

# **Sessione 3: Biologia, fisiologia, difesa**

## **Progettare una difesa sostenibile da *Xylella*: un'approccio nanotecnologico** *Building a sustainable protection from Xylella: a nanotechnology-based approach*

**Giorgio Mariano Balestra<sup>1-4\*</sup>, Daniele Schiavi<sup>1</sup>, Muhammad A. Muawiya<sup>1</sup>, Linda Felici<sup>1</sup>, Cecilia Miccoli<sup>1</sup>, Domenico Rongai<sup>2</sup>, Maria Gabriella Di Serio<sup>2</sup>, Riccardo Ronchetti<sup>3</sup>, Paulina Wojtylo<sup>3</sup>, Stefano Giovagnoli<sup>3</sup>, Emidio Camaioni<sup>3</sup>, Vincenzo Tagliavento<sup>4</sup>, Serena Ciarroni<sup>4</sup>, Toufic Elbeaino<sup>5</sup>, Kaoutar El Handi<sup>5</sup>, Miloud Sabri<sup>5</sup>, Franco Valentini<sup>5</sup>**

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali, Università degli Studi della Tuscia, Viterbo

<sup>2</sup> CREA-IT PE Centro di ricerca Ingegneria e Trasformazioni agroalimentari, Pescara

<sup>3</sup> Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Perugia

<sup>4</sup> Phy.Dia. srl, Viterbo

<sup>5</sup> CIHEAM BARI, Istituto Agronomico Mediterraneo di Bari, Valenzano(BA)

\* balestra@unitus.it

Le nanotecnologie rappresentano un importante strumento nella gestione delle problematiche fitosanitarie, veicolando in maniera mirata i principi attivi, migliorando l'efficacia delle molecole e favorendone l'assorbimento nella pianta (Schiavi et al., 2022). Partendo da queste considerazioni nasce il progetto ANCoSIX (Approcci Nanotecnologici per un Controllo Sostenibile e Innovativo di *Xylella*) finanziato dal MASAF, con lo scopo di definire una strategia per il controllo di *Xylella fastidiosa* che integri molteplici metodi accomunati dalla loro declinazione su scala nanometrica. *Xylella fastidiosa* (Xf) nelle sue sottospecie (*pauca*, *multiplex* e *fastidiosa*) continua a rappresentare una delle più gravi minacce per l'agricoltura italiana, considerati i molteplici ospiti coltivati (olivo, mandorlo, ciliegio, vite, etc.) e non (acacia, oleandro, mirto, etc.) sulle quali è in grado di provocare sintomi come disseccamenti, avvizzimenti e deperimenti gravi. Al fine di poter risanare i tessuti vascolari e prevenirne la colonizzazione da parte del batterio, si stanno valutando differenti strumenti, quali estratti vegetali, peptidi e batteriofagi, e differenti approcci di somministrazione, come l'endoterapia e la fertirrigazione. La caratterizzazione degli estratti vegetali derivanti da scarti di melograno ha dimostrato un'elevata presenza di composti quali acido ellagico, epicatechina, punicalina e punicalagina, che conferiscono all'estratto attività antimicrobiche, antiossidanti e biostimolanti, nonché la capacità di ridurre la gravità dei sintomi provocati da Xf su olivo (Rongai et al., 2023). Similmente, in termini di attività antimicrobica, la nisina-A, prodotta dal metabolismo di *L. lactis*, ha dimostrato una notevole capacità di controllo in vitro e in planta (0.6 mg/mL) (Sabri et al., 2024a). Il batteriofago MATE-2, appartenente alla classe dei Caudarovicetes, oltre le straordinarie capacità di adattamento ambientale, ha dimostrato di poter inibire la crescita di Xf per sette giorni in vitro (Sabri et al., 2024b). Data la promettente efficacia dei principi attivi proposti, si è resa evidente la necessità di trovare una strategia che possa rendere fruibili questi strumenti per le applicazioni in campo, in termini di convenienza economica e sostenibilità ambientale. Numerose prove sono in corso per ottenere formulazioni nanometriche attraverso l'utilizzo di polimeri organici come chitosano e/o cellulosa nanocristallina, che siano in grado di incapsulare i principi attivi elencati e veicolarli all'interno della pianta, prevenendone la dispersione e il deterioramento precoce (Tatulli et al., 2024). Inoltre, metodi innovativi di somministrazione basati su gel termo-reversibili sono in valutazione per favorire il trattamento in endoterapia.

**Presenza di occlusioni biotiche dei vasi xilematici come tratto morfologico varietale**  
*Occurrence of xylem vessel biotic occlusions as varietal morphological trait*

**Fabrizio Barozzi<sup>1</sup>, Riccardo Panna<sup>1</sup>, Lorenzo Merico<sup>1</sup>, Annalisa Iuliano<sup>2</sup>, Francesco Paolo Fanizzi<sup>1</sup>, Elena Santilli<sup>2\*</sup>, Gian Pietro Di Sansebastiano<sup>1\*\*</sup>**

<sup>1</sup> *Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche e Ambientali, DISTEBA, Università del Salento, Campus ECOTEKNE, Lecce*

<sup>2</sup> *CREA – Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria, Centro di Ricerca Olivicoltura, Frutticoltura e Agrumicoltura, Rende (CS)*

\* elena.santilli@crea.gov.it

\*\* gp.disansebastiano@unialento.it

L'olivicoltura italiana, ha urgente bisogno di selezionare germoplasma di olivo tollerante/resistente a stress ambientale e nuovi patogeni. In particolare quella pugliese, sta vivendo una profonda crisi a seguito della diffusione del patogeno da quarantena *Xylella fastidiosa* (Xf). A causa della mancanza di una cura efficace l'area interessata dall'epidemia si è notevolmente ampliata nel corso di quest'ultimo decennio, con un fortissimo impatto ambientale e socioeconomico. D'altra parte l'equilibrio degli agroecosistemi olivicoli è sempre più sottoposto alla pressione dei cambiamenti climatici che favoriscono ulteriormente l'insediamento e la diffusione di specie aliene o riemergenti. In questo scenario, l'individuazione di varietà resistenti, appare sempre più un approccio fondamentale per la salvaguardia della biodiversità olivicola. Il forte danno causato da Xf nel Salento è legato soprattutto alla presenza di varietà (Ogliarola salentina e Cellina di Nardò), risultate molto suscettibili alla malattia. La ricerca di varietà tolleranti è difficoltosa perchè sia la progressione fitopatologica che la selezione varietale sono processi lunghi. Xf è un batterio fitopatogeno che vive all'interno dei vasi xilematici dell'ospite, dove forma un biofilm che si ritiene largamente essere responsabile dell'interruzione del passaggio di acqua e sostanze nutritive (De La Fuente et al., 2013). L'identificazione di tratti fenotipici predittivi della progressione della malattia può rappresentare un'innovazione nella ricerca di varietà di olivo tolleranti. L'obiettivo del presente lavoro riguarda lo studio dell'incidenza dell'occlusione naturale dei vasi, come parametro per valutare la capacità di risposta della pianta alla colonizzazione batterica dello xilema. Sono stati prelevati rami di 2 anni d'età di 30 varietà di olivo presso il campo collezione di germoplasma olivicolo di Mirto Crosia (CS, Italia) del CREA - Centro di ricerca Olivicoltura, Frutticoltura e Agrumicoltura ed è stata analizzata la loro sezione valutando la presenza di occlusioni naturali in piante asintomatiche. I primi risultati suggeriscono che ciascuna varietà può essere caratterizzata da una specifica frequenza di occlusioni. Età della pianta e presenza di stress influenzano il parametro. In questo contributo si studia se il dato possa fornire indicazioni predittive della tolleranza/resistenza delle diverse varietà a *X. fastidiosa* subsp. *pauca* ST53.

