Acta Italus Hortus

I Convegno Nazionale dell'Olivo e dell'Olio

Portici (NA), 1-2 ottobre 2009
Facoltà di Agraria, Reggia di Portici

A cura di
Claudio Di Vaio

Pubblicata dalla Società di Ortoflorofrutticoltura Italiana (SOI)

Numero 1 2011

ACTA - ITALUS HORTUS

Pubblicazione della Società di Ortoflorofrutticoltura Italiana (SOI)

Politica editoriale. *Acta - Italus Hortus* è una collana dedicata agli Atti di Convegni organizzati o patrocinati dalla Società di Ortoflorofrutticoltura Italiana (SOI). La pubblicazione degli articoli è sotto la responsabilità dell'Organizzatore del convegno e/o del curatore del volume. I contributi sono di orma in italiano, con un ampio abstract e didascalie di tabelle e figure in lingua inglese. I lavori pubblicati sono soggetti a revisione da parte del Comitato Scientifico ed Editoriale del Convegno prima della loro accettazione definitiva per la stampa.

Aims and Scope Acta - Italus Hortus publishes Proceedings of Conferences organized under the aegis of Italian Society for Horticultural Sciences (SOI). Articles are reviewed by the Scientific Committee of the Conference before final acceptance. The publication of articles is under the responsibility of the Convenor and / or of the Editor of the Conference Proceedings. All contributions appear in Italian with an extended summary, captions and legends in English.

Sintesi della procedura per la pubblicazione di Atti di convegno su *Acta - Italus Hortus*

La richiesta *di* pubblicazione Atti di convegno su *Acta - Italus Hortus* va inviata al Direttore Responsabile e al Direttore Scientifico e deve includere l'elenco dei componenti del Comitato Scientifico ed editoriale del Convegno e l'indicazione del Curatore degli Atti. La richiesta viene esaminata dal Comitato Scientifico-Editoriale di *Italus Hortus*, ed accettata sulla base delle informazioni fornite dal Comitato Organizzatore del Convegno e dell'interesse per i soci SOI per la tematica proposta.

Il Comitato Organizzatore del Convegno si impegna a coprire il costo della stampa del numero di *Acta - Italus Hortus e a* fornire alla Segreteria Editoriale i testi e le figure in formato elettronico, redatti secondo le norme editoriali riportate in terza di copertina e sul sito web della SOI (www.soihs.it). Al Curatore degli Atti saranno inviate le bozze tipografiche per la correzione.

Direttore Responsabile / *Managing Editor:* Elvio Bellini,*Università di Firenze*

Direttore Scientifico / *Editor:* Massimo Tagliavini, *Libera Università di Bolzano*

Segreteria Editoriale / *Secretary:* Francesco Baroncini, *Società di Ortoflorofrutticoltura Italiana*

Editore: Società di Ortoflorofrutticoltura Italiana (SOI), Firenze

Direzione e Redazione: Viale delle Idee, 30 - 50019 Sesto Fiorentino (FI); tel. 055.4574067; fax 055.4574071;

e-mail: soifi@unifi.it; sito web: http://www.soihs.it

Stampa: F&P Parretti Grafiche

Pubblicazione registrata presso il tribunale di Firenze al n. 4609 del 1 agosto 1996

ISSN: 1127-3496

ISBN: 978-88-905628-0-8

© 2011 by SOI - Firenze

Finito di stampare nel mese di Gennaio 2011

Atti del

I Convegno Nazionale dell'Olivo e dell'Olio

Portici (NA), 1-2 ottobre 2009
Facoltà di Agraria, Reggia di Portici

A cura di

Claudio Di Vaio

I Convegno Nazionale dell'Olivo e dell'Olio

Portici (NA), 1-2 ottobre 2009

CONVENERS

Claudio Di Vaio Università degli Studi di Napoli *Federico II*
Raffaele Sacchi Università degli Studi di Napoli *Federico II*

COMITATO SCIENTIFICO

Tiziano Caruso Università di Palermo
Claudio Di Vaio Università di Napoli *Federico II*
Marcello Forlani Università di Napoli *Federico II*
Angelo Godini Università di Bari
Riccardo Gucci Università di Pisa
Paolo Inglese Università di Palermo
Filiberto Loreti Università di Pisa
Enzo Perri CRA - OLI, Rende
Raffaele Sacchi Università di Napoli *Federico II*
Vito Savino Università di Bari
Maurizio Servili Università di Perugia
Agostino Tombesi Università di Perugia
Cristos Xiloyannis Università della Basilicata
Astolfo Zoina Università di Napoli *Federico II*

COMITATO ORGANIZZATORE E SEGRETERIA SCIENTIFICA

Luciano D'Aponte	Regione Campania
Francesco Baroncini	SOI Firenze
Sabrina Nocerino	Università degli Studi di Napoli *Federico II*
Antonello Paduano	Università degli Studi di Napoli *Federico II*
Carlo Sardo	Regione Campania
Grazia Stanzione	Regione Campania

Con il patrocinio ed il contributo di

Società di Ortoflorofrutticoltura Italiana

Università degli Studi di Napoli Federico II

Università degli Studi di Napoli Federico II

Assessorato all'Agricoltura

Atti del I Convegno Nazionale dell'Olivo e dell'Olio

Indice/*Contents*

Prefazione Pag. 11

I Sessione: Modelli colturali e loro gestione

Comunicazioni orali

Il futuro dell'olivicoltura italiana tra riflessioni e proposte - ***The future of the Italian Oliveculture: reflections and proposals***
Godini A. Pag. 13

Meccanizzazione dell'oliveto italiano: i risultati del progetto M.A.T.E.O - ***Mechanization italian olive grove: the results of the project M.A.T.E.O.***
Sarri D. e Vieri M. " 22

Un triennio di raccolta meccanica per promuovere l'olivicoltura in Umbria - ***Three years of mechanical harvesting to improve olive culture in Umbria region***
Tombesi A., Farinelli D., Ruffolo M., Scatolini G. e Siena M. " 26

Comportamento agronomico di un impianto superintensivo di olivo in Sicilia sottoposto a irrigazione "in deficit" - ***Effects of deficit irrigation management on ecophysiological and horticultural parameters in Arbequina olive (*Olea europaea sativa *L.) trees in a super-high density orchard***
Campisi G., Caruso T., Marino G., Farina G. e Marra F.P. " 31

Le acque reflue urbane trattate: risorsa da valorizzare nella olivicoltura meridionale - ***Reclaimed municipal wastewater as resource for the irrigation of olive orchards in Southern Italy***
Xiloyannis C., Palese A.M., Masi S., Motta F. e Rifino O. " 37

Compostaggio dei sottoprodotti della filiera olivicola-olearia ed effetti della fertilizzazione degli oliveti con i compost ottenuti - ***Composting of the residual products of the olive oil chain and effects of the obtained compost, used as soil amendment, on olive groves***
Nasini L., Proietti P., Balduccini M.A., Del Buono D. e Gigliotti G. " 42

Aspetti quantitativi e qualitativi della raccolta meccanica in un giovane oliveto superintensivo - ***Mechanical harvesting in a young super high density olive orchard: quantitative and qualitative aspects***
Camposeo S., Bellomo F., d'Antonio P. e Godini A. " 47

Poster

Effetti della concimazione fogliare azotata sull'attività dell'olivo e sulla qualità dell'olio - ***Effects of nitrogen foliar fertilization on olive tree activity and oil quality***
Proietti P., Nasini L., Balduccini M.A., Famiani F. e Ilarioni L. " 51

Osservazioni sul comportamento agronomico in Sicilia di tre cultivar di olivo in un impianto superintensivo - ***Agronomic behaviour of three olive cultivar grown in a superintensive plantig system in Sicily***
Campisi G., Marino G., Marra F. P., Sansone C. e Caruso T. " 56

Periodo ottimale di raccolta e qualità dell'olio in oliveto superintensivo in Abruzzo - ***Fruit ripening and oil quality in a high-intensive olive orchard in Abruzzo (Italy)***
Tombesi S., Molfese M., Cipolletti M. e Visco T. " 62

Aspetti quantitativi e qualitativi della produzione nella cultivar da mensa "Nocellara del Belice" in rapporto all'evoluzione dello stato idrico della pianta nel corso della stagione estiva - ***Summer variation of tree water status and fruit quality in the Sicilian table olive cultivar "Nocellara del Belice" irrigated under water shortage regime***
Di Miceli C., Nicolosi P., Marra F. P. e Caruso T. " 67

Influenza della simbiosi micorrizica sulla risposta vegetativa di cinque cultivar di *Olea europaea* L.- *The influence of mychorrizae on the vegetative growth of five* Olea europaea *L. cultivars*
Tataranni G., Santilli E., Briccoli Bati C. e Dichio B. Pag. 72

Recupero di composti fenolici da materiale di potatura dell'olivo - *Recovery of phenolic compounds from the residue of the pruning of olive trees*
Andreoni N. " 76

Stima del consumo idrico in olivo tramite monitoraggio di flussi xilematici e fluttuazioni diametriche del tronco - *Evaluating water consumption in olive trees through monitoring sap flow and stem radius variation*
Giovannelli A., Traversi M.L., d'Andria R., Morelli G., Fragnito F., Lavini A., Tognetti R. e Sebastiani L. " 80

II Sessione: Germoplasma, miglioramento genetico e biotecnologie

Comunicazioni orali

Il contributo delle biotecnologie e del miglioramento genetico per l'innovazione dell'olivicoltura - *The contribution of biotechnologies and of genetic improvement for the oliviculture innovation*
Rugini E., Cristofari V. e Gutiérrez-Pesce P. " 85

L'oleastro come potenziale riserva di geni agronomicamente utili - *Oleaster as a potential reservoir of agronomically useful genes*
Mulas M., Mura G., Dessena L., Bandino G. e Sedda P. " 91

Individuazione e profilo di espressione di geni coinvolti nello sviluppo del fiore e nell'aborto dell'ovario - *Identification and transcriptional profile of genes involved in flower development and ovule abortion*
Colao M.C., Reale L., Miano D., Ferrante F., Sgromo C., Fornaciari M., Orlandi F., Romano B., Rugini E. e Muleo R. " 94

Caratterizzazione e valutazione bio-agronomica di cultivar del germoplasma di olivo in Campania - *Characterization and bio-agronomic evaluation of olive germplasm cultivars in Campania*
Di Vaio C., Nocerino S., Paduano A. e Sacchi R. " 99

Una banca dati genetica (SSR) per il germoplasma olivicolo dell'Emilia Romagna - *Genetic database (SSR) for olive germplasm of Emilia Romagna region*
Beghè D., Amendola A. P., Ganino T., Rotondi A. e Fabbri A. " 105

Selezione di sequenze EST ed identificazione di geni diversamente espressi in olivo a seguito dell'attacco della mosca *Bactrocera oleae* - *Selection and identification of up-regulated genes in olive fruits under* Bactrocera oleae *attack*
Imperato A., Corrado G., Alagna F., Varricchio P., Baldoni L. e Rao R. " 109

Poster

Produzione di somacloni da cultivar di olivo e prime osservazioni in campo - *Somaclons production from olive cultivar and first observations in field*
Mencuccini M. " 113

Caratterizzazione delle cultivar di olivo autoctone del Lazio con microsatelliti e caratteri morfologici - *Characterization of autochthonous olive cultivar from Latium using microsatellite and morphological markers*
Colao M.C., Miano D., Fountoulaki G., Cristofori V., Gutierrez Pesce P., Camilli C., Rugini E. e Muleo R. " 117

Prime valutazioni pomologiche su ibridi ottenuti da incrocio di cultivar di olivo - *First pomological evaluation of new hybrids obtained by cross pollination of olive cultivars*
Bandino G., Sedda P., Moro C. e Mulas M. " 121

Impiego dell'analisi di *High Resolution Melting* nella genotipizzazione di cultivar di olivo tramite marcatori SNPs - *Use of High Resolution Melting analysis in the genotyping of olive cultivar by single nucleotide polymorphisms* Pag. 125
Colao M.C., Colli F., Miano D., Rugini E. e Muleo R.

Valorizzazione del germoplasma autoctono della regione Puglia: corrispondenza varietale e fingerprinting molecolare di olivi monumentali - *Autochthon germplasm exploitation from Apulia region: varietal correspondence and molecular fingerprinting of monumental olive trees* " 130
Zelasco S., Faccioli P., Madeo A., Cesari G., Perri E., Simeone V. e Lanza B.

Esperienze condotte presso il DSAA di Perugia sull'incapsulamento di propaguli *vitro*-derivati di olivo: risultati e prospettive - *Studies on the encapsulation of vitro-derived propagules of olive at the DSAA of Perugia: results and perspectives* " 134
Micheli M., Compagnone A., Prosperi F. e Standardi A.

Il germoplasma olivicolo del CRA-OLI: caratterizzazione molecolare mediante marcatori microsatellite - *CRA-olive germplasm collection: molecular characterisation by microsatellite markers* " 138
Muzzalupo I., Stefanizzi F., Bucci C., Pellegrino M., Godino G. e Perri E.

Analisi di loci SSR per identificare sequenze alleliche del DNA estratto da oli vergini d'oliva - *Analysis of SSR loci for allele sequences identification from DNA extracted in virgin olive oils* " 141
Muzzalupo I., Pellegrino M., Godino G. e Perri E.

Attività del gene *OECHLP* nei frutti di *Olea europaea*: confronto tra diversi genotipi - *Gene activity of* OECHLP *in fruit of* Olea europaea*: genotypes confrontation* " 144
Muzzalupo I., Stefanizzi F., Chiappetta A., Bruno L., Bucci C., Pellegrino M., e Perri E.

Nuovi marcatori microsatelliti per lo studio del germoplasma di olivo (*Olea europaea* L.) coltivato in Puglia - *New microsatellite markers for the characterization of the olive germplasm grown in Apulia* " 147
Akkak A., Madeo A. e Perri E.

Caratterizzazione primaria di 4 nuove accessioni di olivo ottenute per incrocio tra 'Nocellara del Belice' e 'Tonda dolce Partanna' - *Characterization of 4 new olive genotypes obtained by cross between 'Nocellara del Belice' and 'Tonda dolce Partanna'* " 150
Fodale A.S., Mulè R., Tucci A., Tagliavia M. e Fodale R.

Caratterizzazione e valorizzazione del germoplasma dell'olivo a duplice attitudine in Puglia - *Characterization and evaluation of olive germplasm at double attitude in Apulia* " 155
Russo G.

III Sessione: Biologia, fisiologia e relazioni con l'ambiente

Comunicazioni orali

Monitoraggio del periodo ottimale di raccolta nella DOP "Umbria" - *Influence of fruit ripening on oil quality to establish the optimum harvesting time for olive cultivars in "Umbria" DOP* " 159
Farinelli D., Ruffolo M., Scatolini G., Siena M. e Tombesi A.

Soglie termiche significative per la produttività dell'olivo - *The influence of temperature thresholds on olive yield* " 164
Mulas M., Cauli E., Bandino G. e Sedda P.

Variabilità della maturazione delle drupe nella chioma di cultivar venete di olivo - *Fruit ripening variability in the canopy of olive cultivar grown in Veneto* " 170
Giulivo C., Ferasin M. e Manoli A.

Il ruolo delle temperature primaverili sull'evento fioritura in olivo ed elaborazione delle soglie di "risveglio" degli apparati riproduttivi - *Spring temperature influences on olive flowering and threshold temperatures determination on reproductive structure formation* " 174
Fornaciari M., Orlandi F., Sgromo C., Bonofiglio T., Ruga L. e Romano B.

Poster

Contributo allo studio della biologia fiorale: indagine sul grado di autocompatibilità dell'olivo in Toscana - ***On the floral biology of olive: evaluation of self-sterility responses of several cultivars in Tuscany***
Bartolini S. e Andreini L. Pag. 178

Andamento naturale della cascola e topofisi in organi riproduttivi di olivo, cv Leccino - ***Natural course of abscission an topophysis in reproductive organs of olive, cv Leccino***
Fabbri A., Beghè D., Montali L., Silvanini A. e Ganino T. " 182

Evoluzione della drupa e dei principali composti che determinano la qualità dell'olio in tre cultivar di olivo allevate in Umbria - ***Development of the drupe and of the principal compounds determining the oil quality in three olive cultivars grown in Umbria***
Scamosci M., Ridolfi M. e Patumi M. " 187

Studio comparativo dello sviluppo del frutto e dell'accumulo dell'olio in tre cultivars di *Olea europaea L.* - ***Comparative analysis of fruit development and oil accumulation in tree cultivars of* Olea europaea *L.***
Caceres M.E., Giordano C., Bonzi Morazzi L., Mencuccini M., Patumi M. e Fontanazza G. " 191

Osservazioni sulla biologia fiorale e di fruttificazione nell'olivo - ***Flowering and fructification biology of olive trees***
Lombardo L., Lombardo N. e Briccoli Bati C. " 194

Osservazioni comparate sull'accrescimento e sull'inoliazione delle drupe di 14 cultivar di olivo - ***Compared observations on drupes growth and inoliation of 14 olive cultivars***
Briccoli Bati C., Lombardo L., Alessandrino M., Godino G. e Madeo A. " 198

La dimensione del frutto in olivo è un carattere genetico correlato alla grandezza dell'ovario - ***Fruit size in olive is a genetic trait correlated to ovary size***
Rosati A., Zipańčic M., Caporali S., Paoletti A. e Padula G. " 203

Valutazioni biologico - riproduttive di cultivars tunisine di olivo (*Olea europaea* L.) - ***Biological and reproductive evaluations of tunisian olive cultivars (*Olea europaea *L.)***
Sgromo C., El Behi A.W., Bonofiglio T., Orlandi F., M'Sallem M., Romano B. e Fornaciari M. " 208

IV Sessione: Analisi di mercato e valorizzazione

Comunicazioni orali

La filiera oleicola italiana nei nuovi scenari competitivi - ***The italian olive oil industry in the new competitive scenario***
Cioffi A. " 213

Analisi tecnico-economica e scelte di gestione dell'olivicoltura in Toscana - ***Technical-economic analysis for decision making in olive-growing management in Tuscany***
Polidori R., Omodei Zorini L., Vieri M. e Gucci R. " 219

Meccanizzazione e costi della raccolta meccanica dell'oliveto superintensivo - ***Mechanization and mechanical harvesting costs of the super intensive oliveculture***
Bellomo F., D'Antonio P. e Camposeo S. " 224

Quali strategie per il marketing dell'olio d'oliva - ***Marketing strategies for olive oil***
Pomarici E. " 228

Il ruolo dell'olivo nel paesaggio agrario italiano del XXI secolo - ***The role of olive growers in the italian agricoltural landscape at the beginning of XXI century***
Cicia G., D'Amico M. e Pappalardo G. " 233

Poster

Olivicoltura di qualità e varietà locali quali strumenti di presidio rurale e di valorizzazione di un'area DOP - ***Quality olive cultivation of specific cultivars and rural protection and development in a DOP area*** Pag. 238
Galluzzo N.

L'olivo: elemento del paesaggio culturale - ***Olive: element of cultural landscape*** " 243
Calandrelli M.M., Calandrelli R., Acampora G. e Cirillo C.

L'ulivo nella rappresentazione pittorica del paesaggio - ***The olive tree in the landscape pictorial representation*** " 247
Iannuzzi F. Patrizio S. e Naimoli M.

V Sessione: Tecnologie, qualità e tipicità dell'olio

Comunicazioni orali

Migliorare le proprietà salutistiche e sensoriali dell'olio extravergine: nuovi approcci tecnologici - ***Improvement of health and sensory proprieties of extravirgin olive oil: new approach in oil processing*** " 249
Servili M., Esposito S., Taticchi A., Urbani S., Selvaggini R., Di Maio I. e Veneziani G.

Innovazioni tecnologiche nella filiera olivicolo-olearia per la produzione di oli funzionali di alta gamma ad elevato impatto bionutrizionale e salutistico - ***Olive processing innovations to produce functional extra-virgin olive oils having highly health impact*** " 253
Ranalli A., Contento S., Girardi F., Perilli M. e Micozzi A.

Attuali tendenze, in Italia nella lavorazione delle olive in oleifici di grandi dimensioni: effetti sulla resa e sulla qualità dell'olio - ***Present trend, in Italy, for olive processing in large-sized oil mills: effects on olive oil quality and yield*** " 258
Preziuso S.M., Di Serio M.G., Di Loreto G., Mucciarella M.R. e Di Giovacchino L.

Gli oli monovarietali della Sardegna: orientamenti e prospettive - ***Monovarietal oils of Sardinia: trends and prospects*** " 262
Bandino G., Sedda P., Moro C. e Mulas M.

Tecniche di trasformazione e caratteri peculiari degli oli extra vergini del Veneto - ***Extraction procedures and quality of virgin olive oil in Veneto Region (North-East Italy)*** " 266
D'Amico M., Tagliapietra M., Berini N., Lante A., Ferasin M. e Giulivo C.

Effetti del processo di estrazione in atmosfera inerte (N_2) sulla qualità dell'olio vergine d'oliva - ***Effects of extraction process under N_2 flow on the virgin olive oil quality*** " 270
Romano R., Giordano A., Formato A., Sacchi R. e Spagna Musso S.

Le innovazioni tecnologiche in frantoio per una filiera olivicola-olearia più competitiva - ***The technological innovations in the olive mill for an olive oil production chain more competitive*** " 275
Venturi E. e Laterza G.

Poster

Studio delle correlazioni tra le intensità degli attributi organolettici di amaro e piccante e le concentrazioni dei composti che ne sono responsabili - ***Phenolic compounds related to bitter and pungent organoleptic virgin olive oil attributes*** " 278
Preziuso S.M., Di Loreto G. e Biasone A.

Effetti dei differenti metodi di frangitura delle olive sulla resa e sulle caratteristiche qualitative dell'olio vergine di oliva - ***Different methods of olive crushing affect the yields and qualitative characteristics of virgin olive oil*** " 282
Preziuso S.M., Di Serio M.G., Biasone A., Vito R., Mucciarella M.R. e Di Giovacchino L.

Valutazione dei composti organici volatili dell'olio extravergine di oliva da cv Grignano - *Evaluation of VOCS of extra-virgin olive oil from Grignano cultivar* Pag. 287
Vezzaro A., Boschetti A., Dimauro M., Ramina A., Giulivo C., Ferasin M. e Ruperti B.

Evoluzione di acidità libera e numero di perossidi in oli ottenuti da olive con diversi livelli di infestazione da *Bactrocera oleae* - *Evolution of free acidity and peroxide value in olive oils obtained from fruit with different levels of damage by* Bactrocera oleae " 291
Caruso G., Loni A., Raspi A., Canale A. e Gucci R.

Valutazione chimica e sensoriale degli oli di alcune cultivar di olivo allevate in Puglia con il modello superintensivo - *Chemical and organoleptic evaluation of the oil of different olive varieties grown in Apulia according to the super high density model* " 295
Camposeo S., Vivaldi G.A., Gallotta A., Barbieri N. e Godini A.

Influenza del tempo di gramolazione in atmosfera a ridotto contenuto di ossigeno sulle caratteristiche qualitative ed aromatiche dell'olio di oliva - *Influence of malaxation time under a controlled nitrogen atmosphere on olive oil quality* " 299
Ridolfi M., Scamosci M. e Patumi M.

Variabilità della composizione acidica in oli di oliva di diverse cultivar - *Variability of the acidic composition in olive oils of several cultivars* " 303
Madeo A., Alessandrino M., Ciliberti A., Perri E. e Romano E.

Caratteristiche qualitative di oli di oliva provenienti da uliveti sottoposti a differenti dosi di acqua salmastra - *Quality of olive oils from olive groves subjected to different doses of salt water* " 308
Benincasa C., Basta P., Ciliberti A., Pellegrini A., Pellegrino M., Romano E. e Perri E.

Evoluzione del processo di molitura dall'antichità ad oggi - *Evolution of the grinding process from the past* " 312
Soprano M., Patrizio S., Russo M., Zambardino S. e Cattaneo A.

Qualità e tipicità dell'olio vergine d'oliva monovarietale della cultivar locale "Nociara" - *Quality and typicality of olive virgin monocultivar oil of "Nociara" local cultivar* " 316
D'Andrea L. e Liuzzi V.

Influenza del sistema di estrazione sulle caratteristiche qualitative dell'olio di oliva D.O.P. "Collina di Brindisi" - *Effect of extraction system on qualitative characteristics of olive oil DOP "Collina di Brindisi"* " 320
D'Andrea L., Liuzzi V. e Russo G.

Spettroscopia NMR e qualità-tipicità degli oli extravergini di oliva - *NMR spectroscopy and extra virgin olive oil quality/ typical* " 325
Paduano A., Ambrosino M.L., Randazzo A. e Sacchi R.

Trattamento dei reflui oleari: recupero della frazione biologicamente attiva e di acqua purificata - *Treatment of olive mill wastes: recovery of the biologically active fraction and of purified water* " 329
De Marco E., Savarese M., Parisini C., Vitagliano M., Pizzichini D., Falco S. e Sacchi R.

Feofitine e digliceridi: indici di qualità degli oli extravergini di oliva imbottigliati? - *Pheophytins and diglycerides: quality indices of bottled extra virgin olive oil?* " 333
Savarese M., De Marco E., Parisini C., Falco S. e Sacchi R.

Gramolazione controllata e profilo qualitativo degli oli extravergini di oliva - *Monitored malaxing and virgin olive oils quality* " 337
Paduano A., Ferrara L. e Sacchi R.

Effetto della denocciolazione sulla qualità degli oli extravergini di oliva in relazione a varietà e grado di maturazione - *Destoning effect on virgin olive oils quality related to variety and ripening* " 341
Paduano A., Ambrosino M.L., Della Medaglia D.A., Monteleone E. e Sacchi R.

VI Sessione: Vivaismo e difesa delle piante

Comunicazioni orali

Innovazioni per la certificazione delle produzioni vivaistiche di olivo: il contributo del progetto OLVIVA - *New tools for the certification of olive nursery productions: the contribution of the research project "OLVIVA"* Pag. 345
Savino V., Baldoni L., Faggioli F., Loconsole G. e Saponari M.

Controllo eco-sostenibile della mosca dell'olivo: recenti acquisizioni - *The sustainable control of the olive fruit fly: new perspectives* " 349
Bernardo U. e Guerrieri E.

Principali malattie e parassiti dell'olivo in Calabria e Sicilia - *Major diseases and phytophagous insects in olive groves in Calabria and Sicily* " 353
Di Franco F., Palmeri V., Magnano di San Lio R., Magnano di San Lio G. e Benfatto D.

Crescita vegetativa ed aspetti ecofisiologici in giovani piante di olivo inoculate con il virus associato all'ingiallimento fogliare (OLYaV) - *Vegetative growth and ecophysiological aspects in young olive plants inoculated with olive leaf yellowing associated virus (OLYaV)* " 356
Cutuli M., Campisi G., Marra F.P. e Caruso T.

Sensibilità di 4 cultivar di olivo alla *Spilocaea oleagina* (Cast.) Hugh. - *Sensitivity of 4 olive tree cultivars* Spilocaea oleagina *(Cast.) Hugh* " 362
Cristinzio G., Testa A., Bosso L. e Mastroianni G.

Uso di prodotti naturali contro *Saissetia oleae* e fumaggini - *Results on the use of natural products against* Saissetia oleae *and sooty mold* " 366
Rongai D., Basti C., Di Marco C. e Cerato C.

Poster

Prove sulla radicazione di talee di cultivar siciliane di *Olea europaea* L. - *Root induction in cuttings of sicilian cultivars of* Olea europaea *L.* " 370
Chiancone B., Macaluso L. e Germanà M.A.

Osservazioni sulla radicazione di talee di genotipi di *Olea europaea* var. s*ylvestris* - *Observations on rooting of* Olea europaea *var.* sylvestris *cuttings* " 376
Chiancone B., Germanà M.A. e Di Marco L.

Variabilità dell'attitudine rizogena ed effetto di trattamenti di stimolo alla radicazione di talee di cultivar campane di olivo - *Variability of rhizogenic activity and effect of rooting treatments on campanian olive cultivar cuttings* " 382
Di Vaio C., Nocerino S. e Sorrentino C.

Verifica dell'efficienza di micorrizazione di inoculi commerciali su varietà di olivo allevate in vivaio - *Root colonization efficiency of commercial arbuscular mycorrhiza inocula applied to olive plants in the nursery* " 387
Landi L., Murolo S. e Romanazzi G.

Test di resistenza genetica alla verticillosi (*Verticillium dahliae* Kleb) su alcune importanti e diffuse cultivar di olivo - *Test of genetic resistance to* Verticillium dahliae *Kleb. on some important and widespread olive cultivars* " 390
Vizzarri V., Belfiore T., Noce M.E., Scalercio S. e Iannotta N.

Aspetti epidemiologici della cercosporiosi in un oliveto della provincia di Trapani e prova di lotta - *Epidemiology of cercospora leaf spot on olives in province of Trapani and attempts to control the disease* " 394
Fodale A.S., Mulè R. e Tucci A.

Considerazioni sulle caratteristiche chimiche fisiche ed ambientali di alcuni agrofarmaci impiegati in olivicoltura - ***Considerations on chemical, physical and environmental characteristics of some pesticides employed in olive cultivation*** Pag. 398
Russo G. e Basile T.

Il punto sui prodotti chimici (Azadiractina e Rotenone) in olivicoltura biologica in seguito alla direttiva 91/414/CE - ***State of the art of two chemical products (Azadirachtin and Rotenone) after the UE directive 91/414/CE*** " 403
Russo G. e Basile T.

Selezione sanitaria dell'olivo nelle Marche - ***Sanitary selection of olive trees in Marche, central-eastern Italy*** " 407
Murolo S., Nardi S., Bruni R., Savino V. e Romanazzi G.

