THE NOVIXGEN PROJECT: MULTIDISCIPLINARY STRATEGIES FOR SELECTING GENETIC MATERIAL RESILIENT TO *XYLELLA FASTIDIOSA* AND FOR STUDYING HOST–PATHOGEN INTERACTIONS IN OLIVE AND GRAPEVINE

Authors: Iuliano A. [1, 2], Hussain M. [1], Fanizzi F. P. [7], Vinale F. [5], Chiaiese P. [6], Di Sansebastiano G. P. [7], Fabiani A. [3], Puletti N. [4], C. Cavallo [9], Scala V. [10], Pilotti M. [10], Montemurro C. [2], Carbone F. [1], Morgante M. [11], Chitarra W. [8], Nerva L. [8], Bergamini C. [8], Santilli E.*[1]

*Email: elena.santilli@crea.gov.it

Affiliations:

[1] Council for Agricultural Research and Economics, Research Centre for Olive, Fruit and Citrus Crops (CREA-OFA), Rende, Cosenza, Italy
[2] Department of Soil, Plant and Food Sciences (Di.S.S.P.A.), University of Bari Aldo Moro, Bari, Italy
[3] Council for Agricultural Research and Economics, Research Centre for Agriculture and Environment (CREA-AA), Florence, Italy
[4] Council for Agricultural Research and Economics, Research Centre for Forestry and Wood (CREA-FL), Arezzo, Italy
[5] Department of Veterinary Medicine and Animal Productions, University of Naples Federico II, Naples, Italy;
[6] Department of Agriculture Sciences, University of Naples Federico II, Naples, Italy;
[7] Department of Biological and Environmental Sciences and Technology (DiSTeBA), Lecce, University of Salento, Italy
[8] CREA – Research Centre for Viticulture and Enology, Conegliano (TV), Italy
[9] Apulia Region – Department of Agriculture, Rural and Environmental Development – Phytosanitary Observatory Section, Bari, Italy
[10] Council for Agricultural Research and Economics, Research Center for Plant Protection and Certification (CREA-DC), Rome, Italy
[11] Institute of Applied Genomics (IGA), Udine, Italy

The NOVIXGEN project aims to limit the spread of *Xylella fastidiosa* by coordinating national Research Units to study host plant tolerance and resistance mechanisms. A multidisciplinary approach combines field monitoring, genetic characterization, and molecular analyses. GIS-based mapping of asymptomatic genotypes in infected areas is followed by morphological, genetic, and phytosanitary characterizations. In three infected sub-zones (Leuca, Gallipoli, Otranto), 200 potentially tolerant/resistant olive genotypes were identified, including 70 asymptomatic spontaneous crosses and 'Cellina di Nardò' specimens with less symptoms. The study also includes a segregating cv. Leccino population (84 genotypes) and 27 'Leccino' clones. Studying the soil microbiome and endophytes aims to identify microbial communities involved in plant defense.
Multi-omics platforms investigate host-pathogen interactions, focusing on lipid metabolism, oxylipin genes, and transcriptome modifications in olive cultivars with varying susceptibility ('Leccino', 'Cellina di Nardò', 'Ogliarola salentina'). Parallel anatomy and metabolomics studies analyze xylem tissue changes, lignification, and secondary metabolite accumulation to correlate with tolerance levels. The project develops advanced genomic tools (resequencing, spatial transcriptomics, RNA-targeted sequencing) to identify candidate resistance genes. Investigations extended to grapevine include microbiome studies and artificial inoculations to select *Xylella*-tolerant/resistant Italian varieties; two showed less infection responses. An in vivo microbial consortium was selected that significantly reduces symptoms, highlighting biocontrol and SynComs potential. Furthermore, the first genotypes carrying the PdR1 resistance gene were obtained.
NOVIXGEN will continue to work on developing genetic breeding programs for the olive tree and grapevine, which will involve AETs to protect native varieties. All selected material will be planted at the experimental CREA company “Podere Sant'Anna” in Monteroni di Lecce (infected area) to

establish a strategic genetic basis for the subsequent phases of the project. This national facility will serve as CREA's center of excellence for Xylella research, accessible to the entire national and international scientific community.

