

“Valutazione dell’attività di inibizione di olii e idrolati vegetali contro patogeni virali su Cucurbitacee”



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DELLA
TUSCIA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN
SCIENZE & TECNOLOGIE ALIMENTARI (LM-70)

Curriculum: *Qualità e Valorizzazione*

Relatore: Massimo Reverberi
Relatore aggiunto: Rino Ragno
Correlatore: Anna Taglienti

Laureanda: Giulia Martufi
Matricola: 1580888

Anno Accademico:
2019/2020



Gli oli essenziali

Gli oli essenziali
(OE) sono
miscugli oleosi.

- Prevengono attacco da insetti;
- Prevengono attacco da microrganismi;
- Impollinazione;
- Sopravvivenza della specie vegetale.



Ricavati con
**distillazione in
corrente di vapore.**

- Colorazione variabile;
- Stato liquido;
- P.E. alto (160°C-260°C);
- conservati adeguatamente.



Gli idrolati

Gli **idrolati**, o idrosol o acque aromatiche, sono composti secondari.

Si dividono in:

- a) acque distillate a principi preformati;
- b) acque distillate a principi non preformati.

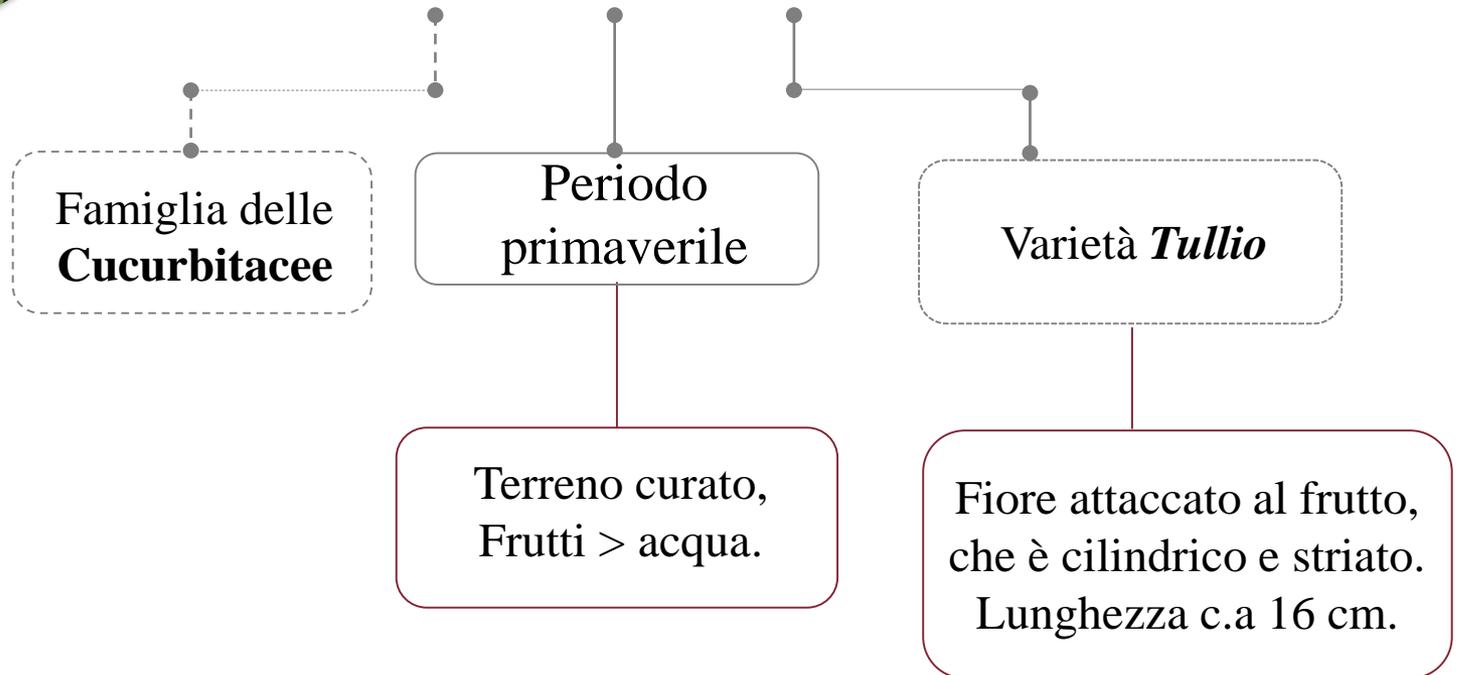
Differenze tra olii ed idrolati

Olii	Idrolati
