kiwi variety Hort16A has been almost totally abandoned in Latina province. In 2011, the new* A. chinensis *variety G3 has been introduced from New Zealand. Five hectares of 10 years old Hayward, trained as " tendone", spaced 5x4 m have been top-grafted with G3 and production quantity and quality monitored in the following years. The production in 2013 was 40t/ha, in 2014 45t/ha with a positive commercial quality (average fruit weight 108g; dry matter 20.2%).*

INTRODUZIONE

In provincia di Latina, nel 2000, si realizzarono i primi impianti di kiwi della varietà neozelandese a polpa gialla, Hort16A. Nel 2008 la coltura di detta cultivar occupava una superficie di poco inferiore a 800 ha, con una produzione di 15 mila t annue. Attualmente, a causa della batteriosi da Psa, apparsa nel 2008, sono rimasti circa 10 ha. Le piante della rimanente superficie sono state capitozzate e poi innestate, in massima parte, con marze della cultivar neozelandese G3, introdotta nel 2011.

Dal 2011 un impianto di G3 di 5 ettari, nel comune di Cisterna di Latina, è stato controllato per gli aspetti vegetativi, produttivi e di qualità dei frutti.

MATERIALI E METODI

L'innesto di G3 è stato eseguito nel 2011 su piante di Hayward di 10 anni piantate alla distanza di m 5x4 (500 piante/ha), allevate a tendone, protetto con rete antigrandine. Per ogni pianta sono state allevate 4-5 branche. Gli impollinatori erano in rapporto 1:5.

Sono stati raccolti dati relativi agli aspetti colturali, agronomici, biologici, a cominciare dall'innesto

delle marze G3 (2011): fenologia, l'impollinazione assistita, carico di gemme, diradamento, raccolta (colore della polpa, gradi Brix°, percentuale della sostanza secca). E' stata effettuata l'impollinazione artificiale con 3 passaggi a secco di 500 g/ha di polline (misto Tomuri e Matua) pari a 1500 g/h. E' stato utilizzato un interruttore di dormienza (Break-out-Gobbi) nel mese di febbraio. Effettuato un accurato diradamento dei frutti.

RISULTATI

I risultati produttivi della G3 sono molto interessanti, sia dal punto di vista quantitativo (il raccolto del 2014 è stato di 45 t /ha di frutti di pezzatura commerciabile mentre nel 2013 la produzione è stata di 40 t/ha), ma anche dal punto di vista qualitativo, considerando i parametri dei frutti raccolti nel 2013: epoca della raccolta 15 ottobre, gradi Brix° 10, colore 100 hue, sostanza secca 20,2%. La classificazione dei frutti secondo la calibratura è riportata in tabella 1, dalla quale emerge che circa il 90% della produzione è costituita da frutti con calibro superiore a 71g. La conservazione in frigo è stata di 5-6 mesi, simile ai frutti Hayward. Pertanto, la G3 appare una cultivar molto promettente. Le quotazioni sono state: prezzo medio sulla quantità conferita €1,877kg + I.V.A. (4%); prezzo medio della prima è stato di € 2,057 kg + I.V.A. (4%); sostanza secca 20,2%. Le quotazioni includono il premio sulla sostanza secca che è stato di € 0,20 e sono al netto dei costi di trasporto. Il peso medio dei frutti è stato di 108 g.

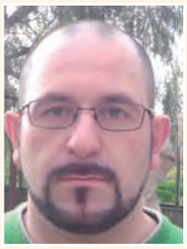
Ricavi e utile netto: produzione di 40 t/ha = 40.000 kg x 1,87 = € 74.800 + I.V.A. (4%) € 1.600 = € 76.400 - costo di produzione €14.000 - utile netto €62.400. La produzione dell'actinidieto descritto, per il 2014, è stata di 45 t/ha. Questi dati trionfalistici non rappresentano la media delle aziende che coltivano la G3, ma evidenziano una valutazione in un contesto in cui la domanda del kiwi giallo risulta molto più alta dell'offerta.

Tab. 1 Calibri dei frutti della produzione 2013, anno successivo al sovrainnesto

Calibri	
g	%
> 152	1.7
138-152	4.6
128-138	5.3
120-128	10.6
111-125	15.0
99-111	22.8
85-99	18.0
75-85	8.3
71-76	3.0
< 71	10.7

CONCLUSIONI

Nella batteriosi da Psa, che ha completamente compromesso il futuro della cv Hort16A. In questi ultimi anni sono stati effettuate in Nuova Zelanda ricerche sulla suscettibilità delle varietà a polpa gialla alla batteriosi da Psa. La G 3 risulta meno suscettibile alla citata fitopatologia della Hort16A. Poiché la nuova arrivata è stata introdotta in Italia nel 2011, possiamo dire che fino ad oggi si è comportata bene, ma occorre attendere qualche anno per esprimersi in modo definitivo.


Daniele Bevilacqua

Massimo Terlizzi

Alisea Sartori

Patrizia Ferrante

Marco Scortichini

SELEZIONE DI MATERIALE MUTAGENIZZATO PER L'INDIVIDUAZIONE DELLA RESISTENZA O TOLLERANZA A *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *ACTINIDIAE* (PSA)

SELECTION OF MUTAGENIZED MATERIAL FOR THE DETECTION OF RESISTANCE OR TOLERANCE TO PSEUDOMONAS SYRINGAE *PV.* ACTINIDIAE *(PSA)*

D. Bevilacqua, M. Terlizzi, A. Di Cintio, T. Rosato, A. Sartori, P. Ferrante, M. Scortichini
Frutticoltura, Via di Fioranello, 52 – 00134 Roma
daniele.bevilacqua@yahoo.it ▪ alisea.sartori@entecra.it
marco.scortichini@entecra.it ▪ patrizia.ferrante79@gmail.it

Key words: cancro batterico, actinidia, inoculo, mutazione

ABSTRACT

The kiwifruit sensibility to Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *(Psa) is worldwide well known, as well as the damages on the vines that compromise their survival and the productivity. The aim of CRA-FRU breeding program was to induce mutagenesis in order to find out genotypes tolerant or resistant to Psa. The alkylating agent EMS (Ethyl-Methane-sulfonate) at four different concentrations (0,2; 0,3; 0,4 and 1%) was used on more than 20.000 seeds belonging to* Actinidia deliciosa *and* A. chinensis *species. In the second year, a solution at 1% EMS for 1 or 2 hours was applied directly on anthers. The mutagenized pollen was used in different crossing combinations and 11000 seeds were collected. All the germinated plantlets, after four-five months from the sowing, were inoculated with a Psa suspension of the CRA-FRU 8.43 (1-2x10^6 fcu/ml) strain with an injection in the leaf or in the vein. All the plants that died or showed Psa symptoms were eliminated. After three years of activity, only 20 plants are still alive.*

INTRODUZIONE

La comparsa del cancro batterico dell'actinidia, causato dall'agente *Pseudomonas syringae* pv. *actinidieae* (Psa) consiglia di indirizzare i programmi di miglioramento genetico verso l'individuazione e utilizzazione di fonti di resistenza a tale patogeno. Le principali difficoltà sorgono a causa della forte virulenza del patogeno (Ferrante e Scortichini, 2014; Vanneste, 2013; Scortichini *et*

al., 2012), l'attuale assenza di fonti di resistenza (Scortichini e Cipriani, 2012), la base genetica molto ristretta su cui si è fondato il miglioramento genetico moderno (Mc Neilage *et al.* 2011) e quindi delle cv in commercio.
In questo lavoro, si è voluto introdurre variabilità genetica attraverso l'induzione di mutazioni di tipo puntiforme con l'utilizzo di Etil-metano-sulfonato (EMS). Passo successivo è stato quello di saggiare la resistenza a Psa degli individui nati da questa attività di mutazione per valutare la loro resistenza o tolleranza al batterio (Cipriani *et al.,* 2012).

MATERIALI E METODI

Nel primo anno di attività, complessivamente sono stati raccolti oltre 10.000 semi da libera impollinazione: 3540 di Hayward, 3300 di RII-28, una selezione avanzata del CRA-FRU di Roma, e 3240 semi di C8, una selezione avanzata dell'Università di Udine, che sono stati sottoposti all'azione alchilante dell'EMS (Etil-MetanoSulfonato) a tre diverse concentrazioni (0,2; 0,3; 0,4%) (Bevilacqua *et al.,* 2013). Nel terzo anno di attività, semi di tre selezioni avanzate del CRA-FRU (R II 28, R XII 75 e R XVI 131) sono stati sottoposti ad un trattamento con una soluzione di EMS più elevata pari all'1%.
Tutti i semi mutagenizzati sono stati poi seminati in vassoio (6x10 alveoli) usando terriccio sterile Brill Type 3 nella prima decade di dicembre e lasciati a vernalizzare per circa 6-8 settimane. Successivamente, sono stati spostati in serra, irrigati e lasciati germinare.
Sono state eseguite due inoculazioni con il ceppo CRA-FRU 8.43 di *Pseudomas syringae* pv. *actinidiae* alla concentrazione di 1-2 x106 ufc/ml. La prima a completa formazione delle prime due foglie (tra fine aprile inizio maggio), tramite infiltrazione della sospensione batterica nel mesofillo fogliare. Il secondo inoculo, che ha riguardato le piante sopravvissute al primo saggio, è stato eseguito da metà agosto ai primi di settembre mediante ferita al fusto.
Le piantine sono state sottoposte ad un continuo monitoraggio ed all'insorgenza dei sintomi del cancro batterico come macchie necrotiche e disseccamenti, venivano mano a mano eliminate.
Nel secondo anno di attività, un trattamento mutagenizzante con EMS al 1% è stato effettuato direttamente sulle antere di polline di selezioni maschili di *A. chinensis* individuate presso il CRA-FRU (R I 8, R I 14, R II 13, R II 33) e sulla cv Tomuri di *A. deliciosa*. Una serie di incroci con delle selezioni femminili (R I 17, R II 28, R II 26) e una selezione di *A. deliciosa* (R XVI 131) sono stati eseguiti nella primavera e dai frutti maturi, nell'ottobre dello stesso anno, sono stati raccolti più di 13000 semi.

RISULTATI E CONCLUSIONE

Al primo inoculo la sopravvivenza media di Hayward è stata del 10,6%, quella di RII-28 del 24,6% mentre per il C8 è del 9,2%. Al secondo inoculo, risultarono sopravvissute 137 piantine di Hayward, 65 semenzali di RII-28 e 24 di C8. Nella primavera seguente alla ripresa vegetativa, le piante ancora vive e ben vegetanti erano solamente 5 ed appartenevano al gruppo dei semi di Hayward o.p. trattati con EMS allo 0,2%.
Nel secondo anno di attività, la percentuale dei semi germinati è risultata notevolmente diminuita (8.9%) e variava in base ai genitori usati e al tempo di esposizione al EMS 1 o 2 ore. La progenie derivata dalla selezione femminile RXVI 131 x Tomuri T2 (polline mutagenizzato per 2 ore) ha presentato il più alto tasso di sopravvivenza all'inoculo con ben 15 piante vive e asintomatiche. L'attuale terzo anno di attività, registra al momento 90 piante vive di cui solo una derivata dalla selezione avanzata RII 28 appartenente alla specie *A. chinensis,* confermando la maggior sensibilità di tale specie al patogeno (Scortichini e Cipriani, 2012).
In conclusione, da 30.000 semi mutagenizzati nei tre anni di attività, ad oggi, solo 20 piantine sono sopravvissute all'inoculo. Tuttora sotto osservazione per l'insorgenza di sintomi della PSA, tali piantine costituiscono un prezioso materiale per lo sviluppo futuro di un programma per la selezione di nuove cultivar pomologicamente ed agronomicamente valide che presentano resistenza o tolleranza al batterio *Pseudomo-nas syringae* pv. *actinidiae*.

BIBLIOGRAFIA

BEVILACQUA D., TERLIZZI M., DI CINTIO, ROSATO T., SARTORI A., FERRANTE P., ALBERTI F., SCORTICHINI M., CIPRIANI G., 2013. *Selezione per la resistenza o tolleranza a* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae (Psa) *di genotipi mutagenizzati tramite EMS*. Convegno Frutticolo nel Lazio: Stato dell'arte della ricerca sulle colture arboree nel Lazio – Viterbo, 23 Aprile 2013 Atti: 44-46

CIPRIANI G., TERLIZZI M., BEVILACQUA D., DI CINTIO A., ROSATO T., BOMPARD S., SARTORI A., 2012. *La selezione di genotipi tolleranti a Psa di* A. chinensis *e* A. deliciosa *presso CRA-FRU.* Periodico scientifico Kiwi Informa anno 8° n. 1-3/2012: 44-45.

FERRANTE P. E SCORTICHINI M., 2014. F*rost promotes the pathogenicity of* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *in* Actinidia chinensis *and* A. deliciosa *plants.* Plant Path. 63, 12–19 (Doi: 10.1111/ppa.12070)

MCNEILAGE M.A., FRASER L.G., TSANG G.K., DATSON P.M., DE SILVA H.N. , CROWHURST R.N., FERGUSON A.R., 2011. *Molecular genetics and genomics and kiwifruit breeding.* Acta Hort. 913:63-70

SCORTICHINI M., CIPRIANI G., 2012. *Struttura genomica, epidemiologia e miglioramento genetico per la resistenza.* Frutticoltura, supplemento al n. 9/2012: 26-31.

SCORTICHINI M., MARCELLETTI S., FERRANTE P., PETRICCIONE M., FIRRAO G., 2012. Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae: *a re-emerging, multi-faceted, pandemic pathogen.* Molecular Plant Pathology (DOI: 10.1111/j.1364.3703.2012.00788.x).

VANNESTE, J.L., 2013. *Recent progress on detecting, understanding and controlling* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae: *a short review.* NZ Plant Protection 66:170-177.

Avviso agli abbonati
si comunica di rinnovare l'abbonamento di questa rivista per il 2015 e per il rinnovo si richiede il versamento del relativo importo.
Per abbonarsi compilare la cedola di fianco e spedire in busta chiusa.
Oppure telefonare allo 0773.643653 - 348.3313812
o inviare un fax allo 0773.643074
Oppure inviare i propri dati via e-mail all'indirizzo arma@armasas.191.it

ABBONAMENTO

a

Desidero sottoscrivere l'abbonamento annuale alla rivista "Kiwi Informa" (4 fascicoli) al prezzo di euro 25,00 versando l'importo sul **C.C.P. n° 69376440** intestato a:
Arma di Adriano Marchetto & C. s.a.s.
Via Santa Maria, 3351 - 04010 Borgo Bainsizza (LT)
e spedendo copia della ricevuta allo stesso indirizzo.
PER L'ESTERO L'ABBONAMENTO E' DI EURO 50,00.

BARRARE: ☐ NUOVO ABBONATO ☐ RINNOVO ABBONAMENTO

Cognome _____ Nome _____

Indirizzo _____ Civico _____

C.A.P. _____ Città _____ Prov. _____

e-mail _____

N° tel. _____ Firma _____

LA NATURA PER CONSERVARE

NUOVO PACKAGING IN AC PER LA CONSERVAZIONE DEL KIWI

SOLUZIONI MOBILI

COPERCHIO JANNY MT
IL MODULO SEMPLICE
PER LA CONSERVAZIONE
IN AC DEL KIWI

distributori esclusivisti per l'Italia della

JANNY MT

SOLUZIONI IMPIANTISTICHE

CONVERTITORI CATALITICI
SERIE SWINGTHERM

ASSORBITORI DI ETILENE
SERIE ETI

FRUIT
CONTROL
EQUIPMENTS

via R. Luxemburg 55
20085 Locate di Triulzi (MILANO) - Italia
Tel. +39.02.9048141 fax +39.02.9079112
info@fruitcontrol.it - www.fruitcontrol.it

Daniele Bevilacqua *Guido Cipriani* *Alisea Sartori* *Patrizia Ferrante* *Marco Scortichini* *Andrea Frattarelli*

APPLICAZIONE DELLE COLTURE *IN VITRO* PER LA SELEZIONE DI CLONI DI *ACTINIDIA SPP* RESISTENTI A PSA

APPLICATION OF TISSUE CULTURES FOR SELECTION OF ACTINIDIA *SPP CLONES RESISTANT TO PSA*

D. Bevilacqua(1), G. Cirpiani(2), A. Sartori(1), P. Ferrante(1), M. Scortichini(1), A. Frattarelli(1), E. Caboni(1)
(1) Consiglio per la ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura
Centro di Ricerca per la Frutticoltura, Roma
daniele.bevilacqua@yahoo.it ▪ alisea.sartori@entecra.it ▪ marco.scortichini@entecra.it
emilia.caboni@entecra.it ▪ guido.cipriani@uniud.it ▪ patrizia.ferrante79@gmail.it

Key words: EMS, *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae,* rigenerazione avventizia

ABSTRACT

Adventitious shoot regeneration was obtained in Actinidia deliciosa, *cv Hayward, and* A. chinensis, *cv Soreli, using leaf fragments of in vitro growing shoots. In Hayward the highest regeneration response was obtained with the cytokinin thidiazuron, while zeatin was confirmed to be the most suitable cytokinin for regeneration in* A. chinensis. *The most efficient defined protocols were used to apply the mutagen ethyl-methane sulphonate to the regeneration systems and the clones obtained are now under evaluation for their resistance to PSA.*

INTRODUZIONE

L'actinidicoltura dei principali paesi produttori, tra cui l'Italia, ha subito nei recenti anni un notevole ridimensionamento a causa della comparsa del patogeno batterico *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (PSA). Nel mondo PSA è presente in forme a virulenza variabile (Mazzaglia *et al.*, 2012) in grado di infettare sia *l'Actinidia deliciosa* che l'*A. chinensis.* La forte virulenza di alcuni ceppi del patogeno (Ferrante e Scortichini, 2014; Vanneste, 2013; Scortichini *et al.*, 2012), l'attuale assenza di fonti di resistenza (Scortichini e Cipriani, 2012) e la ristretta base genetica su cui si è fondato il miglioramento genetico moderno (Mc Neilage *et al.*, 2011) non rendono semplice attuare programmi di miglioramento genetico per l'introduzione della resistenza a PSA.