## **Bibliografia**

De La Fuente L., Parker J.K., Oliver J.E., Granger S., Brannen P.M., Santen E.V., Cobine P.A. (2013) The Bacterial Pathogen *Xylella fastidiosa* Affects the Leaf Ionome of Plant Hosts during Infection. PLOS ONE, Volume 8, Issue 5

## **Influenza della temperatura e dell'umidità sulla vitalità e longevità del polline in *Olea europaea* L.**

*High temperature and humidity affect pollen viability and longevity in *Olea europaea* L.*

**Aurora Cirillo\***, Maurizio Iovane, Luigi Gennaro Izzo, Giovanna Aronne e Claudio Di Vaio

*Dipartimento di Agraria, Università di Napoli Federico II, Portici (NA)*

\* [aurora.cirillo@unina.it](mailto:aurora.cirillo@unina.it)

L'olivo (*Olea europaea* L.) è una coltura tipica dell'area mediterranea che riveste un ruolo importante nell'economia, nella società e nella cultura di molti paesi di questa regione. Si prevede che il cambiamento climatico avrà un impatto significativo su questa coltura, tipicamente adattata da secoli alle caratteristiche pedo-climatiche del bacino del mediterraneo. In questo scenario, l'obiettivo di questo studio è stato valutare la risposta temporale della vitalità del polline a diverse combinazioni di temperatura e umidità. Lo studio è stato eseguito confrontando l'epoca di fioritura e la funzionalità del polline di dodici cultivar di *O. europaea* L. allevate nello stesso sito sperimentale ed appartenente al germoplasma olivicolo campano. Il polline è stato incubato a 12, 22 e 36 °C in combinazione con trattamenti a 50 e 100% di umidità relativa (RH) per 5 giorni. I risultati ottenuti hanno evidenziato una perdita drastica di vitalità del polline quando sottoposto ad una combinazione di alta umidità e alta temperatura, mentre il 50% di RH ha evidenziato una maggiore termo-tolleranza del polline, poiché con quest'ultima combinazione, la maggior parte delle cultivar ha mantenuto un'alta vitalità del polline nel tempo. Nel contesto del cambiamento climatico in corso, è fondamentale valutare l'effetto dell'aumento delle temperature sui caratteri riproduttivi sensibili, come la vitalità del polline, per prevenire possibili riduzioni della resa delle colture. I risultati hanno evidenziato che l'effetto dell'aumento della temperatura sulla termo-tolleranza del polline dovrebbe essere valutato in combinazione con altri fattori ambientali come le condizioni di umidità. Lo screening delle cultivar di olivo basato sulla termo-tolleranza del polline è cruciale nel contesto del cambiamento climatico in corso, soprattutto considerando che il valore economico di questa specie dipende dalla vitalità e longevità del polline delle singole cultivar utilizzate.

## Assessment of fruit set after controlled self- and cross pollination in olive groves in the Garda lake area of northern Italy

**Muhammad Ajmal Bashir<sup>1</sup>, Maria Stella Grando<sup>1,2</sup>, Massimo Bertamini<sup>1,2</sup>, Luana Bontempo<sup>2</sup>, Silvia Lorenzi<sup>2</sup>, Elena Gottardini<sup>2</sup>, Fabiana Cristofolini<sup>2</sup>, Daniela Bertoldi<sup>2</sup>, Michele Mutinelli<sup>3</sup>, Michele Faralli<sup>1,2\*</sup>**

<sup>1</sup> *Centre of Agriculture Food and Environment, University of Trento, San Michele all'Adige (TN)*

<sup>2</sup> *Research and Innovation Centre (CRI) - Fondazione Edmund Mach, San Michele All'Adige, (TN)*

<sup>3</sup> *Agraria Riva del Garda, Riva del Garda (TN)*

\* [michele.faralli@unitn.it](mailto:michele.faralli@unitn.it)

The olive tree appears to have a peculiar self-incompatibility system and under favourable conditions generally only 2-3% of its flowers develop into fruit. These reproductive aspects underlie the productivity of olive groves. It is therefore important to understand whether the plant productive behaviour can be improved and made more stable. In our study, we have conducted artificial pollination (control, forced self and cross pollination) experiments at 19 different orchards in the Garda area during the period between 2022-2024. In our experiments, the Casaliva (Frantoio) was chosen as the acceptor variety and Pendolino as a donor. At the start of the experiment, pollen viability test was also conducted by using AmphaZ32 pollen analyser, and pollen viability was observed in more than 80% selected orchards. Data regarding inflorescence, fruit development, fruit drop and final fruit set were also assessed for each treatment. Moreover, the embryos of drupes from different treatments were also extracted for parental analysis through SSR markers to estimate the self-compatibility/incompatibility levels. The results for final fruit set percentage from open branches, serving as controls, revealed higher rates of fruit set (averaging 5-6%) as compared to self- and cross-pollinated branches (averaging 2.5-3%), validating the pronounced self-incompatibility observed in varieties prevalent in the Garda olive cultivation landscape. In addition, the parentage analysis of embryos from drupes of Casaliva from open and cross pollination showed a preferential self-incompatible system, though in some forced self-pollination treatments putative self-compatibility patterns may be observed. In this experiment, we are exploring the methods that have the potential to improve olive productivity and the conservation of olive genetic resources in Garda area of Northern Italy.

## **Stress termico e idrico in due varietà (Favolosa, Leccino) di olivo tolleranti alla *Xylella fastidiosa***

*Thermal and water stress in two olive varieties (Favolosa, Leccino) tolerant to Xylella fastidiosa*

**Riccardo Gucci<sup>1</sup>\*, Elena Vichi<sup>2</sup>, Alessandra Francini<sup>2\*\*</sup>, Luca Sebastiani<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali, Università di Pisa*

<sup>2</sup> *Istituto di Produzioni Vegetali, Scuola Superiore Sant'Anna di Pisa*

\* [riccardo.gucci@unipi.it](mailto:riccardo.gucci@unipi.it)

\*\* [Alessandra.Francini@santannapisa.it](mailto:Alessandra.Francini@santannapisa.it)

Una serie di esperimenti sono stati eseguiti in camere di crescita nel 2024 su giovani piante vegetative di olivo (*Olea europaea* L.) allevate in vaso per valutare la risposta alle alte temperature e alla carenza idrica di due varietà (Favolosa, Leccino) tolleranti alla *Xylella fastidiosa* sub. *pauca*. Per ciascun ciclo sono state utilizzate 5 piante per tesi in una combinazione fattoriale (2 varietà x 2 livelli idrici) secondo un disegno sperimentale split-plot. All'interno di due distinte camere di crescita walk-in sono stati imposti i seguenti regimi di temperatura: 1) 23 °C (minimo notturno) e 43 °C (massimo diurno); 2) 12°C (notte) e 28 °C (giorno). La radiazione fotosinteticamente attiva era di circa 800  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ad altezza del tratto mediano della chioma, il fotoperiodo di 16-8 ore (luce-buio) per 7-9 giorni consecutivi. Le temperature massime e la radiazione luminosa venivano raggiunte gradualmente impostando 8 livelli nell'arco delle 24 ore in ciascuna camera di crescita. Sono stati misurati gli scambi gassosi, i parametri di fluorescenza, le costanti cromatiche, la crescita, il potenziale idrico del fusto all'inizio ed alla fine di ciascun ciclo sperimentale. I risultati mostrano differenze nella risposta fisiologica delle due varietà allo stress termico e a quello idrico con rilevanti implicazioni per la gestione dell'irrigazione.

## **Effetto delle temperature notturne invernali sull'inibizione della fotosintesi e sulla resistenza al freddo delle foglie**

*Sublethal night temperature effect on photosynthesis and frost tolerance of olive leaves*

**Federica Fulcini, Emanuele Carotti, Giacomo Dito, Sergio Tombesi\***

*Dipartimento di produzioni vegetali sostenibili, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza*

\* sergio.tombesi@unicatt.it

Nei climi temperati con inverni freddi uno dei principali limiti alla coltivazione dell'olivo sono le temperature minime invernali. Le soglie termiche a cui si registrano danni variano a seconda dell'organo e della cultivar. Nel meccanismo di resistenza al freddo un ruolo particolare è svolto dagli osmoliti la cui concentrazione abbassa il punto di congelamento delle soluzioni contenute nelle cellule. Tra gli osmoliti, i carboidrati rappresentano un importante componente. Nel periodo invernale, come in quello estivo, la principale fonte di carboidrati negli organi è rappresentata dalla fotosintesi che può essere inibita dalle basse temperature notturne, anche se non letali, che possono quindi portare ad una sensibilizzazione dei tessuti a seguenti eventi gelivi. Lo scopo del lavoro era 1) di determinare l'effetto della durata e di temperature notturne non letali (0 e 5°C) sull'attività fotosintetica, 2) determinare la riduzione dei carboidrati prodotta dall'esposizione notturna a temperature non letali ed infine 3) determinare la correlazione tra contenuto in zuccheri solubili e la temperatura letale del 20% (LT20). Gli esperimenti sono stati effettuati su piante in vaso di 3 anni delle cv Leccino e Arbequina, rispettivamente considerate come tollerante e relativamente sensibile nei riguardi delle basse temperature invernali. Differenti set di 5 piante per ciascuna cv sono state collocate durante la notte a 0° e a 5°C per una durata di 2 ore e di 8 ore, rispettivamente. Gli scambi gassosi, la velocità di trasporto elettronico ed il contenuto in carboidrati sono stati misurati prima dell'applicazione della bassa temperatura e nei 3 giorni successivi. In un esperimento parallelo è stata quantificata la correlazione tra zuccheri solubili e danno da freddo (quantificato tramite la misurazione del rilascio di elettroliti su dischi di foglie immerse a differenti temperature). La cv Leccino mostrava una riduzione rispetto alla fotosintesi iniziale che veniva recuperata pienamente nell'arco delle 24h e parzialmente dopo 96h nelle piante esposte a 0°C rispettivamente per 2h e 8h. La cv Arbequina perdeva circa il 50% dell'attività fotosintetica senza particolare recupero dopo 3 giorni quando esposta per 8h; le riduzioni di fotosintesi per esposizioni brevi, 2h, producevano effetti moderati e pienamente recuperati dopo 3 giorni. La riduzione della fotosintesi prodotta nelle tesi a 0°C aveva un effetto negativo sulla concentrazione dei carboidrati della foglia che portava ad un significativo incremento della LT20. I risultati mostrano che l'attività fotosintetica invernale è di grande importanza nell'olivo per il mantenimento di buoni livelli di carboidrati nelle foglie che consente di limitare gli effetti delle gelate su questo organo, tra i primi a venire danneggiati. Periodi prolungati con temperature notturne intorno agli 0°C possono concorrere a sensibilizzare le piante di cvs come Arbequina.

