

I GEORGOFILI

Quaderni
2007-IV



ACQUISIZIONI SCIENTIFICHE E TECNICHE SUGLI STRESS DELL'OLIVO

Giornata di studio in onore
di Claudio Vitagliano

Firenze, 22 febbraio 2007



EDIZIONI POLISTAMPA

Con il contributo di



ENTE CASSA DI RISPARMIO DI FIRENZE

Copyright © 2008
Accademia dei Georgofili
Firenze
<http://www.georgofili.it>

Edizioni Polistampa
Via Livorno, 8/32 - 50142 Firenze
Tel. 055 737871 (15 linee)
info@polistampa.com - www.polistampa.com
Sede legale: Via Santa Maria, 27/r - 50125 Firenze

ISBN 978-88-596-0416-7

Responsabile redazionale: dott. Paolo Nanni

Servizi redazionali, grafica e impaginazione
SOCIETÀ EDITRICE FIORENTINA

Proprietà letteraria riservata

Supplemento a «I Georgofili. Atti dell'Accademia dei Georgofili»
Anno 2007 - Serie VIII - Vol. 4 (183° dall'inizio)

INDICE

FRANCO SCARAMUZZI <i>Saluto</i>	7
FILIBERTO LORETI <i>Ricordo di Claudio Vitagliano</i>	9
RAFFAELE TESTOLIN <i>Le basi genetiche della resistenza allo stress in olivo</i>	17
LUCA SEBASTIANI <i>Le basi fisiologiche</i>	35
RICCARDO GUCCI <i>Innovazioni tecniche</i>	63

FRANCO SCARAMUZZI*

Saluto

Ho l'onore di porgere il saluto dei Georgofili a tutti gli intervenuti all'odierno convegno sugli stress dell'olivo.

La ricerca scientifica sulle basi genetiche e molecolari della resistenza degli alberi da frutto ad alcuni stress ambientali, ha fatto notevoli progressi negli ultimi decenni, aprendo anche importanti sviluppi applicativi. Particolare interesse è stato rivolto all'olivo, trattandosi di una pianta che presenta peculiari caratteri biologici e meccanismi di adattamento ambientale. Questo convegno è stato organizzato in onore di Claudio Vitagliano che a tali ricerche ha dedicato parte dei Suoi contributi scientifici. Suoi allievi, collaboratori e poi colleghi, ne hanno portato avanti il lavoro e oggi faranno il punto sulle conoscenze raggiunte.

A nome dei Georgofili, desidero ringraziare Maria Pia Vitagliano per averci chiesto, insieme ai figli, di provvedere all'assegnazione di un loro Premio in nome di Claudio Vitagliano da destinare a un giovane laureato in agraria nell'anno accademico 2006-2007 che desideri sviluppare proprie attività sperimentali in olivicoltura presso una Istituzione di ricerca italiana.

Avremmo desiderato svolgere l'attuale convegno nell'anniversario della Sua nascita il 24 febbraio 1942 a Casale Monferrato. Ma, per diversi motivi contingenti, si è ritenuto opportuno anticiparlo di due giorni.

I Georgofili rendono così omaggio al loro illustre Accademico, Corrispondente dal 1997 e Ordinario dal 2002. Questa iniziativa però non è solo dei Georgofili, ma di tutto il mondo accademico che intende onorare l'emerito studioso e docente, prematuramente scomparso. Questo mio intervento ha anche una forte carica personale, essendo stato profondamente colpito dalla

* *Presidente dell'Accademia dei Georgofili*

violenza dello strappo che ci ha portato via una persona cara, per me come un fratello più giovane.

Appena laureatosi a Bari nel 1967, Claudio mi chiese di venire a lavorare presso l'allora giovane Istituto di Coltivazioni Arboree di Pisa, che dirigevo da pochi anni. Grazie a una borsa di studio del CNR, poté così avviare l'attività che aveva scelto. Dimostrò subito capacità e impegno, cioè intelligenza e volontà, insieme all'indispensabile spirito di sacrificio, tutte doti essenziali per un ricercatore che intende meritarsi l'attenzione del selettivo mondo accademico. Nel 1969 ritenni doveroso rientrare a Firenze per occupare la Cattedra che era stata del mio Maestro Morettini. A Pisa avevo dedicato dieci tra gli anni migliori della vita e vi lasciai grosse radici, ormai salde e capaci di sviluppare ulteriormente l'Istituzione. Come tutti gli allievi di allora, anche Claudio mostrò nei miei riguardi grande attaccamento e mantenne stretti rapporti professionali e di personale amicizia. Quando, nel 1972, celebrò a Bolzano il Suo matrimonio con Maria Pia, volle che io fossi loro testimone; ne fui onorato e commosso. Vinse la Cattedra nella Università di Udine e anche in quella sede seppe farsi apprezzare per la Sua preparazione, capacità organizzative e doti umane. Fu poi chiamato alla Scuola Superiore di Studi Universitari e Perfezionamento "S. Anna" di Pisa ove ha operato con successo per un ventennio, assumendovi anche funzioni di Vice Direttore Vicario.

Il tragico giorno di Natale 2002, iniziò un lungo e duro calvario, legato sempre a un eterno filo di speranza, nell'angoscioso alternarsi di successi della scienza medica con incalzanti delusioni. Claudio contrapponeva una straziante lucidità e la conseguente consapevolezza di ciò che stava accadendo. Abbiamo tutti sentito il peso della umana impotenza e abbiamo seguito con grande ammirazione l'eroismo di Maria Pia. Oggi Ella è qui con noi, insieme ai figli Michele e Cristian. Ci stringiamo a loro nel rendere omaggio al professore, al marito, al padre, all'uomo di cui tutti sentiamo la mancanza e conserviamo un profondo ricordo. In questa Sua Accademia è come se Claudio fosse anche oggi presente, per compiacersi dell'iniziativa e dei sentimenti che la pervadono. Con Lui, ci chiudiamo in un minuto di infinito silenzio.

Prima di cedere la parola al prof. Loreti, a nome dei Georgofili e di tutti i partecipanti a questo convegno, vorremmo offrire a Maria Pia dei fiori, come affettuoso omaggio alla Sua forza d'animo, al Suo coraggio, al grande esempio che ci ha offerto e del quale conserveremo memore gratitudine per sempre.

FILIBERTO LORETI*

Ricordo di Claudio Vitagliano

Desidero inanzitutto rivolgere un caro e affettuoso saluto a Maria Pia, Michele e Cristian e alla sig.ra Maria per averci voluto onorare della loro presenza e ringraziare Voi tutti per essere intervenuti a questo convegno promosso dall'Accademia dei Georgofili per onorare la memoria del prof. Claudio Vitagliano.

È con non poca commozione e sincero affetto che mi accingo a ricordare l'amico e collega Claudio, prematuramente scomparso il 12 aprile 2006 dopo una terribile malattia, sopportata con grande dignità e una non comune forza d'animo. È già trascorso quasi un anno dal suo decesso e il vuoto che ha lasciato soprattutto nei suoi familiari, ma anche in tutti coloro che hanno avuto la fortuna di conoscerlo ed essergli amico, diviene sempre più profondo e incolmabile.

Durante tutto il periodo della sua tremenda invalidità, vorrei ricordare l'amore con cui lo hanno giornalmente assistito la moglie Maria Pia e i figli Michele e Cristian, che per quasi tre anni e mezzo si sono prodigati fino all'inverosimile per fornirgli tutte le cure possibili e la loro affettuosa assistenza nel continuo peregrinare tra le cliniche specializzate degli ospedali di Pisa, Volterra e Verona. Ho ammirato la non comune forza di volontà di Maria Pia che non ha mai abbandonato la speranza in un seppure parziale recupero fisico di Claudio, poiché la malattia non aveva minimamente alterato le sue facoltà cognitive. Ma ho sinceramente molto apprezzato anche l'affettuoso sostegno costantemente dato alla figlia e ai nipoti, oltre che a Claudio, dalla signora Maria che, nonostante la lontananza, era sempre presente con una parola di conforto.

* *Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose "G. Scaramuzzi", Università degli Studi di Pisa*

Il ricordo di Claudio rimarrà sempre vivo nella nostra memoria, soprattutto tra i numerosi amici e colleghi che, come me e il comune amico prof. Francesco Busnelli, lo hanno seguito in tutto il percorso della sua malattia. Nelle mie frequenti visite desiderava essere aggiornato sulle vicende universitarie, sui progetti di ricerca e sulle persone che avevo incontrato nella tale o tal'altra riunione o convegno dei quali ricordava perfettamente le date. Era felice quando andavano a fargli visita i suoi collaboratori o i dottorandi che avevano iniziato la loro tesi di dottorato con lui e gli chiedevano consigli sulla impostazione e discussione dei risultati per la dissertazione finale dei loro elaborati. Claudio aveva sempre dato moltissimo ai suoi studenti, in quanto era fermamente convinto che rappresentassero il principale obiettivo della nostra missione di docenti.

Ai momenti di apparente serenità si alternavano lunghi silenzi. Ma la cosa che ha maggiormente turbato Claudio è stata la sofferta decisione di chiedere il pensionamento anticipato. Rendendosi perfettamente conto del peggioramento delle sue condizioni fisiche, nel dicembre 2005 ha rassegnato le dimissioni dalla "Scuola S. Anna", inviando agli amici più stretti e ai colleghi della Scuola la seguente lettera di commiato:

«Cari amici e colleghi, a causa delle mie precarie condizioni di salute ho deciso di andare in pensione anticipata dal febbraio 2006. Voi tutti sapete o potete immaginare quanto questa decisione sia stata e mi sia pesante, anche perché sono tra i pochi che hanno visto nascere la Scuola Superiore S. Anna nel lontano 1987 e l'hanno vista crescere fino a oggi. Vi auguro di proseguire nella Vostra vita privata e di docenti secondo i Vostri desideri, come io stesso speravo di poter fare, ricordandoVi che la vita non è solo vivere, ma è soprattutto saperla vivere e che comunque la malattia e il dolore fanno parte integrante e inscalfibile della nostra esistenza. Vorrei aggiungere che ogni persona, piccola o grande che sia, che passa nella nostra vita, è unica. Lascia sempre un po' di sé e prende un po' di noi. Grazie per aver incrociato il mio cammino».

Come potete rendervi conto, è una lettera molto sofferta e piena di non pochi significati.

Dall'inizio del 2006 il declino di Claudio è stato fatalmente progressivo, in quanto ripeteva spesso che, non potendo più lavorare, veniva a mancare una grossa parte dello scopo di vivere.

Claudio per me più che un collega è stato un amico fraterno, era sempre disponibile e si poteva contare su di lui in qualsiasi momento e per ogni necessità. Nelle numerose vicende affrontate insieme abbiamo condiviso non poche amarezze, ma anche tante soddisfazioni che ci davano il coraggio e la forza di andare avanti.

Era ottimista per natura, cordiale con tutti e sempre sorridente e si rivelò tale fin dal nostro primo incontro che avvenne nell'ormai lontano maggio 1967.

Era arrivato da Bari, subito dopo la laurea, con una borsa di studio del CNR per svolgere la sua attività di studio e di ricerca sotto la guida del prof. Franco Scaramuzzi, allora direttore dell'Istituto di Coltivazioni Arboree della Università di Pisa. Qui trovò un bel gruppo di giovani, pieni di entusiasmo, ma con le tasche irrimediabilmente vuote. Spronati e costantemente incoraggiati dal giovanissimo Maestro, siamo stati indirizzati a intraprendere la ricerca, con i pochi mezzi a disposizione, ma sempre con grande serietà e rigore scientifico.

Claudio, con il suo carattere aperto e pronto a far subito amicizia non ebbe la minima difficoltà a inserirsi nel nuovo ambiente di lavoro anche perché si respirava un clima di sincera cordialità. Nell'Istituto trovò ben avviati diversi filoni di ricerca, ma quelli dove lui contribuì attivamente furono soprattutto tre: gli aspetti fisiologici e tecnici della propagazione per talea di alcune specie arboree da frutto, l'applicazione dei fitoregolatori in frutticoltura e l'uso dei cascolanti per diminuire la forza dinamometrica al distacco delle drupe, allo scopo di facilitare la raccolta meccanica delle olive mediante scuotitori.

Egli manifestò subito una particolare predilezione per l'olivo dedicandosi con passione allo studio della abscissione di frutti, alla ristrutturazione delle forme di allevamento delle piante per meglio adeguarle alle esigenze meccaniche degli scuotitori, agli effetti dei diversi livelli di ombreggiamento delle chiome sulla differenziazione delle gemme a fiore e sulla produttività degli alberi. Tali ricerche venivano condotte fondamentalmente presso aziende private della Maremma toscana e comportavano spostamenti giornalieri, con levatacce mattutine e rientri notturni. Se da un lato richiedevano qualche sacrificio, rappresentavano delle allegre "imbarcate" con il furgone Volkswagen e la immancabile fermata alla mitica pizzeria di Cecina. Forse anche questi semplici episodi hanno contribuito in Claudio a prediligere l'olivo, cosa che manifestò anche successivamente nella scelta del corso di insegnamento di olivicoltura, che mantenne ininterrottamente per numerosi anni.

Nel frattempo, Claudio, aveva avuto la possibilità di concorrere a un posto di assistente ordinario presso l'Università di Bari ottenendo l'idoneità e nel 1970 venne nominato assistente ordinario presso l'Istituto di Coltivazioni Arboree di Pisa.

La nuova posizione gli consentiva di guardare al futuro con maggiore serenità e garantirgli una continuità nel proprio lavoro.

Da bravo ricercatore, desideroso di conoscere nuove realtà e ampliare le

proprie conoscenze, intraprese alcuni viaggi di studio all'estero, primo tra i quali nella costa occidentale degli Stati Uniti e Canada. In tale occasione ha avuto la possibilità di rendersi conto direttamente del progresso raggiunto dalla frutticoltura del nuovo mondo e dello stato di avanzamento della ricerca nelle Istituzioni scientifiche visitate a Riverside, Davis, Corvallis, Wenatchee, Summerland, Harrow, stabilendo proficui contatti con i ricercatori conosciuti.

Nel 1971 usufruendo di una borsa di studio della NATO ha trascorso un soggiorno di studio di un anno presso il Department of Pomology della Cornell University dove, in collaborazione con il dr. L.J. Edgerton, ha condotto una serie di ricerche sulla abscissione dei frutti e sull'analisi dei residui di alcuni fitoregolatori utilizzati per facilitare la raccolta dei frutti.

Rientrato a Pisa, oltre ad approfondire le indagini sulla abscissione dei frutti, finalizzate questa volta al diradamento del pesco, riprese con maggiore intensità la sua attività di ricerca sull'olivo presentando i risultati conseguiti in vari convegni e simposi internazionali tenuti nei principali paesi olivicoli del Bacino del Mediterraneo.

Divenuto esperto di fama internazionale, venne chiamato anche dalla FAO quale consulente per la soluzione di problemi oleicoli in Algeria, Tunisia, Marocco ed ex Jugoslavia o per esaminare le possibilità di un futuro insediamento della olivicoltura in Cina.

Nel 1980 si aprono per Claudio nuove prospettive che, sebbene rappresentino un coronamento del lavoro svolto e una tappa importante della carriera universitaria, comportarono non pochi sacrifici per l'allontanamento dalla famiglia, alla quale era molto legato. Infatti in seguito alla vincita del concorso a posto di professore universitario di prima fascia per la disciplina "Coltivazioni Arboree" venne chiamato nella nuova Facoltà di Agraria della Università di Udine.

L'inizio non è stato affatto facile perché c'era tutto da fare, in quanto si ritrovò confinato in un'ala di un ex convento, rappresentata da un lungo corridoio e una serie di cellette arredate da un tavolo di legno, una libreria e poco altro. A Claudio l'onore e l'onere di fondare e dirigere l'Istituto di Produzione Vegetale e aprire il settore delle Coltivazioni Arboree.

Come si conviene a grandi pionieri, si rimboccò le maniche e si mise a lavorare con tutto l'impegno di cui era capace. Stabili stretti legami di amicizia con i colleghi e proficui contatti con le principali istituzioni locali.

Pur continuando la sua collaborazione con Pisa, dove mantenne l'incarico di insegnamento di olivicoltura, avviò le prime linee di ricerca su temi di interesse territoriale e ottenne dalla regione Friuli alcune borse di studio per

giovani laureati, consentendogli di avviare verso l'attività di ricerca i primi collaboratori. Impostò una serie di indagini sulla traslocazione di composti marcati nel diradamento del pesco, nella propagazione per talea dell'actinidia, nella valutazione dei portinnesti di cotogno, compresa la serie CtS costituita a Pisa.

Era buono e cordiale fuori dall'ambiente di lavoro, ma duro e combattivo quando doveva perseguire determinati obiettivi e prendere delle decisioni importanti. Così lo è stato nell'organizzazione dell'Istituto, nell'attività svolta quale membro del Consiglio di Amministrazione, nella impostazione della didattica dei corsi di studio, nella scelta della nuova sede della Facoltà di Agraria, nell'avvio dell'azienda sperimentale della Facoltà. I suoi collaboratori raccontano che sono rimaste epiche le battaglie condotte in Consiglio di Amministrazione per l'insediamento dei dipartimenti della Facoltà di Agraria nel primo lotto della costruenda sede del Polo Scientifico in via di progettazione al Campus dei Rizzi.

Non era sempre combattivo su tutto, sapeva comprendere anche le ragioni degli altri che assecondava, ma aveva il fiuto per le decisioni importanti e su quelle non mollava.

Del periodo trascorso a Udine gli è pesato moltissimo la lontananza dalla famiglia che non aveva potuto portare con sé per l'insegnamento di Maria Pia e la frequenza alle superiori dei figli che giustamente non ritenne opportuno trasferire in altra sede scolastica. Pertanto il suo desiderio era quello di rientrare a Pisa. E come nelle favole questo desiderio non tardò molto a diventare realtà.

In quel periodo dirigevo la sezione di agraria della Scuola Superiore di Studi Universitari e di Perfezionamento di Pisa, quando inaspettatamente vennero assegnate alla Scuola otto cattedre le quali furono messe a concorso per trasferimento e nel 1984, tra i primi docenti chiamati a ricoprirle furono i proff. Francesco Busnelli e Claudio Vitagliano. Busnelli fu poi eletto direttore della Scuola e Vitagliano preside della Classe di Scienze Sperimentali e Applicate, nominato successivamente vice direttore della Scuola. Tra i due colleghi si instaurò ben presto uno stretto rapporto di collaborazione e di amicizia. Il prof. Busnelli, essendo impossibilitato a partecipare a questa cerimonia, mi ha pregato di leggere queste poche righe per manifestare la sua grande stima e tutto il suo affetto per Claudio:

«Ho conosciuto Claudio Vitagliano come collega alla Scuola Superiore S. Anna e, in lunghi anni di comune impegno, ne ho apprezzato le spiccate doti di dedizione, di equilibrio, di saggezza.

Avendo poi avuto il privilegio di esserGli vicino nei brevi anni della ma-

lattia, ho incontrato un amico capace di offrirmi un'indimenticabile lezione di umanità, fatta di eroismo, nel Suo commovente attaccamento alla Scuola, e di dignità, nella Sua serena sopportazione della sofferenza.

Per questo il ricordo esaltante della stagione che ci ha visto fianco a fianco tra i protagonisti della costruzione della Scuola si fonde con il rimpianto per un'amicizia troppo presto recisa».

Presso la Scuola Superiore S. Anna inizia quella che possiamo considerare la terza fase della vita accademica di Claudio. Pioniere ormai ben consolidato, Claudio contribuì attivamente alla nascita e al successivo sviluppo della Scuola che nel giro di pochi anni venne dotata di nuovi docenti, di personale tecnico e amministrativo e di attrezzatissimi laboratori, guadagnandosi il meritato titolo di "Scuola di Eccellenza". Nel 1987 venne acquisito il conservatorio Sant'Anna (da qui l'abbreviazione a Scuola Sant'Anna) che con la direzione del prof. Riccardo Varaldo e la vice direzione di Claudio venne completamente ristrutturato e ampliato con nuovi edifici per ospitare i laureati iscritti al corso di perfezionamento che erano divenuti più numerosi.

Nel frattempo i laboratori erano diventati insufficienti e per la natura delle ricerche condotte non potevano più essere tenuti al centro della città. Con la donazione della Piaggio di un'ampia area edificata a Pontedera è stato costituito il "Polo Sant'Anna Valdera" dove Claudio e i suoi collaboratori hanno organizzato i "BIO Labs", laboratori biologici dotati della più moderna strumentazione che consente di condurre ricerche avanzate e di alto livello scientifico.

Inizia una nuova e intensa attività di ricerca con progetti finanziati dal MIUR, MIPAF, Unione Europea, Regione Toscana su tematiche di ricerca avanzate e innovative, di interesse nazionale e internazionale. Anche se non l'aveva mai abbandonato, riprende lo studio di alcune problematiche riguardanti l'olivo e la sua coltivazione. Tanto per citarne alcune, focalizza la sua attenzione sulla selezione clonale e sulla caratterizzazione di alcune cultivar di olivo mediante marcatori molecolari. Conduce approfonditi studi sulla conoscenza delle cause che determinano gli stress salini e gli effetti negativi sullo sviluppo vegetativo e produttivo delle piante.

Dalla intensa attività svolta in questo settore di studio è nata l'idea di dedicare a Claudio l'odierno convegno, ma quello che, senza dubbio, gli avrebbe fatto più piacere è di tenerlo in questa prestigiosa sede, di cui era Accademico Ordinario e attivo collaboratore.

Studio di grande spessore, il prof. Vitagliano ha lasciato quale testimonianza della sua appassionata e intensa attività scientifica oltre 200 pubblicazioni, edite su riviste nazionali e internazionali di riconosciuto prestigio

scientifico, nonché alcuni capitoli di testi scientifici riguardanti soprattutto la olivicoltura, disciplina che come ho già detto ha sempre prediletto. Durante la sua carriera, Claudio ha ricoperto importanti incarichi a livello nazionale e internazionale non sempre strettamente legati al mondo accademico, quali membro del Consiglio Superiore dell'Agricoltura e Chairman del "Working Group on Oliviculture" dell'ISHS, nell'ambito del quale nel settembre 2003 ha organizzato il "Fourth International Symposium on Olive Growing".

Le approfondite acquisizioni scientifiche conseguite in una attività di ricerca di alto livello gli hanno valso numerosi riconoscimenti e l'appartenenza a varie Accademie e Società scientifiche nazionali ed internazionali quali: l'Accademia dei Georgofili, l'Accademia Italiana della Vite e del Vino, l'Accademia dell'olivo e dell'Olio della quale è stato vicepresidente, l'Accademia delle Scienze di New York e la Società Orticola Italiana, l'International Society for Horticultural Science.

Il prof. Vitagliano ha sempre svolto i suoi incarichi con passione, professionalità e soprattutto con grande onestà intellettuale.

La sua fibra di lottatore, che aveva caratterizzato tanta parte della sua vita, ha riflesso particolarmente in questi ultimi anni di sofferenza, durante i quali Claudio ha affrontato la sua malattia con grande dignità e nella continua speranza di poter ritornare a svolgere il proprio lavoro.

Lo rimpiangiamo con profonda amarezza noi tutti, amici e colleghi, che per tanti anni abbiamo avuto modo di apprezzare le sue molteplici qualità, il suo carattere semplice e disponibile per gli altri, il suo equilibrio, la sua generosità e le sue grandi doti umane.

Le basi genetiche della resistenza allo stress in olivo

Le piante hanno meccanismi di risposta a vari stress abiotici, come la carenza o l'eccesso di luce, la carenza o l'eccesso di acqua, le elevate concentrazioni saline nel suolo, le temperature estreme, le elevate concentrazioni di specie reattive dell'ossigeno (*ROS, Reactive Oxygen Species*) e altri fattori ambientali avversi (Bray et al., 2000).

Questi meccanismi di risposta possono essere costitutivi o adattativi.

I primi sono sempre "attivi" e sono stati acquisiti dalla specie durante la sua evoluzione per effetto dell'ambiente permanentemente ostile in cui si è trovata a vivere. I secondi sono tipici di specie che normalmente non vivono in stato di stress, ma hanno acquisito meccanismi che permettono loro di rispondere rapidamente a condizioni di stress occasionale. Questi meccanismi sono normalmente "spenti" e vengono attivati rapidamente quando le condizioni di stress si verificano.

MECCANISMI COSTITUTIVI E ADATTATIVI

Le specie che dispongono di meccanismi di risposta costitutivi hanno sviluppato meccanismi di tolleranza innati, che pongono le piante nelle condizioni di poter vivere stabilmente in una condizione di stress. Nel secondo caso, le specie normalmente vivono in condizioni di non stress, ma, in caso di necessità, sono in grado di percepire condizioni di stress e sviluppare una risposta adattativa che altrimenti rimarrebbe inespressa.

Consideriamo per brevità tre tipi di stress, che sono particolarmente gravi

* Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università degli Studi di Udine

nell'olivo perché determinano riduzioni di produzione e, nei casi più estremi, la morte della pianta: lo stress idrico, lo stress salino e lo stress termico dovuto alle basse temperature.

