

# “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.

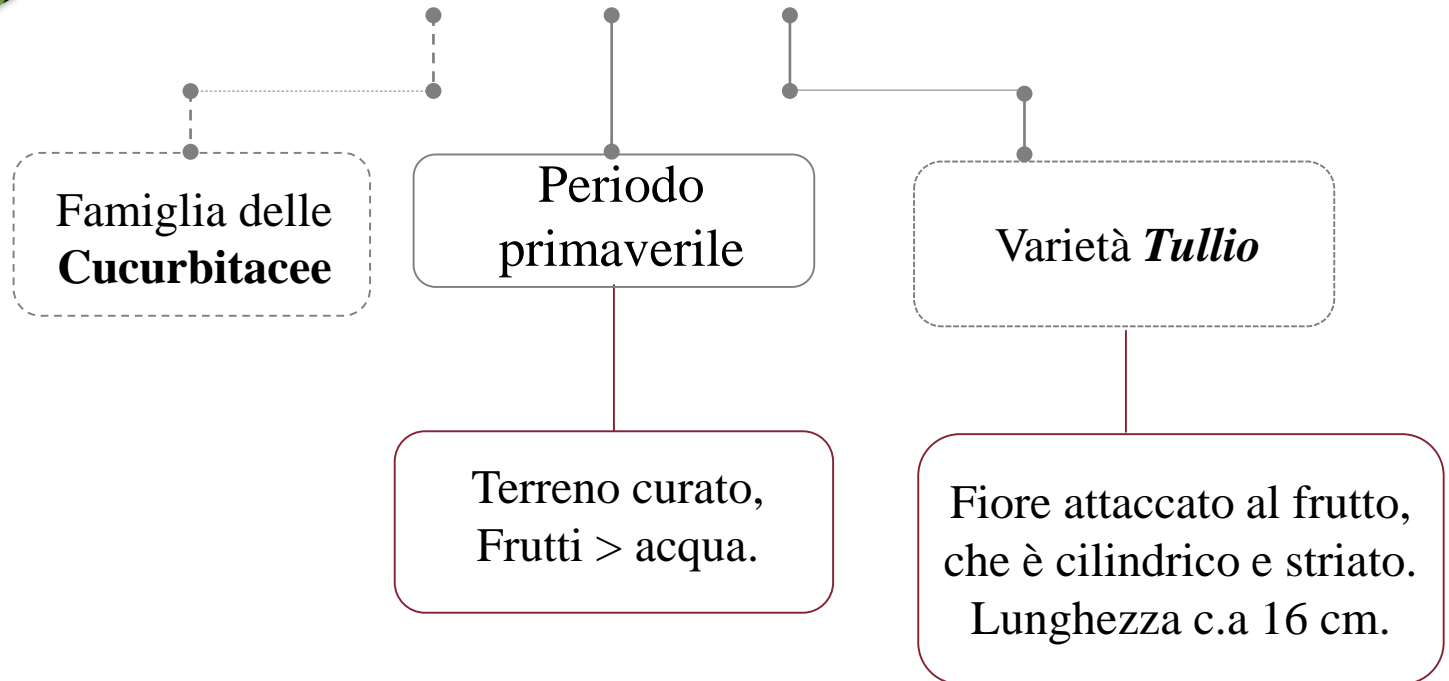
## Differenze tra olii ed idrolati

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.

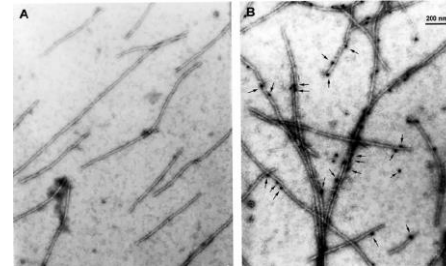




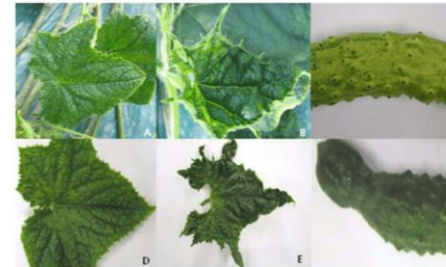
# *Il patogeno: Zucchini yellow mosaic virus*