I sistemi di rigenerazione avventizia (R.A.), combinati anche con l'uso di mutageni, rappresentano un utile approccio per ampliare la variabilità disponibile da sfruttare per il miglioramento genetico, al fine di selezionare genotipi resistenti o tolleranti a stress biotici o abiotici. È stato, quindi, avviato in *A. deliciosa* (Hayward) ed in *A. chinensis* (Soreli) uno studio finalizzato alla messa a punto di opportuni protocolli di R.A. e di mutagenizza-

zione basati sulle colture in vitro e la selezione con applicazione del PSA.

MATERIALI E METODI

Frammenti fogliari di *A. deliciosa,* cv Hayward, e di *A. chinensis,* cv Soreli, prelevati da germogli allevati *in vitro,* sono stati posti, per 28 giorni (fase di induzione) con la superficie adaxiale a contatto con un terreno di coltura MS (Murashige e Skoog, 1962) addizionato con saccarosio (20 gL^{-1}), agar (5,7 gL^{-1}), acido naftalenacetico (NAA, 2 mgL^{-1}) e una citochinina (2 mgL^{-1}), zeatina (ZEA) o thidiazuron (TDZ), con lo scopo di valutare l'effetto sulla R.A. Il pH è stato portato a 5,7 prima della sterilizzazione (120°C per 20').

Gli espianti, durante questa fase sono stati mantenuti al buio per 7, 14 o 21 giorni e poi trasferiti alla luce (16 h di fotoperiodo, 40 $\mu mol\ m^{-2}s^{1}$). Dopo la fase di induzione gli espianti sono stati trasferiti su un nuovo terreno di coltura simile al precedente ma privo di auxine. Dopo 90 giorni dall'inizio dell'esperimento è stato rilevato il numero di espianti rigeneranti e il numero di germogli/espianto.

Ad oggi, utilizzando il miglior protocollo di R.A. messo a punto, è stato applicato su Soreli l'Etil-Metano Sulfonato (EMS), già impiegato sia in sistemi *in vivo* che *in vitro* (Bevilacqua *et al.,* 2013; Cipriani *et al.,* 2012; Dai *et al.,* 2011), per ottenere genotipi mutati da valutare per la resistenza a PSA. I calli da frammenti fogliari sono stati trattati con EMS in unica concentrazione e tempi crescenti di applicazione.

RISULTATI E CONCLUSIONE

I migliori risultati di R.A. in Soreli si sono ottenuti con ZEA, confermando quanto evidenziato in precedenti lavori su *A. chinensis* (Caboni *et al.,* 2009), e 7 giorni di buio (67% di espianti rigeneranti e 3 germogli/espianto). In Hayward i migliori risultati sono stati ottenuti con TDZ che ha indotto maggiore capacità rigenerativa rispetto a ZEA, differentemente da quanto indicato in Tomuri da Prado *et al.* (2007), e con 14 o 21 giorni di buio (50% di espianti rigeneranti e 6 germogli/espianto).

Le prime osservazioni sull'applicazione del mutagene consentono di affermare che il tempo di applicazione influenza l'incidenza delle necrosi nei calli, la loro capacità rigenerativa e, soprattutto, i tempi di formazione dei germogli avventizi.

I germogli ottenuti dalla R.A. in presenza di EMS, sono in corso di valutazione mediante inoculo con il batterio, ceppo CRA-FRU 8.43 (Ferrante e Scortichini, 2010).

BIBLIOGRAFIA

BEVILACQUA D., TERLIZZI M., DI CINTIO A., ROSATO T., SARTORI A., FERRANTE P., ALBERTI F., SCORTICHINI M., CIPRIANI G., 2013. *Selezione per la resistenza o tolleranza a* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *(PSA) di genotipi mutagenizzati tramite EMS.* Convegno Frutticolo nel Lazio: Stato dell'arte della ricerca sulle colture arboree nel Lazio – Viterbo, 23 Aprile 2013 Atti: 44-46.

CABONI E., BIASI R., DELIA G., TONELLI M., 2009. *Effect of CPPU on in vitro axillary shoot proliferation and adventitious shoot regeneration from leaf explants in kiwifruit.* Plant Biosyst. 143: 456 - 461.

CIPRIANI G., TERLIZZI M., BEVILACQUA D., DI CINTIO A., ROSATO T., BOMPARD S., SARTORI A., 2012. *La selezione di genotipi tolleranti a PSA di* A. chinensis *e* A. deliciosa *presso CRA-FRU.* Periodico scientifico Kiwi Informa anno 8° n. 1-3/2012: 44-45.

DAI W., SU Y., CASTILLO C., BESLOT O., 2011. *Plant regeneration from in vitro leaf tissues of* Viburnum dentatum *L. Plant Cell Tiss.* Organ Cult. 104: 257–262.

FERRANTE P. E SCORTICHINI M., 2010. *Molecular and phenotypic features of* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *isolated during recent epidemic of bacterial canker on yellow kiwifruit* (Actinidia chinensis) *in central Italy.* Plant Pathol. 59(5): 954-962.

FERRANTE P. E SCORTICHINI M., 2014. *Frost promotes the pathogenicity of* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *in* Actinidia chinensis *and* A. deliciosa *plants.* Plant Path. 63: 12–19.

MAZZAGLIA A., STUDHOLME D.J., TARATUFOLO M.C., CAI R., ALMEIDA N.F., GOODMAN T., GUTTMAN D.S., VINATZER B.A., BALESTRA G.M., 2012. Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae *(PSA) Isolates from Recent Bacterial Canker of Kiwifruit Outbreaks Belong to the Same Genetic Lineage.* PLoS ONE 10.1371/journal.pone.0036518.

MCNEILAGE M.A., FRASER L.G., TSANG G.K., DATSON P.M., DE SILVA H.N., CROWHURST R.N., FERGUSON A.R., 2011. *Molecular genetics and genomics and kiwifruit breeding*. Acta Hort. 913:63-70

MURASHIGE T. E SKOOG F., 1962. *Revised Medium for rapid growth and bioassay with Tobacco Tissue Culture.* Physiol. Plant. 15:473-497.

PRADO M.J., GONZALES M.V., ROMO S., HERRERA M.T., 2007. *Adventitious plant regeneration on leaf explants from adult male kiwifruit and AFLP analysis of genetic variation.* Plant Cell Tiss. Organ Cult. 88: 1-10.

SCORTICHINI M., E CIPRIANI G., 2012. *Struttura genomica, epidemiologia e miglioramento genetico per la resistenza.* Frutticoltura, supplemento al n. 9/2012: 26-31.

SCORTICHINI M., MARCELLETTI S., FERRANTE P., PETRICCIONE M., FIRRAO G., 2012. Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae: *a re-emerging, multifaceted, pandemic pathogen.* Mol. Plant Pathol. 13(7): 631-640.

VANNESTE J.L., 2013. *Recent progress on detecting, understanding and controlling* Pseudomonas syringae *pv.* actinidiae: *a short review.* New Zeal. Plant Protect. 66:170-

Rosario Muleo

Marco Cirilli

C. Iacona

NUOVI CLONI DI *A. DELCIOSA* GENERATI DALLA CV HAYWARD TRAMITE VARIAZIONE SOMACLONALE *IN VITRO*

R. Muleo(1), C. Iacona(2), F. Loreti(2), M. Cirilli(1)
(1) Laboratorio di Ecofisiologia Molecolare e Biotecnologie delle Piante Arboree
Dipartimento di scienze e tecnologie per l'Agricoltura, le Foreste, la Natura e l'Energia
Università della Tuscia, Viterbo, Italia
(2) Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali, Università di Pisa, Pisa, Italia
muleo@unitus.it

La coltura di tessuti indifferenziati in vitro è stata impiegata per ottenere varianti somaclonali della cv Hayward di *Actinidia deliciosa.* Per indurre e selezionare eventi di mutazioni sono stati impiegati carboidrati di sintesi recanti gruppi metilici, amminici e alcolici. Dall'insieme dei putativi varianti ottenuti sono stati selezionati individui con caratteri agronomici e produttivi interessanti. La presenza di mutazioni nei varianti è stata confermata con tecniche molecolari quali, sistemi PCR-random e sistemi di ibridazione Southern. I caratteri modificati riguardavano quelli morfologici, dello sviluppo della pianta, della fenomenologia della fioritura e della fruttificazione, e quelli all'adattamento a condizioni ambientali avverse. Piante di ciascun variante, recante caratteristiche positive, sono state poste in due campi sperimentali, uno del DCDSL dell'Università di Pisa e l'altro della CO.N.VI. Vivai, Brisighella (RA), per la valutazione agronomica del fenotipo. La propagazione delle piante e il mantenimento della loro stabilità genetica è stata condotta in collaborazione con Battistini Vivai, Martorano (Cesena).

Alcuni varianti sono oggetto di studio, come portinnesti per il controllo della vigoria sia della cv Hayward sia delle cvs di *A. chinensis,* come piante auto radicate o portinnesti per la loro capacità di resistere stress idrico e/o salino, e altre avversità.

Due dei varianti sviluppano un fiore singolo per nodo e producono un frutto con una pezzatura, dimensione e peso superiore a quello della cv Hayward. Inoltre, l'accumulo dei solidi solubili totale è diverso, ed allorché posti alle condizioni di frigoconservazione hanno una ridotta perdita di peso fresco. Il variante 40NMG, con il nome di *Tuscia,* è stato oggetto di privativa ed è già commercializzato, mentre un variante, con il nome di *Tuscan,* è in corso di richiesta di privativa.

Davide Neri

Michele Bravetti

Serena Polverigiani

Danilo Ceccarelli

Carolina Talento

Stefano Vocca

EFFETTI FISIOLOGICI DI RETI ANTIGRANDINE FOTOSELETTIVE SU ACTINIDIA

PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF PHOTOSELECTIVE ANTI-HAIL NETS ON KIWIFRUIT

D. Neri(1), M. Bravetti(2), S. Polverigiani(3), D. Ceccarelli(1), C. Talento(1), S. Vocca(4)
(1) Centro di Ricerca per la Frutticoltura, CRA-FRU, Roma
(2) Agronomo libero professionista, Senigallia (AN)
(3) Dip. di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università Politecnica delle Marche, Ancona
(4) Agritenax srl, Eboli (SA)
davide.neri@entecra.it ▪ danilo.ceccarelli@entecra.it

Paole chiave: Hayward, G3, fotosintesi, scambi gassosi, disponibilità luminosa
Key words: Hayward, G3, photosyntesis, gas exchange, light availability

ABSTRACT

The aim of the present research was to verify the effects on tree physiology during the season and fruit quality at harvest of photo-selective anti-hail nets. The study was carried out in Latina on two different orchards: i) 7-year-old "Hayward" and ii) "G3" grafted in 2013 and 2014 on Hayward rootstock. A yellow photo-selective anti-hail net was compared with a neutral net. Net colour influenced significantly light availability, tree growth and fruit production, while it did not affect photosynthetic rate per unit of leaf surface. Hayward showed shorter internodes and higher number of fruit under yellow net. Yellow net appeared to be interesting even because it allowed a higher dry matter accumulation in the fruit.

RIASSUNTO

L'obiettivo del presente lavoro è quello di valutare gli effetti di reti antigrandine fotoselettive sulla fisiologia della pianta, e sulla qualità delle produzioni in actinidia.

In provincia di Latina le prove sono state condotte in due frutteti: un impianto di varietà Hayward al settimo anno in piena produzione, ed uno innestato nel 2013 e nel 2014 con la varietà G3 su portinnesto Hayward. In entrambi i campi, le reti fotoselettive gialle sono state messe a confronto con reti neutre tradizionali.

Le reti hanno influenzato la disponibilità di luce, lo sviluppo della pianta e la produzione in modo significativo, mentre differenze non si sono riscontrate sull'attività fotosintetica delle singole foglie.

Sotto rete gialla, Hayward ha mostrato internodi più corti ed un maggior numero di frutti a fronte di una pezzatura dei frutti non differente e maggiore contenuto id sostanza secca.

INTRODUZIONE

La copertura con reti antigrandine è pratica frequente negli actinidieti. Le reti fotoselettive hanno colori specifici capaci di influire sulle prestazioni fisiologiche e vegeto/riproduttive della pianta (Basile *et al.* 2008 e 2012; Shahak *et al.* 2004 a,b e 2008; Solomakhin e Blanke 2008). Le reti fotoselettive chiare (giallo, perla) presentano fattori di ombreggiamento simili alle reti neutre (filo trasparente), ma esercitano una selezione specifica dello spettro luminoso tale da migliorare la capacità fotosintetica delle piante coperte (Bravetti *et al.* 2012 e 2013). Le reti antigrandine fotoselettive possiedono inoltre additivi specifici che aumentano la resistenza meccanica del filato e la tenuta del colore, secondo standard simili a quelli delle reti antigrandine nere. In generale, le reti chiare offrono un buon compromesso tra luce disponibile per la pianta (elevata trasmittanza), protezione dagli eventi meteorici (grandine, vento) e influenza su temperatura (maggiore escursione termica) e umidità relativa (Solomakhin e Blanke 2008). Va sottolineato che consentendo un irraggiamento elevato è possibile stimolare la traspirazione dei frutti durante le prime settimane dopo l'allegagione e di conseguenza migliorare la trasmigrazione del calcio, con aumento della serbevolezza dei frutti (Montanaro *et al.* 2006, Montanaro *et al.* 2010). Obiettivo del presente lavoro è stato quello di valutare l'influenza di rete fotoselettiva gialla su piante di actinidia a polpa verde *(Actinidia deliciosa)* cv. Hayward e a polpa gialla *(Actinidia chinensis)* cv. G3.

MATERIALI E METODI

La prova è stata condotta in provincia di Latina su due actinidieti a tendone con sesto 5x2,5 m con un impollinatore ogni 5 piante produttive in tutte le file. Il primo impianto, a dimora dal 2008 ad Aprilia, è costituito da Hayward in piena produzione coperta con reti antigrandine dal 2009. Il secondo impianto, in località Sermoneta, è costituito da piante vigorose di Hayward (portinnesto con almeno due branche) innestate in due tempi (una branca per anno nel 2013 e 2014) con varietà G3. In quest'ultimo impianto, messo a dimora nel 2006, la precedente varietà innestata, Hort16A, è stata sostituita a causa di problemi fitosanitari. Nell'anno oggetto della prova gli innesti del 2013 risultavano produttivi, quelli del 2014 risultavano ancora vegetativi. In questo actinidieto la copertura antigrandine è stata installata nel 2010. Entrambi i campi, omogenei e di grande estensione, presentano due coperture antigrandine: reti neutre e reti fotoselettive gialle. La rete antigrandine neutra con maglia 3x7 mm è stata individuata come tecnica di riferimento dell'area, ed utilizzata nella prova come controllo a confronto con reti antigrandine fotoselettive gialle con maglia 2,4x4,8 mm. Lo schema sperimentale è basato su grandi parcelle con superfici mai inferiori a 1500 m^2 per trattamento all'interno delle quali sono state individuate 5 repliche composte da 3 piante produttive cadauna. In entrambi gli actinidieti sono state adottate tecniche colturali, compreso il piano di irrigazione, comuni per i due trattamenti in prova.

Ogni rilievo fogliare ha interessato 3 foglie per ciascuna delle 3 piante di ogni replica.