< quantità	> numero di composti ossigenati
< dose efficace/dose letale	> componenti aromatiche trattenute
Presenti in molte piante ed in parte diverse	Normalmente scarto di distillazione
P.S. < dell'acqua	Buona solubilità



L'ospite: Cucurbita pepo

Lo **zucchino** (*Cucurbita pepo*),
rappresenta una realtà produttiva di
grande rilevanza.

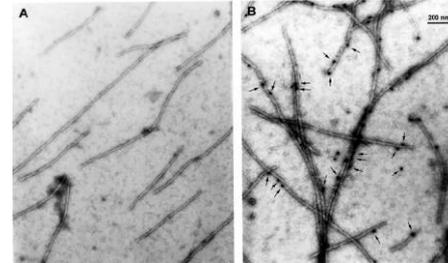




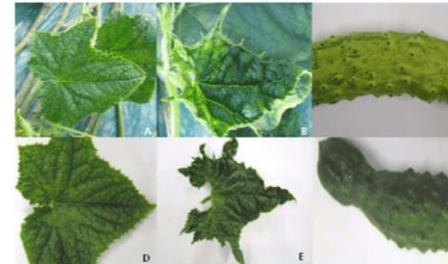
Il patogeno: Zucchini yellow mosaic virus

ZYMV è un Potyvirus

- Ospiti naturali = *Cucurbitacee*.
- Alterazione crescita della pianta.
- Alterazione nel frutto.
- Perdita prodotto fino al 94%.
- Preferenzialmente diffuso da *Aphis Gossypii*.



ZYMV



Sintomi



Aphis Gossypii

Protocollo sperimentale

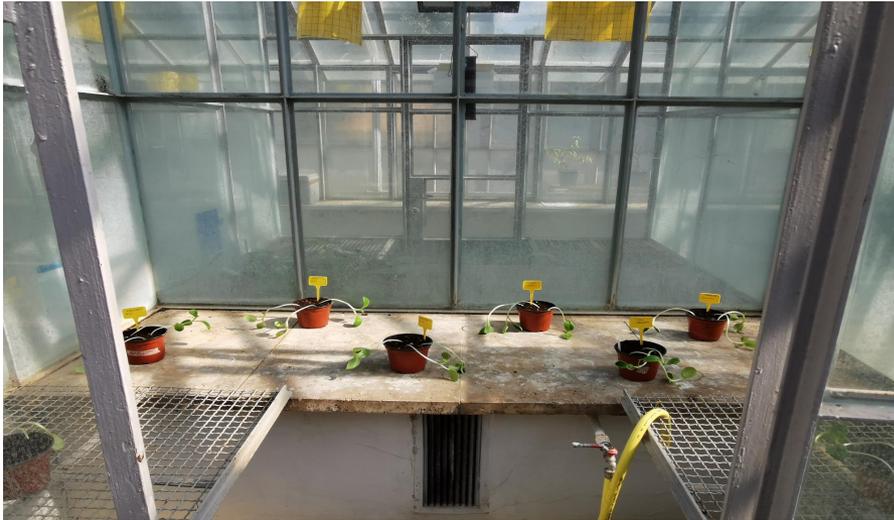


“Valutazione dell’attività di inibizione di olii e idrolati vegetali contro patogeni virali su Cucurbitacee”



Materiali e strumentazione

Primo esperimento



Fasi principali (prima parte):

- Inoculo del ZYMV;
- Campione fogliare;
- Estrazione RNA totale;
- Valutazione concentrazione RNA totale (NanoDrop Spectrophotomer).