This research was funded by NOVIXGEN project D.M. MASAF n. D.M. N.0664890 del 29/12/2022 (CUP: C83C22001280006)

IL PROGETTO NOVIXGEN: STRATEGIE MULTIDISCIPLINARI PER LA SELEZIONE DI MATERIALE GENETICO RESILIENTE A *XYLELLA FASTIDIOSA* E PER LO STUDIO DELLE INTERAZIONI OSPITE–PATOGENO IN OLIVO E VITE

Autori: Iuliano A. (1,2), Hussain M. (1), Fanizzi F.P. (7), Vinale F. (5), Chiaiese P. (6), Di Sansebastiano G.P. (7), Fabiani A. (3), Puletti N. (4), Cavallo C. (9), Scala V. (10), Pilotti M. (10), Montemurro C. (2), Carbone F. (1), Morgante M. (11), Chitarra W. (8), Nerva L. (8), Bergamini C. (8), Santilli E.* (1)
*Email: elena.santilli@crea.gov.it

Affiliazioni

- Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria, Centro di Ricerca Olivicoltura, Frutticoltura e Agrumicoltura (CREA-OFA), Rende (CS), Italia
- Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti (Di.S.S.P.A.), Università degli Studi di Bari Aldo Moro, Bari, Italia
- CREA – Centro di Ricerca Agricoltura e Ambiente (CREA-AA), Firenze, Italia
- CREA – Centro di Ricerca Foreste e Legno (CREA-FL), Arezzo, Italia
- Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italia
- Dipartimento di Scienze Agrarie, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italia
- Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche e Ambientali (DiSTeBA), Università del Salento, Lecce, Italia
- CREA – Centro di Ricerca Viticoltura ed Enologia, Conegliano (TV), Italia
- Regione Puglia – Dipartimento Agricoltura, Sviluppo Rurale e Ambientale – Sezione Osservatorio Fitosanitario, Bari, Italia
- CREA – Centro di Ricerca Difesa e Certificazione (CREA-DC), Roma, Italia
- Institute of Applied Genomics (IGA), Udine, Italia

Contenuto dello studio

Il progetto NOVIXGEN ha l'obiettivo di limitare la diffusione di *Xylella fastidiosa* coordinando diverse unità di ricerca nazionali per studiare i meccanismi di tolleranza e resistenza delle piante ospiti. L'approccio multidisciplinare integra monitoraggi in campo, caratterizzazione genetica e analisi molecolari.
La mappatura GIS di genotipi asintomatici in aree infette è seguita da caratterizzazioni morfologiche, genetiche e fitosanitarie. In tre sottoaree infette (Leuca, Gallipoli, Otranto)

sono stati identificati 200 genotipi di olivo potenzialmente tolleranti/resistenti, inclusi 70 incroci spontanei asintomatici e individui di 'Cellina di Nardò' con sintomatologia ridotta.
Lo studio include inoltre una popolazione segregante di 'Leccino' (84 genotipi) e 27 cloni della stessa cultivar.
Un ulteriore asse di ricerca riguarda lo studio del microbioma del suolo e degli endofiti, con l'obiettivo di identificare comunità microbiche coinvolte nei meccanismi di difesa della pianta.

Approccio multi-omico

Piattaforme multi-omiche vengono utilizzate per studiare le interazioni ospite–patogeno, con particolare attenzione al metabolismo lipidico, ai geni degli ossilipini e alle modificazioni trascrittomiche in cultivar con diversa suscettibilità ('Leccino', 'Cellina di Nardò', 'Ogliarola salentina').
Studi paralleli di anatomia e metabolomica analizzano le modifiche dello xilema, la lignificazione e l'accumulo di metaboliti secondari, al fine di correlare tali caratteristiche con i livelli di tolleranza.
Il progetto sviluppa inoltre strumenti genomici avanzati (resequenziamento, trascrittomica spaziale, RNA-targeted sequencing) per identificare geni candidati alla resistenza.