## Assorbimento e degradazione della caffeina in Olivo (*Olea europaea* L. cv 'Leccino')

**Elena Vichi\*, Alessandra Francini, Andrea Raffaelli, Luca Sebastiani**

*Istituto di Produzioni Vegetali, Scuola Superiore Sant'Anna, Pisa*

\* elena.vichi@santannapisa.it

L'irrigazione con acque reflue può essere considerata un'alternativa promettente per soddisfare la crescente domanda di acqua nelle regioni aride e semi-aride di tutto il mondo. Tuttavia, per validarne l'utilizzo, è necessario verificare l'eventuale effetto negativo della presenza di contaminanti organici sulle colture. Gli effetti sulla produzione e sulla qualità delle olive sono stati analizzati in relazione al trattamento con acqua contenente concentrazioni realistiche di caffeina, un contaminante frequentemente ritrovato nell'ambiente. Piante di olivo (*Olea europaea* L. cv. 'Leccino') sono state coltivate in vaso per 52 giorni e sottoposte a trattamenti giornalieri con acqua contenente caffeina (trimetil-13<sup>C</sup>) (0,014 mg L<sup>-1</sup>). Abbiamo scelto di utilizzare la caffeina trimetil-13C per discriminare il nostro trattamento dall'eventuale metabolita endogeno della pianta.

Le concentrazioni di caffeina e polifenoli nei frutti sono state determinate mediante spettrometria di massa UHPLC-ESI-MS/MS (Sciex 5500 QTrap+), utilizzando un metodo IDA (Information Dependent Acquisition). La caffeina è stata rilevata a livello delle radici (1,62 ng g<sup>-1</sup> FW) mentre non è stata riscontrata traccia a livello delle foglie e dei frutti. I risultati hanno però evidenziato un aumento dell'attività fotosintetica, con differenze significative nelle prime fasi di indurimento del nocciolo tra piante trattate e controlli, per i parametri di fotosintesi netta, conduttanza stomatica e fluorescenza della clorofilla a, suggerendo un'azione biostimolante della caffeina.

L'indice di pigmentazione delle olive è aumentato (+8,78%) nelle piante trattate rispetto alle piante di controllo, così come il loro contenuto in olio. Il profilo polifenolico nei frutti delle piante trattate con caffeina ha rivelato un contenuto significativamente più elevato di rutina (+35,03%), oleuropeina (+249,3%), idrossitirosolo (+59,9%), ligstroside (100,2%), acido clorogenico (+42%), acido vanillico (+49,7%), acido 4-cumarico (+47,7%) e piceide (77,6%). Questo lavoro suggerisce un possibile utilizzo di acque contenenti caffeina, ma sono necessari ulteriori studi considerando le interazioni con altri inquinanti frequentemente presenti nell'acque reflue.

## **Fisiologia invernale dell'olivo, tolleranza al freddo, acclimata- mento (studio preliminare)**

*Winter physiology of the olive tree, cold tolerance, acclimation and deacclimation (preliminary study)*

**Matteo Zucchini<sup>1\*</sup>, Samuele Crescenzi<sup>1</sup>, Francesco Belluccini<sup>1</sup>, Pedro Valverde<sup>1,2</sup>, Veronica Giorgi<sup>1</sup>, Enrico Maria Lodolini<sup>1</sup>, Davide Neri<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Università Politecnica delle Marche UNIVPM, D3A, Ancona

<sup>2</sup> Università di Cordoba. UCO, Cordoba (Spagna)

\* m.zucchini@staff.univpm.it

Le piante vascolari adottano diverse strategie per resistere e tollerare le basse temperature invernali. Possono evitare la formazione di ghiaccio extracellulare o tollerare tale formazione e la conseguente disidratazione dei tessuti esposti. Queste due strategie fanno parte della fase fisiologica chiamata "acclimatazione al freddo" (*cold acclimation*). Questo è un complesso processo biochimico nel quale la pianta può:

- esprimere geneticamente proteine contro lo stress;
- incrementare le concentrazioni zuccherine;
- potenziare i meccanismi antiossidanti;
- modificare la composizione lipidica e proteica delle membrane cellulari.

L'olivo non tollera la formazione di ghiaccio, ma mantiene le temperature di congelamento al di sotto dello zero. Questo processo è chiamato "supercooling" ed è un'abilità acquisita durante l'acclimatazione. Il processo fisiologico ha un costo per la pianta stessa, le cellule devono aumentare le concentrazioni di zuccheri e di proteine, così da alzare il proprio potere osmotico. Il potenziale idrico fogliare può scendere fino a -3 Mpa, mentre la conduttività e la velocità di flusso della linfa si abbassa drasticamente. Durante l'inverno però, le foglie mostrano una conduttanza stomatica più alta rispetto all'estate, e continuano a fotosintetizzare. In Italia, l'olivo presenta problematiche legate al freddo, soprattutto durante la fine dell'inverno e l'inizio della primavera. Questo è il periodo in cui avviene la deacclimatazione, fase in cui la pianta perde la capacità di evitare il congelamento e quindi non tollera temperature troppo basse. Inoltre, i ritorni di freddo possono colpire le infiorescenze in formazione nel mese di aprile. All'interno del progetto "OMIBREED" stiamo seguendo l'acclimatazione e la deacclimatazione di quattro cultivar di olivo, poiché riteniamo che la tolleranza al freddo di una cultivar non possa essere determinata solo da un evento, ma debba essere inserita nel contesto fisiologico. I risultati preliminari mostrano una tendenza che inizia a settembre, in cui le foglie e i rametti di 1-2 anni sopportano già temperature sotto lo zero. Per la stagione invernale è prevista una tolleranza a temperature molto più basse.

**Approcci molecolari innovativi per la diagnosi di *Xylella fastidiosa***  
*innovative molecular approaches for Xylella fastidiosa diagnosis*

**Serafina Serena Amoia\***, Angelantonio Minafra, Giuliana Loconsole, Pasquale Saldarelli, Annalisa Giampetruzzi, Donato Boscia, Maria Saponari

Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante – CNR-IPSP, Bari

\* serena.amoia@ipsp.cnr.it

*Xylella fastidiosa* (*Xf*) è un batterio fitopatogeno di origine americana annoverato tra gli organismi nocivi prioritari da quarantena rilevanti per l'UE a causa delle gravi malattie e conseguenti perdite economiche. L'epidemia di deperimento rapido dell'olivo in Puglia rappresenta il caso più emblematico del potenziale distruttivo di questo patogeno. E' per questo che in tutti gli Stati Membri dell'UE sono stati resi obbligatori programmi di sorveglianza fitosanitaria, quale strumento di prevenzione, assieme a misure di eradicazione e/o contenimento. Punto cardine per l'applicazione di tali misure è l'identificazione delle piante infette per assicurare tempestività di intervento. A questo scopo è fondamentale disporre di tecniche diagnostiche con elevata sensibilità, specificità e ad alta processività, in grado di fornire esiti in tempi brevi e da applicare per la diagnosi su larga scala. Diverse linee di ricerca sono state avviate in questa direzione, in particolare, nel presente lavoro sono descritti un protocollo di LAMP colorimetrica e uno di RPA abbinata a saggio lateral flow. Queste due tecniche di amplificazione isoterma 'instruments-free' offrono soluzioni rapide per la diagnosi *on site* del batterio, senza la necessità di adoperare acidi nucleici purificati e strumentazione tecnologicamente sofisticata. Come atteso la sensibilità diagnostica è risultata inferiore rispetto alla tecnica oggi maggiormente adoperata, la PCR in tempo reale, ma con il vantaggio di non dover manipolare/processare il tessuto vegetale per la purificazione degli acidi nucleici, quindi riducendo i tempi di esecuzione dei test che possono essere sviluppati direttamente in campo o nei punti di controllo fitosanitario. Un ulteriore aspetto diagnostico affrontato da questo lavoro è la possibilità di rilevare in una pianta infetta cellule batteriche in attiva moltiplicazione e differenziarle da cellule non più attive. A tale scopo è stato sviluppato un protocollo di RT-qPCR che rileva un trascritto batterico selezionato sulla base dell'elevato livello di espressione genica in piante infette. Questo saggio, considerando le difficoltà di isolamento su substrato artificiale e conta delle unità formanti colonie, risulta particolarmente utile per la valutazione della popolazione batterica attiva in piante infette. Questo saggio sarà anche combinato con la tecnologia "Single-Molecule with a large Transistor – SiMoT" su dispositivo portatile per applicazioni di campo. L'integrazione di queste tecniche innovative nella sorveglianza fitosanitaria può migliorare significativamente la capacità di diagnosi precoce e su larga scala in relazione non solo alla necessità di monitorare vasti territori e un numero elevato di specie ospiti, ma anche di disporre di tecniche economicamente sostenibili per i controlli da effettuarsi in vivaio prima della movimentazione delle produzioni vivaistiche di alcune specie particolarmente suscettibili come definito dalla normativa vigente.

