

# Conservazione e valorizzazione di **biotipi autoctoni di Renetta**

*di Morgan Diemoz e Ivan Barrel  
Institut Agricole Régional*

**L**a Renetta è una varietà di mela tradizionale caratterizzata da particolari qualità organolettiche il cui rilancio appare sempre più legato alla valorizzazione delle tipicità agro-territoriali delle zone di origine.

Questa varietà riveste da sempre un ruolo importante nella frutticoltura valdostana, purtroppo però negli ultimi anni la superficie coltivata a Renetta ha subito un forte calo causato principalmente da problemi legati alla difficoltà di coltivazione: produttività limitata, forte alternanza produttiva, sensibilità alla monilia e alla butteratura amara, conservazione limitata, presenza di fitoplasmi e virosi e mancanza di cloni autoctoni riconosciuti.

A fronte di questi problemi, l'Institut Agricole Régional, convinto della necessità di mantenere e valorizzare questa varietà tradizionale, ha intrapreso un progetto per trovare delle soluzioni attraverso l'individuazione di biotipi autoctoni. La ricerca di biotipi di Renetta sul territorio valdostano, iniziata dal canonico Duverney agli inizi degli anni '90, aveva lo scopo principale di individuare e rivalutare questa varietà ai fini prettamente commerciali. Per questo motivo il progetto di ricerca si poneva l'obiettivo di verificare, su 5 biotipi selezionati e innestati sul portinnesto M26 e successivamente su M9, l'influenza del-

la termoterapia sullo sviluppo vegetativo delle piante e sulle caratteristiche organolettiche dei frutti (Foto 1 e 2).



*Foto 1- Renetta Canada*



*Foto 2- Renetta Grigia*

Nel corso degli anni il progetto iniziale si è arricchito di nuovi obiettivi finalizzati al recupero e alla conservazione della biodiversità dei biotipi di Renetta locali per rivalutare il patrimonio naturale legato al territorio.

L'attività di ricerca e sperimentazione sulla Renetta punta dunque al mantenimento della diversità biologica e alla conservazione di tutto il materiale selezionato, senza trascurare la reintroduzione dei biotipi ritenuti più interessanti a livello commerciale in coltura specializzata in modo da ampliare la gamma di prodotti tipici regionali in commercio.

Pertanto, l'Institut Agricole Régional ha intrapreso nel 1994 un programma di ricerca, in collaborazione con il Centro di Attività Vivaistiche di Faenza (CAV), per il risanamento e la costituzione di piante madri di Renetta esenti da virus e da altri patogeni di natura infettiva; tale selezione è stata resa più difficile e più lunga dalla necessità di ricorrere alla termoterapia.

Il CAV, Centro Attività Vivaistiche, è una cooperativa di vivaisti che fornisce dei servizi di analisi, controllo, produzione e conservazione di piante certificate sia dal punto di vista genetico che da quello sanitario, il tutto nell'ambito del Sistema di Certificazione Nazionale.

Le fasi principali del progetto di certificazione sanitaria pos-

sono essere sintetizzate come segue:

- 1- Individuazione dei biotipi di Renetta Canada e Renetta Grigia;
- 2- Prelievo del materiale vegetativo;
- 3- Diagnosi fitopatologica presso il CAV;
- 4- Premoltiplicazione (in serra e in pieno campo);
- 5- Termoterapia;
- 6- Verifica dello stato sanitario delle piante ottenute;
- 7- Piante madri di base conservate in vaso presso il CAV e sottoposte a controlli sanitari periodici;
- 8- Piante madri conservate presso lo IAR per la costituzione di un vivaio ai fini della moltiplicazione;
- 9- Moltiplicazione presso vivai specializzati ai fini della vendita di materiale certificato.