Replica biologica	ng/μl	Diluizione
Controllo - 1	192.7	2 μl estratto + 6 μl acqua
Controllo - 2	399.1	2 μl estratto + 12 μl acqua
Controllo - 3	159.1	2 μl estratto + 5 μl acqua
Origano olio 1	283.3	2 μl estratto + 8 μl acqua
Origano olio 2	120.8	2 μl estratto + 6 μl acqua
Timo olio 1	295.0	2 μl estratto + 9 μl acqua
Timo olio 2	99.3	2 μl estratto + 6 μl acqua
Timo olio 3	261.6	2 μl estratto + 8 μl acqua
Rosmarino olio 1	178.8	2 μl estratto + 6 μl acqua
Rosmarino olio 2	406.5	2 μl estratto + 12 μl acqua
Origano idrolato 1	89.8	2 μl estratto + 6 μl acqua
Origano idrolato 2	88.6	2 μl estratto + 6 μl acqua
Origano idrolato 3	218.6	2 μl estratto + 8 μl acqua
Timo idrolato 1	53.5	2 μl estratto + 5 μl acqua
Timo idrolato 2	247.7	2 μl estratto + 7 μl acqua
Timo idrolato 3	185.1	2 μl estratto + 5 μl acqua
Rosmarino idrolato 1	101.2	2 μl estratto + 6 μl acqua
Rosmarino idrolato 2	81.4	2 μl estratto + 6 μl acqua
Rosmarino idrolato 3	118.8	2 μl estratto + 6 μl acqua
Ribavirina 1	32.8	//
Ribavirina 2	36.7	//
Ribavirina 3	110.3	2 μl estratto + 6 μl acqua