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*

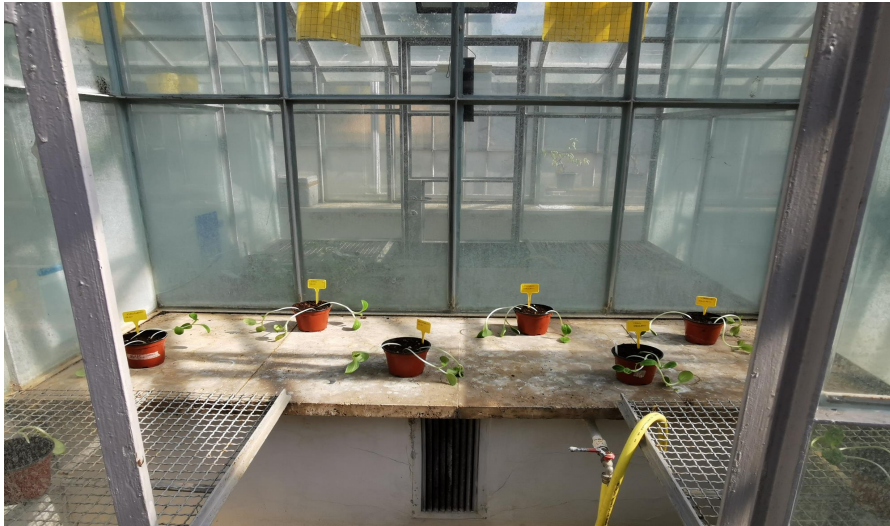


“Valutazione dell’attività di inibizione di olii e idrolati vegetali contro patogeni virali su Cucurbitacee”



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





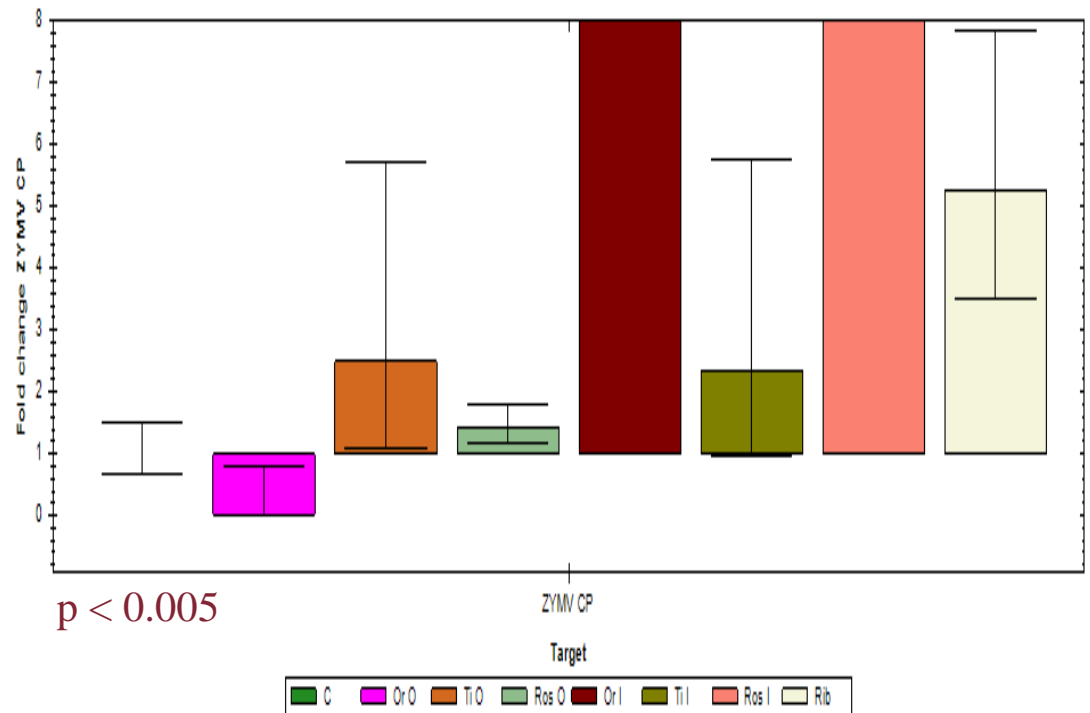
# Materiali e strumentazione

## Primo esperimento

Fasi principali (seconda parte):