**Descrizione delle procedure per il risanamento**

I primi biotipi di Renetta Canada e di Renetta Grigia sono stati selezionati, agli inizi degli anni '90, per l'aspetto caratteristico dei frutti, valutando forma, colore, grana della buccia e presenza della caratteristica rugginosità. Dopo un'attenta valutazione sono stati individuati 5 biotipi nei seguenti frutteti: Proprietario: Viérin Ivo; Comune: Jovençan; Renetta Canada (V2); Proprietario: Praz Grato; Comune: Jovençan; Renetta Canada (V4); Proprietario: Paillex Italo; Comune: Saint-Pierre; Renetta Canada (V7); Proprietario: Institut Agricole Régional; Comune: Aosta; Renetta Canada (V9) e Renetta Grigia (G11). Il materiale vegetativo prelevato



Foto 3 - Marzaio ricoperto dalla rete anti afide (IAR)



Foto 4 - Piante madri (IAR)

to dalle piante contrassegnate (V2, V4, V7, V9 e V11) è stato inviato al CAV per effettuare una prima analisi fitopatologica e, in seguito, la premoltiplicazione e il mantenimento del materiale di base in opportune strutture di conservazione (screen-house). Sulle nuove piantine ottenute è stata effettuata una prima diagnosi mediante osservazione al microscopio ottico a fluorescenza (test DAPI) per individuare la presenza di eventuali fitoplasmi. Alcuni dei campioni sono stati

sottoposti ad un ulteriore test basato su tecniche di biologia molecolare che mettono in evidenza i fitoplasmi attraverso l'amplificazione di una parte di sequenza nucleotidica del DNA di un loro specifico gene (PCR). Questo test è stato effettuato presso l'Istituto di Patologia Vegetale di Bologna. Una volta accertata la presenza di virus e di fitoplasmi, le piantine sono state sottoposte a termoterapia per ottenere del materiale sano. Il trattamento è stato eseguito ponendo a vegetare le piante in



Foto 5 - Prelievo delle marze per la moltiplicazione

un'apposita cella climatizzata dove la temperatura, dopo un periodo iniziale di 2 settimane di acclimatamento a 25°C, viene innalzata di un grado giorno fino a raggiungere i 36-38°C. All'interno della cella il fotoperiodo è regolato in modo che le piante ricevano 16 ore di luce e 8 ore di buio.

Dopo circa 50 giorni di accrescimento a 36-38°, dalle piante sono stati asportati da 5 a 8 germogli apicali, alcuni dei quali sono stati posti a vegetare in vitro attraverso un substrato nutritivo, altri invece, come percorso parallelo a quello condotto con la moltiplicazione in vitro, sono stati innestati in verde su portainnesti di base.

Sia sulle piantine in vitro che su quelle innestate si sono ripetuti i controlli sanitari previsti dal Decreto della Certificazione Nazionale; in particolare si è usato il metodo sierologico (ELISA) per il controllo dei virus, e il metodo biologico (INDEXAGGIO) attraverso l'utilizzo di piante indicatrici. E' stato inoltre effettuato un ulteriore test applicando il pro-

collo di diagnosi per patogeni da quarantena (EPPD direttiva 2002/89/CE), per il controllo del batterio *Erwinia amylovora*, agente responsabile del colpo di fuoco batterico. Questa analisi prevede l'utilizzo di 100 gemme, dapprima arricchite con uno specifico tampone e isolate su piastra con due diversi substrati, dalle quali si estrae il DNA per analizzarlo con la tecnica molecolare della PCR.

Verificato lo stato sanitario delle piante ottenute, una parte del materiale è stato inviato all'Institut Agricole Régional per la costituzione di un campo di piante madri, mentre la restante parte è conservata presso il CAV in serra dove annualmente vengono ripetuti i controlli sanitari sopra descritti.

Le piante madri conservate presso l'Institut Agricole Régional sono a dimora

sotto una serra appositamente coperta da una rete anti-afide per evitare l'intrusione di insetti potenzialmente pericolosi per la trasmissione di malattie e salvaguardare, quindi, il materiale vegetale sano (Foto 3 e 4).

Ogni anno dalle piante madri è possibile prelevare del materiale vegetativo da utilizzare per la moltiplicazione e l'ottenimento, da parte di un vivaista certificato, di piante di Renetta Canada e Grigia originarie della Valle d'Aosta (Foto 5).

Inoltre dal 2009 l'Institut Agricole Régional, in collaborazione con la cooperativa Cofruits e il vivaista altoatesino Huber, ha stipulato una convenzione per il controllo sanitario, il risanamento e la moltiplicazione di 2 biotipi di Renetta individuati nella zona di Saint-Pierre. Attualmente il materiale vegetativo si trova in un centro per il risanamento e la costituzione di materiale sano in Olanda (Naktuinbouw, Fondazione olandese per il servizio ispettivo generale per l'agricoltura) (Foto 6).