L'olivo (*Olea europaea* L.) per il primo tipo di stress è caratterizzato da meccanismi di risposta di tipo sia costitutivo che adattativo, mentre negli altri due casi le risposte sono solamente di tipo adattativo e piuttosto limitate (Vitagliano e Sebastiani, 2002).

LA RESISTENZA A SICCATÀ

Le piante destinate a vivere costantemente in ambienti ostili per quanto riguarda la disponibilità di acqua hanno sviluppato durante la loro evoluzione meccanismi di adattamento a condizioni permanenti di stress, divenuti costitutivi (Chaves et al., 2003). Solo per ricordarne alcuni, possiamo citare:

- modifiche dello sviluppo e della morfologia della pianta;
- modifiche della fenologia (epoche di germogliamento, fioritura, durata del ciclo riproduttivo...);
- dimensioni e orientamento del sistema radicale;
- caratteristiche morfologiche e proprietà fisiche dei vasi xilematici;
- acquisizione/sviluppo di nuovi *pathway* metabolici, come il ciclo CAM (*Crassulacean Acid Metabolism*), la sintesi abnorme di alcolzuccheri e/o altri soluti compatibili, meccanismi di sequestro dei soluti nel vacuolo ecc.

Alcuni di questi, quali la morfologia della pianta, in particolare delle foglie, lo sviluppo dell'apparato radicale, le caratteristiche dei vasi xilematici e in generale il sistema di trasporto dell'acqua, sono propri anche dell'olivo e testimoniano come l'evoluzione di questa specie sia avvenuta in ambienti semi-aridi.

LA RESISTENZA DI TIPO ADATTATIVO ALLO STRESS IDRICO

Nell'ottica di un genetista, che opera nel campo del miglioramento delle specie agrarie, i meccanismi costitutivi visti sopra hanno meno interesse rispetto agli adattamenti indotti da stress temporanei, sui quali è più facile – al momento attuale – immaginare un interesse e un margine per il miglioramento genetico della specie.

In generale le specie meglio adattate a rispondere a condizioni di stress transienti, in condizioni di stress idrico mettono in moto una serie di processi di adattamento descritti sinteticamente in tabella 1. Tra questi ricordiamo quelli maggiormente noti anche in olivo:

- la chiusura degli stomi, con conseguente riduzione del flusso traspirativo, che limita le perdite di acqua (Moriana et al., 2002);
- la riduzione dell'attività fotosintetica come conseguenza della riduzione del flusso traspirativo, che indirettamente avvia processi di fotoinibizione, fotoossidazione e fotorespirazione (Angelopoulos et al., 1996);
- l'attivazione di sistemi enzimatici (SOD, CAT, APX, POD, LOX) di protezione da forme attive dell'ossigeno (*ROS*), create dall'eccesso di radiazione fotosintetica non utilizzata (Sofa et al., 2004b);
- riduzione della permeabilità all'acqua delle membrane cellulari per ridurre le perdite di acqua (Secchi et al., 2007);
- produzione di soluti compatibili in grado di elevare il potenziale osmotico citoplasmatico (Tattini et al., 1996) e ripristinare il gradiente osmotico necessario per l'ingresso di acqua dalle radici. Soluti compatibili sono alcuni aminoacidi come la prolina, i composti terziari dello zolfo, la glicinbetaina e altri composti quaternari dell'ammonio, alcuni polialcoli, tra cui mannitolo. Non tutte le piante sintetizzano in quantità significative tutti questi composti (Inan et al., 2004). Dell'olivo si conosce poco, ma sicuramente in risposta agli stress idrico/salini la specie sintetizza prolina (Sofa et al., 2004a) e mannitolo (Gucci 1997);
- aumento della sintesi di ABA e attivazione di vari *pathway* biochimici ABA-dipendenti, tra cui alcuni di quelli descritti sopra.

I processi, elencati qui sommariamente, verranno descritti meglio nelle relazioni che seguono. Molti altri processi di adattamento sono stati descritti in dettaglio in specie modello più studiate tra i biologi ed è possibile che parte degli stessi sia presente anche in olivo.

Ognuno di questi processi è ovviamente sotto controllo genico (Chaves et al., 2003; Barthels e Sunkar, 2005).

Rifacendoci a specie più studiate, quali *Arabidopsis*, o più recentemente *Thellungiella halophila*, una specie alofita filogeneticamente vicina ad *Arabidopsis* e scelta proprio per mettere in risalto le differenze geniche tra le due specie legate all'adattamento a condizioni estreme di stress idrico/salino (Wang et al., 2004; Amtmann et al., 2005), possiamo disporre di informazioni molto più abbondanti su geni e trascritti. Queste informazioni, basate su metodi

<p><i>Variazioni fenotipiche</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - riduzione dello sviluppo della <i>canopy</i> - accorciamento degli internodi - produzione di nuove foglie di taglia ridotta - ispessimento delle foglie (aumento dello spessore del mesofillo) - sviluppo degli apparati radicali
<p><i>Variazioni fisiologiche</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - (parziale) chiusura degli stomi e riduzione del flusso traspirativo - perdita di turgore e aggiustamento del potenziale idrico - riduzione dell'attività fotosintetica e attivazione di processi di foto-inibizione, foto-ossidazione e foto-respirazione - aumento della concentrazione osmotica citoplasmatica
<p><i>Variazioni biochimiche (metaboliti e pathway)</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - diminuzione dell'attività dei sistemi fotosintetici - riduzione dell'attività della RUBISCO - accumulo di soluti compatibili non tossici, quali zuccheri, mio-inositolo e altri alcohol-zuccheri, prolina, glicinbetaina, che aumentano la concentrazione osmotica citoplasmatica - modulazione [riduzione/aumento a seconda dei tessuti] della sintesi di aquaporine - sottoespressione delle <i>CDKs</i> (<i>Cyclin-dependent kinases</i>) e sovra-/sotto-espressione delle espansine, che regolano rispettivamente la divisione e l'espansione cellulare - sintesi di <i>heat shock proteins</i> (<i>Hsps</i>) a funzione di <i>chaperone</i> che prevengono l'aggregazione e la conseguente disattivazione di proteine - aumento della proteolisi di proteine danneggiate dallo stress, sintesi di proteasi (cistein proteasi) - aumento della sintesi di poliammine con funzione di sequestro delle forme attive dell'ossigeno (<i>ROS</i>) - sintesi di enzimi detossificanti attivi contro aldeidi, perossidi e altre <i>ROS</i>, contro la formazione di ponti disolfuro nelle proteine ecc. - aumento della sintesi di acido abscissico (<i>ABA</i>)
<p><i>Variazioni nei profili di trascrizione (con particolare riferimento ai fenomeni di sensing e signalling)</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - attivazione o sovra- / sotto-espressione di enzimi legati ai pathway biochimici descritti sopra - i fattori di trascrizione che possono venire attivati in condizioni di stress idrici/salini sono membri delle famiglie: <i>DREB</i> (o <i>CBF</i>), <i>ERF</i>, <i>Zn-finger</i>, <i>WRKY</i>, <i>Myb</i>, <i>bHLH</i>, <i>bZIP</i>, <i>NAC</i>, <i>HDZIP</i> (Seki et al., 2002; Nakashima et al., 2006) - micro RNA (<i>miRNA</i>) e piccoli RNA a interferenza (<i>siRNAs</i>), responsabili di fenomeni di silenziamento genico e di silenziamento post-trascrizionale, sono risultati coinvolti nei fenomeni di regolazione della tolleranza idrico/salina (Sunkar e Zhu, 2004; Borsani et al., 2005)

Tab. 1 *Variazioni adattative allo stress idrico (da autori vari)*

di analisi dei trascritti (trascrittomica) condotte su collezioni molto grandi di geni e fattori di trascrizione, danno un quadro incredibilmente complesso dei profili biochimici coinvolti.

Una pianta in condizioni di stress può alterare decine di *pathway* metabolici, alcuni chiaramente noti per essere pertinenti al contesto, ma altri coinvolti in maniera, almeno apparentemente, inattesa.

Maroco et al. (1999), studiando le variazioni dei trascritti in piante controllo e piante sottoposte a stress idrico/salino in *Mesembryanthemum crystallinum*, una pianta a ciclo *CAM* altamente resistente all'essiccamento, hanno evidenziato come lo stress induca da una parte una forte sovra-espressione (*up-regulation*) dei geni *CAM*-specifici, ma anche di geni legati alla glicolisi, alla sintesi dell'amido e al trasporto vacuolare e dall'altra una sotto-espressio-

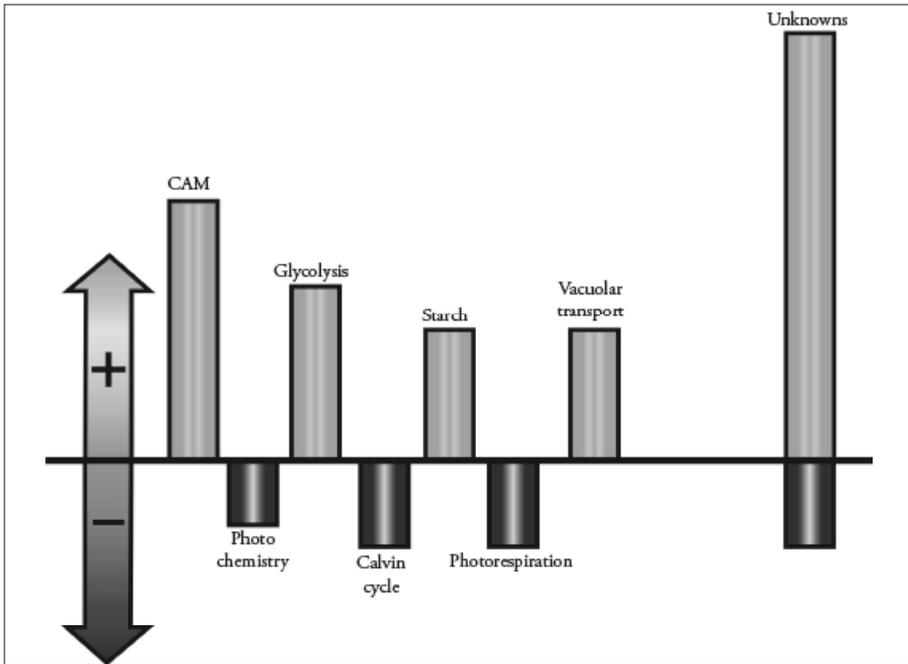


Fig. 1 Variazione dei profili di espressione di geni dei diversi pathway metabolici in piante di *Mesembryanthemum crystallinum* sottoposte a stress idricosalino (da Chaves et al., 2003)

ne (*down-regulation*) di geni legati al ciclo di Calvin, alla fotorespirazione e alla fotochimica (fig. 1).

Un interessante sottoprodotto – se così si può dire – di questo tipo di analisi è la possibilità di identificare geni coinvolti in un determinato processo metabolico mai descritti o annotati in precedenza. Sempre nell'esperimento citato, ben 60 cDNA sovra- o sotto-espressi non erano mai stati identificati o caratterizzati prima dell'esperimento (Chaves et al., 2003).

Certamente la trasferibilità delle informazioni ottenute da una specie a un'altra non è totale. Ogni specie ha assemblato *pathways* metabolici diversi in risposta agli ambienti in cui si è evoluta. Ne è un esempio proprio il crescione *Thellungiella halophila*. Questa specie è filogeneticamente molto vicina ad *Arabidopsis* tanto da essere stata classificata per molto tempo come appartenente allo stesso genere. Dai primi dati molecolari, mostra una omologia di sequenza del 90-95% con *Arabidopsis*, tuttavia ha sviluppato una resistenza all'essiccamento molto maggiore di *Arabidopsis thaliana*, che sostanzialmente è una specie sensibile allo stress idrico (Inan et al., 2004). Su appena 3.000 sequenze espresse (*EST Expressed Sequence Sites*) di *Thellungiella* analizzate sui

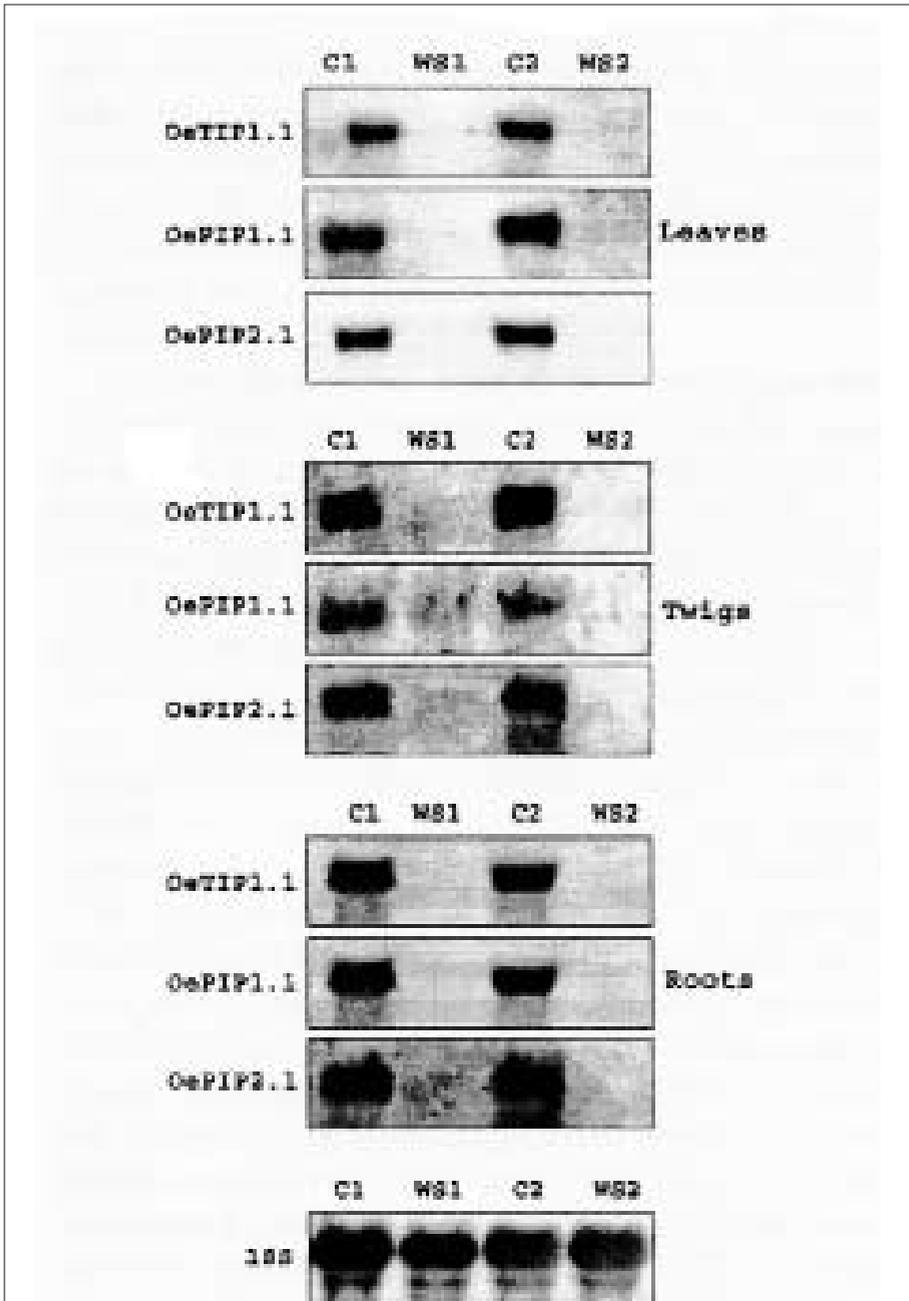


Fig. 2 Livello di espressione di tre aquaporine isolate in olivo (*OeTIP1.1*, *OePIP1.1* e *OePIP2.1*) in piante di 2 anni di "Leccino" sottoposte a stress idrico (C = controllo, WS = piante sottoposte a stress idrico) (da Secchi et al., 2007)

primi *arrays*, ben 17 sequenze sovra- o sotto-regolate in condizioni di stress idrico/salino erano, almeno apparentemente, specie-specifiche e non trovavano omologia nella sequenza di *Arabidopsis* (Amtmann et al., 2005).

Questi dati confermano le sostanziali differenze del quadro fenotipico e metabolico tra le due specie in risposta allo stress. Mentre le reazioni di *Arabidopsis* assomigliano più – come dice bene Amtmann nel lavoro appena citato – a un attacco di panico e non portano alla fine a un adattamento efficace, le reazioni di *Thellungiella* portano a un effettivo adattamento e alla sopravvivenza.

L'esempio di due specie filogeneticamente vicine, ma con strategie di adattamento completamente diverse, ci induce a ritenere che l'adattamento allo stress idrico dell'olivo debba essere studiato in olivo.

Geni in olivo ne sono stati isolati e annotati pochi finora. Un controllo in banca dati NCBI, eseguito al momento in cui questo lavoro è stato scritto, registra solamente 560 sequenze di DNA depositate per l'olivo, contro 94.548 sequenze depositate complessivamente per il *Prunus*, 262.092 per il melo, 939.227 per il *Citrus*, 6.056.965 per la vite e ben 8.144.419 per il pioppo, tanto per citare solo alcune delle specie arboree di interesse agrario.

Per quanto riguarda geni legati allo stress, vale la pena ricordare l'attività di due gruppi italiani. Il primo gruppo, dell'Università della Basilicata e dell'Università di Bologna, ha studiato in olivo l'effetto dello stress sulle variazioni di enzimi legati alle difese dagli stress ossidativi. Il lavoro non riguarda variazioni dell'espressione genica, ma variazioni del prodotto genico, cioè di una serie di enzimi. Tuttavia, questi dati ci permettono di osservare come, in condizioni di stress idrico, l'olivo aumenti la sintesi di molti enzimi, coinvolti direttamente o indirettamente nella difesa dalle forme attive dell'ossigeno, come SOD, CAT, APX, POD, LOX (Sofa et al. 2004b).

Il gruppo dell'Università di Torino ha invece isolato e caratterizzato alcune aquaporine (Secchi et al., 2007; Lovisolo et al., 2007 in press), una famiglia genica di MIPs (*Major Intrinsic Proteins*), che modulano la conduttività idraulica delle membrane plasmatiche, adattandola alle condizioni di stress idrico. I risultati della ricerca mostrano chiaramente che le aquaporine (AQP) sono sotto-espresse (*down-regulated*) in olivo durante i cicli di stress (fig. 2).

È possibile tuttavia che il fenomeno sia più complesso. Ricerche condotte su altre specie hanno mostrato sia *up-* che *down-regulation* dei geni AQP ed è possibile che per mantenere uno stato di idratazione compatibile in condizioni di stress, in alcuni tessuti le AQP siano sovra-espresse per favorire l'assorbimento e il trasporto di acqua e in altri tessuti le stesse siano sotto-espresse per limitare le perdite di acqua (Jang et al., 2004).

Questa nuova visione olistica dell'interazione tra cicli metabolici, sulla quale si sta accumulando una copiosa letteratura legata alla disponibilità di basi di dati di sequenze di DNA e di tecniche di analisi dell'espressione globale, quali quelle basate sull'impiego dei *DNA arrays* (Seki et al., 2002), da una parte rende giustamente ragione della complessità di un organismo vivente e dall'altra rende cauti nel considerare le possibilità di manipolazione genetica dei sistemi biologici. La prima generazione di piante transgeniche, create con costrutti contenenti singoli geni espressi o sovraespressi costitutivamente, ha portato sostanzialmente a risultati deludenti (Maggio e Bressan, 2006).

La comunità scientifica sta focalizzando l'attenzione sui meccanismi di *sensing* e *signalling* dello stress, perché dalla comprensione di questi meccanismi si spera di migliorare più stabilmente le *performances* delle specie coltivate.

I MECCANISMI DI «SENSING» E DI «SIGNALLING»

Molti geni legati alla risposta allo stress sono presenti ugualmente in specie e genotipi resistenti e non resistenti. Ciò che caratterizza la migliore risposta dei genotipi resistenti a questi e ad altri stress, molto spesso non riguarda differenze nei geni costitutivi, ma nei meccanismi di *sensing* e *signalling*, in grado di avviare rapidamente la risposta al momento dell'instaurarsi delle condizioni di stress (Zhu, 2002; Bartels e Sunkar, 2005).

Anche in questo caso dobbiamo ricorrere a studi su piante modello, in assenza di lavori specifici per l'olivo.

I meccanismi di rilevamento dello stress (*sensing*) sono sicuramente la chiave per una risposta rapida alle mutate condizioni ambientali, ma sono anche i meccanismi più difficili da studiare.

Le forme reattive dell'ossigeno (*ROS*) sono state indicate fin da subito come possibili messaggeri, in grado di segnalare condizioni di sofferenza nella pianta (Chaves et al., 2003); lo stesso vale per gli stati fisici nella pianta (turgore, potenziale dell'acqua, altri segnali idraulici...) e per ormoni come l'acido abscissico (ABA). Non c'è dubbio che i composti e le variazioni di stati fisici ricordati siano coinvolti in qualche maniera nella trasduzione del segnale, ma non sono probabilmente i primi sensori e la ricerca su questi mediatori non riceve attualmente grande attenzione. Si cercano i recettori che percepiscano la sensazione e attivino la cascata degli eventi.

Un primo "sensore osmotico" è stato individuato in una istidin-chinasi transmembrana, che attiverrebbe la cascata a valle attraverso fosforilazioni di geni deputati alla trasduzione del segnale. In lievito l'aumento della con-

centrazione osmotica è monitorata da due osmosensori, *SLN1* e *SHO1*, che alimentano alla fine il *pathway HOG (high-osmolarity glycerol) MAPK*, che fa accumulare glicerolo nella cellula. In *Arabidopsis* un omologo di *SLN1* è stato identificato in *AtHK1*. *AtHK1* possiede un dominio istidin-chinasi, un dominio recettore e due domini transmembrana e sembra effettivamente un candidato sensore/trasduttore dei cambiamenti del potenziale osmotico cellulare (Chaves et al., 2003). Altri recettori identificati di recente sono *NtC7* e *Cre1*. *Cre1* e *SLN1* hanno una organizzazione simile alle istidin-chinasi citoplasmatiche e a domini di segnale. Il ruolo come osmosensori è tuttavia per ora da dimostrare.

Se i sensori di stress non sono ancora ben identificati, sulla trasduzione del segnale si sa molto di più. Si tratta di una rete di reazioni proteina-proteina, basate sulla fosforilazione reversibile di protein-chinasi e su defosforilazioni mediate da fosfatasi.

La fosforilazione delle proteine è uno dei maggiori meccanismi di controllo delle funzioni cellulari in risposta a segnali esterni. *MAPK (Mitogen-activated protein kinase)* è un modulo di segnale molto comune tra gli eucarioti ed è basato su tre protein-chinasi legate tra di loro, che rispondono a diversi segnali e attivano, a seconda della loro posizione nella cellula, geni diversi.

Altre chinasi attivate da stress, appartenenti al gruppo *SNF1* descritto in lievito, sono state isolate in piante, quali *Arabidopsis*, fava, soia, tabacco e riso. Questo secondo gruppo di chinasi sembra monitorare il rapporto ATP/AMP e quindi il metabolismo dei carboidrati.

A questo punto il *pathway* sembra dividersi a seconda che sia o non sia implicato l'ABA. Nella sintesi dell'ABA, *NCED (9-cis-epossicarotenoid diosigenasi)*, un enzima che converte l'eossi-carotenoide in xantoxina, è controllato da un promotore indotto da stress idrico sia nelle foglie che nelle radici (Chaves et al., 2003). Una seconda regolazione avviene a livello della abscissico-aldeide ossidasi (*AAO3*), il gene che regola l'ultimo *step* nella sintesi dell'ABA. Se si tratti di una regolazione trascrizionale o post-trascrizionale ancora non è chiaro.

La cascata di geni attivati da ABA è nota (Bray, 2002). Molti di questi geni sovra-espressi in condizioni di stress contengono recettori per l'ABA, i cosiddetti *ABRE (ABA-responsive element)* nei rispettivi promotori (Nakashima et al., 2006).

Per quanto riguarda invece la via ABA-indipendente, i recettori di disidratazione sembrano essere rappresentati da elementi caratterizzati da una breve sequenza di consenso (TACCGACAT) denominati *DRE (dehydration responsive element o drought responsive element)*. Questi elementi sarebbero presenti

sempre nei promotori di geni la cui espressione è indipendente dall'ABA e sarebbero attivati da fattori di trascrizione (*cbf1* e *cbf2*), di cui il secondo, noto anche come *dreb2*, sarebbe indotto specificamente da stress idrico.

Esistono, infine, promotori che contengono sia elementi *ABRE*, che rispondono quindi all'ABA, che elementi *DRE*, a conferma della ridondanza dei meccanismi di adattamento a livello cellulare e dell'intera pianta (tab. 1).