Prefazione

Cinquantanni, e li dimostra. Nel 2010 festeggiamo il compleanno dell'olio extravergine di oliva, tra bilanci e progetti, riflessioni e ambizioni, scoprendo che il festeggiato ha avuto certo un gran successo, ma, che, in gran parte, sta perdendo valore. Il suo consumo aumenta, arriva dove mai era arrivato, ma, il suo prezzo scende e, per noi, noi Italiani, scende troppo. E, nel frattempo, il termine 'extravergine' contiene una troppo ampia diversità in termini di qualità reale e prezzi, tale da rendere necessaria una ulteriore segmentazione, come da più parti si propone, con sempre maggiore frequenza.

Non a caso la SOI ha voluto creare il Gruppo di Lavoro che ha dato vita a quello che è il Primo Convegno Nazionale sull'Olivicoltura organizzato dalla Società. Il primo, speriamo, di una lunga serie che la SOI vuole organizzare per porre in tutta evidenza la questione olivicola nazionale.

Le DOP, per le quali l'Italia ha un primato che stenta, in larga misura, a trovare significato reale, devono affrontare la difficoltà del loro successo commerciale, se è vero, come è vero, che la percentuale di olio certificato è ancora del tutto marginale, soprattutto al Sud.

Se il consumo dell'olio d'oliva, extravergine o no, cresce, mentre, paradossalmente, il prezzo scende, l'olivicoltura Italiana è ferma, ancorata ad un passato che la vincola senza tregua, mentre l'innovazione dell'olivicoltura, piaccia o meno, è realtà consolidata, e in corsa veloce, in Spagna e in quei Paesi dove l'olivo e l'olio praticamente non esistevano.

Il sistema Italia e la sua straordinaria e complessa qualità, vivono una crisi strutturale molto difficile e dalla quale non si può uscir fuori se non con profondi cambiamenti che, salvaguardandone il patrimonio più importante, le cultivar, trovino soluzioni per ritrovare la competitività perduta.

Non si tratta solo di importare, soluzioni tecniche, - vincenti, importanti, in buona parte necessarie - come il modello superintensivo nato in Spagna, ma di valutarne la congruità con il sistema imprenditoriale e sociale che le deve accogliere e sviluppare, creando le condizioni di logistica, di filiera, di organizzazione di mercato che consentano all'innovazione di manifestare le proprie potenzialità. Non è solo provando, ovunque si possa, il sistema superintensivo che si affronta il problema, ma comprendendone fino in fondo le condizioni strutturali nelle quali può e deve essere inserito, se del caso.

Personalmente, credo che l'olio Italiano non potrà mai vincere la guerra dei 2,5 euro (se va bene) al kilogrammo, ma deve trovare la strada per rendere forte il suo valore, attribuendogli i valori che gli sono propri. Allora auguri, olio extravergine di oliva, ma troviamo il modo per segmentarne, verso l'alto, ancora di più la qualità.

Siamo di fronte ad una grande riduzione delle superfici coltivate e alla necessità di nuovi impianti. Si vince questa sfida trovando un modello Italiano, che abbia basi solide nel nostro patrimonio varietale e che ci consenta di continuare a mantenere la nostra diversità. Per fare questo, c'è bisogno di ricerca, di sforzi comuni, di visioni chiare. Non c'è bisogno di pregiudizi.

Di questo, con la necessaria vivacità e con la diversità di opinioni utile ad esplorare a fondo qualsiasi percorso, si è discusso a Napoli, nell'ambito del Convegno magistralmente organizzato dal prof. Claudio Di Vaio, coordinatore del GDL 'Olivo e Olio' della SOI Sei Sessioni per 29 presentazioni orali e 55 posters.

Ringrazio Di Vaio e tutti coloro che hanno, numerosi, partecipato, presentando i risultati delle loro ricerche e partecipando ad un dibattito che è stato forte e appassionato, nella comune ambizione di contribuire a costruire il percorso migliore per il rinnovamento della nostra olivicoltura. Arrivederci a Perugia 2011, per il Secondo Convegno Nazionale Olivo & Olio.

Paolo Inglese
Presidente Generale SOI

Il futuro dell'olivicoltura italiana tra riflessioni e proposte

Godini A.*
Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali, Università di Bari

The future of the Italian Oliveculture: reflections and proposals

Abstract. The Italian traditional olive industry is designed according to centuries-old training systems and consequently is burden by relevant labour with relating high production costs. Therefore the profitability of the crop is doubtful. Till now EU subsidies helped olive farmers to arrange their balances but the likelihood that the subsidy system born in 1966 will definitively end in 2014 is impending. Moreover, following the 1995 Barcelona agreements, the application of "free exchange" area from 2010 on will make the import in Europe of cheapest and therefore very competitive extra virgin olive oils from the southern side of the Mediterranean basin absolutely lawful. Since in Italy olive yield level and olive oil price can not be expanded at pleasure by olive growers, there are two possibilities of keeping profitable the Italian oliveculture in the future:

- exploiting at best the current production, through the intelligent application of the incoming National Olive Programme;
- in case of failure of the above alternative, introducing innovative cultural models leading to the drastic reduction of labour in order to produce premium quality extra virgin olive oils at lowest production costs.

In the present paper the numerous attempts at reforming the Italian traditional oliveculture in the last fifty years are summarized. The super high density olive growing is briefly illustrated as the most innovative cultural model. The model has been recently developed in Catalonia (Northern Spain) and at present is spread over 100.000 hectares all over the world with a total investment of more than 2 billion dollar. Since we are doubtful that any exploitation policy would solve the problems of the majority of the Italian traditional oliveculture the super high density olive growing has been taken into serious consideration by the author and its co-workers as possible alternative based upon the sensational reduction of production costs by means of the integral mechanization of all cultural practices, from planting to harvesting. The performance of 13 varieties in term of growth habit and cropping consistence at the third leaf are reported. Data concerning oil appreciation of Arbequina, Arbosana and Koroneiki are summarized.

* angelo.godini@agr.uniba.it

Key words: *Olea europaea* L., Italy, traditional cultural models, current problems, innovative training systems.

Introduzione

I dati ISTAT 2004/2007 riportano per l'Italia una superficie media totale di 1.165.953 ha di oliveti, il 1% dislocati nell'Italia settentrionale (dai quali proviene il 3% della produzione nazionale di olio), il 20% in quella centrale (15% della produzione) ed il 79% in quella meridionale ed insulare (82% della produzione). Nello stesso periodo, la produzione annua media di olive è stata di 3.867.326 t e quella d'olio di 656.969 t (resa media ~17,6%). La produzione unitaria media di olive è stata dunque di 31,8 q/ha e quella d'olio di 5,6 q/ha. Della produzione annuale di olio d'oliva, circa un terzo (220.000 t) è di olio lampante e due terzi (430.000 t) di vergine ed extravergine (Deidda *et al.*, 2006). Quanto alla qualità degli oli, nell'ambito dell'extravergine esiste una quota di eccellenza, di "nicchia" o di "alta gamma", inclusi certi oli IGP e DOP, che si sposano col *design* delle confezioni e con intelligenti, costose e ben riuscite campagne pubblicitarie, sebbene non si possa dire che posseggano sempre caratteristiche merceologiche superiori a quelle della maggior parte degli extravergini di massa. A quella quota ne possiamo aggiungere un'altra, che chiamerò «olio del contadino», prodotto per autoconsumo e vendita diretta in azienda. Si tratta di segmenti di prodotto che viaggiano con merito e per proprio conto su un mercato parallelo e a prezzi sostenuti. In mancanza di dati certi posso solo supporre, benevolmente, che entrambe le quote arrivino a rappresentare il 10-15% dell'extravergine nazionale. Fatta questa premessa, nel corso della presente relazione ogni mio riferimento riguarderà esclusivamente il "rimanente" 85-90% dell'olivicoltura nazionale che produce extravergine di massa (~ 350.000 t) e che versa in stato di sofferenza.

Che l'olivicoltura italiana sia sofferente non lo affermo io oggi, ma lo stabilì quarantatre anni fa la Comunità Economica Europea (CEE) nel Regolamento n.136/66 del 22-9-1966 dal titolo: "Attuazione del mercato comune nel settore dei grassi". Allora la CEE riconobbe che, in Italia, produrre olio d'oliva costava troppo e che il comparto non era in grado di autosostenersi di fronte alla concorrenza

delle sostanze grasse di altra natura, con particolare riferimento agli oli di semi; stabilì quindi di sussidiarlo in modo da tenere volutamente bassi i prezzi degli oli d'oliva alla produzione per mantenere competitivi quelli al consumo e non farli schizzare fuori della portata e delle preferenze della massa dei consumatori italiani ed europei.

La domanda che oggi ci dobbiamo porre è la seguente: dal 1966 ad oggi la situazione è forse migliorata? La risposta è no ed è riportata nei dati in tabella 1, che dicono che, nel periodo tra il 1966 ed il 2008, ad un aumento del prezzo delle principali materie utili (inclusa la manodopera) tra le ventuno e le cento volte, ha corrisposto un aumento del prezzo di vendita alla produzione dell'olio extravergine (pugliese) di solo dodici volte. I valori indicati riguardano le variazioni di prezzo dei principali beni in campo nazionale, mentre quelli della manodopera e dell'olio d'oliva si riferiscono alle variazioni intervenute in Puglia (io scrivo da Bari). Tuttavia, penso che le cose non siano andate in modo tanto diverso nelle altre importanti regioni olivicole d'Italia, da quelle più meridionali a quelle più settentrionali, dove, a quotazioni dell'olio più alte fanno in genere riscontro produzioni per albero (e per ettaro) più basse e costi della manodopera maggiori

La crisi strutturale dell'olivicoltura italiana

L'olivicoltura tradizionale italiana è dunque affetta da crisi strutturale cronica, che è stata mascherata per oltre 40 anni dagli aiuti comunitari alla produzione; a detta crisi si è aggiunta, a partire dall'autunno 2008, la crisi economica acuta che stiamo attraversando e che interessa tutti i settori dell'economia e dunque anche quello dell'olio d'oliva; crisi dalla quale non siamo ancora usciti, e che ha portato a un crollo della domanda non solo in Italia ma nell'intera Europa e, di conseguenza, ad un crollo delle quotazioni del prodotto su tutti i mercati. Il comparto non sembra essere ancora uscito dallo stato comatoso nel quale è caduto poco più di un anno fa. Infatti, a metà ottobre 2009, alla Borsa Merci di Firenze (www.fi.camcom.it), l'extravergine "I.G.P. Toscano" quotava ancora tra 4.000 e 4.500 €/t ed a quella di Bari (www.ba.camcom.it), gli extravergini "DOP Terra di Bari" e "Biologico" quotavano meno di 3.400 €/t. Stando ad uno studio di due ricercatori di Perugia (Pampanini e Pignataro, 2008), al netto dei sussidi europei, i costi di produzione dell'olivicoltura italiana sono invece superiori (tra 5,0 e 7,0 €/kg in Italia centrale, tra 4,0 e 6,0 €/kg in Italia meridionale) ai prezzi di vendita degli extravergini tipo "IGP", "DOP" e "Biologico" sulle due piazze che ho indicato e che sono tra le più importanti d'Italia. Si dice che, una volta usciti dalla crisi, le quotazioni internazionali dell'olio extravergine di massa dovrebbero risalire per attestarsi intorno a 4,0 €/kg, cioè sempre al di sotto degli attuali costi di produzione.

Quando parliamo di prezzi e di costi, è perciò necessario ribadire che l'olivicoltura è stata finora considerata dall'UE comparto non in grado di autosostenersi e quindi bisognevole di aiuti. Tant'è che gli olivicoltori italiani hanno ricevuto, tra il 2000 e il 2004, sussidi europei per 750 milioni di €/anno ridottisi a 511 milioni nel 2005 (www.agea.gov.it). Gli altri Paesi olivicoli europei hanno ricevuto in proporzione. La conclusione è che, non da ora, l'olivicoltura italiana si dibatte tra alti costi di produzione e bassi prezzi di vendita, non è mai riuscita a contenere i primi e non ha mai avuto il potere di fissare autonomamente i secondi.

Purtroppo, il regime dei sussidi sembrerebbe stare per arrivare alla fine, tanto che M. Fischer Boel, Commissaria Europea per l'Agricoltura (Agrisole, 2007, n 2 de "Il Sole 24 ore"), ha esplicitamente ammesso che, concluso nel 2013 l'attuale ciclo di Politica Agricola Comunitaria, è molto improbabile che i pacchetti di aiuti alle produzioni agricole (compresa l'olivicoltura) saranno riproposti ed accolti; è più probabile invece che essi saranno eliminati a partire dal 2014 oppure, per bene che vada, fortemente ridotti e per di più divisi non più tra gli allora 15, ma

Tab. 1 - Variazioni di prezzo tra il 1966 e il 2008 di alcune materie utili e dell'olio extravergine d'oliva pugliese.
Tab. 1 - Changes concerning cultural and overhead costs and extra virgin olive oil quotation in Apulia between 1966 and 2008.

Materiali	Unità di misura	Valore		Variazioni 2008/1966
		1996	2008	
Solfato Ammonico 20/21	€/t	13,00	397,67	+31
Trattrice FIAT 50CV	€	1.000,00	20.658,27	+21
Manodopera agricola	€/h	0,09	0,00	+100
Gasolio agricolo	€/t	8,00	529,37	+66
Olio extravergine d'oliva	€/t	300,00	3.700,00*	+12

* al gennaio 2008 (prima della crisi). Fonte: Godini e Bellomo, 2002, aggiornata

tra gli attuali 27 Paesi membri. L'invito tuttavia è quello di non disperare perché, da qui al 2014 mancano quattro anni e si può sempre contare su un ravvedimento e, quindi, su una miracolosa proroga del regime di sussidi UE che hanno finora sostenuto l'olivicoltura europea.

Prima del 2013, un'altra tegola minaccia di cadere a brevissimo sulla testa degli olivicoltori, quando prenderà corpo e sostanza, dal 1° gennaio 2010, il "libero scambio" tra Unione Europea e 11 Paesi del versante sud del Mediterraneo, in base agli accordi di Barcellona del 1995. Io sto scrivendo di olio d'oliva, ma il "libero scambio" significherà anche apertura del mercato europeo a frutta e ortaggi prodotti sull'altra sponda del mediterraneo. Personalmente, non ho assolutamente nulla contro le importazioni di ortofrutticoli e olio d'oliva dal sud-mediterraneo: dico solo d'essere preoccupato perché, quanto più cresceranno quelle importazioni, tanto più si ridurranno gli spazi per gli stessi nostri prodotti, dapprima sui mercati europei, poi anche su quello interno. E questo, a prescindere dalla conclamata migliore qualità delle nostre produzioni. La libera importazione dell'olio extravergine d'oliva del sud-mediterraneo (insieme con l'ortofutta) preoccupa perché il suo costo di produzione è molto più basso del nostro e non è detto che la qualità debba essere per forza peggiore. Per quanto riguarda il costo, la coltivazione tradizionale dell'olivo richiede molta manodopera, soprattutto per la potatura e per la raccolta, anche quando questa sia attuata meccanicamente: a fronte dei 7,00-12,00 €/h di costo dell'operaio italiano stanno 0,50-0,60 €/h di costo dell'operaio maghrebino, turco, siriano, giordano ecc. Per quanto attiene alla qualità, è forse utile sapere che alla produzione di extravergini dei paesi prima indicati concorrono, più di quanto si pensi, tecnologie e/o management e/o capitali europei.

A ben pensare, è poi politicamente tanto scorretto azzardare che, agli inizi degli anni '90, i rappresentanti dell'Europa a 15 si siano fatti un pò di conti e si siano accorti che il valore del prodotto lordo dell'agricoltura dei Paesi mediterranei era assai poca cosa rispetto a quello dell'industria e che la popolazione attiva addetta all'agricoltura era sotto il 10% del totale? È poi tanto malizioso pensare che a Bruxelles si siano quindi chiesti quanti deputati sarebbero stati in grado di eleggere gli agricoltori, ammesso che intendessero votare tutti e tutti per lo stesso partito (che non c'è) a difesa dei loro interessi? Inoltre, non è da escludere che a Bruxelles, la maggioranza dei 15 abbia anche pensato di volgere a proprio vantaggio il trattato, aiutando l'industria senza danneggiare l'agricoltura dei propri Paesi. Per parlare più chiaro, non si può dire che ortofrutta e olio d'oliva siano pilastri dell'agricoltura francese, danese, inglese, olandese, tedesca, ecc.

Un'annotazione a parte merita la recente "migrazione" in Spagna dei più prestigiosi marchi italiani d'olio d'oliva: anche se alcuni marchi sono già tornati a casa ed altri sembra che stiano per farlo, resta il fatto che ancora oggi il *Made in Italy* torna utile per veicolare prodotto anche - ma non solo - italiano sui principali mercati nazionali, comunitari ed extracomunitari.

Le proposte

Se la produzione d'olio d'oliva "di nicchia", "di fattoria", "IGP", "DOP" e "Biologico" non riuscirà a superare l'attuale soglia del 10-15% dell'extravergine totale con quotazioni adeguate, bisognerà avere il coraggio di ammettere che in Italia abbiamo un esubero di centinaia di migliaia di ettari di oliveti, massimamente concentrati nelle regioni meridionali, che cesserà di fornire reddito e dei quali bisognerà pure decidere la sorte! Almeno fintantoché l'olivo continuerà a essere incluso tra le specie d'interesse agrario e prima che finisca per scivolare nella categoria delle specie forestali, oppure ad assumere aspetti di progressivo degrado per fini specifici oppure per incuria (fig. 1).

Una volta aperte le porte all'importazione e venuti meno i sussidi UE si tratterà di vedere a chi chiedere le risorse per fare sopravvivere l'olivicoltura italiana. Da qualcuno è stato proposto che in soccorso degli olivicoltori dovrebbero correre coloro che traggono beneficio economico dalla tutela dell'attuale paesaggio olivicolo, come ad esempio gli imprenditori del settore agrituristico/alberghiero. La proposta potrebbe anche andare se non si pretendesse di accollare agli addetti di quel settore l'onere di tenere in vita l'intero patrimonio nazionale, ma piuttosto di preservare dalla scomparsa i modelli olivicoli più rappresentativi con creazione di "oasi paesaggistiche" (Godini, in Sportelli, 1999). Dubito poi che si possa arrivare a continuare a sussidiare l'intero comparto ottenendo che al Governo italiano sia concesso di defalcare dai contributi versati annualmente a Bruxelles l'equivalente della quota finora destinata dall'UE alla nostra olivicoltura.

Se la prima e più importante via d'uscita dalla crisi è la riduzione dei costi di produzione, i modelli tradizionali di olivicoltura che ognuno di noi ha sotto gli occhi sono del tutto refrattari a qualsiasi possibilità di consistente riduzione di detti costi. Se le cose stanno così, non resta che pensare a due strategie:

- impegnarsi e fare ogni sforzo, immaginabile ed

Fig. 1 - Olivo secolare potato, seppure a turni molto ampi, ma impostato e curato per la produzione di olive (a sinistra); olivo secolare potato nel rispetto delle leggi che ne vietano l'abbattimento, ma che ne annullano la funzione di ombreggiamento verso orticole consociande (al centro); stato di degrado di un olivo secolare dopo alcuni anni di abbandono (a destra).
Fig. 1 - Many centuried olive trees: pruned at large intervals for cropping (left), pruned to reduce the shading in view of vegetable consociation (center); deteriorated after being abandoned (right).

anche inimmaginabile per valorizzare il massimo della nostra produzione olearia di extravergini, attraverso l'applicazione più intelligente possibile del Piano Olivicolo Nazionale (Filo della Torre, 2009);

- innovare l'olivicoltura con modelli colturali che consentano un reale abbattimento dei costi di produzione, nel rispetto della qualità.

In altri termini, bisognerebbe riuscire almeno a duplicare/triplicare le attuali quotazioni alla produzione oppure arrivare a ridurre alla metà/un terzo i costi di produzione degli oli extravergini di produzione nazionale.

Per quanto riguarda il primo punto, quello che si sa del Piano Olivicolo Nazionale è che esso si preoccupa soprattutto della coda della filiera, cioè dell'olio, mentre dice poco o nulla di tutto ciò che è a monte e che riguarda possibili innovazioni dell'olivicoltura. In altri termini sembrerebbe quasi che il Piano consideri l'olio d'oliva al pari dell'acqua minerale, che sgorga inesauribile da una sorgente, che basti imbottigliarlo, etichettarlo e reclamizzarlo per averlo automaticamente valorizzato. Tutti invece sappiamo che l'olio d'oliva è il prodotto finale di una lunga e complessa filiera, che parte dall'ambiente, prende in considerazione l'albero, il modo di governarlo e farlo faticosamente e costosamente produrre: tutto ciò non per trarne appagamento estetico, ma beneficio economico. Affinchè perciò la strategia mirata alla valorizzazione del prodotto si mostri percorribile e divenga efficace è indispensabile che i primi a beneficiarne siano gli olivicoltori, altrimenti fondato è il timore che, in breve volgere di anni, le diverse "sorgenti" regionali di olio extravergine d'oliva finiranno col prosciugarsi - volenti o nolenti - una dopo l'altra.

La seconda strategia prevede l'innovazione dell'esistente attraverso introduzione di modelli colturali alternativi a quelli tradizionali, che consentano la riduzione dei costi di produzione, soprattutto attraverso l'abbattimento del fabbisogno di manodopera, che ancora oggi incide per il 70-80% sui costi totali di produzione dell'olio (Grittani e Tartaglia, 1979). Quanto alle implicazioni di carattere sociale, più passa il tempo, più il problema perde importanza siccome la popolazione italiana attiva dedita all'agricoltura diminuisce costantemente e tende a diventare sempre più rara e più cara. Al censimento del 1951, detta popolazione era il 41,8% (in Italia Meridionale oltre il 60%), mentre nel 2001 era scesa al 5,2% (in Italia Meridionale all'11%) (www.istat.it). Poiché l'abbandono delle campagne è fenomeno irreversibile, al prossino censimento del 2011, quelle percentuali risulteranno essersi ulteriormene ridotte, con aggravamento dei problemi di reperimento, costo e disponibilità della manodopera a lavorare in olivicoltura.

Io mi occupo di olivicoltura ed è quindi ai modelli colturali che devo, per forza di cose, fare riferimento. A tale riguardo, segnalo che non sono mancate proposte per innovare l'olivicoltura negli ultimi 50 anni. Una prima proposta, all'epoca assai promettente, fu quella di Morettini per la ricostituzione e allevamento a "cespuglio" degli oliveti del Centro Italia distrutti dalla gelata del 1956. La proposta non resse a lungo e da essa derivò, dopo poco, l'allevamento a "policaule" che, col passare degli anni, invece di ridurli, ha moltiplicato problemi, tempi e costi di gestione dell'albero e, soprattutto, di raccolta delle olive (fig. 2, sinistra). Vita altrettanto effimera ebbero altre proposte, quali l'allevamento dell'olivo a "palmetta", di Breviglieri, ben presto derubricato nella forma ad "ipsilon", proposta da Braconi (fig. 2, destra). Circa una ventina d'anni fa, fu promossa da Fontanazza la diffusione di un "nuovo" sistema d'allevamento, il "monocono" (fig. 3, sinistra), sulla cui funzionalità gli esperti stanno ancora discutendo. In anni recenti l'unica altra innovazione è quella basata sulla riduzione dei sesti e conseguente intensificazione degl'impianti (tra 300 e 500 piante/ha), soprattutto in ambienti di pianura e dotati di risorse irrigue, insieme con l'adozione di una forma d'allevamento mirata al controllo dello sviluppo

Fig. 2 - Olivo policaule ricostituito in Toscana dopo la gelata del 1956 (sinistra). Olivo allevato ad ipsilon (destra) (foto: geopromotion.it).
Fig. 2 - Left, "poly-caulic" olive tree re-formed after the frost occurred in Tuscany in February 1956; right, olive tree trained at "upsilon" (photo: geopromotion.it).

dell'albero ed all'anticipo della sua entrata in produzione mediante abbassamento dell'impalcatura, incremento del numero delle branche primarie e drastica riduzione degli interventi cesori in fase di allevamento, anche se a soffrirne è la "geometria" della forma (fig. 3, destra). A mio parere, nessuna delle proposte ricordate può però essere considerata risolutiva, perchè nessuna elimina il problema di fondo, che è la riduzione al minimo della voce di costo più incidente, quella della manodopera (soprattutto per la potatura e la raccolta), per abbassare i costi di produzione al punto da mettere i nostri olivicoltori ed il comparto tutto in condizioni di reggere alla concorrenza, europea ed extraeuropea. E la dimostrazione di tanto sta nell'assai tiepida risposta del mondo imprenditoriale olivicolo a dette innovazioni.

Il modello di olivicoltura superintensiva

La proposta più innovativa viene dalla Spagna e si chiama olivicoltura superintensiva (fig. 4, sinistra). Si tratta, in sostanza, di un modo alternativo di concepire la coltivazione dell'olivo. È un modello di olivicoltura che nasce nella prima metà degli anni novanta e da allora a oggi ha trovato diffusione su circa 100.000 ettari al mondo, per un investimento globale che si può considerare anche superiore a 2 miliardi di Euro (Mateu *et al.*, 2009). Riconosco tuttavia che non tutto il *Made in Spain* degli ultimi quarant'anni in tema di olivicoltura è stato intelligente: ricordo in negativo il modello di oliveti "tricaule", con tre alberi d'olivo piantati ai vertici di un triangolo equilatero, con aumento più che proporzionale di tempi e costi di raccolta, ma che pure trovò qualche estimatore tra autorevoli rappresentanti italiani della ricerca in olivicoltura del tempo (fig. 4, destra); lamento la totale assenza in Spagna di leggi a tutela del patrimonio olivicolo monumentale, che consente ai vivaisti spagnoli la libera vendita di olivi centenari e millenari (www.viverosolivoscentenarios.es); comprendo lo spirito dell'accorata esigenza di porre riparo a quella carenza legislativa (Munoz *et al.*, 2009), ma non

Fig. 3 - Olivi allevati a "Monocono" in Toscana (a sinistra). Modello di "nuova" olivicoltura intensiva in Puglia (a destra).
Fig. 3 - Olive trees trained at "Monocono" in Tuscany (left). Example of new intensive olive culture in Apulia (right).

Fig. 4 - Esempio di olivicoltura superintensiva in Catalogna (a sinistra). Esemplare residuale di olivo "tricaule" in Andalusia (a destra)
Fig. 4 - Picture of super high density olive culture in Catalonia (left). Residual example of tri-caulis olive tree in Andalusia (right).

posso condividere le conclusioni di salvaguardare, su una popolazione di centinaia di milioni di alberi, un numero di olivi monumentali decisamente irrisorio, quale quello indicato nel testo!

Questa volta, però, l'innovazione messa a punto in Catalogna presenta aspetti meritevoli d'essere presi in considerazione. Si tratta di un modello che abbiamo per primi illustrato e realizzato in Italia (Godini e Bellomo, 2002) e che si basa:

- sull'elevata densità di piantagione (circa 1.670 piante/ha con un sesto di 4,0 x 1,5m), con orientamento dei filari N-S;
- sul basso costo delle piante, ottenute per talea, che consente perfino risparmi rispetto ad impianti tradizionali intensivi (400-500 piante/ha) con piante innestate;
- sulla meccanizzazione integrale di tutte le operazioni colturali, dalla messa a dimora, alla gestione delle piante e del suolo, alla raccolta, trasporto e molitura delle olive.

Perché il sistema possa funzionare, occorrono varietà con crescita contenuta, entrata in produzione precoce (3° anno), consistente produzione iniziale (tra 1,0 e 2,0 kg/pianta, pari a 1,7 e 3,3 t/ha/olive), stabilizzazione della produzione a partire dal 5° anno (tra 5,0 e 6,0 kg/pianta, pari a 8,3 e 10,0 t/ha/olive), resistenza dei frutti all'impatto con la macchina raccoglitrice, e che producano olio di buona qualità.

La principale innovazione consiste nel fatto che il concetto di pianta singola è sostituito da un *continuum*, per cui la raccolta di un ettaro di oliveto viene completata nel giro di 2 ore da un cantiere con due operatori: uno alla macchina scavallatrice ed uno alla guida di un trattore con rimorchio per il trasporto delle olive al frantoio per la molitura. Tenuto conto, ad esempio, che il costo del noleggio di tale cantiere è intorno a 200 €/h, la raccolta di un ettaro costerà 400 €. Per una produzione media, dal 5°-6° anno in poi, di circa 10 tonnellate di olive/ha e quindi di 1,7-1,8 tonnellate d'olio (resa ~17/18%), ne discende che la raccolta viene a costare tra 0,22 e 0,23 €/kg/olio. Anche con i più avanzati modelli colturali d'olivicoltura, la raccolta a pianta singola della produzione di un ettaro di oliveto richiede non ore, ma giorni di lavoro, con un numero di operai sicuramente superiore a quello prima indicato. Senza dimenticare il bisogno di manodopera per la potatura.

Poiché non risulta che fino ad oggi, esperti economisti abbiano cominciato a studiare in Italia tale nuovo modello innovativo e i discendenti costi di produzione, siamo costretti a rifarci a fonti non italiane, con dati che sono sicuramente di parte e che quindi vanno "presi con le molle": quelle fonti dicono che, secondo condizioni ambientali, colturali, imprenditoriali non meglio specificate, il costo di produzione complessivo dell'olio extravergine di olive coltivate secondo il modello superintensivo andrebbe - mi rifugio prudentemente nel condizionale - da 0,80 €/kg a 1,46 €/kg (tab. 2).