Nell'actinidieto innestato con G3, per la disomogeneità dovuta al diverso anno d'innesto, si è optato per effettuare misurazioni separate sui germogli derivanti dall'innesto del 2013 e del 2014. Sulle piante in prova sono stati rilevati gli scambi gassosi utilizzando un analizzatore portatile ad infrarosso (LCpro+ ADC, UK). La fotosintesi netta e la traspirazione sono state misurate in data 21 luglio e 22 agosto 2014. Dal rapporto fra fotosintesi netta e traspirazione è stato ricavato il valore di efficienza d'uso dell'acqua (WUE). Con la stessa strumentazione è stato misurato il flusso di fotoni fotosinteticamente attivi (PPF). I rilievi sono stati operati tra le 9.00 e le 11.30 nel campo di G3 e tra le 13.00 e le 15.30 nel campo di Hayward. Nelle stesse date è stato rilevato l'indice SPAD utilizzando il colorimetro Minolta che fornisce misure con una scala continua progressiva da 0 a 100 (unità SPAD) del contenuto di clorofilla delle foglie. Tre foglie integre e perfettamente distese sono state prelevate su tre piante per replica. La superficie delle foglie è stata misurata con LI-3100C Area Meter (LiCor,Inc, Nebraska USA) e il peso fresco e secco con bilancia di precisione. Nel mese di ottobre sono stati campionati 100 frutti per trattamento dalle piante oggetto dei rilievi precedenti. I frutti campionati sono stati avviati al laboratorio per la determinazione della durezza della polpa, peso e calibro del frutto, sostanza secca, contenuto in solidi solubili con l'uso di un rifrattometro digitale (Refracto 30PX Mettler-Toledo, Greifensee CH) e colore della polpa misurata con Chroma Meter CR 200 (Konica Minolta Inc, Tokyo Japan). Su tre piante per trattamento sono stati contati i frutti totali presenti. Nel mese di novembre, dopo la raccolta, è stata infine misurata la lunghezza dei

tralci, il numero di gemme presenti e calcolata la lunghezza media dell'internodo.
I dati sono stati analizzati statisticamente secondo il test t di Student con un livello di significatività p=0.05 utilizzando il software Jmp 9 (SAS Institute Inc., Cary, NC).

RISULTATI E DISCUSSIONE

In entrambi i campi, sotto rete gialla è stata riscontrata una minor luce disponibile (PPF) rispetto alla rete neutra, tale differenza è apparsa più marcata nel campo di G3 (circa - 10%) *(Fig 1)*.
In effetti la rete fotoselettiva gialla ha in genere un ombreggiamento paragonabile alla rete neutra (circa 4%), ma con una fittezza della maglia maggiore può intercettare fino al 30% di luce in più (durante la giornata a seconda della inclinazione del sole e del tipo impianto di copertura).
Tuttavia la fotosintesi netta sotto rete gialla non ha mostrato differenze significative rispetto a quella sotto rete neutra in entrambe le località *(Fig 2)*.

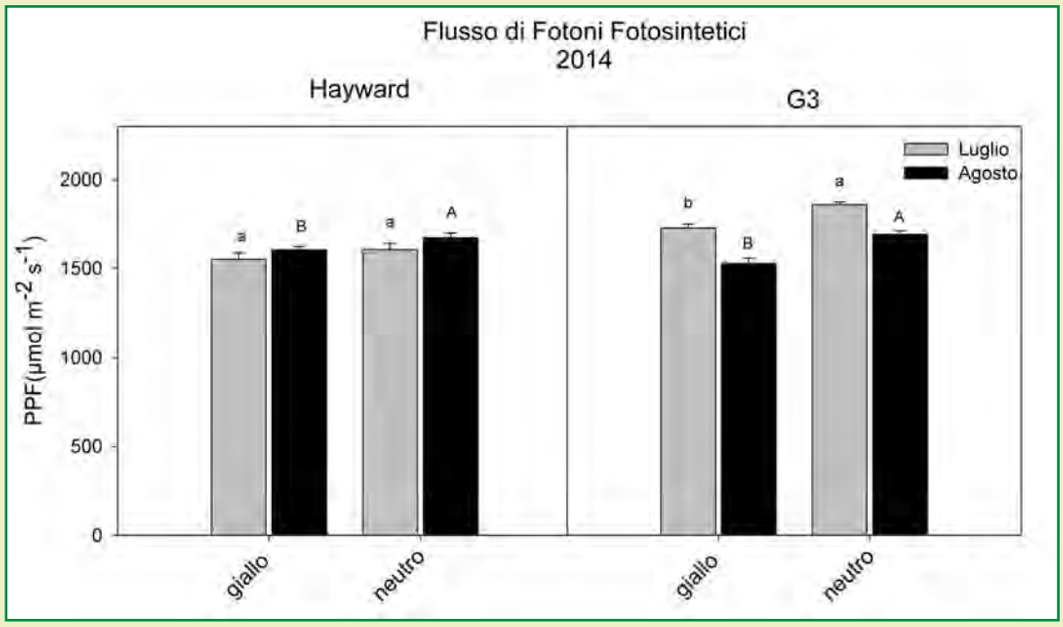


Fig. 1 *Flusso di fotoni fotosintetici (ppf) nell'estate 2014. Le barre rappresentano medie ± errore standard. A parità di data di rilievo lettere diverse indicano differenze significative tra trattamenti (test di Tukey, p<0,05).*

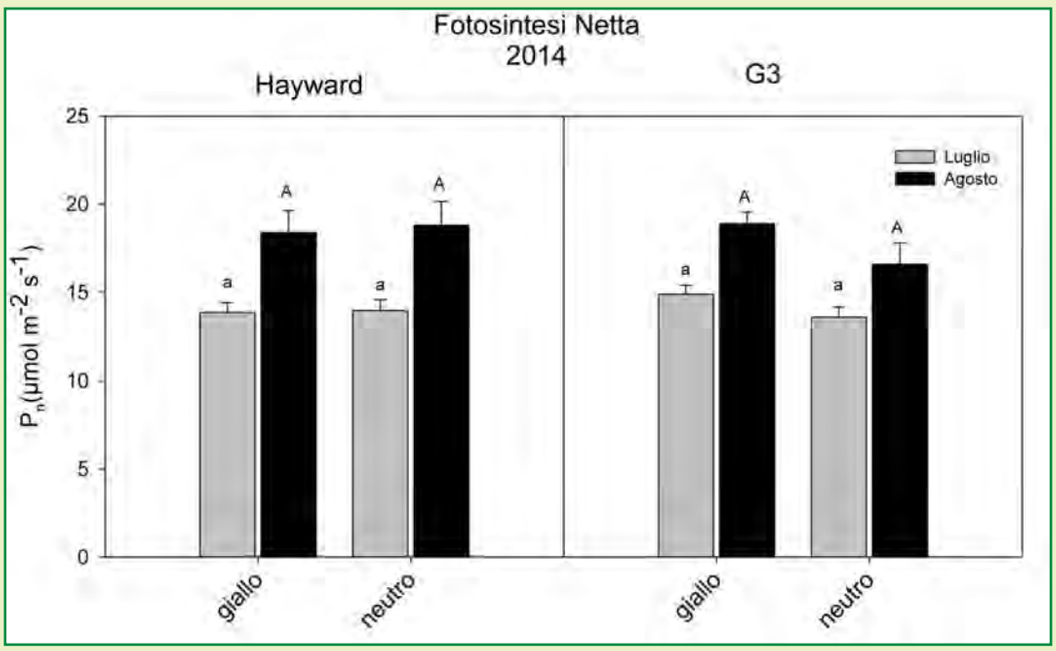


Fig. 2 *Fotosintesi netta nell'estate 2014. Le barre rappresentano medie ± errore standard. A parità di data di rilievo lettere diverse indicano differenze significative tra trattamenti (test di Tukey, p<0,05).*

Si può ipotizzare che lo spettro della luce trasmessa dalla rete fotoselettiva sia di miglior qualità (con maggiore presenza di fotoni attivi nel rosso) e abbia un'influenza positiva sulla capacità fotosintetica in quanto ad un minor irraggiamento complessivo non corrisponde una diminuzione dell'attività fotosintetica. Anche per ciò che riguarda l'efficienza dell'uso dell'acqua non si sono riscontrate differenze tra trattamenti in alcuna delle date di rilievo *(Fig 3)*.
Questo sembra confermare che gli scambi gassosi sono comunque elevati sotto rete gialla con possibili favorevoli ripercussioni sulla serbevolezza dei frutti. Il colore della rete non ha influenzato il peso e il diametro dei frutti *(Fig 4 e 5)*, ma sotto rete gialla sono stati contati un maggior numero di frutti per pianta *(Tab.1)* e rilevata maggiore durezza e colore nei kiwi gialli G3 *(Fig 6 e 7)*. I frutti di Hayward campionati sotto rete gialla hanno avuto un maggior contenuto percentuale in sostanza secca, pur se non significativo *(Tab1)*.

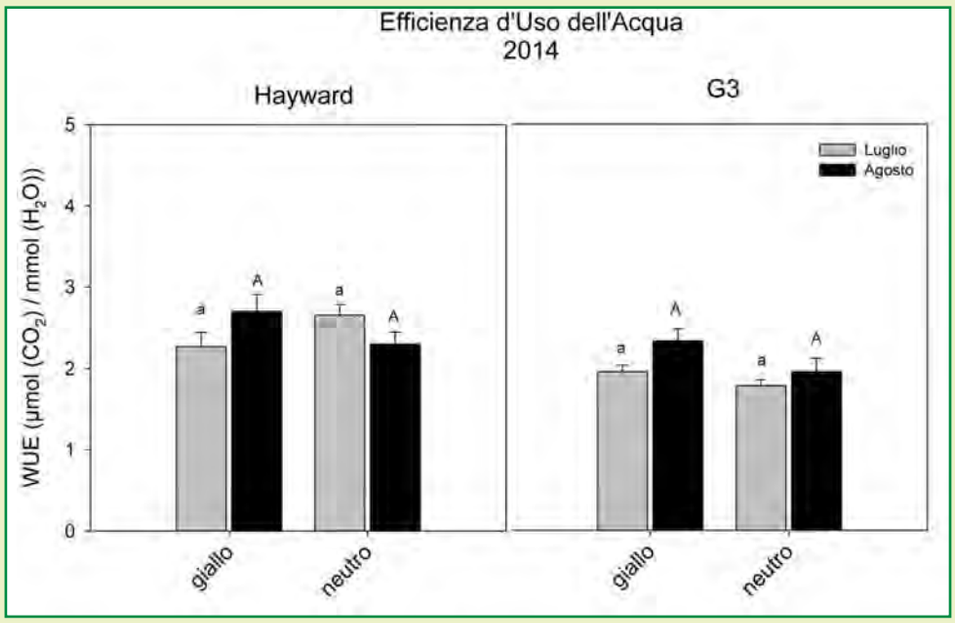


Fig. 3 *Efficienza nell'uso dell'acqua. Le barre rappresentano medie ± errore standard. A parità di data di rilievo lettere diverse indicano differenze significative tra trattamenti (test di Tukey, p<0,05).*

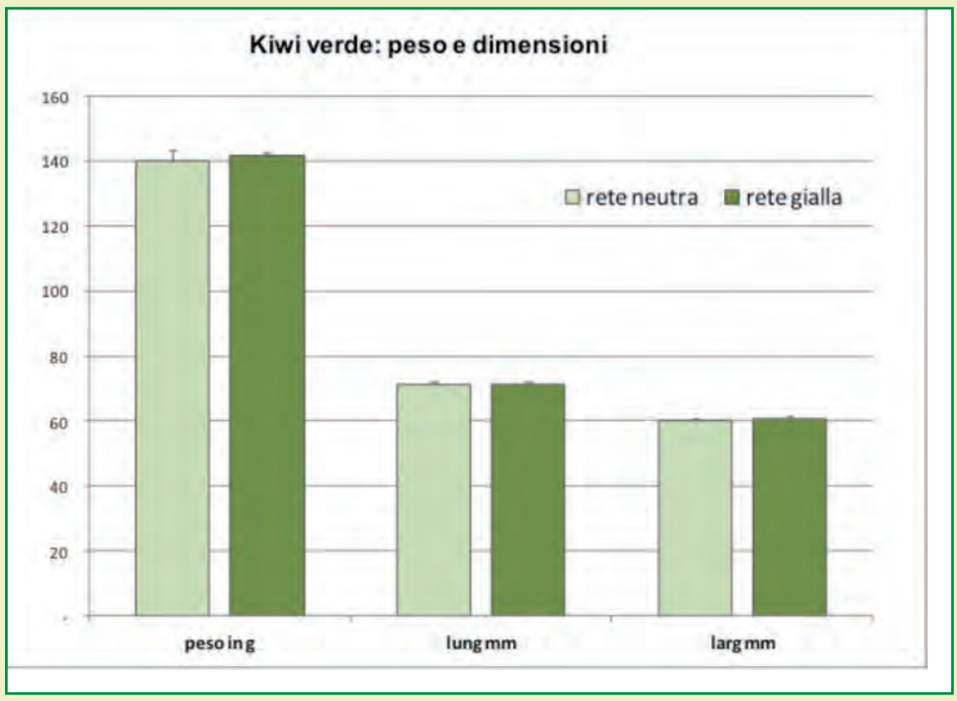


Fig. 4 *Peso e dimensioni dei frutti di Hayward. Le barre rappresentano medie ± errore standard.*

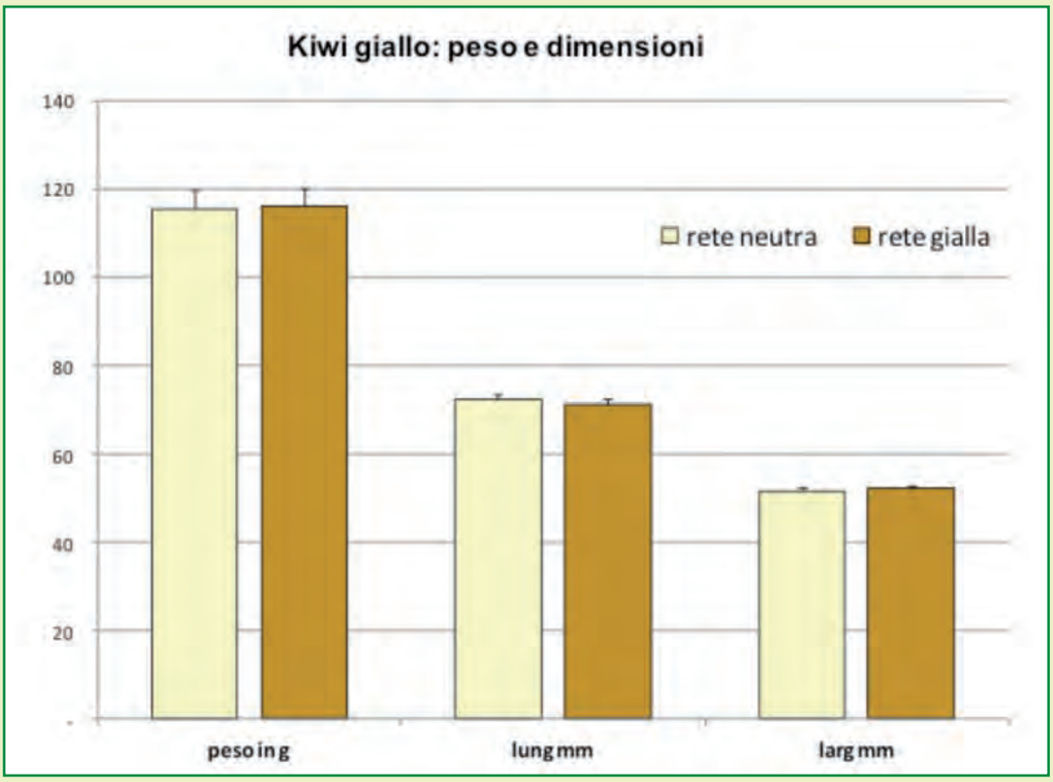


Fig. 5 *Peso e dimensioni dei frutti di kiwi giallo G3. Le barre rappresentano medie ± errore standard.*

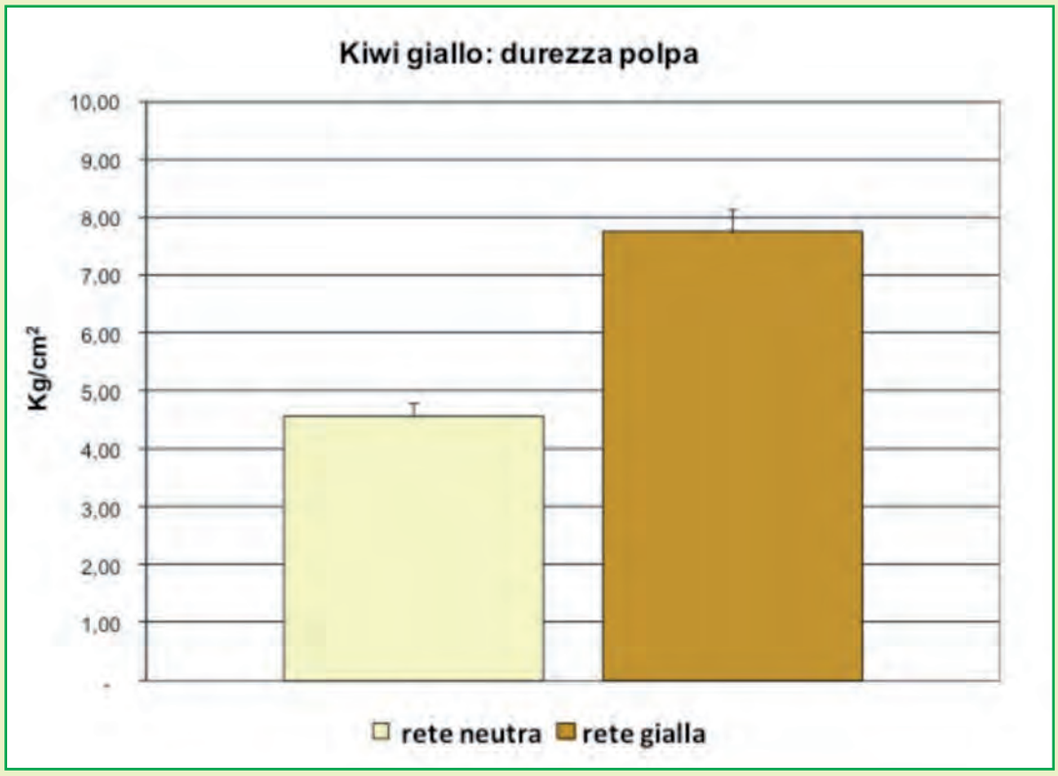


Fig. 6 *Durezza della polpa dei frutti di kiwi giallo G3. Le barre rappresentano medie ± errore standard. Le differenze risultano significative (test di Tukey, p<0,05).*