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

### Risultati del gene study





# Materiali e strumentazione

## Secondo esperimento

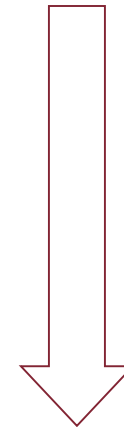
### La fenilalanina ammonio liasi

(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

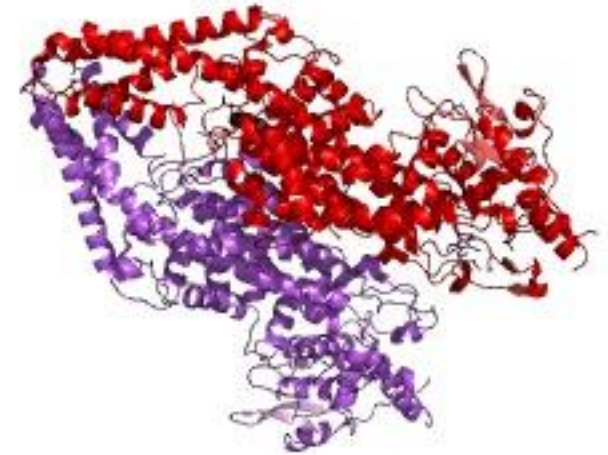


## Materiali e strumentazione

### 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.

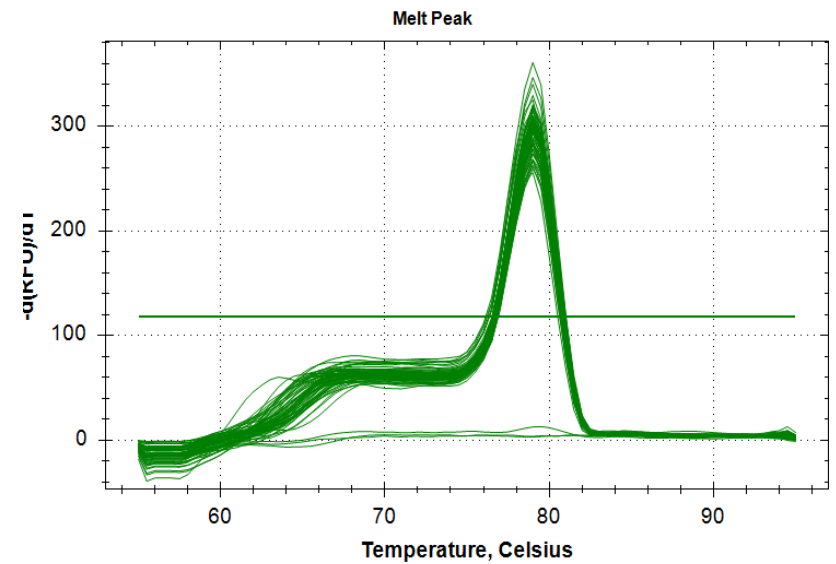
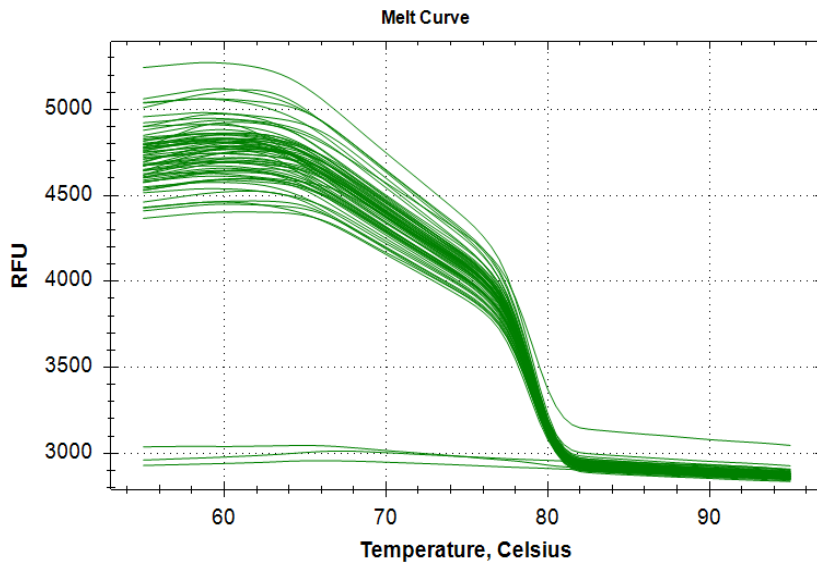