Chi scrive, insieme coi suoi collaboratori e col prof. Bellomo, del Dipartimento PRO.GE.SA dell'Università di Bari, si attribuisce il merito d'avere intuito per primo in Italia le potenzialità di quell'innovativo modello, cominciando subito a valutarne possibilità e limiti di diffusione in Italia, avviando tre campi sperimentali in Puglia, con ricca bibliografia a corredo (Bellomo e Godini, 2003; Camposeo *et al.*, 2006a, 2006b; Godini, 2004, 2006, 2007, 2009; Godini *et al.*, 2006a, 2006b, 2006c). Il più recente studio riguarda i risultati ottenuti nel 2008, al 3° anno dall'impianto, da una popolazione di 13 varietà, alcune indagate per la prima volta (Camposeo e Godini, 2009), messe a dimora nell'azienda del Dipartimento a Valenzano (Bari), di cui riporto in sintesi i risultati (tabelle 3 e 4).

Le spagnole Arbequina e Arbosana, la greca Koroneiki e l'italiana Urano® hanno mostrato buona adattabilità al modello, quanto a sviluppo vegetativo,

Tab. 2 - Esempi di produttività e di costi di produzione di olivicoltura superintensiva (Fonte: Torroja y Miret, 2009).
Tab. 2 - Super high density olive culture: examples of yield consistency and production costs (Source: Torroja y Miret, 2009).

Azienda/anno 2008	Pioggia 2008 (mm)	Volumi stagionali (mc/ha^{-1})	Costi totali annuali (€/ha)	Olio (t/ha)	Costo di produzione (€/kg olio)
La Almarja (Córdoba- Spagna)	510	2.150	2.468	1,69	1,46
Agricola Hidalgo (Jaén - Spagna)	484	1.548	2.100	1,52	1,38
El Llano (Siviglia - Spagna)	497	1.472	2.522	2,76	0,91
El Cercao (Córdoba - Spagna)	537	2.843	2.265	1,94	1,16
Granja (Montes Velhos- Portogallo)	310	1.900	1.914	2,40	0,80
Valdouro (Ferreira do Alentejo - Portogallo)	374	1.865	2.106	1,58	1,33
El Alcade (Córdoba- Spagna)	495	480	1.707	1,48	1,15
El Camarero (Córdoba- Spagna)	492	--	1.662	1,27	1,31
La Mantanza (Siviglia - Spagna)	442	--	2.063	1,64	1,25

entrata in produzione e consistenza della produzione al terzo anno dall'impianto. Tra le varietà italiane tradizionali, Carolea, Frantoio e Cima di Bitonto hanno mostrato ritardo dell'entrata in produzione abbinata a sviluppo eccessivo, così come notevole vigore e scarsa propensione ad entrare precocemente in produzione hanno mostrato Leccino e Maurino. Rispetto ai risultati ottenuti in precedenza (Godini *et al.*, 2006c), una piacevole sorpresa ci è venuta da Coratina (5,3 t/ha teoriche di olive e 1,1 t/ha di olio), che ha però confermato la tendenza della chioma ad espandersi nell'interfilare. Questa varietà è assai benvista dagli olivicoltori pugliesi e non solo, vuoi per la produttività, vuoi per le caratteristiche dell'olio: in un imminente futuro ci riserviamo di esplorare la possibilità di rendere Coratina adattabile al modello superintensivo, ad esempio distanziando di più le piante sul filare per conferire alla chioma una forma appiattita, quasi a "ventaglio". Punti forti di Fs-17®, Don Carlo® e I-77® possono essere considerati la precocità e la consistenza della messa a frutto iniziale; punti deboli la rada vegetazione, la tendenza ad eccessivo accrescimento trasversale e la sensibilità dei frutti (in particolare di Fs-17® e I-77®) all'impatto dei battitori, sebbene con molte attenuanti dovute alla loro precocità di maturazione ed al ritardo col quale la vendemmiatrice è stata messa a disposizione(Camposeo *et al.*, 2009a). Quanto alla qualità degli oli, piuttosto che riportare i

Tab. 3 - Altezza delle piante alla messa a dimora (giugno-luglio 2006), a dicembre 2006, 2007 e 2008 e larghezza della chioma a dicembre 2008 (Fonte: Camposeo e Godini, 2009).
Tab. 3 - Tree height at planting (Jun.-Jul. 2006), at December 2006, 2007, 2008, crown width at Dec. 2008 (Source: Camposeo and Godini, 2009).

Varietà	Altezza (cm)				Larghezza (cm)
	Messa a dimora	Dicembre			Dicembre 2008
		2006	2007	2008	
Arbequina	35,8 GH	72,8 D	186,7 CE	240,8 CD	187,5 CD
Arbosana	32,9 H	75,7 D	189,1 CE	230,3 DE	183,5 CD
Carolea	74,5 C	127,5 AB	221,7 AB	288,5 A	174,5 D
Cima di Bitonto	48,5 E	126,4 AB	223,0 AB	290,1 A	258,7 A
Coratina	42,9 F	125,9 AB	240,8 A	288,5 A	185,9 CD
Don Carlo®	55,8 D	117,0 BC	213,7 AC	264,0 AC	197,0 CD
Frantoio	38,3 FH	102,5 C	212,7 AC	296,2 A	234,5 B
Fs-17®	83,8 B	139,2 A	223,3 AB	278,3 AB	198,3 C
I/77®	54,8 D	110,2 BC	209,3 BC	285,3 A	189,8 CD
Koroneiki	40,6 FG	87,5 D	198,7 BD	248,8 CD	186,8 CD
Leccino	35,7 GH	118,2 BC	222,3 AB	285,5 A	203,5 C
Maurino	34,7 H	82,8 D	199,7 BD	282,7 A	202,5 C
Urano® *	104,5 A	139,3 A	179,2 DE	209,4 EF	186,8 CD
Urano® **	56,8 D	103,3 C	163,0 E	194,3 F	183,0 CD
media	*52,8*	*109,1*	*205,9*	*263,0*	*198,0*

* da talea; **da micropropagazione
Lettere diverse indicano valori significativamente differenti per P=0,01

Tab. 4 - Produzione di olive per pianta e teorica per ettaro a dicembre 2008 ed efficienza produttiva (Fonte: Camposeo e Godini, 2009).
Tab. 4 - Fruit (kg/tree), theoretical average (t/ha) in 2008, third year after planting and crop efficiency. (Source: Camposeo and Godini, 2009).

Varietà	Produzione		Efficienza produttiva (g/cm^2)
	(kg/pianta)	(t/ha)	
Arbequina	2,5 DE	4,15 DE	186,6 BC
Arbosana	2,8 CE	4,65 CD	221,8 B
Carolea	0,0 H	0,00 H	0,0 G
Cima di Bitonto	0,0 H	0,00 H	0,0 G
Coratina	3,2 BC	5,31 BC	171,9 C
Don Carlo®	2,2 E	3,65 E	127,5 D
Frantoio	0,0 H	0,00 H	0,0 G
Fs-17®	2,9 CD	4,81 CD	200,0 BC
I/77®	1,4 F	2,32 F	65,1 E
Koroneiki	3,8 B	6,31 B	216,1 B
Leccino	0,8 G	1,33 FG	33,7 EF
Maurino	0,4 G	0,66 G	23,0 F
Urano® da talea	5,5 A	9,13 A	326,6 A
Urano® da micro	2,6 CE	4,32 CE	183,1 BC
media	*2,0*	*3,33*	*125,4*

Lettere diverse indicano valori significativamente differenti per P=0,01

risultati di panel test di nostri studi (Camposeo *et al.*, 2006a; 2006b), ho preferito rifarmi a quelli di ricerche condotte da terzi (Marone *et al.*, 2009), che hanno definito eccellente l'olio di Arbequina (punteggio 7,75) e di Koroneiki (punteggio 7,50) e buono quello di Arbosana (punteggio 7,25).

Conclusioni

Visto che i diversi modelli italiani di olivicoltura tradizionale non sono ristrutturabili in modo tale da poter essere competitivi; vista l'imminente apertura delle frontiere all'olio extravergine a basso costo dell'altra sponda del mediterraneo; visti i tagli dei sussidi UE all'olivicoltura a partire dal 2014; visti i costi di produzione dell'olio extravergine dell'olivicoltura tradizionale; visto che, per bene che vada, il prezzo alla produzione dell'olio extravergine di massa risalirà per stabilizzarsi intorno a 4 €/kg; vista la migrazione in Spagna dei nostri più prestigiosi marchi, per uscire dalla crisi servono proposte concrete che possiamo così ribadire:

- valorizzare l'esistente, attraverso l'intelligente applicazione del Piano Olivicolo Nazionale;
- produrre olio extravergine d'oliva della migliore qualità possibile al più basso costo possibile.

La risposta alla prima proposta deve venire dal mondo politico e dalle diverse Organizzazioni che tutelano gli interessi dei produttori. Alla seconda proposta, la risposta spetta invece agli Istituti di ricerca, che devono offrire nuovi modelli olivicoli realmente competitivi. A nome dei miei collaboratori e mio personale ritengo di avere fatto il possibile, fornendo un contributo concreto, indicando un modello di olivicoltura del tutto innovativo, contando anche sul fatto che non bisognerà attendere molto per concludere se l'olivicoltura tradizionale riuscirà a sopravvivere nel medio termine senza cambiare fisionomia e con le proprie forze e se il nuovo modello olivicolo da me illustrato riuscirà a imporsi come valida e, per ora, unica alternativa.

Riassunto

La coltivazione tradizionale dell'olivo si caratterizza per gli alti costi, che oggi superano i prezzi di vendita dell'olio extravergine, almeno al netto dei sussidi UE, che sono a loro volta destinati a probabile scomparsa dal 2014 in poi. Incombe poi, a partire dal 2010, la libera importazione di oli extravergini dal Sud-Mediterraneo in base agli accordi di Barcellona del 1995. La maggiore voce di spesa è quella per la manodopera, sempre più rara e più cara. Poiché i livelli produttivi degli alberi della coltura tradizionale non possono essere dilatati a piacere, i costi non possono essere compressi perché i prezzi d'acquisto delle materie utili per l'esercizio dell'olivicoltura (manodopera inclusa) sfuggono al controllo dei produttori, delle due l'una: o le Organizzazioni di categoria, attraverso il Piano Olivicolo Nazionale, riusciranno a portare le quotazioni degli extravergini a livelli remunerativi oppure all'olivicoltura non resta, pena il lento degrado, che una profonda innovazione con drastica riduzione dei costi di produzione, cosa praticamente impossibile da ottenere coi modelli tradizionali, così come con le proposte di ristrutturazione avanzate in Italia negli ultimi 50 anni. Un viaggio compiuto in Catalogna (Spagna) nel novembre 1999, divenne occasione per convincerci ad avviare in Puglia studi sul modello di olivicoltura superintensiva, con meccanizzazione integrale di tutte le operazioni colturali. È bene precisare che quello che più ci ha intrigato è stato il modello, a prescindere dalle varietà che ad esso oggi risultano adattarsi. La relazione si conclude con l'illustrazione dei risultati forniti, in un campo sperimentale realizzato a Valenzano (Bari) nel 2006, da 13 varietà d'olivo al terzo anno dall'impianto quanto ad accrescimento vegetativo, precocità e consistenza delle produzioni iniziali. Vengono infine riportate informazioni desunte da terzi sulla valutazio-

ne complessiva degli oli di Arbequina, Arbosana e Koroneiki.

Parole chiave: *Olea europaea* L., Italia, modelli colturali tradizionali, problemi, modelli innovativi.

L'attività di ricerca svolta nel settore dell'olivicoltura superintensiva è stata resa possibile da finanziamenti concessi dalla Provincia di Bari.

Bibliografia

BELLOMO F., GODINI A., 2003. *Primeros campos experimentales de olivo superintensivo en Puglia-Italia*. Olint, 7: 29-30.

CAMPOSEO S., CANTORE A., BARBIERI N., GODINI A., 2006a. *Caratteristiche analitiche ed organolettiche dell'olio della cultivar Arbequina coltivata in Puglia*. Atti Convegno nazionale «Maturazione e raccolta delle olive: strategie e tecnologie per aumentare la competitività in olivicoltura», Alanno (PE), 1 aprile: 195-199.

CAMPOSEO S., CANTORE A., BARBIERI N., GODINI A., 2006b. *Arbequina e Arbosana alla prova della qualità*. OlivoeOlio, 11: 12-14.

CAMPOSEO S., FERRARA G., PALASCIANO M., GODINI A., 2008. *Varietal behaviour according to the superintensive oliveculture training system*. Acta Hort., 791: 271-274.

CAMPOSEO S., GIORGIO V., 2006. *Rese e danni da raccolta meccanica di un oliveto superintensivo*. Atti Convegno nazionale «Maturazione e raccolta delle olive: strategie e tecnologie per aumentare la competitività in olivicoltura», Alanno (PE), 1 aprile: 131-135.

CAMPOSEO S., GODINI A., 2009. Le varietà d'olivo per impienti superintensivi. L'Informatore Agrario, 26: 40-44.

CAMPOSEO S., BELLOMO F., GODINI A.. 2009a. *Aspetti quantitativi e qualitativi della raccolta meccanica in continuo di un giovane oliveto superintensivo*. Atti 1° Convegno Nazionale dell'Olivo e dell'Olio", Portici, 1-2 Ottobre 2009. (in corso di stampa).

CAMPOSEO S., VIVALDI G. A., GALLOTTA A., GODINI A., 2009b. *Valutazione chimica e sensoriale degli oli di alcune cultivar di olivo allevate in Puglia con il modello superintensivo* Atti 1° Convegno Nazionale dell'Olivo e dell'Olio", Portici, 1-2 Ottobre 2009. (in corso di stampa).

DEIDDA P., FIORINO P., LOMBARDO N., 2006. *Italian olive growing between evolution and extinction*. Proceeding Olivebioteq, 2nd International Seminar: 15-28.

FILO DELLA TORRE R., 2009. "Finalmente arriva in etichetta l'origine delle olive" L'Informatore Agrario, 6:13-14.

GODINI A., 2004. *Varietà spagnole d'olivo ed impianti superintensivi: pro e contro.* Terra e Vita, 50: 81-82.

GODINI A., 2006. *L'olivicoltura superintensiva è un'opportunità, non un obbligo*. L'Informatore Agrario, 31: 4-5.

GODINI A., 2009. *L'olivicoltura italiana deve innovarsi*. L'Informatore Agrario, 7: 66-70.

GODINI A., BELLOMO F., 2002. *Olivicoltura superintensiva in Puglia per la raccolta meccanica con vendemmiatrice.* Atti Convegno internazionale di Olivicoltura, Spoleto, 22-23 aprile: 230-234.

GODINI A., CAMPOSEO S., FERRARA G., GIORGIO V., PALASCIANO M., 2006a. *L'olivicoltura superintensiva come ultima innovazione:gli aspetti agronomici*. Atti Convegno nazionale «Maturazione e raccolta delle olive: strategie e tecnologie per aumentare la competitività in olivicoltura», Alanno (PE), 1 aprile: 119-124.

GODINI A., CAMPOSEO S., SCAVO V., 2006b. *Gli aspetti agronomici dell'olivicoltura superintensiva*. L'Informatore Agrario, 1: 65-67.

GODINI A., PALASCIANO M., FERRARA G., CAMPOSEO S., 2006c. *Prime osservazioni sul comportamento agronomico di cultivar d'olivo allevate con il modello superintensivo*. Frutticoltura, 3: 40-44.

GRITTANI G. E TARTAGLIA A., 1979. *Il sistema agricolo-alimentare pugliese: sottosistema olio di oliva.* Istituto di Economia e Politica Agraria, Università di Bari: 1-70.

MARONE E., MERSI A., OTTANELLI A., FIORINO P., 2009. *Productivity and oil characteristics in a superintensive olive planting system in Central Italy*. IUFRO Workshop, Reggio Calabria (Italy), june 17-19.

MATEU J.C., GARCIA R.X., PEÑA J.M.L., 2009. *Il superintensivo avanza nel mondo, ma senza fretta.* OlivoeOlio, 4: 4-8.

MUÑOZ C., BELAJ A., BARRANCO D., RALLO L., 2009. Olivos monumentales de España. Grupo Mundi-Prensa Godella (Valencia)

OLIVA F., 2006. *Prezzi sull'ottovolante tra picchi e speculazioni*. OlivoeOlio, 11-12:4-8.

PAMPANINI R., PIGNATARO F., 2008. *Aspetti economici e gestionali della competitività in olivicoltura*. Atti Convegno Comsiol «Competitività del sistema olivo in Italia», Spoleto, 7 marzo: 53-74.

SPORTELLI G.F., 1999. *L'olivo non deve fare come il mandorlo*. Terra e Vita, 34: 41-43.

TORROJA Y MIRET, 2009. *La baja estructura de costes del sistema Todolivo Olivar en Seto, así como la alta calidad obtenida en sus aceites, marcan la sensa de la nueva olivicultura*. Mercacei Magazine, Mayo/Julio, 59: 282-285.

ZAFER CAN H., ISFENDIYAROGLU M., 2006. *Olive oil sector in Turkey*. 2nd Int. Seminar Olivebioteq 2006, Nov. 5-10, Marsala-Mazara del Vallo, Italy: 109-119.

WWW.AGEA.GOV.IT

WWW.BA.CAMCOM.IT

WWW.FI.CAMCOM.IT

WWW.ISTAT.IT

WWW.VIVEROS OLIVOS CENTENARIOS.ES

Meccanizzazione dell'oliveto italiano: i risultati del progetto M.A.T.E.O.

Sarri D. e Vieri M.
Dipartimento di Ingegneria Agraria e Forestale, Università di Firenze

Mechanization italian olive grove: the results of the project M.A.T.E.O.

Abstract. Oliviculture in Tuscany, as well as in other Italian regions, in addition to being a distinctive character of the landscape is an important economic and social resource for farms and the territory. Oliviculture today, except in limited instances of success, is structurally similar to that implemented 50 years ago, consists of old systems not made by following rational systems run frequently arising from the uses and customs that are passed down from generation to generation. This situation is reflected also in the business mechanization that in many cases is inadequate or poorly managed. The wide diversity of characteristics of the areas of cultivation and olive groves is that you can not define a unique way to resolve the problems of this sector. Project objective M.A.T.E.O. (Technical and Economic Models Business for the reduction of production costs in Oliviculture reality of Tuscany) was the delineation and identification of the types of olive reality on the land in order to define management-organizational models (agronomic, mechanization, economic) and the possible technologies employed to reduce operating costs for the acquisition and production of high quality extra-virgin olive oil. The final results of the project, result of a research competition sponsored by A.R.S.I.A. (Regional Agency for Development and Innovation in Agriculture) in 2005 and the innovations that emerged from a multi-annual work comparing olive growers, builders, engineers and researchers are a concrete response to the tangible crisis Tuscan olive sector.

Key words: Olive crop mechanization, landscape and typical mediterranean product manteinance.

Introduzione

L'immagine della meccanizzazione integrale della olivicoltura è oggi strettamente legata alla forte espansione di investimenti imprenditoriali basati su una olivicoltura superintensiva e completamente meccanizzata. L'obiettivo fondamentale è coprire le crescenti richieste di prodotto sul mercato nazionale ed internazionale e, parallelamente, ridurre i costi di produzione per aumentarne la competitività e, a volte, per renderne sostenibile la produzione.

Il modello della meccanizzazione integrale dell'oliveto mutua fondamentalmente le catene tecnologiche già collaudate in frutticoltura e viticoltura e viene posto come obiettivo prioritario per il mantenimento di questa attività colturale. Parallelamente a questo non si può tuttavia ignorare che in molti bacini produttivi il modello di meccanizzazione integrale non può essere applicato sia per vincoli strutturali del territorio e della struttura fisiologica della pianta, sia per aspetti legati al valore paessaggistico e storico che assume l'olivo in buona parte del territorio nazionale.

Ad oggi quindi il grande problema delle aree storicamente legate alla produzione olivicola riguarda il necessario passaggio a forme di conduzione efficienti e sostenibili economicamente in una variabilità di funzioni in cui l'impresa agricola collochi l'attività colturale olivicola in un contesto riconosciuto e remunerato di conservazione del patrimonio territoriale e di risorse genetiche e, conseguentemente, produzioni di nicchia di elevatissimo pregio, o in una olivicoltura particolare e al contempo rinnovata nella efficienza operativa che trovi un premio di prezzo nella tipicità dell'olio prodotto e, infine, in una olivicoltura ad elevatissima produttività competitiva anche rispetto al mercato internazionale comune.

Sulla base delle considerazioni appena esposte gli scopi del progetto M.A.T.E.O. sono stati quelli di individuare delle soluzioni tecniche economicamente sostenibili e l'identificazione di proposte di progresso tecnico concretizzabili ed immediatamente attuabili, appropriate alle diverse situazioni dell'olivicoltura Toscana.

Le realtà produttive e le tecnologie in esse impiegabili

Focalizzando la nostra attenzione sulla necessità di adeguare le capacità ed i livelli di gestione della componente strumentale dell'azienda agricola alle nuove tecnologie che vi si stanno introducendo, è fondamentale analizzare quale è la condizione strutturale della olivicoltura italiana. Su 1.083.000 ha di superficie olivicola nazionale il 62% è attuata in condizioni di "collina" e l'11% in condizioni di "montagna" con evidenti problemi legati agli aspetti strutturali degli appezzamenti che sono declivi o terrazzati. A questo si aggiunge la frammentazione aziendale che ne determina forti vincoli di investimento: il 42% delle unità

ha una superficie inferiore a 1 ha, il 21% fra 1 e 2 ha, un altro 21% fra 2 e 5 e un 8,5% fra 5 e 10 ha. Vi sono regioni come la Liguria, dove l'olivicoltura ha una importanza fondamentale sotto il profilo territoriale, culturale e sociale, in cui il 94% degli impianti sono in condizioni terrazzate ed a forte declività ed il 93% delle aziende sono inferiori a 2 ettari. Per inquadrare la meccanizzazione non si può d'altronde prescindere da quelle che sono le condizioni strutturali del terreno e dell'impianto: il processo di analisi collaudato nel progetto M.A.T.E.O. ha portato alla definizione di sei modelli di olivicoltura e conseguentemente diversi scenari tecnologici possibili:

- **Terrazzati e non praticabili**. La definizione "non praticabile" indica la quasi totale impossibilità di poter ricorrere alla meccanizzazione. In queste sistemazioni viene attuata un'olivicoltura cosiddetta "eroica", di piccola scala, caratterizzata da una bassa produttività e da un impiego di manodopera molto elevato; la disposizione ottimale è di 1 pianta ogni 50 m^2 e se si ricorre all'impiego dei teli per la raccolta si stima una richiesta di manodopera prossima a 1,5-2 ore a pianta. Il mantenimento di questo tipo di olivicoltura localizzato su pendenze oltre il 20% e di elevato valore paesaggistico e territoriale (olivicoltura ligure), ha come priorità la realizzazione, dove possibile, di vie di accesso a mezzi meccanici specializzati di piccola dimensione e grande agilità come i minicingolati che possono portare i materiali e gruppi di irrorazione, concimazione, diserbo o di taglio delle infestanti e trinciatura dei residui; ed anche i miniescavatori che possono essere accessoriati con pinze di potatura e pinze scuotitrici. Importantissima per questa olivicoltura è stata l'evoluzione di tutti gli agevolatori di raccolta e di potatura soprattutto nella tecnologica elettrica con batterie ricaricabili. Di notevole interesse poi lo sviluppo di macchine irroratrici che possono sollevare gli operatori dalle onerose e molto pericolose operazioni di trattamento antiparassitario con irrorazione di prodotti chimici.
- **Terrazzati e meccanizzabili**. Tipici di zone a declività medio alta (fino al 20%) con terrazzi ampi e spesso raccordati così da consentire il passaggio delle piccole macchine agricole convenzionali. Pur consentendo di effettuare meccanicamente diverse operazioni hanno bassi rendimenti nella capacità di lavoro dei cantieri. Quasi tutte le operazioni sono meccanizzabili con opportuni interventi di adeguamento degli spazi e delle forme di allevamento: la raccolta può essere meccanizzabile con ombrelli di intercettazione e scuotitori al tronco o alle branche e la difesa è realizzabile con cannoni irroranti ed anche il recupero dei residui di potatura può essere meccanizzato.
- **Tradizionali irregolari**. Caratterizzati dalla disposizione irregolare e non razionale delle piante che spesso risultano secolari e di grande sviluppo (meno di 200 piante/ha), sono generalmente localizzati in zone con pendenze inferiori al 15%. Gli elevati tempi di intervento riguardano soprattutto l'irregolarità e la dimensione delle piante che richiede macchine specializzate e ancora modalità operative non continuative. Vi sono oggi macchine anche combinate che possono effettuare con efficienza la raccolta con pettinatura o meglio con scuotimento alle branche. Anche la potatura viene agevolata con sistemi elevatori ed è ipotizzabile l'impiego di sistemi di potatura tipo processori forestali miniaturizzati applicati, ad esempio, su escavatori.
- **Convenzionali razionali**. Questi impianti derivano dalle ristrutturazioni e sono già caratterizzati dalla disposizione delle piante in filari. Vi è un investimento di 250-300 piante/ha con sesti 6x5, 6x7, 7x7, con pendenze limitate o filari disposti secondo pendenze compatibili con l'impiego di macchine agricole. Il maggiore problema deriva dalla loro dimensione che richiederebbe particolari soluzioni meccanizzate come quelle precedentemente descritte per la potatura. Non vi sono particolari problemi invece per la raccolta dove le soluzioni tecnologiche sono molteplici per il distacco e in parte anche per il recupero delle olive che con teli o ombrelli rovesci.
- **Intensivi (moderni razionali)**. Impianti tipici di una olivicoltura da reddito. La razionalizzazione dell'oliveto si ha impostando geometrie regolari che permettano un passaggio continuo delle macchine e possibilmente una fascia produttiva ben definita ed omogenea come è stato impostato fino dagli anni '70 nella viticoltura. Tali impianti sono caratterizzati da sesti 5x5; 2,5x5, con 400-600 piante ad ettaro. In essi risulta possibile adottare una meccanizzazione tipica della frutticoltura e, con le odierne tecnologie, anche la raccolta in continuo.
- **Superintensivi**. Derivano dai precedenti ma hanno una spinta intensificazione vegetale con più di 1.000 piante ad ettaro (fino a 6.000) con filari a 4 m e distanza sulla fila di 1,3-1,5 m. Quasi completamente meccanizzabili ad eccezione della potatura laterale che viene più efficacemente effettuata con pochi tagli grossi fatti con rapide troncatrici elettriche. Questa ultima affermazione merita una riflessione. La potatura è oggi per tutte le colture arboree l'operazione più delicata e difficile da cui dipendono: il corretto sviluppo vegeto produttivo,

la conformazione ottimale della vegetazione ai fini della insolazione e delle migliori condizioni sanitarie (quelle che inibiscono lo sviluppo dei patogeni). E' utile sottolineare a tal proposito come le esperienze di minimal pruning o no pruning siano state ormai abbandonate sia nella gestone dei frutteti come dei vigneti dove la meccanizzazione è, nonostante ciò considerata integrale.

Tecnologie e tecniche innovative sviluppate nell'ambito del progetto

La necessità di mantenere un'olivicoltura produttiva in tutte le olivicolture descritte precedentemente con criteri di razionalità, hanno indirizzato le ricerche verso lo sviluppo di soluzioni che potessero supplire alle problematiche derivanti dalla fase di raccolta, responsabile dal 50% al 70% dei costi complessivi dell'intera filiera colturale e la potatura per il 30 - 40%. Le nostre esperienze hanno prodotto negli anni, tre casi significativi di successo nello sviluppo di cantieri di raccolta meccanizzata integrale delle olive da olio:

- il **modulo integrato UNIFI** (scuotitore, ombrello rovescio, gruppo di pulizia e stoccaggio) montato su escavatore. Brevettato dall'Università di Firenze nel 2002 con approvazione *n° 0001333945*/2004 e liberalizzato nel 2008 per renderne fruibile la tecnologia su vasta scala.
- il cantiere ***A(Andreucci)*** **di E. TERENZI** derivato dal primo ma composto da una nuova pinza "Andreucci" e da due unità distinte: una per il distacco per scuotimento e una per la raccolta con ombrello rivescio e gruppo di pulizia e stoccaggio.
- La macchina innovativa **CRF OLIVE TWO** per la raccolta laterale in continuo. Progettata sul principio della pettinatura consente, mediante soluzioni quali il distacco a 4 aspi (5° opzionale), un sistema di pulizia e stoccaggio temporaneo, la raccolta in continuo lungo il fianco del filare in impianti realizzati con cultivar tipiche dell'olivicoltura nazionale.

Nei contesti olivicoli in cui vi è una regolarità nelle geometrie degli impianti con piante caratterizzate da volumi delle chiome fino a 50 - 60 m^3 con sesti da 5x5 m a 6x6 m attualmente l'impiego dei cantieri *A(Andreucci)* di E.TERENZI e UNIFI garantiscono i migliori risultati in termini di produttività giornaliera (tonellate/giorno o piante/giorno). Il modulo integrato UNIFI e similari allestimenti utilizzati in cantieri sperimentali del centro Italia confermano i valori ormai ampiamente diffusi in letteratura che si attestano a circa 200 piante raccolte al giorno.

In oliveti con densità che si spingono fino a 600-700 piante/ha, lo scuotiore può essere impiegato a patto di una riorganizzazione della chioma in fase di potatura, che deve prevedere l'apertura di finestre di aggancio per la pinza e dell'impiego di teli movimentati meccanicamente per l'intercettazione ed il recupero delle olive. Mettere in atto questi accorgimenti può determinare il raggiungimento dei valori di produttività dei cantieri precedentemente descritti.

Quando si hanno densità di impianto superiori a 800 piante/ha che comportano la formazione di una parete piatta continua è necessario l'impiego di macchine per la raccolta in continuo. Attualmente l'unica soluzione che permette di attuarla su varietà tipiche e quindi in impianti che mantengono architetture fino ai 4-5 m in altezza e danno sufficientemente libertà di sviluppo anche in sezione trasversale, è rappresentata dalla CRF OLIVE TWO.