LA RESISTENZA ALLA SALINITÀ

Siccità e salinità sono spesso due facce della stessa medaglia. La carenza di acqua nel suolo porta in molti casi a un aumento della concentrazione dei soluti e la pianta adotta pertanto processi di difesa che valgono per entrambi gli stress (Bartels e Sunkar, 2005). Variazioni comuni a entrambi gli stress sono quelle legate per esempio alla fotosintesi, alla difesa dalle specie attive dell'ossigeno (*ROS*) ecc. Circa il 70% dei 141 geni attivati da stress salini in *Arabidopsis* sono ugualmente attivati da stress idrici, a testimonianza della larga sovrapposizione dei processi che stanno alla base delle risposte adattative delle piante ai due tipi di stress (Seki et al., 2002).

Esistono tuttavia alcune differenze, legate alla presenza negli stress salini di elevate concentrazioni di ioni Na^+ e Cl^- nella soluzione circolante. Questi ioni, entrati nella pianta, creano perturbamenti metabolici nel citoplasma quando le loro concentrazioni superano una certa soglia.

Le specie alofite, adattate alla vita in condizioni di salinità elevate, hanno sviluppato meccanismi di risposta molto specifici, come un miglior controllo dell'assorbimento di NaCl , la compartimentazione di Na^+ nei vacuoli anche in concentrazioni elevate, l'accumulo di soluti compatibili e quindi non tossici nel citoplasma, che compensano l'aumento della concentrazione salina dei vacuoli (Bray et al., 2000).

L'olivo è una specie glicofita, cioè sostanzialmente non adattata a sopravvivere a elevate concentrazioni saline del suolo, tuttavia è considerata più tollerante di altre glicofite e può far fronte a concentrazioni di NaCl fino a 40-100 mM, a seconda del genotipo (Gucci e Tattini, 1997). Essendo una specie glicofita, non è in grado di compartimentare lo ione Na^+ nei vacuoli ed evita i danni da salinità essenzialmente per esclusione dei sali e in parte per sintesi di osmoliti compatibili, come il mannitolo (Gucci e Tattini, 1997; Conde et al., 2007).

L'estrusione di Na^+ dalla cellula attraverso la membrana plasmatica è attuato da un Na^+/H^+ *antiporter* e richiede energia, che viene fornita dalla pompa

$H^+ATPasi$ di membrana (Bartels e Sunkar, 2005). Il processo è solo postulato in olivo (Gucci e Tattini, 1997), non essendo disponibili studi specifici, ma è molto verosimile, visto che è un processo generalizzato nelle piante (Bray et al., 2000). Il sodio estruso nell'apoplasto può restare confinato lì senza problemi, perché gli enzimi apoplastici sono sostanzialmente insensibili al sodio e tollerano concentrazioni di NaCl fino a 500 mM. Da questo punto di vista non esistono differenze tra glico- e alo-fite (Bartels e Sunkar, 2005).

Ancora una volta è necessario ricordare come genotipi resistenti e sensibili differiscano non tanto per geni costitutivi, quanto per la maggiore o minore rapidità con cui vengono percepite le condizioni di stress dalla pianta (Borsani et al., 2005).

Esperimenti condotti su due varietà di riso a diversa sensibilità allo stress salino hanno messo in evidenza come il genotipo resistente 'Pokkali' già un'ora dopo che era stato messo nelle condizioni di stress (concentrazione 150 mM di NaCl) aveva il 30% dei trascritti sovra-espresi, mentre la varietà sensibile 'IR29' ne aveva sovra-espresi solamente il 7%. Analoghe differenze esistevano nei trascritti sotto-espresi (Kawasaki et al., 2001). L'esempio è significativo, ma non esistono ancora informazioni di questo tipo per l'olivo.

Ovviamente una reazione così rapida postula l'esistenza di un sensore dello stress salino, che non è stato ancora individuato nemmeno su specie modello (Bartels e Sunkar 2005).

Vogliamo ricordare, per concludere, due nuove famiglie di RNA, che dai primi studi su specie modello, appaiono sempre più coinvolte in meccanismi di regolazione dei *pathway* metabolici: i micro RNA (*miRNAs*) e i piccoli RNA a interferenza (*siRNAs*, *small-interfering RNAs*). I *miRNAs* sono brevi sequenze di 21 nucleotidi che vengono processate a partire da RNA non codificanti a singolo filamento; gli *siRNAs* sono sequenze di RNA che vengono invece processate a partire da lunghi RNA a doppia elica. Entrambi questi piccoli RNA vanno a costituire, una volta prodotti, i complessi di silenziamento genico *RISC* (*RNA induced silencing complex*) e *RITS* (*RNA induced transcriptional silencing complex*). Entrambe queste famiglie di RNA appaiono coinvolte nella regolazione genica delle piante sottoposte a stress idrico/salini (Sunkar e Zhu, 2004; Borsani et al., 2005).

LA RESISTENZA ALLE BASSE TEMPERATURE

L'areale di coltivazione dell'olivo ha un limite legato alle basse temperature, che si situa attorno ai 45° di latitudine in entrambi gli emisferi (Mancuso,

2000). Essendo una specie sempreverde, l'olivo viene danneggiato da basse temperature sia invernali che primaverili e autunnali, che portino al congelamento dell'acqua negli spazi extracellulari e, nei casi di temperature molto basse, all'interno delle cellule.

L'acqua gela generalmente a temperature attorno ai $-3 \div -4$ °C per l'attività dei cosiddetti agenti nucleanti (batteri, particelle solide, composti biochimici ecc.). Il congelamento dell'acqua negli spazi intercellulari e nelle pareti cellulari a opera di questi *INA* (*Ice Nucleating Agents*) provoca un richiamo di acqua dalla cellula per compensare l'aumento della pressione osmotica e provoca contemporaneamente una destrutturazione delle membrane cellulari per effetto della pressione volumetrica del ghiaccio che si forma all'esterno del protoplasto.

Le piante in grado di reagire agli stress da congelamento, se viene loro garantito un periodo di acclimatamento (in generale sono necessari da uno a pochi giorni), attivano una serie di meccanismi in grado di contrastare il fenomeno, tra cui:

- la stabilizzazione delle membrane
- l'accumulo di osmoliti compatibili (zuccheri e altri composti)
- la produzione di proteine antigelo (*antifreezing proteins*)

La stabilizzazione delle membrane aiuta a minimizzare le interazioni tra membrana cellulare e membrane degli organelli, che vengono in contatto tra di loro per effetto della perdita di turgore delle cellule a seguito di richiamo di acqua verso l'esterno della cellula stessa. La stabilizzazione delle membrane è ottenuta per desaturazione degli acidi grassi dei fosfolipidi.

Per quanto riguarda l'accumulo di osmoliti, si tratta di un meccanismo generico di controllo della concentrazione osmotica cellulare, ma sembra svolgere un ruolo non specifico nella difesa dal congelamento.

Proteine antigelo sono ad esempio quelle prodotte dai geni *COR* nucleari, che esplicano la loro attività di protezione delle membrane all'interno del cloroplasto. È interessante osservare come tali geni siano attivati da elementi *DRE/CBF*, che abbiamo già incontrato nella risposta agli stress idrici/salini. Proteine antigelo sono anche alcuni prodotti genici legati ai *pathway* di difesa da stress anche biotici, come le proteine PR (*Pathogen Related*), endochitinasi, glucanasi e proteine *osmotin-like*, che sono in grado di fungere in alcuni casi da agenti nucleanti, aumentando in tal modo i punti di nucleazione e riducendo di conseguenza le dimensioni dei cristalli di ghiaccio che si formano. Le stesse proteine, per altre ragioni, sono anche in grado di ritardare il processo di crescita dei cristalli di ghiaccio.

Anche in questo caso, le informazioni riportate sopra provengono da specie modello. Per quanto riguarda l'olivo sappiamo che la specie è più resistente alle basse temperature invernali che a quelle primaverili o autunnali. Ma ciò è ovvio perché durante l'inverno, la specie mette in moto dei meccanismi di adattamento progressivo all'abbassarsi della temperatura, mentre negli altri due periodi dell'anno i fenomeni si verificano repentinamente e la pianta è impreparata all'evento (Vitagliano e Sebastiani, 2002). Sono note le differenze tra genotipi (Mancuso, 2000) e sono note le capacità della specie di accumulare osmoliti compatibili (Gucci e Tattini, 1997; Conde et al., 2007). Sappiamo tuttavia che i meccanismi più specifici sono la desaturazione delle membrane fosfolipidiche e la produzione di proteine antigelo. Su questi due aspetti non si conosce ancora nulla in olivo.

Resta, infine, anche per quest'ultimo fenomeno di stress il problema dell'identificazione dei meccanismi di *sensing* e *signalling*. Per tali aspetti la ricerca anche per le specie modello è ancora agli inizi (Suzuki et al., 2000).

CONCLUSIONI E PROSPETTIVE

L'agricoltura avrà sempre più a che fare con il riscaldamento del pianeta e con risorse idriche limitate (Chaves et al., 2003). Avrà a che fare anche con acque sempre più difficili, come le acque salmastre e questi fenomeni interesseranno maggiormente colture come l'olivo, destinate tradizionalmente ai terreni più aridi del pianeta (Gucci e Tattini, 1997).

Per fare fronte a tali problemi è necessario avviare programmi di miglioramento genetico, che sfruttino quanto più possibile la variabilità esistente sia nelle collezioni mondiali di germoplasma sia nel materiale non coltivato più prossimo ai tipi domesticati, con l'obiettivo di creare piante sempre più rustiche ed efficienti nell'uso delle risorse.

Un miglioramento genetico così mirato non può prescindere da ampie e solide conoscenze di genomica strutturale e funzionale e, da questo punto di vista, non sempre le conoscenze disponibili su altre specie sono di grande aiuto alla conoscenza dei *pathways* metabolici usati dall'olivo per rispondere alle condizioni di stress, come abbiamo visto sopra, nel confronto tra *Arabidopsis* e *Thellungiella* (Amtmann et al., 2005).

È necessario avviare quanto prima la creazione di banche dati di sequenze di DNA e di trascritti di olivo, che aiutino a studiare con approcci globali (*whole-genome-based approaches*) i profili dei geni attivati o disattivati dall'adattamento della pianta, arrivando a identificare i meccanismi chiave

di percezione dello stress (*sensing*), di traduzione del segnale (*signalling*) e di risposta al fenomeno.

Solo tali conoscenze potranno permettere di avviare su basi solide programmi di miglioramento genetico, che sfruttando approcci di selezione basata su informazioni genomiche (*genomic-assisted selection*), portino, in tempi ragionevoli anche per una specie a ciclo riproduttivo tanto lungo come l'olivo, a nuove selezioni adattate alle mutate condizioni ambientali.

ABSTRACT

The genetic control of resistance to stress in olive. I would like to dedicate this review to Claudio Vitagliano, the colleague who introduced me into the privileged academic world and as a friend encouraged me to operate with the mind in science and the eyes in agriculture.

Plants can adapt to different abiotic stresses through either constitutive or adaptive mechanisms. The constitutive mechanisms are always active and have been acquired by the species during its evolution to survive in a permanently hostile environment while the adaptive ones are switched off in normal conditions and are rapidly activated when a stress occurs. This paper reviews the olive (*Olea europaea* L.) adaptive response to water deficit, high salt concentration and low temperature, taking into consideration the literature on olive and general reviews as well.

The olive plant undergoing water shortage reduces water loss by closing stomata and reducing the transpiration flux. Olive also reduces the photosynthesis; activates the SOD, CAT, APX, POD, and LOX enzymatic systems to protect itself from the ROS created by the excess of non utilised photosynthetic radiation; reduces the permeability of cellular membranes through modulation of aquaporins; increases the cytoplasmic osmotic potential through the production of compatible solutes, such as proline and mannitol, and increases the synthesis of abscisic acid, which in turn activates several ABA-dependent biosynthetic pathways. These biochemical mechanisms of response to water stress are well studied, and are often present in both adapted and non-adapted genotypes. These contrasting genotypes are supposed to differ in the rapidity of sensing and signalling, but little is known about these key processes even in model plants. Sensing is likely based on trans-membrane histidin-kinases, that should act as an osmotic sensor, while the signalling is likely based on systems such as MAPK (Mitogen-activated protein kinase), which is a rather general signalling system in eukaryotes.

Fine biochemical and genetic analyses showed that in *Arabidopsis* approximately 70% of genes activated by water stress are also activated by salt stress, and this shows the large extent of overlap between the two processes. The differences arise from the management of large amounts of Na⁺ e Cl⁻ in the circulating solution. Olive is a glycophytic species and, unlike halophytic species constitutively adapted to extreme salt concentration, is not capable to compartmentalize Na⁺ and Cl⁻ ions in vacuoles. Olive avoids salt damage by extruding ions in the apoplast and by accompanying this process with the synthesis of compatible osmolytes, such as mannitol. This helps olive to tolerate NaCl concentrations up to 40-100 mM, depending on genotype.

Olive is damaged by low temperatures in winter and in the intermediate seasons.

Like other evergreen species, it tolerates better low temperatures in winter rather than in autumn or in spring, because in the last periods the temperatures drop suddenly and plants have not time to adapt progressively. The literature in olive is scarce and we can only guess that olive mimics other better studied plants, by reaching adaptation through the fatty acid desaturation of membrane phospholipids, the accumulation of compatible osmolytes, and the production of anti-freezing proteins (endochitinases, glucanases, osmotin-like proteins and others).

The agriculture will have to cope more and more with planet warming and water scarcity. These phenomena are negatively impacting the olive crop that is traditionally assigned to marginal and arid soils. A renewed effort in breeding and selection is necessary to save the olive crop and its historical heritage. The recent advancements in molecular biology and genetics have improved the breeding programs in many crops. Olive must rapidly make up for the lost time.

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

- ANGELOPULOS K., DICHIO B., XILOYANNIS C. (1996): *Inhibition of photosynthesis in olive trees (Olea europaea L) during water stress and rewatering*, «J Exp Bot», 47 (301), pp. 1093-1100.
- AMTMANN A., BOHNERT H.J., BRESSAN R.A. (2005): *Abiotic stress and plant genome evolution. Search for new models*, «Plant Physiology», 138, pp. 127-130.
- BARTELS D., SUNKAR R. (2005): *Drought and salt tolerance in plants*, «Critical Reviews in Plant Sciences», 24 (1), pp. 23-58.
- BORSANI O., ZHU J.H., VERSLUES P.E. ET AL. (2005): *Endogenous siRNAs derived from a pair of natural cis-antisense transcripts regulate salt tolerance in Arabidopsis*, «Cell», 123, pp. 1279-1291.
- BRAY E.A. (2002): *Abscisic acid regulation of gene expression during water-deficit stress in the era of the Arabidopsis genome*, «Plant Cell & Environment», 25, pp. 153-161.
- BRAY E.A., BAILEY-SERRES J., WERETILNYK E. (2000): *Responses to abiotic stresses*, in Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (eds), *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, ASP, Rockville, MA, Usa, pp. 1158-1203.
- CHAVES M.M., MAROCO J.P., PEREIRA J.S. (2003): *Understanding plant responses to drought - from genes to the whole plant*, «Functional Plant Biology», 30, pp. 239-264.
- CHINNUSAMY V., SCHUMAKER K., ZHU J.K. (2004): *Molecular genetic perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signalling in plants*, «J Exp Bot», 55, pp. 225-236.
- CONDE C., SILVA P., AGASSE A. ET AL. (2007): *Utilization and transport of mannitol in Olea europaea and implications for salt stress tolerance*, «Plant & Cell Physiology», 48 (1), pp. 42-53.
- GUCCI R., TATTINI M. (1997): *Salinity tolerance in olive*, «Hort Review», 21, pp. 177-214.
- INAN G., ZHANG Q., LI P. ET AL. (2004): *Salt Cress. A halophyte and cryophyte Arabidopsis relative model system and its applicability to molecular genetic analyses of growth and development of extremophiles*, «Plant Physiology», 135, pp. 1718-1737.
- KAWASAKI S., BORCHERT C., DEYHOLOS M. ET AL. (2001): *Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in rice*, «Plant Cell», 13, pp. 889-905.
- JANG J.K., KIM D.G., KIM Y.O. ET AL. (2004): *An expression analysis of a gene family enco-*

- ding plasma membrane aquaporins in response to abiotic stresses in Arabidopsis thaliana*, «Plant Mol Biol», 54, pp. 713-725.
- LOVISOLO C., SECCHI F., NARDINI A. ET AL. (2007): *Expression of PIP1 and PIP2 aquaporins is enhanced in olive dwarf genotypes and is related to root and leaf hydraulic conductance*, «Physiol Plantarum», in press.
- MAGGIO A., BRESSAN R.A. (2006): *Storia della relazioni pianta-acqua: dalla fisica alla biologia*, «Italus Hortus», 13 (4), pp. 42-52.
- MANCUSO F. (2000): *Electrical resistance changes during exposure to low temperature measure chilling and freezing tolerance in olive tree (Olea europaea L.) plants*, «Plant Cell & Environment», 23, pp. 291-299.
- MAROCO J.P., MICHALOWSKI C.B., CUSHMAN M.A. ET AL. (1999): *Analysis of multiple gene expression responses to salt stress in the halophyte Mesembryanthemum crystallinum using microarray technology*, in Mager WH, Voss HP, Siderius MH, de Boer AH., Congress on Cellular responses to oxidative and osmotic stress: sensing signalling and gene expression, Efmond aan Zee, The Netherlands, 28 Aug-1 Sept, pp. 127-128.
- MORIANA A., VILLALOBOS F.J., FERERES E. (2002): *Stomatal and photosynthetic responses of olive (Olea europaea L.) leaves to water deficits*, «Plant Cell & Environment», 25 (3), pp. 395-405.
- NAKASHIMA K., FUJITA Y., KATSURA K. ET AL. (2006): *Transcriptional regulation of ABI3- and ABA-responsive genes including RD29B and RD29A in seeds, germinating embryos, and seedlings of Arabidopsis*, «Plant Mol Biol», 60, pp. 51-68.
- SECCHI F, LOVISOLO C., UEHLEIN N., KALDENHOFF R., SCHUBERT A. (2007): *Isolation and functional characterization of three aquaporins from olive (Olea europaea L.)*, «Planta», 225 (2), pp. 381-392.
- SEKI M., NARUSAKA M., ISHIDA J. ET AL. (2002): *Monitoring the expression profiles of ca. 7000 Arabidopsis genes under drought, cold, and high-salinity stresses using full-length cDNA microarray*, «Plant J», 31, pp. 279-292.
- SOFO A., DICHIO B., XILOYANNIS C. ET AL. (2004a): *Lipoxygenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive trees in response to drought stress*, «Physiol Plantarum», 121 (1), pp. 58-65.
- SOFO A., DICHIO B., XILOYANNIS C. ET AL. (2004b): *Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and malondialdehyde content during rewatering in olive tree*, «Plant Science», 166, pp. 293-302.
- SUNKAR R., ZHU J.-K. (2004): *Novel and stress-regulated microRNAs and other small RNAs from Arabidopsis*, «Plant Cell», 16, pp. 2001-2019.
- SUZUKI I., LOS D.A., KANESAKI Y. ET AL. (2000): *The pathway for perception and transduction of low-temperature signals in Synechocystis*, «EMBO J», 19, pp. 1327-1334.
- TATTINI M., GUCCI R., ROMANI A. ET AL. (1996): *Changes in non-structural carbohydrates in olive (Olea europaea) leaves during root zone salinity stress*, «Physiol Plantarum», 98 (1), pp. 117-124.
- UMEZAWA T., FUJITA M., FUJITA Y. ET AL. (2006): *Engineering drought tolerance in plants: discovering and tailoring genes to unlock the future*, «Current Opinion in Biotech», 17, pp. 113-122.
- VITAGLIANO C., SEBASTIANI L. (2002): *Physiological and biochemical remarks on environmental stress in olive (Olea europaea L.)*, «Acta Horticulturae», 586, pp. 435-441.
- WHANG W., VINOCUR B., ALTMAN A. (2003): *Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance*, «Planta», 218, pp. 1-14.
- WANG Z.I., LI P.H., FREDRICKSEN M. ET AL. (2004): *Expressed sequence tags from Thel-*

- lungiella halophila*, a new model to study plant salt-tolerance, «Plant Sci», 166, pp. 609-616.
- ZHU J.K. (2002): *Salt and drought stress signal transduction in plants*, «Annual Rev Plant Biol», 53, pp. 247-273.

LUCA SEBASTIANI*

Le basi fisiologiche

I. INTRODUZIONE

L'olivo (*Olea europaea* L.) è uno dei più importanti alberi coltivati negli agroecosistemi mediterranei. Il successo di questa specie è in parte dovuto alla sua elevata capacità d'adattamento alle condizioni climatiche tipiche del Mediterraneo, che sono rappresentate da inverni miti e umidi con temperature che raramente scendono sotto gli 0 °C e da estati calde e asciutte. In condizioni climatiche estreme (siccità, elevate o basse temperature) o alla presenza di condizioni del suolo non ottimali per la crescita (salinità, scarsa ossigenazione, carenza di nutrienti), la pianta può essere sottoposta a fenomeni di stress. Gli stress di natura abiotica possono determinare effetti negativi sulla morfologia, fisiologia e metabolismo dell'olivo o dei suoi organi (Vitagliano e Sebastiani, 2002) e sono tra le principali cause che ne limitano la produttività. Nell'ambiente mediterraneo, i processi evolutivi hanno reso questa specie moderatamente tollerante gli stress causati dalla carenza d'acqua, dalla salinità e dalle alte temperature, ma poco tollerante quelli determinati dalle basse temperature e dalle condizioni di anossia radicale. Negli ultimi decenni, inoltre, le attività umane hanno aumentato, attraverso fenomeni di inquinamento del suolo, delle acque e dell'atmosfera, il numero dei potenziali fattori di stress abiotico che la pianta deve tollerare.

Un numero crescente di ricerche ha oggi chiarito alcuni degli aspetti della fisiologia di questa pianta durante l'esposizione ai numerosi stress abiotici presenti nell'area di coltivazione. In quest'articolo saranno analizzati quelli di maggiore rilevanza per l'olivicoltura, quali lo stress da ridotta disponibilità idrica, da salinità nel substrato e gli stress da temperatura. Saranno poi brevemente analizzati gli effetti degli stress da inquinanti atmosferici, mentre non verranno trattati per brevità quelli da carenze nutrizionali e da anossia per i quali si rimanda alla bibliografia esistente sull'argomento.

* Scuola Superiore Sant'Anna di Studi Universitari e di Perfezionamento, Pisa

2. STRESS DA CARENZA IDRICA

Nell'area mediterranea, l'acqua è il principale fattore limitante la crescita e la produttività dell'olivo, anche se questa specie è tra le arboree da frutto quella più resistente alla carenza idrica grazie alla presenza di caratteristiche morfologiche, anatomiche e fisiologiche, che consentono alla pianta di resistere allo stress idrico. La foglia, ad esempio, inizia a esportare gli assimilati già nei suoi primi stadi di sviluppo (Marchi et al., 2005; 2007), mostra un elevato grado di sclerofillia, ha una spessa cuticola e gli stomi sono presenti sulla pagina inferiore dove sono coperti da una fitta rete di tricomi. A questo riguardo, è stato osservato come le caratteristiche di sclerofillia (maggiore densità dei tessuti fogliari e ispessimento della cuticola) e la densità dei tricomi aumentano in risposta a condizioni di stress idrico (Bosabalidis e Kofidis, 2002), mentre l'area fogliare specifica (SLA) si riduce per effetto dell'aumento della densità dei tessuti fogliari (Bacelar et al., 2006).

La sintomatologia dello stress idrico in pieno campo si manifesta con senescenza precoce delle foglie e filloptosi e spesso si confonde con quella determinata da altri tipi di stress. La sua comparsa è, inoltre, piuttosto tardiva, quando ormai lo stress idrico è in fase avanzata. In esperimenti in ambiente controllato si può, invece, osservare una più chiara progressione degli eventi sintomatologici correlati allo stress idrico. Negli stadi iniziali, i sintomi sono localizzati prevalentemente verso le zone apicali del germoglio in prossimità delle foglie più giovani che nelle ore più calde possono manifestare fenomeni di perdita del turgore e riduzione dell'angolo d'inserzione sul fusto. La foglia, assumendo una posizione più eretta, espone così la superficie abassiale densa di tricomi e riflette maggiormente la radiazione solare incidente (Baldini et al., 1997). Queste risposte consentono alla pianta di controbilanciare, in seguito alla minore traspirazione, il bilancio energetico della foglia, riducendo i rischi connessi all'aumento della temperatura e alla fotoinibizione (Schwabe e Lionakis, 1996). Con il progredire dell'intensità dello stress idrico, la sintomatologia può arrivare a interessare le foglie più mature che iniziano a manifestare perdita del turgore e della clorofilla, fenomeni di bronzatura e ripiegamento a doccia della lamina (Gucci et al., 2003).