*\*ref.: Protocollo PETRIA*



## Risultati

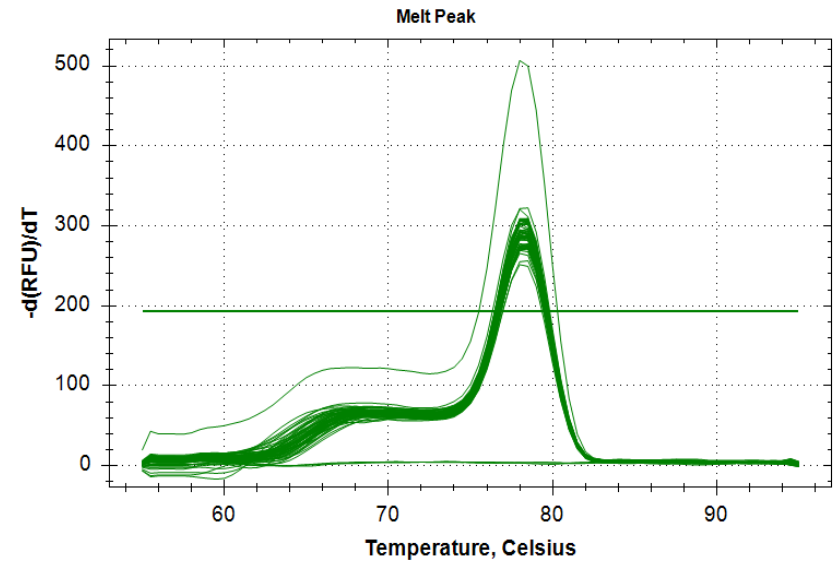
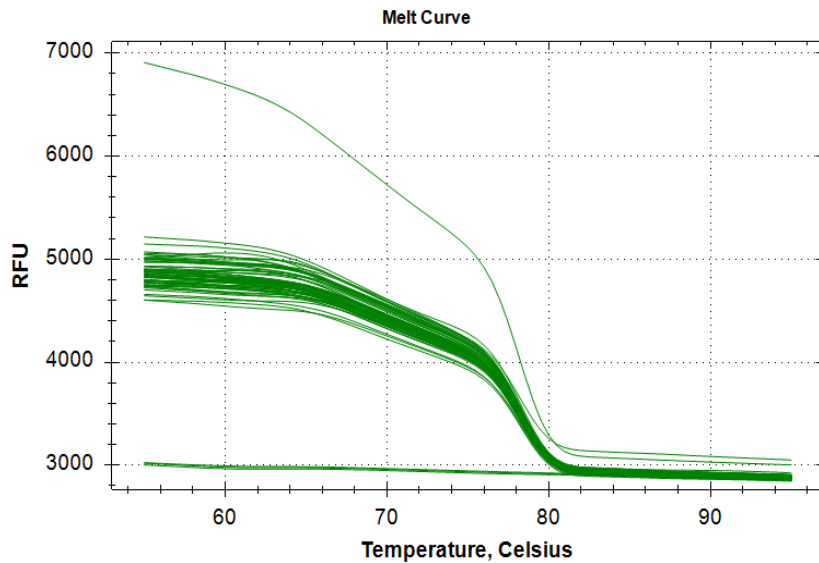
### *Melting curve e melting peak PAL*