Per quanto riguarda la potatura le prove che sono state effettuate hanno messo a confronto differenti tecniche di esecuzione e di tecnologie impiegate, i risultati pongono in evidenza come l'adozione della tecnica "potatura minima" e il ricorso ad utensili agevolatori possa sensibilmente comportare una riduzione dei tempi di esecuzione e pertanto dei costi. Pertanto al fine del contenimento dei costi per l'olivicoltura toscana e non solo, oggi è quanto mai indispensabile rivedere i cantieri di potatura che sulla base delle pluriennali rilevazioni svolte nei differenti contesti presenti sul territorio toscano dovrebbero orientarsi verso nuovi modelli di conduzione non mirati all'ottenimento di geometrie perfette da un punto di vista estetico ma piuttosto regolati dalle variabili "costo di esecuzione" , "elevata produzione unitaria" , " predisposizione per la raccolta ".

Conclusioni

Il progetto ha evidenziato con la situazione attuale della olivicoltura italiana, le richieste degli olivicoltori diventati oggi imprenditori, gli studi e le tante ricerche di settore, l'urgenza di una innovazione strutturale e produttiva. Il modello del superintensivo spagnolo associato alla meccanizzazione integrale rappresenta una risposta netta e interessante; è imperativa d'altronde la consapevolezza che una olivicoltura così diversificata come quella italiana con circa 1 milione di aziende su oltre 1 milione di ettari richiede un prudente, quanto intenso, impegno per dare strumenti imprenditoriali e non formule "chiavi in mano". La paralisi strutturale del settore olivicolo impone un rinnovamento consapevole che tenga conto della necessità di coniugare tradizione ed innovazione in un "modello produttivo toscano" che non può prescinde-

re dai valori della qualità, tipicità, legame con il territorio e la sua cultura.

Pur nell'ottica della necessaria ricostruzione di una olivicoltura altamente produttiva ed efficiente al pari della viticoltura e della frutticoltura moderna, lo scenario delle aziende olivicole italiane si trova ad affrontare un periodo di passaggio che si può stimare in non meno di 10-20 anni; periodo in cui comunque è necessario dare all'aziende soluzioni che aumentino produttività ed efficienza.

I tre cantieri di raccolta sviluppati nel progetto M.A.T.E.O. e l'adozione della tecnica di potatura minima realizzata con utensili agevolatori costituiscono attualmente le soluzioni che possono contribuire alla riduzione dei costi colturali dell'olivicoltura nella maggior parte dei contesti olivicoli presenti sul territorio nazionale.

Parallelamnte allo sviluppo di nuove tecniche, tecnologie e macchinari, oggi risulta indispensabile l'aggregazione degli investimenti e il loro impiego su aree sufficienti, ed ammortizzarli con soluzioni quali:

- lo sviluppo dei servizi di contoterzismo o dell'uso consortile;
- la formazione di esperti e operatori tecnici;
- l'accordo e l'aggregazione territoriale;
- la riconversione o ricostituzione strutturale degli impianti (laddove possibile e utile);
- la creazione di adeguati accessi nelle aree difficili.

A monte delle valutazioni appena esposte per una proficua introduzione della meccanizzazione, sia in fase di progettazione che di conduzione, c'è la conoscenza del binomio pianta-territorio. E' perciò auspicabile una zonizzazione del contesto produttivo che individui, in fase di pre-impianto per ogni zona di produzione, le cultivar che esprimono al meglio il loro potenziale produttivo, così da ammortizzare agevolmente gli investimenti in tecnologie. Durante le fasi colturali, l'ottimale gestione agronomica degli impianti deve porre tutte le condizioni per consentire alla singola pianta di produrre "quantità" e "qualità", in modo costante per tutta la durata dell'impianto. Per il raggiungimento di questi obiettivi è auspicabile l'introduzione delle moderne tecnologie che supportino gli operatori nei processi decisionali e nel controllo del processo produttivo riducendo le inefficienze produttive.

Riassunto

L'olivicoltura in Toscana, così come in altre regioni italiane, oltre a costituire un carattere distintivo del paesaggio rappresenta una importante risorsa economica e sociale per le aziende agricole e per il territorio. L'olivicoltura odierna, salvo limitati casi di successo, è strutturalmente assimilabile a quella attuata 50 anni fa, costituita da impianti vecchi non razionali realizzati seguendo sistemi di conduzione derivanti frequentemente dagli usi e dalle consuetudini che sono tramandate di generazione in generazione. Tale situazione si ripercuote anche a livello della meccanizzazione aziendale che in molti casi appare inadeguata o mal gestita. L'ampia diversificazione delle caratteristiche delle zone di coltivazione e degli oliveti fanno si che non si possa definire una via univoca alla risoluzione delle problematiche di questo settore. Obiettivo del progetto MATEO (Modelli Aziendali Tecnici ed Economici per la Riduzione dei Costi di Produzione nelle realtà Olivicole della Toscana) è stato la delineazione e l'individuazione delle tipologie di realtà olivicole presenti sul territorio allo scopo di definirne i modelli gestioniali-organizzativi (agronomici, di meccanizzazione, economici) e le possibili tecnologie impiegabili al fine di ridurne i costi di gestione e produzione per l'ottenimento di olio extravergine di oliva di elevata qualità. I risultati finali del progetto, frutto di un bando di ricerca promosso da ARSIA (Agenzia Regionale per lo Sviluppo e l'Innovazione in Agricoltura) nel 2005 e le innovazioni emerse da un pluriennale lavoro di comparazione fra produttori olivicoli, costruttori, tecnici e ricercatori costituiscono una risposta concreta alla tangibile crisi del settore olivicolo toscano.

Parole chiave: raccolta meccanica delle olive, mantenimento colture mediterranee tipiche

Bibliografia

GUCCI R., 2006. *Modern training systems for olive*. Olea 25: 36-37.

GUCCI R., 2006. *Una pratica a costo predeterminato*. Olivo & Olio. 9(3): 38-42.

VIERI M., 2005. *Macchine per le operazioni colturali nell'oliveto*. Speciale Olivo. Phytomagazine 14/05: 25-38.

VIERI M., 2005. *Operazioni di raccolta delle olive*. Speciale Olivo. Phytomagazine 14/05: 59-77.

VIERI M., 2006. *Progressi della meccanizzazione nella Olivicoltura*. Giornata di studio "Evoluzione in atto per l'Olivicoltura" Accademia dei Georgofili – Firenze 19 ottobre.

VIERI M., 2008. *Una nuova macchina, tutta italiana, per la raccolta in continuo degli oliveti*. Teatro Naturale 2/2008.

VIERI M. GUCCI R., 2008. *Tutte le tecnologie per risparmiare sui costi*. Olivo & Olio. 11(1): 34-41.

VIERI M., RIMEDIOTTI M., DAOU M., 2006. *Come dare un taglio ai costi di raccolta*. Olivo e Olio 10/06, 28-33.

VIERI M., GABRIELLI F., GUCCI R., POLIDORI R., VIERI. M., ZAMMARCHI L., 2008. *Riduzione dei costi in olivicoltura: soluzioni tecnico-economiche*. L'Informatore agrario, 37/08, 27-44.

Un triennio di raccolta meccanica per promuovere l'olivicoltura in Umbria

Tombesi A.[1*], Farinelli D.[1], Ruffolo M.[1], Scatolini G.[2] e Siena M.[2]
[1] *Dipartimento Scienze Agrarie e Ambientali, Università di Perugia*
[2] *Società Agricola APROL , Perugia*

Three years of mechanical harvesting to improve olive culture in Umbria region

Abstract. On 2006 trunk shakers with reverse umbrella on single trunk trees derived by rejuvenation at trunk base after frost of 1956 and on trees replanted after frost of 1985 were tested. On 2007 a trunk shaker with reverse umbrella and a trunk shaker on trailer towed by a tractor on young orchard were employed. On 2008 a trunk shaker with a reverse umbrella and a trunk shaker on trailer towed by a tractor on big trees were utilised. The results showed optimal performances of trunk shakers specially when they have a reverse umbrella interceptor. They worked well also on 20-25% sloping soil; they can harvest from 30 to 60 trees/h and the operation is safety and without tiring. The agronomic characteristics influence the machine performance as production, canopy volume, fruit size and the optimal harvesting period. Adapted trees to mechanical harvesting make the olive culture more efficient and profitable.

Key words: olive, mechanical harvesting, trunk shaker.

Introduzione

Le possibilità di meccanizzazione della raccolta delle olive sono state a lungo analizzate e sottoposte a prove sperimentali. Le macchine più valide per gli impianti di larga diffusione e tradizionali sono risultate i vibratori di tronco che usufruiscono di un intercettatore meccanizzato. Tuttavia questi debbono essere efficienti nel distacco dei frutti, debbono poi evitare danni e debbono essere utilizzati in condizioni agronomiche favorevoli che riguardano: la distanza di piantagione, la forma di allevamento, la cultivar, la orografia, l'epoca ottimale di raccolta, la dimensione della chioma, la produzione. Infatti la integrazione tra la macchina e la pianta rappresenta il tema maggiormente discusso e sviluppato durante gli ultimi anni. I vibratori di tronco montati su carrello hanno riscosso un elevato interesse da parte degli olivicoltori in quanto sono trainati da trattrici facilmente disponibili in azienda, sono elastici nel loro impiego, ma, se non dispongono dell'intercettatore, richiedono personale per la gestione delle reti sottoposto ad affaticamento. Le ipotesi di impiego delle macchine e le raccomandazioni debbono essere verificate nelle aziende per valutare il loro comportamento e la rispondenza nelle tipologie di oliveto prevalenti o indicative del territorio.

Materiali, metodi e risultati

Nel 2006 si è operato vicino Trevi, PG, con le macchine commerciali prodotte dalle ditte:

- Berardinucci con il modello Tornado costituito da un vibratore orbitale e pinza avvolgente con ombrello rovescio trainato da trattrice di serie a quattro ruote motrici;
- Verdegiglio, mod. UMA 88, con vibratore multidirezionale e pinza avvolgente e ombrello intercettatore;
- Matek con il mod. MOR01 con testata a vibrazione multidirezionale e ombrello rovescio su trattrice di serie a cingoli .

Le piante, della cultivar Moraiolo, erano di due tipologie:

- Olivi ricostituiti dopo la gelata del 1956 su più tronchi e riconvertiti ad un solo tronco nel 2002.
- Olivi di nuovo impianto in sostituzione di quelli danneggiati dalla gelata del 1985.

Il terreno era ricco di scheletro, povero, con pendenza del 20-25%. La distanza di piantagione era 6x5m. I frutti avevano un peso medio, superiore ai 2 g, la resa in olio era del 22% con una forza di distacco elevata, superiore a 6 N, pertanto la cascola era nulla e la percentuale di frutti sotto i 3 N era irrilevante, del 3,9%. Le chiome degli olivi ricostituiti erano di circa 12-13 m^3, quelle degli olivi reimpiantati di circa m^3 10. I tronchi erano in ambedue le categorie ben evidenti, superiori a m 1,2, mentre i diametri dei tronchi degli olivi ricostituiti nel 1956 erano quasi il doppio di quelli reimpiantati dopo il 1985.

Sugli olivi di nuovo impianto hanno operato le macchine Berardinucci e Verdegiglio impiegando 60-70 secondi a pianta e con rese di raccolta intorno al

* atombesi@unipg.it

76% (tab. 1). Le produzioni per pianta erano di 10-13 kg, pertanto la produttività del lavoro risultava di 259 e 241 kg di olive per ora e per operatore, rispettivamente per le macchine Berardinucci e Verdegiglio. Sulle piante ricostituite le macchine Verdegiglio e Berardinucci hanno operato con gli stessi tempi, mentre la Matek ha utilizzato tempi più lunghi per qualche interferenza dell'apparato intercettatore sulla ceppaia e per assicurarsi una presa ottimale della pinza di aggancio. Le rese di raccolta sono state dell'80-82%, simili per le tre tipologie di macchina e con produttività del lavoro di circa 120 kg per la Matek e 200 kg per le altre due. Le rese di raccolta hanno risentito della elevata forza di distacco dei frutti caratteristica della cultivar Moraiolo, nella fase di inizio della maturazione. I vibratori Berardinucci e Verdegiglio hanno operato su tutte e due le tipologie di piante con tempi ridotti e senza ostacoli, anche in terreni con una pendenza elevata, consentendo una rispondente meccanizzazione.

Per l'aspetto agronomico sono da fare le seguenti considerazioni: la ricostituzione degli olivi dopo la gelata sulla ceppaia fa riscontrare un rapido ripristino della produzione se impostata su più tronchi, quando poi si riduce ad uno per le esigenze della meccanizzazione, si evidenziano lo scarso sviluppo della chioma e limiti nella produzione. Infatti le piante reimpiantate hanno avuto una migliore produzione, anche se la fertilità del terreno e le tecniche di impianto e di gestione erano state non ottimali. Pertanto le colline preappenniniche che caratterizzano una importante zona di produzione della DOP Umbria, sottozona Colli Assisi-Spoleto possono essere efficacemente meccanizzate con vibratori di tronco dotati di ombrello intercettatore, con l'accorgimento di avere impianti sufficientemente giovani, impiantati e coltivati con schemi e tecniche razionali. La raccolta dovrebbe essere applicata quando la forza di distacco mostra i primi segnali di riduzione. Con le pendenze del 20-25% i vettori a cingoli e a quattro ruote motrici hanno manifestato una buona affidabilità.

Nel 2007 si è operato nella sottozona dei Colli del Trasimeno, alla periferia di Magione (PG) ad un'altitudine di 400 m s.l.m.; il terreno era di medio impasto, tendente allo sciolto con una pendenza del 15%. Il periodo di raccolta è stato determinato con il rilievo delle caratteristiche dei frutti a distanza di 10-15 giorni circa. L'8 novembre 2007 è stata eseguita la raccolta quando si avevano le condizioni ottimali.

Le macchine sono state scelte tra quelle che avevano mostrato una elevata efficienza in occasione della 2ª giornata nazionale di meccanizzazione della raccolta delle olive che si era tenuta ad Orvieto il 3-11-07 e tra quelle che hanno dato la disponibilità a partecipare alla prova. Esse sono state: Spedo costituito da uno scuotitore orbitale montato su braccio mobile e portato da un carrello trainato da trattrice di 70 kW, gestito nei movimenti con comando radio; il vibratore Gemon con ombrello rovescio montato su trattrice industriale a cingoli ed il vibratore Matek con ombrello rovescio montato su trattore agricolo a cingoli. Ogni macchina ha operato in una fila di circa 30 piante. Le piante utilizzate per la raccolta erano poste alla distanza di m 5x5, avevano una età di circa 20 anni, appartenevano alla cultivar Leccino ed erano allevate a vaso. La potatura era eseguita con media intensità e regolarità, il terreno era sottoposto ad inerbimento naturale ed a sfalciature ripetute durante l'anno. Le chiome erano formate in media da 4 branche ed avevano un diametro ed un'altezza di circa 3 m e raggiungevano un volume intorno a 26 m^3. Il tronco aveva un diametro di 20 cm circa ed un'altezza libera dal suolo da 0,70 a 0,87 m .

Alla raccolta i frutti avevano un peso medio di 1,66 g, con un contenuto in acqua del 50% ed un contenuto in olio sul fresco del 20% circa.

La cascola era appena iniziata e la forza di distacco era pari a 4,2 N, una quota del 15-20% dei frutti aveva una forza di distacco inferiore a 3 N, valori considerati a livello ottimale per iniziare la raccolta. Le drupe erano completamente invaiate in superficie, mentre la polpa era ancora ricca di clorofilla.

Tab. 1 - Caratteristiche della raccolta.
Tab. 1 - Harvesting results.

Tipologia	Macchina	Produzione olive (kg/pianta)	Resa di raccolta (%)	N. addetti al cantiere	Tempo impiegato (secondi/pianta)	Produttività del lavoro del cantiere		
						piante/h	kg/h	kg/h persona
Nuovo impianto	Berardinucci	12,9	75,97	2	68	53	518	259
	Verdegiglio	9,92	75,63	2	56	64	482	241
Ricostituite	Berardinucci	10,0	80,00	2	70	51	411	205
	Verdegiglio	7,43	82,70	2	63	57	351	176
	Matek	9,00	82,20	2	111	33	240	120

Per la raccolta le macchine hanno proceduto dal basso verso l'alto per i vibratori provvisti di ombrello rovescio, cioè per il Gemon e per il Matek, mentre lo Spedo, utilizzando le reti per la intercettazione delle olive, si è organizzato procedendo dall'alto in basso.

I tre vibratori hanno determinato il distacco del 95-98% del prodotto ed in un'ora hanno raccolto 36 piante il Gemon e 28 piante il Matek e lo Spedo (tab. 2). La velocità di raccolta in qualche caso è stata rallentata dalla presenza di una impalcatura troppo bassa. Parte del tempo impiegato per ogni pianta è servito per aggiustare le bande di protezione delle ganasce sul tronco e per verificare che la parte inferiore del tronco fosse ben aderente alle gomme di chiusura del cassone di intercettazione del prodotto. La vibrazione era breve, intorno a 10 secondi, con azioni continuate o con brevi interruzioni tra il primo ed il successivo intervento.

Il cantiere era di due persone per il Gemon e Matek, uno al trattore e l'altro collaborava per assicurare un valido aggancio del vibratore alla pianta. Per lo Spedo erano necessari due operatori per la macchina e 4 altri adibiti allo spostamento delle reti ed al recupero del prodotto.

Le quantità di olive raccolte per pianta erano di circa 5,5 kg per il Gemon ed il Matek, mentre dalle piante raccolte con lo Spedo erano ottenuti 9,44 kg. Ciò derivava dal fatto che questa ultima macchina era applicata a piante con una produzione media, tralasciando quelle con produzione scarsa. La produttività oraria delle persone impiegate era di 103 kg per il Gemon, di 77 per il Matek e di 44 per lo Spedo. I tre cantieri raccoglievano in un'ora 206, 154 e 264 kg di olive rispettivamente.

Dai risultati ottenuti emergono diverse considerazioni:

- In corrispondenza del periodo ottimale di raccolta e con piante con volumi di 25-26 m^3 si ha una raccolta quasi totale del prodotto.
- Per l'uso dei vibratori di tronco con intercettatore ad ombrello rovescio è necessario avere piante con tronchi alti almeno 1 m , meglio se l'impalcatura è posta a m 1,20. Ciò abbrevia il tempo necessario per l'aggancio del vibratore e la sistemazione dell'intercettatore.
- I vibratori di tronco ed intercettatori ad ombrello rovescio raccolgono facilmente più di 30 piante l'ora.
- I vibratori di tronco con intercettatore ad ombrello rovescio riducono drasticamente la manodopera necessaria e questa non è sottoposta a fatica.
- La produttività del lavoro dipende principalmente dalla produzione per pianta.

Nel 2008 è stato scelto un oliveto tradizionale posto nelle colline adiacenti il Lago Trasimeno con la varietà prevalente Leccino. Gli olivi di 50 anni erano allevati a vaso libero, con volumi di chioma elevati, da 35 a 46 m^3, con tronchi del diametro di m 0,21-0,24 e liberi da branche per m 1,00-1,12. Il terreno era inerbito e poca attenzione era stata riservata alla potatura della chioma che risultava molto densa.

Le macchine utilizzate erano la Gemon già impiegata in prove precedenti e la Berardinucci modello Tornado, con vibratore montato su carrello trainato da trattrice di 50 kW. Il cantiere della Gemon era composto da 2 operatori, quello della Berardinucci da 5 addetti. La raccolta era eseguita l'11 Novembre in un periodo ritenuto leggermente in anticipo rispetto al periodo ottimale di raccolta. Le macchine hanno operato su circa 30 piante ciascuna.

La produzione era abbondante ed i frutti avevano un peso limitato, di 1,6 g circa, con un contenuto in acqua inferiore alla media, con un'elevata consistenza della polpa. La forza di distacco era intorno a 4,5 N, la cascola era assente, la resa in olio era del 13% circa.

In queste condizioni le macchine in prova hanno impiegato 51 ed 80 secondi per pianta, con rese di raccolta del 80-81% (tab. 3). Pertanto il cantiere della Gemon e quello della Berardinucci hanno raccolto in un'ora 1.300-1.400 kg di olive e, in funzione delle persone impiegate, la produttività del lavoro risultava di 266 quando erano utilizzate le reti per la intercettazione del prodotto e 720 kg/h.persona quando si impiegava la macchina con intercettatore ad ombrello rovescio.

Le considerazioni che emergono da questa prova sono le seguenti:

- Sono state ottenute rese di raccolta intorno all'80%, che possono essere ritenute appena soddisfacenti. Esse sono state determinate in primo

Tab. 2 - Caratteristiche della raccolta.
Tab. 2 - Harvesting results.

Macchina	Produzione olive (kg/pianta)	Resa di raccolta (%)	N. addetti al cantiere	Piante/ora cantiere (n.)	Produttività del lavoro del cantiere (kg/h persona)
Gemon	98,28	5,74	2	36,05	103,46
Matek	95,44	5,35	2	28,87	77,22
Spedo	96,33	9,44	2+4	28,10	44,21

Tab. 3 - Parametri di raccolta.
Tab. 3 - Harvesting results.

Macchina	Produzione olive (kg/pianta)	Resa di raccolta (%)	N. addetti al cantiere	Tempo impiegato (secondi/pianta)	Produttività del lavoro del cantiere		
					piante/h	kg/h	kg/h persona
Berardinucci	37	80,43	5	80,46	44,74	1.331	266
Verdegiglio	25	81,08	2	50,65	71,08	1.440	720

luogo dal limitato peso dei frutti per eccessiva carica di produzione e per qualche carenza nella gestione del suolo; dai volumi di chioma elevati, al limite delle capacità operative delle macchine impiegate; dalla mancanza di una potatura razionale della chioma tesa a moderare la produzione e a rendere le branche fruttifere più reattive alle vibrazioni.

- Sono state sorprendenti le capacità operative delle macchine, con 45-70 piante ad ora, rispettivamente per il cantiere con reti e con intercettatore ad ombrello rovescio. Di conseguenza sono veramente elevate le produttività del lavoro del cantiere e per ogni operatore utilizzato.

L'impiego delle macchine è risultato particolarmente interessante per la rapidità di esecuzione della operazione e per la quantità di prodotto raccolto dal cantiere.

Questi risultati mettono in evidenza l'importanza della disponibilità di piante adatte e della gestione della pianta con opportune tecniche colturali. Infatti le piante, in cui la raccolta è stata eseguita, erano in un terreno in leggero declivio perfettamente adatto alla meccanizzazione. Gli olivi avevano una chioma di dimensioni al limite delle capacità operative dei vibratori impiegati. Le piante avevano una carica elevata e le dimensioni dei frutti erano ridotte rispetto a quelle consuete della varietà. Pertanto un'adeguata riduzione del volume e della densità della chioma avrebbe aumentato la efficacia della vibrazione e consentito una carica di frutti più regolare ed una maggiore dimensione delle olive. Questi fattori, nel loro insieme, contribuirebbero a migliorare soprattutto le rese di raccolta. Su queste anche la scelta del periodo ottimale con forze di distacco leggermente più basse porterebbe sicuri vantaggi. Sulla dimensione dei frutti potrebbero agire positivamente anche una razionale concimazione ed una corretta gestione del suolo per assicurare un buon accumulo ed utilizzo delle risorse idriche.

Conclusioni

L'esperienza acquisita durante un triennio della applicazione delle macchine nella raccolta delle olive in Umbria ha evidenziato per le macchine ottime prestazioni, soprattutto quando sono dotate di ombrello intercettatore, che riduce fortemente l'uso di manodopera. Infatti sia i vibratori montati su carrello trainato da trattrici che quelli montati su trattrici agricole di serie e industriali hanno mostrato di lavorare bene fino a pendenze del 20-25%. In condizioni operative efficienti riescono a raccogliere da 30 a 60 piante in un'ora, rendendo l'operazione molto veloce, sicura e senza problemi di affaticamento degli operatori.

A fronte delle buone prestazioni delle macchine è emersa la grande importanza delle caratteristiche delle piante e delle condizioni agronomiche nello influenzare le capacità operative delle macchine. Prima di tutto la produzione per pianta. Anche con produzioni di 5-6 kg/pianta, con altre condizioni ottimali si ottiene una produttività del cantiere vicino ai 200 kg/ora, che può essere ritenuta sufficiente per giustificare l'impiego della macchina. Naturalmente la situazione diventa particolarmente vantaggiosa se si passa a 10, 15, 20 kg /pianta. Altro elemento importante è risultato il volume e la gestione della chioma. I volumi di 20-30 m^3 con regolare potatura hanno mostrato una elevata efficienza. Quando sono dell'ordine di 40-45 m^3 sembrano essere al limite della capacità dei vibratori di media potenza, soprattutto se le chiome sono troppo dense e non potate da qualche tempo. I frutti debbono avere un buon peso, almeno vicino o sopra i 2 g. Ciò dipende dalla varietà, dalla carica di produzione, dalla potatura e dalla applicazione di razionali tecniche colturali. Altro elemento è il periodo ottimale di raccolta.

In conclusione la meccanizzazione e la efficienza delle macchine sono sempre più legate alla disponibilità di modelli produttivi adatti e di tecniche colturali adeguate, che non solo realizzano l'obiettivo di adattamento alle macchine, ma contribuiscono a rendere la coltura più efficiente e redditizia. Pertanto nuovi impianti e tecniche colturali intensive promuovono la produzione ed esaltano la rispondenza alla raccolta meccanica.

Riassunto

I vibratori di tronco con intercettatore delle olive ad ombrello rovescio sono una soluzione tra le più

efficienti per la meccanizzazione della raccolta. Sono state pertanto utilizzate differenti macchine in diverse tipologie di impianto per verificare le loro prestazioni e per acquisire informazioni sulle tecniche da adottare per migliorare il loro utilizzo e per rendere più efficiente la gestione della coltura. Tre tipologie di macchine (MATEK, BERARDINUCCI, VERDEGIGLIO), su piante di Moraiolo di nuovo impianto dopo il 1985 o ricostituite dopo la gelata del 1956 con la riduzione ad un solo tronco, hanno fatto riscontrare rispettivamente percentuali di raccolta del 76% e del 80-82 %. Le piante raccolte ad ora erano intorno a 30 con una produttività del lavoro di circa 200 kg/ora operatore. La elevata forza di distacco delle olive, dovuta ad una precoce raccolta, ha limitato le rese di raccolta ed i tronchi singoli di piante ricostituite alla base non garantiscono sufficienti produzioni per ettaro e pertanto il rinnovo degli impianti offre maggiori garanzie nei confronti della ricostituzione. Una seconda prova era effettuata su terreno con una pendenza superiore al 15% con la varietà Leccino, alberi di 20 anni e volumi di chioma di circa 26 m^3. Sono state impiegate le macchine GEMON, MATEK e SPEDO. Si sono ottenute rese di raccolta del 95-98%. Si sono raccolte facilmente più di 30 piante per ora. In tali condizioni un ulteriore miglioramento della efficienza può essere realizzata promovendo la produzione per pianta attraverso adeguate tecniche colturali.

Un'ulteriore prova è stata effettuata con le macchine GEMON e BERARDINUCCI in un oliveto di 50 anni della cultivar Leccino con chiome di volume superiore a 40 m^3. In condizioni di alta produzione, con frutti tendenzialmente piccoli e con forza di distacco medio-elavata, le rese di raccolta sono state del 80-81%, con una produttività del lavoro superiore a 800 kg/ora persona. E' opportuno gestire meglio le chiome, per ridurre il volume e per stimolare una produzione regolare. Le macchine più efficienti per la raccolta possono essere impiegate in molte situazioni e migliorano le loro prestazioni con l'adattamento delle piantagioni e la scelta dei periodi ottimali di raccolta.

Parole chiave: olivo, raccolta meccanica, vibratori di tronco.

Bibliografia

PAMPANINI R., PIGNATARO F., 2008. *Aspetti economici della competitività in olivicoltura*. Atti del convegno COM.SI.OL, Accademia Nazionale dell'Olivo e dell'Olio, Spoleto (PG): 53-74.

TOMBESI A., 2008. *La meccanizzazione della raccolta per lo sviluppo della olivicoltura italiana*. Atti del convegno COM.SI.OL, Accademia Nazionale dell'Olivo e dell'Olio, Spoleto (PG): 17-39.

Comportamento agronomico di un impianto superintensivo di olivo in Sicilia sottoposto a irrigazione "in deficit"

Campisi G., Caruso T., Farina G., Marino G. e Marra F.P.
Dipartimento di Colture Arboree, Università di Palermo

Effects of Deficit Irrigation Management on Eco physiological and Horticultural Parameters in Arbequina olive (*O. europaea sativa* L.) trees in a super-high density orchard

Abstract. Aim of the study was to evaluate in Sicily the effect of "Deficit irrigation" management in a super-high density planting system(1900 trees/ha) of Arbequina olive (Olea europaea sativa) trees. Researches consisted in four different irrigation levels that received a seasonal water amount equivalent to 60%, 70%, 80% and 100% of crop evapotranspiration (Etc), estimated with the Penman-Montheit equation. Rain fed control trees were also included in the trials. The effect of the various degree of satisfaction of the water demand, calculated as above reported, on the trees has been evaluated both from an ecophysiological and an horticultural point of view. Stem water potential (SWP), photosynthesis (An), leaf transpiration and stomatal conductance (gs) were recorded on the trees from dawn to sunset, during August and September, when evaporative demand reached the highest values in the summer season coupled with water shortage into the soil. At harvest were recorded weight of fruit crop and vegetative biomass pruned/tree. Fruit weight, pit to stone ratio and the oil content of the fruit were also determined in the laboratory. Results evidenced the positive effects that can be achieved managing super high-density planting system by deficit irrigation strategies. Yield was positively correlated to the amount of water supplied up to 1900 m^3/ha. Fruit oil content was negatively affected by irrigation.

Key words: super high-density planting system, irrigation, stem water potential, gas exchanges.