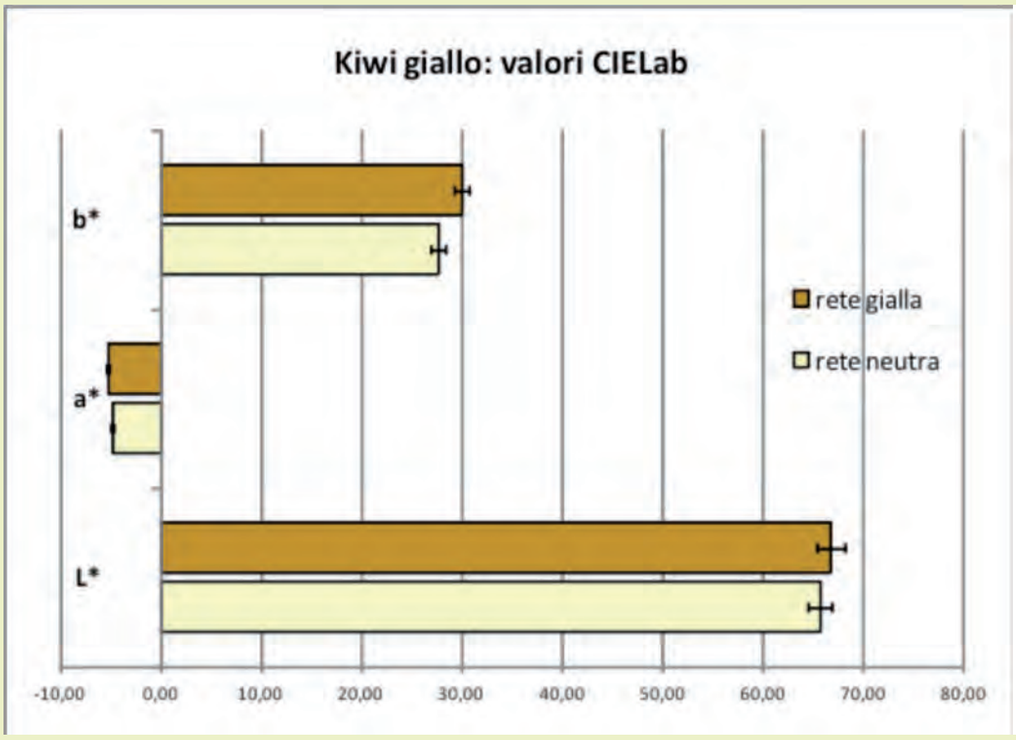


Fig. 7 *Valori CIELab della polpa di kiwi giallo G3. Le barre rappresentano medie ± errore standard. Le differenze risultano significative per il parametro b*, coordinata blu-giallo (test di Tukey, p<0,05).*

Tab. 1 *Numero di frutti e sostanza secca nel frutto di Hayward. I valori rappresentano la media di 15 piante per ogni trattamento ± err.st.*

Hayward		
Parametro	Rete gialla	Rete neutra
Numero frutti a pianta	728 ± 51	560 ± 60
Sostanza secca (metodo NIR)	15.5% ± 0.2	15.0% ± 0.3

Tab. 2 *Sviluppo vegetativo delle Cv Hayward e G3. I valori rappresentano la media di 15 piante per ogni trattamento ± err.st. Lettere differenti per ciascuna CV indicano differenze significative legate al trattamento secondo il test T di Student (p<0.05).*

Parametro	**Hayward** rete gialla	**Hayward** rete neutra	**G3** rete gialla	**G3** rete neutra
Lunghezza internodo (cm)	7.2 ± 0.6 a	7.4 ± 1.0 a	n.d.	n.d.
Indice SPAD	57.7 ± 0.8	57.9 ± 0.8	43.1 ± 0.4	45.3 ± 0.4
Peso secco fogliare (g)	1.6 ± 0.11 b	2.0 ± 0.12 a	3.53 ± 0.17 a	3.78 ± 0.19 a
Superficie fogliare (cm^2)	133.2 ± 6.2 a	146.9 ± 4.3 a	213.9 ± 11.0 a	234.5 ± 12.0 a
Densità fogliare (g/cm^2)	0.012±0.00 a	0.013±0.00 a	0.017±0.00 a	0.016±0.00 a
Calibro del tralcio a 30 cm dal punto d'innesto (cm)	n.d.	n.d.	1.75 ± 0.07	1.84 ± 0.04

CONCLUSIONI

Le reti antigrandine fotoselettive gialle sono sempre più utilizzate per proteggere l'actinidia. In effetti la rete gialla, pur essendo caratterizzata da un fattore di ombreggiamento uguale o leggermente superiore rispetto alla rete neutra, anche a seguito di una maggior densità delle maglie, ha mostrato di non limitare la capacità di scambi gassosi ed in particolare l'attività fotosintetica. L'attività fotosintetica si è tradotta in una maggiore fissazione del carbonio in sostanza secca o zuccheri sotto rete gialla. Infatti, nella presente prova ad attività fotosintetiche non dissimili fra le due tipologie di reti con stessa pezzatura, si è avuto sotto rete gialla un maggior sviluppo vegetativo e un numero di frutti più elevato per il kiwi verde e qualità dei frutti superiore per il kiwi giallo. La scelta tecnica di utilizzare reti gialle non sembra solo motivata da una migliorata resistenza del materiale rispetto a reti neutre tradizionali ma anche da una maggiore efficienza del sistema produttivo.

RINGRAZIAMENTI

Lavoro svolto con la collaborazione tecnica di Apofruit Aprilia (LT) e di Agritenax Eboli (SA).
Alle quali si deve il più vivo ringraziamento.

BIBLIOGRAFIA

BASILE B. *et al.* 2008. *Use of Photo-Selective Nets for Hail Protection of Kiwifruit Vines in Southern Italy.* Acta Hort. 770: 185-192.

BASILE B. *et al.* 2012. *Use of Photo-Selective Nets for Hail Protection of Kiwifruit Vines in Southern Italy.* Scientia Horticulturae, 91-97.

BRAVETTI M. *et al.* 2012. *Reti fotoselettive in frutteto: aumentano fotosintesi e qualità.* L'informatore agrario, 42: 55-58.

BRAVETTI M. *et al.* 2013. *Reti fotoselettive: effetti positivi sull'uva da tavola.* L'informatore agrario 47: X-XV.

MONTANARO *et al.*, 2006. *Light influences transpiration and calcium accumulation in fruit of kiwifruit plants.* Plant Science 170: 520-527.

MONTANARO *et al.*, 2010. *Significance of fruit transpiration on calcium nutrition in developing apricot fruit.* Journal of Plant Nutr. Soil Sci. 173: 618-622.

SHAHAK Y., 2008. *Photo-Selective Netting for Improved Performance of Horticultural Crops.* Acta Hort. 770: 161-168.

SHAHAK Y. et al. 2004a. ColorNets: a new approach for light manipulation in fruit trees. Acta Hort. 636: 609-616.

SHAHAK Y. *et al.* 2004b. ColorNets: *Crop Pro-tection and Light-Quality Manipulation in One Technology.* Acta Hort. 659: 143-151.

SOLOMAKHIN A. AND BLANKE M.M., 2008. *Coloured hailnets alter light transmission, spectra and phytochrome, as well as vegetative growth, leaf chlorophyll and photosynthesis and reduce flower induction of apple Plant Growth Regulator,* 56: 211–218.

Giovanni Fiori

Guglielmo Costa

MONITORAGGIO DELLA MATURAZIONE DEI FRUTTI DI KIWI IN PIANTA DELLA CULTIVAR DORÌ E DEFINIZIONE DEL MOMENTO OTTIMALE DI RACCOLTA CON L'UTILIZZO DEL KIWI-METER

MONITORING KIWIFRUIT MATURITY IN PLANTA FOR THE CULTIVAR DORÌ AND DEFINITION OF THE OPTIMAL HARVEST TIME WITH THE

G. Fiori, G. Costa
Dipartimento di Scienze Agrarie, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna
guglielmo.costa@unibo.it

Paole chiave: maturazione, Kiwi-meter, raccolta, Dorì, colore

ABSTRACT

The assessment of the fruit maturity stage is essential as it establish the optimal harvest time, considered to be crucial to defined the overall quality and the length of the fruit storage-life. However, fruits from the cv. A. chinensis *are traditionally harvest with a value of color of 103 H° equivalent to a intense yellow flesh color, which is measured with a colorimeter at the last phase of the maturity process, however this is a destructive method. New technology based on the Near Infrared Spectroscopy (NIRs) known as Kiwi-meter, is a non-destructive device and allow to monitoring fruit color development to better defined the optimal harvest day. The present research work show the results for the monitoring of the kiwifruit maturity in planta on real time and the optimal harvest day performed for three consecutive years for the innovative cultivar Dorì. Fruit maturity was expressed as DAindex™ (Index of Absorbance Difference) equivalent to a value 103 H°, when 'Dorì' fruits show an intense yellow flesh color and present the best quality.*

INTRODUZIONE

Lo stadio di maturazione raggiunto alla raccolta è estremamente importante poiché influenza la qualità finale dei frutti di *Actinidia chinensis* e il raggiungimento delle caratteristiche di colore, sapore e aroma che ne determinano l'accettabilità da parte dei consumatori (Costa *et al.* 2011).

Ne consegue che lo stadio di maturazione deve essere determinato con grande precisione attraverso protocolli rigorosi, adeguati allo scopo. In *Actinidia chinensis*, la raccolta viene stabilita sulla base di parametri distruttivi quali colore, consistenza della polpa, contenuto di solidi solubili e sostanza secca. Per quanto riguarda il colore del mesocarpo è stato individuato che 103° Hue circa corrispondono al viraggio del colore della polpa da verde a giallo dorato e che tale livello garantisce il raggiungimento di una elevata qualità dei frutti (Noferini *et al.* 2009). Questa misura anche se semplice è distruttiva, può essere eseguita solo su un campione costituito da un numero limitato di frutti spesso non rappresentativo della variabilità presente in pianta o in una partita. L'introduzione di strumentazioni che non richiedono la distruzione del campione di frutti potrebbe migliorare la bontà della determinazione dello stadio effettivo di maturazione consentendo anche la ripetizione della misura sugli stessi frutti. Tra le tecniche non distruttive attualmente disponibili, l'utilizzo del Kiwi-meter basato sulla spettroscopia nel visibile/vicino infrarosso, (vis/NIR) è considerata particolarmente promettente (Costa *et al.* 2011). Si riportano in questo lavoro i risultati ottenuti con la strumentazione non distruttiva Kiwi-meter utilizzata per il monitoraggio in tempo reale della maturazione dei frutti in pianta e per la definizione del momento ottimale per effettuare la raccolta dei frutti della cv Dorì.

MATERIALI E METODI

Le indagini sono state condotte per un triennio (2012-2014) su di un impianto in produzione della cv Dorì *(Actinidia chinensis)* dell'Università di Bologna. Nei diversi anni è stata monitorata la maturazione dei frutti in pianta con la strumentazione Kiwi-meter, ed espressa come DAindex™, misurato sia sulla parte esterna dei frutti che a 2 mm di profondità del mesocarpo. A ogni campionamento, su 20 frutti, oltre ai valori di DAindex™ sono stati misurati i principali parametri (solidi solubili, durezza e colore della polpa) con le metodologie tradizionalmente adottate.

RISULTATI E CONCLUSIONI

L'andamento della maturazione espresso come DAindex™ nelle ultime fasi prima della raccolta *(Figura 1, Tabella 1),* presenta valori decrescenti che vanno da 1.4 tipici dei frutti non completamente maturi, a valori inferiori a 1.0 che identificano frutti pronti per la raccolta. Nel 2012, è stato osservato un ritardo di maturazione di alcuni giorni a causa dell'andamento stagionale. Dai risultati ottenuti si evidenzia un'alta correlazione (r^2=0,91) tra il colore della polpa determinato con il colorimetro e il DAindex™ interno rilevato sul mesocarpo del frutto *(Figura 2a)*. Altresì, si è osservata una buona correlazione (r^2=0,75) fra il colore della polpa e il DAindex™ rilevato esternamente *(Figura 2b)*.

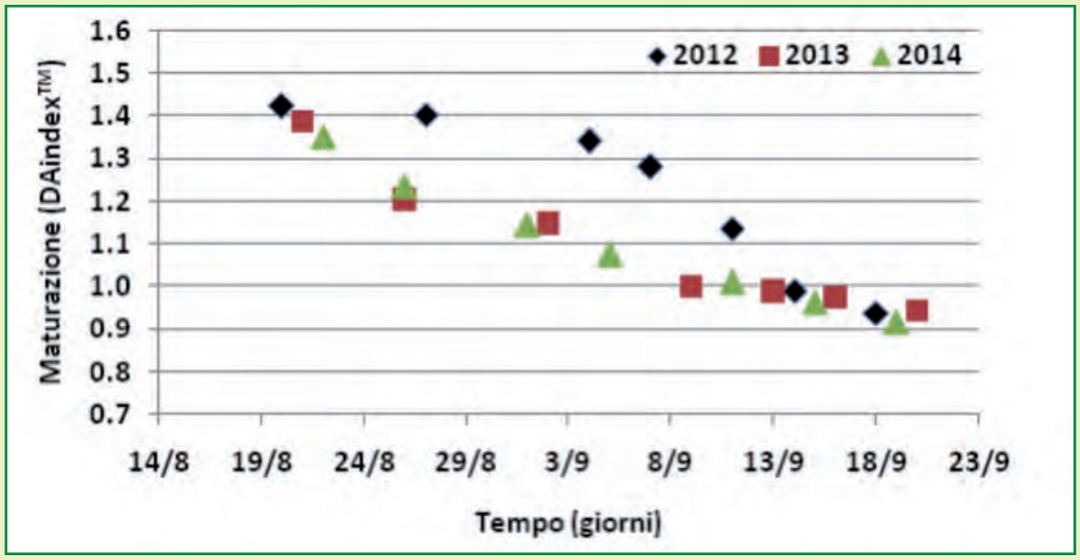


Fig. 1 *Figura 1 Andamento della maturazione espressa come DAindex™ su frutti della cultivar Dorì per le stagioni 2012, 2013 e 2014.*
Fig. 1 *Maturity evolution expressed as DAindexTM values for the 'Dorì' fruits for the seasons 2012, 2013 and 2014.*

Tab. 1 *Evoluzione del DAindex™ esterno e interno, e alcuni parametri di maturazione misurati su una popolazione di 20 frutti, in cinque successive date di campionamento (prima, durante e dopo la raccolta) per la cultivar Dorì per l'anno 2014*
Table 1 *Evolution of the DAindex™ inner and outer, and fruit maturity parameters assessed a population n=20, at five consecutive sampling dates (before, during and after harvest) for the cultivar Dorì on season 2014*

Data	DAindex™ Esterno	DAindex™ Interno	Colore Polpa (H°)	Durezza Polpa (kg/cm²)	Solidi Solubili (Brix)
22/08	1.35	0.51	113	6.5	6.0
26/08	1.24	0.48	107	6.5	6.4
01/09	1.15	0.23	103	6.4	7.0
11/09	1.01	0.13	102	6.5	7.2
15/09	0.97	0.02	101	6.0	7.4
19/09	0.92	0.00	98	5.5	8.0

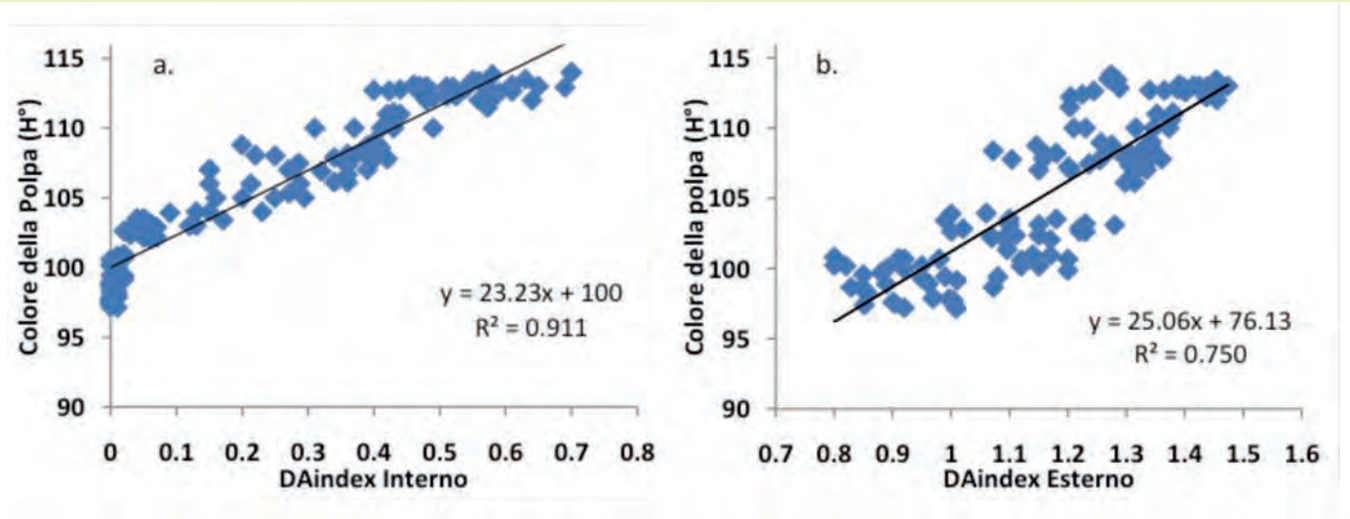


Fig. 2 *Correlazione fra la colorazione della polpa (espressa come H°) e il DAindexTM Interno (a) e il DAindex™ Esterno (b) in frutti della cultivar Dorì.*
Fig. 2 *Correlation between flesh color (expressed as H°) and the inner DAindexTM (a) and the outer DAindex™ (b) on fruits of the cultivar Dorì.*

In virtù dell'elevata correlazione osservata tra DAindex™ interno e il colore della polpa determinato con il colorimetro, la misura dell'indice potrebbe sostituire quella del colore (H°) utilizzata oggi come parametro di riferimento.
Questi risultati confermano il possibile utilizzo del Kiwi-meter come strumentazione non distruttiva per il monitoraggio della maturazione in pianta e per la previsione del momento di raccolta ottimale. Per quanto riguarda la cultivar Dorì, si può affermare che il valore ottimale di DAindex™ alla raccolta cade nell'intervallo compreso tra 1.2 e 1.0.