In seguito alle prime analisi della PCR effettuate, sui due biotipi sono state riscontra-



Foto 6 - Renetta Canada individuata a Saint-Pierre

te rispettivamente le seguenti virosi: virus della maculatura fogliare clorotica del melo (ACLSV), virus della butteratura del legno del melo (ASPV); inoltre, sul biotipo di Renetta grigia, è stato riscontrato il virus della scanalatura del tronco (ASGV).

Coloro che volessero delle informazioni e fossero interessati alla coltivazione dei biotipi autoctoni di Renetta Canada e di Renetta Grigia possono

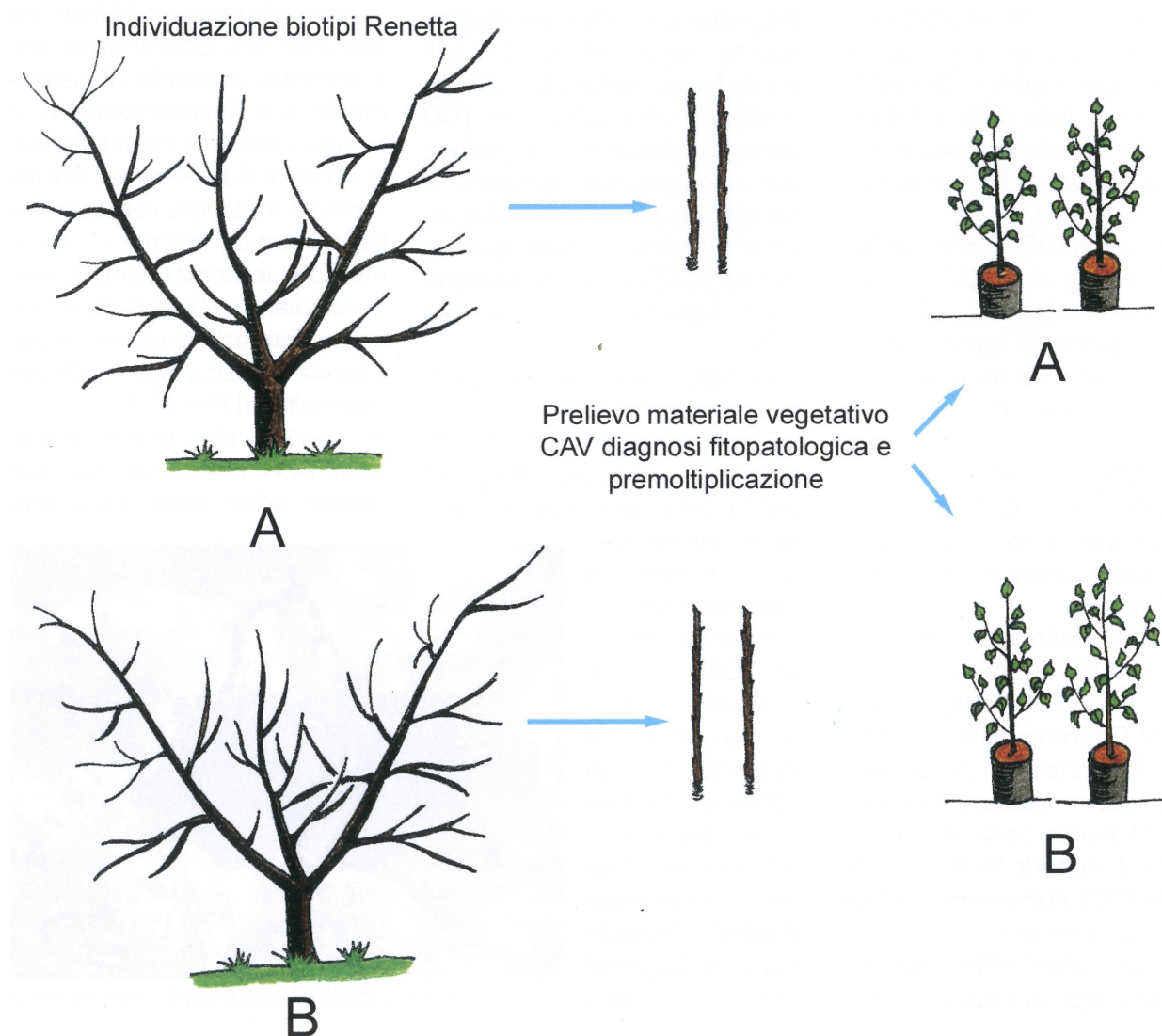
rivolgersi direttamente presso l'Institut Agricole Régional, con la consapevolezza che, dal momento della richiesta, è necessario aspettare da due a tre anni per ottenere le piante certificate.

