Dal laboratorio al campo: sviluppo e prime valutazioni di nuovi consorzi microbici contro la moria del kiwi

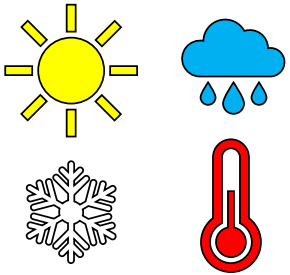
Chiara **Bernardini**, Davide **Tommasini**, Marta **Martini**, Paolo **Ermacora**
Università di Udine

con la collaborazione dei colleghi di UniTO e AGRION

SOS KIWI

PROGETTO Ager AGROALIMENTARE E RICERCA | FONDAZIONI IN RETE PER LA RICERCA AGROALIMENTARE

La MORIA del kiwi: una sindrome multifattoriale



1. Fattori Abiotici

• **Asfissia radicale**: compattamento del suolo e ristagni idrici

• **Stress termico**: temperature elevate del suolo

• **Cambiamenti climatici**: alternanza di periodi siccitosi e allagamenti

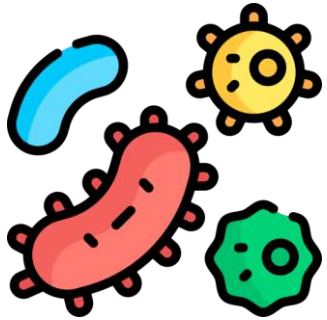


2. Disbiosi della Rizosfera

• **Rottura dell'equilibrio**: perdita di biodiversità microbica

• **Riduzione dei microrganismi benefici** (PGPR, funghi micorrizici)

• **Collasso del sistema**: Il suolo diventa 'ricettivo' per i patogeni anziché 'soppressivo'

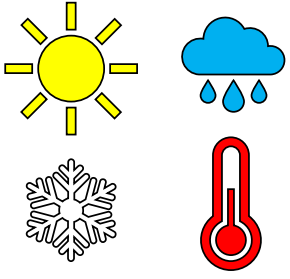


3. Fattori Biotici

• **Oomiceti** (patogeni primari): *Phytophthora* e *Phytopythium* spp.

• **Attacco secondario**: funghi e batteri opportunisti

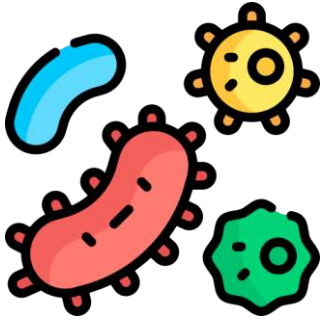
La MORIA del kiwi: una sindrome multifattoriale



1. Fattori Abiotici



2. Disbiosi della Rizosfera



3. Fattori Biotici



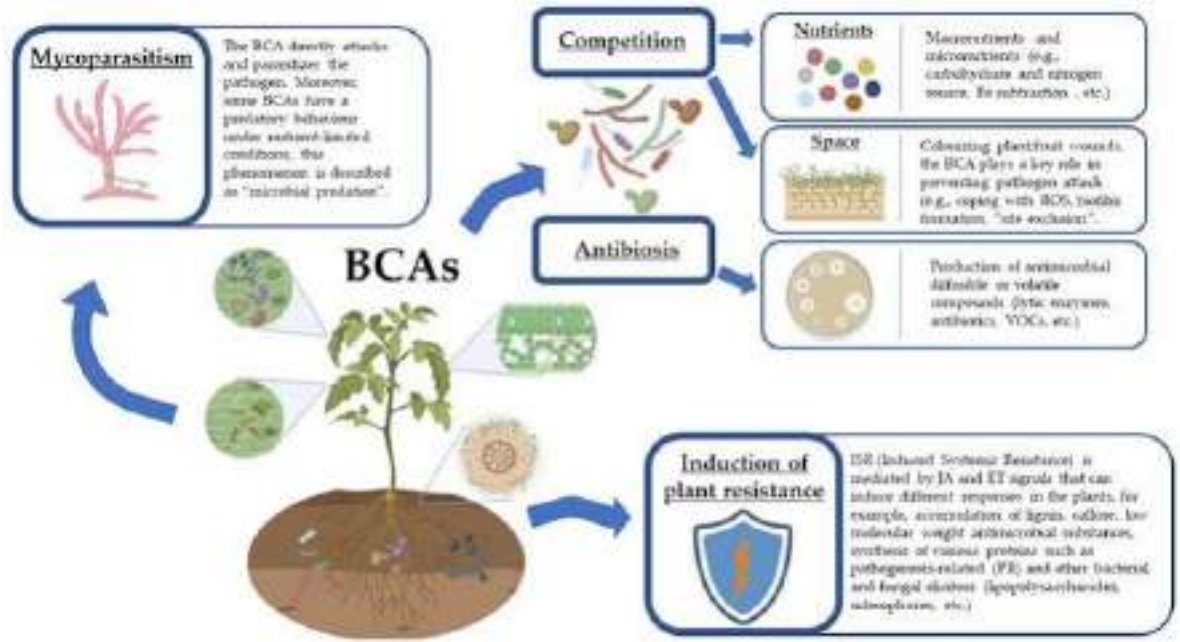
Obiettivo 4 del progetto SOS-Kiwi

Sviluppare strategie innovative di prevenzione e contenimento basate su **consorzi di microrganismi biocompetitori (BCA)** per contrastare la diffusione della moria e preservare la salute del suolo



I BCA contro i patogeni del suolo

- Agenti di biocontrollo: microrganismi (**funghi e batteri benefici**) usati per contrastare le malattie delle piante.
- Alternativa biologica e sicura ai fitofarmaci chimici di sintesi.