Estensione alla vite e biocontrollo

Le indagini sulla vite includono studi sul microbioma e inoculazioni artificiali per selezionare varietà italiane tolleranti/resistenti. Due varietà hanno mostrato una minore risposta all'infezione.
È stato inoltre selezionato un consorzio microbico *in vivo* in grado di ridurre significativamente i sintomi, evidenziando il potenziale dei biocontrolli e dei consorzi sintetici (SynComs).
Inoltre, sono stati ottenuti i primi genotipi portatori del gene di resistenza PdR1.

Prospettive del progetto

NOVIXGEN continuerà a sviluppare programmi di miglioramento genetico per olivo e vite, includendo AETs per la tutela delle varietà autoctone.
Tutto il materiale selezionato sarà piantato presso l'azienda sperimentale CREA "Podere Sant'Anna" a Monteroni di Lecce (area infetta), per costituire una base genetica strategica per le fasi successive del progetto.
Questa struttura nazionale fungerà da centro di eccellenza CREA per la ricerca su *Xylella*, accessibile alla comunità scientifica nazionale e internazionale.

Da qui:

Il **progetto NOVIXGEN** è un grande lavoro di ricerca fatto da diversi enti italiani per affrontare un problema serio: la diffusione del batterio **Xylella fastidiosa**, che colpisce soprattutto **ulivi e viti**.

Obiettivo del progetto

Lo scopo principale è:
trovare piante più **resistenti o tolleranti** alla Xylella
capire come piante, batterio e ambiente interagiscono tra loro
sviluppare nuove strategie per proteggere le coltivazioni

Come lavorano i ricercatori

Il progetto unisce molte competenze diverse (biologia, genetica, agronomia, microbiologia) e usa vari metodi:

- osservazioni sul campo
- analisi del DNA delle piante
- studi sui microrganismi del suolo
- analisi delle foglie e dei tessuti vegetali
- modelli informatici e mappe (GIS)

Cosa hanno scoperto negli ulivi

Nei territori del Salento (Leuca, Gallipoli, Otranto) hanno trovato:

- circa **200 ulivi** che sembrano resistere meglio alla Xylella
- alcuni sono varietà conosciute (come *Cellina di Nardò*)
- altri sono **incroci spontanei** o piante non ancora ben classificate

Hanno anche studiato:

- la varietà **Leccino**, già nota per essere più resistente
- cloni e piante geneticamente simili per confrontarle meglio

Cosa fanno a livello genetico

I ricercatori analizzano:

- il DNA delle piante
- i geni coinvolti nella difesa
- come cambiano i geni quando la pianta è infettata

In questo modo cercano di capire **quali geni aiutano la pianta a difendersi**.

Il ruolo dei microbi

Un altro aspetto importante è lo studio dei **microrganismi**:

- batteri e funghi del suolo
- microbi che vivono dentro la pianta

Alcuni di questi potrebbero aiutare la pianta a resistere alla malattia.

Cosa si studia dentro la pianta

I ricercatori analizzano anche:

- come cambia lo **xilema** (i "tubi" della pianta)
- le sostanze chimiche di difesa
- i cambiamenti nel metabolismo (cioè il funzionamento interno della pianta)

E la vite?

Il progetto non riguarda solo gli ulivi, ma anche la **vite**:

- si studiano varietà di vite resistenti
- si analizzano microbi benefici
- si testano batteri che possono ridurre i sintomi della malattia

Risultati importanti

- alcune varietà di vite sembrano più tolleranti
- sono stati trovati **consorzi di batteri utili** che aiutano le piante
- sono stati identificati anche **geni di resistenza** importanti

Cosa succederà in futuro

Tutte le piante selezionate verranno coltivate in un campo sperimentale in Puglia, così da:

- continuare gli studi in condizioni reali
- creare una "banca genetica" di piante resistenti
- aiutare il futuro dell'olivicoltura e viticoltura

In conclusione

Il progetto NOVIXGEN è un grande lavoro che cerca di capire la Xylella da molti punti di vista (geni, microbi, chimica e ambiente) per trovare soluzioni sostenibili.