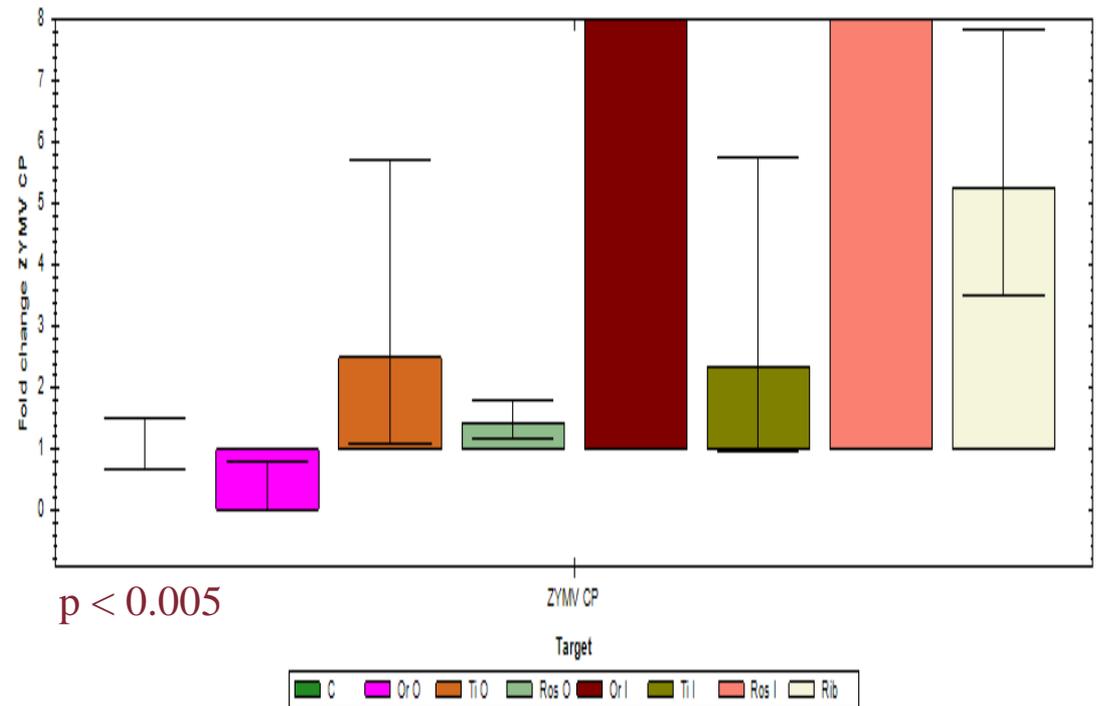
Materiali e strumentazione

Primo esperimento

Fasi principali (seconda parte):

- Quantificazione titolo virale con Real-Time PCR;
- Calcolo del valore di Cq, ΔCq e $\Delta\Delta Cq$;
- Gene study ZYMV CP con CFX Maestro software.

Risultati del gene study





Materiali e strumentazione

Secondo esperimento

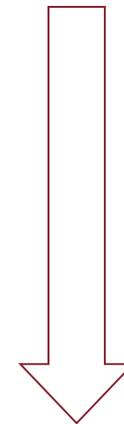
La fenilalanina ammonio liasi

(PAL)

Enzima coinvolto nella biosintesi di composti fenolici nelle piante.

Converte la *L-fenilalanina* ad *acido trans-cinnamico*.

Espressione indotta da vari stimoli abiotici e **biotici**.





Materiali e strumentazione

Secondo esperimento

Espressione di PAL, in risposta all'infezione da ZYMV CP e in presenza di oli ed idrolati

1. Real – Time PCR in SYBR GREEN.



2. Protocollo two-step :

Trascrizione inversa per la sintesi di cDNA

+

quantificazione cDNA ottenuto con NanoDrop
ND-1000.



3. Amplificazione



Tra gli stress **biotici**
abbiamo l'attacco da
parte di patogeni

Replica biologica	ng/μl
Controllo - 1	533.4
Controllo - 2	546.2
Controllo - 3	537.4
Origano olio 1	540.4
Origano olio 2	523.7
Timo olio 1	536.5
Timo olio 2	517.5
Timo olio 3	540.7
Rosmarino olio 1	530.6
Rosmarino olio 2	558.8
Origano idrolato 1	522.0
Origano idrolato 2	521.4
Origano idrolato 3	526.2
Timo idrolato 1	515.7
Timo idrolato 2	534.6
Timo idrolato 3	537.3
Rosmarino idrolato 1	524.0
Rosmarino idrolato 2	522.4
Rosmarino idrolato 3	527.8
Ribavirina 1	521.2
Ribavirina 2	521.7
Ribavirina 3	110.3

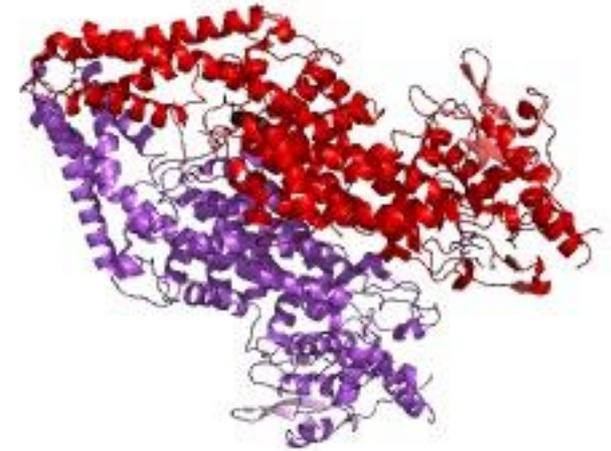


Materiali e strumentazione

Secondo esperimento

Fasi principali (seconda parte) :

- Gradiente temperature annealing (otto campioni)*;
- Valutazione migliore temperatura di annealing tramite Real-Time PCR in SYBR GREEN;
- Analisi del processo;
- Somministrazione del protocollo a 69 campioni;
- Valutazione dei risultati: curve di melting e gene study.