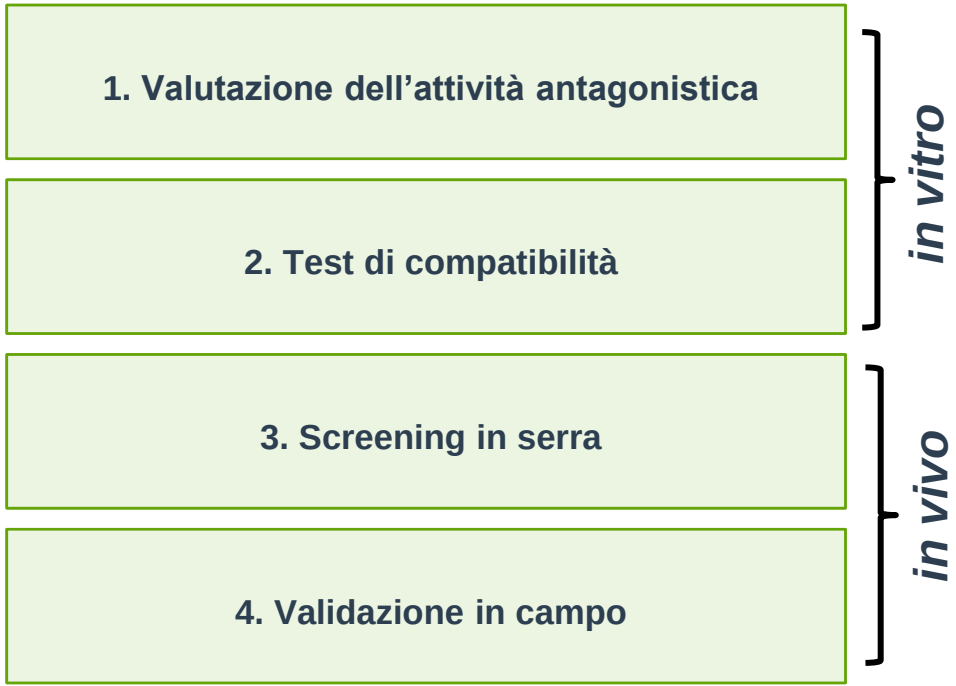


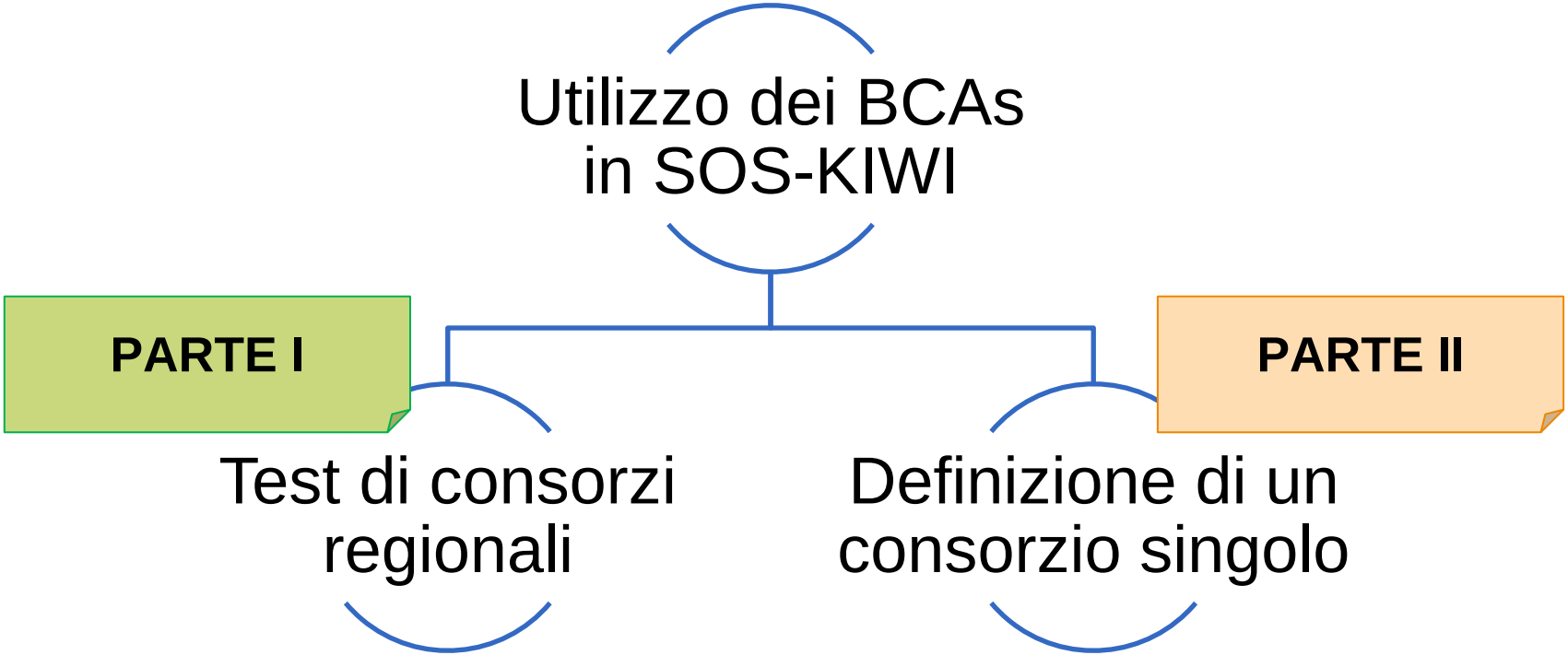
Sviluppo di Consorzi BCA: PERCHÈ e COME

L'IMPORTANZA DEL CONSORZIO VS SINGOLO BCA

- **Azione sinergica**
- **Maggiore persistenza:** Colonizzazione stabile della rizosfera e resistenza agli stress biologici.
- **Stimolo alla pianta**
- **Ripristino del suolo:** Ricostituzione della biodiversità

I 4 STEP DI SVILUPPO




Utilizzo dei BCAs
in SOS-KIWI
PARTE I
PARTE II
Test di consorzi
regionali
Definizione di un
consorzio singolo

I consorzi BCA per l'Obiettivo 4

PARTE I

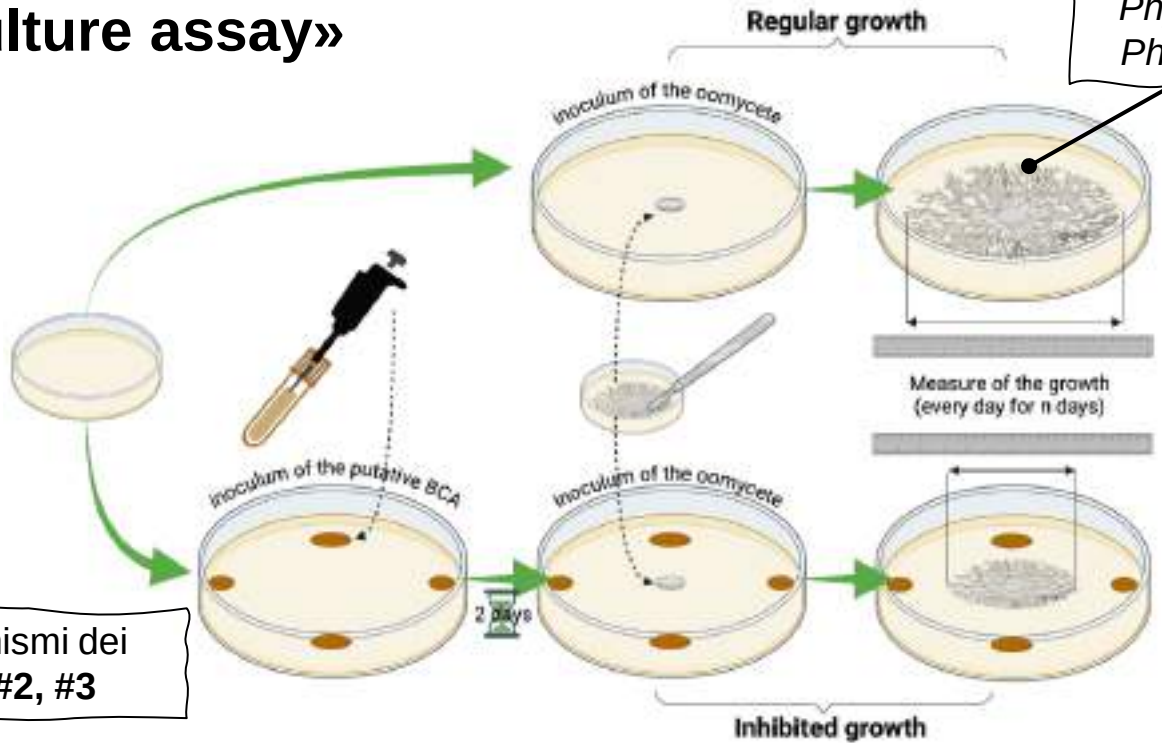
#1 UniUD	*Pseudomonas protegens*-related strain *11*	Pf11
	Pseudomonas protegens-related strain *4*	Pf4
	Pseudomonas asplenii	Pa4A7
#2 UniTO	*Streptomyces macrosporeus*	BAP2B11
	Streptomyces prasinosporus/rubrogriseus	BAP4B16
	Streptomyces chartreusis/pseudovenezuelae	BAP2B8
	Streptomyces tendae	SAP1B14
	Streptomyces macrosporeus/atrovirens	SAP2B19
#3 UniRC	*Serratia plymuthica*	T24/12
	Pseudomonas BS 7/A	BS7/A
	Pseudomonas BS 9/A	BS9/A
	Pseudomonas lactis	BS5/A



Prove *in vitro*: come siamo arrivati ai consorzi BCA

PARTE I

1. «Dual culture assay»



Phytopythium spp.
Phytophthora spp.

Misurazione costante del raggio di crescita della coltura di oomiceti.

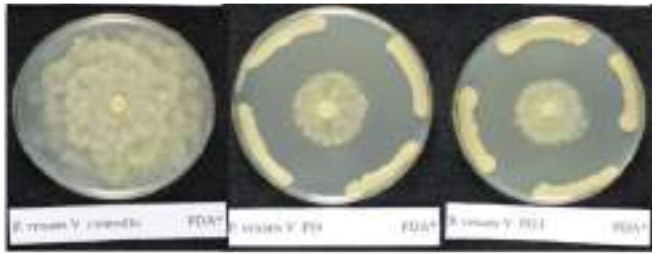
Tutti i microrganismi dei **consorzi #1, #2, #3**

Risultati di «Dual culture assay» consorzio #1

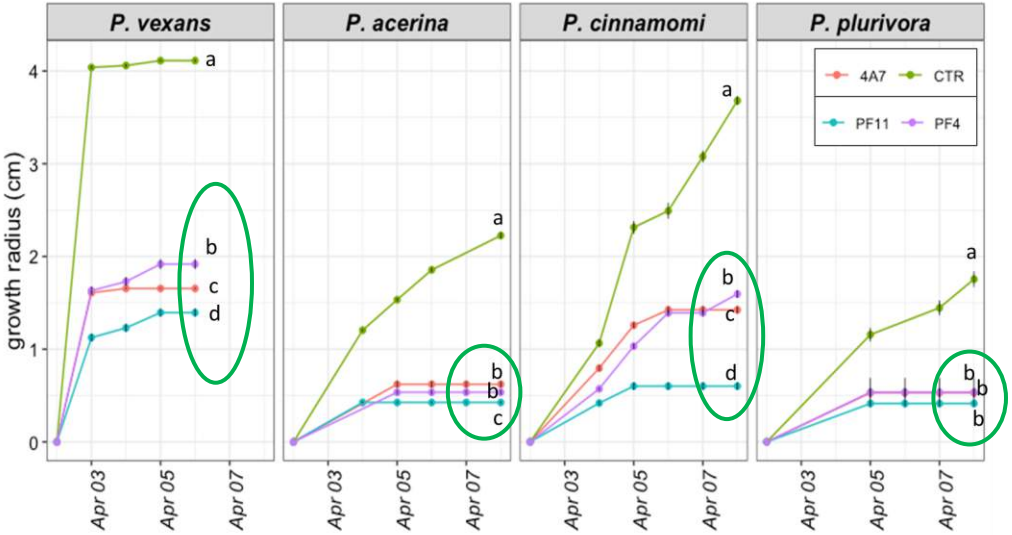
PARTE I

- **Potenziali BCA**: *Pseudomonas protegens*-related Pf11 e Pf4, e *P. asplenii* Pa4A7;