## Nuove frontiere nel controllo della mosca delle olive: modelli dinamici e tecniche push-pull

*New frontiers in olive fruit fly control: dynamic models and push-pull techniques*

**Mattia Animobono<sup>1\*</sup>, Stefano Speranza<sup>1,2</sup>, Mario Contarini<sup>1</sup>, Luca Rossini<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali, Università degli Studi della Tuscia, Viterbo

<sup>2</sup> Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE, CONICET-UNLP), La Plata, Argentina

<sup>3</sup> Service d'Automatique et d'Analyse des Systèmes, Université Libre de Bruxelles, Belgium

\* mattia.animobono@unitus.it

*Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae), è una delle principali avversità dell'olivo, la cui gestione richiede metodologie sostenibili anche alla luce delle ulteriori richieste di riduzione dell'uso di prodotti chimici. In questo contesto assume notevole importanza l'impiego di modelli matematici in grado di simulare e prevedere le dinamiche di popolazione di insetti dannosi. Questi strumenti permetteranno di ottimizzare strategie di monitoraggio e di controllo, nonché di pianificare tecniche di controllo avanzate come quella del "push and pull". Il modello proposto tiene conto della suddivisione del ciclo biologico di *B. oleae* in stadi di sviluppo, descritti da un sistema di equazioni differenziali ordinarie. La transizione degli individui attraverso i vari stadi è invece gestita da specifiche funzioni dei tassi di sviluppo, fertilità e mortalità, dipendenti dalla temperatura media giornaliera. La componente spaziale, innovativa rispetto alle precedenti elaborazioni modellistiche, può essere descritta suddividendo l'area di interesse in sub-parcelle quadrate di uguali dimensioni, in cui lo scambio di individui è consentito solo se vi è un lato in comune. Specifiche funzioni gestiscono i tassi di migrazione tra parcelle adiacenti, regolandone i flussi in entrata e in uscita e tenendo anche conto di fenomeni come attrattività, repellenza e direzione e velocità del vento. Le funzioni dei tassi coinvolte nel modello sono attualmente empiriche, ma la loro validità dovrà essere verificata tramite sperimentazioni di campo, che verranno effettuate in diverse aziende dell'areale olivicolo di Rieti (RI) grazie al progetto "Sviluppo di modelli di dinamiche di popolazioni di *Bactrocera oleae*". I dati acquisiti permetteranno di mettere a punto i parametri del modello e di verificarne l'affidabilità.

Il modello potrebbe rappresentare una solida base per la costruzione di un sistema di supporto alle decisioni (DSS) in grado di fornire agli agricoltori indicazioni utili circa la pianificazione spazio-temporale degli interventi di controllo, essenziali nell'ottica della riduzione dell'impiego di prodotti chimici. Tale modello potrebbe essere ulteriormente valorizzato se utilizzato in combinazione con la tecnica del "push and pull", che prevede l'impiego di sostanze repellenti e attrattive schierate in logica combinazione nello spazio dell'oliveto, per manipolare la distribuzione delle mosche e ridurre, ancor più, l'uso di insetticidi. Queste innovazioni modellistiche riusciranno a simulare a priori diversi scenari e stabilire gli schemi più efficaci per l'applicazione di questa strategia.

**Profili fenolici di tessuti xilematici di olivo: approccio metabolomico differenziale per l'identificazione di biomarcatori diagnostici del complesso del disseccamento rapido dell'Olivo (CoDIRO) in piante infette da *Xylella fastidiosa* spp. *pauca***

*Phenolic profiles of Olive xylem tissues: a differential metabolomic approach for identifying diagnostic biomarkers of the Olive quick decline syndrome (OQDS) in *Xylella fastidiosa* spp. *pauca*-infected plants*

**Cinzia Benincasa<sup>1\*</sup>, Rosa Nicoletti<sup>1,2</sup>, Alessandro Polito<sup>3</sup>, Giuseppe Tatulli<sup>3</sup>, Massimiliano Pellegrino<sup>1</sup>, Valeria Scala<sup>3</sup>, Nicoletta Pucci<sup>3</sup>, Enzo Perri<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro Olivicoltura, Frutticoltura e Agrumicoltura, Rende (CS)*

<sup>2</sup> *Dipartimento delle Culture Europee e del Mediterraneo: Architettura, Ambiente, Patrimoni Culturali, Università degli Studi della Basilicata, Matera (MT)*

<sup>3</sup> *Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di Ricerca Difesa e Certificazione*

\* [cinzia.benincasa@crea.gov.it](mailto:cinzia.benincasa@crea.gov.it)

Il batterio Gram-negativo *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*, agente eziologico del Complesso del Disseccamento Rapido dell'Olivo (CoDIRO), continua a rappresentare una farraginoso minaccia per le coltivazioni olivicole del Salento e delle aree limitrofe. L'infezione può manifestarsi in forma asintomatica o con sintomi minimali e può alterare il profilo metabolico a livello dei tessuti di elezione del batterio, quelli xilematici, già prima della manifestazione sintomatologica, rendendo interessante la prospettiva di un sistema di rilevazione precoce. Lo studio in oggetto si è concentrato, infatti, proprio sull'analisi del profilo fenolico di tessuti xilematici di piante di olivo, sane ed infette da *X. Fastidiosa* spp. *pauca*, al fine di identificare variazioni significative nei composti fenolici che possano essere utili come potenziali indicatori diagnostici del CoDIRO. Sono state valutate oltre 30 molecole fenoliche in tre cultivar di olivo, rappresentative di diversi livelli di suscettibilità: Ogliarola salentina e ellina di Nardò (ad alta suscettibilità) e Leccino (a bassa suscettibilità). Il campionamento, effettuato su rametti del secondo anno di età, prelevati a varie altezze e dai quattro punti cardinali, ha previsto l'estrazione fenolica idroalcolica seguita da analisi UHPLC-DAD. Le analisi statistiche, tra cui ANOVA e test post-hoc di Tukey, hanno rivelato differenze significative nei profili fenolici tra piante sane ed infette. Sono state osservate variazioni rilevanti in specifici metaboliti, indicando una risposta fenotipica distintiva associabile all'infezione. L'analisi PCA ha confermato una netta separazione tra campioni sani ed infetti, suggerendo che alcune molecole fenoliche nello specifico potrebbero fungere da biomarcatori per la diagnosi precoce del CoDIRO, offrendo nuove prospettive per il monitoraggio e la gestione della malattia.

Gli Autori ringraziano per il finanziamento il progetto DIACOX (D.M. Mipaaf n. 664531 del 28/12/2022).

## **Investigazione tramite indagini molecolari di geni candidati coinvolti nella resistenza all'infezione da *Spilotea oleagina* in Olivo**

*investigation of candidate genes underlying resistance against Spilotea oleagina infection in Olive by molecular analysis*

**Floriana Bonanno<sup>1\*</sup>, Francesco Paolo Marra<sup>1</sup>, Giorgia Tranchina<sup>1</sup>, Tiziano Caruso<sup>1</sup>, Antonio Giovino<sup>2</sup>, Bipin Balan<sup>1</sup>, Annalisa Marchese<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Dipartimento Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali, Università di Palermo,*

<sup>2</sup> *Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'analisi dell'economia agraria, Centro di Ricerca Difesa e Certificazione (CREA-DC), Palermo*

\* floriana.bonanno@unipa.it

L'infezione dell'occhio di pavone è una delle malattie dell'olivo coltivato più diffuse nel mondo, causata dal patogeno fungino obbligato *Spilotea oleagina* (Cast.) Hughes, associata a grave defogliazione, che può determinare grandi perdite di resa (circa il 20% o superiori) nelle cultivar sensibili, anche nell'anno successivo all'infezione. La difesa sanitaria dell'oliveto, mediante tecniche di diagnosi precoce per identificare geni e presunti biomarcatori collegati all'infezione, è quindi un obiettivo importante. In questo lavoro è stata condotta un'analisi trascrittomica (RNA-Seq) dei meccanismi di resistenza degli ulivi contro *Spilotea oleagina*, di una cultivar poco sensibile (Koroneiki) e di una cultivar altamente sensibile (Nocellara del Belice) utilizzando il Sequenziamento di Nuova Generazione. Molti geni differenzialmente espressi (DEG) sono stati identificati in due diversi stadi ("nessun segno di malattia" e "segno evidente di malattia"), tuttavia pochissimi erano in comune tra le due cultivar. In 'Koroneiki' è stata notevole la sovraespressione di alcuni geni correlati alla patogenesi (PR), così come di geni coinvolti nella produzione di metaboliti secondari, nella biosintesi della parete cellulare e nella trasduzione del segnale degli ormoni vegetali, che fanno tutti parte della tipica reazione di difesa. Anche diversi fattori di trascrizione (TS) sono risultati espressi in modo univoco in 'Koroneiki', mentre 'Nocellara del Belice' non ha avuto una risposta di difesa efficace e specifica. Tra i presunti biomarcatori, 10 comunemente espressi in entrambe le cultivar, sono stati utilizzati per mettere a punto dei test semiquantitativi in tempo reale, RT-PCR, per rilevare i primi segni della malattia anche in altre varietà. I nostri risultati forniscono preziose informazioni utili a identificare geni candidati promettenti per la diagnosi precoce della malattia, lo screening e la selezione di nuovi genotipi resistenti/meno suscettibili a fini della coltivazione.