In alcuni studi sulla risposta allo stress idrico di specie originarie degli ambienti mediterranei è stato evidenziato come l'olivo sia in grado di sviluppare veri e propri meccanismi di tolleranza (Lo Gullo e Salleo, 1988). L'olivo può, infatti, limitare gli effetti negativi della carenza idrica mediante una serie di risposte fisiologiche, che hanno come risultato finale la conservazione di uno stato idrico dei tessuti idoneo al funzionamento dei processi metabolici. La

perdita d'acqua per traspirazione dalle foglie è ridotta mediante la chiusura degli stomi che causa la conseguente riduzione della conduttanza stomatica (g_s) e della fotosintesi (P) (Fernandez et al., 1997). Gli andamenti diurni della P e della g_s in ambiente naturale seguono un ciclo tipico delle specie mediterranee, con valori massimi durante il mattino, in riduzione verso metà giorno e costanti nel pomeriggio. L'andamento si mantiene anche in condizioni di stress idrico, ma i valori massimi e minimi di P giornaliera si riducono significativamente pur permanendo comunemente sopra lo zero anche a valori di potenziale dello stelo (ψ_x) pari a -8 Mpa (Moriani et al., 2002). Misure stagionali delle relazioni idriche a livello fogliare e di traspirazione della pianta in impianti irrigati o non irrigati hanno dimostrato come queste variabili rispondono giornalmente e stagionalmente alle variazioni dello stato idrico dell'albero, all'umidità del suolo e alla domanda evaporativa dell'ambiente (Tognetti et al., 2004; 2005).

Nelle fasi iniziali dei fenomeni di carenza idrica, quando l'acqua assorbita dall'apparato radicale per essere trasportata attraverso l'apparato xilematico alle foglie non è più sufficiente a reintegrare quella perduta per traspirazione, il potenziale idrico (ψ_w) e quello di turgore (ψ_p) diminuiscono rapidamente (Lo Gullo e Salleo, 1988) determinando il blocco dei processi di distensione cellulare e d'espansione degli organi in accrescimento. In questa fase, la perdita di acqua dai tessuti determina anche una riduzione del potenziale osmotico (ψ_π) prodotta dai meccanismi passivi che portano all'aumento della concentrazione dei soluti intracellulari.

Con il progredire dello stress idrico, a differenza di quanto si osserva in altre specie, la g_s continua a diminuire seguendo costantemente la riduzione della P per un ampio intervallo di ψ_x e divergendo da questo comportamento solo a valori di ψ_x minori di -4 MPa sotto i quali la P si riduce molto più rapidamente della g_s (Moriani et al., 2002). In condizioni di deficit idrico moderato, infatti, gli effetti dello stress sulla fotosintesi sono mediati soprattutto dalla riduzione della g_s , mentre in condizioni di stress più elevato, gli effetti interessano anche le componenti non-stomatiche, come, ad esempio, la conduttanza mesofillare o l'inibizione luce-dipendente associata alle reazioni fotochimiche primarie del fotosistema II (PSII) (Angelopoulos et al., 1996). Nel loro complesso, questi meccanismi permettono alla foglia di continuare a traspirare anche in condizioni di stress idrico intenso, dissipando così calore e limitando il più possibile i rischi d'innalzamento della temperatura fogliare. La pianta riuscendo a fotosintetizzare anche in condizioni di stress molto intenso, mantiene attiva la crescita dell'apparato radicale e può esplorare, alla ricerca dell'acqua, nuovi volumi del suolo.

Quando il ψ_w minimo giornaliero è su valori inferiori a -3.5 MPa la foglia giunge al punto di perdita del turgore. In queste condizioni, la conduttanza fogliare e la traspirazione sono molto bassi, mentre il contenuto idrico relativo (RWC) è circa al 75% (Lo Gullo e Salleo, 1988; Giorio et al., 1999). In questa fase di ridotta traspirazione della foglia, il recupero dell'acqua traspirata non è rapido e la causa di questo ritardo è determinata dalla bassa conducibilità idraulica dei vasi xilematici. Il legno di olivo è, infatti, di tipo poroso diffuso, con vasi uniformemente distribuiti nell'anello di crescita che si presenta ricco di fibre e con poco tessuto parenchimatico. La ricchezza in fibre è anche associata alla presenza di vasi di diametro più piccolo rispetto ad altre specie mediterranee (Salleo et al., 1985). Il diametro dei vasi xilematici nelle porzioni nodali e internodali del ramo di un anno è inferiore a 40 μm , e ben il 90% dei vasi possiede un diametro inferiore a 20 μm (Lo Gullo e Salleo 1990). Una caratteristica dei vasi xilematici di piccole dimensioni è di ridurre la conducibilità idraulica dello xilema. Un effetto utile per aumentare la resistenza della pianta allo stress idrico riducendo la probabilità di formazione di emboli nel sistema conduttore. Gli emboli, sono delle microbolle che si formano nei vasi a causa della liberazione, prodotta dalla forte diminuzione della tensione di vapore, dei gas disciolti nella linfa. Queste microbolle si espandono rapidamente e arrivano a occupare il lume dei vasi (fenomeno di cavitazione) causandone la perdita di funzionalità e se il loro numero diviene elevato, l'interruzione del *continuum* suolo-pianta-atmosfera. In olivo è stato stimato che solo il 5% dei vasi xilematici del fusto risultano compromessi dalla formazione di emboli a valori di ψ_w fogliare di circa -3.5 MPa (Salleo e Nardini, 1999). La riduzione della conducibilità idraulica per effetto di fenomeni di cavitazione è quindi piuttosto ridotta (25-30%) ed è causata principalmente da vasi di diametro maggiore che sono più sensibili alla cavitazione.

In condizioni di stress idrico molto severo, la foglia continua a perdere acqua dai tessuti fino al 45% del peso fresco corrispondenti a valori di ψ_w fogliare prima dell'alba molto bassi (-6 MPa). La pianta di olivo è quindi in grado di mantenere un elevato gradiente di potenziale tra le foglie e le radici, da -6.5 MPa nelle foglie e nel fusto a -3.5 MPa nelle radici con diametro minore di 4 mm (Dichio et al., 1994) arrivando così a estrarre acqua anche quando questa è presente nel suolo a potenziali molto bassi (-2,5 Mpa). In queste condizioni, estreme per molte specie, l'olivo riesce a mantenere inalterata la capacità di re-idratazione dei tessuti (Rhizopoulou et al., 1991; Xiloyannis et al., 1999). Il recupero dei livelli normali di funzionalità della foglia durante i processi di re-idratazione avviene dopo un periodo di inerzia di alcuni gior-

ni. Questi effetti potrebbero essere riconducibili a fenomeni ormonali e alla presenza di emboli nei vasi xilematici. Misurazioni della traspirazione in olivi irrigati dopo un periodo di stress idrico intenso hanno dimostrato che questi mantengono bassi consumi idrici anche dopo il pieno recupero del ψ_w e dello stato idrico dei tessuti e che l'inerzia nel recupero della piena funzionalità fogliare è proporzionale all'intensità dello stress subito (Moreno et al., 1996). Tognetti et al. (2004) hanno osservato come la carenza idrica estiva riduca gli scambi gassosi e i potenziali idrici, aumentando progressivamente la resistenza idraulica e il fenomeno, più evidente nelle piante non irrigate, è stato correlato a modifiche delle proprietà idrauliche all'interfaccia suolo-radice. Il recupero delle piante non irrigate dopo lo stress idrico estivo segue però un comportamento fisiologico analogo a quello delle piante irrigate, confermando ancora una volta l'alta efficienza fisiologica dell'olivo nelle condizioni di stress idrico.

I processi metabolici delle cellule e il contatto delle stesse radici con le particelle del suolo dipendono dal mantenimento del turgore cellulare, che è regolato da aggiustamenti osmotici passivi e attivi. I meccanismi di osmoregolazione attivi in risposta allo stress idrico consistono nell'accumulo di carboidrati solubili, cationi inorganici, acidi organici o amminoacidi che riducono attivamente il potenziale osmotico delle cellule e permettono così alle piante di tollerare stress idrici di breve o anche di lunga durata (Ingram e Bartels, 1996). A questo riguardo, l'olivo ha una notevole capacità di aggiustamento osmotico attivo e la sintesi e l'accumulo di soluti osmoticamente attivi e metabolicamente compatibili può abbassare il potenziale osmotico della foglia e della radice. Durante lo stress idrico, l'aggiustamento osmotico è dovuto prevalentemente all'accumulo di mannitolo, glucosio e acidi organici, mentre elementi minerali come il potassio non sembrano avere alcun ruolo (Xiloyannis et al. 1999). In piante di olivo della cultivar Coratina sottoposte a diversi livelli di stress idrico è stato misurato un aggiustamento osmotico attivo (tra 0,45 e 0,8 MPa per le foglie e tra 0,75 e 1,42 MPa per le radici) causato prevalentemente dal mannitolo, e un aumento del modulo di elasticità massimo dagli 11,6 MPa delle piante di controllo ai 18,6 MPa di quelle più stressate (Dichio et al., 2003). L'aggiustamento osmotico permette il mantenimento del turgore cellulare e insieme alla notevole diminuzione del ψ_w , dovuta anche alla rigidità delle pareti cellulari e agli aumenti del modulo di elasticità durante lo stress, incrementa ulteriormente la capacità della pianta di estrarre acqua dal suolo. In piante esposte a stress idrici intensi (ψ_w fogliari all'alba di -5,2 MPa) è stato dimostrato come le radici possano raggiungere aggiustamenti osmotici, variabili da 1,67 MPa (radici di 4-5 mm) a 0,2 MPa

(radici minori di 1 mm) (Xiloyannis et al. 1999) aumentando così il gradiente di potenziale radice-suolo e mantenendo il turgore necessario a prevenirne il distacco dalle particelle di suolo. Inoltre, durante lo stress idrico l'efficienza dell'apparato radicale si conserva elevata grazie anche alla riduzione del rapporto chioma-radice (Celano et al., 1999) che riduce il fabbisogno idrico della chioma e aumenta la probabilità di assorbire acqua dal suolo.

Un meccanismo ancora poco conosciuto in olivo riguarda, invece, il controllo della funzionalità stomatica da parte della radice. Esperimenti di deficit idrico imposto a parte dell'apparato radicale hanno prodotto una risposta uniforme nella conduttanza stomatica dell'intera pianta (Bongi e Palliotti, 1994), ma non hanno chiarito il tipo di segnale che dalla radice è trasmesso alla parte aerea. A questo riguardo, l'acido abscissico (ABA) prodotto dalla radice in risposta al disseccamento del suolo ed esportato mediante il flusso traspiratorio nella foglia potrebbe avere un ruolo fondamentale come in altre specie (Jackson, 1997). Studi recenti (Kitsaki e Drossopoulos, 2005) hanno analizzato le relazioni che intercorrono tra ABA fogliare e ψ_w in piante di olivo della cultivar Koroneiki allevate in assenza di irrigazione trovando correlazioni significative. Bassi livelli di ABA fogliare sono stati misurati durante l'autunno e la primavera e l'olivo tende ad acclimatarsi dopo periodi molto caldi e asciutti riducendo il livello di ABA alla fine dell'estate nonostante il ψ_w fogliare sia già basso. Durante l'inverno il contenuto di ABA fogliare rimane basso, mentre il ψ_w raggiunge i massimi valori.

I flussi di acqua attraverso le membrane cellulari avvengono non solo con il passaggio diretto delle molecole tra il doppio strato lipidico, ma anche grazie alla presenza di particolari proteine conosciute con il nome di acquaporine (AQPs). Le AQPs possono incrementare notevolmente la conducibilità idraulica delle membrane (Preston et al., 1992) e sono presenti nelle membrane cellulari di tutti gli organismi viventi. Queste proteine sono costituite da tetrametri proteici che contengono ciascuna sei α -eliche che attraversano la membrana e con residui N- e C-terminali localizzati verso il lato citoplasmatico (Tyerman et al., 2002). Lo stress idrico determina effetti rilevanti sull'espressione dei geni correlati alle AQPs causandone un aumento o una diminuzione dei livelli di espressione (Baiges et al., 2002). L'aumento dell'espressione, potrebbe consentire un incremento della permeabilità all'acqua quando questa è meno disponibile (Yamada et al., 1997), ma allo stesso tempo anche la diminuzione dei livelli di espressione potrebbe garantire una migliore conservazione dell'acqua durante lo stress idrico (Smart et al., 2001). È quindi molto probabile, che durante lo stress questi due meccanismi operino congiuntamente per mantenere uno stato idrico adeguato

nei diversi tessuti della pianta. In olivo i meccanismi molecolari di trasporto dell'acqua sono stati studiati recentemente nella cultivar Leccino (Secchi et al., 2007) dove sono state identificate delle putative AQP's con localizzazione nella membrana plasmatica e nel tonoplasto. Il recupero di tre sequenze identificate con *OePIP1.1*, *OePIP2.1* e *OeTIP1.1* ha permesso di dimostrare che *OePIP2.1* e *OeTIP1.1* codificano per proteine per il trasporto dell'acqua e che i livelli d'espressione di *OePIP1.1* e *OePIP2.1* sono alti nelle radici e nei rami e bassi nelle foglie. Inoltre, durante lo stress idrico i livelli di espressione di ciascun gene diminuivano significativamente in tutti gli organi analizzati facendo ipotizzare un meccanismo per la conservazione dell'acqua cellulare.

Negli ambienti mediterranei lo stress idrico è frequentemente accompagnato da alte temperature ed elevati livelli d'irradianza, condizioni che determinano fenomeni di fotoinibizione, fotossidazione e fotorespirazione (Osmond, 1997) e che favoriscono la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS). La precisa regolazione dei livelli delle ROS nelle cellule e nei tessuti è essenziale sia per evitare danni sia per mediare i segnali cellulari in risposta agli stress (Noctor, 2006). A questo scopo le piante hanno sviluppato sistemi non-enzimatici (α -tocoferolo, β -carotene, composti fenolici, ascorbato e glutazione) ed enzimatici (superossido dismutasi, catalasi, perossidasi, ...) per la degradazione e il controllo delle ROS nelle cellule e tessuti. In olivo è stata recentemente studiata (Corpas et al., 2006) la localizzazione e i livelli di espressione nelle foglie dell'enzima superossido dismutasi (SOD), un enzima che catalizza la dismutazione dell'anione superossido in acqua ossigenata. La SOD è presente in tre forme isoenzimatiche (Mn-SOD, Fe-SOD e CuZn-SOD) e l'analisi dei trascritti delle foglie dimostra che ciascuna rappresenta l'82, il 17 e lo 0,8% del totale delle SOD. Nelle cellule del palizzata, i livelli di espressione della Fe-SOD sono i più alti e sono seguiti da quelli della Mn-SOD e CuZn-SOD. Nel floema l'isoforma più abbondante è invece la Mn-SOD, che è anche la sola presente nello xilema. Nei tessuti vascolari, si osserva, invece, l'accumulo più elevato dell'anione superossido dove anche i livelli dei trascritti per le SOD sono più bassi. La diversa localizzazione delle SOD nelle cellule della foglia di olivo lascia, quindi, presupporre un ruolo molto plastico di quest'enzima. Lo studio del livello di attività di diversi enzimi antiossidanti, tra cui le SOD, in piante di olivo esposte a stress idrico e relativa fase di recupero in diverse condizioni di irradianza (ombreggiate e non) è stato investigato nella cultivar Coratina. Le attività di quasi tutti gli enzimi si riduce durante il periodo di recupero sia nelle foglie sia nelle radici, mentre quella della polifenolossidasi aumenta (Sofa et al., 2004a). L'intensità luminosa ha un ruolo importante nel determinare i

livelli di riduzione. Nelle piante ombreggiate la riduzione è maggiore che in quelle esposte, facendo quindi ipotizzare una più elevata produzione delle ROS nelle condizioni di recupero dallo stress idrico in alta irradianza. Aumento progressivo dei livelli di attività della lipossigenasi e del contenuto in malondialdeide, sono stati osservati nelle foglie e nelle radici di piante di olivo esposte a stress idrico di diversa intensità (leggero, da -0,5 a -2,4 MPa; medio, da -2,5 a -4,9 MPa; intenso, da -5,0 a -6,3 MPa) dimostrando un aumento del livello di perossidazione dei lipidi di membrana (Sofa et al., 2004b). Nello stesso lavoro, gli Autori hanno osservato anche un aumento del livello di prolina, un amminoacido che svolge molteplici funzioni. Il suo accumulo nelle cellule agisce, infatti, sull'aumento del potenziale osmotico e la molecola è compatibile con le funzioni cellulari. La prolina ha anche la funzione di sorgente di azoto e carbonio, di molecola protettiva nei confronti delle membrane e delle proteine durante stress idrico (Ain-Lhout et al., 2001), nonché di accettore di elettroni in grado di prevenire il danno ai fotosistemi da parte delle ROS (Hare et al., 1998). La prolina sarebbe quindi un componente importante della risposta dell'olivo allo stress idrico e potrebbe essere utilizzata come marcatore dello stesso.

Le risposte fisiologiche e biochimico-molecolari allo stress idrico comportano un considerevole dispendio energetico da parte della pianta inducendo effetti negativi sullo sviluppo vegetativo e sulla produzione sia dell'anno in corso sia di quelli successivi. Gli effetti della carenza idrica sulla produzione dipendono però dalla fase del ciclo biologico in cui questa si manifesta. I danni più rilevanti, si osservano nelle fasi che intercorrono tra la differenziazione a fiore e l'allegagione e durante le fasi di sviluppo e maturazione del frutto. Nelle fasi tra la differenziazione a fiore e l'allegagione gli stati di carenza possono indurre anomalie nella formazione del fiore e ridurre significativamente sia il numero di fiori che quello dei frutti allegati per mignola. Nelle fasi di sviluppo e maturazione del frutto una limitata disponibilità idrica può determinare un aumento dei fenomeni di cascola e una riduzione delle dimensioni delle drupe (Inglese et al., 1996). Le carenze idriche alla fine dell'estate e nell'autunno possono avere conseguenze negative sul processo di inolizione e riflettersi anche sul processo di fioritura nell'anno successivo, determinando una riduzione delle rese produttive e un aumento dell'alternanza di produzione.

L'accrescimento del frutto in condizioni di buona disponibilità idrica nel suolo presenta dinamiche diverse da quelle dei frutti delle piante non irrigate. In esperimenti in pieno campo è stato osservato che la cultivar Frantoio risponde al deficit idrico con la diminuzione del peso fresco e del volume

del frutto. L'effetto dello stress idrico sul frutto si manifesta prevalentemente sulle dimensioni delle cellule del mesocarpo piuttosto che sul numero di cellule, mentre il contenuto in olio nelle cellule del mesocarpo non presenta variazioni (Costagli et al., 2003). Esperimenti in vaso sulla cultivar Leccino hanno dimostrato, anche per questa cultivar, una riduzione del peso fresco, del volume e dell'area trasversale del frutto. La crescita dell'area dell'endocarpo si modifica nel trattamento in deficit rispetto a quello irrigato, in quest'ultimo il 90% della crescita si realizza entro 8 settimane dalla piena fioritura, mentre nelle condizioni di stress idrico raggiunge solo il 40% (Rapoport et al., 2004). Piante di olivo irrigate durante tutta la stagione restituendo solo il 33% dell'evapotraspirazione della coltura (ET_c) si sono dimostrate più produttive di quelle completamente non irrigate e l'incremento delle produzioni è determinato sia da un maggior numero di frutti per pianta sia dal maggiore peso medio per frutto (d'Andria et al., 2000). In Spagna, esperimenti su piante di olivo della cultivar Arbequina hanno dimostrato che interventi irrigui con solo il 75 e il 50% dell'ET_c e limitati al periodo durante il quale il deficit idrico è normalmente maggiore (luglio-settembre) non determinano riduzioni significative della produzione (Alegre, 2001). In Italia, sono state condotte prove comparative pluriennali, su impianti costituiti dalle cultivar Frantoio e Leccino irrigate soddisfacendo il 100%, il 66% o il 33% della ET_c solo nel periodo compreso tra la fase di indurimento del nocciolo e l'inizio dell'invaatura del frutto. I risultati medi di due anni (carica e scarica), hanno dimostrato riduzioni nella produzione di frutti e di olio, ma non nel numero di frutti per pianta in risposta allo stress idrico (Tognetti et al., 2006). Le risposte si sono dimostrate essere cultivar dipendenti e la produzione di frutti per unità di acqua distribuita è stata maggiore in Leccino rispetto a Frantoio, confermando l'ipotesi che Leccino abbia una maggiore efficienza dell'uso dell'acqua rispetto a Frantoio (Tognetti et al., 2002).

Le relazioni che intercorrono tra disponibilità idrica e i principali composti che regolano la qualità dell'olio non sono ancora perfettamente chiarite in seguito alle numerose e complesse interazioni tra diversi fattori. La coltivazione dell'olivo in assenza d'irrigazione, ad esempio, non influisce sull'acidità e la composizione in acidi grassi dell'olio in ambienti temperati, ma sembra aumentare il contenuto di polifenoli totali delle drupe (Patumi et al., 2002; d'Andria et al., 2004). In climi aridi, invece, gli interventi irrigui, anche solo di soccorso con apporti modesti, possono determinare significative variazioni nella composizione acidica dell'olio (Lavee e Schachtel, 1999). Risultati contrastanti sono stati ottenuti sulla resa in olio. In generale, si osserva una riduzione della percentuale di olio su peso fresco (Michelakis et al., 1995) e

anche della percentuale di olio estratto (Grattan et al., 2006) all'aumentare del livello di disponibilità idrica causato dal maggiore contenuto di acqua nel frutto. In ambienti dove le piogge garantiscono un apporto di più di 450 mm di acqua l'anno, la percentuale di olio calcolata sul peso secco non correla così strettamente con i livelli di stress idrico (d'Andria et al., 2004, Michelakis et al., 1995; Alegre 2001). La quantità di olio ad albero o per unità di superficie, invece, diminuisce in condizioni di carenza idrica e tale effetto è tanto più evidente quanto più arido è il clima (Grattan et al., 2006; Tognetti et al., 2006).

3. STRESS DA SALINITÀ

Le cause dell'elevata concentrazione di sali nel suolo sono molteplici e tra queste ricordiamo l'elevata domanda evapotraspirativa dell'ambiente, la scarsa qualità delle acque di irrigazione e la natura geologica dei terreni. Negli ultimi decenni, l'aumento della produzione agricola e la competizione per l'uso dell'acqua con il settore civile e industriale hanno portato all'impiego in agricoltura di acque di scarsa qualità, ricche in composti salini, che hanno aumentato il rischio di accumulo di sali nei suoli. Sodio e Cl^- sono gli ioni più frequentemente responsabili della salinità dei suoli, mentre più rari sono i casi di salinità da Ca^{2+} , SO_4^{2-} o altri ioni. In Italia, la salinità di origine geologica è rara e i problemi maggiori derivano dalla salinità dell'acqua di irrigazione. Nelle zone litoranee della penisola la presenza di numerosi pozzi artesiani e l'elevata evapotraspirazione estiva, possono anche provocare infiltrazione dell'acqua marina nelle falde d'acqua dolce.

L'olivicoltura delle aree costiere aride o semi-aride del bacino del Mediterraneo è sempre più frequentemente esposta al rischio di stress salino. L'olivo è una specie di media resistenza alla salinità (FAO, 1985; Rugini e Fedeli, 1990) rispetto a diverse specie arboree da frutto come vite, agrumi, pomacee, e drupacee che risultano più sensibili, mentre altre specie come la palma più tolleranti (Ayers e Westcot, 1985; Bernstein e Hayward, 1958). Livelli di conducibilità dell'estratto saturo del terreno (ECe) compresi tra 4 e 6 dS m^{-1} , che salgono a 6-8 dS m^{-1} nei terreni ricchi di calcio, possono ridurre la produzione olivicola di appena il 10% (Bernstein, 1965). Mass e Hoffman (1977) hanno stabilito una relazione matematica tra la produzione delle colture e la salinità, misurata come ECe. Superata una soglia di ECe (3-6 dS m^{-1} per l'olivo), la produzione si riduce linearmente con l'aumento della salinità fino ad azzerarsi in corrispondenza di un valore massimo identificato con il limite di

tolleranza. In letteratura esistono varie stime delle relazioni lineari tra salinità e produttività dell'olivo, e della soglia, oltre la quale iniziano a manifestarsi effetti negativi. Queste stime, tuttavia, non sono di facile determinazione, poiché dipendenti da numerosi fattori quali il genotipo, l'età della pianta e le variabili agro-ambientali (Chartzoulakis, 2005). Nella cultivar Arbequina, ad esempio, sono stati misurati valori di ECe soglia per la crescita del tronco in riduzione con l'età e il tempo di esposizione, da 6,7 a 3,0 dS m⁻¹ (Aragüés et al., 2005). In impianti commerciali appare quindi sconsigliabile la coltivazione in condizioni di ECe superiori a 3-4 dS m⁻¹.

