

Effect of preparatory treatments for the cryopreservation of olive (*Olea europaea* L., cv Moraiolo) microbuds from micropropagation.

Doaa Elazab^{1*}, Maurizio Micheli², Simona Facchin², Maurizio Lambardi¹

¹ IBE-Istituto per la BioEconomia, CNR, via Madonna del Piano 10, 50019 Sesto Fiorentino (FI), Italy.

² Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Perugia, Borgo XX giugno 74, 06121 Perugia, Italy.

XV Giornate Scientifiche SOI



Pisa, 25-27 giugno 2025

INTRODUCTION

L'olivo (*Olea europaea* L.) è la seconda coltura arborea da olio più importante al mondo dopo la palma da olio. Attualmente sono disponibili varie procedure per la **crioconservazione di microgemme ottenute tramite micropropagazione**, tra cui l'incapsulamento-vitrificazione, la vitrificazione in goccia ('droplet-vitrification') e la tecnica 'V cryo-plate' risultano essere le più utilizzate ed efficaci. Tuttavia, condizione necessaria per il successo di queste tecniche è una preparazione adeguata delle microgemme affinché possano tollerare l'abbassamento di temperatura ultra-rapido, dovuto all'immersione diretta in azoto liquido (-196°C).

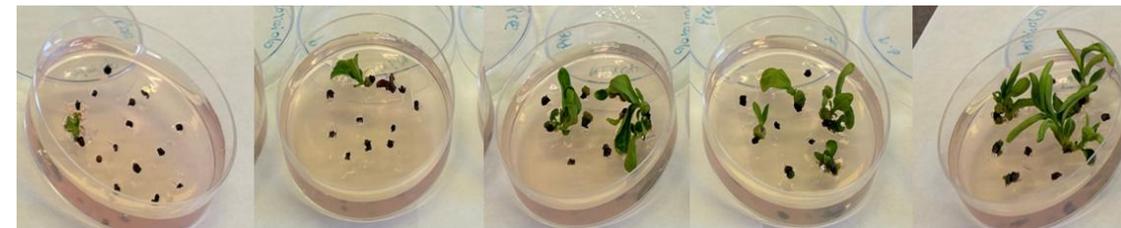
MATERIALS AND METHODS

Questo studio ha valutato diversi fattori per ottimizzare le condizioni di preparazione alla crioconservazione di microgemme di olivo (cv Moraiolo). In dettaglio, sono stati analizzati:

- diversi tempi di **trattamento con PVS2**
- pre-trattamenti con tre diversi **livelli di saccarosio**: 0.5, 0.75 e 1 M.
- due tipi di componente glucidica: **saccarosio e mannitolo**
- diverse **tecniche di crioconservazione**: 'droplet vitrification', 'V cryo-plate' e incapsulazione-vitrificazione.

Treatment	Number of buds	Survived buds	Regenerated buds
Control	15	15	15
PVS ₂ 30 min.	18	11	0
PVS ₂ 30 min.+ AL	15	15	0
PVS ₂ 45 min	23	23	9
PVS ₂ 45 min.+ AL	10	8	0
PVS ₂ 60 min.	20	20	4
PVS ₂ 60 min.+ AL	10	10	0
PVS ₂ 75 min.	24	24	5
PVS ₂ 75 min.+ AL	22	15	2
PVS ₂ 90 min.	20	20	3
PVS ₂ 90 min.+ AL	18	10	3

↑
Tecnica del 'droplet-vitrification'
Effetto di tempi crescenti di trattamento dei semi sintetici con PVS2 sulla rigenerazione dei germogli