- **Oomiceti**: *Phytopythium vexans*, *Phytophthora acerina*, *P. cinnamomi* e *P. plurivora (P. sojae*-like non è stata ancora isolata*)*



Raggio di crescita dei 4 oomiceti

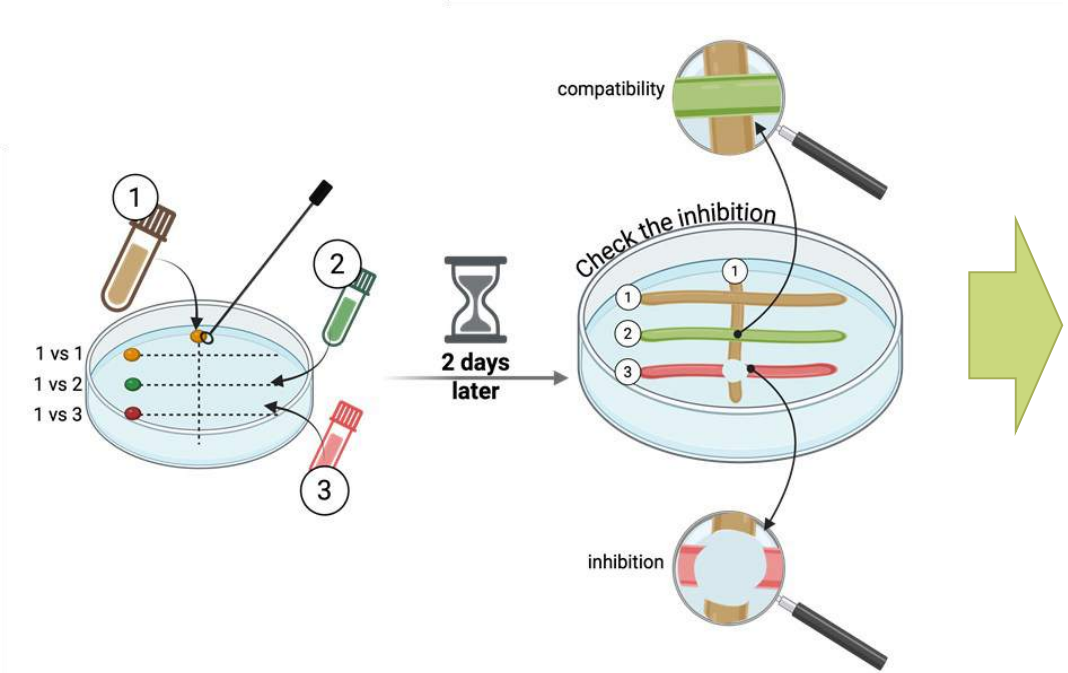


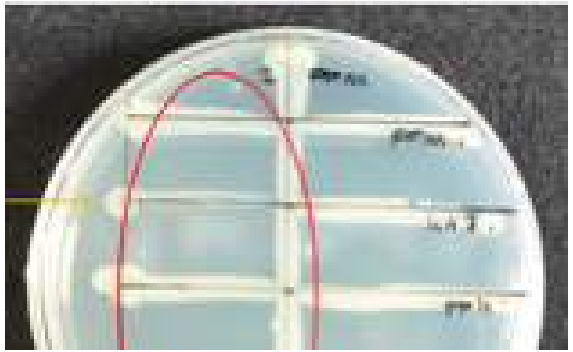
- **Pf11 ha mostrato una superiore** attività antagonistica

Prove *in vitro*: come siamo arrivati ai consorzi BCA

PARTE I

2. «Cross-streak assay» **(test di compatibilità)** per verificare se i ceppi possono condividere la stessa nicchia ecologica (rizosfera)



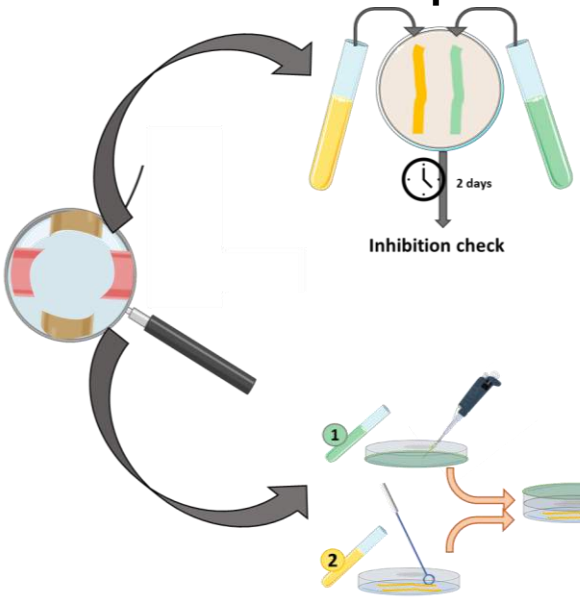


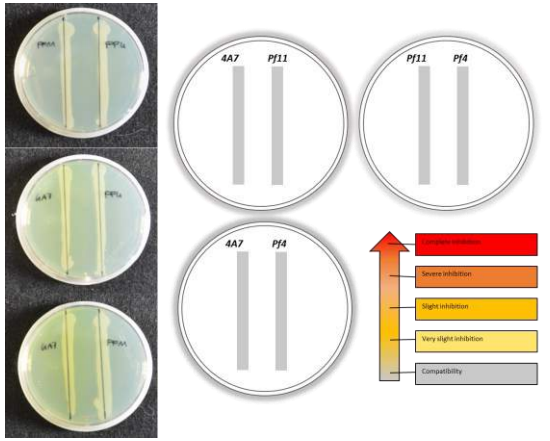
possibile inibizione di Pa4A7 quando è in prossimità di Pf4 e Pf11 mediata da sostanze diffondibili o volatili

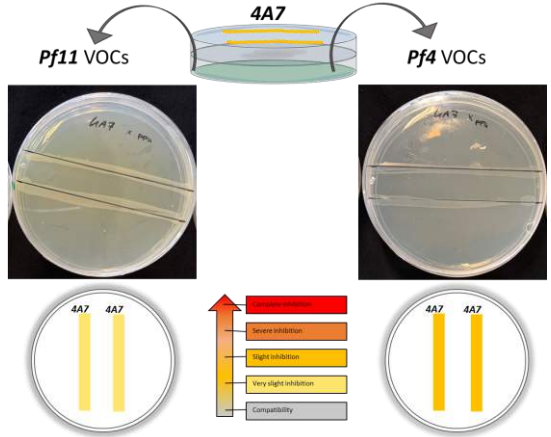
Prove *in vitro*: come siamo arrivati ai consorzi BCA

PARTE I

3. «Mutual compatibility test»







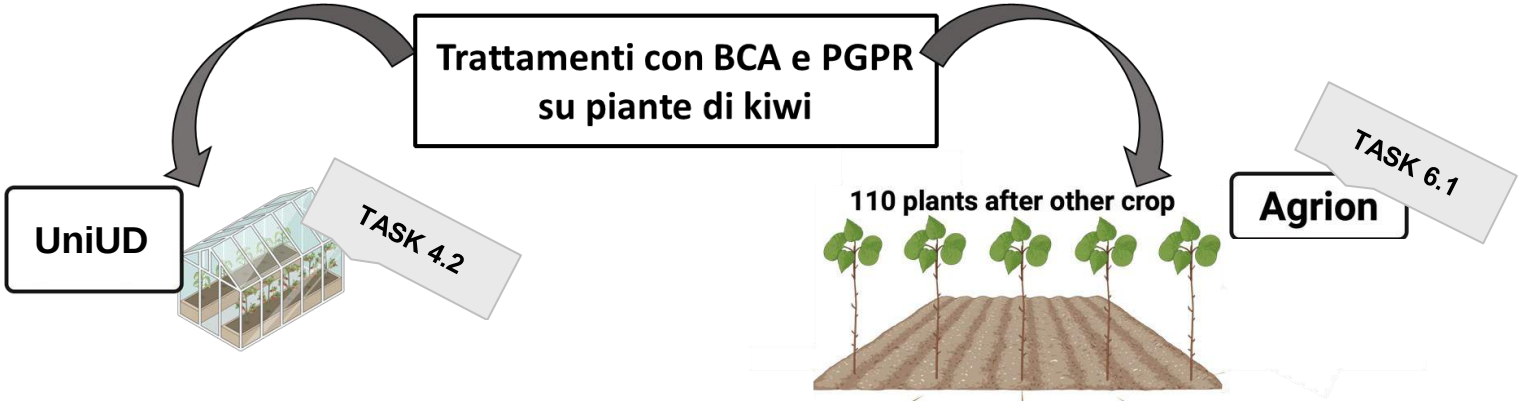
4. «Double Petri dish assay» per verificare produzione di sostanze volatili (VOCs)