La capacità dell'olivo di tollerare alti valori di ECe dipende dalla presenza nelle acque d'irrigazione di basse percentuali di NaCl o di Na₂SO₄ che secondo alcuni autori risulta ancora più dannoso (Bartolini et al., 1991). In presenza di NaCl, le piante giovani mostrano riduzioni significative della crescita a concentrazioni di 40-100 mM NaCl, in funzione della varietà. Concentrazioni superiori a 100 mM possono arrivare a comprometterne la sopravvivenza, mentre gli esemplari più grandi hanno una maggiore resistenza. I valori massimi di NaCl che l'olivo può tollerare sono stati stimati intorno a 137 mM (Rugini e Fedeli, 1990), mentre riduzioni nella produzione sono state registrate a concentrazioni superiori a 30 mM di NaCl nel caso di esposizione al sale di lunga durata (Gucci e Tattini, 1997). Le caratteristiche di resistenza alla salinità dipendono comunque dal genotipo. Tattini et al., (1992) hanno dimostrato differenze nella tolleranza al sale tra le cultivar Frantoio e Leccino. Marin et al., (1995) hanno analizzato la tolleranza di 26 cultivar di olivo a 100 mM di NaCl e hanno misurato riduzioni nella crescita del germoglio comprese tra il 16 e il 70% dei controlli. Chartzoulakis et al., (2002) studiando l'effetto della salinità hanno dimostrato che la cultivar Kalamata ha una maggiore resistenza alla salinità rispetto alle cultivar Mastoidis e Amphissis.

I principali sintomi visibili dello stress salino consistono in clorosi e necrosi fogliare, disseccamento dei fiori, aborto dell'ovario, disseccamento dell'apice delle foglie e nei casi più gravi disseccamento dell'apice dei germogli, necrosi a livello delle radici, e abscissione delle foglie (Gucci et al., 2003). Altri effetti evidenti dello stress sono riduzione della crescita, raccorciamento degli internodi, produzione di foglie più piccole e riduzione dell'area fogliare. La riduzione dell'area fogliare è un meccanismo di risposta precoce e comune a molte specie glicofite (Munns e Termaat, 1986). Fenomeni di filloptosi sono una conseguenza dello stress salino, ma anche un meccanismo di difesa da parte della pianta che mediante l'abscissione riduce la traspirazione ed elimina gli ioni tossici che si accumulano nelle foglie mature (Bongi e Loreto, 1989;

Loupassaki et al., 2002), che sono le prime ad abscindere. Lo stress salino influenza negativamente non solo la crescita della parte epigea ma anche quella dell'apparato radicale. L'effetto sulla prima è più marcato, perciò il rapporto chioma-radice tende a diminuire in presenza di stress di maggiore intensità (Therios e Misopolinos, 1988; Bongi e Loreto, 1989; Gucci e Tattini, 1997). Altri effetti causati dalla salinità sono la riduzione della vitalità e germinabilità del polline, del numero di fiori per infiorescenza, della percentuale di allegazione e della pezzatura dei frutti (Gucci et al., 2003). La salinità diminuisce il peso, aumenta l'umidità, ma non modifica il contenuto di olio del frutto (Klein et al., 1994; Chartzoulakis 2005). In generale, lo stress salino altera in modo più marcato la produzione di olive rispetto a quella di olio (Gucci et al., 2003) e l'effetto negativo sulla produzione sembra dovuto soprattutto alla diminuzione del volume della chioma piuttosto che a una minore efficienza produttiva degli alberi.

La presenza di sali nella zona della radice causa: a) la produzione di uno stress di natura osmotica (effetto osmotico) dovuto alla diminuzione del Ψ_{π} dell'acqua nel suolo; b) la distruzione dell'omeostasi ionica cellulare inibendo l'assorbimento di nutrienti essenziali (K^+ , Ca^{2+} e NO_3^-) e l'accumulo all'interno delle cellule di ioni Na^+ e Cl^- a concentrazioni potenzialmente tossiche (effetto ione specifico) (Zhu, 2001). Questi stress primari inducono una serie di risposte biochimico-molecolari molto complesse e la resistenza allo stress comporta l'azione concertata di meccanismi di percezione, trasduzione e adattamento che coinvolgono messaggeri secondari, come lo ione Ca^{2+} , le ROS, gli ormoni, fattori di trascrizione e molte altre componenti (Xiong et al., 2003). La capacità della pianta di escludere dal citoplasma e di accumulare nel vacuolo Na^+ e Cl^- è una delle componenti fondamentali della tolleranza allo stress salino nelle piante. Canali per il K^+ e altri canali non selettivi sono considerati responsabili dell'assorbimento del Na^+ , mentre l'efflusso è regolato da antiporti Na^+/H^+ (Blumwald et al., 2000). Studi con piante transgeniche di *Arabidopsis* e pomodoro (Zhang e Blumwald, 2001; Shi et al., 2003) hanno però messo in evidenza che questi meccanismi da soli non sono sufficienti a garantire la completa tolleranza. In olivo, la tolleranza al sale è associata alla capacità della pianta di escludere e trattenere Na^+ e Cl^- a livello della radice (Gucci e Tattini, 1997; Chartzoulakis, 2005), riducendone le concentrazioni nello xilema e di conseguenza il trasporto e l'accumulo nel germoglio e nelle foglie. Le cultivar più tolleranti sono quindi in grado di controllare più efficacemente la traslocazione del sale verso la parte aerea (Chartzoulakis, 2005). In Leccino, ad esempio, è stato osservato un minore grado di esclusione del Na^+ rispetto a Frantoio alla concentrazione di 120 mM, e anche un rapporto K/

Na più elevato negli organi della parte aerea di Frantoio che in quelli di Leccino (Gucci e Tattini, 1997; Gucci et al., 2003). All'aumentare della concentrazione salina o della durata del periodo d'esposizione al sale, si assiste però alla progressiva saturazione della capacità di esclusione e trattenimento con accumulo di Na^+ e Cl^- nelle cellule della radice prima e nei tessuti della chioma poi e si genera un gradiente di Na^+ e Cl^- che decresce dalla base all'apice del germoglio con marcate differenze a livello varietale.

L'accumulo di Na^+ e Cl^- nei tessuti oltre a determinare effetti tossici diretti provoca squilibri nello stato nutrizionale. Il calcio, ad esempio, ha un ruolo importante nel ridurre i fenomeni di tossicità del Na^+ (Melgar et al., 2006) e il rapporto Ca/Na è stato riportato essere in grado di ridurre gli effetti dello stress salino sulla depolarizzazione e selettività delle membrane plasmatiche delle cellule di olivo (Rinaldelli e Mancuso, 1996). Durante lo stress salino la concentrazione di K^+ si riduce in molte specie glicofite (Greenway e Munns, 1980) e questo succede anche nel caso dell'olivo. Il fattore genotipo sembra avere un ruolo minore in questi meccanismi (Bartolini et al., 1991; Tattini et al., 1995; Chartzoulakis et al., 2002) e la riduzione maggiore di K^+ nei tessuti si osserva a carico della radice e delle foglie più mature. Questa risposta potrebbe servire per mantenere il bilancio ionico dei tessuti e un giusto rapporto Na/K negli organi giovani e in crescita (Chartzoulakis, 2005). Le interazioni della salinità con la nutrizione azotata sono state studiate da Tabatabaei (2006) in alcune cultivar sensibili e tolleranti dimostrando riduzioni dell'attività dell'enzima nitrato reductasi nelle piante trattate con 150 mM di NaCl accompagnate da una riduzione del contenuto di azoto totale e dell'assorbimento del nitrato.

La salinità è in grado di alterare oltre alle relazioni ioniche anche quelle idriche della pianta. Nelle fasi iniziali dello stress salino, l'aumento del Ψ_π della soluzione circolante nel terreno produce una maggiore difficoltà nell'assorbimento dell'acqua dalle radici (Therios e Misopolinos, 1988), con rallentamento della traspirazione ed effetti sullo stato idrico delle cellule (Gucci et al., 1997). Riduzioni significative del ψ_w all'alba, del Ψ_π e del RWC della foglia sono state osservate in piante di Frantoio e Leccino esposte a 100 e 200 mM di NaCl (Gucci et al., 1997), ma a differenza di altre specie arboree coltivate questo succede ad alti livelli di salinità (Banus e Primo-Millo, 1992). La riduzione del Ψ_w fogliare avviene con la conseguente riduzione del ψ_p , questo in modo che il ψ_p delle piante esposte allo stress salino rimanga a valori comparabili o più alti di quelli misurati nelle piante di controllo. Inoltre, la riduzione del ψ_w fogliare è proporzionale alla concentrazione salina della soluzione esterna e consente alla pianta di mantenere stabile il gradiente tra la concentrazione del sale nel mezzo esterno e di quella delle cellule della radice.

L'effetto del turgore cellulare, si mantiene fino al punto in cui le concentrazioni saline non diventano troppo elevate o lo stress non permane per lunghi periodi; passati certi limiti Na^+ e Cl^- si accumulano a livelli superiori rispetto a quelli tollerati. Per controbilanciare l'elevata pressione osmotica del vacuolo dovuta all'accumulo di Na^+ e Cl^- , le foglie di olivo accumulano nel citoplasma sia glucosio che mannitolo (Tattini et al., 1996). Il contributo osmotico fornito da glucosio e mannitolo è stato stimato intorno al 25-30% di quello totale, e quindi inferiore a quello esercitato dai soluti inorganici, che rappresentano la componente principale dell'aggiustamento osmotico in condizioni di salinità. Gucci et al., (1998) hanno anche dimostrato una diversa ripartizione del carbonio in foglie pienamente espanse di Frantoio a 100 mM di NaCl e l'aumento della concentrazione di mannitolo nel mesofillo fogliare è dovuto a una maggiore ripartizione del carbonio assimilato verso il mannitolo a scapito di glucosio e saccarosio.

Le foglie dell'olivo hanno una cuticola spessa e un mesofillo con cellule impaccate, che possono limitare l'ingresso della CO_2 nel cloroplasto e quindi la fotosintesi. Queste caratteristiche si accentuano durante lo stress salino (Bongi e Loreto, 1989) e una foglia più spessa può determinare la riduzione della conduttanza mesofillare. Le piante di olivo esposte a stress salino mostrano una riduzione dell'attività fotosintetica che dipende dalla concentrazione di sale e dalla cultivar (Bongi e Loreto, 1989; Tattini et al., 1995; Chartzoulakis et al., 2002). In generale, le riduzioni maggiori sono state osservate nelle cultivar che manifestano i valori più alti di fotosintesi e conduttanza stomatica, mentre non sono state trovate correlazioni tra l'accumulo di sale e riduzione della fotosintesi sia nelle foglie giovani che mature (Loreto et al., 2003). Gli effetti della salinità sugli scambi gassosi della pianta sembrano correlare con la tolleranza al sale in modo contrastante. L'assimilazione netta di CO_2 e la conduttanza stomatica diminuiscono, infatti, più nella cultivar tollerante Frantoio, che in quella sensibile Leccino, mentre correlazioni migliori sono state osservate durante la fase di recupero dallo stress salino (Tattini et al., 1995; 1997). In piante di olivo di un anno esposte a 200 mM di NaCl per cinque mesi, Chartzoulakis (2005) ha, invece, dimostrato un buon grado di correlazione tra la diminuzione della fotosintesi nelle foglie giovani e tolleranza: 20% per la cultivar tollerante Kalamata e 62% per quella moderatamente sensibile Amphissis. Le limitazioni stomatiche della fotosintesi sembrano essere prevalenti durante gli stadi iniziali dello stress salino. Loreto et al., (2003), tuttavia, hanno dimostrato che la bassa concentrazione di CO_2 a livello del cloroplasto è determinata non solo dalla bassa conduttanza stomatica, ma anche da una minore conduttanza del mesofillo.

In conclusione, la tolleranza dell'olivo alla salinità sembra dovuta prevalentemente a meccanismi di esclusione o trattenimento del sale a livello della radice che evitano così l'accumulo di Na^+ e Cl^- nel germoglio. Queste caratteristiche sono ereditabili e lasciano ben sperare per il miglioramento genetico per la tolleranza al sale delle varietà di olivo. In futuro, molta più attenzione dovrà anche essere dedicata agli studi sulla distribuzione intracellulare del Na^+ e del Cl^- , ai meccanismi di rimobilizzazione dallo xilema al floema, ai sistemi di trasporto a livello di membrana e più in generale ai meccanismi biochimico-molecolari, responsabile della percezione, trasduzione e adattamento allo stress salino.

4. STRESS DA TEMPERATURA

Gli stress causati dalle alte e basse temperature presentano caratteristiche diverse. L'olivo è molto più resistente alle alte temperature di quanto non lo sia al freddo e danni da scottature al fusto e clorosi fogliare si manifestano raramente e solo nei casi dove le piante sono state sottoposte contemporaneamente ad alte temperature, deficit idrico severo e elevata intensità luminosa. La temperatura degli organi della pianta è differente da quella dell'ambiente circostante. I tronchi o le foglie, ad esempio, durante eventi di forte irradiazione solare possono raggiungere temperature più elevate dell'aria circostante. Non esistono dati misurati di sovra-riscaldamento delle foglie durante l'estate in olivo, ma in foglie scleromorfe di specie mediterranee, come *Quercus ilex*, e in condizioni di forte radiazione solare, sono state misurate temperature di 4-8 °C più elevate della temperatura ambiente (Larcher, 2000). L'olivo, per ovviare al sovra-riscaldamento presenta una serie di caratteristiche che gli consentono di dissipare efficacemente il calore, fra queste le piccole dimensioni delle foglie, il mantenimento di stomi parzialmente aperti anche in condizioni di deficit idrico severo, la modifica dell'angolo di inserzione delle foglie sul ramo con l'esposizione della superficie abassiale ricoperta da un denso strato di tricomi caratterizzati da un alto potere riflettente nei confronti della radiazione visibile e infrarossa (Baldini et al., 1997).

La fotosintesi è molto sensibile alle alte temperature a causa della sensibilità al caldo delle membrane tilacoidali presenti nei cloroplasti (Berry e Bjorkman, 1980). In olivo, misure della fluorescenza della clorofilla in relazione alla temperatura, hanno permesso di identificare come critica la soglia di 46-47°C, mentre pochi gradi sopra a 48-49°C appaiono le prime necrosi sulle foglie (Gucci et al., 2003). La tolleranza al caldo dipende dal genotipo e

nonostante le differenze siano contenute, le varietà provenienti da località più settentrionali mostrano minore tolleranza alle alte temperature delle varietà originarie di zone più calde (Mancuso e Azzarello, 2002). Variazioni stagionali nella tolleranza al caldo sono state osservate in diverse specie, fra le quali anche l'olivo, in relazione allo stato di sviluppo della pianta e all'andamento climatico (Kappen, 1981). Durante l'estate si assiste a un aumento della resistenza nell'ordine di 3-4 °C rispetto al periodo invernale e tali variazioni potrebbero essere correlabili alla sintesi di specifiche proteine (HSP, *Heat Shock Proteins*) prodotte dalle piante in risposta a stress da alte temperature (Nover et al., 1989).

La recente espansione delle aree di coltivazione, causata dall'aumento della domanda e dalle peculiari caratteristiche organolettiche dell'olio delle zone più fredde, ha aumentato la probabilità di stress da freddo nelle regioni situate verso i confini settentrionali dell'area di distribuzione geografica dell'olivo. In Italia centrale, ad esempio, le basse temperature invernali hanno provocato danni ingenti a intervalli temporali di 25-40 anni.

Nella terminologia scientifica internazionale lo stress causato da temperature comprese tra i 10-15 e 0°C si indica con il termine di stress da raffreddamento (*chilling*), mentre quello prodotto da temperature inferiori a 0°C prende il nome di stress da congelamento (*freezing*). In olivo non si osserva un vero e proprio stress da *chilling* come in altre specie, come ad esempio negli agrumi dove si possono manifestare sintomi visibili di danno, quanto piuttosto un rallentamento dei processi metabolici. Le temperature ottimali per la crescita dell'olivo sono, infatti, comprese tra 20 e 30°C (Rinaldelli e Mancuso, 1994), e la pianta rallenta progressivamente il metabolismo a temperature inferiori ai 25 °C. Abbassamenti termici di maggiore entità riducono la respirazione, l'attività enzimatica, l'assorbimento di acqua e nutrienti, l'efficienza fotosintetica e dei principali processi cellulari fino a determinare l'arresto della crescita. Il rallentamento del metabolismo è graduale fino a temperature intorno ai 10 °C in corrispondenza delle quali, il fenomeno diventa molto più evidente. Queste temperature, definite come "temperature critiche apparenti" sono state determinate mediante misure di resistenza elettrica e variano fra i 7,5 e i 12,5 °C in funzione della varietà e dell'organo interessato (Mancuso, 2000).

I danni maggiori alla pianta derivano da abbassamenti della temperatura al di sotto di 0 °C, quando iniziano a manifestarsi gli effetti delle temperature di *freezing*, con ricadute sul metabolismo cellulare completamente diverse da quelli prodotte dal *chilling*. La soglia di temperatura al di sotto della quale si manifestano i primi sintomi del *freezing* dipende da numerosi fattori, alcuni legati alla pianta, quali il genotipo, lo stadio fenologico, lo stato nutrizio-

nale e sanitario, l'età e il tipo di organo, e altri all'ambiente di crescita, come l'esposizione, l'umidità dell'aria, la durata delle minime termiche, la velocità di discesa della temperatura, la velocità e direzione del vento.

I sintomi visibili dello stress da freezing sono molteplici e consistono nel disseccamento degli apici vegetativi, in fenomeni di filloptosi, in fessurazioni longitudinali della corteccia e distacco dei tessuti corticali dal sottostante alborno. I processi a livello dei tessuti e delle cellule durante lo stress da *freezing* mostrano che durante la fase iniziale del congelamento è l'acqua extracellulare che si congela per prima, e tale fenomeno continua finché tutta l'acqua extracellulare non si trasforma in ghiaccio. In questa fase, se le pareti e le membrane della cellula sono sufficientemente elastiche, la pressione esercitata dalla formazione di cristalli di ghiaccio extracellulari non risulta dannosa (Stout et al., 1987). Durante il congelamento dell'acqua extracellulare si genera una differenza di tensione di vapore fra l'apoplasto e il simplasto cellulare, che determina la graduale uscita di acqua dalla cellula (fenomeno di esosmosi). In questa fase la permeabilità della membrana cellulare al flusso dell'acqua è fondamentale per garantire il mantenimento dell'equilibrio termodinamico che, se alterato, dà inizio al congelamento intracellulare (Levitt, 1980). Questo meccanismo di concentrazione dei soluti intracellulari permette alla pianta di ridurre di alcuni gradi la temperatura alla quale avviene il congelamento della soluzione intracellulare, un fenomeno che porterebbe alla morte immediata della cellula.

Quando la temperatura continua a diminuire si può osservare la formazione di ghiaccio intracellulare. Questo processo richiede la nucleazione della soluzione citoplasmatica e il processo può avvenire omogeneamente o eterogeneamente a partire dal ghiaccio extracellulare ed è fortemente influenzato dallo stato di acclimatazione prima del *freezing* (Levitt, 1980; Ashworth e Abeles, 1984). L'aumento della viscosità e della concentrazione della soluzione intracellulare mediante accumulo di soluti compatibili, contribuisce a limitare i rischi di congelamento intracellulare.

In olivo è stata dimostrata (Fiorino e Mancuso, 2000) la presenza di un meccanismo di sopraffusione che permette la conservazione dell'acqua allo stato liquido anche a temperature inferiori a quella di congelamento. Questo fenomeno permette all'olivo di abbassare le temperature di congelamento del citoplasma fino a -7, -18 °C in funzione della varietà e del tipo di organo. Rispetto alle specie dei climi temperati in cui la sopraffusione è limitata ad alcuni organi e tessuti, nell'olivo tale meccanismo si ritrova nelle foglie, nei rami, nelle gemme e nelle radici.

Le temperature di congelamento mostrano notevoli differenze tra le varietà

e i diversi organi, con un ordine di sensibilità decrescente dai frutti alle radici, alle foglie, ai rami e alle gemme (Gucci et al., 2003). Diversi studi in campo e in laboratorio hanno cercato di classificare le diverse cultivar di olivo per la loro tolleranza al *freezing* identificando anche una certa variabilità per questo carattere all'interno della stessa varietà (La Porta et al. 1994). Bartolozzi e Fontanazza (1999) hanno utilizzato una serie di marcatori (sintomi visibili, rilascio ionico, analisi termica differenziale) per stabilire la diversa tolleranza al *freezing* di alcune cultivar di olivo. Tra tutti i test, il rilascio ionico è stato il migliore e ha permesso di classificare le cultivar Bouteillan e Nostrale di Rigali come più tolleranti rispetto ad altre. Più recentemente Mancuso (2000) ha utilizzato sistemi per la misura delle variazioni della resistenza elettrica durante il congelamento di diversi organi (foglie, steli, gemme e radici) e ha proposto questo sistema come un metodo veloce, semplice e non distruttivo per stabilire la tolleranza al *freezing* in olivo. Dalle misure sono stati stimati anche i valori di LT50 che sono risultati pari a -12,0, -12,8, -15,6 e -18,3 °C rispettivamente per Coratina, Frantoio, Leccino e Ascolana. L'Ascolana risulta quindi la più tollerante allo stress da *freezing*, mentre la Coratina appare la più sensibile.

L'acquisizione della capacità di tollerare il *freezing* è un processo che avviene solo nelle piante geneticamente competenti (perenni e annuali a ciclo invernale) attraverso meccanismi di acclimatazione che comportano una serie complessa di eventi molecolari, biochimici e fisiologici attivati soprattutto da stimoli ambientali quali la temperatura e il fotoperiodo (Sakai e Larcher, 1987). Il processo inizia durante l'autunno quando le temperature iniziano a diventare sub-ottimali (10-15 °C) per la crescita e il fotoperiodo è più corto. Durante il processo di acclimatazione, l'esposizione delle piante di olivo a temperature di *freezing* sub-letali (alcuni gradi sotto zero) può indurre un aumento della resistenza al gelo di alcuni gradi (Sebastiani et al., 2002a). Una volta acclimatato al freddo, l'olivo, a differenza delle specie caducifoglie, può perdere facilmente questa resistenza qualora si verificano periodi invernali con temperature miti. Da osservazioni in campo, risulta che si abbia una parziale perdita dell'acclimatazione in circa 6 giorni se le temperature medie sono superiori a 16 °C (Gucci et al., 2003). Il fattore ambientale principale per l'acclimatazione degli organi ipogei è la temperatura del terreno, ma le radici dell'olivo hanno una scarsa competenza all'acclimatazione e non mostrano aumenti di resistenza al *freezing* nelle diverse epoche dell'anno. La sequenza di eventi che porta all'acclimatazione si attiva mediante processi di percezione e trasduzione (Xiong et al., 2002) degli stimoli ambientali (luce e temperatura) che portano all'attivazione di specifiche famiglie di geni che in-

ducono importanti alterazioni nel metabolismo. Tra gli effetti più evidenti si osservano un accumulo intracellulare di soluti e mutamenti della composizione lipidica delle membrane (Thomashow, 1999). In olivo, lo studio di diversi marcatori biochimici durante l'evoluzione del processo di acclimatazione e il successivo stress da *freezing*, non ha permesso di stabilire correlazioni precise con il diverso grado di tolleranza (Bartolozzi et al., 1999). Aumenti transienti della concentrazione di calcio citosolico $[Ca^{2+}]_{cyt}$ sono stati osservati in diverse specie (Knight e Knight, 2000; Sebastiani et al., 1999) in risposta a basse temperature e sono uno dei fattori chiave del processo di acclimatazione (Xiong et al., 2002). Utilizzando protoplasti estratti da foglie di olivo D'Angeli et al. (2003) hanno dimostrato incrementi transienti della $[Ca^{2+}]_{cyt}$ in risposta a basse temperature e causati da efflusso dagli organelli e da influsso attraverso la membrana plasmatica di ioni calcio. Successivamente, (D'Angeli e Altamura, 2006) hanno studiato il ruolo dell'osmotina, in piante di olivo transgeniche per la sovra-espressione di questa proteina, nei meccanismi di risposta al freddo di piante acclimate e non acclimate. Nelle piante di controllo (non transgeniche) l'osmotina è stata immuno-localizzata solo in quelle acclimate e nei tessuti che mostravano morte cellulare programmata (PCD). Nelle piante transgeniche l'osmotina è presente e sempre nei tessuti mostranti PCD. Misure delle variazioni della $[Ca^{2+}]_{cyt}$ dimostrano che queste avvengono solo nelle piante di controllo (non transgeniche e non acclimate). Nel loro complesso questi risultati mostrano che l'osmotina è positivamente correlata con la PCD indotta dall'acclimatazione, nel blocco delle variazioni della $[Ca^{2+}]_{cyt}$ e nelle risposte del citoscheletro in risposta alle basse temperature. Queste informazioni costituiscono un punto di partenza per arrivare a comprendere i meccanismi biochimici-molecolari che controllano la tolleranza al *freezing* in olivo.