BIBLIOGRAFIA

COSTA G., BONORA E., FIORI G. AND NOFERINI M., 2011. *Innovative non-destructive device for fruit quality assessment.* Acta Hort. 913: 575-581.

NOFERINI M., PICCININI L., BONORA E., FIORI G., COSTA G., 2009. Il *DA-meter, una strumentazione non distruttiva per determinare il momento di raccolta e lo stadio di maturazione dei frutti di* Actinidia deliciosa *ed* Actinidia chinensis. Italus Hortus 16 (5): 297-300.

Gianni Tacconi

Ottavio Cacioppo

Graziano Vittone

CONFRONTO DI DIVERSI SISTEMI DI IMPOLLINAZIONE E SCELTA DELLO STADIO FIORALE OTTIMALE IN RELAZIONE ALLA TIPOLOGIA DI IMPOLLINAZIONE IN ACTINIDIA

KIWIFRUIT POLLINATION: THE INTERACTION BETWEEN POLLEN QUALITY, POLLINATION SYSTEMS AND FLOWERING STAGE

G. Tacconi(1), O. Cacioppo(2), G. Vittone(3)
(1) CRA-GPG Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura, Genomics Research Centre Via S. Protaso, 302, CAP I-29017 Fiorenzuola d'Arda, Piacenza, Italy
centrodigenomica.entecra.it/ phone/fax +39 0523 983758/50,
gianni.tacconi@entecra.it
(2) Agronomo, direttore di "Kiwi Informa" (ISSN 2282-2224)
Via Santa Maria, 3351 - Borgo Bainsizza (LT) Italy
(3) CReSO Centro Ricerche per la frutticoltura,
Via Falicetto, 24 - 12030 Manta, Cuneo, Italy
graziano.vittone@cresoricerca.it ▪ www.cresoricerca.it

Paole chiave: impollinazione a secco, impollinazione in acqua, stadio fiorale
Key words: pollination efficiency, pollination system, pollen quality, flowering stage

ABSTRACT

Nowadays, artificial pollination of kiwifruit flowers is a consolidate technique to increase fruit quality and size. However, pollination efficiency could change depending on the season, the pollen harvesting technique, and the pollination system. A fundamental factor is the relation between the floral stage and the pollination system. Many parameters were analyzed separately and comprehensive analysis in different Italian environments for many years, such as pollen quality, pollination system and flowering stage. High quality pollen is the foundation for good results. In our research, germinability and humidity were evaluated under different conditions of pollen harvesting. We evaluated the pollination efficiency by using different pollination equipments and systems, such as dry pollination with pure pollen

or diluted with Licopodium spores, liquid pollination in water suspension (fig. 1). *The interaction of the pollination systems and the flowering stage were also evaluated, which is the aim to understand the best flowering stage in relation to the pollination system (dry and liquid). During the pollination period, the flowers were labeled according to their flowering stage and the fruits size were measured in late maturing stage. The result showed that the petals fall and full bloom-early petal fall stage is the best for dry pollination and liquid pollination, respectively* (fig. 2).

INTRODUZIONE

Il presente lavoro riassume la sperimentazione effettuata negli ultimi anni a riguardo della impollinazione di supporto dell'actinidia. Tale pratica, infatti, non sempre risulta avere la massima efficacia ma può dare risultati diversi a seconda dell'annata o del sistema di impollinazione utilizzato: una delle cause potrebbe essere la scelta del momento di intervento (stadio fiorale) in relazione alla tipologia di impollinazione. Inizialmente sono stati confrontati, nelle medesime condizioni, in un campo a blocchi randomizzati, diversi metodi e macchine per l'impollinazione (Tacconi *et. al.*, 2013). Successivamente i sistemi risultati più efficaci sono stati testati in due annate successive in tre areali diversi al fine di individuare il momento migliore di intervento, ovvero lo stadio fiorale, in relazione al metodo di impollinazione utilizzato, a secco o in liquido (Cacioppo *et al.*, 2014).

MATERIALI E METODI

La sperimentazione è stata eseguita su *Actinidia deliciosa* cultivar Hayward. Nella prova di confronto dei sistemi di impollinazione fatta a Cuneo nel 2009, l'impollinazione stata effettuata con il 90% di fiori allo stadio di caduta petali (con pistilli bianchi) alla dose di 600 g di polline per ettaro con un solo passaggio di distribuzione. Il disegno sperimentale era a blocchi randomizzati con 3 ripetizioni per tesi. La prova è stata fatta con: distributore a secco modello spalleggiato a batteria Speedy (Dell'Agata, Forlì) con l'uso di polline di licopodio miscelato al polline di actinidia in proporzione 55%/45% (operatività 4 h/ha); distribuzione a secco con polline puro con macchina SoffiaPolline (Biotac, Verona; operatività 4 h/ha); pompa a spalle elettrica (12V) modello Hozelok (detta Briciola) dotata di pompa a membrana per impollinazione in acqua (operatività 4 h/ha); distribuzione meccanica in acqua con l'impollinatrice Gerbaudo (Cuneo), portata dal trattore (operatività di circa 2 ore/ha), avente ugelli tipo *fogger*. Nella distribuzione in acqua la miscela era costituita da 12 g/l di polline in acqua deionizzata a cui è stato aggiunto l'attivatore Pollen Aid (Nuova Zelanda) alla dose di 5mN. Il ruolo del licopodio nella impollinazione a secco è stato valutato nel 2013 a Verona confrontando i 2 sistemi di impollinazione a secco citati con e senza licopodio aggiunto: il disegno sperimentale era costituito da 3 tesi ovvero 2 filari impollinati con il sistema SoffiaPolline con polline puro, 2 filari impollinati con SoffiaPolline con la miscela polline-

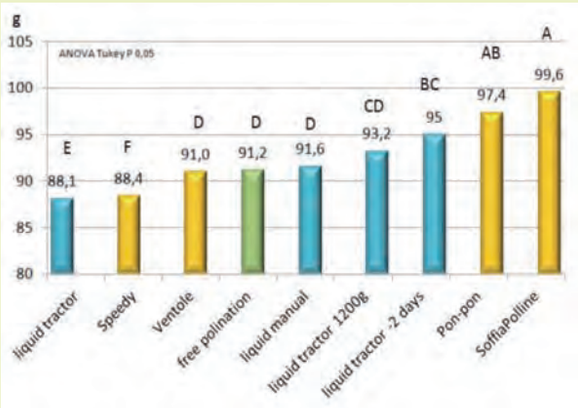


Fig. 1 *Peso medio dei frutti nella prova di impollinazione al 90% di caduta petali (1 passaggio).*
Fig. 1 *Average weight of the fruit obtained with one pollen distribution with 90% of flower without petals.*

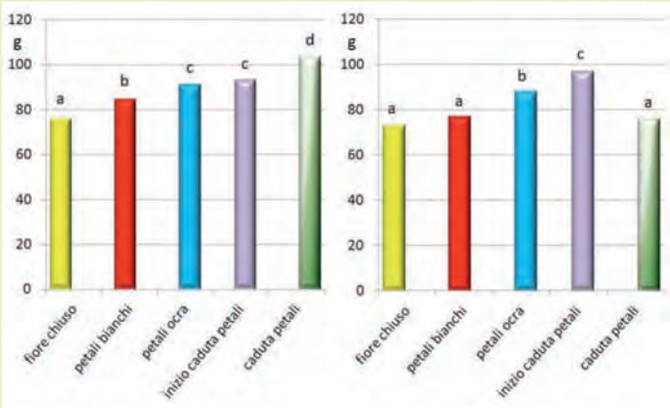


Fig. 2 *Pesi medi dei frutti ottenuti con il sistema di impollinazione a secco (a sinistra) e a liquido (a destra) con un'unica applicazione.*
Fig. 2 *Average weights of the fruits pollinated by dry pollination system (left) and by liquid pollination system (right) with one application.*

licopodio e 2 filari impollinati con impollinatore Speedy con la miscela polline-licopodio.
Successivamente i sistemi di impollinazione risultati più efficaci nelle prove di Cuneo, sono stati testati in 2 annate successive in tre areali diversi: Verona, nel 2011 e 2012 (allevamento a pergoletta), a Cuneo, nel 2010 (allevamento a pergoletta) ed a Latina nel 2011 (allevamento a tendone). Risultano quindi presenti tutti i fattori che possono influenzare l'impollinazione ed in generale la coltivazione: diverse condizioni climatiche, sistema di allevamento e sistema di impollinazione. Inoltre, in un caso sono presenti due annate con andamento climatico e della fioritura estremamente diversi. L'impollinazione a secco è stata effettuata con SoffiaPolline a Verona, a Cuneo ed a Latina (1 passaggio da 400g/ha, circa 10 filari), campionamento di 2 blocchi di 5 m di pergola su due lati per ogni tesi; impollinazione in acqua con macchina mod. Gerbaudo a Cuneo, disegno sperimentale a blocchi randomizzati con 3 ripetizioni per tesi, 2 piante per blocco, dose 600g/ha di polline, 1 trattamento; impollinazione in acqua con irroratrice a batteria, 2 piante per blocco, dose 400g/ha di polline, a Latina.
L'impollinazione è stata effettuata quando erano presenti tutti gli stadi fiorali con un unico passaggio. È stato utilizzato polline con germinabilità superiore al 90% ed umidità del 12%. I fiori sono stati contrassegnati al momento dell'impollinazione applicando un nastrino di plastica colorato con apposita pinza legatrice. I colori utilizzati sono stati: giallo fiore chiuso, rosso fiore aperto con petali bianchi, azzurro fiore aperto con petali ocra, viola fiore a inizio caduta petali, bianco caduta petali completa con pistilli ancora bianchi. La raccolta è stata effettuata a fine ottobre in tutti gli areali, separando i frutti per colore contrassegnato alla fioritura e la calibratura è stata effettuata manualmente misurando il peso dei frutti, sono stati campionati almeno 50 frutti per ogni tipologia di fiore (ANOVA, Tukey P=0,05).

RISULTATI E DISCUSSIONE

L'efficienza dell'impollinazione risulta massima allo stadio di caduta petali con l'applicazione a secco di polline puro (peso medio 103 g), con un guadagno rispetto al fiore chiuso ed al testimone libero impollinato (70g) di circa il 47%. Gli stadi di fiore chiuso e piena apertura dei petali (petali bianchi) sono statisticamente equivalenti e pari al libero impollinato, indicando che l'impollinazione a secco in questi stadi non ha nessun effetto.
L'efficienza dell'impollinazione a liquido ha dato pesi medi di 97 g per fiori allo stadio di petali ocra contro 84 g in quelli allo stadio di caduta petali. Si ha quindi un guadagno di circa il 38% a petali ocra rispetto al controllo.
La maggior efficienza dell'impollinazione a secco e la tendenza a dare frutti più allungati rispetto all'impollinazione a liquido potrebbe essere dovuta al fatto che negli stadi avanzati si ha un maggior numero di ovari recettivi alla fecondazione ed una maggior produzione di mucillaggini utili alla cattura ed alla germinazione dei granuli pollinici. Questi fattori risultano espressi al massimo alla completa caduta petali (ma con pistilli bianchi) che generalmente si ha 1-2 giorni prima dell'imbrunimento degli stigmi, a seconda delle temperature.
Nelle prove effettuate per capire il ruolo del licopodio, la minore efficacia della impollinazione con licopodio (circa 96 g di media con l'aggiunta di licopodio contro 106 g con polline puro) indica come la presenza di questo inerte possa influenzare negativamente la fecondazione, indipendentemente dal sistema di distribuzione.
Si può quindi concludere che nel caso dell' impollinazione a secco il sistema migliore sia a polline puro distribuito alla fine della fioritura ovvero alla caduta petali (con pistilli bianchi), mentre per l'impollinazione in acqua il risultato migliore si ha alla piena fioritura con petali ocra-inizio caduta petali.

BIBLIOGRAFIA

TACCONI G., ASTEGGIANO L., GIORDANI L., NARI L., BEVILACQUA A., VITTONE G., 2012. *Confronto tra diversi sistemi di impollinazione in actinidia nel cuneese*. Kiwi Informa 10-12, pp 9-15.

CACIOPPO O., TACCONI G., 2014. *Determinazione dello stadio fiorale ottimale in relazione alla tipologia di impollinazione in actinidia*. In atti su "Stato dell'arte della ricerca sulle colture arboree nel Lazio" di Ruggini E., Bacchetta L. Cipriani G., Barba M., Di Renzo L. Viterbo, 23 aprile 2013.

RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano per la collaborazione Laura Asteggiano, Luca Giordani, Luca Nari, Alessandro Bevilacqua, Giovanni Rigo, Lorenzo Tacconi, Andrea Bonetti.

TI SERVE UN AIUTO PER RISPETTARE LE NORME OBBLIGATORIE IN MATERIA DI SICUREZZA SUL LAVORO?

CONTATTACI!

PER TUTTI GLI ABBONATI ALLA RIVISTA KIWI INFORMA SCONTO DEL 10% SUI SERVIZI OFFERTI*

CODICE SCONTO: aus4012

*offerta soggetta ad approvazione della direzione commerciale

Ausilia

si occupa di Sicurezza nei luoghi di lavoro, Coordinamento della sicurezza nei cantieri temporanei e mobili, Medicina del lavoro, Igiene alimentare, Sistemi di qualità, Sicurezza e trattamento dei dati, Finanza agevolata e della formazione relativa a questi temi.

Ausilia intrattiene rapporti con 800 PMI su tutto il territorio nazionale ed è certificata ISO 9001 settori EA35 ed EA37.