I 3 ceppi di *Pseudomonas* **sono risultati compatibili**; solo i VOCs prodotti da Pf11 e Pf4 hanno leggermente inibito Pa4A7

Pf11, Pf4 e Pa4A7 utilizzati per consorzio #1

Prove *in vivo* con i singoli BCA e i consorzi BCA

PARTE I

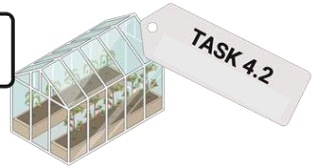


Prove **in ambiente controllato**

Prove **in campo**

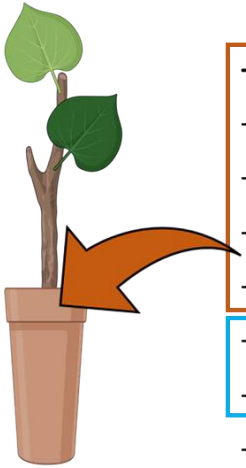
SOS KIWI

UniUD



Prove *in vivo* con singoli BCA contro la moria (2024)

PARTE I



suolo infetto

BCA

- **Amylo-X®** LC (*Bacillus amyloliquefaciens* strain D747),
- **Remedier** (*Trichoderma gamsii* ICC 080 e *T. harzianum* ICC 012),
- **Micosat F®** (consorzio microbiologico)
- ***Pseudomonas asplenii*** strain **4A7 (Pa4A7)**, collezione microbiologica di UniUD
- ***P. protegens*-related** strains **4** e **11 (Pf4 e Pf11)**, collezione microbiologica di UniUD

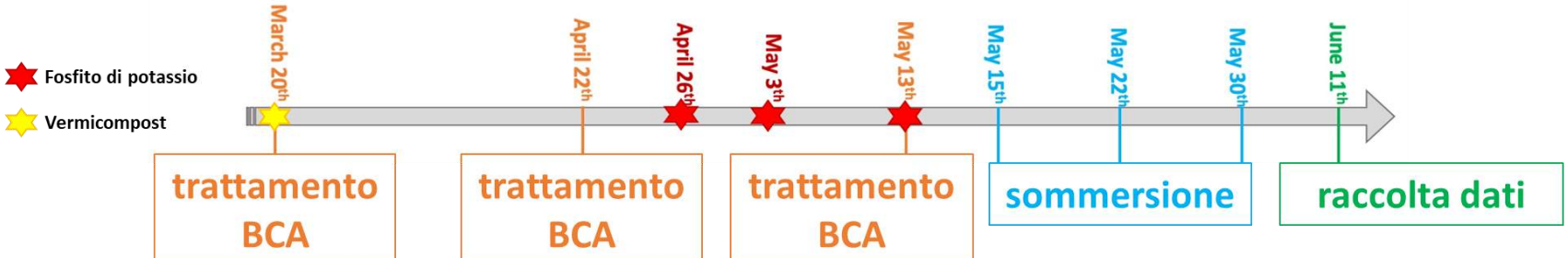
Altri trattamenti

- **Vermicompost** (ammendante del suolo)
- **Fosfito di potassio** (applicazioni fogliari)