5. STRESS DA INQUINANTI

Negli ultimi decenni è stato osservato un costante e significativo aumento dell'inquinamento delle acque, del suolo e dell'aria causato dal rilascio negli ambienti naturali e agricoli di sostanze potenzialmente in grado d'interferire negativamente con la produttività delle piante. Queste sostanze, conosciute con il termine generico d'inquinanti, sono spesso il prodotto diretto e indesiderato delle attività industriali, agricole e civili dell'uomo e costituiscono la causa diretta o indiretta dell'inquinamento ambientale. Tra i diversi tipi d'inquinamento, quello dovuto a modifiche della composizione gassosa dell'atmosfera

risulta oggi tra i più problematici per le forti ripercussioni prodotte da alcuni inquinanti sul clima (Agrawal e Agrawal, 2000). La trattazione di tutti i fattori di stress associati all'inquinamento ambientale o anche solo a quello atmosferico, risulta oltremodo complessa e allo stato attuale ancora poco studiata in olivo (Sebastiani et al., 2002b). In questa sede saranno brevemente descritti gli effetti sulla fisiologia dell'olivo dell'ozono (O_3) e dell'anidride solforosa (SO_2), e non saranno trattati, per brevità, i risultati di alcuni studi condotti su piante di olivo cresciute in alta concentrazione di CO_2 atmosferica. Queste ricerche sono complesse e devono essere esaminate sia per le conseguenze dirette sulla fisiologia della pianta (Tognetti et al., 2001; Sebastiani et al., 2002c) sia per le correlazioni (Sebastiani et al., 2002b) con il cambiamento climatico previsto (aumento dell'evapotraspirazione, riduzione delle precipitazioni e aumento della temperatura) alle latitudini mediterranee.

I sintomi causati da fattori di stress come l' O_3 la SO_2 sono spesso subliminali e identificabili visivamente sulle piante solo in particolari condizioni sperimentali, inducendo così a una sottovalutazione della loro reale pericolosità. In olivo, le prime indagini sistematiche sugli effetti fisiologici dell'ozono sono iniziate nella prima metà degli anni Novanta, utilizzando dosi relativamente alte (150 ppb) di O_3 per periodi di esposizione molto brevi (alcune ore) (Minnocci et al., 1995). In questi studi è stato osservato che durante la fase di esposizione all'ozono le piante di olivo riducono l'apertura degli stomi e la conduttanza stomatica con riduzioni percentuali maggiori nella cultivar Moraiolo rispetto a Frantoio. Fumigazioni di durata molto più lunga (4 mesi) a dosi di 50 e 100 ppb di O_3 hanno confermato la diversa risposta varietale, evidenziando anche la comparsa di sintomatologia (filloptosi e necrosi) nella cv. Moraiolo (Minnocci et al., 1999). Limitazioni permanenti dell'attività fotosintetica e della traspirazione sono state misurate in entrambe le cultivar e sebbene al momento non vi siano evidenze sperimentali di effetti dell'ozono sulla produttività dell'olivo, è ipotizzabile che queste limitazioni fisiologiche possano determinarle.

Gli scenari d'inquinamento da SO_2 si sono ampiamente modificati e oggi l'anidride solforosa rappresenta ancora un problema solo per le regioni in via di sviluppo e in aree localizzate. In olivo, trattamenti di lungo periodo con SO_2 determinano risposte fisiologiche e morfologiche genotipo-dipendenti anche in assenza di sintomatologia visibile (Giorgelli et al., 1994; Vitagliano et al., 1999). Nella cultivar Frantoio, i trattamenti con SO_2 inducono una riduzione dell'attività fotosintetica e della conduttanza stomatica direttamente proporzionali alle concentrazioni (0, 35, 70 e 100 ppb di SO_2), mentre ciò non si osserva in Moraiolo. Lo spessore della lamina fogliare, la densità e il grado di apertura degli

stomi, risultano invece ridotti per effetto dell'aumento di concentrazione di SO_2 in entrambi i genotipi (più in Frantoio che in Moraiolo). L'insieme di questi dati dimostra che pur in assenza di sintomatologia visibile l'anidride solforosa ha effetti significativi su numerosi processi fisiologici della pianta, che nel lungo periodo possono determinare riduzioni della crescita genotipo-dipendenti.

6. CONCLUSIONI

Gli stress di natura abiotica determinano effetti negativi sull'olivo e sono tra le cause che limitano la produttività di questa specie. Un numero elevato di ricerche ha cercato di chiarire gli aspetti produttivi e fisiologici correlati ai diversi tipi di stress e diverse di esse si sono concentrate sullo studio delle risposte dell'olivo allo stress idrico, salino e termico (basse temperature), poiché questi sono gli stress abiotici tipicamente presenti nelle aree di coltivazione. I risultati hanno dimostrato l'elevato grado di adattabilità dell'olivo a condizioni idriche e saline che sarebbero critiche per molte specie arboree da frutto. Per tutti gli stress sono stati evidenziati meccanismi di risposta specifici, nonché una discreta variabilità nella risposta tra le diverse cultivar. Negli ultimi decenni le attività umane hanno aumentato, attraverso fenomeni di inquinamento del suolo e dell'atmosfera, il numero dei potenziali fattori di stress abiotico che l'olivo deve tollerare. In questo settore le ricerche sono ancora limitate perché gli effetti dell'inquinamento sono spesso subliminali. In futuro, gli studi dovranno essere indirizzati verso la comprensione dei meccanismi biochimico-molecolari che regolano la percezione, la trasduzione e l'adattamento ai diversi tipi di stress. Inoltre, molta attenzione dovrà essere dedicata all'identificazione dei meccanismi comuni di risposta allo stress idrico, salino e termico che dalla letteratura già disponibile sappiamo condividere molti dei sistemi biochimico-molecolari. Ad oggi sono, invece, ancora carenti gli studi che mirano alla comprensione delle interazioni (positive e negative) tra i diversi tipi di stress. Questo tipo di approccio sarà determinante soprattutto in previsione degli scenari di cambiamento del clima nel bacino del Mediterraneo che potranno portare l'olivo a dover fronteggiare la concomitante presenza di numerosi stress abiotici.

RINGRAZIAMENTI

Questo lavoro è dedicato alla memoria del Prof. Claudio Vitagliano.

ABSTRACT

Olive (*Olea europaea* L.) is one of the most cultivated trees in Mediterranean agro-ecosystem. The wide diffusion of this species is due to its high adaptability to the climatic conditions of the Mediterranean areas characterised by wet and mild winter, with lower temperatures rarely below 0°C, and dry and hot summer. Evolution processes in these climatic conditions have enable the species to develop moderate tolerance to drought, salinity and high temperatures stresses, while plants have low tolerance towards low temperatures and anoxic conditions. Moreover, in the last decades human activities have increased, by air, water and soil pollution, the types of the environmental constrains olive plants have to cope with.

Under extreme climatic or suboptimal soil conditions olive plants undergo to stress processes, which can determine negative effects on plant metabolism and productivity.

In this review article the physiological aspects of olive reaction to environmental stresses are presented and discussed. Several research activities have tried to understand the physiological basis of olive reactions to drought, salinity and low temperatures because these stresses are the most relevant in the Mediterranean agro-ecosystem. These studies proved the high adaptability of olive trees to drought and salinity levels, which results critical for many fruit trees. In addition, each stress factor determine specific physiological effects and a wide variability in genotypes performance was highlighted. Studies on olive reactions to environmental pollution proved that these stresses very often induce subliminal effects, which could impair productivity in long term.

Future researches should deserve more attention at the molecular and biochemical mechanisms involved in stress perception, transduction, and tolerance. More interest should be also committed to the interactions between different types of stresses and to the dissection of the common response mechanisms at the molecular level between drought, salinity and temperature. This approach will enable olive improvement toward unfavourable environmental conditions, especially under the future global change scenarios predicted for the Mediterranean agro-ecosystem in the next decades.

BIBLIOGRAFIA

- AGRAWAL S.B., AGRAWAL M. (2000): *Environmental pollution and plant responses*, Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, pp. 393.
- AIN-LHOUT F., ZUNZUNEGUI F.A., DIAZ BARRADAS M.C., TIRADO R., CLAVIJO A., GARCIA NOVO F. (2001): *Comparison of proline accumulation in two Mediterranean shrubs subjected to natural and experimental water deficit*, «Plant and Soil», 230, pp. 175-183.
- ALEGRE CASTELLVÌ S. (2001): *Efecto de diferentes estrategias de riego deficitario controlado durante la época estival sobre la produccion del olivo (Olea europea L.) cv. Arbequina*, «PhD Thesis», Univeriversity of Lleida, Spain.
- ANGELOPOULOS K., DICHIO B., XILOYANNIS C. (1996): *Inhibition of photosynthesis in olive trees (Olea europea L.) during water stress and rewatering*, «J. Exp. Bot.», 301, pp. 1093-1100.
- ARAGÜÉS R., PUY J., ROYO A., ESPADA J.L. (2005): *Three-year field response of young olive trees (Olea europaea L., cv. Arbequina) to soil salinity: Trunk growth and leaf ion accumulation*, «Plant and Soil», 271, pp. 265-273.
- ASHWORTH E.N., ABELES F.B. (1984): *Freezing behavior of water in small pores and the possible role in the freezing of plant tissues*, «Plant Physiol.», 76, pp. 201-204.

- AYERS R.S., WESTCOT D.W. (1985): *Water quality for agriculture*, «FAO Irrigation and Drainage Paper 29 Rev. 1», Roma pp. 1-85.
- BACELAR E.A., SANTOS D.L., MOUTINHO-PEREIRA J.M., GONÇALVES B.C., FERREIRA H.F., CORREIA M.C. (2006): *Immediate responses and adaptative strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: Changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage*, «Plant Sci.», 170, pp. 596-605.
- BAIGES I., SCHAVNER A.R., AVENZELLER M.J., MAS A. (2002): *Plant aquaporins*, «Plant Physiol.», 115, pp. 175-182.
- BALDINI E., FACINI O., NEROZZI F., ROSSI F., ROTONDI A. (1997): *Leaf characteristics and optical properties of different woody species*, «Trees », 12, pp.73-81.
- BANUS J., PRIMO-MILLO E. (1992): *Effects of chloride and sodium on gas exchange parameters and water relations of Citrus plants*, «Physiol. Plant.», 86, pp. 115-123.
- BARTOLINI G., MAZUELOS C., TRONCOSO A. (1991): *Influence of Na₂SO₄ and NaCl salts on survival, growth and mineral composition of young olive plants in inert sand culture*, «Adv. Hortic. Sci.», 5, pp. 73-79.
- BARTOLOZZI F., FONTANAZZA G. (1999): *Assessment of frost tolerance in olive (Olea europaea L.)*, «Scientia Hortic.», 81, pp. 309-319.
- BARTOLOZZI F., ROCCHI P., CAMERINI F., FONTANAZZA G. (1999): *Changes of biochemical parameters in olive (Olea europaea L.) leaves during an entire vegetative season and their correlation with frost resistance*, «Acta Hort.», 474, pp. 435-440.
- BERNSTEIN L. (1965): *Salt tolerance of fruit crops*, «USDA, Agric. Res. Bull.», pp. 292.
- BERNSTEIN L., HAYWARD H.E. (1958): *Physiology of salt tolerance*, «Annu. Rev. Plant Physiol.», 9, pp. 25-46.
- BERRY J., BJORKMAN O. (1980): *Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants*, «Ann. Rev. Plant Physiol.», 31, pp. 491-543.
- BLUMWALD E., AHARON G.S., APSE M.P. (2000): *Sodium transport in plants*, «Biochim. Biophys. Acta», 465, pp. 140-151.
- BONGI G., LORETO F. (1989): *Gas exchange properties of salt-stressed olive (Olea europaea L.) leaves*, «Plant Physiol.», 90, pp. 1408-1416.
- BONGI G., PALLIOTTI A. (1994): *Olive*, in SCHAFFER B. e ANDERSEN P.C. (Eds.), *Handbook of Environmental Physiology of Fruit Crops*, Volume I: *Temperate Crops*, CRC Press, Inc, pp. 165.
- BOSABALIDIS A.M., KOFIDIS G. (2002): *Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars*, «Plant Sci.» 163, pp. 375-379.
- CELANO G., DICHIO B., MONTANARO G., NUZZO V., PALESE A.M., XILOYANNIS C. (1999): *Distribution of dry matter and amount of mineral elements in irrigated and non-irrigated trees*, «Acta Hort.», 474, pp. 381-384.
- CHARTZOULAKIS K.S., LOUPASSAKI M., BERTAKI M., ANDROULAKIS I. (2002): *Effects of NaCl salinity on growth, ion content and CO₂ assimilation rate of six olive cultivars*, «Scientia Hortic.», 96, pp. 235-247.
- CHARTZOULAKIS K.S. (2005): *Salinity and olive: growth, salt tolerance, photosynthesis and yield*, «Agric. Water Manage.», 78, pp. 108-121.
- CORPAS F.J., FERNANDEZ-OCANA A., CARRERAS A., VALDERRAMA R., LUQUE F., ESTEBAN F.J., RODRIGUEZ-SERRANO M., CHAKI M., PEDRAJAS J.R., SANDALIO L.M., DEL RIO L.A., BARROSO J.B. (2006): *The expression of different superoxide dismutase forms is cell-type dependent in olive (Olea europaea L.) leaves*, «Plant Cell Physiol.», 47, pp. 984-994.
- COSTAGLI G., GUCCI R., RAPOPORT H.F. (2003): *Growth and development of fruits of olive 'Frantoio' under irrigate and rainfed condicions*, «J. Hortic. Sci. Biotech.», 78, pp. 119-124.

- D'ANDRIA R., MORELLI G., PATUMI M., FONTANAZZA G. (2000): *Irrigation regime affects yield and oil quality of olive trees*, «Acta Hort.», 586, pp. 273-276.
- D'ANDRIA R., LAVINI A., MORELLI G., PATUMI M., TEREZIANI S., CALANDRELLI D., FRAGNITO F. (2004): *Effect of water regime on five pickling and double aptitude olive cultivars* (*Olea europaea L.*), «J. Hort. Sci. Biotech.», 78, pp. 15-23.
- D'ANGELI S., ALTAMURA M. *Osmotin induces cold protection in olive trees by affecting programmed cell death and cytoskeleton organization*, «Planta», in press.
- D'ANGELI S., MALHÒ R., ALTAMURA M.M. (2003): *Low-temperature sensing in olive tree: calcium signalling and cold acclimation*, «Plant Sci.», 165, pp. 1303-1313.
- DICHIO B., XILOYANNIS C., ANGELOPOULOS K., NUZZO V., BUFO S.A., CELANO G. (2003): *Drought-induced variations of water relations parameters in Olea europaea*, «Plant and Soil», 257, pp. 381-389.
- DICHIO B., XILOYANNIS C., CELANO G., ANGELOPOULOS K. (1994): *Response of olive trees subjected to various levels of water stress*, «Acta Hort.», 356, pp. 211-214.
- FAO (1985): *Water quality for agriculture*, «FAO Irrigation and Drainage paper», 29, Rome, Italy, pp.174.
- FERNANDEZ J.E., MORENO F., GIRON I.F., BLAZQUEZ O.M. (1997): *Stomatal control of water use in olive tree leaves*, «Plant and Soil», 190, pp. 179-192.
- FIORINO P., MANCUSO S. (2000): *Differential thermal analysis, deep supercooling and cell viability in organs of Olea europaea at subzero temperatures*, «Adv. Horticult. Sci.», 14, pp. 23-27.
- GIORGELLI F., LORENZINI G., MINNOCCI A., PANICUCCI A., VITAGLIANO C. (1994): *Effects of long-term SO₂ pollution on olive-trees*, «Acta Hort.», 356, pp. 185-188.
- GIORIO P., SORRENTINO G., D'ANDRIA R. (1999): *Stomatal behaviour, leaf water status and photosynthetic response in field-grown olive trees under water deficit*, «Environ. Exp. Bot.», 42, pp. 95-104.
- GRATTAN S.R., BERENQUER M.J., CONNELL J.H., POLITO V.S., VOSSEN P.M. (2006): *Olive oil production as influenced by different quantities of applied water*, «Agric. Water Manage.», 85, pp. 133-140.
- GREENWAY H., MUNNS R. (1980): *Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes*, «Ann. Rev. Plant Physiol.», 31, pp.149-190.
- GUCCI R., LOMBARDINI L., TATTINI M. (1997): *Analysis of leaf water relations of two olive (Olea europaea L.) cultivars differing in tolerance to salinity*, «Tree Physiol.», 17, pp. 13-21.
- GUCCI R., MANCUSO S., SEBASTIANI L. (2003): *Resistenza agli stress ambientali*, in *Olea - Trattato di Olivicoltura*, a cura di P. Fiorino, Edagricole - Edizioni Agricole de «Il Sole 24 Ore», pp. 91-111.
- GUCCI R., MOING A., GRAVANO E., GAUDILLERE J.P. (1998): *Partitioning of photosynthetic carbohydrates in leaves of salt-stressed olive plants*, «Aust. J. Plant Physiol.», 25, pp. 571-579.
- GUCCI R., TATTINI M. (1997): *Salinity tolerance in olive*, «Hortic. Rev.», 21, pp. 177-214.
- HARE P.D., CRESS W.A., VAN STADEN J. (1998): *Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress*, «Plant Cell Environ.», 21, pp. 535-553.
- INGLESE P., BARONE E., GULLO G. (1996): *The effect of complementary irrigation on fruit growth, ripening pattern and oil characteristics of olive (Olea europaea L.) cv. Carolea*, «J. Hort. Sci.», 71, pp. 257-263.
- INGRAM J., BARTELS D. (1996): *The molecular basis of dehydration tolerance in plants*, «Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. », 47, pp. 377-403.

- JACKSON M. (1997): *Hormones from roots as signals for the shoots of stressed plants*, «Trends Plant Sci.», 2, pp. 22-28.
- KAPPEN L. (1981): *Ecological significance of resistance to high temperatures*, in LANGE O.L., NOBEL P.S., OSMOND C.B., ZIEGLER H. (Eds.), *Encyclopedia of Plant Physiology*, Springer, Berlino, vol. 12A, pp. 439-474.
- KITSAKI C.K., DROSSOPOULOS J.B. (2005): *Environmental effect on ABA concentration and water potential in olive leaves (Olea europaea L. cv "Koroneiki") under non-irrigated field conditions*, «Environ. Exp. Bot.», 54, pp. 77-89.
- KLEIN I., BEN-TAL Y., LAVEE S., DE MALACH J., DAVID I. (1994): *Saline irrigation of cv Manzanillo and Uovo di Piccione trees*, «Acta Hort.», 356, pp. 176-218.
- KNIGHT H., KNIGHT M.R. (2000): *Imaging spatial and cellular characteristics of low temperature calcium signature after cold acclimation in Arabidopsis*, «J. Exp. Bot.», 51, pp. 1679-1686.
- LA PORTA N., ZACCHINI M., BARTOLINI S., VITI R., ROSELLI G. (1994): *The frost hardiness of some clones of olive cv. Leccino*, «J. Hort. Sci. », 69, pp. 433-435.
- LARCHER W. (2000): *Temperature stress and survival ability of Mediterranean sclerophyllous plants*, «Plant Biosystems» 134, pp. 279-295.
- LAVEE S., SCHACTHEL J. (1999): *Interaction of cultivar rootstock and water availability on olive tree performance and fruit production*, «Acta Hort.», 474, pp. 399-401.
- LEVITT J. (1980): *Responses of Plants to Environmental Stresses. Vol. I. Chilling, freezing and high temperature stresses*, «Academic Press», New York, 497 pp.
- LO GULLO M.A., SALLEO S. (1988): *Different strategies of drought-resistance in three Mediterranean sclerophyllous trees growing in the same environmental conditions*, «New Phytol.», 108, pp. 267-276.
- LO GULLO M.A., SALLEO S. (1990): *Wood anatomy of some trees with diffuse- and ring-porous wood: some functional and ecological interpretation*, «Giornale Botanico Italiano», 124, pp. 601-613.
- LORETO F., CENTRITTO M., CHARTZOULAKIS K.S. (2003): *Photosynthetic limitations in olive cultivars with different sensitivity to salt stress*, «Plant Cell Environ.», 26, pp. 595-601.
- LOUPASSAKI M.H., CHARTZOULAKIS K., DIGALAKI N., ANDROULAKIS I. (2002): *Effects of salt stress on concentration of nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, magnesium and sodium in leaves, shoots and roots of six olive cultivars*, «J. Plant Nutr. », 25, pp. 2457-2482.
- MANCUSO S. (2000): *Electrical resistance changes during exposure to low temperature measure chilling and freezing tolerance in olive tree (Olea europaea L.) plants*, «Plant Cell Environ.», 23, pp. 221-229.
- MANCUSO S., AZZARELLO E. (2002): *Heat tolerance in olive*, «Adv. Horticult. Sci.», 16, pp. 125-130.
- MARCHI S., GUIDOTTI D., SEBASTIANI L., TOGNETTI R. (2007): *Changes in assimilation capacity during leaf development in broadleaved Prunus persica and sclerophyllous Olea europaea*, «J. Hortic. Sci. Biotech.», 82, pp. 69-78.
- MARCHI S., SEBASTIANI L., GUCCI R., TOGNETTI R. (2005): *Changes in sink-source relationships during shoot development in olive*, «J. Am. Soc. Hortic. Sci.», 130, pp. 631-637.
- MARIN L., BENLLOCH M., FERNANDEZ-ESCOBAR R. (1995): *Screening of olive cultivars for salt tolerance*. «Scientia Hortic.», 64, pp. 113-116.
- MASS E.V., HOFFMAN G.J. (1977): *Crop salt tolerance-current assessment*, «J. Irrig. Drainage, Div. ASCE», 103, pp. 115-134.