Introduzione

Così come è avvenuto per la frutticoltura, anche per l'olivicoltura di rende necessario aggiornare i criteri agronomici cui fare riferimento per progettare e gestire i nuovi impianti che non possono prescindere da alcuni requisiti fondamentali: breve periodo improduttivo, elevate produzioni unitarie, costanza di produzione e meccanizzazione integrale della raccolta (Tous *et al*., 1999).

Sotto l'aspetto agronomico, per pervenire ai suddetti obiettivi, è oggi indispensabile disporre di genotipi di modesto vigore e mettere a punto tecniche di gestione colturale in grado di contenere la crescita vegetativa che potrebbe risultare, ai fini dell'efficienza produttiva dell'impianto, superflua. In tale ambito di ricerca, per gran parte delle specie frutticole, l'attività svolta a livello nazionale ed internazionale ha, nel corso degli anni, messo a punto tecniche di gestione colturale in grado di deprimere la crescita vegetativa. In particolare la corretta gestione della pratica irrigua, ha consentito, per molte specie arboree da frutto, di ridurre la crescita vegetativa della pianta senza alterarne l'efficienza produttiva.

Un eccesso d'irrigazione, oltre a essere causa di sprechi di acqua, può infatti provocare effetti indesiderati quali rigoglio vegetativo e, di conseguenza, maggiore sensibilità delle piante agli stress abiotici, come ad esempio le basse temperature, e a quelli biotici tra i quali insetti (es. margaronia) e funghi (cicloconio, cercosporiosi). Negli ultimi anni, con l'introduzione della pratica irrigua anche nell'olivicoltura da olio, numerose ricerche sono state intraprese per valutare gli effetti del deficit idrico controllato sulla produttività delle piante, sul tasso di crescita dei frutti, sulla fenologia di maturazione, e sulle caratteristiche qualitative degli oli (Patumi *et al*. 1999 e 2002; Motilva *et al*. 2000; Moriana *et al*. 2003; Gucci *et al*. 2007, Servili *et al*. 2007).

Malgrado siano numerose le esperienze condotte sull'irrigazione dell'olivo, risulta che le indagini sono per lo più state effettuate su impianti tradizionali, contraddistinti da bassa o media densità e basati su forme di allevamento a vaso o a monocono (Gucci; Xiloyannis 2003). Minore risulta invece l'attività di ricerca condotta sugli impianti superintensivi (Tovar *et al*. 2002) che, caratterizzati da un elevato Leaf Area Index (LAI), presentano una elevata richiesta evapotraspirativa e quindi un più elevato fabbisogno di acqua.

Obiettivo delle ricerche delle quali si riferisce nella presente nota era valutare la risposta di piante di

olivo della cultivar Arbequina, allevate secondo il modello superintensivo, a livelli di irrigazione subottimali. Si è, in particolare, focalizzata l'attenzione sulle relazioni tra quantitativi di acqua erogata, stato idrico della pianta, scambi gassosi, efficienza produttiva della pianta e qualità del prodotto.

Materiali e metodi

Le ricerche sono state effettuate nel 2008 presso un oliveto commerciale che ricade su una tipica "terra rosso mediterranea", ubicato nel territorio comunale di Marsala (TP), azienda agricola Gandolfo.

Le piante oggetto di studio, della cultivar Arbequina, sono state impiantate nel 2004, e disposte sul terreno secondo un sesto di 1,5 x 3,5 m, pari a una densità di impianto di circa 1.900 piante ad ettaro.

L'oliveto è dotato di un sistema di microirrigazione, con un'ala gocciolante disposta lungo ciascun filare sulla quale sono inseriti, ad intervalli di 50 cm., irrigatori in linea, di tipo autocompensante capaci di erogare 1,6 l/ora. Alla "testata" di ciascuna ala gocciolante è stato installato un contatore meccanico per la misurazione della quantità di acqua erogata. Per la gestione del programma d'irrigazione, in rapporto alle tesi e alle repliche/tesi a confronto, sono state montate in punti ben definiti dell'impianto d'irrigazione elettrovalvole comandate da timer.

Nel complesso sono stati posti a confronto 5 diversi trattamenti rappresentati da un controllo asciutto (T0) e da 4 diversi quantitativi di acqua erogati (T1, T2, T3 e T4), ottenuti restituendo rispettivamente circa il 60, 70%, 80% e 100% dell'evapotraspirazione della coltura. E' stato adottato lo schema sperimentale a blocchi randomizzati, complessivamente 5, costituiti da 25 piante ciascuno, all'interno dei quali 5 alberi, selezionati a random, nel corso delle prove, sono stati oggetto dei rilevamenti in programma. Il fabbisogno irriguo è stato calcolato in base all'equazione di Penman-Montheith (ETc = ETPo*Kc*Kr) dove i valori di ETP_0 (evapotraspirazione potenziale) sono stati desunti dai dati rilevati dal Servizio Informativo Agrometerologico della Sicilia (SIAS), stazione di Marsala; Kc è il coefficiente colturale dell'olivo (0,6/0,7); Kr il coefficiente di copertura del suolo, stimato empiricamente sulla base delle dimensioni delle piante (0,70 per le presenti prove). I volumi irrigui stagionali, effettivamente erogati per le diverse tesi durante la stagione irrigua (maggio–ottobre) sono stati di 2714 m^3/ha, 2214 m^3/ha, 1904 m^3/ha, 1595 m^3/ha e 60 m^3/ha (irrigazione di soccorso) rispettivamente per le tesi T4, T3, T2, T1 e T0.

I rilievi di potenziale idrico (STEM) sono stati effettuati il 4 settembre e il 9 ottobre, nel corso dell'intera giornata, a partire dall'alba (*pre-dawn*) fino al pomeriggio, tramite l'utilizzo della camera di Scholander, con intervalli di 3 ore, su foglie non traspiranti, condizione ottenuta coprendole con film di plastica e, sovrapposto a esso, uno di alluminio (Begg e Turner, 1970). In concomitanza con ciascun rilievo di potenziale idrico sono stati misurati i principali parametri ecofisiologici: attività fotosintetica massima (Amax, μmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$) e conduttanza stomatica dell'H_2O (gs, mmol H_2O m^{-2} s^{-1}). Le misure sono state effettuate in due diversi momenti della giornata (mattina e pomeriggio) per mezzo di un analizzatore di gas (CO_2 e H_2O) a raggi infrarossi (IRGA) portatile CIRAS-2 (PP system®), dotato di una camera di assimilazione automatica (Parkinson Leaf Cuvette).

Con cadenza settimanale, a partire dal 4 agosto e fino alla raccolta, è stato rilevato l'accrescimento di un campione di frutti dei quali sono stati rilevati diametro equatoriale, longitudinale e trasversale.

Nell'inverno 2009 è stato determinato il peso della vegetazione asportata con la potatura da ciascuna pianta in studio.

Alla raccolta, avvenuta il 15 ottobre, è stata pesata la produzione di ciascuna pianta in osservazione; tale dato, messo in relazione all'area della sezione del tronco, ha consentito di calcolare l'efficienza produttiva.

Ai fini delle analisi di tipo qualitativo, su campioni di 30 frutti/ pianta sono state effettuate le misure del diametro equatoriale, longitudinale e trasversale della drupa intera e del nocciolo. Per calcolare il rapporto polpa/nocciolo e' stato altresì rilevato il peso di ciascuna drupa e quello del corrispondente nocciolo.

Partite di frutti provenienti da ciascuno dei trattamenti a confronto, sono stati moliti subito dopo la raccolta, presso il frantoio aziendale per il calcolo della resa in olio.

Risultati

Nel corso della stagione irrigua le prime precipitazioni utili, (40 mm) si sono verificate agli inizi di settembre,. Ulteriori precipitazioni (75 mm) si sono verificate nella prima decade di ottobre. La "domanda evapotraspirativa" è stata mediamente superiore a 50 mm fino a tutto il mese di agosto, per poi diminuire, con il manifestarsi dei primi eventi piovosi, in modo graduale, sino a 25 mm circa alla fine di ottobre. Durante tutto il periodo irriguo le temperature giornaliere hanno mostrato un'elevata escursione termica con temperature massime di circa 33°C e minime di 22 °C (fig. 1).

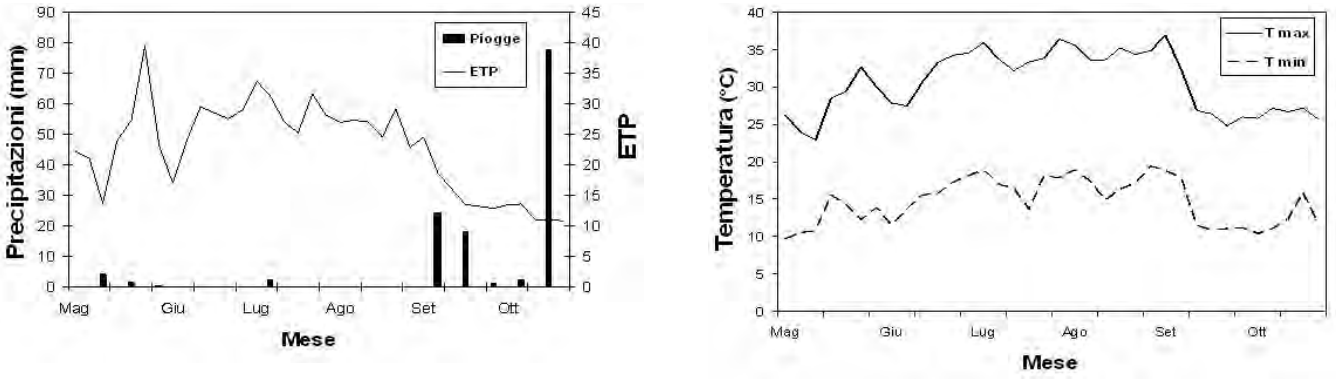


Fig. 1 - Precipitazioni, ETp, temperature massime (max) e minime (min) nel periodo maggio – ottobre. Stazione metereologica di Marsala.
Fig. 1 - Maximum (Max) and minimum (min) temperatures and rainfall recorded in the period May-October by the meteorological station located in Marsala (Trapani province).

La produzione è stata positivamente influenzata dalla quantità di acqua somministrata con l'irrigazione (fig. 2). In dettaglio, si rileva come passando dal trattamento T0 alla tesi T2 vi sia stato un incremento della produzione pari al 37,5%. I trattamenti irrigui T3 e T4 non hanno, invece, fatto registrare alcun incremento significativo della produzione media per pianta rispetto alla tesi T2.

Il rapporto polpa/nocciolo e il peso medio del frutto sono stati influenzati dall'irrigazione, come mostrato nella figura 2. Si evidenzia come i suddetti parametri si siano innalzati all'aumentare dell'acqua somministrata fino ai livelli previsti con la tesi T3, quando hanno raggiunto valori pari al doppio rispetto alla tesi non irrigata T0. La piena irrigazione (T4), non ha invece fatto registrare incrementi significativi dei parametri in argomento rispetto alla tesi T3.

L'andamento della crescita longitudinale e diametrale dei frutti (fig. 3) rilevato nelle tesi T3 e T4, evidenzia come l'irrigazione abbia determinato un accrescimento continuo delle drupe; i frutti delle piante delle tesi T0 e T1, invece, durante il mese di agosto hanno subito un arresto dell'accrescimento, che è stato recuperato lentamente a partire dalla prima decade di settembre, dopo il primo evento piovoso; nonostante la ripresa della crescita, i frutti delle tesi TO e T1 non hanno fatto registrare i medesimi valori rilevati per la tesi T4; ad un livello intermedio l'andamento della crescita dei frutti delle piante T3.

La resa in olio è risultata più elevata nelle tesi meno irrigate (T0 e T1), con valori prossimi al 20%; le altre tesi non si sono differenziate tra di loro, avendo fatto registrare una resa compresa fra 8,2 e 13,8%. Per effetto combinato della produzione e dei valori di resa in olio i quantitativi di olio prodotti per ettaro non hanno mostrato valori significativamente differenti tra i diversi trattamenti irrigui (dati non riportati).

Il peso della vegetazione asportata con la potatura è aumentato in relazione al quantitativo di acqua somministrato (fig. 4).

I valori assoluti di potenziale xilematico sono aumentati al diminuire dell'acqua somministrata (fig.

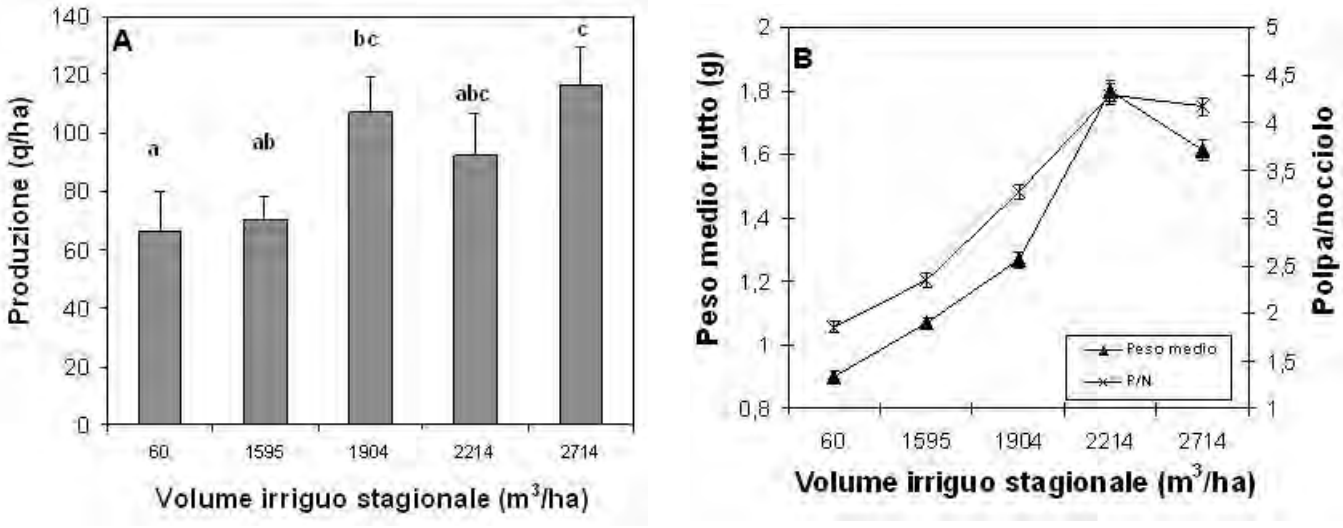


Fig. 2 - Produzione, rapporto polpa/nocciolo e peso medio dei frutti in relazione ai differenti trattamenti irrigui.
Fig. 2 - Yield/hectare, flesh/pit ratio and fruits weight as affected by irrigation treatments.

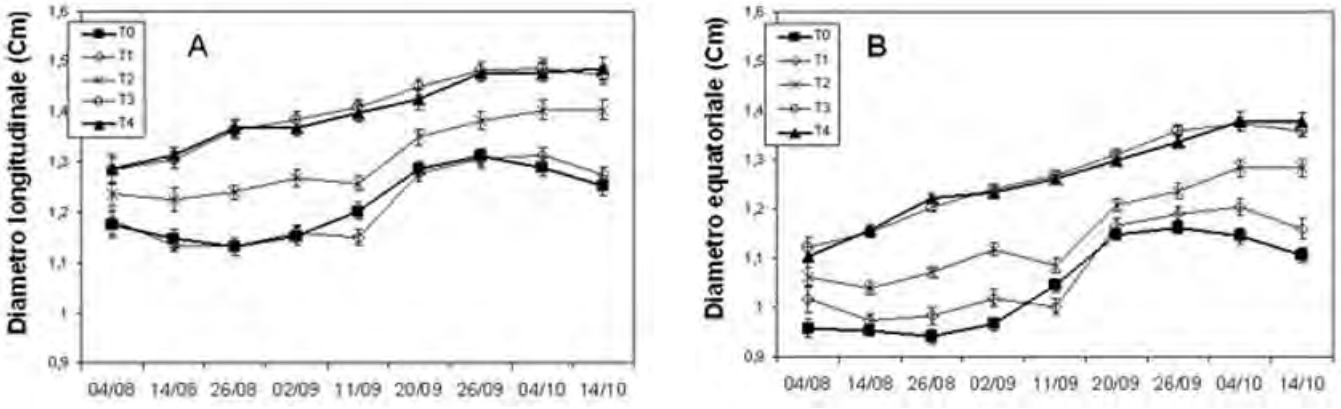


Fig. 3 - Diametro longitudinale ed equatoriale delle drupe nel corso della stagione di crescita.
Fig. 3 - Time course of longitudinal and equatorial diameters of fruits as affected by the various irrigation treatments.

5). In particolare, a settembre, prima del verificarsi degli eventi piovosi, l'andamento stagionale estivo ha determinato severi stati di stress idrico su tutte le piante. I valori più bassi di potenziale xilematico (fino a - 6,5 Mpa) sono stati riscontrati nelle piante meno irrigate mentre in quelle in cui le esigenze idriche sono state pienamente soddisfatte i valori si sono mantenuti intorno a -2,5 Mpa. Ad ottobre, in seguito al verificarsi delle prime precipitazioni, i valori del potenziale idrico, sempre in termini assoluti, sono sensibilmente diminuiti, in tutte le tesi irrigue; le differenze tra le piante abbondantemente irrigate (T2-T4) sono scomparse mentre le piante dei trattamenti T0 (-4,4 Mpa) e T1 (-2,8 Mpa) presentavano valori che denotavano stati di stress.

La fotosintesi netta (Amax) e la conduttanza stomatica (gs) sono state influenzate positivamente dalla quantità di acqua irrigua (fig. 6).

Considerazioni conclusive

Lo sviluppo di modelli di gestione dell'irrigazione negli oliveti superintensivi, in rapporto anche alle tecniche di gestione, quali potatura e concimazione, rappresenta un obiettivo importante per la diffusione che tali sistemi d'impianto avranno nei nostri ambienti di coltivazione. Infatti, a differenza degli oliveti tradizionali, negli impianti superintensivi l'irrigazione appare indispensabile ai fini della costante e abbondante fruttificazione.

Quantitativi di acqua pari al 70% del fabbisogno irriguo stagionale stimato sono risultati sufficienti a far raggiungere alle piante i più alti livelli di produzione di frutti e di olio.

A determinare tale risultato ha molto probabilmente contribuito il minore contenuto di acqua presente nelle drupe (Alegre *et al.*, 2001) delle tesi meno irrigate e/o la più difficoltosa estrazione dell'olio dalle olive delle tesi più irrigate (Pastor *et al.*, 1999 e 2005).

I rilievi di potenziale idrico hanno evidenziato stati di stress severo nelle piante delle tesi meno irrigate, indicando comunque che già quantitativi pari a 1.600 m^3/ha di acqua irrigua stagionale (T2) sono sufficienti alle piante per recuperare, a fine giornata, un adeguato stato d'idratazione e, con l'arrivo delle piogge autunnali, ripristinare condizioni idriche simili a quelle delle piante irrigate con i volumi di acqua più elevati.

La capacità di assimilazione ha risentito sensibilmente dello stato idrico delle piante; come atteso, i valori più elevati sono infatti stati riscontrati nelle piante che hanno usufruito dei maggiori quantitativi di

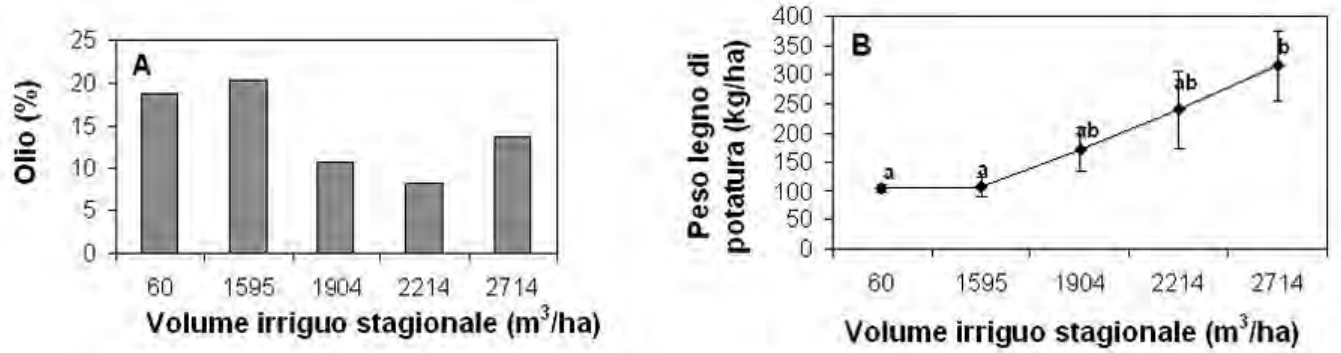


Fig. 4 - Percentuale di olio estratto da campioni di frutti e peso del legno di potatura.
Fig. 4 - Oil content (%) and weight of the vegetation pruned in olive trees as affected by the various irrigation treatments.

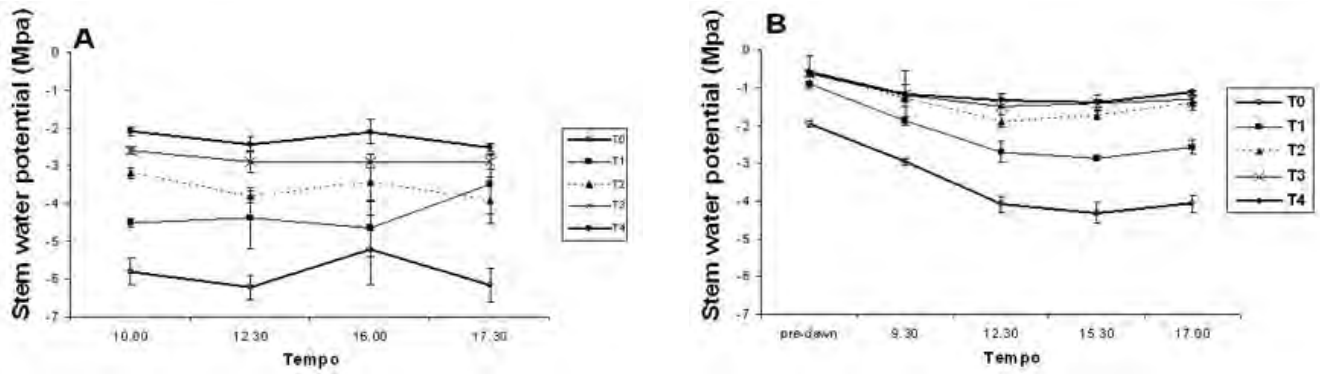


Fig. 5 - Andamento giornaliero del potenziale xilematico delle piante rilevati alla fine dell'estate (settembre) e dopo l'inizio delle precipitazioni autunnali (ottobre).

Fig. 5 - Daily course of stem water potential as affected by irrigation treatments recorded in September (before autumn rainfall) and in October (after autumn rainfall).

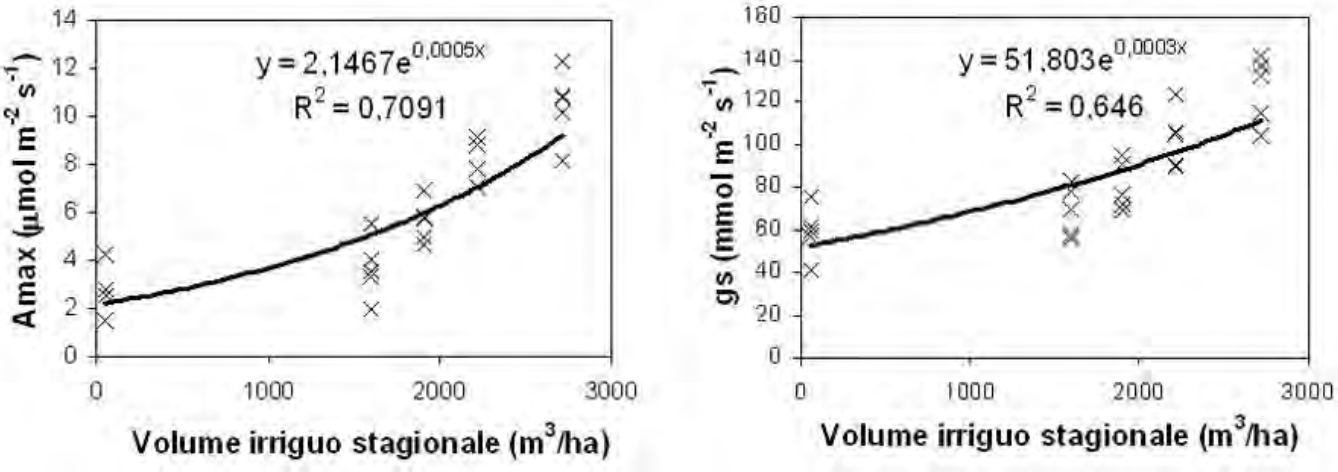


Fig. 6 - Andamento dei valori di fotosintesi netta (Amax) e di conduttanza stomatica al variare dei quantitativi di acqua somministrati nel corso della stagione irrigua.

Fig. 6 - Net Photosynthesis (Amax) and stomatal conductance (gs) values as affected by irrigation treatments (2008).

acqua. Come è noto le differenze nell'assimilazione determinate dal diverso stato idrico delle piante, possono influenzare negativamente la ricostituzione delle riserve depauperate dall'accrescimento dei frutti e dei germogli (Proietti *et al*., 1995) e, di conseguenza, giocare un ruolo non indifferente sul fenomeno dell'alternanza di produzione.

Da quanto sopra evidenziato emerge che gli effetti dell'irrigazione in deficit sulle piante devono essere valutati per più anni poiché lo stato idrico della pianta influenza non solo la produzione e l'accrescimento dei germogli dell'anno in corso ma anche la fioritura e la produzione dell'anno successivo (Samisch e Spiegel 1961).

I risultati ottenuti, pur con le limitazioni sopra sottolineate, appaiono incoraggianti ai fini della possibilità di razionalizzare l'uso dell'acqua irrigua, senza compromettere l'efficienza produttiva delle piante. La valutazione degli aspetti inerenti alle relazioni stato idrico della pianta, crescita vegetativa e alternanza di produzione, in relazione anche ad altre importanti pratiche colturali, tra le quali si sottolinea la potatura e la gestione del suolo (inerbimento; lavorazione meccanica) costituiranno elementi di approfondimento utili per mettere a punto il miglior sistema di gestione dell'irrigazione degli impianti superintensivi nei vari contesti colturali.

Riassunto

Scopo delle ricerche era valutare il comportamento, negli aspetti ecofisiologici e bioagronomici della cultivar di olivo Arbequina, nel contesto colturale degli impianti superintensivi (1.900 piante/ha), sottoposta a irrigazione in deficit. Sono stati, in particolare, valutati gli effetti di 4 livelli irrigui oltre al controllo non irrigato, ottenuti restituendo quantitativi di acqua corrispondenti a circa il 60, 70, 80 e 100% dell'evapotraspirazione (ETc), calcolata in base all'equazione di Penman-Monteith. Per ciascuna tesi è stato rilevato il potenziale idrico xilematico giornaliero delle piante nei mesi di massima richiesta evapotraspirativa, la

fotosintesi netta (Amax) e la conduttanza stomatica (gs). E' stato altresì rilevato l'effetto del diverso grado di soddisfacimento delle esigenze idriche delle piante sulla biomassa prodotta valutata in termini di produzione e di vegetazione asportata con la potatura/pianta. E' stata inoltre valutata la qualità del prodotto in termini di peso medio del frutto, rapporto polpa/nocciolo, resa in olio. Dal complesso delle prove effettuate è emerso che anche ngli impianti superintensivi di olivo l'irrigazione in deficit può sortire risultati positivi. Riduzioni fino al 70% del fabbisogno irriguo stagionale non hanno infatti comportato alcuna riduzione della produzione. L'irrigazione determina la riduzione della resa in olio al frantoi.

Parole chiave: impianti superintensivi, irrigazione, potenziale idrico, scambi gassosi, qualità dell'olio.

Ricerche condotte nell'ambito del progetto "Digitalizzazione delle filiere agroalimentari" (DIFA)

Bibliografia

ALEGRE S., CASTELLVÌ S., 2001. *Efecto de diferentes estrategias de riego deficitario controdado durante la época estival sobre la produccìon del olivo (*Olea europaea *L.) Cv. Arbequina*. Tesis Doctoral, Universitat de Lleida, Lleida, p. 224.

BEGG J.E., TURNER N.C.,1970. *Water potential gradients in field tobacco*. Plant Physiol. 1970;46:343-346.

FONTANAZZA G., CAPPELLETTI M., 1993. *Evoluciòn en los sistemas de coltivo del olivo: de los olivares intensivos mecanizados a las plantaciones densas*. Olivae, 48 (10): 28-36.

GUCCI R., LODOLINI E., RAPOPORT H.F., 2007. *Productivity of olive trees with different water status and crop load*. J. Hort. Science & Biotech. 82: 648-656.

MORIANA A., ORGAZ F., PASTOR M., FERERES E., 2003. *Yield responses of a mature olive orchard to water deficits*. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 128: 425-431.

MOTILVA M.J., TOVAR M.J., ROMERO M.P., ALLEGRE 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. Food Sci. Agric. 2000, 80.

PASTOR M. (ed.). 2005. *Cultivo del olivo con riego localizado*. Junta de Andalucía y Ediciones Mundi-Prensa, 783 pp plus CD, ISBN 84-8476-229-7.

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. Science & Biotech. 74, 729-737.

PATUMI M., D'ANDRIA R., MARSILIO V., FONTANAZZA G., MORELLI G., LANZA B., 2002. *Olive and oil quality after intensive monocone olive growing (*Olea europaea *L. cv. Kalamata) in different irrigation regimes*. Food Chem., 77: 27-34.

PROIETTI P., TOMBESI A., PILLI M., 1995. *Scambi gassosi in foglie di olivo in relazione all'età e alla presenza di frutti durante la stagione vegetativa*. Italus Hortus 3: 17-21.