L'importanza della valorizzazione di biotipi autoctoni di Renetta è legata principalmente alla richiesta sempre maggiore di prodotti locali e tipici, soprattutto in regioni turistiche come la Valle d'Aosta; si tratta di

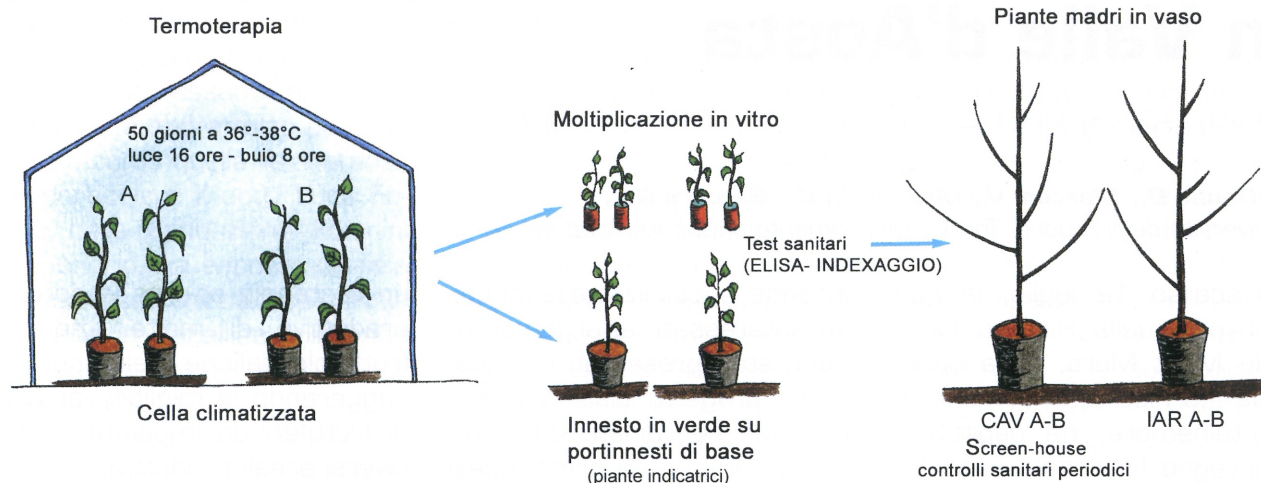
sfruttare questo filone commerciale che potrà in avvenire compensare con un prezzo più remunerativo la minore produttività della Renetta rispetto alle altre varietà più generose. La melicoltura valdostana, pur se molto marginale, si trova di fronte ad una sfida che deve affrontare mobilitando tutte le soluzioni tecniche a sua disposizione ma anche dimostrando più iniziative nel campo commerciale e di tipizzazione territoriale.