- Piante controllo non trattate

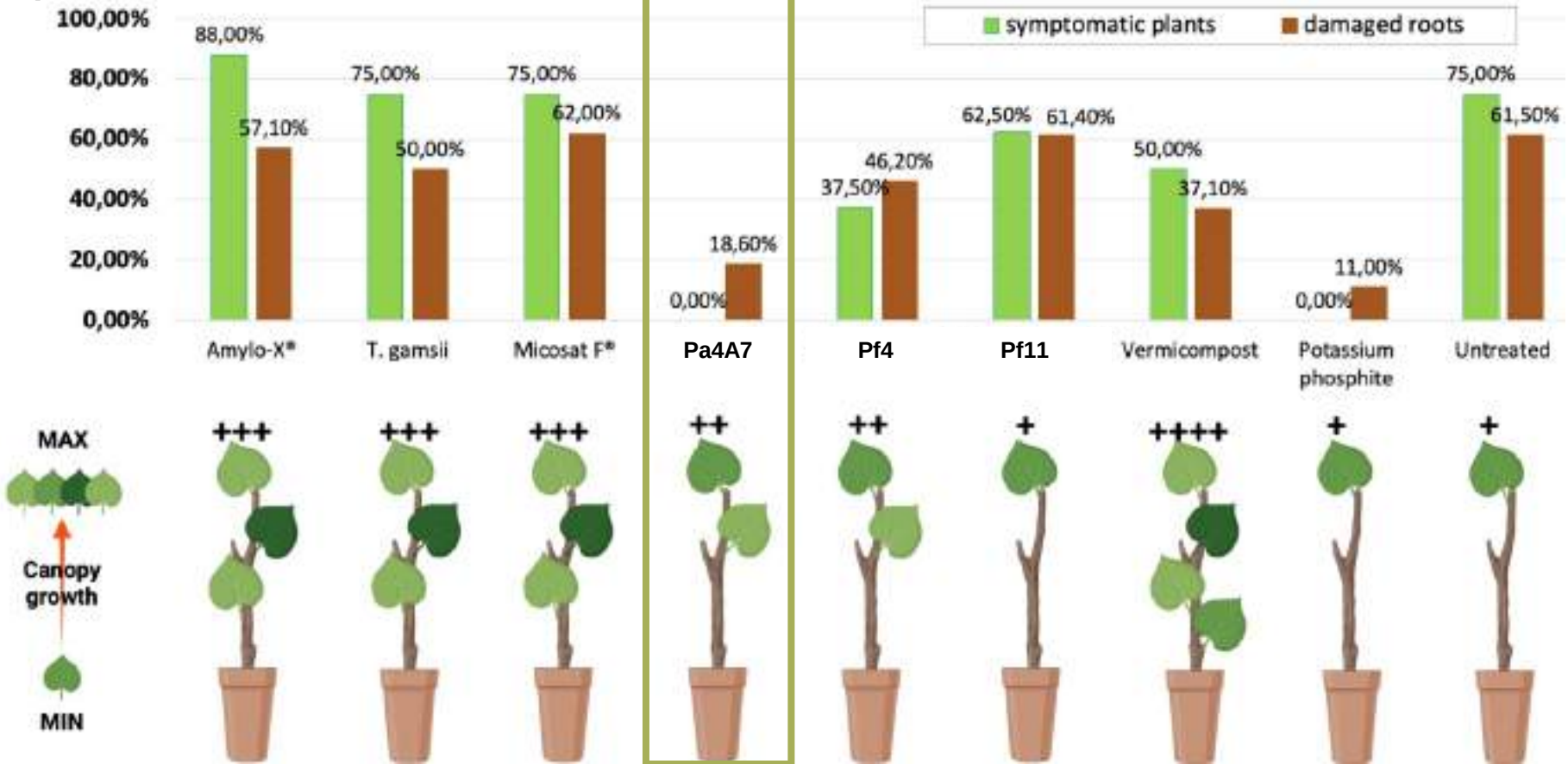


suolo infetto



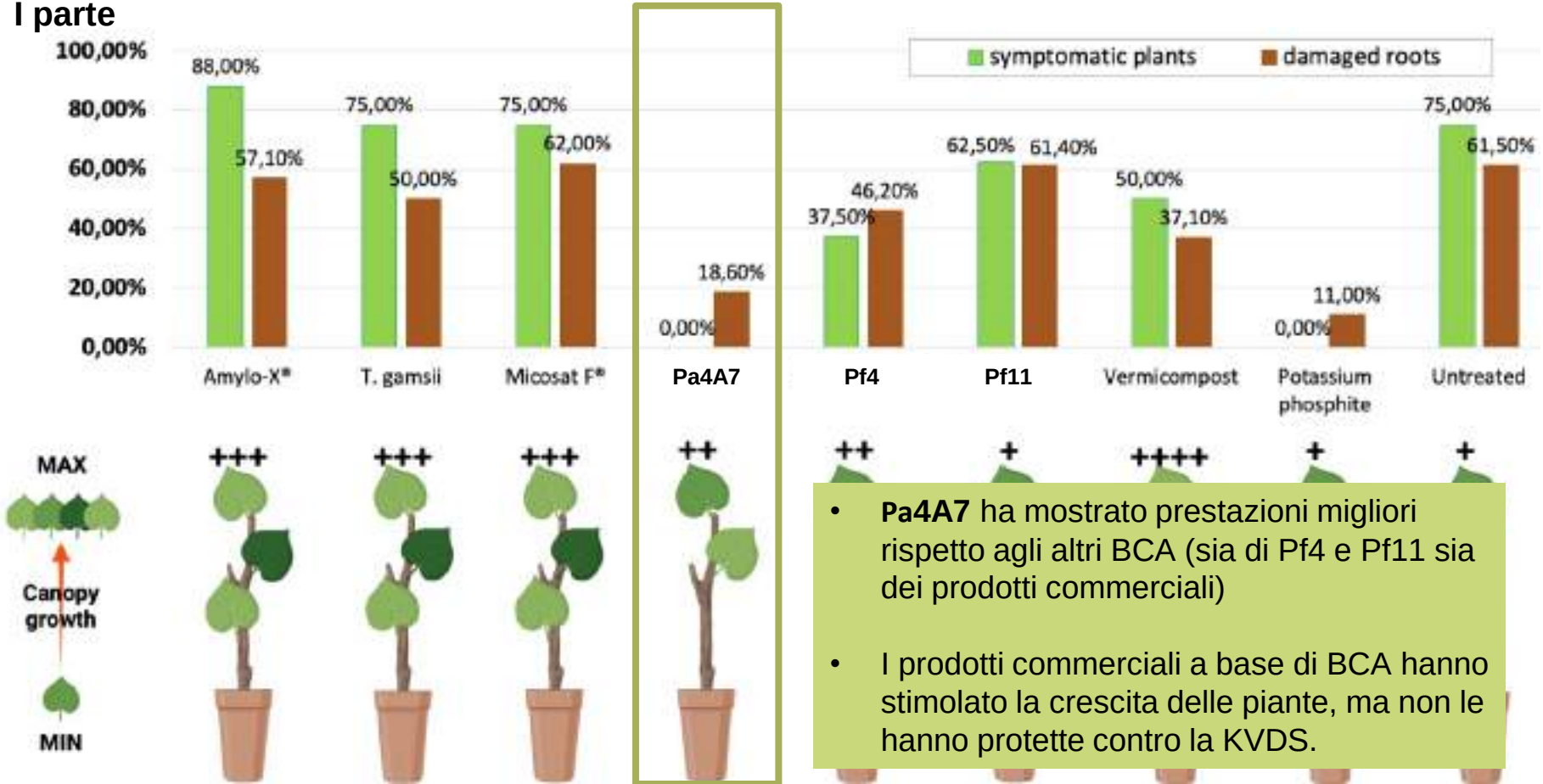
Prove *in vivo*: risultati della prova con singoli BCA

I parte



Prove *in vivo*: risultati della prova con singoli BCA

I parte

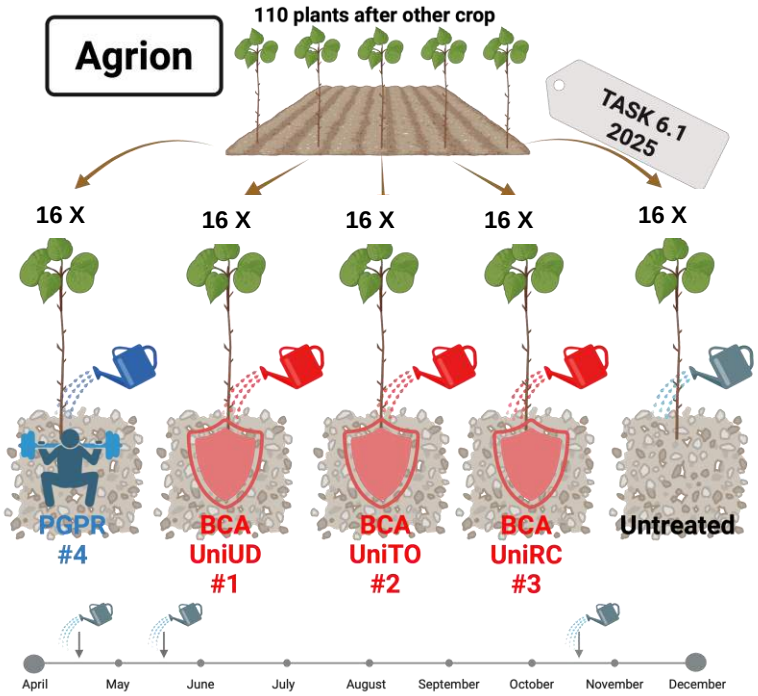


- **Pa4A7** ha mostrato prestazioni migliori rispetto agli altri BCA (sia di Pf4 e Pf11 sia dei prodotti commerciali)
- I prodotti commerciali a base di BCA hanno stimolato la crescita delle piante, ma non le hanno protette contro la KVDS.

Prove *in vivo* con i consorzi BCA (2025)

PARTE I

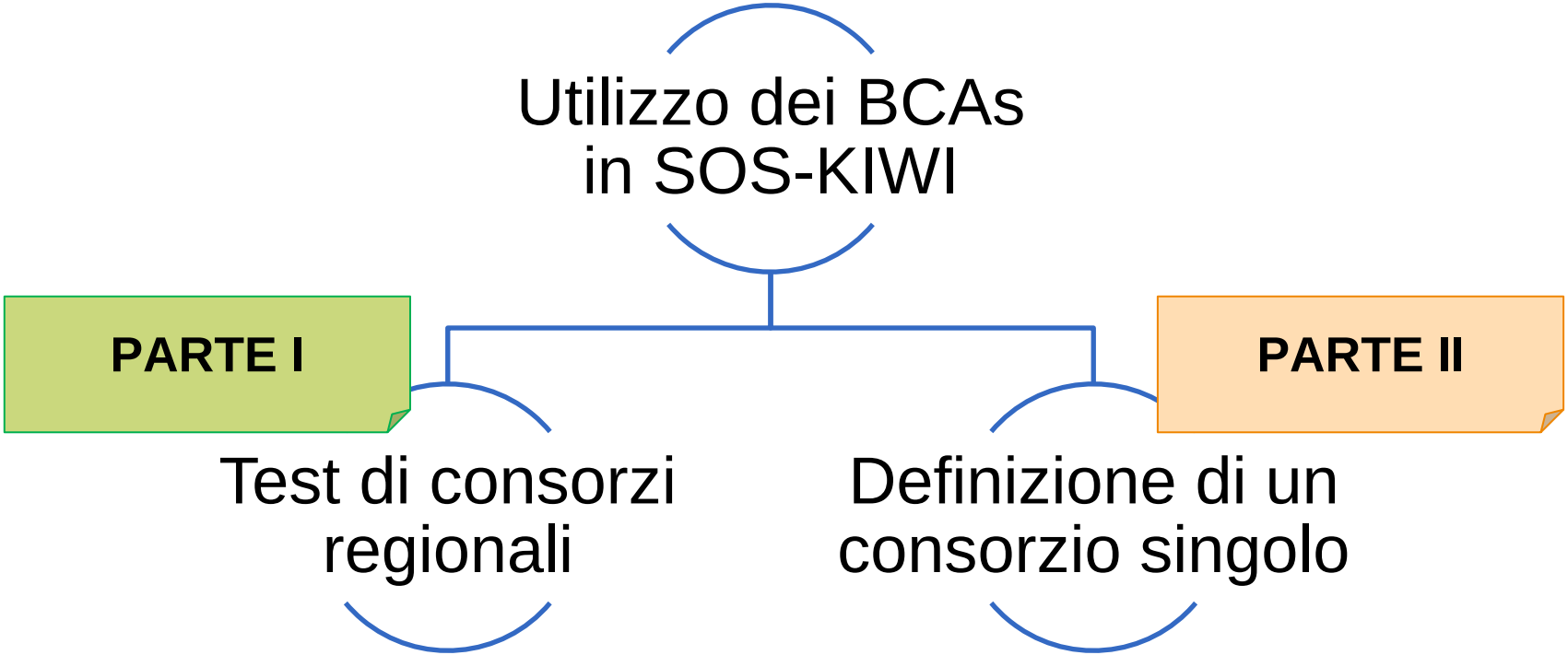
Prova in campo con i 3 consorzi BCA mediante 3 trattamenti di bagnatura