***Methylobacterium* spp. endofiti dell'Olivo e interazioni con *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca***

*Methylobacterium* spp. endophytes of olive trees and interactions with *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*

**Mariangela Carlucci<sup>\*</sup>, Pompea Gabriella Lucchese<sup>1</sup>, Cinzia Benincasa<sup>2</sup>, Rosa Nicoletti<sup>1,2</sup>, Stefania Pollastro<sup>1</sup>, Enzo Perri<sup>2</sup>, Franco Nigro<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Università degli Studi di Bari - Aldo Moro

<sup>2</sup> Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro Olivicoltura, Frutticoltura e Agrumicoltura, Rende (CS)

<sup>3</sup> Dipartimento delle Culture Europee e del Mediterraneo: Architettura, Ambiente, Patrimoni Culturali, Università degli Studi della Basilicata, Matera (MT)

\* mariangela.carlucci@uniba.it

*Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* (Xfp) ST53 è un batterio Gram-negativo responsabile della sindrome del disseccamento rapido, una grave malattia vascolare dell'olivo. Diversi altri funghi e batteri endofiti occupano lo stesso habitat di Xfp nel lume dei vasi xilematici, costituendo un microbioma complesso e ad oggi non ancora completamente esplorato. Il genere *Methylobacterium* -Proteobatteri appartiene alla classe degli  $\alpha$ -Proteobatteri ed è costituito da batteri metilotrofi facoltativi, capaci di sintetizzare carotenoidi ed altre sostanze fenoliche che conferiscono una caratteristica pigmentazione rosa alle colonie. La competizione per la disponibilità di ferro costituisce un meccanismo attraverso il quale gli endofiti influenzano la loro crescita reciproca. I siderofori, ligandi extracellulari a basso peso molecolare (da 500 a 1000 D) specifici per Fe(III), agiscono come agenti di scavenging per ridurre lo stress da basso contenuto di ferro. Obiettivo del presente lavoro è stato quello di verificare il potenziale di isolati di *Methylobacterium* spp. quali competitori nutrizionali di XfpST53 nei vasi xilematici di olivo. Isolati di *Methylobacterium* spp. sono stati ottenuti dallo xilema di olivi infetti da Xfp ST53 e identificati a livello di specie come *M. mesophilicum* e *M. radiotolerans*. Ceppi rappresentativi di *M. mesophilicum* (GR19) e di *M. radiotolerans* (GR18, GR22, GR23) ottenuti da olivo, nonché isolati di altre specie (*M. extorquens*, *M. organophilum*, *M. brachiatum*, *M. fujisawaense*, *M. variabile*, *M. aminotolerans*) ottenuti da collezioni internazionali, sono stati allevati in substrato liquido privo di ferro, allo scopo di stimolare la produzione di siderofori. Il contenuto di siderofori è stato valutato analizzando un'aliquota di filtrato culturale mediante metodica LC-ESI-MS/MS ioni negativi. I risultati ottenuti indicano che le diverse specie e i diversi isolati producono ferrioxamina E e ferricromo in quantità variabile. Gli isolati di *M. radiotolerans* e *M. mesophilicum* da olivo hanno mostrato una elevata variabilità e nessuno degli isolati saggiati ha prodotto deferoxamina. Ulteriori indagini sono in corso per caratterizzare la presenza di siderofori nella linfa di piante di olivo di diversa varietà.

Ricerca finanziata dall'AgriTech National Research Center con fondi dall'Unione Europea Next-Generation EU (PIANO NAZIONALE DI RIPRESA E RESILIENZA (PNRR) MISSIONE 4 COMPONENTE 2, INVESTIMENTO 1.4 D.D. 1032 del 17/06/2022, CN00000022). Questo manoscritto riflette esclusivamente le opinioni e i punti di vista degli autori, né l'Unione Europea né la Commissione Europea possono esserne ritenute responsabili.

**Tolleranza allo stress salino di diverse cultivar di Olivo *in vitro****Salt stress tolerance of different Olive cultivars in vitro*

**Luca Regni<sup>1</sup>, Maurizio Micheli<sup>1</sup>, Arianna Cesarini<sup>1</sup>, Simona Lucia Facchin<sup>1</sup>, Silvia Calisti<sup>1</sup>, Romain L. Barnard<sup>2</sup>, Primo Proietti<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali (DSA3), Università degli Studi di Perugia*

<sup>2</sup> *Agroécologie, AgroSup Dijon, INRAE, Université de Bourgogne, Université Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France*

\* arianna.cesarini@collaboratori.unipg.it

Lo stress salino, spesso conseguente o accentuato dal cambiamento climatico in atto, è uno degli stress abiotici che maggiormente influenzano la produttività delle colture. L'olivo è una delle colture arboree che meglio tollera la salinità, con differenze marcate tra le cultivar. Lo scopo del presente lavoro è stato indagare la tolleranza alla salinità di due cultivar ('Frantoio' e 'Moraiolo') di olivo *in vitro*. Diverse concentrazioni di NaCl (0, 25, 50, 100 e 200 mM) sono state aggiunte al substrato Olive Medium (OM) durante tre diverse subcolture (di 45 giorni ciascuna). Per ogni trattamento e per ogni cultivar sono stati preparati sei vasi contenenti 10 espunti ciascuno. I parametri valutati sono stati: vitalità degli espunti, numero di germogli, lunghezza dei germogli, numero di nodi, presenza di callo, peso del callo, peso fresco e secco degli espunti proliferati, contenuto in zuccheri solubili e amido. Tra le cultivar considerate il 'Moraiolo' è risultato piuttosto tollerante allo stress salino. La vitalità degli espunti, infatti, è rimasta invariata (100%) fino alla concentrazione di NaCl pari a 100 mM per poi scendere al 56,6% a 200 mM di NaCl. Alla concentrazione di 200 mM di NaCl è stata osservata anche una riduzione di molti dei valori dei parametri analizzati. Alle concentrazioni di NaCl pari a 25 e 50 mM è stato invece osservato un incremento della lunghezza dei germogli. La cultivar Frantoio è risultata poco tollerante allo stress salino. La vitalità degli espunti è scesa a valori del 41,1% alla concentrazione di 100 mM NaCl per poi azzerarsi a 200 mM di NaCl. Alla concentrazione di 100 mM NaCl è stata osservata anche una riduzione del numero di germogli e, di conseguenza, dei nodi. Anche per la cultivar Frantoio un effetto di stimolo della crescita manifestatosi come incremento del peso fresco è stato osservato alle concentrazioni di 25 e 50 mM di NaCl. Nella cultivar Moraiolo ad alte concentrazioni di NaCl è stata rilevata una diminuzione del contenuto in carboidrati solubili mentre nella cultivar Frantoio nelle stesse condizioni diminuiscono i contenuti sia in carboidrati solubili sia in amido. La similarità degli effetti osservati *in vivo* in altri studi con quelli osservati *in vitro* nel presente studio suggerisce che le colture *in vitro* possono essere validamente utilizzate con i conseguenti vantaggi quali ad esempio rapidità di risposta, esclusione di variabili esterne per valutare la tolleranza delle diverse cultivar di olivo allo stress salino.

## **Il sistema di incompatibilità nelle cultivar di olivo**

*The incompatibility system in olive cultivars*

**Lorenzo Cruciani\***, Roberto Mariotti, Roya Nikbakht, Muhammad Ajmal Bashir, Simone Pizzi, Soraya Mousavi

*Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto di Bioscienze e Biorisorse – CNR-IBBR, Perugia*

\* [lorenzo.cruciani@ibbr.cnr.it](mailto:lorenzo.cruciani@ibbr.cnr.it)

Il sistema di incompatibilità dell'olivo è stato definito scientificamente come diallelico, in quanto esistono soltanto due gruppi di incompatibilità, definiti G1 (gruppo 1) e G2 (gruppo 2). Per questa ragione la produzione di olive sarà possibile solo se avverrà l'incrocio tra il polline e l'ovulo di due piante appartenenti a gruppi differenti (G1xG2 e viceversa). Nonostante questo, in alcune cultivar, si è riscontrato il fenomeno dell'autofecondazione, anche se in minima percentuale ed in particolari condizioni ambientali. Recenti ricerche hanno stabilito che il determinante principale che struttura la produzione delle olive, è semplice ed è binario: è il gruppo riproduttivo definito dal sistema di auto-incompatibilità diallelica che caratterizza la famiglia delle Oleacee. L'esperimento, partito oltre dieci anni fa, è stato dapprima svolto in laboratorio attraverso lo stigma test, tecnica dove il polline di una varietà viene applicato allo stigma di un'altra e attraverso colorazione si verifica o meno la germinazione dello stesso nello stilo. Si è quindi passato alla verifica in campo attraverso incroci controllati e verificati geneticamente. Infine, la conferma è stata verificata in pieno campo studiando molecolarmente embrioni di olivo da libera impollinazione. In sintesi, nessuna delle paternità riscontrate corrispondeva ad incroci provenienti dallo stesso gruppo di incompatibilità o da autofecondazione definendo che l'incrocio di due gruppi di incompatibilità diversi è una condizione necessaria per garantire un'efficace impollinazione, ma non sufficiente in quanto altri fattori come la contemporaneità di fioritura è fondamentale per ottenere la produzione di frutti. Attualmente abbiamo sviluppato un marcatore molecolare specifico per l'identificazione a basso costo e in tempi brevi del gruppo di incompatibilità di qualsiasi genotipo di olivo. Grazie al database sviluppato negli ultimi anni che include migliaia di genotipi di olivo geneticamente diversi, il marcatore dell'incompatibilità verrà applicato a tutto il germoplasma olivicolo, fornendo un nuovo strumento: per identificare problemi di produzione di olive, possibilità di reimpianto di varietà compatibili agevolando il settore vivaistico, e per il miglioramento genetico assistito per una selezione corretta dei parentali da utilizzare.