## Raffigurazione schematica delle fasi per la certificazione sanitaria e l'ottenimento di astoni certificati

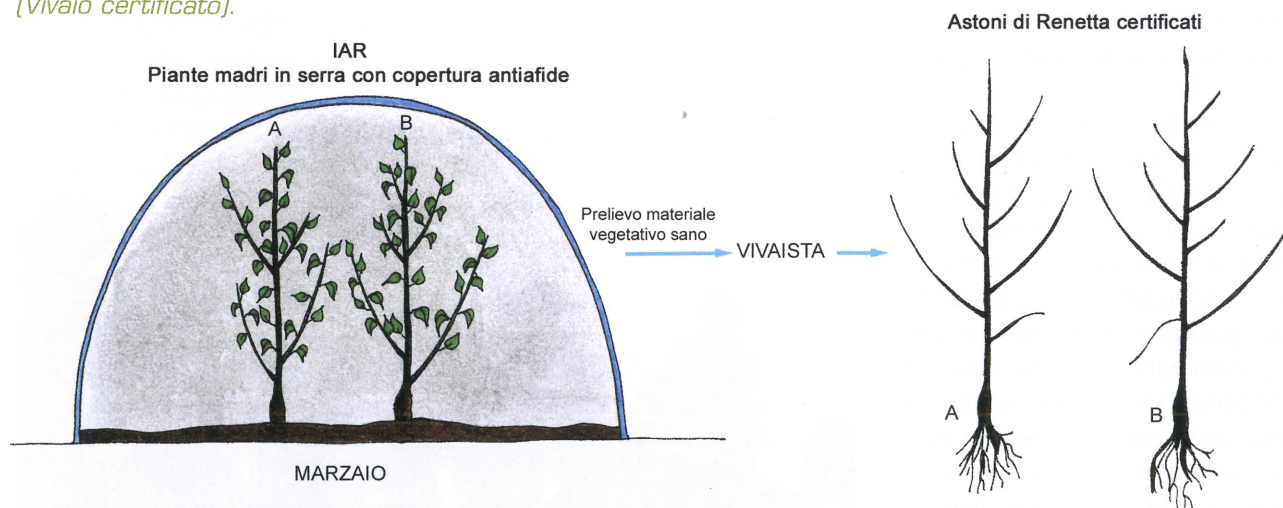
*Fase 1 - Individuazione, prelievo, diagnosi sanitaria e premoltiplicazione dei biotipi*



*Fase 2. Risanamento, test sanitari e ottenimento delle piante madri per la conservazione del germoplasma (CAV) e per la moltiplicazione (IAR)*



*Fase 3. Costituzione del marzaio per il prelievo del materiale vegetativo (IAR) e l'ottenimento degli astoni (Vivaio certificato).*



**BIOTIPI:** individui geneticamente quasi identici.

**TERMOTERAPIA:** trattamento termico applicato su piante in vegetazione a scopo curativo per risanare le parti apicali da infezioni da virus o da fitoplasmi. Pur non consentendo il risanamento completo delle piante sottoposte al trattamento termico, per periodi di settimane o mesi a temperature comprese fra i 32-40°C, consente di ottenere porzioni apicali di germogli esenti da virus e da fitoplasmi.

**DAPI:** test che permette di individuare, nel tessuto floematico del campione sotto controllo, la presenza di fitoplasmi il cui DNA viene specificatamente colorato dal fluorocromo DAPI ed evidenziato, all'osservazione al microscopio, sotto forma di granuli fluorescenti. Quando nel campione in osservazione non ci sono fitoplasmi, non si vedono neppure questi granuli fluorescenti che corrispondono alle colonie di fitoplasmi.

**PCR:** reazione a catena della polimerasi, dal campione vegetale viene estratto, mediante opportuni protocolli, l'acido nucleico il quale viene successivamente sottoposto a cicli di denaturazione e appaiamento di piccole sequenze di nucleotidi, detti "Primers" che fungono da innescio per l'azione di un enzima "polimerasi"; questo enzima produce ad ogni ciclo di denaturazione e appaiamento un aumento esponenziale (amplificazione) della quantità di acido nucleico del patogeno presente nel campione. La PCR è in grado di diagnosticare nel campione vegetale la presenza di patogeni a DNA (batteri, funghi, fitoplasmi). L'esito di un saggio PCR viene rilevato mediante corsa elettroforetica su gel di agarosio che permette di evidenziare, nei campioni infetti dal patogeno ricercato, la presenza del DNA amplificato.

**ELISA:** è l'acronimo dell'espressione inglese Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, un metodo di analisi immunologica utilizzato in laboratorio per rilevare la presenza di un dato antigene caratteristico di un organismo patogeno in un campione che ne è probabilmente affetto. Questo saggio si basa sul meccanismo di riconoscimento specifico tra antigene e anticorpo.

**INDEXAGGIO:** test che si basa sulla capacità di alcune piante, dette indicatrici, di mettere in evidenza la presenza di determinati patogeni. Sulla pianta indicatrice viene innestata una gemma o una porzione di corteccia del campione da saggiare. Dopo un tempo variabile da 6 mesi a 3 anni, a seconda della pianta indicatrice e del patogeno da saggiare, si possono osservare sintomi specifici sulle foglie o sul fusto scortecciato.