Il rilievo sulla presenza di sintomi a inizio autunno ha evidenziato che tutte le radici sembravano sane

Campionamento e analisi molecolari qPCR hanno confermato che tutti i campioni di radice erano **negativi a *Phy. vexans* e a *P. sojae*-like**

Attualmente assenza di malattia in questo actinidieto


Utilizzo dei BCAs
in SOS-KIWI
PARTE I
PARTE II
Test di consorzi
regionali
Definizione di un
consorzio singolo

Prove *in vitro*: come siamo arrivati al consorzio finale BCA

PARTE II



#1 UniUD	*Pseudomonas protegens*-related strain *11*	Pf11	**Gammaproteo bacteria Gram-**
	Pseudomonas protegens-rel	Pf4	
	Pseudomonas asplenii	Pa4A7	
#2 UniTO	*Streptomyces macrosporeus*	BAP2B11	**Actinomycetes Gram+**
	Streptomyces prasinosporus/rubrogriseus	BAP4B16	
	Streptomyces chartreusis/pseudovenezuelae	BAP2B8	
	Streptomyces tendae	SAP1B14	
	Streptomyces macrosporeus/atrovirens	SAP2B19	
#3 UniRC	*Serratia plymuthica*	T24/12	**Gammaproteo bacteria Gram-**
	Pseudomonas BS 7/A	BS7/A	
	Pseudomonas BS 9/A	BS9/A	
	Pseudomonas lactis	BS5/A	

Prove *in vitro*: come siamo arrivati al consorzio finale BCA

PARTE II

BCA (Gammaproteobacteria Gram-) dei consorzi #1 e #3

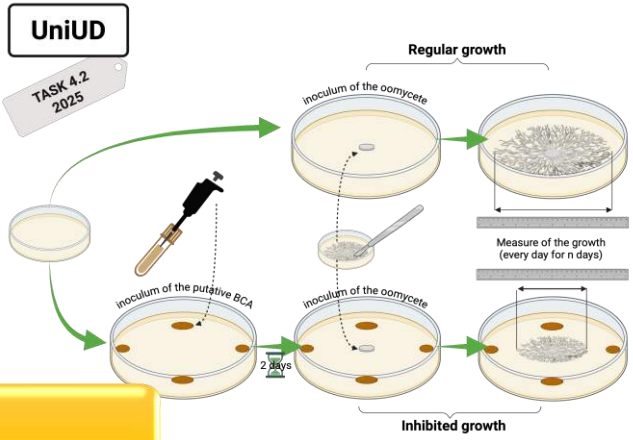
contro: Phy. ve*xans* e *Phytophthora* spp.

(*P. acerina*, *P. plurivora*, *P. cinnamomi*)

Selezionare condizioni standard

Eseguire l'esperimento

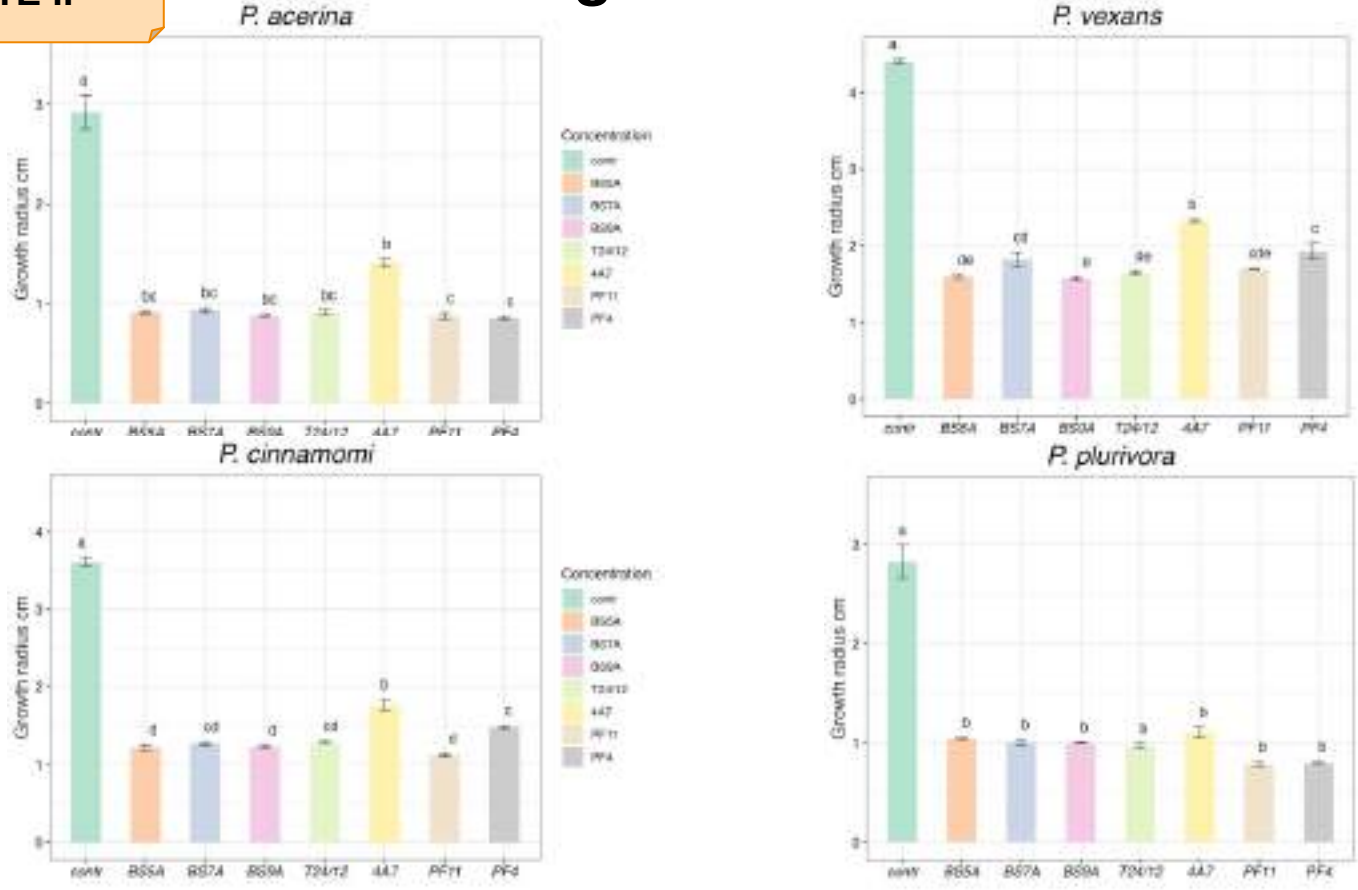
Analizzare i resultati e assegnare un indice



SOS KIWI

PARTE II

Prove *in vitro*: analisi dei risultati e assegnazione index



Prove *in vitro*: analisi dei risultati e assegnazione index

PARTE II

Pseudomonas protegens - related	Pf11	11.5
Pseudomonas lactis	BS5A	10
Pseudomonas sp.	BS9A	10
Serratia plymuthica	T24/12	10
Pseudomonas sp.	BS7A	9,5
Pseudomonas protegens - related	Pf4	9
Pseudomonas asplenii	4A7	4



«Mutual compatibility test» con Pf11, BS5A, BS9A e T24/12 ha dimostrato che **sono compatibili** e che potevano costituire il **consorzio finale BCA:**

Best BCAs

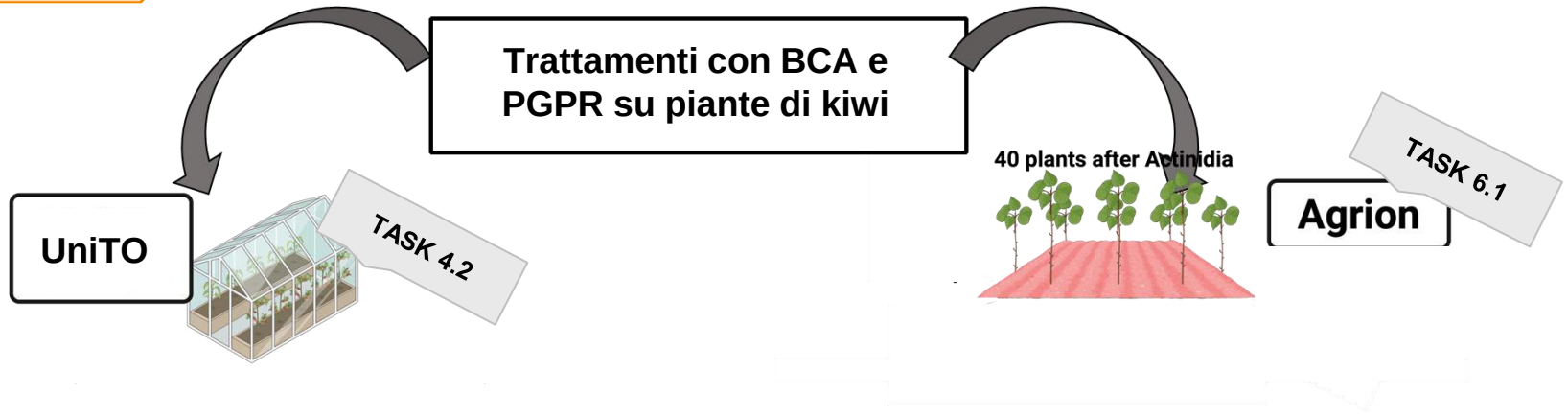
Streptomyces UniTO

BAP2B11

SAP2B19

Prove *in vivo* con consorzio finale BCA (2026)