## **La rigenerazione olivicola in Salento: stato sanitario dei nuovi impianti di cultivar con caratteri di resistenza a *Xylella fastidiosa***

*Restoration of olive cultivation: an assessment of the phytosanitary situation in new olive groves*

**Crescenza Dongiovanni<sup>\*</sup>, Martino Tagliente<sup>1</sup>, Mauro Carrieri<sup>1</sup>, Roberto Argentieri<sup>1</sup>, Michele Di Carolo<sup>1</sup>, Vincenzo Cavalieri<sup>2</sup>, Matteo Cosimo Toma<sup>2</sup>, Giovanni Perrone<sup>1</sup>, Valentina Palmisano<sup>1</sup>, Luca Pinto<sup>1</sup>, Paolo Lorusso<sup>1</sup>, Angela Ligorio<sup>2</sup>, Grazia Sorbilli<sup>2</sup>, Donato Boscia<sup>2</sup>, Maria Saponari<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Centro di Ricerca, Sperimentazione e Formazione in Agricoltura "Basile Caramia", Locorotondo (BA)

<sup>2</sup>CNR-Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante, Bari

\* enzadongiovanni@crsfa.it

La realizzazione di nuovi oliveti di cultivar resistenti a *Xylella fastidiosa* (*Xf*) costituisce nell'immediato la più concreta prospettiva di rilancio economico, occupazionale ed ambientale per la rigenerazione sostenibile dell'olivicoltura e dell'economia agricola nei territori devastati dall'epidemia del batterio in Puglia. Dal 2018 ad oggi, ossia da quando nell'area demarcata infetta della regione Puglia è stato derogato il divieto di impiantare specie ospiti suscettibili al batterio, sono stati avviati investimenti per il reimpianto, utilizzando le prime due cultivar, Leccino (impianti tradizionali/intensivi) ed FS17 (impianti intensivi/superintensivi) con caratteri di resistenza autorizzate con specifica delibera regionale. Nel corso del 2023-2024 è stato avviato il monitoraggio di una rete di nuovi impianti, per la verifica della resistenza nel corso del tempo ed in relazione alla gestione colturale degli impianti, considerando che sia pure in misura ridotta si tratta di cultivar che subiscono il processo infettivo del batterio. I rilievi per il batterio sono stati integrati anche dalla valutazione dello stato fitosanitario generale degli impianti. Un altro aspetto importante del piano di monitoraggio è stata la valutazione del livello delle popolazioni degli insetti vettori, ed in particolare, di *Philaenus spumarius*. A circa 4-5 anni dall'impianto in tutti i 16 impianti monitorati sono state riscontrate infezioni di *Xf*, quasi esclusivamente allo stato latente, tranne in due siti, in cui sono state rilevate piante infette con sintomi di disseccamento di alcune porzioni delle branche. Sintomi che si sono palesati essenzialmente nella passata stagione estiva in conseguenza di stress idrici e termici e soprattutto nel caso di piante con elevato carico produttivo. I dati dell'incidenza delle infezioni sono stati variabili per entrambe le cultivar, con valori compresi tra il 4,5% e 44,7% per Leccino e del 1,5% e 43% per FS17, con una correlazione positiva tra incidenza delle infezioni e popolazione di insetti vettori. Come atteso, la popolazione batterica nelle piante è risultata bassa, soprattutto nel tessuto fogliare, ad eccezione di alcune piante di FS17 in cui a livello di tessuto legnoso, il batterio seppure confinato in poche branche ha raggiunto livelli più elevati. Nel caso di alcuni degli impianti di FS17, soprattutto nel periodo auto-vernino sono stati rilevati fenomeni di arrossamento del fogliame, seguiti da defogliazione e perdita di vigore delle branche interessate. Diverse ipotesi sono allo studio per individuarne la causa.

## Il silicio può migliorare la tolleranza al sale nell'olivo?

**Carmen Fidalgo-Illesca\***, Alessandra Francini, Andrea Raffaelli, Luca Sebastiani

*Istituto di Produzioni Vegetali, Scuola Superiore Sant'Anna, Pisa*

\* c.fidalgoillesca@santannapisa.it

Un'elevata concentrazione di sale nell'acqua di irrigazione può ridurre la produttività dell'olivo. L'olivo è considerato moderatamente tollerante alla salinità, ma i meccanismi di tolleranza dipendono dalla cultivar e dal genotipo. Le cultivar tolleranti tendono a traslocare meno sodio nella parte aerea rispetto alle cultivar sensibili. Il silicio è un metalloide che potrebbe alleviare lo stress salino nelle piante. Esso può agire sia come barriera fisica evitando la traslocazione del sodio che come rinforzamento biochimico contro lo stress ossidativo. Lo scopo di questo studio è valutare l'effetto di priming del silicio sulle risposte allo stress salino in cultivar tolleranti ('Frantoio') e sensibili al sale ('Leccino').

Piante auto radicate di un anno di entrambe le cultivar sono state irrigate per 28 giorni con 10 mg L<sup>-1</sup> acido silicico (H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub>) e successivamente per 51 giorni con NaCl 100 mM. Le fotosintesi netta e la conduttanza stomatica sono diminuite in entrambe le cultivar in risposta a NaCl riscontrando un effetto di riduzione di questo parametro prima in 'Frantoio' e poi in 'Leccino'. In particolare, nelle piante di 'Frantoio', questo effetto è stato potenziato dal pretrattamento con il silicio. Macro e microelementi importanti per lo stato nutrizionale della pianta sono stati analizzati mediante spettroscopia ad emissione atomica (MP-AES). Dopo 51 giorni di stress salino con o senza pretrattamento con il silicio, l'accumulo di sodio segue l'ordine: radici > fusto > foglie in entrambe le cultivar. Il pretrattamento con silicio riduce del 46% l'accumulo di sodio nelle foglie nuove della cultivar 'Leccino'. Le piante pretrattate con silicio esposte a stress salino di entrambe le cultivar mostrano differenze nelle concentrazioni di micro e macro elementi sia a livello fogliare che radicale. In particolare, K, e Mg si vedono influenzati a livello radicali in entrambi le cultivar e il Ca in Frantoio. Le concentrazioni dei microelementi sono state influenzate dal pretrattamento con silicio in maniera organo-specifica per ogni cultivar. L'analisi metabolomica di 49 polifenoli selezionati, che svolgono un ruolo nell'aggiustamento osmotico e nella difesa antiossidante, è stata effettuata mediante spettrometria di massa UHPLC-ESI-MS/MS (Sciex 5500 QTrap+), utilizzando un metodo IDA (*Information Dependent Acquisition*). Il contenuto di flavonoidi in Frantoio incrementa sotto stress salino nelle foglie mentre il pretrattamento con silicio incrementa l'accumulo di flavonoidi in Leccino. Secondo i risultati, il silicio provoca risposte ionomiche e metabolomiche diverse nelle due cultivar con alterazioni specifiche per ciascuna evidenziando la complessità del suo effetto sull'olivo.