## Risultati

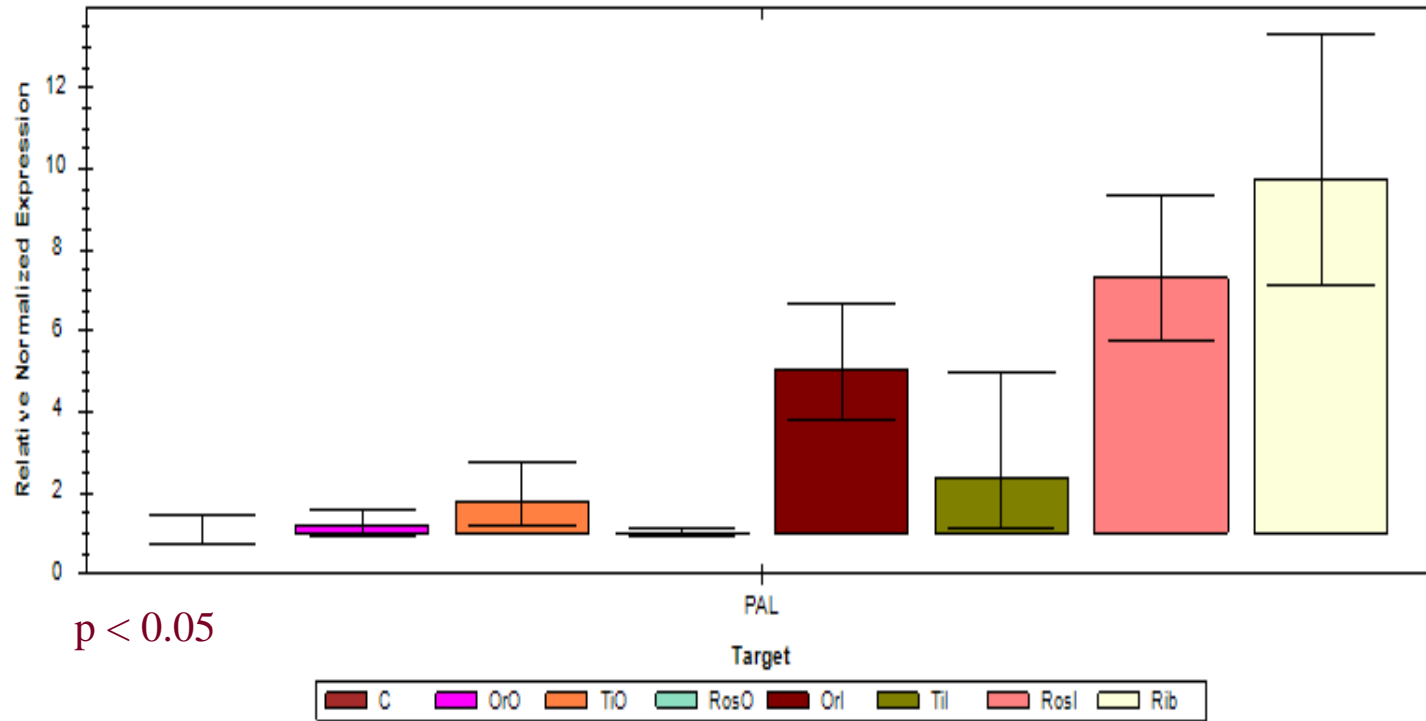
### *Melting curve e melting peak EF (housekeeping)*





# 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 Flousiana	Chemical composition,algicidal,antimicrobial, and antioxidant activities of essentials oil of Taiwania Flousiana Gaussen	<a href="https://doi.org/10.3390/molecules25040967">10.3390/molecules25040967</a>	Hydro Distillation
53		Artemisia Sieberi	Phytochemical properties of essential oil from Artemisia sieberi Besser (Iranian accession) and its antioxidant and antifungal activities	<a href="https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1741576">10.1080/14786419.2020.1741576</a>	Undefined
54		Allium sativum	Allium sativum, Rosmarinus officinalis and Salvia officinalis essential oil: A spiced shields against Blowflies	<a href="https://doi.org/10.3390/insects11030143">10.3390/insects11030143</a>	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	<a href="https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.11.007">10.1016/j.fct.2017.11.007</a>	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”