AUSILIA
SOLUZIONI & SOLUZIONI

Latina
via M. Siciliano 64\66 - tel. 0773 414020
per info: 3493254100

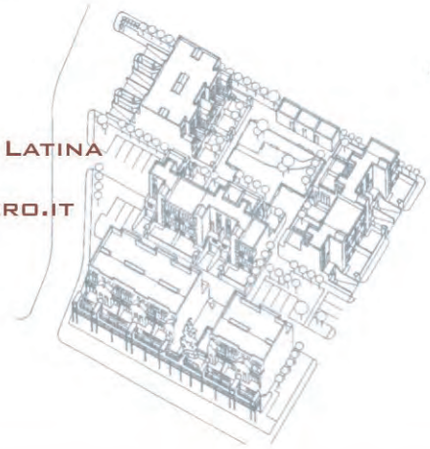
Torino
c.so Unione Sovietica 612/3/E
tel. 011 3473774

Varese
c.so Bernacchi 44/46 - Tradate
tel. 0331 852757

info@ausilia.net - **www.ausilia.net**

STUDIO DI
ARCHITETTURA
ARCH. MAURO_CACIOPPO

STUDIO:
VIA EUGENIO DI SAVOIA N.24 LATINA
MOB. 3493254100
EMAIL: MAUROCACIOPPO@LIBERO.IT



PROGETTAZIONE DI:
- LOCALI COMMERCIALI
- EDIFICI
- PARCHI E GIARDINI
- ARREDAMENTI
- UFFICI

DIREZIONE LAVORI
ASSUNZIONE DELL'INCARICO DI COORDINATORE DELLA SICUREZZA NEI CANTIERI TEMPORANEI E MOBILI
PRATICHE COMUNALI
- DIA. (DENUNCIA INIZIO ATTIVITÀ)
- PERMESSI DI COSTRUIRE
- ACCATASTAMENTI
- FRAZIONAMENTI

PRATICHE PROVINCIALI
PERIZIE
STIME DI IMMOBILI
PRATICHE DI PREVENZIONE INCENDI
CERTIFICAZIONE ENERGETICA
ARCHITETTURA BIOCLIMATICA
PROGETTAZIONE GRAFICA

Notizie: Con il nuovo piano casa della Regione Lazio è possibile ampliare la propria abitazione del 20%*e fino a 70 mq. Max* *(la sup.dell'ampliamento va valutata caso per caso)
Hai una terrazza e vuoi ampliare il tuo appartamento?
Vuoi allargare la tua abitazione creando una nuova stanza?
Vuoi costruire vicino la tua abitazione un nuovo edificio di sup. fino a 70 mq.*?
Vuoi recuperare a fini residenziali dei volumi accessori e pertinenziali?
Chiama per avere maggiori informazioni il n.3493254100

Luisa Ugolini

Lorena Malaguti

Katya Carbone

Roberto Tomasone

Luca Lazzeri

IMPIEGO POST RACCOLTA DI METABOLITI NATURALI AD AZIONE ANTIFUNGINA PER IL CONTROLLO DELLA MUFFA GRIGIA DEL-L'ACTINIDIA E VALUTAZIONE DELL'IMPATTO DEL TRATTAMENTO SULLA QUALITÀ DEI FRUTTI

POSTHARVEST USE OF NATURAL METHABOLITES WITH FUNGICIDE ACTIVITY FOR THE GREY MOULD CONTROL OF ACTINIDIA AND EVALUA-TION OF THE TREATMENT ON FRUIT QUALITY

L. Ugolini(1), L. Malaguti(1), K. Carbone(2), T. Rosato(2), R. Tomasone(2), L. Lazzeri(1), M. Mari(3)

(1) Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura, Centro di Ricerca per le Colture Industriali (CRA-CIN), Via di Corticella 133, 40128 Bologna, Italy, luisa.ugolini@entecra.it

(2) Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura, Centro di Ricerca per la Frutticoltura (CRA-FRU), Via Fioranello 52, 00134 Roma, Italy
katya.carbone@entecra.it ▪ roberto.tomasone@entecra.it

(3) CRIOF, Università di Bologna, Via Gandolfi 19, 40057 Cadriano Bologna, Italy

ABSTRACT

Natural compounds with antimicrobial activity, such as glucosinolate (GL)-derived isothiocyanates (ITCs), showed to be a promising alternative to fungicides in postharvest control of several fruit pathogens. Allyl-isothiocyanate (AITC) recently showed to inhibit B. cinerea of strawberries in in vitro and in in vivo assays. In the present study the effect of a similar treatment was evaluated on artificially infected Hayward kiwifruit, stored in controlled atmosphere for 4 months. At the end of storage the incidence of B. cinerea infections, AITC residues and the main quality and nutritional parameters of fruit were evaluated and compared with the untreated control.

RIASSUNTO

La *Botrytis cinerea* Fr. è l'agente eziologico di una tra le più importanti alterazioni microbiologiche dei frutti di actinidia, la muffa grigia. La malattia è responsabile d'ingenti perdite nella fase di conser-

vazione dei frutti, soprattutto a seguito dell'impiego dell'atmosfera controllata (AC) che, rispetto alla semplice refrigerazione, sembra favorire lo sviluppo della muffa, ritardandone però la comparsa dei sintomi (Spada e Mazzini, 2004).
Attualmente, per i frutti destinati alla lunga conservazione è diffuso l'utilizzo di trattamenti di fungicidi, ma la sempre più stringente normativa comunitaria sull'uso dei fitofarmaci e l'insorgenza di popolazioni fungine resistenti, rende necessario lo sviluppo di metodi di contenimento alternativi, più sicuri per la salute dell'uomo e l'ambiente. Tra questi vi è l'uso di molecole di origine naturale ad attività antimicrobica, come gli isotiocianati (ITC), prodotti derivati dai glucosinolati (GLs), composti β-tioglucosidici caratteristici delle piante e dei semi della famiglia delle Brassicaceae (Agerbirk e Olsen, 2012). I GLs, a seguito d'idrolisi da parte dell'enzima mirosinasi (MYR) presente nelle stesse piante, danno luogo a diversi prodotti a seconda delle condizioni di reazione, principalmente ITC, molecole caratterizzate da un'attività biologica ad ampio spettro e largamente utilizzati oggi nella tecnica di biofumigazione del terreno (Matthiessen and Kirkegaard, 2006). Tra tali composti, il composto volatile allil-ITC (AITC, da GL sinigrina) ha dimostrato un promettente impiego nella lotta a patogeni della frutta (Mari *et al.*, 2008). Recentemente l'efficacia dell'AITC, prodotto dal sistema endogeno GL-MYR delle farine disoleate di *B. carinata* (sinigrina ca 80 μmoli/g), è stata confermata anche nei confronti della *B. cinerea* delle fragole sia in prove *in vitro* che su fragole naturalmente infette, trattate per 4 ore a una concentrazione di AITC pari a 0.1 mg L^{-1} (Ugolini *et al.*, 2014). Lo scopo del presente studio è stato quindi quello di valutare l'efficacia di un simile trattamento sul contenimento del marciume causato da *B. cinerea* nei frutti di actinidia (cv Hayward) conservati in AC e l'influenza del trattamento sulle caratteristiche qualitative dei frutti.

MATERIALI E METODI

I frutti (cv 'Hayward'), utilizzati nel presente lavoro sono stati raccolti con il picciolo presso un'azienda del ravennate. Prima dell'inoculo, si è proceduto a togliere il picciolo e in corrispondenza della ferita che si è venuta a creare sono stati deposti 20 μL di una sospensione conidica di *B. cinerea* (10^5 spore mL^{-1}). Dopo circa un'ora i frutti sono stati trattati con vapori di AITC prodotto in situ da farina disoleata formulata (Lazzeri *et al.*, 2010) di *B. nigra* (sinigrina ca 140 μmoli/g), a una concentrazione di 0,8 mg L^{-1} per 5 ore in una cabina di 0.1 m^3 (3 vassoi da 26 frutti ciascuno). I frutti sono stati in seguito conservati a temperatura ambiente, per 12 ore, poi in AC (2% O2 e 4.5% CO2), a 0°C, 95% di umidità e a una concentrazione di etilene < 0,02 ppm, per 4 mesi. Al termine della fase di conservazione l'incidenza dell'infezione fungina, i residui di AITC sul frutto, e i principali parametri qualitativi e nutrizionali (i.e. contenuto zuccherino, acidità, consistenza, composti bioattivi, capacità antiradicalica) sono stati valutati e confrontati con un testimone inoculato, non trattato e conservato nelle stesse condizioni. Ogni tesi era rappresentato da 3 repliche di 26 frutti ciascuna, la prova è stata ripetuta 3 volte per due anni consecutivi. I dati analitici raccolti sono stati quindi sottoposti ad analisi statistica per verificare la significatività dei risultati ottenuti.

RISULTATI E CONCLUSIONI

Il trattamento post raccolta con vapori di AITC su kiwi conservati in AC, a dosi maggiori di quelle che avevano dimostrato efficacia antifungina sia in vitro sia in vivo sulle fragole, non è risultato idoneo al contenimento dell'infezione da botrite. Al contrario, i frutti trattati con AITC hanno mostrato un'aumentata suscettibilità al patogeno nonostante i residui di AITC rilevati su buccia siano risultati molto bassi (0,11 mg Kg^{-1} frutta), tali da non essere considerati tossici per l'uomo. Le valutazioni effettuate sui parametri qualitativi dei frutti hanno permesso di ipotizzare che probabilmente l'AITC abbia contribuito alla degradazione della parete cellulare dei frutti favorendo in tal modo la diffusione del patogeno, come evidenziato da una diminuzione della consistenza della polpa, del contenuto di polifenoli, di vitamina C e della capacità antiradicalica dei frutti trattati. I risultati ottenuti sono in accordo con quelli riportati da Wang *et al.* (2010), i quali hanno evidenziato un aumento significativo di perossido d'idrogeno in risposta al trattamento con AITC nei mirtilli, cui ha corrisposto una significativa diminuzione del potenziale antiossidante dei frutti (i.e. polifenoli totali e capacità antiradicalica). L'efficacia dell'AITC nei trattamenti post-raccolta sembra essere pertanto funzione non solo del patogeno target, ma anche della tipologia di frutto considerata, del metodo di conservazione adottato e dalle concentrazioni di AITC utilizzate.

BIBLIOGRAFIA

AGERBIRK, N., E OLSEN, C.E., 2012. *Glucosinolates structure in evolution.* Phytochem. 77: 16-45.

LAZZERI L., LEONI, O., MANICI, L. M., PALMIERI, S., & PATALANO, G., 2010. Patent N. US 7, 749, 549, July 6.

MARI, M, LEONI, O, BERNARDI, R, NERI, F, PALMIERI, S., 2008. *Control of brown rot on stonefruit by synthetic and glucosinolate-derived isothiocyanates.* Postharvest Biol. Technol. 47: 61-67

MATTHIESSEN, J., E KIRKEGAARD, J., 2006. *Biofumigation and enhanced biodegradation: opportunity and challenge in soilborne pest and disease management.* Crit. Rev. Plant Sci. 25: 235-265.

SPADA, G. E MAZZINI, F., 2004. *Actinidia, come prevenire i danni da botrite in post raccolta.* Frutticoltura, 11: 84.

UGOLINI, L, MARTINI, C, LAZZERI, L, D'AVINO, L, MARI, M., 2014. Contr*ol of postharvest grey mould* (Botrytis cinerea Per.: Fr.) *on strawberries by glucosinolate-derived allyl-isothiocyanate treatments.* Postharvest Biol. Technol. 90: 34-39.

WANG, S., Y., CHEN, C-T, YIN, J-J., 2010. *Effect of allyl isothiocyanate on antioxidants and fruit decay of blueberries.* Food. chem. 120: 199-204.

Lavoro svolto nell'ambito del progetto "Sistema Integrato di Tecnologie per la valorizzazione dei sottoprodotti della filiera del Biodiesel" (VALSO) finanziato da MiPAAF (D.M. 17533/7303/10 del 29/04/2010) e coordinato dal CRA-CIN di Bologna.

C. Xiloyannis

G. Montanaro

B. Dichio

ACQUA E NUTRIZIONE PER OTTIMIZZARE LA PRODUZIONE, LA QUALITÀ E LA SALUTE DELLE PIANTE

C. Xiloyannis(2), G. Montanaro(1), B. Dichio(1)
(1) Università degli Studi della Basilicata – DiCEM (Italy)
giuseppe.montanaro@unibas.it
(2) cristos.xiloyannis@unibas.it

La rapida diffusione negli ultimi del cancro batterico nell'actinidia *(Pseudomonas syringae* pv. *Actinidiae)* (PSA) ha evidenziato una bassa capacità del sistema frutteto a tollerare/resistere alla malattia dovuta anche alla semplificazione dello stesso sistema frutteto. Una tecnica colturale orientata all'uso quasi esclusivo di concimazioni minerali e fitoregolatori, ha dato risultati positivi in termini di produzioni ma ha contribuito a determinare una fragilità del sistema accentuata dal livello basso di sostanza organica nel suolo.

Le nuove frontiere dell'actinidicoltura impongono maggior attenzione alla eco-sostenibilità ed alla qualità delle produzioni con particolare riferimento alla composizione minerale dei frutti che ne influenza la conservabilità.

Congiuntamente all'adozione di varie tecniche di "igiene" per controllare la diffusione del patogeno dovrebbero essere adottate tecniche di gestione mirate a evitare stress (eccesso/carenza) nutrizionali e/o idrici aumentando così la resilienza della pianta.

Pertanto, questo lavoro presenta le strategie di nutrizione ed irrigazione per sostenere la domanda di nutritivi da parte della pianta ed ottimizzarne il rifornimento idrico in modo da evitare squilibri (eccessi/carenze) nella nutrizione idrica e minerale.

Lavoro svolto nell'ambito del Prog. "PSR Basilicata 2007-2013, Misura 124, Ottimizzazione dell'irrigazione per l'ortofrutta lucana – OTIROL, provvedimento di concessione n. 6/2012 .

Ottavio Cacioppo

Massimo Marcon

Gianni Tacconi

GESTIONE DELL'IRRIGAZIONE E DEL CONTROLLO DI PSA MEDIANTE UN SISTEMA DI MONITORAGGIO PEDOCLIMATICO VIA INTERNET

IRRIGATION MANAGEMENT AND ACTINIDIA PEST CONTROL USING A WEB PEDOCLIMATIC SYSTEM

O. Cacioppo(1), M. Marcon(2), G. Tacconi(3)
(1) Kiwi Informa" rivista scientifica (ISSN 2282-2224)
Via Santa Maria, 3351 Borgo Bainsizza, 04100 Latina, Italia
www.kiwiinforma.it
(2) TECNOQUADRO Via Don Carlo Torello 45, 04100 Latina, Italia
info@tecnoquadro.com ▪ www.tecnoquadro.com
(3) CRA-GPG, Genomic Research Centre,
Via S. Protaso, 302, CAP I-29017, Fiorenzuola d'Arda, Piacenza, Italia
gianni.tacconi@entecra.it ▪ http//centrodigenomica.entecra.it

ABSTRACT

The soil and climate data that are collected by a web monitoring system called OSIRIS (Tecnoquadro, Latina, Italy) are essential to achieve the best production results in a kiwifruit orchards. It consists of 4 main components (fig. 1)*: environmental sensors (A); solar powered sensor acquisition units "OsiNode" (B) that are connected by cable to the sensors and transmit data via radio to the web gateway "OsiGate" (C) that send it via Internet to the client device (PC, tablet or smartphone, D) to display field data and remote activation. Through the OSIRIS system it is possible to continuously monitor soil and climate criteria such as: water soil tension, volumetric water content, air temperatures (above and below canopy), light intensity and PAR; relative air humidity; leaf wetness; soil pH, temperature and electrical conductivity; wind speed and direction; rain-water quantity; quality of water and other factors. In our research, the monitoring of soil water content in Latina, in 2013 and 2014, lead the reduction of water and energy consumption up to 60% compared to traditional irrigation* (fig. 2)*. Moreover the excess of water due to excess of rainfall, together with not optimized irrigation*

that lead in vine decline, could be monitored. About pest managment we found that the optimization of copper treatment in Psa field trial lead to high reduction of symptoms (-60%) when copper application (Cu-oxide and Cu-sulphate) were done before the rain and after subsequent 30 mm of rainfall with 5 applications (from March to July 2013) instead 8 in the 15 days fixed applications experiment.

INTRODUZIONE

I dati pedoclimatici registrati in tempo reale in un impianto di actinidia costituiscono un importante riferimento per la corretta conduzione del frutteto in termini di controllo dell'irrigazione, delle condizioni di infezione da batteriosi da Psa, della nutrizione, del soddisfacimento del fabbisogno di freddo, del rischio di gelate e nella valutazione di vari stress ambientali. La conoscenza di questi parametri, con anche segnali di allarme in base a soglie impostate, permette interventi tempestivi da parte dell'agricoltore, quali ad esempio accensione di sistemi antibrina, di irrigazione, di raffrescamento (nebulizzazione), l'esecuzione di trattamenti e concimazioni in relazione a pioggia e temperatura. Nel presente lavoro vengono riportate alcune applicazioni del sistema, ovvero: ottimizzazione dell'irrigazione, ottimizzazione dei trattamenti fitoiatrici per Psa, studio della moria. Gli aspetti più prettamente scientifici degli ultimi due argomenti sono trattati in modo specifico in altri due lavori a se stanti.