SAMISH R.H., SPIEGEL P., 1961. *The use of irrigation in growing olives for oil production*. Israel J. Agr. Res. 11(2): 87-95.

SERVILI M., ESPOSTO S., LODOLINI E., SELVAGGINI R., TATICCHI A., URBANI S., MONTEDORO G.F., SERRAVALLE M., GUCCI R., 2007. *Irrigation effects on quality, phenolic composition and selected volatiles of vergin olive oil cv Leccino*. J. Agric. Food Chem. 55: 6609-6618.

TOUS J., ROMERO A., PLANA J., BAIGES F., 1999. *Planting density trial with "Arbequina" olive cultivar in Catalonia (Spain)*. Acta Hort. 474: 177-179.

TOVAR, M. J., ROMERO, M. P. ALEGRE, S., GIRONA, J., MOTILVA, M.J., 2002. *Composition and organoleptic characteristics of oil from Arbequina olive (*Olea europea *L.) trees under deficit irrigation*. J. Sci. Food Agr. 82: 1755-1763.

XILOYANNIS C., GUCCI R., DICHIO B., 2003. *Irrigazione*. Olea trattato di olivicoltura: 365-389.

Le acque reflue urbane trattate: risorsa da valorizzare nella olivicoltura meridionale

Xiloyannis C.[1], Palese A.M.[1], Masi S.[2], Motta F.[1] e Rifino O.[1]
[1] Dipartimento di Scienze dei Sistemi Colturali, Forestali e dell'Ambiente, Università della Basilicata
[2] Dipartimento di Ingegneria e Fisica dell'Ambiente, Università della Basilicata

Reclaimed municipal wastewater as resource for the irrigation of olive orchards in Southern Italy

Abstract. The reuse of municipal wastewater for irrigation could be a realistic way to overcome water shortage in the Mediterranean region and to make available conventional water sources for potable purposes. A study (2000-2008) was carried out in Southern Italy to monitor the medium-term impact on an olive orchard system of drip irrigation with municipal wastewater. A nearby non-irrigated and tilled orchard was taken as control. Irrigation (3425 m^3 ha^{-1} y^{-1}) enhanced olive productivity (9.7 and 4.2 t ha^{-1} y^{-1}, respectively in the irrigated and non-irrigated grove), limited alternate bearing and allowed to produce high-value olive yields having excellent fruit technological parameters and able to provide good oil quality. Municipal wastewater can be used as both irrigation water and a source of mineral elements. In addition to the economic advantages, the irrigation with wastewater allowed to use cover crops, which contributed to the mitigation of the greenhouse effect fixing, as carbon in the soil, an important amount of atmospheric CO_2.

Key words: *Olea europaea* L., faecal indicators, health hazards, sustainable olive orchard management.

Contesto di riferimento

Il riutilizzo a fini irrigui dei reflui urbani depurati è da molto tempo una realtà in molti paesi del bacino del Mediterraneo, come Israele, Cipro, Giordania, Tunisia, che hanno adottato questa strategia per superare il deficit idrico strutturale derivante dalle condizioni climatiche estremamente aride, sviluppare un'agricoltura competitiva e destinare le scarse disponibilità idriche convenzionali agli usi civili.

In Italia la legislazione sul riuso delle acque reflue per l'irrigazione trae origine dal D.M. n. 185 del 12 Giugno 2003 che impone parametri di qualità chimica e microbiologica piuttosto severi al fine di ridurre i possibili rischi di natura igienico-sanitaria ed ambientale. Il raggiungimento di tali standard qualitativi richiede schemi di depurazione complessi i cui costi, evidentemente, scoraggiano il riuso del refluo.

Un approccio più elastico è riscontrabile nelle linee guida dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) a cui si è ispirata la normativa di molti paesi del Bacino del Mediterraneo (Spagna, Francia, Cipro) (INEA, 2000 e 2001). La tolleranza riscontrabile in queste indicazioni nasce, essenzialmente, dalla consapevolezza che i paesi in via di sviluppo possano trovarsi di fronte a difficoltà tecnico-economiche tali da scoraggiarne l'applicazione (Riganti, 2007). Il limite in coliformi fecali suggerito dall'OMS (1989) per l'irrigazione di "colture da consumare crude, campi sportivi, parchi pubblici" è di 1.000 MPN (*Most Probable Number*) per 100 mL. Nessuna soglia limite viene posta per l'irrigazione di "cereali, colture industriali, foraggio, pascoli e giardini con piante". In particolare, per i frutteti l'OMS raccomanda la sospensione dell'irrigazione due settimane prima della raccolta vietando tassativamente il prelievo dei frutti caduti a terra e l'irrigazione a spruzzo.

Un caso studio

L'ipotesi di utilizzo "controllato", a fini irrigui, di reflui urbani con livelli di contaminazione non conformi a quelli stabiliti dalla normativa italiana vigente, è stata verificata da una sperimentazione di lunga durata (2000-2008) condotta in un oliveto meridionale. Le acque reflue sono state trattate in un impianto pilota, installato presso il depuratore del comune di Ferrandina - MT (40°29' N, 16°28' E). Il refluo è stato depurato secondo schemi di trattamento semplificati a basso costo (Lopez *et al.*, 2006). La contaminazione da *Escherichia coli* (variata negli anni di sperimentazione da 0 a 78.000 UFC/100 mL) (UFC=Unità Formanti Colonie) è risultata, nella maggior parte dei casi, superiore al limite consentito dalla normativa italiana (10 UFC/100 mL), mentre *Salmonella* spp. non è mai stata rilevata nelle acque reflue trattate e, di conseguenza, nel suolo e sulle drupe. Anche la concentrazione di enterococchi (da 0 a 28.000 UFC/100 mL) e di spore di clostridi solfito-

riduttori (da 10 a 31.000 UFC/100 mL) è stata variabile nel corso della sperimentazione. I reflui trattati sono stati distribuiti in microirrigazione (3.425 m^3/ha – media 2000-2008) ad un oliveto in piena produzione della cultivar a duplice attitudine *Maiatica* (156 piante/ha), collocato a valle dell'impianto di depurazione e gestito secondo tecniche colturali sostenibili quali inerbimento, potatura annuale di lieve entità, riciclo in campo del materiale potato, concimazione guidata (*Sistema Sostenibile*). Come riferimento è stato preso in considerazione un oliveto attiguo, non irrigato e condotto secondo le tecniche agronomiche ordinarie dell'area (lavorazioni, materiale di potatura allontanato dal campo, fertilizzazione con concimi ternari) (*Sistema Aziendale*).

Qualità microbiologica del suolo e dei frutti

Suolo

Nel *Sistema Sostenibile*, irrigato con i reflui trattati, la concentrazione degli indicatori fecali studiati ha mostrato una tendenza ad aumentare nel corso della stagione irrigua (da 2,1 a 11,2 MPN/g s.s. per *E. coli*; da 26,1 a 69,9 MPN/g s.s. per gli enterococchi; da 42,0 a 156,9 UFC/g s.s. per le spore di clostridi) (Palese *et al*., 2009) Questo incremento è sicuramente dovuto all'apporto dei reflui urbani trattati il cui potere contaminante è stato spesso elevato. Nonostante ciò l'entità della contaminazione è da considerarsi contenuta e la capacità del terreno di abbattere da una stagione irrigua all'altra la carica batterica del refluo, elevata.

Nel suolo prelevato dall'oliveto non irrigato (*Sistema Aziendale*) si è osservato un significativo incremento di concentrazione di *E. coli* in coincidenza del campionamento a fine stagione irrigua (da 1,35 a 52,80 MPN/g s.s.) (Palese *et al.*, 2009). Esso è da imputarsi probabilmente a fonti contaminanti legate ad attività antropiche (pastorizia, concimazioni organiche) ed alla presenza di animali selvatici.

In entrambe i sistemi le contaminazioni più importanti si sono rilevate negli strati di terreno più superficiali (0-5 e 5-10 cm). Con l'aumentare della profondità (10-60 cm) la concentrazione dei batteri ha mostrato una tendenza a ridursi significativamente o, addirittura, ad annullarsi (azione "filtro" del terreno). Questo decremento è risultato essere meno evidente nel caso delle spore di clostridi solfito-riduttori (Palese *et al.*, 2009).

Frutti

Le olive prelevate direttamente dall'area della chioma più prossima ai gocciolatori (*Sistema Sostenibile*) non hanno presentato contaminazione da *E. coli*; un lieve inquinamento è stato invece rilevato sulle drupe prelevate dalle reti poste al di sotto di olivi irrigati con i reflui (10 UFC/100 g peso fresco) (Palese *et al.*, 2009). In realtà questa contaminazione è poco significativa risultando inferiore al limite di 100 UFC/g previsto, per frutta ed ortaggi pretagliati (pronti al consumo), dal Regolamento CE 2073/2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari. L'unicità dell'evento ci spinge a ritenere che tale contaminazione possa essere di natura ambientale (uso di reti già contaminate, presenza di feci di animali domestici o selvatici) o legata alle manipolazioni subite dai frutti dopo la raccolta. Del resto l'OMS (1989) vieta espressamente la raccolta dei frutti caduti a terra in quanto essi, per il fatto di essere a diretto contatto con il suolo bagnato dal refluo, sono più esposti a contaminazione. Una leggera contaminazione da enterococchi e spore di clostridi solfito-riduttori è stata occasionalmente osservata sulle drupe prelevate alla raccolta dalle reti collocate al di sotto degli olivi irrigati. L'inquinamento è comunque da considerarsi debole e simile a quello rinvenuto sui frutti prelevati da piante allevate in asciutto.

Produzione e qualità del prodotto

Le piante del *Sistema Sostenibile* hanno presentato una produzione costante ed elevata negli anni (9,7 t/ha/anno - media 2001-2008), mentre quelle del *Sistema Aziendale* hanno associato a bassi livelli produttivi (4,2 t/ha/anno) una produzione fortemente alternante. I frutti del *Sistema Sostenibile* hanno presentato valori di peso fresco (3,8 g vs 2,5 g) e rapporto polpa/nòcciolo (6,1 vs 4,4) significativamente superiori rispetto a quelli del *Sistema Aziendale*. In generale, nell'area di indagine, le olive di *Maiatica* destinate al consumo diretto ("oliva infornata di Ferrandina") hanno presentato prezzi pari quasi al doppio rispetto a quelli dei frutti da trasformare in olio. L'olio ottenuto da entrambe i sistemi è stato classificato come extra-vergine. Esso non si è differenziato né per i parametri di qualità esaminati - acidità libera, numero di perossidi, caratteristiche spettrofotometriche - né per la composizione acidica (Palese *et al.*, 2007).

Elementi minerali veicolati con i reflui trattati e fertirrigazione

Di fatto l'erogazione di acque reflue urbane trattate può essere assimilata ad una vera e propria fertirrigazione in quanto assicura un cospicuo apporto di elementi minerali da tenere in dovuto conto al momento della stesura del programma di concimazione. I quantitativi di N, P e K distribuiti con i

reflui trattati sono stati pari rispettivamente a 63, 3 e 58 kg/ha/anno (media 2000-2008). Dal bilancio nutrizionale dei macroelementi, computato per il *Sistema Sostenibile*, è emersa la necessità di integrare soltanto l'N con una dose media di circa 43 kg/ha/anno (156 piante/ha) restituita con interventi fertirrigui settimanali.

Benefici ambientali e sociali

La disponibilità delle acque reflue trattate ha permesso di mantenere il suolo del *Sistema Sostenibile* coperto da un inerbimento spontaneo gestito con sfalci periodici. La trinciatura dei residui vegetali abbinata a quella del materiale di potatura, la caduta al suolo delle foglie senescenti e la sostanza organica distribuita con i reflui, hanno consentito al *Sistema Sostenibile* di fissare una ingente quantità di carbonio organico nel suolo (tab. 1). Sebbene parte dell'humus sia soggetto a mineralizzazione (tasso di mineralizzazione stimato pari a 0,032 ha/anno), è possibile prevedere un significativo aumento, nel medio-lungo periodo, del contenuto in carbonio organico nei terreni di oliveti così gestiti. Un incremento del carbonio del suolo corrisponde ad un miglioramento delle caratteristiche chimico-fisiche del terreno che presiedono alla fertilità chimica e biologica. La copertura vegetale svolge anche un ruolo fondamentale nell'attenuazione, soprattutto in aree acclivi, dei processi erosivi. Secondo alcuni autori, l'uso di tecniche agronomiche mirate alla conservazione delle risorse "acqua" e "suolo" (in particolare l'inerbimento e le pratiche per l'incremento della sostanza organica del suolo) può ridurre il quantitativo di terreno eroso da 80 t/ha/anno a meno di 1 t/ha/anno (Laguna, 1989; Raglione *et al.*, 2000). Non essendo facile quantificare, in termini monetari, il beneficio conseguibile all'uso di tecniche agronomiche per la riduzione dell'erosione, si è pensato di considerare come riferimento il costo per la rimozione dei sedimenti dagli invasi idrici. Di fatto il problema dell'interrimento dei bacini artificiali è strettamente connesso al quantitativo di terreno eroso dalle pendici. Il costo per rimuovere 1 metro cubo di sedimenti da un invaso lucano ammonta a circa 8 € (Molino B., comunicazione personale): l'impiego di tecniche eco-compatibili da parte degli olivicoltori potrebbe far risparmiare alla comunità circa 640 €/anno.

Anche il contributo dell'oliveto alla fissazione dell'anidride carbonica atmosferica è rilevante soprattutto quando per la sua gestione sono utilizzate pratiche colturali appropriate (trinciatura del materiale di potatura, copertura del suolo con essenze spontanee, irrigazione) che potenziano l'immagazzinamento della CO_2 per tempi medio-lunghi nella biomassa vegetale e nell'humus (tab. 2). Si tenga presente che fra gli obiettivi del Protocollo di Kioto vi è l'innesco di un circolo virtuoso che porti le aziende all'avanguardia a ridurre le emissioni di gas serra per ottenere crediti rivendibili in Borsa.

La fertirrigazione guidata condotta nel *Sistema Sostenibile* ha permesso un risparmio nell'acquisto dei fertilizzanti; ha ridotto l'immissione nell'ambiente di concimi chimici; ha innescato un virtuoso riciclo degli elementi minerali apportati dai reflui trattati nel sistema suolo-pianta; ha permesso di distribuire i nutrienti secondo i ritmi di assorbimento della pianta che ha così potuto esprimere al meglio le sue potenzialità vegeto-produttive. Inoltre, grazie alla continua disponibilità delle acque reflue ed alle condizioni climatiche mediterranee, è stato possibile incrementare l'apporto di elementi minerali veicolati dai reflui, particolarmente l'azoto, allungando il periodo di irrigazione e distribuendo volumi irrigui annui superiori sempre considerando i vincoli legati alla capacità di ritenzione idrica del volume di suolo bagnato.

Tab. 1 - Apporti di sostanza organica di diversa origine (media 2000 - 2008) e produzione di humus nei Sistemi Sostenibile ed Aziendale.
Tab. 1 - Organic material amounts and humus production in the Sustainable and Conventional systems (mean 2000 - 2008).

Materiale organico	Coefficiente isoumico	Sistema Sostenibile		Sistema Aziendale	
		Sostanza secca	Humus	Sostanza secca	Humus
		t/ha/anno		t/ha/anno	
Inerbimento spontaneo (parte epigea)	0,15	5,8	0,87	-	-
Materiale di potatura	0,35	3,3	1,15	2,6	0,91
Foglie senescenti	0,20	0,9	0,18	0,9	0,18
Acque reflue	0,10	0,12	0,01	-	-
Totale		*10,12*	*2,21*	*3,50*	*1,09*

Tab. 2 - CO_2 fissata nei Sistemi *Sostenibile* ed *Aziendale* (media 2000 - 2008).
Tab. 2 - CO_2 fixed by the Sustainable and Conventional systems (mean 2000 - 2008).

Materiale organico	Sistema Sostenibile		Sistema Aziendale	
	Sostanza secca	CO_2 fissata	Sostanza secca	CO_2 fissata
	t/ha/anno		t/ha/anno	
Inerbimento spontaneo (parte epigea)	6,1	10,6	-	-
Materiale di potatura	3,3	6,0	2,6	4,8
Foglie senescenti	0,9	1,6	0,9	1,6
Produzione	4,9	9,0	2,1	3,8
Totale	14,9	27,2	5,6	10,2

Di fatto il miglioramento della produttività ad ettaro e l'ottenimento di un prodotto qualitativamente più valido e pregiato, dal punto di vista merceologico, potrebbe indurre molti olivicoltori ad investire tempo e risorse nella coltivazione dei propri oliveti, generalmente "marginali", esercitando una importante funzione di presidio del territorio. Si potrebbero così fronteggiare i fenomeni di abbandono e di boicottaggio degli oliveti (taglio ed estirpazione delle piante, incendi dolosi) con significative ricadute in termini paesaggistici.

Ringraziamenti

Un sincero ringraziamento è dovuto al Sig. Angelo Mossuto per la preziosa collaborazione nella gestione dell'oliveto sperimentale.

Riassunto

L'utilizzo dei reflui urbani trattati per l'irrigazione può costituire nell'immediato futuro una soluzione per fronteggiare l'emergenza idrica nei paesi mediterranei e rendere disponibili ingenti quantitativi di acque convenzionali da destinare agli usi civili. L'ipotesi di utilizzo "controllato", a fini irrigui, di reflui urbani trattati è stata verificata da una sperimentazione di lunga durata (2000-2008) condotta in un oliveto meridionale. Come riferimento è stato preso in considerazione un oliveto attiguo, non irrigato e condotto secondo le tecniche agronomiche ordinarie dell'area. Nel *Sistema Sostenibile* l'irrigazione (3425 m^3/ha/anno) ha consentito l'aumento significativo della produzione (circa 9,7 t/ha contro circa 4,2 t/ha del *Sistema Aziendale*), l'attenuazione del fenomeno dell'alternanza di produzione, il miglioramento delle caratteristiche merceologiche dei frutti e l'ottenimento di un olio di qualità. I reflui, oltre a fonte di acqua, hanno assicurato un cospicuo apporto di elementi minerali. La possibilità di disporre di reflui urbani depurati per l'irrigazione delle aree olivicole in pendenza consentirebbe la messa in atto di tecniche eco-compatibili di gestione del suolo quale il mantenimento di una copertura erbacea per il controllo dell'erosione, il miglioramento del contenuto in sostanza organica dei terreni ed il sequestro in essi di importanti quantità di CO_2 atmosferica.

Parole chiave: *Olea europaea* L., indicatori fecali, rischio igienico-sanitario, gestione sostenibile dell'oliveto.

Ricerca svolta nell'ambito dei Progetti POM "Ottimizzazione delle risorse idriche, convenzionali e non, in sistemi colturali sostenibili", PON AQUATEC "Tecnologie innovative di controllo trattamento e manutenzione per la soluzione dell'emergenza acqua" e RIOM "Ricerca ed Innovazione per l'Olivicoltura Meridionale".

Bibliografia

INEA, 2000. *I principali criteri di classificazione di qualità dei corpi idrici superficiali e delle acque utilizzate in ambito agricolo*. POM Ampliamento e adeguamento della disponibilità e dei sistemi di adduzione e distribuzione delle risorse idriche nelle Regioni dell'Obiettivo 1. Gruppo di Lavoro Qualità delle Acque. Istituto Nazionale di Economia Agraria, Gennaio 2000.

INEA, 2001. *Le prospettive di sviluppo del riutilizzo irriguo dei reflui nelle regioni ob. 1*. POM Risorse Idriche - Gruppo di Lavoro Qualità delle Acque ad uso irriguo. Istituto Nazionale di Economia Agraria, Settembre 2001.

LAGUNA A., 1989. *Studio cuantitativo de la erosión del suelo.* Tesis Doctoral. Departamento de Agronomía. Universidad de Córdoba.

LOPEZ A., POLLICE A., LONIGRO A., MASI S., PALESE A.M., GIRELLI G.L., TOSCANO A., PASSINO R., 2006. *Agricultural Wastewater Reuse in Southern Italy*. Desalination 187, 323 –334.

OMS, 1989. *Guidelines for the reuse of wastewater in agriculture and aquaculture*.WHO Technical Report Series, n.778, Geneva.

PALESE A.M., CELANO C., XILOYANNIS C., 2007. *Reflui urbani depurati, una risorsa per l'olivo al Sud*. L'Informatore

Agrario, 42: 51-54.

PALESE A.M., PASQUALE V., CELANO G., FIGLIUOLO G., MASI S., XILOYANNIS C. 2009. *Irrigation of olive groves in Southern Italy with treated municipal wastewater: effects on microbiological quality of soil and fruits*. Agricul. Ecosys. Envir. 129:43–51.

RAGLIONE M., TOSCANO P., LORENZONI P., ANGELINI R., BRICCOLI-BATI C., SPADONI M., DE SIMONE C., 2000. *Influenza di differenti gestioni del suolo sulla perdita di nutrienti e sulla produzione di un oliveto in ambiente collinare dell'Italia meridionale*. In proceeding: La scienza del suolo per l'ambiente". Venezia, 12-16 giugno 2000.

RIGANTI V., 2007. *Il riutilizzo della acque reflue in Italia e all'estero: aggiornamento normativo*. 34° Giornata di Studio di Ingegneria Sanitaria-Ambientale "Il riutilizzo delle acque reflue urbane e industriali". Cremona, 29-30 ottobre 2007.

Compostaggio dei sottoprodotti della filiera olivicola-olearia ed effetti della fertilizzazione degli oliveti con il compost ottenuto

Nasini L., Proietti P., Balduccini M.A., Del Buono D. e Gigliotti G.
Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università di Perugia

Composting of the residual products of the olive oil chain and effects of the obtained compost, used as soil amendment, on olive groves

Abstract. The aim of the present study was to define a system to compost olive mill waste (OMS) and olive pruning residuals and to validate the quality of the obtained compost as soil amendment in olive groves. The active phase of the composting process was carried out in a small pilot composter designed on purpose. The following phase of compost maturation was conducted in heaps under a shelter. The obtained compost met the requirements of the law in force (D.L: 217/ 06) to be used as soil amendment. The evaluation of the quality of the obtained compost showed that its C/N ratio and contents in organic matter, humic and fulvic acids and nutrients were optimal. Most nitrogen was in the organic form. The compost was then used as soil amendment in a rainfed olive-grove. Its use did not cause any phytotoxicity phenomena on olive trees, whereas it determined a slight positive effect on fruit growth (without any reduction of the oil percentage) and total tree production. Oil chemical and sensorial characteristics were not affected by the use of the obtained amendment.

Key words: *Olea europaea* L., olive mill waste (OMS), compost, soil amendment, exploitation of residual products, fertilization.

Introduzione

Con la presente sperimentazione si è cercato di identificare un processo di compostaggio dei sottoprodotti della filiera olivicola-olearia e un uso del relativo compost direttamente nelle aziende, onde ridurre gli inconvenienti connessi al trasporto di grandi masse di sostanza organica. L'impiego del compost in pieno campo può risolvere il problema del progressivo impoverimento in sostanza organica dei terreni agrari e costituire una soluzione ottimale allo smaltimento dei sottoprodotti provenienti dalla filiera olivicola. La scelta del sito di ammendamento è ricaduta sull'oliveto poiché questa coltura in genere è sempre presente in prossimità dei frantoi.

Materiali e metodi

Il compost è stato prodotto con processo di compostaggio in scala pilota in un cassone (bioreattore) appositamente progettato (fase attiva) e successivamente in cumulo (fase di maturazione). Due sono state le matrici utilizzate (1:1 v:v): residui di potatura dell'olivo e sansa derivante da un sistema a tre fasi (umidità 44% - pH 6,60 - conducibilità 0,5 mS/cm^{-1} carbonio organico totale 53,20 % ss -acidi umici + acidi fulvici 10,30 % ss - N totale 1,04 % ss - N organico 0,99 % ss - C/N 51,40 - P_2O_5 0,09 % ss - K_2O 0,56 % ss - Cu totale 50 mg kg^{-1} - Zn totale 24 mg kg^{-1} - Pb totale < 2 mg kg^{-1} - Cd totale < 0,20 mg kg^{-1} - Ni totale 99 mg kg^{-1} - Hg totale 0,10 mg kg^{-1} - Cr totale 159 mg kg^{-1} - Mn totale 28 mg kg^{-1} - Mg totale 255 mg kg^{-1} - Fe totale 0,40 mg kg^{-1}).

I residui lignocellulosici sono stati preventivamente sottoposti a una grossolana triturazione con trituratore meccanico, quindi sono stati miscelati alle sanse mediante una betoniera. La miscela è stata posta all'interno di un cassone, avente volume totale di circa 1 m^3, dotato di un sistema di distribuzione forzata dell'aria. La portata è stata tale da garantire un sufficiente apporto di ossigeno e un adeguato controllo della temperatura. L'umidità della massa, dal valore della miscela iniziale di 42%, è stato portato con aggiunta di acqua nei primi 8 giorni di processo a circa 55%, valore ritenuto ottimale per questa fase. Durante il compostaggio è stata registrata la temperatura della massa. Al termine della fase attiva, la miscela è stata posta in cumulo su una platea di cemento sotto tettoia per la maturazione.

Periodicamente sono state eseguite analisi sul materiale in compostaggio secondo i metodi ufficiali di analisi. A 126 giorni dall'inizio del processo, sono state rilevate le caratteristiche chimico-fisiche del compost prodotto. In particolare sono stati rilevati: umidità, solidi volatili (SV), pH e conducibilità elettrica specifica (CE) degli estratti acquosi, carbonio organico totale (TOC), azoto totale (NTK), azoto ammoniacale, componenti umosimili, frazioni estraibili della sostanza organica, sostanza organica solubile in acqua (DOM), potassio totale, fosforo totale e metalli totali (Cu, Ni, Pb, Zn).

* first@unipg.it

Nel marzo 2008 sono state distribuite 50 t ha^{-1} del compost ottenuto in un oliveto, in Centro Italia, di 10 anni, cultivar Leccino, allevato a vaso, in coltura asciutta, con distanza di piantagione di 4,5 x 4,5 m. Il terreno dell'oliveto è franco/franco-argilloso con una sensibile presenza di scheletro, reazione alcalina, scarso contenuto in sostanza organica, azoto totale, fosforo assimilabile e potassio scambiabile. Il compost non è stato interrato, poiché l'oliveto è inerbito. Nell'oliveto sono stati individuati tre blocchi, ciascuno con quattro piante di cui due sono state trattate con compost e due non trattate (controllo). Una settimana dopo la somministrazione del compost, sia nelle parcelle trattate sia in quelle controllo, sono stati distribuiti 100 kg/ha di urea per favorire il processo di compostaggio e per evitare la temporanea immobilizzazione dell'azoto. In seguito, su tutte le parcelle, è stata eseguita la normale concimazione ordinaria con 150 kg/ha di azoto e di 100 kg/ha di potassio. Sugli alberi, nel corso della stagione vegetativa, sono stati rilevati: l'attività fotosintetica (determinata a metà mattinata, in piena luce solare, su 18 foglie giovani completamente espanse e su 18 foglie di un anno prelevate a caso, nei mesi di giugno, luglio e agosto, utilizzando l'analizzatore portatile di scambi gassosi ADC LCA3 - Analytical Development Company LTD, Hoddesdon UK), il peso specifico fogliare (su campioni di 36 foglie, calcolato come rapporto tra peso secco e superficie fogliare), la presenza di eventuali sintomi ascrivibili ad effetti fitotossici (valutazione visiva), l'entità della fioritura e dell'allegagione (rilevando su 10 rami per pianta il numero di mignole per ramo nel mese di maggio e il numero di drupe per ramo a novembre). Sui frutti, durante la maturazione, sono stati rilevati: la resistenza al distacco (misurata con il dinamometro manuale "Carpo", su 50 frutti per pianta, selezionati casualmente), l'indice di colore (rilevato su un campione di 50 frutti per pianta, dividendo le olive in classi, secondo una scala da 0 a 5, dove: 0 = olive verdi, 5 = olive con mesocarpo invaiato per più del 50% dello spessore), la durezza del mesocarpo (su 100 drupe per pianta mediante penetrometro "EFFEGI", provvisto di un puntale dal diametro di 1,5 mm), il peso fresco ed il peso secco delle drupe (determinato su un campione di 50 olive per pianta), la produzione di olive per pianta (rilevata alla raccolta), il rapporto polpa/nocciolo in peso fresco (su 15 frutti per pianta), il contenuto in olio e in acqua delle olive (con la tecnica della spettroscopia del vicino infrarosso - mediante "SpectraAlyzer ZEUTEC", Near Infra Red), l'acidità, il numero di perossidi ed il contenuto di polifenoli totali (secondo i metodi ufficiali), la composizione acidica (mediante gascromatografia) e la valutazione sensoriale dell'olio (*panel test*) in base al Regolamento CE n. 796/2002. L'olio per la realizzazione delle analisi è stato estratto un giorno dopo la raccolta, da campioni (3 per tesi) di circa 2,5 kg di olive ciascuno, con un mini-frantoio da laboratorio a centrifugazione delle paste.

Tutti i dati rilevati sono stati sottoposti ad analisi statistica e la significatività è stata saggiata mediante il test di Duncan, utilizzando il programma "ANOVA97".