PARTE II



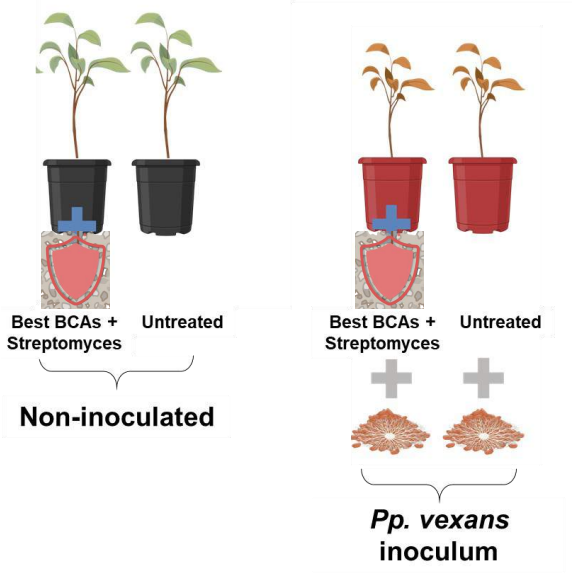
Prove **in ambiente controllato**

Prove **in campo**

Prova *in vivo* con consorzio finale BCA - set up

PARTE II





Trattamento

7 g prima dell'inoculazione, trattamento al suolo con consorzio

Inoculazione

Inoculazione con *Phytopythium vexans*

Sommersione

2 giorni dopo l'inoculazione, prima sommersione (48 ore)

Rilievi

Rilievi settimanali di indice di malattia

Sommersione

5 settimane dopo l'inoculazione, seconda sommersione (48 ore)

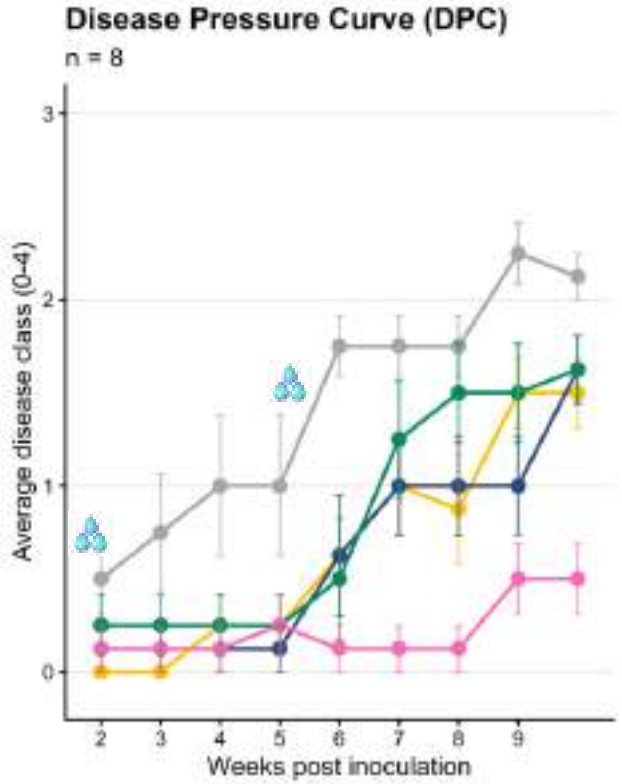
Rilievi

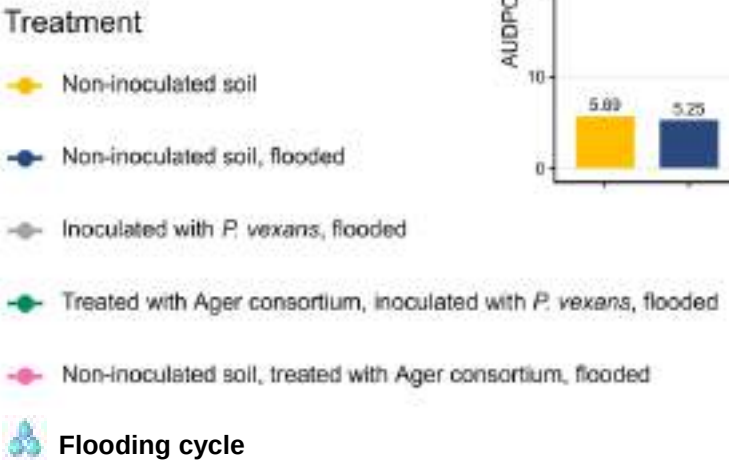
Rilievi settimanali di indice di malattia

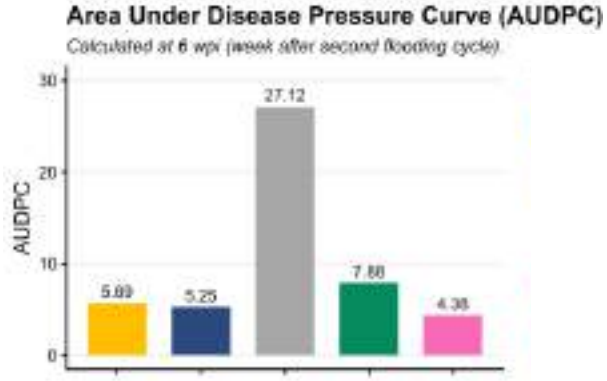
SOS KIWI

PARTE II

Prova *in vivo* con consorzio finale BCA – progressione della malattia

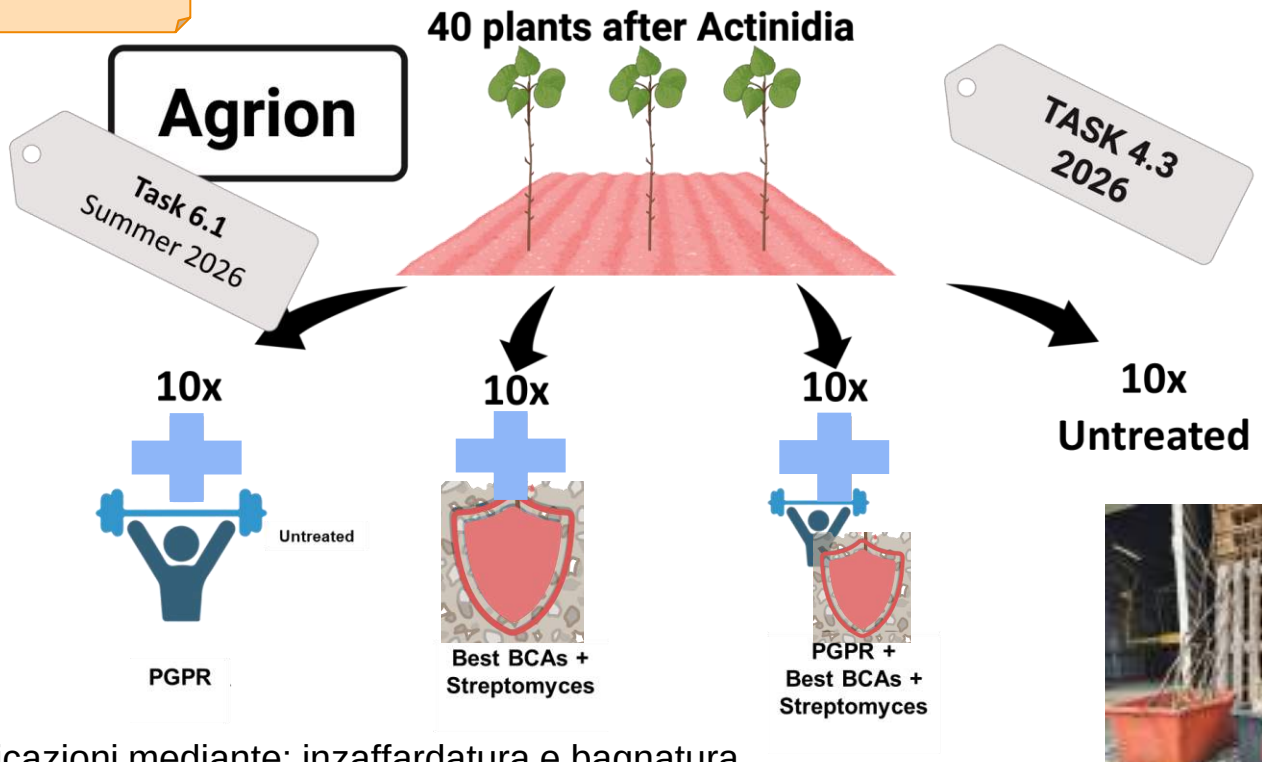






Prova *in vivo* con consorzio finale BCA

PARTE II



Analisi molecolari qPCR a fine 2025 hanno confermato la presenza di *Phy. vexans* e *P. sojae*-like.