MATERIALI E METODI

Il sistema OSIRIS (Tecnoquadro, Latina, Italia) consiste di 4 componenti principali *(fig. 1):* 4 sensori ambientali (a scelta tra tensiometro, termo-igrometro aria e terreno, pH-metro, conduttimetro, anemometro, pluviometro, sensore bagnatura fogliare, sensore radiazione totale e PAR, flussimetro) sono collegati, via cavo, ad una unità di acquisizione "OsiNode", ad alimentazione fotovoltaica, che trasmette i dati via radio al *gateway* "OsiGate" il quale invia i dati via Internet ad un server che li elabora e li rende disponibili al cliente tramite computer o smartphone. La segnalazione di eventi quali il superamento di determinate soglie (gelo, carenza idrica, ecc.) è notificata agli utenti via SMS o e-mail. Nella sperimentazione effettuata a Latina (2012 – 2014, cv Hayward del 1990 a tendone 5x5 m) per l'ottimizzazione dell'irrigazione sono stati usati: tensiometri a 30 e 60 cm di profondità, flussimetro sulla linea di irrigazione, termo-igrome-

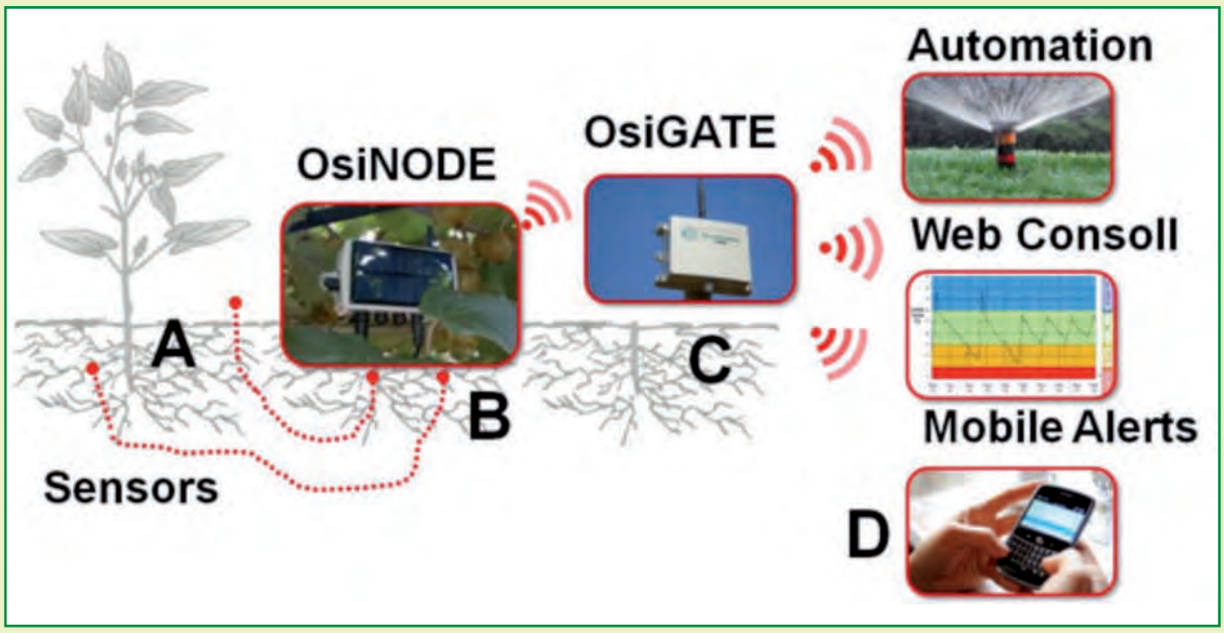


Fig. 1 *Il sistema OSIRIS consiste di 4 componenti principali : (A) sensori ambientali; (B) unità di acquisizione "OsiNode"; (C) unità di trasmissione dati via internet "OsiGate"; (D) terminale cliente con la visualizzazione dei dati e la possibilità di attivare automatismi.*

Fig. 1 *Schematic of OsiriS system, the four main components are :(A) environmental sensors; (B) solar powered sensor acquisition units "OsiNode"; (C) web gateway "OsiGate" that send it via Internet to (D) the client device (PC, tablet or smartphon) to check data and remote activation.*

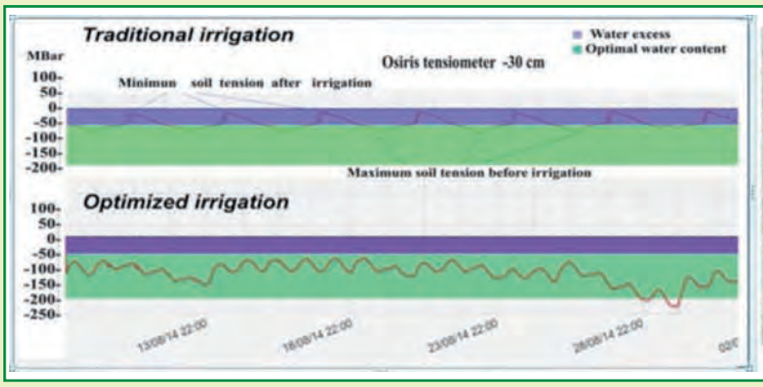
tro sottochioma. Nelle sperimentazione effettuate a Verona (2013-2014), sia per l'ottimizzazione dei trattamenti per la batteriosi (cv Hayward del 2010 in 2 filari 2x1 m), sia per lo studio della moria (cv Hayward del 1990 a pergoletta 4,5 x 2,5 m): tensiometri a 20 e 40 cm di profondità, pluviometro, termo-igrometro sottochioma.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Ottimizzazione della programmazione irrigua.
Le prove effettuate in impianti kiwi a Latina a partire dall'estate 2012 hanno portato alla riduzione fino al 60 % del consumo di acqua rispetto alla irrigazione tradizionale ovvero quella praticata dall'agricoltore in assenza di strumenti di misura *(fig. 2)*.
I benefici riguardo ai costi di produzione sono stati evidenti sia in termini di costi diretti (energia elettrica risparmiata per l'azionamento delle pompe di irrigazione e risparmio idrico), sia indirettamente come benefico alle piante grazie ad una vegetazione più equilibrata senza eccessi di vigoria. Il sistema ha permesso anche di capire quanto una pioggia sia efficace per l'irrigazione delle piante: nel delicato periodo della allegagione ed inizio ingrossamento dei frutti (maggio-luglio 2014) dei molti eventi piovosi avutisi, quasi nessuno ha in realtà apportato quantità di acqua significative per le radici: i valori sono rimasti sotto i -200 mBar. Monitorando i valori di tensione matriciale nelle varie fasi fenologiche si potranno stabilire, per ciascuna di essa, gli intervalli più utili per non indurre stress nella pianta ed ottimizzare le risorse.

Ottimizzazione dei trattamenti fitoiatrici.
In un campo prove a Verona, nel 2013, sono stati effettuati i trattamenti a base di rame per il contenimento di Psa a partire dalla schiusura delle gemme con intervalli fissi di 15 giorni oppure stabiliti in base ai dati meteorologici: prima di ogni evento piovoso e dopo un accumulo di almeno 30 mm di pioggia (valore di dilavamento del rame applicato). Nel 2013 le infezioni da Psa sono state importanti con una incidenza della malattia sul controllo non trattato del 70 % mentre sulle parcelle trattate con ossido rameoso al 10% ,sia nelle tesi a intervento fisso che in quella in base alle piogge, con la differenza che nel secondo caso sono stati fatti solo 5 trattamenti anziché 8 nel periodo marzo – luglio.

Diagnosi precoce delle condizioni di asfissia radicale.
Il monitoraggio continuo del contenuto idrico del suolo può rivelare eccesso di acqua da irrigazione o da piogge intense. Tali condizioni sono state spesso associare a condizioni di asfissia radicale che ha portato, nel veronese, tra il 2012 ed il 2014 ad estesi fenomeno di moria. In particolare si sono avuti prolungati periodi con suolo "intriso" d'acqua con valori matriciali superiori a -50 mBar, soprattutto in primavera ed autunno-inverno.
Questo potrebbe indicare una scarsa aereazione del suolo: una sua valutazione tempestiva potrebbe ridurre il rischio di asfissia e permettere l'adozione di tecniche agronomiche adeguate a contrastare il fenomeno.



		Traditional	Optimized
fruit production	t	36	36
electric pump	kw	12	12
electric cost	€/kw	0,25	0,25
irrigation time	h/day	1,94	0,82
watering days	days/year	156	142
total electric cost	€/ha	867	334
summer pruning	€/ha	360	180
total cost	€	1227	514
money saved	**€/ha**	**0**	**-713**

Fig. 2 *(sinistra) variazione della tensione dell'acqua nel suolo in un frutteto irrigato in modo tradizionale (grafico superiore) vs quello controllato (inferiore grafico): il colore verde indica la tensione terreno consigliata per quella fase fenologica. (destra) valutazione dei costi nei due sistemi.*
Fig. 2 *(left) Soil tension variation in a traditional-irrigated orchard (upper graph) vs a controlled ones (lower graph) : green color indicated the recommended soil tension for that phenological stage. (right) irrigation cost in traditional and optimized system due to the use of "Osiris" system.*

Riccardo Spinelli

Mariarosa Mazzeo

TECNICHE DI ALLEVAMENTO A CORDONE DELL'ACTINIDIA, CULTIVAR GOLD3

KIWIFRUIT LEADER TRAINING TECHNIQUE ON GOLD3 CULTIVAR

R. Spinelli, M. Mazzeo
Zespri Fresh produce Italy srl
Via dei Rangers 1 - 04012 Cisterna di Latina (LT), Italy
Riccardo.Spinelli@zespri-europe.com ▪ mariarosaria.mazzeo@zespri-europe.com

ABSTRACT

Results from Italian trials reported here have shown that chemical treatment of leader buds in winter, leaf removal and shortening leaders are useful techniques to improve canopy fill over traditional methods. Gold3 shows crown dominance - once the leaders are brought down, they burst on the curve (highest point) and the tip of the leader, close to the cut. The physiology of this phenomenon is not well understood yet, and closer plant spacing is not always the solution nor is it feasible on already existing orchards. The first trial was targeted at those vines that had been grafted in summer and could only grow a mature leader of sufficient diameter and length in the same season. The number of buds breaking off it in spring would usually be sufficient to establish the canopy, given the high percentage of natural budbreak that occurs in Italy. Two different treatments were compared to the control (no treatment) on 20 vines of one year old grafted Gold3. Both treatments achieved a higher budbreak , with BreakOut preforming better than Bluprins, with a 17% and 9% improvement respectively. The second technique was carried out at the time of bringing down the leaders (24th of June, about 108 days after budbreak), all the leaves were removed from the leaders on the first treatment set of vines, whereas the leaders were halved on the second treatment set. Control vines had no leaves removed. The defoliation treatment significantly increased the rate of shoot burst resulting in higher numbers of fruiting canes (laterals.

RIASSUNTO

Lo sviluppo della chioma della nuova varietà è influenzata da molteplici fattori, primo tra tutti l'epoca di innesto o messa a dimora delle piante, nonché il sesto di impianto. La prova ha dimostrato che a seconda dei casi, sia il trattamento chimico che la rimozione delle foglie, possono aumentare il germogliamento dei rami laterali, ottenendo una rapida costruzione della chioma rispetto alle tecniche tradizionali. Qualora a causa dell'epoca di innesto, o in terreni difficili (prova svolta a B.go Carso) si opta per la costruzione della chioma nell'arco di due stagioni (cordoni e successivamente i laterali), il trattamento chimico con i prodotti utilizzati in questa prova è raccomandabile per ottenere più rami fruttiferi. Nel caso in cui è invece possibile impalcare la chioma nel corso della stessa stagione (innesto invernale e/o terreni forti, come quelli utilizzati nella prova), la defogliazione del cordone, allo scopo di ottenere un'uniforme germogliamento dei laterali, ha dato i migliori risultati.

Gianni Tacconi

Lorenzo Tosi

Alessio Giacopini

Umberto Mazzucchi

Francesco Favaron

Luca Sella

Fausto Bertaiola

Samanta Paltrinieri

Set Perez Fuentealba

Assunta Bertaccini

MORIA DELL'ACTINIDIA NEL VERONESE: ANOMALIE CLIMATICHE, STRUTTURA DEL TERRENO E RUOLO DEI PATOGENI

KIWIFRUIT VINE DECLINE IN VERONA PROVINCE: CLIMATE CHANGE, SOIL STRUCTURE AND PATHOGENS

G. Tacconi(1), L. Tosi(2), A. Giacopini(2), U. Mazzucchi(4), F. Favaron(5), L. Sella(5), F. Bertaiola(6), J. F. Mejia(3), S. Paltrinieri(3), S. Perez Fuentealba(3), A. Bertaccini(3)
(1) Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura (CRA)
Genomics Research Centre
Via S. Protaso 302 - 29017 Fiorenzuola d'Arda (Italy) - phone/fax +39 0523 983758/50,
gianni.tacconi@entecra.it
(2) AGREA Centro Studi,
Via Garibaldi 5/16 - 37057 S. Giovanni Lupatoto (Verona) Italy
(3) Dipartimento di Scienze Agrarie, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna
Viale G. Fanin 42 - 40127 Bologna, Italy
(4) Consulenze fitopatologiche VPS
Via Caduti di Cefalonia 15 - 40024 Castel San Pietro Terme (Italy)
(5) Dipartimento Territorio e Sistemi Agro-Forestali, Gruppo di ricerca in patologia vegetale
Università di Padova, Legnaro, Padova.
(6) Consorzio di Tutela Kiwi del Garda
Via C. Zampieri - 37057 S. Giovanni Lupatoto (Verona), Italy

Paole chiave: struttura terreno, irrigazione, Phytophthora, Pythium, pioggia, clima, radici secondarie
Key words: soil texture, irrigation, rain, feeder roots

ABSTRACT

A vine decline of kiwifruit (Actinidia deliciosa, A. chinensis) *was observed in 2012 and 2014 in about 600 hectares in the Verona province (Northern Italy). During the first two years, a progressive vine decline took place during summers with high temperatures (over 35C°) requiring copious furrow irrigation, and with mild temperatures and abundant rainfall during winter and spring that caused long periods of soil waterlogging. The diseased plants died after a gradual blight of the leaves. Rotting of the roots intermediate in diameter and of the distal rootlets were associated with all cases of decline.* Phytophthora *and* Pythium *species were isolated from the decayed roots, were plate purified and identified by sequence analysis of the internal transcribed spacer (ITS) region of the rDNA amplified with specific primers. Pathogenicity of the* Phytophthora *isolates was verified with experimental inoculations of kiwifruit plantlets: typical symptoms of the decline in the leaves were caused by isolates of* Phytophthora cryptogea. *This is the first report of* Phytophthora *and* Pythium *presence in plants with root rot and vine decline of kiwifruit in Northern Italy associated to anomalous climate conditions.*

INTRODUZIONE

L'actinidia è una specie molto sensibile all'asfissia radicale e necessita di terreni drenanti e ricchi di ossigeno (Cacioppo 1981): le radici di alimentazione dei kiwi *(feeder roots)* hanno infatti un turnover elevato (Reid *et al.,* 1991). La moria dell'actinidia è stata osservata in tutti gli areali di coltivazione al mondo ed è stata spesso associata ad una alterazione dell'apparato radicale dovuto a ristagno idrico o alluvioni, scarsa aereazione del terreno e attacchi di funghi patogeni (Reid *et al.,* 1991; Smith *et al.,* 1990; Kurbetli *et al.,* 2013). In provincia di Verona i casi di moria sono stati osservati per la prima volta nel 2012, dopo oltre 30 anni di coltivazione, e hanno coinvolto nel triennio quasi 1.000 ettari di coltivazione. Risulta colpita esclusivamente la zona nord-ovest ai piedi delle colline moreniche del Lago di Garda. La malattia si manifesta con marciumi dell'apparato radicale periferico secondario *(fig. 1)* e si riscontra in impianti di tutte le età, comprese le piante appena messe a dimora. L'eziologia dei casi è complessa e di difficile interpretazione data la molteplice casistica. Il biennio 2012-2013 è stato caratterizzato da estati calde con temperature elevate che hanno richiesto abbondanti irrigazioni, ed inverni e primavere con temperature miti e piogge abbondanti (Tacconi *et. al,* 2014). L'estate 2014, per contro, è stata caratterizzata da temperature miti e precipitazioni sparse che non hanno richiesto alle piante particolari sforzi per far fronte alla domanda evapotraspirativa non particolarmente elevata, ciononostante la moria ha continuato ad espandersi nell'areale precedentemente segnalato con la comparsa di nuovi casi fino al mese di settembre.

MATERIALI E METODI

Ispezioni visive sono state fatte su tutte le varietà coltivate nel veronese (Hayward, Soreli, Jin Tao, Summer Kiwi) e su colture di tutte le età, comprese le piante appena messe a dimora. I sistemi di irrigazione utilizzati sono prevalentemente a scorrimento (turni settimanali) con irrigazione supplementare a micro-jet, sia da acqua di origine fluviale che di falda. Sono state monitorate anche aziende con irrigazione esclusiva a scorrimento o micro-jet o a goccia. Le aziende sono localizzate per la maggior parte in pianura ed in alcuni casi anche in collina. Il contenuto idrico del suolo è stato misurato mediante centraline con tensiometri (Tecnoquadro, Latina, Italia) posti alle profondità di 25 e 50 cm, in 5 diversi appezzamenti.

RISULTATI E DISCUSSIONE

La struttura del terreno degli appezzamenti colpiti risulta spesso compatta, nonostante la presenza di sabbia e scheletro: le analisi del terreno di impianti ammalati rispetto a impianti sani hanno evidenziato una tendenza ad un maggior contenuto di limo. Il fenomeno risulta maggiormente presente in aziende con irrigazione a scorrimento. L'analisi chimica dell'acqua di irrigazione del 2012 e del 2013 non ha evidenziato anomalie. Dal punto di vista climatico si è rilevato un aumento della piovosità negli ultimi anni, soprattutto durante l'inverno ed una riduzione dei giorni di gelo *(fig. 2)*. I dati dei tensiometri hanno evi-

denziato, durante gli ultimi inverni, una permanenza del terreno in uno stato idrico con valori superiori a -50 mBar per lunghi periodi. Tutti questi fattori hanno probabilmente danneggiato la struttura del terreno riducendo la porosità e la disponibilità di ossigeno per le radici che quindi sono morte. In particolare le piogge continue hanno creato condizioni asfittiche prolungate mentre il clima mite ha fatto venir meno l'effetto decompattante (rigonfiamento, fessurazione e asciugatura) dovuto al gelo negli strati superficiali. In prove di trapianto di piante sintomatiche rimesse nello stesso terreno smosso si è osservata una remissione dei sintomi.