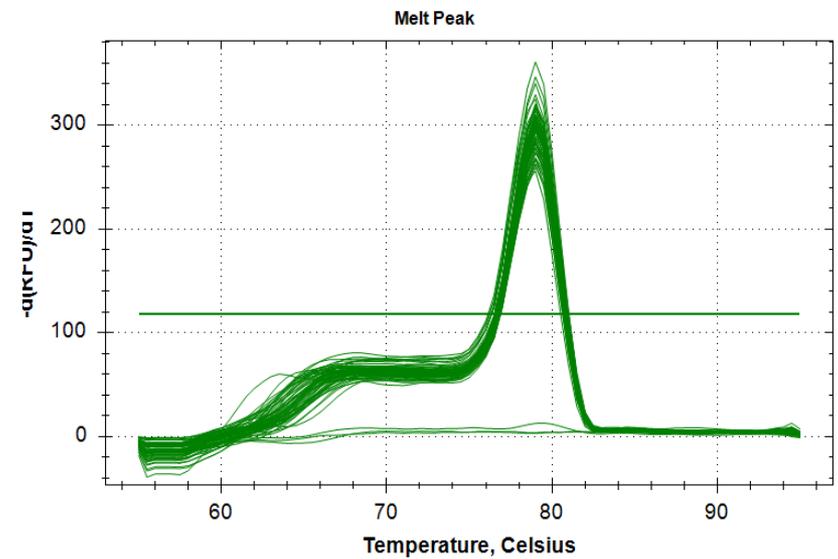
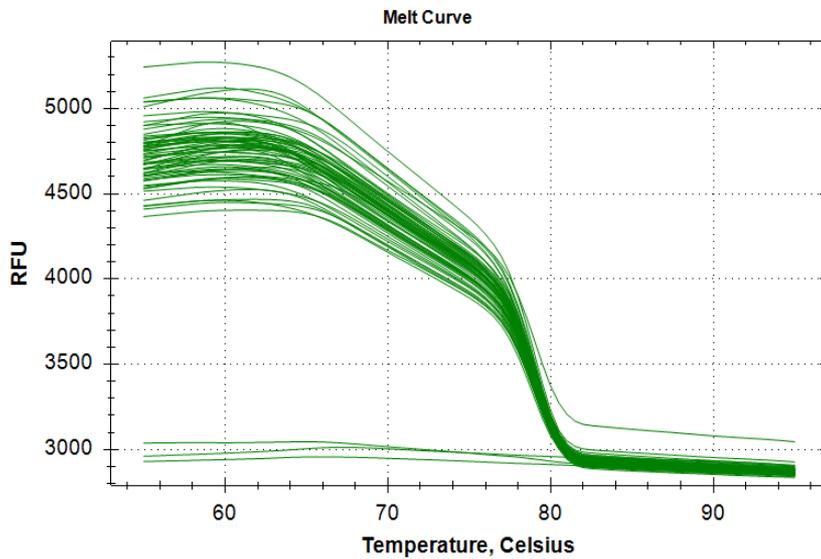