**Resistenza a *Xylella fastidiosa* in olivi spontanei derivanti da libera impollinazione**  
*Resistance to *Xylella fastidiosa* in spontaneous open-pollinated olive trees*

**Pierfederico La Notte<sup>1</sup>, Maria Saponari<sup>1</sup>, Soraya Mousavi<sup>2</sup>, Roberto Mariotti<sup>2</sup>, Raied Abou Kubaa<sup>1</sup>, Roya Nikbacht<sup>2</sup>, Giovanni Melcarne<sup>3</sup>, Francesco Specchia<sup>1</sup>, Giuseppe Altamura<sup>4</sup>, Angela Ligorio<sup>1</sup>, Donato Boscia<sup>1</sup>, Antony Surano<sup>1</sup>, Pasquale Saldarelli<sup>1</sup>, Annalisa Giampetruzzi<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup> CNR-Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante, Bari

<sup>2</sup> CNR-Istituto di Bioscienze e Biorisorse, Perugia

<sup>3</sup> Forestaforte, Frantoio Oleario Giovanni Melcarne, Lecce

<sup>4</sup> Centro di Ricerca, Sperimentazione e Formazione in Agricoltura "Basile Caramia", Locorotondo (BA)

\* [annalisa.giampetruzzi@ipsp.cnr.it](mailto:annalisa.giampetruzzi@ipsp.cnr.it)

L'epidemia di *Xylella fastidiosa* che ha colpito la Puglia centro meridionale con il disastroso fenomeno del disseccamento rapido dell'olivo ha orientato diverse linee di ricerca verso lo studio dei fenomeni di resistenza, per comprenderne le basi genetiche e le possibilità di sfruttamento nei programmi di miglioramento genetico. Il numero molto limitato di cultivar a cui è stato sinora possibile attribuire una risposta di resistenza alle infezioni ha stimolato la ricerca di fonti di resistenza anche all'interno del germoplasma autoctono soggetto ad elevata pressione di inoculo, ed in particolare a sfruttare la ricchezza di genotipi spontanei presenti sul territorio interessato dall'epidemia. La selezione è stata effettuata sia a livello fenotipico (assenza di sintomatologie ascrivibili all'infezione) che su base diagnostica (bassa popolazione batterica nei tessuti della pianta). La caratterizzazione genetica di oltre 170 genotipi con diversa risposta all'infezione (da altamente resistente ad altamente suscettibile), oltre a rilevare l'unicità della maggioranza dei genotipi, ha evidenziato la presenza di Cellina di Nardò, Ogliarola salentina e Leccino tra i parentali più frequenti nella popolazione locale. L'analisi comparativa di questa popolazione con un considerevole numero di cultivar note sulla base dei marcatori SSR più comunemente impiegati, ha individuato diversi *clusters*, ma non è stato possibile riscontrare alcuna correlazione tra i cluster genetici e le risposte predittive all'infezione associabili a un determinato gruppo di genotipi. L'analisi dei parentali ha altresì fornito importanti indicazioni sull'ereditarietà dei tratti genetici di resistenza. Oltre il 60% dei genotipi che mostrava fenotipo resistente o tollerante all'infezione è risultato possedere il Leccino come parentale. Nei genotipi derivanti dall'incrocio del Leccino con le due cultivar locali notoriamente suscettibili, Cellina di Nardò e Ogliarola salentina, è stato possibile rilevare un'ampia variabilità della risposta, da resistente a suscettibile. Alcuni di questi genotipi resistenti, potenzialmente promettenti anche da un punto di vista agronomico e produttivo, sono stati inoculati artificialmente, confermandone il comportamento osservato in campo. Sugli stessi sono stati condotti studi di RNASeq, per decifrarne i meccanismi di resistenza, rilevando profili di espressione differenziale per i geni coinvolti nei processi di fotosintesi, metabolismo primario/secondario, biogenesi e rimodellamento della parete cellulare.

## **Efficacia di un nuovo bioformulato a base di Zeolite associata ad un microrganismo antagonista contro la rogna dell'Olivo**

*Effectiveness of a new bioformulate based on Zeolite associated with an antagonistic microorganism against Olive knot disease*

**Lucia Morrone<sup>1\*</sup>, Annalisa Rotondi<sup>1</sup>, Elena Cudazzo<sup>2</sup>, Emilio Stefani<sup>3</sup>, Luca Fagioli<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>*Istituto per la BioEconomia, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Bologna*

<sup>2</sup>*Dipartimento di Scienze dell'Ambiente e della Prevenzione, Università degli Studi di Ferrara*

<sup>3</sup>*Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Modena e Reggio Emilia, Reggio Emilia*

<sup>4</sup>*Centro di saggio, Consorzio Agrario di Ravenna, Cotignola (RA)*

\* lucia.morrone@ibe.cnr.it

L'accumulo di rame è una minaccia per gli agro-ecosistemi in termini di biodiversità e salubrità, come sottolineato dall'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA, 2018). Tuttavia, i fitofarmaci a base rameica sono l'unica arma efficace per combattere le batteriosi delle piante. In olivicoltura, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (*Pss*) è l'agente causale della rogna dell'olivo che può causare perdite di produzione. La Commissione Europea ha posto forti limitazioni all'uso del rame in agricoltura (Regolamento UE 2015/232). In quest'ottica si sta valutando l'efficacia di un prodotto, denominato Microfighter, composto da zeoliti K-chabasite in associazione ad uno specifico agente microbico di biocontrollo, *Pseudomonas synxantha* DLS65; tale batterio ha dimostrato *in vitro* la sua efficacia come antagonista di diversi patogeni tra i quali *Pss* (Modica et al., 2023). L'efficacia di Microfighter è stata valutata su 20 piante di 2 anni di età secondo uno schema sperimentale con 4 tesi, ciascuna composta da 4 piante: Controllo Positivo (inoculo *Pss*+no trattamenti), CP; Controllo Negativo (no inoculo *Pss*+trattamento rameico), CN; ZEO/DLS65 (inoculo *Pss*+trattamento con Microfighter), ZEO; rame (inoculo *Pss*+trattamento rameico), Cu. La valutazione fitopatometrica è stata effettuata rilevando il numero di galle che si sono sviluppate. I primi risultati indicano una riduzione della quantità di malattia nelle piante trattate con Microfighter, al pari di quelle trattate col prodotto rameico, suggerendo quindi una buona performance del formulato nel controllo dell'insorgenza e dello sviluppo della rogna. Tali risultati, se confermati in oliveti commerciali da altre sperimentazioni attualmente in corso in diverse aree del Mediterraneo, pongono le basi per una significativa riduzione dell'apporto di rame in agricoltura.

Ricerca finanziata nell'ambito del programma LIFE-2021-SAP-ENV-ENVIRONMENT (Life – Microfighter, n. 101074218)

### **Bibliografia**

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY 2018, Review of the existing maximum residue levels for copper compounds according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005. *EFSA Journal*, 16(3), e05212.

MODICA F., FAGIOLI L., COLTORTI M., GIOVANARDI D., REYES F., STEFANI E. 2023. Reduction of copper inputs in the management of key diseases of grapevine, olive and tomato by an innovative Zeo-biopesticide. XXVIII Congress of the Italian Phytopathological Society (SIPaV). *J Plant Pathol* **105**, 1237–1323 (2023).

## **Valutazione preliminare dell'attività antimicrobica di sottoprodotti olivicoli oleari sul batterio *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca***

*Preliminary evaluation of the antimicrobial activity of olive oil by-products on the bacterium *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca**

**Rosa Nicoletti<sup>1,2</sup>, Cinzia Benincasa<sup>1</sup>, Mariangela Carlucci<sup>3</sup>, Pompea Gabriella Lucchese<sup>3</sup>, Franco Nigro<sup>3</sup>, Enzo Perri<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup> *Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro Olivicoltura, Frutticoltura e Agrumicoltura, Rende (CS)*

<sup>2</sup> *Dipartimento delle Culture Europee e del Mediterraneo: Architettura, Ambiente, Patrimoni Culturali, Università degli Studi della Basilicata, Matera*

<sup>3</sup> *Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Università degli Studi di Bari - Aldo Moro, Bari*

\* enzo.perri@crea.gov.it

L'olivicoltura e l'industria olearia forniscono notevoli quantità di prodotti secondari che rappresentano matrici estremamente versatili e ricche di composti bioattivi. In particolare, la presente ricerca ha focalizzato l'attenzione sulle sostanze fenoliche presenti nei prodotti secondari dell'olivicoltura e dell'industria olearia per valutare il loro potenziale ruolo antibatterico nei confronti di *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*. Pertanto, polveri ricche di fenoli di olivo, ottenute a partire da acque di vegetazione e da miscele di acque di vegetazione e succo di agrumi, ed estratti di foglie di olivo, sono stati utilizzati per effettuare test in vitro su colture di *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*, al fine di rilevare una potenziale efficacia antimicrobica. La caratterizzazione chimica delle polveri e degli estratti bioattivi è stata effettuata utilizzando metodiche LC-MS/MS grazie alle quali è stato possibile ottenere i profili fenolici qualitativi e quantitativi dei fenoli di olivo presenti nelle diverse matrici. Le prime valutazioni dell'attività antibatterica su *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*, sono state condotte in vitro utilizzando la tecnica di diffusione in agar; l'efficacia antimicrobica dei composti testati è stata determinata mediante la misurazione dell'alone di inibizione. Sulla base dei risultati preliminari ottenuti, gli estratti fogliari e le acque di vegetazione reflue tal quali hanno mostrato riduzioni apprezzabili della crescita batterica e meritano ulteriore approfondimento.

Gli autori ringraziano per il finanziamento il Progetto "Fenotipizzazione di GENotipi di Olivo Resistenti a *Xylella fastidiosa* e messa a punto di un modello di gestione AGRonomIca ad elevata Sostenibilità - GENFORAGRIS", DM MASAF n. 664538 del 28/12/2023.