Dal punto di vista fitosanitario i risultati delle analisi (50 campioni di radici) hanno evidenziato la presenza di agenti patogeni dell'apparato radicale appartenenti nel 70% dei casi ai generi *Phytophthora, Pythium* e *Cylindrocarpon (fig. 3)*. In alcuni casi la specie è stata identificata mediante analisi PCR/RFLP e/o sequenziamento della regione ITS. Inoculazioni sperimentali effettuate con isolati identificati come *Phytophthora cryptogea* su piantine di actinidia e di *Pythium vexans* su semenzali hanno permesso di verificarne la patogenicità. Sono in corso ulteriori studi al fine capire il ruolo di questi agenti patogeni nella moria.

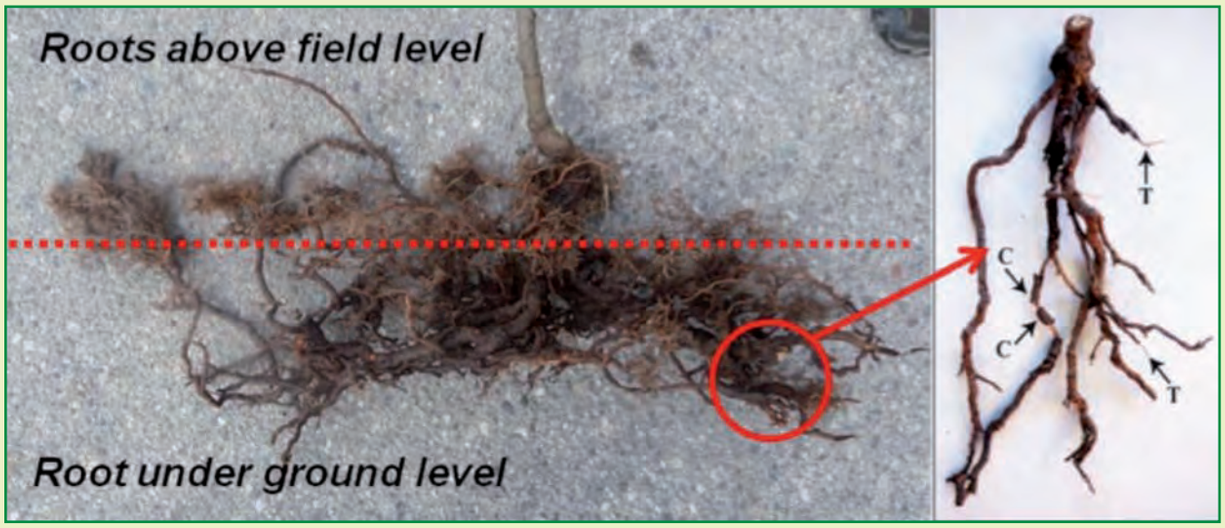


Fig. 1 *Aspetto dell'apparato radicale in una pianta di 3 anni colpita da moria. Il degrado delle radici è evidenziato dal disfacimento della corteccia radicale (destra, C= collari, T= terminali) e dall'assenza di radici di alimentazione nella parte sotto il livello di campo (linea tratteggiata).*
Fig. 1 *Root system of a 3 years-old plant affected by vine decline. The degradation of the roots is evident as decayed cortical roots (C=collar and T=terminal) and absence of feeder roots under the ground level (dashed line).*

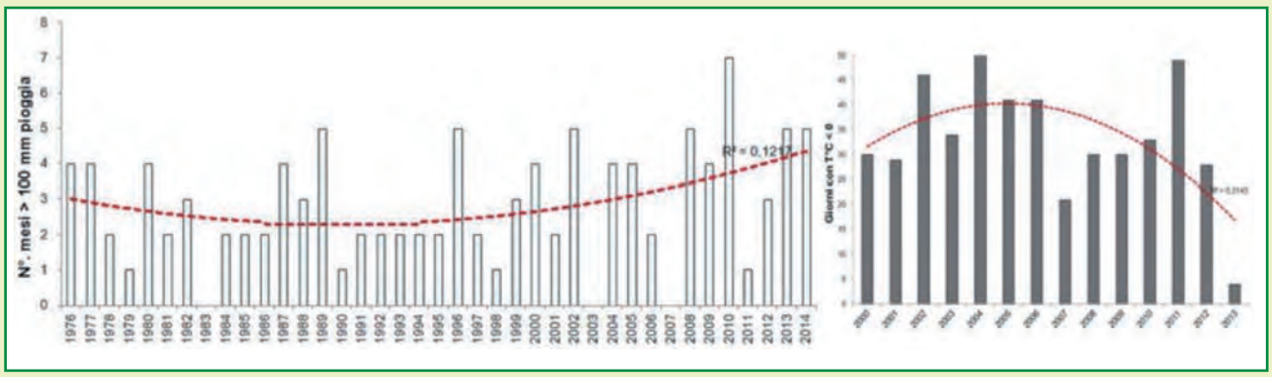


Fig. 2 *Andamento climatico degli ultimi anni: (sinistra) nell'ultimo decennio c'è stata una tendenza all'aumento della piovosità ovvero dei mesi con più di 100 mm di pioggia; (destra) negli ultimi anni è stata rilevata una tendenza al calo dei giorni di gelo invernale.*
Fig. 2 *Climatic trend in recent years: (left) in the last decade there were many months with heavy rainfall (more than 100 mm); (right) the days of winter frost was reduced in last years.*

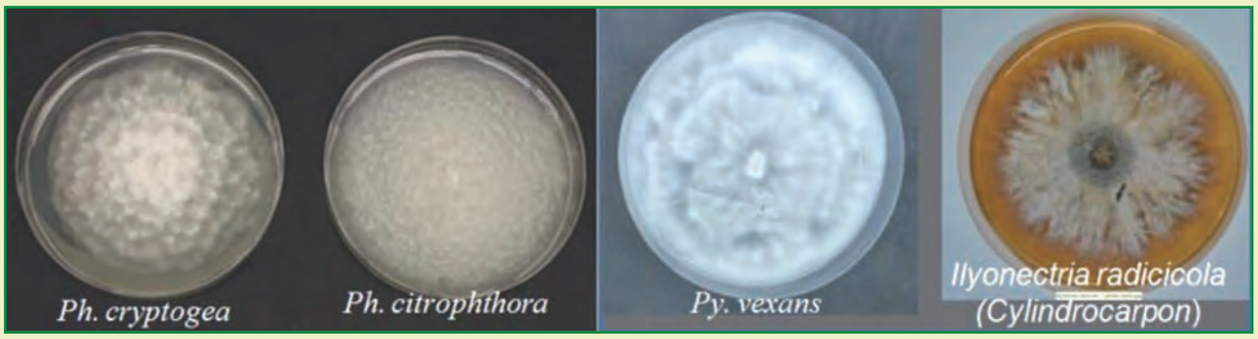


Fig. 3 *Colture pure di* Phytophthora, Pythium *e* Cylindrocarpon *isolati da campioni di radice affetti da moria: le specie sono state identificate con analisi delle sequenze delle regioni ITS dei geni per RNA ribosomico.*
Fig. 3 *Pure culture of* Phytophthora, Pythium *and* Cylindrocarpon *isolated from the decayed roots: the species were identified by sequence analysis of the internal transcribed spacer (ITS) region of the rDNA.*

BIBLIOGRAFIA

CACIOPPO O., 1981. *Nell'agro pontino l'actinidia prende il posto del vigneto?* Informatore Agrario 1981 1, 13481-13522.

KURBETLI, I., OZAN, S., 2013. *Occurrence of* Phytophthora *Root and Stem Rot of Kiwifruit in Turkey.* J Phytopathol 161 (2013) 887-889.

REID, J. B., PETRIE, R.A., 1991. *Effects of soil aeration on root demography in kiwifruit,* New Zealand J. Crop Hort. Science, 19:4, 423-432.

SMITH, G. S., JUDD, M. J., MILLER S. A., AND BUWALDA, J. G., 1990. *Recovery of kiwifruit vines from transient waterlogging of the root system.* New Phytol., 115, 325-333.

TACCONI G., GIACOPINI A., TOSI L., 2014. *La moria del kiwi nel veronese.* Kiwi Informa 2014 4-6; 5-23.

RINGRAZIAMENTI

Il lavoro è stato supportato dal Consorzio kiwi del Garda grazie al contributo di: Provincia di Verona, Camera di Commercio IAA di Verona, Comuni di Sommacampagna, Valeggio S.M., Villafranca, Sona. Si ringraziano Andrea Bonetti, Luca Bianconi, Tacconi Lorenzo, Gianni Bertaiola, Marco Cipriani, Michele Bertoldo.

Ottavio Cacioppo

CONSIDERAZIONI SUI VARI ASPETTI COLTURALI DI UN ACTINIDIETO HAYWARD DI 26 ANNI, IN PROVINCIA DI LATINA, CONDOTTO A BASSO IMPATTO AMBIENTALE

CONSIDERATIONS ON SEVERAL GROWING ASPECTS OF A 26 YEARS OLD KIWI ORCHARD, CV HAYWARD, CARRIED ON ACCORDING TO A LOW ENVIRONMENTAL IMPACT

O. Cacioppo
Kiwi Informa, Latina
ottaviocacioppo@gmail.com

ABSTRACT

In 1988, in Sabaudia, Latina province, a kiwi orchard, cv Hayward, has been planted in a sandy soil. The plants, obtained by hardwood cuttings, were spaced 5x5 metres and trained as pergola (tendone). Matua and Tomur were the pollonizer cvs, at a ratio 1/6. Except an initial fumigation to control nematodes no further agrochemicals were used to control pests. The soil was covered with spontaneous grass, regularly mulched and the pruning wood was cut up. 0.8t/ha of a chemical fertilizer (15-5-20-2) were yearly distributed. In 26 years 10% of the plants were damaged by wood decay but restored by trunk cutting below the decay. Psa, that severely damaged most of the kiwi orchards of the are, showed only very light symptoms on few plants, other pests as Pseudaulacaspis pentagona *and* Metcalfa *pruinosa are perfectly under control of the natural predators.*

INTRODUZIONE

Nel 1988, in provincia di Latina, Comune di Sabaudia, su terreno sabbioso, venne realizzato un actinidieto, cultivar Hayward da talea con impollinatori Matua e Tomuri , in rapporto 1/6, e piante distanziate, sia sulla fila che tra le file, di m 5. Sito a Borgo San Donato, a 4 km dal mare Tirreno e 2 dal confine nord del Parco del Circeo, ed allevato con il sistema a "tendone" e forma delle piante a "spina di pesce". Ad accezione di un trattamento al terreno, prima della messa a dimora delle piante, contro i nematodi galligeni, in 26 anni di coltivazione non sono stati utilizzati agrofarmaci. Mentre per quanto riguarda la concimazione organica la scelta è stata quella di ottenerla con la trinciatura delle erbe del prato controllato, delle foglie, del legno della potatura secca del kiwi. Per la concimazione minerale è stato utilizzato un complesso, dal titolo 15-5-20 (+2 MgO + 20 SO3) e impiegati quantitativi, non superiori a 8

q/Ha, calcolati sulla stima della produzione, sull'apporto della materia organica vegetale. Il frutteto, realizzato e condotto dall'autore, ha avuto come obiettivo quello di constatare, senza l'uso di agrofarmaci, il comportamento delle piante rispetto alle fitopatie (batteriosi da Psa e da PV., carie, muffa grigia) nonché alle infestazioni entomologiche (cocciniglia bianca *"Pseudaulacaspis pentagona", Metcalfa pruinosa,* nematodi galligeni.

MATERIALI E METODI

Il frutteto è stato condotto, per 26 anni, con il criterio di avere il minore impatto ambientale. La materia organica utilizzata è stata quella vegetale prodotta nel frutteto: taglio periodico delle erbe del prato, trinciata quando raggiungeva l'altezza di 20-30 cm. L'erba viene trinciata, nel periodo più caldo, ogni settimana, ottenendo quantitativi notevoli di massa verde, in aggiunta alla trinciatura del legno della potatura secca (140 q/ha), delle foglie (80 q/ha). Considerando l'apporto di elementi minerali della materia organica la fertilizzazione chimica è stata calcolata tenendo presente che le piante di Hayward asportano 50 kg di azoto, 14 kg di fosforo e 77 kg di potassio ogni 10t di frutti. Considerando che la produzione di frutti commerciabili è oscillata tra 25 e 30 t/ha è facile calcolare la quantità di fertilizzanti che sono stati utilizzati e somministrati in più volte, l'ultima subito dopo l'allegagione dei frutti (prima decade di giugno). L'acqua irrigua, nei periodi più caldi, è stata erogata giornalmente, con spruzzatori sotto chioma, per una durata di 90 minuti, ossia 180 litri di acqua per pianta e per 25 mq di terreno. Nel complesso la quantità di acqua erogata per stagione è stata mediamente di circa 8.000 mc/ha. Dopo 26 anni la tubazione interrata dell'impianto irriguo è risultata in ottimi condizioni, molto più duratura, quindi, rispetto al sistema della tubazione esposta alle intemperie.

RISULTATI

Per l'aspetto relativo alle avversità, il 10% delle piante di 10 anni è stato colpito dalla carie. Le stesse sono state capitozzate e riformate; qualche pianta ha manifestato sintomi di batteriosi da Psa, in forma leggera, che è stata superata con l'asportazione delle parti avvizzite. Raramente è stata osservata l'emissione di essudato rossastro. La cocciniglia bianca è comparsa e scomparsa saltuariamente negli anni e controllata biologicamente dall'*Encarsia berlesei,* un entomofago specifico. La *Metcalfa pruinosa,* apparsa sulle zone periferiche del frutteto, all'inizio degli anni 2.000, da alcuni anni non è presente sulle piante di actinidia. Per quanto riguarda la muffa grigia, la malattia non si è mai manifestata in forma dannosa.

Da uno studio triennale effettuato su alcune aziende della provincia di Latina è emerso che i frutti dell'actinidieto in esame si sono dimostrati, costantemente negli anni, i più gustosi rispetto a quelli delle altre aziende esaminate (i risultati della ricerca sono stati pubblicati dall'Università di Viterbo nel 2014, negli atti "Stato dell'arte della ricerca sulle colture arboree nel Lazio", da pagina 154 a 158 *(Tab.1)*.

Tab. 1 Analisi chimica dei frutti, produzione del 2009

Umidità 81,07%	*Aminoacidi totali*
Residuo secco 18,37%	Acido aspartico 0,126%
Grado brix° 16	Treonina 0,050%
Ceneri 0,96%	Serina 0,053%
Calcio 46,7 mg/100 g	Acido glutammico 0,150%
Magnesio 22,6 mg/100 g	Prolina 0,063%
Fosforo 27,8 mg/100 g	Glicina 0,062%
Potassio totale 289,0 mg/100 g	Alanina 0,053%
Acido ascorbico 97 mg/100 g	Valina 0,062%
Vitamina E 0,9 mg/100 g	Metionina 0,018%
Acido folico 24,9 mg/100 g	Isoleucina 0,058%
	Leucina 0,063%
	Tirosina 0,030%
	Fenilalanina 0,044%
	Istidina 0,051%
	Lisina 0,028 %
	Arginina 0,061%

Il frutteto, attualmente è in ottima salute.

Altri aspetti da segnalare sono:

- il prato controllato che in un terreno di tessitura sabbiosa si è dimostrato valido per il notevole apporto di materia organica, per la ridotta attività di evaporazione dell'acqua irrigua e piovana, evitando l'essiccazione dello strato superficiale;

- la sanità del suolo, con la salvaguardia della microflora e il proliferare dei lombrichi (l'uso frequente dei prodotti a base di rame per combattere la batteriosi causa fenomeni di tossicità del terreno con conseguenze che si ripercuotono sulla qualità dei frutti);

- lo sviluppo delle radici è risultato notevole: possono occupare la larghezza di raggio di 2,5 m.

CONCLUSIONI

Condurre l'actinidieto come sopra illustrato significa ottenere normali produzioni di qualità dal punto di vista gustativo. Questo aspetto non sempre è rispettato quando un actinidieto viene condotto con criteri per esaltare al massimo la produzione con l'abuso di fertilizzanti, quantitativi di acqua irrigua elevati nonché l'uso anormale di agrofarmaci. Uno degli aspetti per favorire i consumi di kiwi è quello del gusto, parametro che non può essere sottovalutato. Nel paragrafo precedente sono stati riportati i risultati delle analisi dei frutti prodotti nell'azienda in esame, dai quali sono messi in risalto 16 aminoacidi i quali assieme ad altre sostanze conferiscono al kiwi grande valore nutritivo e "farmacologico".

ARMA

di Adriano Marchetto & C. s.a.s.

Irrigazione

Esperienza ultra trentennale in actinidicoltura (kiwi)

Termoidraulica

Lavori di sistemazione idraulica del suolo

Via Santa Maria, 3351 - 04010 Borgo Bainsizza (Latina)
Tel. +39 0773 643653 - Fax +39 0773 643074 - e-mail: arma@armasas.191.it