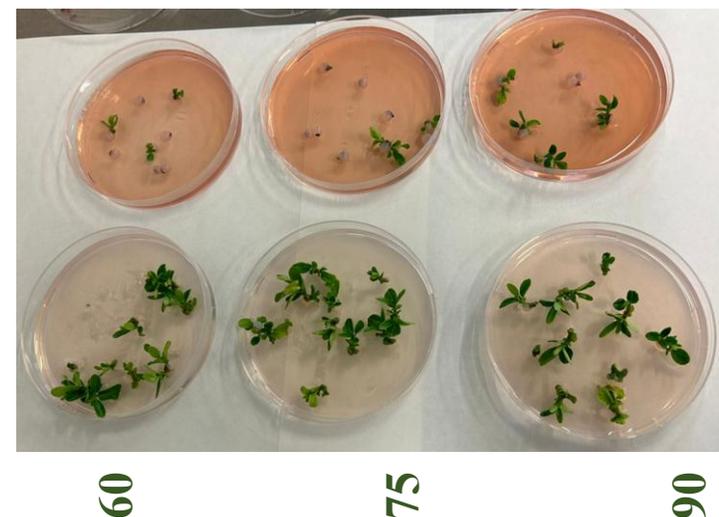


PVS2:

30 45 60 75 90



Effetto di saccarosio e mannitolo in **semi sintetici**, sottoposti a tempi di trattamento crescenti con PVS2 (min), sulla rigenerazione dei germogli



Saccarosio

Mannitolo

60

75

90

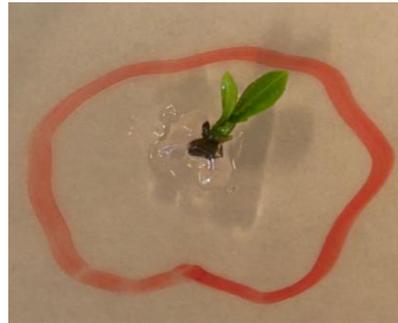


Fasi preparatorie alla crioconservazione con 'V cryo-plates'

Le cryo-plates sono state modificate per adattarle alla dimensione delle gemme di olivo.



- Alginato di sodio
- CaCl₂ per 25 minuti
- LS per 25 minuti
- PVS2 per tempi diversi
- Azoto liquido
- RS per 15 minuti
- Mezzo di 'germinazione'

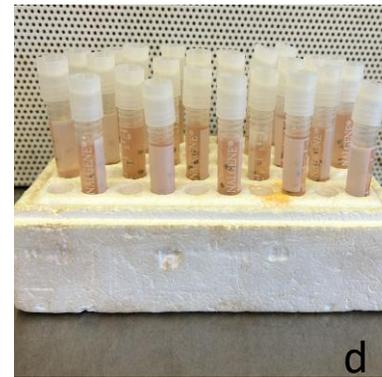
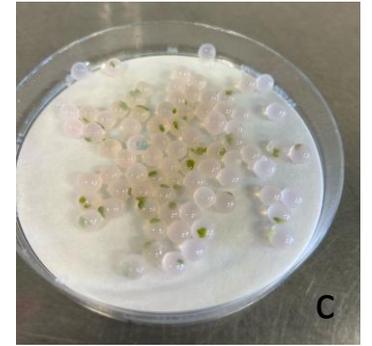
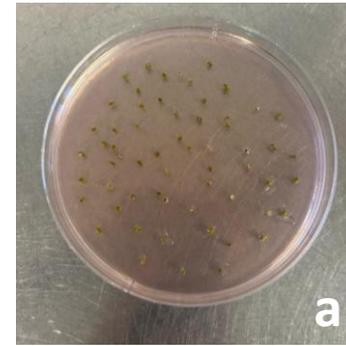


Dopo 1 mese

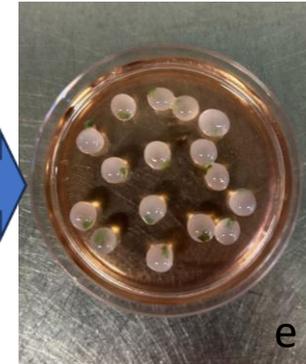


Dopo 2 mese

Crioconservazione mediante incapsulazione-vitrificazione



AL



Procedura di crioconservazione nell'olivo: a) preparazione delle microgemme (1 mm); b) semi sintetici in CaCl₂ (fase di indurimento), c) semi sintetici pronti per la crioconservazione; d) cryo-vials contenenti i semi sintetici; e) semi sintetici nel mezzo di 'germinazione'; f) esempio di 'germinazione' di un seme sintetico.

For contact:

doaa.elkassas@ibe.cnr.it