Risultati e discussione

Il pH degli estratti acquosi della massa in compostaggio da valori iniziali mediamente acidi tipici della sansa è aumentato progressivamente, per arrivare a fine processo a valori prossimi alla neutralità (7,3). L'innalzamento del pH, attribuibile alla mineralizzazione di composti azotati con conseguente rilascio di ammoniaca, indica che il processo si è svolto in buone condizioni aerobiche. I valori di pH del prodotto finito sono conformi ai limiti previsti dal D.lgs. 217/2006 e risultano compatibili con lo sviluppo dei vegetali. La conducibilità elettrica specifica (CE) è aumentata nel corso del compostaggio, anche durante la fase di maturazione (da 0,3 mS cm^{-1} a 1,5 mS cm^{-1}). Questo parametro è molto importante in quanto correlato al contenuto in sali che influenza fortemente lo sviluppo delle piante, avendo un effetto diretto sulla fitotossicità del compost (Erriquens, 2005). Sono considerati accettabili per un compost, in funzione della destinazione d'uso, valori di salinità compresi tra 3 e 10 mS cm^{-1} (Woods End Research Laboratory, 2000). L'aumento dei valori di CE è imputabile principalmente alla concentrazione dei sali solubili in conseguenza della ossidazione della sostanza organica nel corso della fase attiva, mentre non si è avuta la diminuzione di salinità, dovuta a fenomeni di dilavamento, normalmente osservata nei processi di compostaggio durante la fase di maturazione in cumuli all'aperto (Erriquens, 2005), poiché questa è stata realizzata in cumuli protetti dalle piogge.

La temperatura è aumentata in quattro giorni da 28 a 48 °C. La temperatura massima (56 °C) è stata raggiunta a soli 9 giorni dall'inizio del processo e già dal quinto giorno i valori sono risultati maggiori di 45 °C, condizione questa che agisce positivamente sulla disinfezione della matrice dagli agenti patogeni e sulla devitalizzazione di semi. L'andamento termico osservato nel substrato, derivando dalla respirazione microbica aerobica, indica una scelta adeguata della miscela di base, con particolare riferimento al rapporto C/N.

Dal nono giorno è iniziata una diminuzione lenta e costante della temperatura.

L'umidità della massa, al termine della fase attiva è risultata prossima al 50%, per poi ridursi drasticamente al termine della sperimentazione al 28,3%. Tale valore è commercialmente ottimale e abbondantemente entro il limite stabilito dal D.L. 217/06.

I solidi volatili (SV), che forniscono una misura indiretta del contenuto di sostanza organica, da un valore del 96% circa nella miscela iniziale sono passati gradualmente al 92% dopo 120 giorni di processo, indicando una buona metabolizzazione della sostanza organica da parte della microflora. Anche il carbonio organico totale (TOC) è diminuito durante il processo passando dal 50% p.s. al 25% p.s.

Complessivamente, l'azoto totale ha teso ad aumentare durante il processo, probabilmente come conseguenza dell'effetto concentrazione dovuto alla diminuzione della massa. L'azoto organico è passato dall'iniziale 73% dell'azoto totale al 96% nel compost maturo per effetto della perdita di ammoniaca per volatilizzazione e della lisciviazione di sali di ammonio solubili. Il forte aumento della forma organica dell'azoto è di particolare interesse dal punto di vista agronomico in quanto consente di apportare al terreno azoto a lenta cessione e non suscettibile alla lisciviazione. Come conseguenza delle variazioni del carbonio e dell'azoto, nel corso del processo è progressivamente diminuito il rapporto C/N, anche se con andamento poco lineare, passando da 57 a 26 al termine del processo, valore questo conforme con quanto stabilito dal D.L. 217/06 ed ottimale per l'effetto ammendante.

Nel corso del processo le frazioni umosimili sono diminuite più marcatamente rispetto al TOC, indicando che esse sono più facilmente biodisponibili rispetto alla frazione insolubile, rappresentata da sostanze più resistenti alla degradazione microbica. Il tasso di umificazione (HR%), in effetti, è diminuito rapidamente nel corso della fase attiva, per poi mostrare al termine del processo un nuovo leggero incremento il quale indica che in questa fase avviene la produzione delle sostanze umosimili.

Il fosforo e il potassio sono aumentati nel corso del processo per effetto dei fenomeni di concentrazione e la concentrazione di K è risultata maggiore di quella di P. Anche la quantità dei metalli pesanti è aumentata, tuttavia i valori sono rimasti a livelli contenuti, e inferiori a quelli riscontrabili in compost derivanti da matrici di origine urbana, ad eccezione dello Zn che risulta superiore al limite imposto dal D.L. 217/06, presumibilmente a causa del rilascio di tale elemento dal materiale con cui è stato realizzato il biocomposter (tab. 1).

L'apporto del compost non ha influito sostanzialmente sulla fotosintesi e sul peso specifico fogliare, sia nelle foglie giovani sia in quelle di un anno; il peso specifico delle foglie di un anno è risultato sempre superiore a quello delle foglie giovani. Visivamente non sono state mai osservate alterazioni ascrivibili a effetti fitotossici conseguenti al trattamento.

L'entità della fioritura, il numero di frutti per ramo alla raccolta e la produzione per pianta sono risultati sostanzialmente uguali tra le piante trattate e controllo. Il peso secco del frutto e il rapporto polpa/nocciolo sono risultati tendenzialmente maggiori nelle piante trattate, senza conseguenze sul contenuto percentuale in olio ed in acqua delle drupe. Il compost non ha influito sul decorso della maturazione dei frutti. La cascola alla raccolta è risultata praticamente assente sia nelle piante trattate sia in quelle controllo. Le determinazioni chimico-sensoriali dell'olio non hanno mostrato effetti connessi al trattamento e, in generale, gli oli sono risultati tutti di ottima qualità.

Conclusioni

I risultati della sperimentazione dimostrano la buona attitudine al compostaggio delle sanse dei frantoi oleari miscelati con i residui di potatura nel rispetto della legislazione vigente (D.L. 217/06). Tale opportunità costituisce una valida alternativa alla sempre più problematica destinazione della sansa all'estrazione dell'olio di sansa. Nel compost ottenuto, ottimi risultano il contenuto in sostanza organica ed in acidi umici e fulvici, il rapporto C/N e le concentrazioni degli elementi nutritivi. Un aspetto di particolare interesse agronomico e ambientale risulta essere che nel compost prodotto la quasi totalità dell'azoto è in forma organica, in quanto ciò consente di apportare al terreno azoto a lenta cessione e non suscettibile alla lisciviazione.

Per quanto riguarda gli effetti ammendanti del compost ottenuto, essendo la sperimentazione solo al primo anno, i risultati sono solo indicativi, mentre per avere indicazioni definitive occorrerà ripetere il trattamento per alcuni anni, considerando che gli effetti conseguenti alla somministrazione della sostanza organica nel terreno sono per lo più di medio-lungo periodo. Al momento si può rilevare: l'assenza di fenomeni di fitotossicità del compost a carico degli olivi, un'ininfluenza sulla cascola, un leggero effetto positivo sull'accrescimento dei frutti (senza riduzione del loro contenuto in olio) e sulla produzione per

Tab. 1 - Valori relativi all'ammendante prodotto e confronto con quelli previsti dal D.lgs. 217/06.
Tab. 1 - Parameters of the obtained amendment compared to the requirements of the Italian law in force (D.lgs: 217/06).

Parametri	Compost	Ammendante compostato misto (D.lgs. 217/06)
Umidità	28,3	Max 50%
pH	7,35 ± 0,02	Compreso tra 6,0 e 8,5
Conducibilità elettrica (mS cm^{-1})	1,55 ± 0,01	
Ceneri (% s.s.)	7,96	
SV (% s.s.)	92,04	
% TOC	46,07 ± 0,33	Min 25%
N totale (% s.s.)	1,76 ± 0,04	
N Ammoniacale (% s.s.)	0,08	
% TON	1,68 ± 0,04	Almeno 80% dell'N tot
C/N	26,17 ± 0,81	Max 25%
HiWEOC (%)	1,08 ± 0,01	
HoWEOC (%)	0,95 ± 0,01	
Ho:Hi	0,88 ± 0,01	
TEC%	16,5 ± 0,6	
HA%	8,32 ± 0,27	
FA%	8,17 ± 0,35	
HA + FA %	16,49	Min 7%
DH%	99,98	
HR%	35,8 ± 1,6	
Fosforo Totale (mg kg^{-1} s.s.)	2.673 ± 194	
Potassio Totale (mg kg^{-1} s.s.)	7.625 ± 72	
Cu (mg kg^{-1} s.s.)	28,0 ± 0,5	Max 150 mg kg^{-1}
Zn (mg/ kg s.s.)	36,5 ± 0,8	Max 500 mg kg^{-1}
Ni (mg kg^{-1} s.s.)	0,1	≤ 100 mg kg^{-1}
Pb (mg kg^{-1} s.s.)	< l.s.m.	≤ 140 mg kg^{-1}
Cd (mg kg^{-1} s.s.)	< l.s.m.	≤ 140 mg kg^{-1}
Hg (mg kg^{-1} s.s.)	< l.s.m.	≤ 140 mg kg^{-1}

pianta, l'assenza di effetti negativi sulla qualità chimico-sensoriale dell'olio.

Si può concludere che la possibilità di produrre compost utilizzando i sottoprodotti della filiera olivicola-olearia appare di notevole interesse per i benefici di natura sia economica, poiché questo è un sistema di smaltimento poco oneroso, sia agronomica, poiché attraverso le sanse ed i residui della potatura si reintegrano nel terreno parte delle sostanze asportate con la coltivazione con possibilità di ridurre gli input chimici.

Riassunto

Obiettivo del presente lavoro è stato definire un sistema di compostaggio di rifiuti organici provenienti dalla filiera olivicola-olearia (residui di potatura e sanse) e validare la qualità del compost ottenuto come ammendante per oliveti. La fase attiva del processo di compostaggio è stata condotta in scala pilota in un "composter" appositamente progettato; la successiva fase di maturazione è stata attuata in cumulo al coperto. Il compost prodotto risponde ai requisiti della legislazione vigente (D.L. 217/06). Il contenuto in sostanza organica e in acidi umici e fulvici, il rapporto C/N e le concentrazioni degli elementi nutritivi risultano a ottimi livelli. La quasi totalità dell'azoto è in forma organica. Il compost ottenuto è stato distribuito in un oliveto in coltura asciutta. In base ai primi risultati si può rilevare l'assenza di fenomeni di fitotossicità del compost a carico degli olivi, l'ininfluenza sulla cascola, un leggero effetto positivo sull'accrescimento dei frutti (senza riduzione del loro contenuto in olio) e sulla produzione per pianta e l'assenza di effetti negativi sulla qualità chimico-sensoriale dell'olio.

Parole chiave: *Olea europaea* L., olivo**,** sansa, compostaggio, ammendamento, valorizzazione sottoprodotti, fertilizzazione.

Bibliografia

AGRICOLA DI TRIESTE SOC. COOP., UNIVERZA NA PPRIMORSKEM, 2008. *Relazione finale progetto: l'impostazione della collaborazione transfrontaliera per il compostaggio dei prodotti secondari dell'olivicoltura. Prova e presentazione delle nuove metodologie e tecnologie per il compostaggio dei residui dei frantoi e la normativa di riferimento.*

ALTIERI R., ESPOSTO A., 2008. *Soluzioni alternative allo spandimento in campo dei sottoprodotti dei frantoi. Risultati dell'attività sperimentale, anni 2005-2007*

ARSIA, 2007. L'impiego di compost di qualità in agricoltura. Risultati del progetto di ricerca "Iniziative di collaudo e trasferimento di tecniche idonee per l'impiego di compost di qualità in agricoltura"

ERRIQUENS F.G., 2005. *Metodi analitici per la valutazione delle modificazioni a carico della sostanza organica nel corso del processo di compostaggio*. Tesi di Dottorato di Ricerca in Produttività e Sostenibilità Ambientale in Agricoltura presso l'Università di Perugia.

JOURNAL OF THE WOODS END RESEARCH LABORATORY, 2000. *Interpretation of waste & compost tests*. 1(4).

Aspetti quantitativi e qualitativi della raccolta meccanica in un giovane oliveto superintensivo

Camposeo S.[1*], Bellomo F.[2], D'Antonio P.[3] e Godini A.[1]

[1] Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali, Università di Bari

[2] Dipartimento di Progettazione e Gestione dei Sistemi Agro-Zootecnici e Forestali, Università di Bari

[3] Dipartimento Tecnico Economico per la Gestione del Territorio Agricolo e Forestale, Università della Basilicata

Mechanical harvesting in a young super high density olive orchard: quantitative and qualitative aspects

Abstract. Data on harvesting efficiency, shoot and fruit damages of eight oil olive varieties (Arbequina, Arbosana, Coratina, Don Carlo®, Fs-17®, I/77®, Koroneiki and Urano®), trained in Apulia according to super high density system and mechanically harvested by a grape-harvester are reported. The average harvesting efficiency was 95.5%, damaged lateral shoots and branches were 0.6% and damaged fruits were 0.3%. I/77®, a very early ripening variety, showed the highest values of damaged shoots (1.6 %) and fruits (60%). In general, the grape-harvester worked very well on the young super high density olive planting. Both genotype and harvesting time played a leading role on the involved parameters.

Key words: *Olea europaea* L., varieties, harvesting efficiency, tree damage, fruit damage.

Introduzione

L'applicazione utile ed efficiente del modello colturale di olivicoltura superintensivo, basato sull'allevamento degli alberi ad asse centrale, elevata densità di piantagione (1.600-2.000 piante/ha) e integrale meccanizzazione di tutte le operazioni colturali, raccolta inclusa, dipende essenzialmente dalla disponibilità di varietà di olivo in possesso di specifiche caratteristiche vegeto-produttive (Godini e Bellomo, 2002; Godini *et al.*, 2006). Gli studi sull'interazione pianta-macchina, nel caso di questo nuovo modello colturale, hanno portato alla messa a punto, attraverso modifiche *ad hoc*, di vendemmiatrici a scuotimento orizzontale adatte alla raccolta dell'olivo (Arrivo *et al.*, 2006) ed alla individuazione di un - per ora - assai ridotto numero di varietà idonee a tale tipologia di raccolta (Camposeo e Giorgio, 2006; Camposeo *et al.*, 2008; Camposeo e Godini, 2009).

* camposeo@agr.uniba.it

Queste indagini sperimentali, condotte per primi in Italia da ricercatori dell'Università di Bari, proseguono con l'obiettivo di valutare l'adattabilità del maggior numero possibile di varietà (autoctone e non) alla raccolta meccanica con scavallatrice. Il presente lavoro espone i risultati delle ricerche effettuate nel 2008 in Puglia in un giovane oliveto superintensivo e riguardanti l'efficienza della raccolta meccanica nonché i danni alla vegetazione ed ai frutti delle varietà in campo.

Materiale e metodi

Tra giugno e luglio 2006 è stato allestito nell'Azienda didattico-sperimentale "P. Martucci" della Facoltà di Agraria dell'Università di Bari, in agro di Valenzano (BA), un oliveto superintensivo nel quale sono state messe a confronto tredici varietà: due spagnole (Arbequina e Arbosana), una greca (Koroneiki), dieci italiane, sia tradizionali (Carolea, Cima di Bitonto, Coratina, Frantoio, Leccino e Maurino) che di nuova costituzione (Don Carlo®, Fs-17®, I/77® ed Urano®): tutte propagate per talea, una (Urano®) anche per micropropagazione. Per la descrizione dell'impianto si rimanda a quanto riportato da Camposeo e Godini (2009). La prima raccolta è stata effettuata il 20 novembre 2008, al terzo anno di impianto, con macchina scavallatrice a scuotimento orizzontale Pellenc Activ' 4560. Le varietà Carolea, Cima di Bitonto e Frantoio si sono presentate ancora nello stadio improduttivo, mentre Leccino e Maurino hanno fornito solo timidi accenni di entrata in produzione e, pertanto, né le prime né le seconde sono state fatte oggetto di raccolta o di ulteriori rilievi. La macchina si è resa disponibile solo il 20.11.2008 e pertanto la raccolta è stata effettuata in un'unica data per tutte le otto varietà in produzione, a prescindere dal raggiunto grado di maturazione dei frutti di ognuna. Prima della raccolta sono stati determinati, su 15 piante scelte a caso per ciascuna varietà: la produzione (kg/pianta), l'indice di pigmentazione (Ip, Indice di Jaen), calcolato dividendo 150 frutti per varietà (ripartiti in 3 ripetizioni da 50 frutti) in 6 classi di colore (0-

5). Dopo il passaggio della macchina sono stati determinati sulle stesse piante le drupe non raccolte (kg/pianta), gli assi vegetativi lesionati (branche, rami, germogli) sul totale emesso (%) ed il loro diametro (cm), i frutti visibilmente danneggiati (n) su un campione di 150 frutti (ripartiti in 3 ripetizioni da 50 frutti). Prima e dopo la raccolta è stato calcolato l'indice di caduta dei frutti (N/g), misurando il peso (g) e la resistenza al distacco (N), su un campione di 150 frutti per varietà prelevati dalle stesse 15 piante (divisi in 3 ripetizioni da 50 frutti)). I dati ottenuti sono stati sottoposti all'ANOVA, utilizzando il programma SAS (V9.1) per MS Windows (S.A.S. INSTITUTE INC.-USA); i parametri significativi al test F (P=0,01) sono stati analizzati con il test protetto SNK.

Risultati e discussione

Efficienza di raccolta e danni ai frutti (tabb. 1 e 2)

La produzione media al terzo anno è risultata soddisfacente e pari a 3 kg/pianta, con differenze significative tra le varietà. L'efficienza di raccolta in continuo con macchina scavallatrice è stata in media pari al 95,5%. Tale valore conferma quanto già osservato in Puglia sulle stesse varietà raccolte con vendemmiatrice al quarto anno di impianto (Camposeo e Giorgio, 2006) ed è in linea con le efficienze medie di raccolta ottenute per impianti superintensivi di pari età in Spagna (Tous *et al.*, 2006).

Efficienze di raccolta relativamente basse, intorno all'87%, sono state osservate solo in Arbosana e Koroneiki, perché entrambe a maturazione tardiva (Tous *et al.*, 2008). Solo queste due varietà, infatti, hanno presentato alla raccolta frutti con elevati indici di caduta, superiori al valore limite di 2 N/g per una ottimale efficienza di raccolta meccanica. La non ancora raggiunta piena maturazione dei frutti di Arbosana e Koroneiki è stata confermata dai bassi indici di pigmentazione dei loro frutti; tuttavia è verosimile, per Koroneiki in particolare, che la ridotta pezzatura dei frutti, anche per effetto delle elevata produzione, abbia concorso a ridurre l'efficienza della raccolta meccanica. L'importanza dell'indice di caduta sulla efficienza di raccolta meccanica è emersa anche per Coratina e Don Carlo® che, pur presentando indici di pigmentazioni simili a quelli di Arbosana e Koroneiki, hanno mostrato efficienze di raccolta molto più elevate di queste ultime e comprese tra 96,6% e 98,1%, rispettivamente. Tale comportamento può essere spiegato con il maggiore peso dei frutti (4,7 g e 4,8 g, rispettivamente) che ha portato a valori ottimali di indici di caduta (1,4 N/g e 1,5 N/g).

Molto soddisfacente è risultata la risposta alla raccolta meccanica di Urano®, sia nella versione da autoradicazione che da micropropagazione (96,5% e 98,3%, rispettivamente), pur con ridotta pezzatura dei frutti, ma con indici di caduta alla raccolta ottimali. L'efficienza di raccolta degli impianti superintensivi effettuata con macchina vendemmiatrice è risultata, dunque, strettamente dipendente dall'indice di caduta dei frutti. Escludendo il solo valore di I-77® e considerata l'intempestività di raccolta per Arbosana e Koroneiki, l'efficienza media di raccolta di sette delle otto varietà è risultata pari al 94,9% ed è pertanto da ritenere molto soddisfacente.

Nessun frutto raccolto di Arbequina, Arbosana, Koroneiki ed Urano® è risultato danneggiato, mentre lo è stato appena l'1% di quelli di Coratina e Don Carlo®. Danni maggiori, invece, sono stati osservati per Fs-17® (8% dei frutti) ma soprattutto per I/77® che ha presentato ben il 60% dei frutti con lacerazioni anche profonde. Il comportamento di Fs-17® confer-

Tab. 1 - Produzione, efficienza di raccolta e frutti danneggiati.
Tab. 1 - Yield, harvesting efficiency and damaged fruits.

Cultivar	Produzione per pianta (kg)	Raccolto a macchina (%)	Frutti danneggiati (%)
Arbequina	2,5 DE	98,7 A	0,0 D
Arbosana	2,8 CE	87,7 B	0,0 D
Coratina	3,2 BC	96,6 A	1,0 C
Don carlo®	2,2 E	98,1 A	1,0 C
Fs-17®	2,9 CD	96,9 A	8,0 B
I/77®	1,4 F	99,9 A	60,0 A
Koroneiki	3,8 B	86,6 B	0,0 D
Urano®	5,5 A	96,5 A	0,0 D
Urano® micro	2,6 CE	98,3 A	0,0 D
media	*3,0*	*95,5*	*7,7*
media senza I/77®	*3,2*	*94,9*	*1,2*

Lettere diverse indicano valori significativamente differenti per P=0,01

Tab. 2 - Peso medio dei frutti (Pm), indice di pigmentazione alla raccolta (Ip: 0-5; 3=colorazione completa epicarpo) ed indice di caduta (Ic) determinato prima (Pre) e dopo (Post) la raccolta.
Tab. 2 - Mean fruit weight (Pm), colour index at harvesting time (Ip: 0-5; 3= skin full pigmentation) and detachment index (Ic) determined before (Pre) and after (Post) the harvesting time.

Cultivar	Pm (g)	Ip	Ic (N/g)	
			Pre	Post
Arbequina	2,4 C	2,1 B	1,5 B	1,7 B
Arbosana	2,1 C	0,7 D	2,5 A	3,1 A
Coratina	4,7 A	1,5 C	1,4 B	1,4 B
Don carlo®	4,8 A	0,6 D	1,5 B	1,5 B
Fs-17®	3,2 B	2,1 B	1,8 B	2,0 B
I/77®	4,8 A	3,3 A	1,5 B	1,6 B
Koroneiki	1,2 D	1,4 C	2,7 A	3,6 A
Urano®	2,0 C	2,7 A	1,4 B	2,0 B
Urano® micro	2,5 C	3,0 A	1,2 B	1,5 B
media	*3,0*	*1,9*	*1,7*	*2,0*

Lettere diverse indicano valori significativamente differenti per P=0,01

ma quanto riportato in bibliografia (Camposeo e Giorgio, 2006; Tous *et al.*, 2008), mentre quello di I/77® è stato verosimilmente determinato dallo stato di ultramaturazione dei frutti al momento della raccolta, come dimostrato anche dall'elevato indice di pigmentazione (3,3). Escludendo quest'ultima varietà, il danno medio ai frutti è risultato dell'1,2%, di poco inferiore a quello riportato per i frutti raccolti con scuotitore, in generale pari all'1,5% (Famiani *et al.*, 2004).

Danni alla vegetazione (tab. 3)

La percentuale di assi vegetativi rotti in seguito al passaggio della macchina vendemmiatrice sulle varietà raccolte al terzo anno è risultata molto bassa, in media pari allo 0,6%. Sono emerse significative differenze tra le varietà in osservazione. Fs-17® ed I/77® hanno presentato percentuali di branche e rami danneggiati più che doppie rispetto alla media, con rotture che hanno interessato le branche primarie (diametro>2 cm) per il 24% degli assi rotti totali di I/77®. Urano®, di contro, ha presentato il valore minimo, con appena lo 0,2% di rami rotti, di cui il 50% circa con diametro inferiore al centimetro. Sorprendentemente buono, rispetto ai risultati precedenti (Camposeo e Giorgio, 2006), è stato il comportamento di Coratina, con percentuali di assi danneggiati identici a quelli di Urano®, sia quanto a valori totali che a classi di calibro. Quanto alle varietà che oggi potremmo definire di "riferimento", vale a dire Arbequina, Arbosana e Koroneiki, il 90-100% dei rami rotti totali è stato rappresentato da assi di diametro ridotto (≤1 cm). Accettabili, infine, anche i danni di Don Carlo® che ha mostrato percentuali sovrapponibili a quelle delle tre varietà di riferimento. In generale, i diversi comportamenti sono da attribuire alle differenti caratteri-

Tab. 3 - Assi vegetativi rotti per pianta (a) e per classe di calibro (Ø; b+c+d=a).
Tab. 3 - Damaged shoots per tree (a) and per calliper (Ø; b+c+d=a).

Cultivar	Assi rotti (%)a	Assi rotti per classe di calibro		
		Ø≤1 cm (%)b	1<Ø≤2 cm (%)c	Ø>2 cm (%)d
Arbequina	0,4 C	100,0 A	0,0 E	0,0 D
Arbosana	0,5 BC	90,0 AB	10,0 D	0,0 D
Coratina	0,2 D	57,0 D	28,5 AB	14,5 B
Don carlo®	0,5 BC	74,0 C	22,0 D	4,0 C
Fs-17®	1,4 A	88,5 B	6,3 D	5,2 C
I/77®	1,6 A	52,0 D	24,0 BC	24,0 A
Koroneiki	0,6 B	100,0 A	0,0 E	0,0 D
Urano®	0,2 D	52,8 D	32,8 A	14,4 B
Urano® micro	0,2 D	53,3 D	30,0 A	16,7 B
media	*0,6*	*74,2*	*17,1*	*8,7*

Lettere diverse indicano valori significativamente differenti per P=0,01

stiche vegetative delle varietà, come riportato da precedenti studi (Godini *et al.*, 2006; Camposeo e Godini, 2009).

Conclusioni

Le prestazioni fornite al terzo anno di impianto da Urano® sono state, per alcuni caratteri, anche superiori a quelle di Arbequina, Arbosana e Koroneiki, sulle quali è stato calibrato il modello superintensivo spagnolo. Anche Coratina e Don Carlo® sono risultate al momento promettenti per adattabilità al modello. Questo studio, inoltre, ha evidenziato il ruolo determinante della conoscenza delle epoche di maturazione delle diverse varietà allevate in impianti superintensivi ai fini della ottimizzazione della efficienza di raccolta meccanica in continuo e della riduzione dei danni ai frutti. Sebbene la raccolta sia stata effettuata lo stesso giorno, su varietà con frutti a diverso stadio di maturazione, escludendo dal novero I-77®, ma includendo Arbosana e Koroneiki, l'efficienza media di raccolta di sette delle otto varietà è risultata pari al 94,9%, e perciò molto soddisfacente. Altrettanto soddisfacente è risultata la percentuale dei frutti integri raccolti meccanicamente, perché pari all'98,8%.

Ringraziamenti

Gli Autori ringraziano la Provincia di Bari per il contributo finanziario accordato.

Riassunto

Si riportano i risultati delle rese e dei danni da raccolta meccanica alla vegetazione e ai frutti di varietà di olivo da olio in un oliveto sperimentale superintensivo realizzato in provincia di Bari. I dati sono riferiti al terzo anno dall'impianto, con raccolta con macchina vendemmiatrice a scuotimento orizzontale Pellenc Activ' 4560. Delle tredici varietà messe a dimora, solo Arbequina, Arbosana, Coratina, Don Carlo®, Fs-17®, I/77®, Koroneiki e Urano® sono risultate essere entrate in produzione. La raccolta meccanica è stata effettuata in un'unica data per tutte le varietà, a prescindere dal raggiunto grado di maturazione dei frutti di ognuna. L'efficienza di raccolta è risultata molto elevata, pari al 95,5% in media. Valori intorno all'87% sono stati osservati solo per Arbosana e Koroneiki, a maturazione tardiva e con frutti alla raccolta ancora con elevato indice di caduta. I danni alla vegetazione sono stati inferiori in media all'1%. La percentuale di frutti danneggiati è stata assai contenuta, variando dallo 1% di Coratina e Don Carlo® all'8% di Fs-17®; solo per I/77®, varietà a maturazione molto precoce, il 60% delle drupe è risultato gravemente danneggiato. Arbequina, Arbosana, Koroneiki e Urano® hanno presentato frutti assolutamente integri.

Parole chiave: *Olea europaea* L., varietà, resa di raccolta, danni alla vegetazione, danni ai frutti

Bibliografia

ARRIVO A., BELLOMO F., D'ANTONIO P., 2006. *Raccolta meccanica in oliveto superintensivo*. L'Inf. Agr. 62(1): 68-71.

CAMPOSEO S., GIORGIO V., 2006. *Rese e danni da raccolta meccanica di un oliveto superintensivo*. Atti Convegno Nazionale 'Maturazione e raccolta delle olive: strategie e tecnologie per aumentare la competitività in olivicoltura'. Alanno (PE), 1 Aprile 2006: 131-135.

CAMPOSEO S., GODINI A., 2009. *Le varietà di olivo per impianti superintensivi*. L'Inf. Agr. 65(26): 40-44.

CAMPOSEO S., FERRARA G., PALASCIANO M., GODINI A., 2008. *Varietal behaviour according to the superintensive oliveculture training system*. Acta Hort. 791: 271-274.

GODINI A., BELLOMO F., 2002. *Olivicoltura superintensiva in Puglia per la raccolta meccanica con vendemmiatrice*. Atti Convegno Internazionale di Olivicoltura. Spoleto, 22-23 aprile: 230-234.

GODINI A., PALASCIANO M., FERRARA G., CAMPOSEO S., 2006. *Prime osservazioni sul comportamento agronomico di cultivar di olivo allevate con il modello superintensivo*. Riv. Fruttic. 68(3): 40-44.

FAMIANI F., FARINELLI D., PROIETTI P., 2004. *Raccolta delle olive*. Aggiornamenti sulle tecniche colturali in olivicoltura. Accademia Nazionale dell'Olivo e dell'Olio: 123-162.

TOUS J., ROMERO A., HERMOSO J.F., 2006. *High density systems, mechanization and crop management in olive*. Olivebioteq 2006. Second Inter. Sem. 'Recent advances in olive industry'. Marsala-Mazara del Vallo (TP), 5-10 novembre 2006. Special seminars and invited lectures: 423-430.

TOUS J., ROMERO A., PLANA J., HERMOSO J.F., 2008. *Olive oil cultivars suitable for very-high density planting conditions*. Acta Hort. 791: 403-408.