**ref.: Protocollo PETRIA*



Risultati

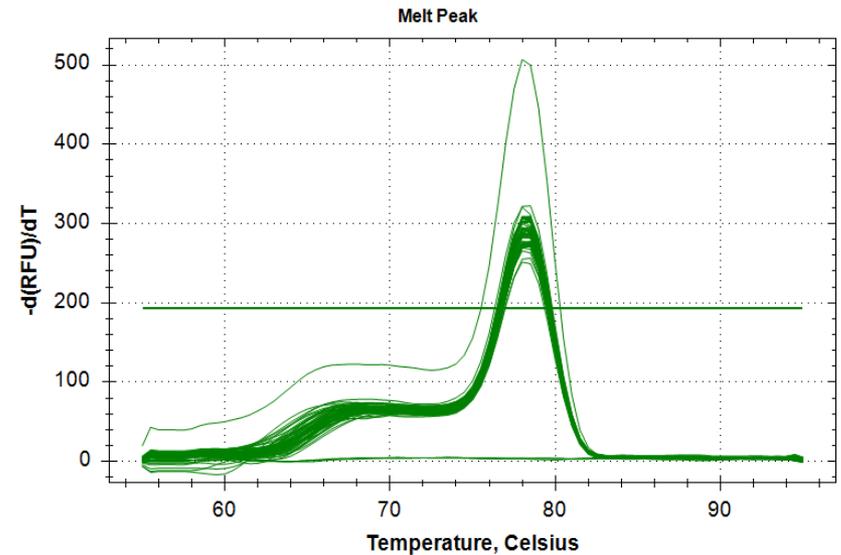
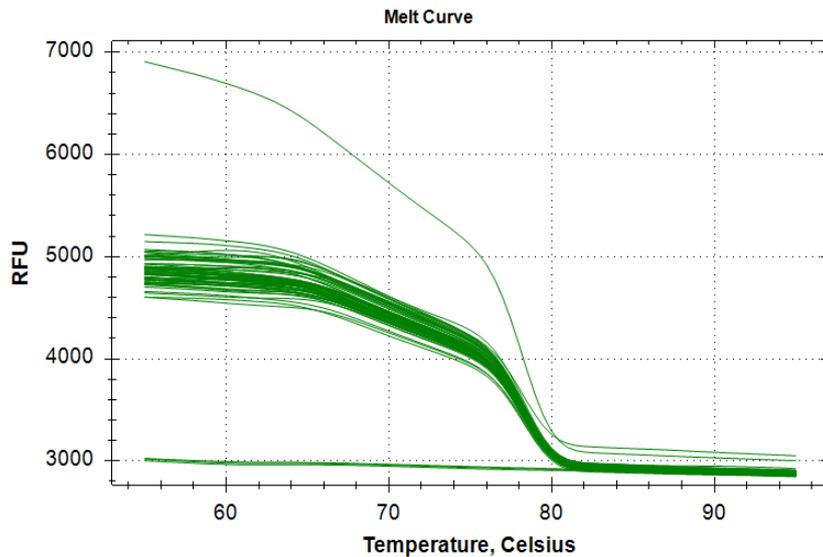
Melting curve e melting peak PAL