- MELGAR J.C., BENLLOCH M., FERNÁNDEZ-ESCOBAR R. (2006): *Calcium increases sodium exclusion in olive plants*, «Scientia Hort.», 109, pp. 303-305.
- MICHELAKIS N., VOYOUKALOU E., CLAPAKI G. (1995): *Plant growth and yield response of olive tree cv. Kalamon, for different levels of soil water potential and methods of irrigation*, «Adv. Horticult. Sci.», 9, pp.136-139.
- MINNOCCI A., PANICUCCI A., SEBASTIANI L., LORENZINI G., VITAGLIANO C. (1999): *Physiological and morphological responses of olive plants to ozone exposure during a growing season*, «Tree Physiol.», 19, pp. 391-397.
- MINNOCCI A., PANICUCCI A., VITAGLIANO C. (1995): *Gas exchange and morphological stomatal parameters in olive plants exposed to ozone*, pp. 77-81, in LORENZINI G., SOLDATINI G.F. (Eds.), *Responses of plants to air pollution*, Special Volume of Agricoltura Mediterranea, Pacini Editore, Pisa, pp. 415.
- MORENO F., FERNANDEZ J.E., CLOTHIER B.E., GREEN S.R. (1996): *Transpiration and root water uptake by olive trees*, «Plant and Soil», 184, pp. 85-96.
- MORIANA A., VILLALOBOS F.J., FERRERES E. (2002): *Stomatal and photosynthetic responses of olive (Olea europaea L.) leaves to water deficits*, «Plant Cell Environ.», 25, pp. 395-405.
- MUNNS R., TERMAAT A. (1986): *Whole plant responses to salinity*, «Austr. J. Plant Physiol.», 13, pp. 143-160.
- NOCTOR G. (2006): *Metabolic signalling in defence and stress: the central roles of soluble redox couples*, «Plant Cell Environ.», 29, pp. 409-425.
- NOVER L., NEUMANN D., SCHARF K.D. (1989): *Heat shock and other stress response systems of plants*, Springer, Berlino.
- OSMOND B., BADGER M., MAXWELL K., BJÖRKMAN O., LEEGOOD R. (1997): *Too many photons: photorespiration, photoinhibition and photooxidation*, «Trends Plant Sci. », 2, pp. 119-121.
- PATUMI M., D'ANDRIA R., MARSILIO V. FONTANAZZA G., MORELLI G. LANZA B. (2002): *Olive and olive oil quality after intensive monocone olive growing (Olea europaea L., cv.Kalamata) in different irrigation regimes*, «Food Chem.», 77, pp. 27-34.
- PRESTON G.M., CARROLL T.P., GUGGINO W.B., AGREE P. (1992): *Appearance of water channels in Xenopus oocytes expressing red cell CHIP28 protein*, «Science», 256, pp. 385-387.
- RAPOPORT H.F., COSTAGLI G., GUCCI R. (2004): *The effect of water deficit during early fruit development on olive fruit morphogenesis*, «J. Am. Soc. Hort. Sci.», 129, pp. 121-127.
- RHIZOPOULOU S., MELETIOU-CHRISTOU M.S., DIAMANTOGLOU S. (1991): *Water relations for sun and shade leaves of four Mediterranean evergreen sclerophylls*, «J. Exp. Bot.», 42, pp. 627-635.
- RINALDELLI E., MANCUSO S. (1994): *Cell transmembrane electropotentials in adventitious roots of Olea europaea L. cv. Frantoio as related to temperature, respiration, external potassium, anoxia, and 2,4-dinitrophenol treatments*, «Adv. Horticult. Sci.», 8, pp. 229-234.
- RINALDELLI E., MANCUSO S. (1996): *Response of young mycorrhizal and non-mycorrhizal plants of olive tree (Olea europaea L.) to saline conditions. I. Short-term electro-physiological and long-term vegetative salt effects*, «Adv. Horticult. Sci.», 10, pp. 126-134.
- RUGINI E., FEDELI E. (1990): *Olive as an oilseed crop*, in *Biotechnology in Agriculture and Forestry. Legumes and Oil-seed Crops*, Bajaj, Y.P.S. (Ed.) Springer-Verlag, Berlin.
- SAKAI A., LARCHER W. (1987): *Frost survival of plants: Responses and adaptation to freezing stress*, «Ecological studies», 62.
- SALLEO S., LO GULLO M.A., OLIVIERI F. (1985): *Hydraulic parameter measured in 1-year-*

- old tuing of some mediterranean species with diffuse-porous wood: changes in hydraulic conductivity and their possibile functional significance*, «J. Exp. Bot.», 36, pp. 1-11.
- SALLEO S., NARDINI A. (1999): *Ecofisiologia di Olea oleaster Hoffmngg et Link: verso un modello predittivo dell'adattamento all'aridità*, «Olivo e Olio», 2, pp. 70-79.
- SCHWABE W.W., LIONAKIS S.M. (1996): *Leaf attitude in olive in relation to drought resistance*, «J. Hort. Sci.», 71, pp. 157-166.
- SEBASTIANI L., LINDBERG S., VITAGLIANO C. (1999): *Cytoplasmic free Ca²⁺ dynamics in single tomato (Lycopersicon esculentum) protoplasts subjected to chilling temperature*, «Physiol. Plant.», 105, pp. 239-245.
- SEBASTIANI L., SCEBBA F., GRIMELLI A., GUCCI R. (2002a): *L'effetto di brevi periodi di congelamento sulla resistenza al freddo di giovani piante di olivo*, «Proceedings Convegno Internazionale di Olivicoltura», Spoleto 22-23 Aprile 2002, pp. 381-386.
- SEBASTIANI L., MINNOCCI A., TOGNETTI R. (2002b): *Olive (Olea europaea L.) plants reactions to atmospheric pollutants and UV-B radiation: current state of the research*, «Adv. Horticult. Sci.», 16, pp. 144-154.
- SEBASTIANI L., MINNOCCI A., TOGNETTI R. (2002c): *Genotypic differences in the response to elevated CO₂ concentration of one-year-old olive cuttings (Olea europaea L. cv. Frantoio and Moraiolo)*, «Plant Biosystems», 136, pp. 199-208.
- SECCHI F., LOVISOLO C., UEHLEIN N., KALDENHOFF R., SCHUBERT A. (2007): *Isolation and functional characterization of three aquaporins from olive (Olea europaea L.)*, «Planta», 225, pp. 381-392.
- SHI H., WU S.J., ZHU J.K. (2003): *Overexpression of plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter improves salt tolerance in Arabidopsis*, «Nat. Biotech.», 21, pp. 81-85.
- SMART L.B., MOSKAL W.A., CAMERON K.D., BENNETT A.B. (2001): *MIP genes are down-regulated under drought stress in Nicotina glauca*, «Plant Cell Physiol.», 42, pp. 686-693.
- SOFO A., DICHIO B., XILOYANNIS C., MASIA A. (2004a): *Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondialdehyde content during rewatering in olive tree*, «Plant Sci.», 166, pp. 293-302.
- SOFO A., DICHIO B., XILOYANNIS C., MASIA A. (2004b): *Lipoxygenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive trees in response to drought stress*, «Physiol. Plant.», 121, pp. 58-65.
- STOUT D.G., STEPONKUS P.L., COTTS R.M. (1987): *In vivo plant impedance measurements and characterization of membrane electrical properties: the influence of cold acclimation*, «Cryobiology», 24, pp. 148-162.
- SYKES S.R. (1992): *The inheritance of salt exclusion in woody perennial fruit species*, «Plant and Soil», 146, pp. 123-129.
- TABATABAEI S.J. (2006): *Effects of salinity and N on the growth, photosynthesis and N status of olive (Olea europaea L.) trees*, «Scientia Hortic.», 108, pp. 432-438.
- TATTINI M., BERTONI P., CASELLI S. (1992): *Genotypic responses of olive plants to sodium chloride*, «J. Plant Nutr.», 15, pp. 1467-1485.
- TATTINI M., GUCCI R., CORADESCHI M.A., PONZIO C., EVERARD J.D. (1995): *Growth, gas exchange and ion content in Olea europaea plants during salinity and subsequent relief*, «Physiol. Plant.», 95, pp. 203-210.
- TATTINI M., GUCCI R., ROMANI A., BALDI A., EVERARD J.D. (1996): *Changes in non-structural carbohydrates in olive (Olea europaea) leaves during root zone salinity stress*, «Physiol. Plant.», 98, pp. 117-124.
- TATTINI M., LOMBARDINI L., GUCCI R. (1997): *The effect of NaCl stress and relief on gas*

- exchange properties of two olive cultivars differing in tolerance to salinity*, «Plant and Soil», 197, pp. 87-93.
- THERIOS I.N., MISOPOLINOS N.D. (1988): *Genotypic response to sodium chloride salinity of four major olive cultivars (Olea europaea L.)*, «Plant and Soil», 106, pp. 105-111.
- THOMASHOW M.F. (1999): *Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms*. «Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.», 50, pp. 571-599.
- TOGNETTI R., COSTAGLI G., MINNOCCI A., GUCCI R. (2002): *Stomatal behaviour and water use efficiency in two cultivars of Olea europaea L.*, «Agricoltura Mediterranea», 132, pp. 90-97.
- TOGNETTI R., D'ANDRIA R., LAVINI A., MORELLI G. (2006): *The effect of deficit irrigation on crop yield and vegetative development of Olea europaea L. (cvs. Frantoio and Leccino)*, «Europ. J. Agr.», 25, pp. 356-364.
- TOGNETTI R., D'ANDRIA R., MORELLI G., ALVINO A. (2005): *The effect of deficit irrigation on seasonal variations of plant water use in Olea europaea L.*, «Plant and Soil», 273, pp. 139-155.
- TOGNETTI R., D'ANDRIA R., MORELLI G., CALANDRELLI D., FRAGNITO F. (2004): *Irrigation effects on daily and seasonal variations of trunk sap flow and leaf water relations in olive trees*, «Plant and Soil», 263, pp. 249-264.
- TOGNETTI R., SEBASTIANI L., VITAGLIANO C., RASCHI A., MINNOCCI A. (2001): *Responses of two olive tree (Olea europaea L.) cultivars to elevated CO₂ concentration in the field*, «Photosynthetica», 39, pp. 403-410.
- TYERMAN S.D., NIEMIETZ C.M., BRAMLEY H. (2002): *Plant aquaporins: multifunctional water and solute channels with expanding roles*, «Plant Cell Environ.», 25, pp. 173-194.
- VITAGLIANO C., MINNOCCI A., SEBASTIANI L., PANICUCCI A., LORENZINI G. (1999): *Physiological response of two olive genotypes to gaseous pollutants*, «Acta Hort.», 474, pp. 431-434.
- VITAGLIANO C., SEBASTIANI L. (2002): *Physiological and biochemical remarks on environmental stress in olive (Olea europaea L.)*, «Acta Hort.», 586, pp. 435-440.
- XILOYANNIS C., DICHIO B., NUZZO V., CELANO G. (1999): *Defence strategies of olive against water stress*, «Acta Hort.», 474, pp. 423-426.
- XIONG L., SCHUMAKER K.S., ZHU J.K. (2002): *Cell signaling during cold, drought, and salt stress*, «The Plant Cell», S165-S183, Supplement.
- YAMADA S., KOMORI T., MYERS P.N., KUWATA S., KUBO T., IMASEKI H. (1997): *Expression of plasma membrane water channel genes under water stress in Nicotiana excelsior*, «Plant Cell Physiol.», 38, pp. 1226-1231.
- ZHANG H.X., BLUMWALD E. (2001): *Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit*, «Nat. Biotech.», 19, pp. 765-798.
- ZHU J.K. (2001): *Plant salt tolerance*, «Trends Plant Sci. », 6, pp. 66-71.

RICCARDO GUCCI*

Innovazioni tecniche

Degli oltre 200 articoli scientifici censiti sull'archivio informatico *ISI web of knowledge* (www.portalisiknowledge.com) alla doppia voce "olivo e stress" nel periodo 2003-febbraio 2007, 11 sono attribuibili all'irrigazione, tre all'uso di acque reflue dei frantoi oleari, sette allo stress salino, tre a stress da carenze minerali, tre a patogeni e funghi micorrizici, due allo stress da carenza di ossigeno o da basse temperature, mentre 15 ricadono negli studi di fisiologia, incluso lo sviluppo e l'impiego di strumenti e metodologie per la diagnostica precoce degli stati di stress. Da notare che tutti i rimanenti articoli riguardano ricerche in campo medico e nutrizionale sugli effetti dell'olio extra-vergine di oliva e dei suoi componenti minori sulla salute umana, il che sottolinea l'importanza che gli aspetti salutistici dell'olio possono rivestire per i consumatori. Restringendo il campo di indagine, 80 citazioni compaiono richiamando le parole chiave "olivo e irrigazione", 24 "olivo e salinità", quattro "olivo e basse temperature", 10 "olivo e boro".

Questi numeri non rappresentano solo le aree di maggiore attività scientifica degli ultimi anni, ma corrispondono piuttosto fedelmente alle innovazioni tecniche più interessanti derivate dalla recente ricerca sugli stress dell'olivo. L'obiettivo di questo lavoro è di illustrare alcune innovazioni, già utilizzate o prontamente trasferibili, scaturite dalla recente attività di ricerca sugli stress dell'olivo e, in particolare, l'irrigazione in deficit, l'impiego di acque saline, e l'utilizzazione del boro nella concimazione.

* Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose "G. Scaramuzzi", Università degli Studi di Pisa

IRRIGAZIONE IN DEFICIT

Aspetti generali. L'acqua è una risorsa particolarmente scarsa nelle aree di coltivazione dell'olivo, ove l'agricoltura ne utilizza fino all'80% del totale. Nei mesi estivi, soprattutto in alcune zone e anni, si verificano situazioni di vera e propria emergenza idrica, legata alla competizione tra usi urbani, industriali e agricoli, che di solito si traduce in perdite di reddito per gli agricoltori. Nonostante che l'olivo sia la coltura arborea più resistente allo stress da carenza idrica, l'irrigazione è ormai diffusa in olivicoltura (D'Auria, 2004). I motivi di questa espansione sono riconducibili al rapido sviluppo vegetativo dell'albero durante la fase di allevamento e all'aumento della produzione, in quanto un'ampia disponibilità idrica agisce positivamente su tutte le componenti della produttività (numero di frutti, peso del frutto, contenuto di olio nella drupa). Molto interessanti appaiono, inoltre, le prospettive offerte dalla cosiddetta "irrigazione qualitativa", ovvero la somministrazione controllata dell'acqua con l'obiettivo di massimizzare la qualità dell'olio e il ritorno economico per i produttori (Gucci e Servili, 2006). Non mancano gli effetti indesiderati dell'irrigazione, quali l'aumento della densità di inoculo e della popolazione di *Verticillium dahliae* dovuta all'aumento della sopravvivenza e germinazione dei microsclerozi del patogeno nel suolo, soprattutto nei giovani oliveti irrigui (Lopez-Escudero e Blanco-Lopez, 2005). È interessante notare che, da una recente ricerca interdisciplinare, risulta un'ampia diffusione degli oliveti irrigati nella Francia meridionale e Spagna nord-orientale già nel periodo medievale (Terral e Durand, 2006).

Al di là degli aspetti storici, che peraltro meritano ulteriori approfondimenti, la tendenza attuale è di irrigare l'olivo in deficit, cioè non soddisfacendo completamente il fabbisogno idrico dell'albero, ma restituendo volumi inferiori a quelli necessari per la massima produttività in modo da indurre condizioni transitorie di deficit idrico e risparmiare acqua. L'irrigazione in deficit persegue tre obiettivi principali: ridurre il consumo idrico, mantenere la produzione a livelli comparabili con alberi pienamente irrigati, ottenere eventuali miglioramenti qualitativi del frutto (olive da mensa) o dell'olio.

Data la carenza di acqua negli ambienti di coltivazione dell'olivo, l'irrigazione in deficit viene praticata, spesso inconsapevolmente, ogni qualvolta la disponibilità di acqua è insufficiente per le esigenze dell'albero. Non sono rari i casi in cui il deficit è imposto da turni di distribuzione dell'acqua o da condizioni di emergenza idrica a livello territoriale. Tuttavia, un approccio puramente empirico non è in grado di fornire indicazioni chiare e ripetibili su come il deficit debba essere gestito e può condurre a conclusioni errate, come

è stato, ad esempio, dimostrato da una ricerca spagnola, in cui si è visto che la pratica, comune in alcune zone, di irrigare gli oliveti adulti con volumi di acqua pari all'evapotraspirato giornaliero nell'anno di carica e di non irrigare nell'anno di scarica determina perdite produttive rispetto ad altre strategie di deficit controllato (Moriani et al., 2003).

Notevoli passi in avanti sono stati fatti grazie alla sperimentazione che, a partire dagli anni 1990, ha sistematicamente affrontato il problema della gestione dell'irrigazione in deficit. Un importante contributo è venuto da Moriani et al. (2003), che hanno mostrato che la produttività dell'oliveto in risposta a variazioni della disponibilità idrica ha un andamento quasi lineare a bassi livelli di consumo idrico e poi raggiunge un massimo oltre il quale ulteriori apporti idrici non aumentano la produzione. Di conseguenza, la produttività dell'acqua a bassi volumi è molto maggiore di quella ad alti volumi irrigui. Un altro aspetto rilevante per le ricadute applicative è dato dal fatto che l'olivo presenta un punto di appassimento (-2.5 MPa di potenziale idrico del suolo) inferiore a quello di altre colture arboree (-1.5 MPa), il che equivale a una maggiore quantità di acqua estraibile dal terreno (Xiloyannis et al., 2003).

Anche le numerose acquisizioni scientifiche sui meccanismi di risposta dell'olivo alla carenza di acqua hanno contribuito a impostare strategie razionali di irrigazione in deficit. Tra le più significative bisogna ricordare: il pronunciato aggiustamento osmotico nei tessuti dell'olivo in seguito a condizioni di deficit (Lo Gullo e Salleo, 1988), la dinamica di risposta della conduttanza stomatica al diminuire del potenziale idrico fogliare (Gucci, 2003), il mantenimento della capacità fotosintetica a potenziali idrici molto bassi (Angelopoulos et al., 1996), e la diversa sensibilità al deficit dei processi cellulari e della crescita dei tessuti nel frutto (Rapoport et al., 2004). Per maggiori dettagli sugli aspetti generali dell'irrigazione in deficit controllato dell'olivo si rimanda a Gucci e Servili (2006).

Strategie. Le strategie più utilizzate fanno riferimento ai seguenti modelli:

- deficit controllato (RDI), in cui il deficit viene indotto e mantenuto in determinati stadi fenologici, mentre per il resto della stagione irrigua gli alberi sono irrigati in modo da soddisfare per intero il loro fabbisogno idrico;
- il deficit idrico viene mantenuto a livelli costanti durante la stagione di crescita mediante il dosaggio controllato dell'acqua e il monitoraggio dello stato idrico dell'albero o dell'umidità del suolo. Una variante (SRI) di

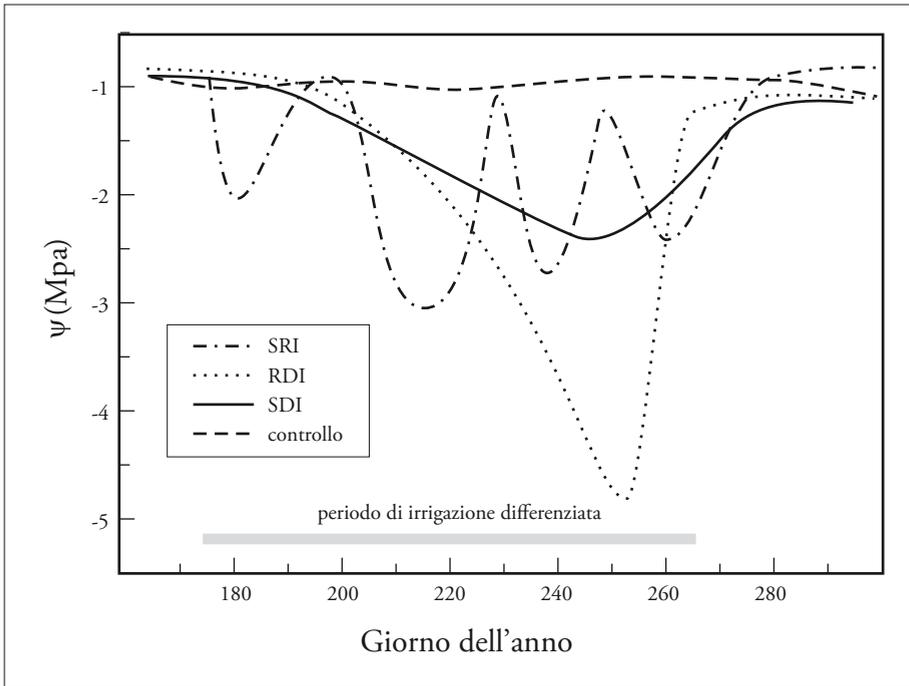


Fig. 1 *Rappresentazione schematica di diverse strategie di irrigazione in deficit per l'olivo. Gli andamenti di potenziale idrico dell'albero sono stati disegnati sulla base dei dati riportati in Gucci et al. (2007) e Moriana et al. (2003). Legenda: controllo, irrigato secondo il fabbisogno giornaliero; RDI, irrigato in deficit controllato; SDI, irrigato in deficit sostenuto; SRI, irrigato con brevi cicli di stress e recupero*

questo metodo consiste nel mantenere lo stato idrico dell'albero entro un certo intervallo piuttosto che perseguire valori costanti di deficit idrico;

- deficit sostenuto (SDI), in cui i volumi somministrati sono inferiori all'evapotraspirazione, ma a un livello predeterminato in modo da ottenere un aumento progressivo del deficit durante la stagione di crescita. Il livello di stress raggiunto dipende dalle condizioni pedo-climatiche ma, a parità di condizioni, lo stress è più graduale rispetto a RDI e stimola meccanismi di adattamento.

Va, inoltre, citata la tecnica della disidratazione parziale nella zona dell'apparato radicale (PRD), sviluppata in Australia per l'irrigazione della vite, che si basa sul ruolo dell'acido abscissico nella comunicazione chimica tra radice e chioma al diminuire del potenziale idrico del suolo. Con questa tecnica l'apparato radicale viene per metà irrigato e per l'altra metà lasciato in suo-

lo asciutto durante dei cicli di 2-3 settimane al termine dei quali la zona precedentemente in asciutto viene irrigata e viceversa (Loveys et al., 2000). Tuttavia, ulteriori studi condotti sia in olivo (Fernandez et al., 2006) che altre specie da frutto non hanno confermato i vantaggi quali-quantitativi sulla produzione. Uno dei motivi risiede nel fatto che la tecnica PRD è stata confrontata inizialmente solo con la piena irrigazione, mentre sperimentazioni successive hanno verificato che non presenta vantaggi rispetto ad altre strategie di irrigazione in deficit (Fernandez et al., 2006) ma, comportando maggiori costi per la realizzazione dell'impianto irriguo, appare di limitato interesse applicativo.

Gli andamenti dello stato idrico di alberi irrigati secondo diverse strategie sono schematicamente riportati in figura 1. La curva del controllo rappresenta il potenziale idrico fogliare, misurato al termine del periodo notturno, di alberi irrigati in modo da reintegrare l'evapotraspirato giornaliero, e può essere considerata come la linea di base in assenza di stress idrico. L'adozione della RDI comporta un andamento stabile del potenziale idrico dell'albero durante parte della stagione irrigua ma, una volta iniziata la fase di irrigazione in deficit con una restituzione di acqua molto inferiore al fabbisogno (di solito da 0 al 50%), il potenziale diminuisce repentinamente e l'albero consuma parte o tutta la riserva utile di umidità del suolo. Al termine del periodo in deficit controllato il ripristino della piena irrigazione consente una rapida risalita del potenziale idrico fogliare, fino a livelli simili a quelli del controllo. Un andamento pressoché costante nel tempo si ha per alberi irrigati secondo il modello 2. Una variante di questo secondo approccio consiste nel mantenere lo stato idrico dell'albero entro una certa banda di oscillazione, che in un recente lavoro sperimentale sull'olivo era compresa tra la linea di base (controllo) e il punto di perdita di turgore cellulare (Gucci et al., 2007). Ciò consente di imporre brevi cicli di deficit e recupero dallo stress in funzione sia dello stadio fenologico che dell'andamento climatico, con maggiore flessibilità nella programmazione degli interventi irrigui. Infine, la tecnica SDI determina una diminuzione graduale del potenziale idrico e, a mano a mano che lo stress procede, viene utilizzata la riserva di acqua utile del suolo.

Resistenza al deficit. Indipendentemente dalla strategia irrigua il problema sta nel regolare correttamente l'intensità e la durata del deficit a seconda dello stadio fenologico e dell'andamento stagionale. Dal punto di vista produttivo le fasi ritenute più sensibili alla carenza idrica sono la fioritura, l'allegagione, la fase iniziale di rapida crescita del frutto e il periodo di accumulo di olio nella drupa. Tuttavia, le risposte variano con l'intensità del deficit. Ad

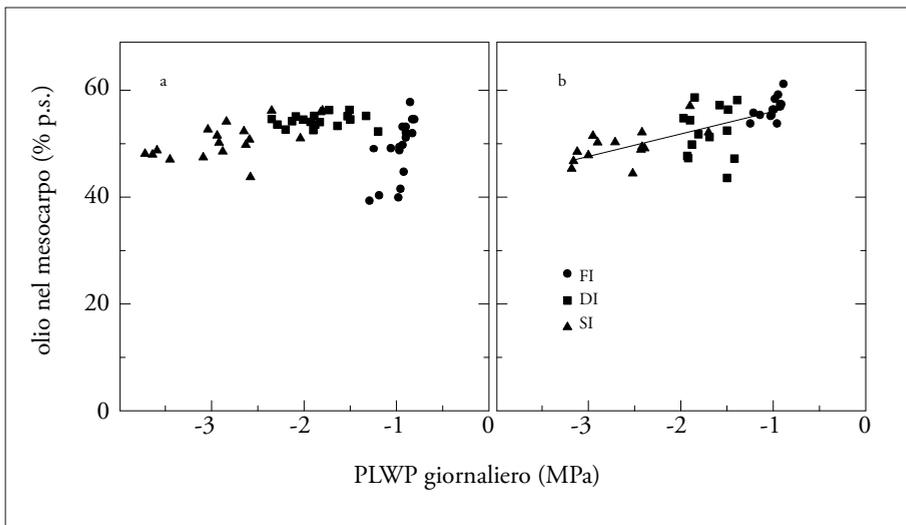


Fig. 2 Variazioni del contenuto in olio nel mesocarpo (su base di peso secco) nel 2003 (a) e 2004 (b) in funzione dello stato idrico dell'olivo (cv. Leccino), espresso come potenziale idrico fogliare giornaliero, misurato al termine del periodo notturno (PLWP). Il PLWP è stato calcolato al termine dell'esperimento (20 o 19 settimane dopo la piena fioritura) come valore integrato dividendo il potenziale cumulato durante il periodo di sviluppo del frutto per il numero di giorni. Ciascun simbolo è la media di 5 frutti. Legenda: FI, alberi irrigati reintegrando l'evapotraspirato giornaliero; DI, alberi irrigati in deficit controllato; SI, alberi irrigati solo con interventi di soccorso (Fonte: Gucci et al., 2007; le principali condizioni sperimentali sono anche riportate in Gucci e Servili, 2006)

esempio, il deficit idrico riduce il numero di infiorescenze e la percentuale di allegagione (Beede e Goldhamer, 1994), e aumenta il numero di fiori imperfetti (Goldhamer e Beede, 2005), ma in altre prove di irrigazione deficitaria non sono state riscontrate differenze nella percentuale di fiori perfetti, densità delle infiorescenze e percentuale di allegagione (Gucci e Servili, 2006). Analogamente, il peso fresco del frutto alla raccolta diminuisce se il deficit è severo (irrigazione pari al 25% del controllo per oltre due mesi in estate), ma non cambia se l'irrigazione è il 50-75% del controllo (Alegre et al., 2002). La diversa strategia di irrigazione in deficit non sembra influire sul peso finale del frutto (Moriani et al., 2003).