2 applicazioni mediante: inzaffardatura e bagnatura

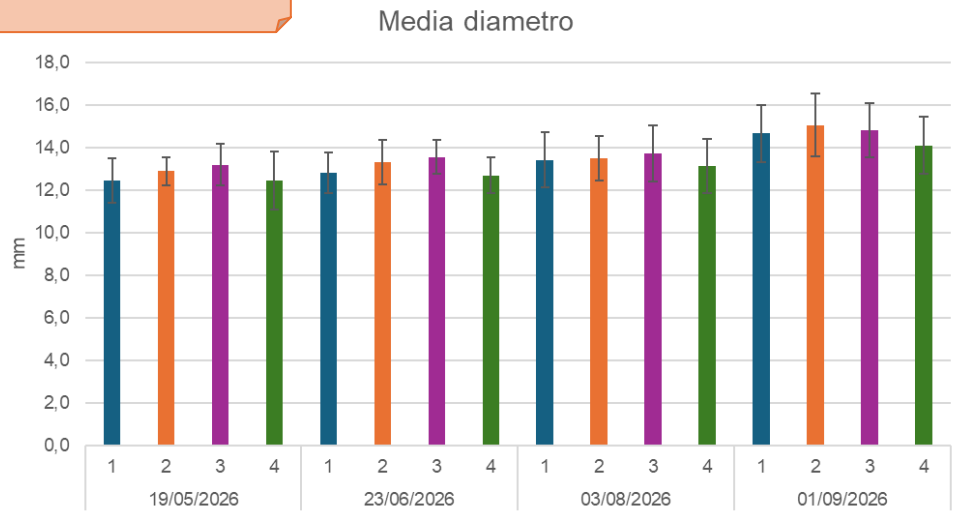


Fase del trapianto (inzaffardatura, bagno radicale)

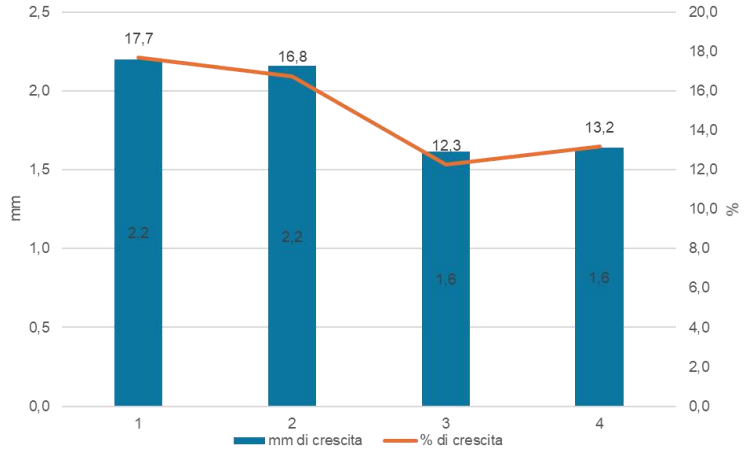


Prova *in vivo* con consorzio finale BCA

PARTE II



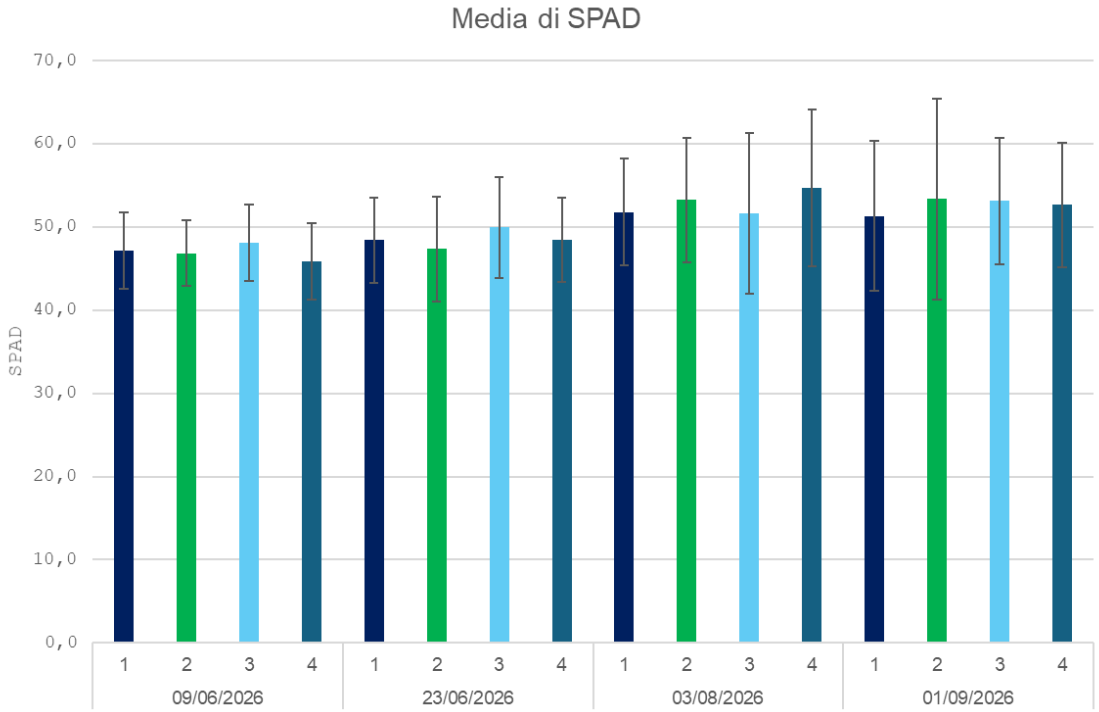
Nessuna differenza significativa



tesi 1: testimone
tesi 2: PGPR
tesi 3: Best BCAs + Streptomyces
tesi 4: PGPR + Best BCAs + Streptomyces

Prova *in vivo* con consorzio finale BCA

PARTE II



tesi 1: testimone
tesi 2: PGPR
tesi 3: Best BCAs + Streptomyces
tesi 4: PGPR + Best BCAs + Streptomyces

Nessuna differenza significativa

Prova *in vivo* con consorzio finale BCA

PARTE II

che hanno presentato i sintomi e attualmente sono completamente defogliate sono in totale 6:

1 → tesi 1 (testimone)
2 → tesi 2 (PGPR)
2 → tesi 3 (Best BCAs + Streptomyces)
1 → tesi 4 (PGPR + Best BCAs + Streptomyces)

% di piante colpite (10%-20%)

- Monitoraggio sintomi
- Rilievi fenotipici e fisiologici
- Analisi molecolari **qPCR** per oomiceti (*Phy. vexans* e *P. sojae*-like) e BCA (es. Pf11), e **metabarcoding** per intera comunità microbica


TESI 3: pianta con sintomi


TESI 2: pianta con sintomi


TESI 3: radici con sintomi


TESI 4: radici con sintomi

Conclusioni

- **Selezionati *in vitro* potenziali BCA molto efficaci nell'inibire la crescita degli oomiceti patogeni**
- **Sviluppo di consorzio finale di BCA compatibili**
- **Applicazioni *in vivo* in condizioni controllate con risultati promettenti**
- **Non facili da ripetere per:**
    i. cadenza annuale delle sperimentazioni
    ii. utilizzo di piante da vivaio con proprio microbiota nativo
    iii. fattori abiotici difficili da controllare

SOS KIWI

Un progetto sostenuto da AGER, coordinato dall'Università degli Studi di Udine,

in collaborazione con:

Università degli Studi di Torino
Università degli Studi Mediterranea di Reggio Calabria
Università degli Studi di Napoli Federico II
Fondazione AGRION