Risultati

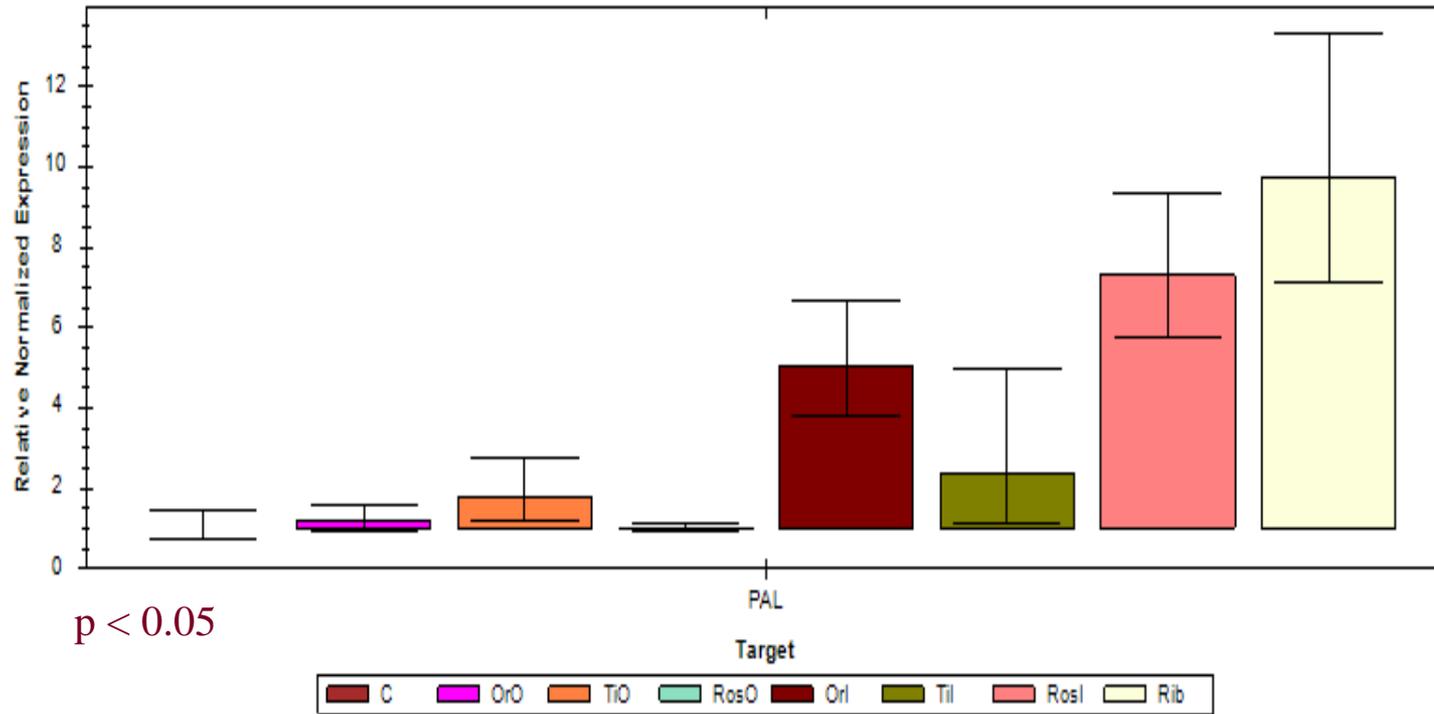
Melting curve e melting peak EF (housekeeping)





Risultati

Gene study di PAL





Conclusioni

- Origano olio < carica virale;
- Rosmarino e origano idrolato > espressione di PAL;
- Esito positivo all'analisi fenotipica dei sintomi.

Score	Significato
0	completa assenza di sintomi
1	leggero mosaico fogliare
2	mosaico fogliare accentuato
3	foglia malformata





Risultati Py EO

Py-EO by 

Manage Extracts

+ Add New Extract

← Extracts

Manage Plants

← Plants

Search

← Activities

User

 giuliasmartufi@gmail.com

Extracts

1 / 5 Show All

Extract ID	Lab Code	Extract Plant Name	Publication Title	Publication DOI	Extraction Type
52		Taiwania Fλουςiana	Chemical composition,algicidal,antimicrobial, and antioxidant activities of essentials oil of Taiwania Fλουςiana Gausson	10.3390/molecules25040967	Hydro Distillation
53		Artemisia Sieberi	Phytochemical properties of essential oil from Artemisia sieberi Besser (Iranian accession) and its antioxidant and antifungal activities	10.1080/14786419.2020.1741576	Undefined
54		Allium sativum	Allium sativum, Rosmarinus officinalis and Salvia officinalis essential oil: A spiced shields against Blowflies	10.3390/insects11030143	Undefined
61		Illicium verum	Nanoencapsulated Illicium verum Hook.f. essential oil as an effective novel plant-based preservative against aflatoxin B 1 production and free radical generation	10.1016/j.fct.2017.11.007	Hydro Distillation
			Antimicrobial and antioxidant		

“Valutazione dell’attività di inibizione di olii e idrolati vegetali contro patogeni virali su Cucurbitacee”



Grazie per l'attenzione!

“Valutazione dell’attività di inibizione di olii e idrolati vegetali contro patogeni virali su Cucurbitacee”