All'interno del frutto l'endocarpo appare meno sensibile del mesocarpo. Un periodo di deficit durante le fasi iniziali di sviluppo del frutto, seguito dal ripristino dell'irrigazione fino alla raccolta, determina una diminuzione nelle dimensioni del mesocarpo già durante la fase di indurimento del nocciolo e fino alla raccolta, mentre l'endocarpo recupera e raggiunge alla

raccolta dimensioni simili a quelle del controllo sempre irrigato (Rapoport et al., 2004).

Sebbene i risultati sperimentali sull'irrigazione in deficit controllato in pieno campo siano piuttosto concordi (Alegre et al., 2002; Berenguer et al., 2006; Girona et al., 2002; Goldhamer, 1999; Goldhamer et al., 1994; Gomez-Rico et al., 2007; Gucci et al., 2007; Moriana et al., 2003; Patumi et al., 1999), il principale limite applicativo di qualsiasi strategia è dato dalle scarse informazioni sulle soglie oltre le quali certi processi fisiologici vengono influenzati significativamente dal deficit idrico. Un approccio volto a determinare le relazioni quantitative tra le componenti della produttività e lo stato idrico dell'olivo integrato su tutto il periodo irriguo è stato presentato di recente (Gucci et al., 2007), e un esempio è riportato nella figura 2. L'accumulo di olio nel mesocarpo della cv. Leccino aumenta all'aumentare del potenziale idrico fogliare se il deficit idrico è severo (da -3.5 a -1.5 MPa), mentre rimane invariato se il deficit idrico è moderato, cioè al di sopra di circa -1.5 MPa (Gucci et al., 2007). Diversi studi hanno evidenziato che la produzione di olio è meno sensibile al deficit di quella di olive (Alegre et al., 2002; Motilva et al., 2002; Moriana et al., 2003).

Aspetti qualitativi. Di particolare attualità è l'effetto dell'irrigazione sulla qualità dell'olio. Il regime idrico non modifica in modo apprezzabile né i parametri di qualità merceologica (acidità libera, numero di perossidi, indici spettrofotometrici), né la composizione in acidi grassi (Gomez-Rico et al., 2007; Gucci e Servili, 2006; Motilva et al., 2000; Patumi et al., 1999; Tovar et al., 2002), ma influisce sensibilmente sulla concentrazione di composti fenolici idrofili e sulla stabilità dell'olio rispetto all'ossidazione (Gomez-Rico et al., 2006; Gucci e Servili, 2006; Motilva et al., 2000; 2002; Patumi et al., 1999; Tovar et al., 2002). Gucci e Servili (2006) riportano che, analizzando oli estratti da olive allo stesso grado di maturazione (quindi non influenzati dall'effetto che la disponibilità idrica ha sull'andamento della maturazione), la concentrazione in composti fenolici nell'olio diminuisce in modo lineare al diminuire dello stress idrico. Dal punto di vista organolettico, l'irrigazione diminuisce la sensazione di amaro dell'olio (Berenguer et al., 2006; Patumi et al., 1999; Tovar et al., 2002). L'aumento della concentrazione di composti fenolici a bassi livelli di irrigazione si verifica indipendentemente dalla strategia di irrigazione in deficit. Ulteriori informazioni sull'irrigazione "qualitativa" dell'olivo sono riportati in Gucci e Servili (2006).

Prospettive. Vi è ampia evidenza sperimentale sull'utilità dell'irrigazione in deficit in olivicoltura ed è attualmente possibile sviluppare protocolli affidabili.

Per le varietà su cui è stata condotta un'adeguata sperimentazione i protocolli sono già disponibili, e tra queste ricordiamo le cvv. Arbequina, Cornicabra, Leccino, Manzanillo, Picual, e Kalamata. In molti casi e, indipendentemente dalle strategie di irrigazione in deficit, il risparmio idrico conseguibile in una stagione irrigua si attesta intorno al 50% del fabbisogno pieno. Rimane, invece, ancora incerto quale sia la migliore strategia irrigua di deficit idrico per l'oliveto. Ad esempio, non sono state riportate differenze significative nella produzione di olio in oliveti irrigati con RDI o SDI nell'arco di un triennio (Moriana et al., 2003).

L'adozione di strategie di irrigazione in deficit impone il monitoraggio dello stato idrico dell'albero. Il metodo attualmente più affidabile è la misura del potenziale idrico fogliare o del fusto mediante camera a pressione. In entrambi i casi le misure sono discontinue e richiedono tempo e manodopera. Una tecnica promettente per l'individuazione precoce di stati di stress in giovani olivi prevede l'uso di dendrometri (Moriana e Fereres, 2002), che misurano in continuo le variazioni di diametro del fusto. Tuttavia, la variabilità di queste misure e la gestione degli strumenti richiedono personale specializzato per cui questa tecnologia non è ancora sufficientemente matura per l'applicazione nelle aziende agricole. Lo sviluppo di strumenti e sensori per la programmazione irrigua su base scientifica è di fondamentale importanza per la regolazione in campo dell'irrigazione in deficit. Un'altra importante linea di ricerca è lo sviluppo di modelli ecofisiologici per la stima dei consumi idrici dell'albero e dell'evaporazione dal suolo in funzione della tecnica irrigua.

In definitiva, la gestione dell'irrigazione in deficit consente dei risparmi, riduce l'impatto ambientale e può migliorare la qualità dell'olio sia negli oliveti tradizionali che nei moderni impianti intensivi.

IMPIEGO DI ACQUE SALINE

Direttamente legato alla diffusione dell'irrigazione dell'olivo e alla crescente domanda di acque per usi civili e industriali è l'impiego di acque di bassa qualità. La salinità dei suoli negli ambienti di coltivazione dell'olivo, contraddistinti da elevata evaporazione e scarsità di acqua, può insorgere o aggravarsi con l'irrigazione in deficit a causa della ridotta lisciviazione dei sali nel profilo del suolo. L'olivo è una specie mediamente resistente alla salinità. I limiti di tolleranza dipendono anche dai processi presi in esame. La crescita vegetativa dell'olivo si riduce del 10% a concentrazioni dell'acqua di irrigazione di 4.6 dS m^{-1} e viene completamente inibita a concentrazioni della soluzione di 200

RESISTENZA	VARIETÀ	PAESE	FONTE
Elevata	Megaritiki, Lianolia Kerkiras	Grecia	Therios e Misopolinos (1988)
	Kalamata		Chartzoulakis et al. (2002)
	Frantoio	Italia	Gucci e Tattini (1997)
	Arbequina, Picual	Spagna	Benlloch et al. (1994)
	Lechin de Sevilla, Canivano		Marin et al. (1995)
	Chemlali	Tunisia	Bouaziz (1990)
Media	Amphissis, Koroneiki, Mastoidis	Grecia	Therios e Misopolinos (1988)
	Valanolia, Adamitini		Chartzoulakis et al. (2002)
	Maurino, Coratina, Moraiolo	Italia	Gucci e Tattini (1997)
	Nabali Mohassan	Giordania	Al-Absi et al. (2003)
Bassa	Chalkidikis, Agouromaiki	Grecia	Therios e Misopolinos (1988)
	Leccino	Italia	Gucci e Tattini (1997)
	Pajarero, Cobrancosa	Spagna	Benlloch et al. (1994); Marin et al. (1995)

Tab. 1 *Resistenza relativa di varietà di olivo alla salinità*

mM di NaCl (Gucci e Tattini, 1997). Concentrazioni di NaCl nell'acqua di irrigazione di 3-4 dS m⁻¹ non determinano perdite di olio durante la fase di entrata in produzione in varietà resistenti, mentre la produzione di frutti appare più sensibile di quella di olio. Generalmente, si considera che valori di conducibilità dell'acqua di irrigazione (EC_w) inferiori a 2.5 dS m⁻¹ non costituiscano alcun problema per l'olivo e tale valore diventa maggiore se la quantità di NaCl è piccola rispetto ad altri sali. Al di sopra di 5.5 dS m⁻¹ di conducibilità elettrica dell'acqua di irrigazione i danni sia produttivi che di sviluppo vegetativo sono gravi (vedi Gucci e Tattini, 1997 per una rassegna completa delle risposte fisiologiche alla salinità). In questo paragrafo si prendono in esame solo i due principali aspetti applicativi che derivano dalla recente attività di ricerca sulla coltivazione dell'olivo in ambienti salini: le differenze di resistenza tra le varietà, e il rapporto di selettività K⁺/Na⁺ per la discriminazione di genotipi resistenti.

Varietà. Il genotipo influisce molto sulla resistenza alla salinità dell'olivo per cui la scelta varietale è di estrema importanza per il successo dell'oliveto in condizioni di salinità. La ricerca degli ultimi anni ha approfondito le conoscenze sui meccanismi di resistenza varietale e oggi si dispone di informazioni dettagliate per molte varietà. Tra le cultivar italiane, la Frantoio è molto resistente anche se sono necessarie ulteriori prove in campo per stabilire le prestazioni produttive in condizioni di salinità. In posizione intermedia nella scala

di resistenza vi sono le cvv. Moraiolo, Coratina e Maurino, mentre la Leccino è sensibile e non adatta per oliveti gestiti con acque saline (tab. 1). Per quanto riguarda le varietà estere le cvv. Arbequina, Chemlali, Kalamata e Picual sono considerate resistenti (tab. 1) e, quindi, consigliabili per piantagioni in ambienti a rischio di salinità. La Koroneiki e la Manzanillo, entrambe di media tolleranza, hanno mostrato un'elevata produttività in campo anche in suoli salini (Gucci e Tattini, 1997).

La resistenza alla salinità delle varietà di olivo è legata a meccanismi di esclusione e ritenzione di Na^+ e Cl^- a livello dell'apparato radicale (Gucci e Tattini, 1997). In altre specie lo scambio K-Na avviene per azione di proteine di membrana a livello del plasmalemma, che regola il trasporto di Na^+ verso i tessuti del germoglio prevenendo il trasporto apoplastico. L'assorbimento del Na^+ avviene mediante canali K^+ e altri non selettivi per i diversi ioni, mentre l'efflusso Na^+ è mediato da antiporti Na^+/H^+ (Gucci e Tattini, 1997). Sebbene questi trasportatori non siano stati identificati nell'olivo è probabile che le differenze genotipiche nell'assorbimento e accumulo di sali riflettano differenze nell'espressione e contenuto delle proteine di questi sistemi di trasporto.

Rapporto di selettività. Uno degli obiettivi della recente ricerca sulla salinità è stato di mettere a punto degli indici utili per la selezione di genotipi resistenti in programmi di miglioramento genetico. Un ottimo indicatore dovrebbe essere sensibile, stabile, affidabile, rapido e di basso costo, e ovviamente non esiste. Tuttavia, si è visto che sia il rapporto di selettività ($S_{\text{K}^+,\text{Na}^+}$) per il trasporto che quello per l'assorbimento di tali ioni sono indicatori sensibili della diversa abilità di regolare l'ingresso di sali nel germoglio (Gucci e Tattini, 1997). Entrambi questi indici si basano sul fatto che, in piante esposte alla salinità, si instaura un gradiente decrescente dalla radice verso il germoglio nel contenuto di Na^+ (tab. 2) e Cl^- . Il contenuto di Na^+ nel fusto e nelle foglie è minore in varietà resistenti (e.g. Frantoio) che in varietà sensibili (e.g. Leccino) alla salinità, mentre i valori di Na^+ sono simili nelle radici di entrambe le varietà (tab. 2). Di conseguenza, il rapporto di selettività ($S_{\text{K}^+,\text{Na}^+}$) per il trasporto è più elevato nella cv. Frantoio che nella Leccino e i valori sono più elevati nel germoglio che nella radice di entrambe le cultivar. Si noti che il gradiente K^+/Na^+ tra la radice e le giovani foglie non è mantenuto ad alti livelli di salinità (120 mM NaCl) nella cv. Leccino (tab. 2). Pertanto, il rapporto di selettività ($S_{\text{K}^+,\text{Na}^+}$) può essere utilizzato per discriminare genotipi resistenti da altri sensibili alla salinità, mentre è poco efficace nell'identificare l'insorgere dello stress. Altri indicatori, quali il rapporto tra i contenuti di K^+ e Na^+ , il contenuto fogliare di Na^+ , di K^+ o di N, il potenziale idrico fogliare o

NaCl (mM)	CULTIVAR	FOGLIA APICALE		FOGLIA BASALE		FUSTO		RADICE	
		So- dium (mM)	K ⁺ / Na ⁺ ratio						
30	Frantoio	127	100	197	75	257	50	430	37
	Leccino	174	62	261	46	265	32	400	34
60	Frantoio	192	60	300	44	420	26	687	22
	Leccino	390	37	470	28	517	24	696	16
120	Frantoio	300	50	475	34	520	20	1000	16
	Leccino	640	20	651	16	648	15	824	16

Tab. 2 Concentrazione di sodio (mM sull'acqua dei tessuti) e rapporto di selettività K^+/Na^+ in diversi organi di piante di olivo esposte a 30, 60, e 120 mM di NaCl in coltura aeroponica per quattro settimane. I valori sono medie di quattro repliche. I valori di K^+/Na^+ sono espressi come percentuali del massimo rapporto di selettività K^+/Na^+ (Frantoio, 30 mM NaCl). Fonte: Gucci e Tattini, 1997)

il potenziale osmotico non hanno dato buoni risultati per la discriminazione di varietà con diverso grado di resistenza, ma questi ultimi due sono risultati utili per individuare l'esposizione e adattamento a condizioni saline (Gucci e Tattini, 1997).

Come nella gran parte delle glicofite, la restrizione del trasporto del Na^+ e/o Cl^- dalla radice al germoglio, è un carattere ereditabile, per cui la selezione e il miglioramento di genotipi escludenti Na^+ e Cl^- può consentire di selezionare genotipi più resistenti degli attuali. Inoltre, la caratterizzazione dei geni che contribuiscono alla resistenza alla salinità può condurre all'identificazione di marcatori biochimici e molecolari specifici.

UTILIZZAZIONE DEL BORO NELLA CONCIMAZIONE

Il boro è diventato un elemento essenziale nella concimazione dell'olivo e tale pratica è divenuta abbastanza comune, seppure non sempre a ragione, negli oliveti italiani. La diffusione della concimazione a base di boro, di solito somministrato prima della fioritura, nasce da studi recenti di fisiologia che hanno mostrato l'efficacia di questo elemento su vari aspetti di biologia riproduttiva anche in assenza di sintomi di carenza.

Già negli anni Sessanta, ricercatori americani evidenziarono un elevato fabbisogno di boro per l'olivo (Hartmann et al., 1966 citato in Delgado et al., 1994). Successivamente, diversi autori segnalavano effetti benefici del boro sulla formazione delle gemme a fiore e lo sviluppo del tubetto pollinico, così come l'accumulo di boro nelle gemme a fiore all'antesi e

l'aumento della produzione in risposta a concimazioni fogliari a base di boro in diverse specie da frutto. Più di recente Delgado et al., (1994) hanno mostrato notevoli diminuzioni nel contenuto di boro nelle giovani foglie di olivo (ma non in foglie mature) in coincidenza dell'antesi e un aumento del contenuto di boro nei fiori e frutti di olivo in seguito a trattamenti fogliari.

La traslocazione del boro dalle foglie di olivo avviene per via floematica durante lo sviluppo delle infiorescenze e la rapida crescita del frutto, come è stato dimostrato in esperimenti in cui del boro marcato scompariva dalle foglie trattate per apparire in organi non trattati, quali piccioli, infiorescenze, peduncoli e frutti (Perica et al., 2001). La rimobilizzazione del boro dai tessuti della foglia viene facilitata dalle elevate concentrazioni di mannitolo nella linfa floematica mediante la formazione di complessi mannitolo-boro (Hu et al., 1997). Il metabolismo dei carboidrati solubili, e del mannitolo in particolare, viene alterato da variazioni nella concentrazione di boro. Ad esempio, trattamenti col boro su foglie di diversa età determinano un aumento della concentrazione di mannitolo a scapito di quella del glucosio nei piccioli delle foglie (Perica et al., 2001), mentre carenza di boro produce degli aumenti nella concentrazione di mannitolo nelle foglie e nell'esportazione del carbonio per via floematica. Se la base biochimica per la rimobilizzazione del boro facilitata dal mannitolo è stata chiarita (Hu et al., 1997), non altrettanto si può dire per il ruolo che il boro e il mannitolo rivestono nei processi riproduttivi dell'olivo.

BIBLIOGRAFIA

- AL-ABSI K., QRUNFLEH M., ABU-SHARAR T. (2003): *Mechanism of salt tolerance of two olive (Olea europaea L.) cultivars as related to electrolyte concentration and toxicity*, «Acta Hort.», 618, pp. 281-290.
- ALEGRE S., MARSAL J., MATA M., ARBONES A., GIRONA J., TOVAR M.J. (2002): *Regulated deficit irrigation in olive trees (Olea europaea L. cv. Arbequina) for oil production*, «Acta Hort.», 586, pp. 259-62.
- ANGELOPOULOS K., DICHIO B., XILOYANNIS C. (1996): *Inhibition of photosynthesis in olive trees (Olea europaea L.) during water stress and rewatering*, «J. Exper. Bot.», 47, pp. 1093-1100.
- BEEDE, R. H., GOLDHAMER D.A. (1994): *Olive irrigation management*, in *Olive Production Manual*, a cura di Ferguson L., Sibbett G.S., Martin G.C., University of California, Division of Agricultural and Natural Resource, Oakland, CA. Publication 3353, pp. 61-68.

- BENLLOCH M., ARBOLEDA F., BARRANCO D., FERNANDEZ-ESCOBAR R. (1991): *Response of young olive trees to sodium and boron excess irrigation water*, «HortSci.», 26, pp. 867-870.
- BERENQUER M.J., VOSSEN P.M., GRATTAN S.R., CONNELL J.H., POLITO V.S. (2006): *Tree irrigation level for optimum chemical and sensory properties of olive oil*, «HortSci.», 41, pp. 427-432.
- BOUAZIZ A. (1990): *Behaviour of some olive varieties irrigated with brackish water and grown intensively in the central part of Tunisia*, «Acta Hort.», 286, pp. 247-250.
- CHARTZOULAKIS K., LOUPASSAKI M., BERTAKI M., ANDROULAKIS I. (2002): *Effects of salinity on growth, ion content and CO₂ assimilation rate of six olive cultivars*, «Sci. Hort.», 96, pp. 235-247.
- D'AURIA R. (2004): *La nuova campagna olivicola secondo ISMEA*, www.phytomagazine.com 25 (28 gennaio 2004).
- DELGADO A., BENLLOCH M., FERNANDEZ-ESCOBAR R. (1994): *Mobilization of boron in olive trees during flowering and fruit development*, «HortSci.», 29, pp. 616-618.
- FERNANDEZ J.E., DIAZ-ESPEJO A., INFANTE J. M., DURAN P., PALOMO M.J., CHAMORRO V., GIRON I.F., VILLAGARCIA L. (2006): *Water relations and gas exchange in olive trees under regulated deficit irrigation and partial root zone drying*, «Plant Soil», 284, pp. 273-91.
- GIRONA J., LUNA M., ARBONÉS A., MATA M., RUFAT J., MARSAL J. (2002): *Young olive trees responses (Olea europaea L. cv. Arbequina) to different water supplies. Water function determination*, «Acta Hort.», 586, pp. 277-80.
- GOLDHAMER D.A. (1999): *Regulated deficit irrigation for California canning olives*, «Acta Hort.», 474, pp. 369-72.
- GOLDHAMER D.A., BEEDE, R. H. (2005): *Effects of water stress on olive tree performance*, in *Olive Production manual*, 2nd edition, a cura di Sibbett G.S., Ferguson L., University of California, Division of Agricultural and Natural Resource, Oakland, CA. Publication 3353, pp. 71-74.
- GOLDHAMER, D.A., DUNAI J., FERGUSON L.F. (1994): *Irrigation requirements of olive trees and responses to sustained deficit irrigation*, «Acta Hort.», 356, pp. 172-175.
- GOMEZ-RICO A., SALVADOR M.D., LA GRECA M., FREGAPANE G. (2006): *Phenolic and volatile compounds of extra virgin olive oil (Olea europaea L. Cv. Cornicabra) with regard to fruit ripening and irrigation management*, «J. Agric. Food Chem.», 54, pp. 7130-7136.
- GOMEZ-RICO A., SALVADOR M.D., MORIANA A., PEREZ D., OLMEDILLA N., RIBAS F., FREGAPANE G. (2007): *Influence of different irrigation strategies in a traditional Cornicabra cv. olive orchard on virgin olive oil composition and quality*, «Food. Chem.», 100, pp. 568-578.
- GUCCI R. (2003): *Ecofisiologia*, in *Olea. Trattato di olivicoltura*, a cura di P. Fiorino, Edagricole, Bologna, pp. 77-89.
- GUCCI R., LODOLINI E.M., RAPOPORT H.F. (2007): *Productivity of olive trees with different water status and crop load*, «J. Hort. Sci Biotech.», 82, pp. 648-656.
- GUCCI R., SERVILI M. (2006): *L'irrigazione in deficit controllato in olivicoltura*, «I Georgofili. Quaderni», iv, 2005, pp. 119-143.
- GUCCI R., TATTINI M. (1997): *Salinity tolerance in olive*, «Hort. Rev.», 21, pp. 177-214.
- HU H., PENN S. G., LEBRILLA C. B., BROWN P.H. (1997): *Isolation and characterization of soluble boron complexes in higher plants*, «Plant Physiol.», 113, pp. 649-655.
- LO GULLO, M.A., SALLEO S. (1988): *Different strategies of drought resistance in three Mediterranean sclerophyllous trees growing in the same environmental conditions*, «New Phytol.», 108, pp. 267-276.

- LOPEZ-ESCUADERO F.J., BLANCO-LOPEZ M.A. (2005): *Effects of drip irrigation on population of Verticillium dahliae in olive orchards*, «J. Phytopathology», 153, pp. 238-9.
- LOVEYS B.R., DRY P.R., STOLL M., MCCARTHY M.G. (2000): *Using plant physiology to improve water use efficiency of horticultural crops*, «Acta Hort.», 537, pp. 187-197.
- MARIN L., BENLLOCH M., FERNANDEZ-ESCOBAR R. (1995): *Screening of olive cultivars for salt tolerance*, «Sci. Hort.», 64, pp. 113-116.
- MORIANA A., FERERES E. (2002): *Plant indicators for scheduling irrigation of young olive trees*, «Irrig. Sci.», 21, pp. 83-90.
- MORIANA A., ORGAZ F., PASTOR M., FERERES E. (2003): *Yield responses of a mature olive orchard to water deficits*, «J. Am. Soc. Hort. Sci.», 128, pp. 425-31.
- MOTILVA M.J., TOVAR M. J., ROMERO M. P., ALEGRE S., GIRONA J. (2000): *Influence of regulated deficit irrigation strategies applied to olive trees (Arbequina cultivar) on oil yield and oil composition during the fruit ripening period*, «J. Sci. Food Agric.», 80, pp. 2037-2043.
- MOTILVA M.J., TOVAR M. J., ROMERO M. P., ALEGRE S., GIRONA J. (2002): *Evolution of oil accumulation and polyphenol content in fruits of olive tree (Olea europaea L.) related to different irrigation strategies*, «Acta Hort.», 586, pp. 345-8.
- PATUMI, M., D'ANDRIA, R., FONTANAZZA, G., MORELLI, G., GIORIO, P., SORRENTINO, G. (1999): *Yield and oil quality of intensively trained trees of three cultivars of olive (Olea europaea L.) under different irrigation regimes*, «J. Hort. Sci. Biotech.», 74, pp. 729-737.
- PERICA S., BELLALOUÏ N., GREVE C., HU H., BROWN P.H. (2001): *Boron transport and soluble carbohydrate concentrations in olive*, «J. Amer. Soc. Hort. Sci.», 126, pp. 291-296.
- RAPOPORT H.F., COSTAGLI G., GUCCI R. (2004): *The effect of water deficit during early fruit development on olive fruit morphogenesis*, «J. Am. Soc. Hort. Sci.», 129, pp. 121-127.
- TERRAL J.F., DURAND A. (2006): *Bio-archaeological evidence of olive tree (Olea europaea L.) irrigation during the Middle Ages in southern France and North Eastern Spain*, «J. Archaeological Sci.», 33, pp. 718-24.
- THERIOS I.N., MISOPOLINOS N.D. (1988): *Genotypic responses to sodium chloride salinity of four major olive cultivars (Olea europaea L.)*, «Plant Soil», 106, pp. 105-111.
- TOVAR M. J., ROMERO M. P., ALEGRE S., GIRONA J., MOTILVA M.J. (2002): *Composition and organoleptic characteristics of oil from Arbequina olive (Olea europaea L.) under deficit irrigation*, «J. Sci. Food Agric.», 82, pp. 1755-1763.
- XILOYANNIS C., GUCCI R., DICHIO B. (2003): *Irrigazione*, in *Olea. Trattato di olivicoltura*, a cura di P. Fiorino, Edagricole, Bologna, pp. 365-389.

SITI WEB CONSULTATI

www.portalisiknowledge.com

Finito di stampare in Firenze
presso la tipografia editrice Polistampa
nel luglio 2008