## **Analisi fisiologiche di piante di Olivo cv. ‘Cipressino’ trattate con nichel ed interazioni con il silicio**

**Greta Ricci\*, Alessandra Francini, Luca Sebastiani**

*Istituto di Produzioni Vegetali, Scuola Superiore Sant'Anna, Pisa*

\* greta.ricci@santannapisa.it

La contaminazione da nichel (Ni) è un problema emergente. È ampiamente distribuito nell'ambiente e viene rilasciato attraverso attività sia naturali che antropiche. Essendo un costituente dell'enzima ureasi, è considerato un elemento essenziale per le piante a basse concentrazioni (0,05–10 mg kg<sup>-1</sup> di peso secco) ma ad alte concentrazioni diventa tossico riducendo la crescita delle piante in seguito al blocco della fotosintesi e della sintesi della clorofilla, alla ridotta attività degli enzimi del ciclo di Calvin ed alla carenza di CO<sub>2</sub> dovuta alla chiusura degli stomi. Il Ni può anche indurre uno stress ossidativo indiretto, alterando la funzionalità della membrana cellulare con danni al DNA. La qualità e la sicurezza alimentare dei prodotti può essere compromessa se questo elemento è in eccesso rispetto alle esigenze nutrizionali delle piante. Uno degli approcci innovativi per mitigare ed alleviare lo stress da Ni può essere rappresentato dall'uso del micronutriente silicio (Si). Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare il ruolo del Si nell'alleviare lo stress da Ni in piante di olivo (*Olea europaea* cv. ‘Cipressino’). Allo scopo sono stati studiati i tratti fisiologici, biochimici e molecolari della pianta e qualitativi del frutto. Durante l'esperimento, le foglie sono state monitorate in modo non distruttivo valutando il contenuto relativo di clorofilla (SPAD-502 -Minolta), dell'efficienza del fotosistema II (PSII) (FMS2 -Hansatech), la conduttanza stomatica e il tasso netto di assimilazione di CO<sub>2</sub> (Ciras-2, PP System International). Analisi attualmente in corso determineranno la concentrazione di Ni, Si e degli altri elementi in tutti gli organi della pianta attraverso spettrometria ad emissione atomica (MP-AES - Agilent 4210). L'analisi di polifenoli, aminoacidi e ormoni verrà effettuata attraverso la spettrometria di massa UHPLC-ESI-MS/MS (Sciex 5500 QTrap+) utilizzando un metodo IDA (Information Dependent Acquisition) e l'espressione genica utilizzando il sistema di rilevamento Bio-Rad Real-Time PCR (Bio-Rad CFX Manager). Lo scopo è di studiare la dinamica di accumulo organo dipendente del Ni, del Si e degli altri elementi minerali e analizzare le variazioni fisiologiche, biochimiche e molecolari dell'olivo.

## **Efficacia di un formulato vegetale su *Philaenus spumarius*** *Efficacy of a plant-based formulation on *Philaenus spumarius**

**Domenico Rongai<sup>1\*</sup>, Maria Gabriella Di Serio<sup>1</sup>, Erica Cesari<sup>2</sup>, Sabrina Bertin<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> CREA-IT PE Centro di ricerca Ingegneria e Trasformazioni agroalimentari, Pescara.

<sup>2</sup> CREA DC Centro di ricerca Difesa e Certificazione, Roma

\* domenico.rongai@crea.gov.it

Negli oliveti, il controllo della sputacchina (*Philaenus spumarius* L.), principale vettore di *Xylella fastidiosa* subsp. *Pauca*, agente della sindrome da Olive Quick Decline Syndrome (OQDS), si basa sulla rimozione delle erbe infestanti e sui trattamenti insetticidi obbligatori (D.G.R. n. 570 del 26 aprile 2023). Il numero degli adulti che raggiungono la chioma a volte può essere molto elevato favorendo una rapida trasmissione del batterio all'interno dell'oliveto. Considerando le severe restrizioni sull'uso di insetticidi chimici, è importante l'utilizzo di strategie alternative compatibili con le pratiche di gestione integrata (IPM). A tale scopo sono stati studiati diversi approcci, come l'applicazione diretta di alcuni nematodi e funghi entomopatogeni contro ninfe e adulti o l'utilizzo di vibrazioni in grado di interferire sulla comunicazione della cicalina, e quindi di manipolarne l'accoppiamento, l'ovodeposizione e l'alimentazione (Takanashi *et al.*, 2019). Tuttavia, tali strategie non sono in grado di controllare da sole l'insetto vettore, ma devono essere combinate con altri strumenti di gestione integrata, come l'uso di biopesticidi (Rongai *et al.*, 2023). A tal proposito è stato condotto uno studio al fine di valutare l'efficacia di un Formulato a Base Vegetale (FBV) contro gli individui adulti di *P. spumarius*, effettuando sia test di laboratorio sia di campo. In laboratorio il tasso medio di mortalità della sputacchina ottenuta con la somministrazione del FBV è variato dal 32.6 al 100% un'ora dopo il trattamento (vedi tab a dx). Nelle prove di campo, nel biennio 2023 e 2024, il numero di esemplari di *P. spumarius* catturati su piante di olivo trattate con FBV è stato significativamente inferiore rispetto a quello su piante non trattate. Nessun sintomo di fitotossicità è stato registrato sugli olivi trattati con FBV. Ciò suggerisce come la formulazione vegetale potrebbe essere una valida alternativa agli insetticidi chimici per il controllo del principale vettore di *X. fastidiosa* ed essere integrata in un sistema di gestione sostenibile per il contenimento della OQDS.

### **Bibliografia**

- Takanashi T., Uechi N., Tatsuta H., 2019. Vibrations in hemipteran and coleopteran insects: Behaviors and application in pest management. *Appl. Entomol.Zool.*, 54:21-29.
- Rongai D., Cesari E., Bertin S., 2023. A study of the Toxic Effect of Plant Extracts against *Philaenus spumarius* (Hemiptera: Aphrophoridae). *Insects*, 14(12) :939.

**Nuova metodologia per la valutazione della tolleranza al freddo nell'olivo: valutazione di 25 cultivar acclimatate e non acclimatate**

*New methodology for frost tolerance assessment in olive: evaluation of 25 acclimated and non-acclimated cultivars*

**Pedro Valverde<sup>1\*</sup>, Enrico María Lodolini<sup>1</sup>, Veronica Giorgi<sup>1</sup>, Teresa García-López<sup>2</sup>, Davide Neri<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Agricultural, Food and Environmental Sciences, Università Politecnica delle Marche, Ancona*

<sup>2</sup>*Department of Agronomy, University of Córdoba, Spain*

\* p.valverde@staff.univpm.it

Olive cultivation, like other evergreen fruit crops worldwide, is limited by the occurrence of frost episodes at different times of the year, mainly in winter or early spring. Some contradictory results are reported about cultivar's response to frost, which depends on the physiological stage of the tissues (acclimated or not acclimated) when the cold or frost episode occurs. This work aimed to implement a user-friendly and reliable lab method for discerning frost tolerance.

On the other hand, after fine-tuning the method, the evaluation of 25 varieties in a state of acclimatization and non-acclimatization has been carried out.

To carry out the experiment, several plants located in an experimental plot in Lecce (Puglia) were used. The frost evaluations were held in the month of February (acclimated plants) and in the month of September (unacclimated plants) 2024. The results show a greater incidence and mortality in the experiment carried out with leaves proceeding from non-acclimated plants. On the other hand, the response of the varieties evaluated was different depending on the moment of acclimatization in which the plant was encountered although some varieties such as Fs-17 were shown to be the most susceptible in both evaluations. On the other hand, the varieties 'Pendolino', 'Leccino' and 'Arbequina' proved to be the most tolerant both in the acclimatization period and in the non-acclimatization period.

## Evaluation of frost damages in olive trees in central Spain: 'Filomena' storm

**Pedro Valverde<sup>1\*</sup>, Enrico María Lodolini<sup>1</sup>, Efe Deger<sup>2</sup>, Isidro Japón<sup>3</sup>, Trapero Carlos<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Agricultural, Food and Environmental Sciences, Università Politecnica delle Marche, Ancona,*

<sup>2</sup>*Department of Agronomy, University of Córdoba, Spain*

<sup>3</sup>*MG Olivo, Spain*

\* p.valverde@staff.univpm.it

During the month of January 2021, after the snowstorm "Filomena" passed through the Iberian Peninsula, an associated cold wave caused abnormally low temperatures for several days in many inland areas and especially in the provinces of Madrid and Toledo (Spain), establishing new records for minimum temperatures in various locations. These frosts, in some cases below -15°C, affected traditional and new olive grove areas, causing extensive damage both due to the weight of the snow itself and the death of tree tissues due to freezing.

This work shows the data from the assessment of the damage caused by these frosts in several olive farms with different varieties and ages of the plant located in the most affected areas of the provinces of Madrid and Toledo. Defoliation, tissue death and cracking of the bark were the main symptoms assessed on branches and the main trunk. After several months, the sprouting of the trees was also assessed. The results show that in areas where extremely low temperatures were recorded, tree death occurred regardless of the variety or age of the plant. The characterization of cold tolerance in olive varieties, as well as their incorporation into breeding programs, may be an important aspect to improve the adaptation of olive trees in areas prone to this type of extreme events.