Effetti della concimazione fogliare azotata sull'attività dell'olivo e sulla qualità dell'olio

Proietti P., Nasini L., Balduccini M. A., Famiani F. e Ilarioni L.
Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università di Perugia

Effects of nitrogen foliar fertilization on olive tree activity and oil quality

Abstract. In central Italy, in the 3-year-period 2005-2008, a study to investigate the effect of high nitrogen availability when oil is accumulated in the fruit (second phase of fruit growth) on vegetative-productive activity of olive trees and on oil quality was carried out. The olive grove was at about 400 m a.s.l. and trees, of the cultivar Frantoio, were 10-year-old and spaced m 5´5. In May of each year, secondary branches were selected and girdled in the proximal part. Afterwards, half of the girdled branches were monthly sprayed with a nitrogen solution (2% of urea), whereas the other half were sprayed only with water (control). The nitrogen treatments did not cause any damage to the foliage and fruits and, with respect to the control, it did not cause appreciable changes in: leaf photosynthesis, chlorophyll content and specific weight; fruit-drop; ripening pattern and weight, water and oil contents and pulp/pit ratio of the fruits; fatty acid composition, poliphenol content and sensorial characteristics of the oil.

Key words: *Olea europaea* L., girdling, foliar nitrogen fertilization, urea, oil quality.

Introduzione

Obiettivo della sperimentazione è stato l'approfondimento delle conoscenze sugli effetti sull'attività vegeto-produttiva dell'olivo e sulla qualità dell'olio indotti da un'elevata disponibilità di N nella fase di inoliazione; l'apporto di N è stato effettuato mediante concimazione fogliare. Gli effetti della concimazione azotata fogliare sulla qualità dell'olio risultano di grande interesse poiché scarse sono le conoscenze a tale riguardo (Cimato *et al.* 1994, Frega *et al.* 1995, Inglese *et al.* 2002).

Materiali e metodi

La sperimentazione è stata condotta in Centro Italia (PG) dal 2005 al 2008, in un oliveto collinare (ca. 400 m s.l.m.) in coltura asciutta, su piante di circa 10 anni della cultivar Frantoio, allevate a vaso, con sesto d'impianto 5x5 m. Il terreno è franco/franco-argilloso, con una sensibile presenza di scheletro, alcalino, con scarso contenuto in sostanza organica, N totale, P assimilabile e K scambiabile. Gli olivi oggetto della sperimentazione sono stati sottoposti alle consuete cure colturali e alla normale concimazione ordinaria primaverile al terreno con un apporto annuale di 150 kg ha^{-1} di N e 100 kg ha^{-1} di K.

Ogni anno su 6 olivi omogenei per aspetto vegetativo e carica produttiva (ca. 15 kg di olive per albero), sono state selezionate 6 branche secondarie per albero. Nel mese di maggio tali branche sono state anulate alla base asportando un anello di corteccia alto circa 1 cm, al fine di interrompere la continuità floematica per impedire il deflusso della linfa elaborata dalla branca stessa e così localizzare ed amplificare in essa l'effetto della successiva concimazione fogliare.

Ogni anno (dal 2005 al 2008), durante il periodo di inoliazione delle drupe, a fine luglio, metà agosto, metà settembre e inizio ottobre, tre delle branche anulate in ciascun albero sono state sottoposte a concimazione fogliare azotata, con irrorazioni eseguite a metà mattinata con atomizzatore a spalla, irrorando fino a gocciolamento incipiente, con una soluzione acquosa al 2% di urea + bagnante 50 ml/hl (bagnante "CIFO"); durante il trattamento le branche trattate sono state isolate dal resto della chioma e dal terreno mediante un film plastico; le restanti tre branche anulate in ciascun albero, irrorate solo con acqua + bagnante, sono state utilizzate come tesi controllo.

Sulle branche trattate e controllo sono stati determinati: l'accrescimento e il numero di nodi dei germogli (misurando la lunghezza dei germogli, alla fine dell'accrescimento autunnale su 5 rami per branca), l'attività fotosintetica (rilevata a metà mattinata in giornate serene di luglio, agosto, settembre e ottobre, su 18 foglie giovani completamente espanse e su 18 foglie di un anno prelevate da porzioni di chioma ben illuminate, mediante l'analizzatore portatile di scambi gassosi ADC LCA3 - Analytical Development Company LTD., Hoddesdon UK), il peso specifico fogliare (su campioni di 36 foglie prelevate in concomitanza del rilievo dell'attività fotosintetica), l'aspetto delle foglie e dei frutti per valutare l'eventuale insorgenza di effetti fitotossici con-

* first@unipg.it

seguenti al trattamento (osservazione visiva), il contenuto fogliare in N delle tesi controllo e trattate (metodo Kjeldahl-Tecator previo lavaggio delle foglie per rimuovere eventuali residui di urea dalla superficie fogliare), il numero di frutti per mignola dopo il primo trattamento ed alla raccolta (valutato su 6 rami per tesi per ogni albero), la resistenza al distacco (misurata con il dinamometro manuale "Carpano et Pons" su 50 frutti per pianta), l'indice di colore (rilevato su un campione di 50 frutti per pianta, dividendo le olive in classi, secondo una scala da 0 a 5 dove: 0 = olive verdi e 5 = olive invaiate nel mesocarpo per più del 50%), la durezza dell'esocarpo e del mesocarpo (su 100 drupe per pianta mediante penetrometro "EFFEGI", provvisto di un puntale dal diametro di 1,5 mm), il peso fresco e secco unitario dei frutti (seccati in stufa a 90 °C) e il rapporto polpa/nocciolo (p.f./p.f.) determinati su un campione di 50 olive per pianta, il contenuto in olio e in acqua delle olive (utilizzando l'apparecchio "Spectra-Alyzer ZEUTEC" con la tecnica della spettroscopia del vicino infrarosso NIR), la produzione di olive per branca (a metà novembre), l'acidità, il numero di perossidi ed il contenuto di polifenoli totali dell'olio secondo i metodi ufficiali, la composizione acidica mediante gascromatografia, la valutazione sensoriale dell'olio (in base al Regolamento CE n. 796/2002). L'olio per la realizzazione delle analisi è stato estratto un giorno dopo la raccolta, da campioni (3 per tesi) di circa 2,5 kg di olive ciascuno, con un minifrantoio da laboratorio, attraverso le seguenti fasi: frangitura a martelli, gramolatura di 25 minuti a temperatura ambiente (circa 22 °C), centrifugazione delle paste per la separazione dell'olio con una centrifuga a paniere senza l'utilizzo di acqua, filtraggio dell'olio con cotone idrofilo e sodio solfato anidro per eliminare sia le impurità sia l'acqua.

Tutti i dati rilevati sono stati sottoposti ad analisi statistica e la significatività è stata saggiata mediante il test di Duncan, utilizzando il programma "ANOVA97".

Risultati e discussione

La concimazione fogliare con urea al 2%, non ha causato danni visibili alle foglie e ai frutti durante il periodo di sperimentazione.

Il contenuto in N delle foglie è risultato piuttosto elevato sia nelle foglie trattate sia in quelle controllo, attestandosi su valori intorno a 1,7% su sostanza secca in entrambe le tesi, ma con valori tendenzialmente maggiori nelle tesi trattate. L'assenza di sostanziali differenze fra il contenuto in N delle foglie trattate di un anno e il relativo controllo dopo una settimana dal trattamento autunnale può essere attribuito sia al fatto che l'assorbimento dell'urea, come risulta dalla bibliografia (Klein e Weimbaum, 1984; Cimato *et al.*, 1990; Wiesman *et al.*, 2009; Policarpo *et al.*, 2006), avviene soprattutto ad opera delle foglie giovani (nelle quali non è ancora presente lo spesso strato di cuticola che invece si ha nelle foglie di un anno), sia alla rapida traslocazione dell'N dalle foglie ai *sink* presenti (frutti).

L'attività fotosintetica delle foglie giovani in estate e autunno non è stata influenzata dal trattamento; neanche per le foglie di un anno sono state riscontrate differenze significative, ad eccezione del rilievo dell'agosto del 2005, in cui nelle piante trattate è stata riscontrata una fotosintesi maggiore rispetto al controllo. In generale, l'attività fotosintetica delle foglie giovani è risultata superiore a quella delle foglie di un anno.

Il peso specifico delle foglie, sia di quelle giovani sia di quelle di un anno nelle branche trattate è risultato in alcuni rilievi leggermente superiore a quello delle branche controllo. L'accrescimento autunnale dei germogli è risultato molto contenuto sia nelle branche controllo sia in quelle trattate, presumibilmente come conseguenza della tardività delle concimazioni fogliari rispetto al periodo di massima attività vegetativa e soprattutto a causa dell'anulazione che notoriamente ha un effetto depressivo sull'accrescimento dei germogli (Lavee *et al.*, 1983; Levin *et al.*, 2005). Sulle brachette anulate è stato rilevato un accrescimento tendenzialmente superiore al controllo. In sperimentazioni effettuate con concimazioni fogliari azotate senza anulazione è stato riscontrato un forte incremento della crescita dei germogli (Cimato *et al.*, 1994).

Il numero di frutti per mignola all'epoca del primo trattamento (mediamente 1,77) e alla raccolta (mediamente 1,65), non è stato influenzato dalla concimazione fogliare nei quattro anni di sperimentazione. Di conseguenza, si deduce che neanche la cascola, verificatasi dall'epoca del primo trattamento alla raccolta, è stata modificata dalla concimazione fogliare. In altre prove, invece, concimazioni azotate fogliari precoci hanno sostanzialmente ridotto l'entità della cascola, con conseguente aumento della produzione; ciò sembra indicare che solo nelle prime fasi di sviluppo dei frutti la competizione per l'N può influire significativamente sulla ritenzione dei frutti formatisi e quindi sull'entità della cascola naturale (Frega *et al.*, 1995; Tombesi, 2002).

Il peso unitario fresco e secco dei frutti e il rapporto polpa/nocciolo, in accordo con quanto riportato da

Frega *et al.* (1995) e da Connel *et al.* (2002), non sono risultati significativamente diversi fra le tesi a confronto, anche se nelle branche trattate, in genere, sono stati osservati valori tendenzialmente superiori. Non variando il numero di frutti per mignola né il loro peso unitario fra le tesi trattate e controllo, in accordo con quanto riscontrato da Connel *et al*. (2002), si deduce che il trattamento non ha modificato neanche la produzione per branca.

Si può supporre che l'aumento della dimensione dei frutti rilevata in altri lavori a seguito di concimazioni azotate fogliari sia conseguente o a condizioni di carenza azotata negli olivi sottoposti alla concimazione fogliare in quelle sperimentazioni, o alla somministrazione di N in epoche in cui i frutti potrebbero essere più esigenti in tale elemento, ed in particolare durante le prime fasi di sviluppo del frutto quando, per effetto dell'intensa divisione cellulare, vengono create le basi per il potenziale successivo accrescimento del frutto (Proietti *et al.*, 1994; 1999).

Il contenuto in acqua nei frutti, risultato a maturazione intorno al 55% nel 2005, al 47% nel 2006, al 45% nel 2007, al 61% nel 2008 e in olio, risultato mediamente del 22-26% del p.f. (ad eccezione del 2008 quando è risultato di circa 14%), non sono variati sostanzialmente in conseguenza al trattamento. Il mancato effetto sul contenuto in olio dei frutti fa presupporre che, in condizioni nutritive normali, l'accumulo di olio nel frutto non è limitato dalla disponibilità di N.

In accordo con quanto rilevato da Gullo *et al.* (2002), il decorso della maturazione delle olive, determinato in base alla resistenza al distacco, alla cascola, alla pigmentazione e alla durezza della polpa, non è stato influenzato dalla concimazione fogliare.

La qualità dell'olio non è stata influenzata dal trattamento ed è risultata ottima in termini di acidità, numero di perossidi, contenuto in polifenoli totali e valutazione *panel test*. Nel 2006 gli oli ottenuti dalle olive raccolte a metà novembre hanno ottenuto un punteggio al *panel test* leggermente superiore a quelli derivanti dalle olive raccolte a fine ottobre, grazie ad un maggior equilibrio fra le note di fruttato, amaro e piccante; in effetti, negli oli prodotti in ottobre, la sensazione di piccante è prevalsa su quella di fruttato (tab. 1).

Con riferimento alla composizione acidica, la concimazione fogliare ha indotto un aumento dell'acido linoleico e, limitatamente a un anno, dell'oleico.

Nella sperimentazione in oggetto non è stato riscontrato un incremento del contenuto in polifenoli nell'olio a seguito di concimazioni fogliari azotate come riportato da altri Autori (Cimato *et al.*, 1994; Frega *et al.*, 1995; Inglese *et al.*, 2002). Questa discordanza potrebbe essere giustificata ipotizzando che l'effetto dell'apporto di N sulla qualità dell'olio non sia diretto, bensì mediato da quello eventualmente indotto sulla carica produttiva e quindi sul decorso della maturazione: se la concimazione fogliare, in virtù del periodo in cui è effettuata e/o di condizioni di scarse disponibilità di N nell'albero, determinasse un sostanziale aumento della produzione (maggior numero e/o peso unitario dei frutti), la maturazione delle olive subirebbe un rallentamento e se la raccolta venisse effettuata contemporaneamente a quella di piante con un minore carico produttivo (e

Tab. 1 - Caratteristiche chimico-sensoriali dell'olio.
Tab. 1 - Chemical and sensorial characteristics of the oil.

	Acidità (%)	Perossidi (meq O_2 kg^{-1})	Polifenoli (mg kg^{-1})	Panel test (1÷9)
07/11/2005				
Controllo	0,41 a	5,00 a	609,27 a	8,0 a
Trattato	0,43 a	4,00 a	599,79 a	8,0 a
14/11/2006				
Controllo	0,46 a	5,25 a	639,27 a	8,0 a
Trattato	0,51 a	6,5 a	599,89 a	7,8 a
08/11/2007				
Controllo	0,29 a	5,3 a	558,44 a	7,9 a
Trattato	0,31 a	5,6 a	588,04 a	7,8 a
06/11/2008				
Controllo	0,25 a	8,0 a	468,45 a	7,9 a
Trattato	0,35 a	9,5 a	488,05 a	7,9 a

In ogni colonna, le medie accompagnate da lettere differenti, sono significativamente diverse per P<0,05.

quindi con una maturazione più avanzata) si otterrebbero oli con caratteristiche diverse ed in particolare con un maggior contenuto in polifenoli, cui conseguirebbe una maggiore stabilità ed un profilo sensoriale caratterizzato da note verdi (erbaceo, foglia e/o frutto immaturo) e da sensazioni evidenti di amaro e piccante, piuttosto che da un fruttato maturo. In alcuni contesti ambientali, anche l'accentuazione dell'attività vegetativa durante la stagione estiva, conseguente alla concimazione fogliare azotata, potrebbe contribuire a rallentare la maturazione dei frutti nelle piante sottoposte a questa concimazione rispetto al controllo (Cimato e Tattini, 1991; Cimato *et al.*, 1994).

Conclusioni

Nelle condizioni in cui si è operato la concimazione fogliare con urea al 2% non ha causato danni visibili alle foglie e ai frutti, non ha determinato un incremento significativo dell'attività fotosintetica, del contenuto in clorofilla e del peso specifico delle foglie, ha stimolato leggermente l'accrescimento autunnale dei germogli, non ha influenzato sostanzialmente la cascola, il decorso della maturazione ed il peso dei frutti, il loro contenuto in acqua e olio e il rapporto polpa/nocciolo, ha influito leggermente sulla composizione acidica, mentre non ha modificato il contenuto in polifenoli e il profilo sensoriale dell'olio.

Si può quindi affermare che l'elevata disponibilità di N durante la fase di inoliazione non influenza negativamente la qualità dell'olio e che, in alberi in condizioni di buona dotazione di N, non induce effetti di rilievo sull'attività vegeto-produttiva dell'albero. Ciò in parte conferma quanto riportato da Frega *et al.* (1995), secondo i quali per ridurre la cascola e aumentare la percentuale d'olio dei frutti in maniera significativa attraverso concimazioni fogliari azotate, occorre intervenire precocemente, dalla fase di "grano di pepe" dei frutti alla fase di indurimento del nocciolo.

Per meglio definire l'effetto della concimazione fogliare azotata sul processo di inoliazione e sulla qualità dell'olio, sarebbe interessante effettuare trattamenti su alberi in condizione di carenza di N nonché approfondire gli effetti ottenibili con trattamenti effettuati durante l'intera stagione vegetativa.

Riassunto

La sperimentazione è stata realizzata per rilevare l'effetto dell'elevata disponibilità azotata durante la fase di inoliazione sull'attività vegeto-produttiva dell'olivo e sulla qualità dell'olio.

La sperimentazione è stata condotta dal 2005 al 2008 su piante di circa 10 anni della cultivar Frantoio, allevate a vaso, con sesto d'impianto 5x5 m, non-irrigate, su terreno collinare (ca. 400 m s.l.m.) in Centro Italia (PG). Ogni anno sono state selezionate delle branche secondarie e nel mese di maggio sono state anulate alla base. Durante la fase di inoliazione (da fine luglio a inizio ottobre) le branche anulate sono state sottoposte a quattro interventi di concimazione fogliare azotata, con una soluzione acquosa al 2% di urea. Nelle condizioni in cui si è operato, la concimazione fogliare non ha causato danni visibili alle foglie e ai frutti, non ha determinato un incremento significativo dell'attività fotosintetica, del contenuto in clorofilla e del peso specifico delle foglie, ha stimolato leggermente l'accrescimento autunnale dei germogli, non ha influenzato sostanzialmente la cascola, il decorso della maturazione ed il peso dei frutti, il loro contenuto in acqua e olio e il rapporto polpa/nocciolo, non ha influito sulla composizione acidica, sul contenuto in polifenoli e sul profilo sensoriale dell'olio.

Parole chiave: *Olea europaea* L., anulazione, concimazione fogliare, urea, qualità olio.

Bibliografia

CIMATO A., MARRANCI M., TATTINI M., 1990. *The use of foliar fertilization to modify sink competition and to increase yield in olive (*Olea europaea *cv. Frantoio)*. Acta Hort., 286: 175-178.

CIMATO A., MARRANCI M., TATTINI M., SANI G., 1991. *La concimazione fogliare come mezzo per incrementare la produzione nell'olivo*. Inf. Agr., 14: 71-73.

CIMATO A., TATTINI M., 1991. *La concimazione fogliare azotata dell'olivo per elevarne l'efficienza produttiva*. Giornale di Agricoltura, 38: 17-18.

CIMATO A., SANI G., MARZI L., MARRANCI M., 1994. *Efficienza e qualità della produzione in olivo: riflessi della concimazione fogliare con urea.* Olivae, 54: 48-55.

CONNEL J.H., FERGUSON L., MENTHENEY P.D., REYES H., KRUEGER W.H., SIBBETT G.S., 2002. *Effects of foliar application of urea on olive leaf nitrogen, growth, and yield.* Acta Hort., 586: 251-254.

FREGA N., GARZI R., MANCUSO S., RINALDELLI E., 1995. *The effect of foliar nutrition on olive fruit-set and on the quality and yield of oil: further testing.* Adv. Hort. Sci., 9: 148-152.

GULLO G., PACE L.S., 2002. Fruit growth and olive oil quality in relation to foliar nutrition and time of application. Acta Hort., 586: 507-509.

INGLESE P., GULLO G., PACE L. ., 2002. *Fruit Growth and Olive oil Quality in Relation to Foliar Nutrition and Time of Application*. Proc 4th IS on Olive Growing, Eds. C. Vitigliano & G. P. Martelli, Acta Hort., 586.

KLEIN I., WEINBAUM S.A., 1984. *Foliar application of urea to*

olive: translocation of urea nitrogen as influenced by sink demand and nitrogen deficiency. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 109(3): 356-360.

LAVEE S., HASKAL A., TAL Y.B., 1983. *Girdling olive trees, a partial solution to biennial bearing. I. Methods, timing and direct tree response*. J. Hort. Sci., 58(2): 209-218.

LEVIN A.G., LAVEE S., 2005. *The influence of girdling on flower type, number, inflorescence density, fruit set, and yields in three different olive cultivars (Barnea, Picual, and Souri).* Austral. J. Agr. Res., 56(8): 827-831.

POLICARPO M., CAMIN F., ZILLER L., SCARIANO L., LO BIANCO R., 2006. *Efficienza fogliare nell' assorbimento azotato nell'olivo in relazione alla forma somministrata*. Italus Hortus 13(3): 113-117.

PROIETTI P., TOMBESI A., BOCO M., 1994. *Influence of leaf shading and defoliation on oil syntesis and growth of olive fruits*. Acta Hort., 356: 272-277.

PROIETTI P., PALIOTTI A., NOTTIANI G., 1999. *Availability of assimilates and development of olive fruit.* Acta Hort. 474: 297-300.

TOMBESI A., 2002. *Tecniche per lo sviluppo dell'olivicoltura in Umbria*. ARUSIA, Dip. Arboricoltura e Protezione delle piante, Università di Perugia, 2002.

WIESMAN Z., RONEN A., ANKARION Y., NOVIKOV V., MARANZ S., CHPAGAIN B., ABRAMOVICH Z., 2009. *Effect of olive-nutri-vant on yield and quality of olives and oil*.

Osservazioni sul comportamento agronomico in Sicilia di tre cultivar di olivo in un impianto superintensivo

Campisi G., Marino G., Marra F.P., Sansone C. e Caruso T.
Dipartimento di Colture Arboree, Università di Palermo

Agronomic behaviour of thre olive cultivar grown in a superintensive planting system in Sicily

Abstract. In recent years, olive cultivation has been extended outside the traditional area in new producer countries that resulted highly competitive versus the Mediterranean oliveculture. For this reason, agronomic research has focused on developing super-high density planting system in order to increase productivity and reduce costs, particularly for harvesting. The aim of this study was to compare the behaviour of two Spanish cultivar (Arbequina and Arbosana) to the Sicilian Biancolilla grown in a super-high-density planting system. The research was carried out in a five years old commercial planting of Arbequina, Arbosana and Biancolilla. Reproductive biology traits (number of flower for inflorescence, percentage of embryo abortion and percentage of fruit set) were done in studied trees to monitor flowering and fructification rates. Fruits were mechanically harvested by row straddling machines (Pellenc mod. 3300, Braud mod. VL660, Gregoire mod. 107). Tree yield was recorded and fruit samples were taken to determine biometric characters and partitioning of the drupes to the various categories of ripening. Tree trunk cross sectional area was also measured to the aim to determine crop efficiency: tree yield/ trunk cross sectional area (kg/cm^2). Although results are only relative to the first two years of production, tree growth and productivity resulted similar to those obtained in Spain. Referring to oil quality chemical characteristics, Arbequina and Arbosana had higher content of oleic acid respects to the oil of the same cultivars grown in super-intensive systems in Spain. Biancolilla, due to low productivity and susceptibility to Spilocaea oleagina (Cast.), showed low adaptability to super intensive system since the first years of planting.

Key words: super-intensive planting systems, weak cultivars, crop physiology, harvest mechanization

Introduzione

Negli ultimi venti anni si è accresciuta nei confronti dell'olivicoltura italiana la competizione dei Paesi che si affacciano sul Mar Mediterraneo, sia di quelli europei che di quelli africani, i primi forti dell'utilizzo di nuove tecnologie, i secondi altamente competitivi per i bassi costi di produzione. In tale contesto l' olivicoltura in siciliana dovrebbe mirare, fondamentalmente, a due obiettivi: il miglioramento degli aspetti qualitativi, con la valorizzazione del patrimonio autoctono, e la riduzione dei costi di produzione, sui quali incidono, per il 50% circa, quelli di raccolta.

Relativamente al primo aspetto, la Sicilia, forte della presenza storica e delle numerose varietà di olivo coltivate nei distinti areali, risulta essere tra le regioni più attive nella qualificazione dei prodotti oleicoli (Caruso *et al.*, 1982). Tuttavia, è abbastanza evidente e risaputo che tale strategia trova vantaggi solamente presso mercati di nicchia. In tale ottica e nella consapevolezza che non tutta la produzione oleicola sicilianapotrà essere destinata a una fascia di consumatori molto ristretta, le strategie di riduzione dei costi di produzione assumono un aspetto di rilevante importanza per poter competere con gli altri Paesi produttori del bacino del Mediterraneo.

Una delle possibili soluzioni ai suddetti problemi potrebbe essere rappresentata dalla raccolta integralmente meccanizzata tramite l'impiego delle vendemmiatrici modificate per adattarle alla raccolta dell'olivo (Bellomo e Godini, 2009). In tale ambito si è sviluppato il concetto di olivicoltura superintensiva che, sostanzialmente, coincide con lo schema classico di un maggior numero di piante per unità di superficie, per aumentare la produzione unitaria, allevate in parete continua per aumentare l'efficienza della meccanizzazione della raccolta effettuata attraverso macchine che operano in continuo.

Poste tali premesse, le indagini effettuate nell'ambito di cui si riferisce nella presente nota sono state pianificate con l'obiettivo di valutare il comportamento agronomico delle cultivar spagnole Arbequina e Arbosana utilizzate negli impianti intensivi in relazione alle condizioni ambientali di un comprensorio olivicolo della Sicilia che dal punto di vista climatico, orografico e pedologico é particolarmente adatto allo sviluppo degli impianti superintensivi. Si è inoltre ritenuto utile verificare la possibilità di adattamento della cultivar Biancolilla, tra le più deboli e produttive del patrimonio olivicolo siciliano, alle

suddette tipologie d'impianto e modelli di gestione colturale.

Materiali e metodi

Le osservazioni sono state condotte nel triennio 2007-2009 presso l'azienda agricola Gandolfo ubicata nel territorio del comune di Marsala (TP). L'azienda è estesa 9 ettari di cui 5 destinati ad oliveti tradizionali; sui restanti 4 ettari, nel 2004 è stato realizzato un impianto superintensivo con le varietà spagnole Arbequina e Arbosana, la varietà greca Koroneiki e la varietà autoctona Biancolilla. Da un punto di vista pedologico l'oliveto insiste su "terre rosse mediterranee".

L'impianto, presenta una densità di circa 1.900 piante/ha (3,5x1,5 m) per quanto riguarda le varietà straniere; la cultivar Biancolilla, più vigorosa delle precedenti è stata disposta alle distanze di 5x2,5 (800 piante/ha). L'impianto è stato costituito, utilizzando piante autoradicate delle cultivar Arbequina, Arbosana, e Koroneiki; le piante di Biancolilla sono invece state innestate su semenzali di olivo.

Osservazioni bio-agronomiche sono state effettuate su tre gruppi di 5 piante per cultivar scelte in rapporto all'omogeneità del diametro del tronco, del volume della chioma e dell'altezza della pianta.

Subito dopo la raccolta è stato misurato, per ciascuna pianta in osservazione, il diametro del tronco ad un'altezza di circa 15 cm sopra il colletto per calcolare l'area della sezione del tronco. Nel momento in cui gran parte delle infiorescenze hanno raggiunto lo stadio fenologico di "mignola bianca", che precede di un paio di giorni la fioritura sono state prelevate, da ciascuna di due piante per blocco, 20 mignole sulle quali sono stati rilevati il numero medio di fiori e la percentuale di fiori con ovario abortito. Nel 2008 a partire dall'inizio della fase di allegagione della drupa, con cadenza quindicinale, fino alla raccolta, su quattro rami per pianta è stato calcolato il numero complessivo di frutti per stimare l'entità della cascola fisiologica delle drupe. Circa 15 giorni prima della raccolta e poco prima della data di raccolta, su campioni di 100 frutti per pianta, è stato determinato il grado medio di maturazione (Indice di Jaén). Alla raccolta, su un campione di 10 frutti per pianta, sono state effettuate le misure del diametro equatoriale, longitudinale e trasversale della drupa. È stato inoltre rilevato il peso di ciascuna drupa e quello del corrispondente nocciolo per calcolare il rapporto polpa/nocciolo.

Nel 2007 per la raccolta meccanica sono state utilizzate due diverse macchine scavallatrici: la Braud (mod. VL660), per la raccolta dei frutti di Biancolilla e di Arbequina; la Pellenc (mod. 3300) per quelli di Arbosana e di Arbequina. Sulla vendemmiatrice Braud si è proceduto, ad aumentare il numero di battitori, da 5 a 7 per lato. Nessuna modifica è stata apportata nella vendemmiatrice Pellenc. Nel 2008 la raccolta meccanica dei frutti è stata fatta utilizzando la Gregoire (mod. 107) modificata nel numero di battitori, elevati a 13 per lato. Nel 2009 è stata nuovamente utilizzata una Pellenc, mod. 3400 Smart. Per valutare l'efficienza della raccolta meccanica, sono state selezionate 20 piante omogenee per dimensioni del tronco, volume della chioma, altezza della pianta e carico produttivo. Su dieci di esse è stata effettuata la raccolta meccanica dei frutti, sulle rimanenti dieci piante si è proceduto alla raccolta manuale delle drupe. E' stato così possibile valutare l'efficienza della raccolta meccanica come rapporto tra quantità di olive raccolte dalla macchina e produzione della pianta. Per determinare la quantità di olive non intercettate dalle scaglie della macchina, sono stati pesate le olive cadute sulle reti posizionate preventivamente sotto le piante. Sempre nelle medesime piante, sono stati contati il numero di rami presenti e il numero di rami rotti a seguito del passaggio della macchina. Infine dalla massa di olive raccolte da ogni singola macchina è stato prelevato un campione di 100 drupe sul quale è stato valutato il numero di olive riportanti danni attribuibili alla raccolta meccanica. Per ogni singola cultivar, le olive raccolte sono state molite presso il frantoio aziendale. I campioni di olio ottenuti sono stati inviati presso il laboratorio del Dipartimento di Ingegnerie e Tecnologie Agro-Forestali (Sezione Industrie), dove sono stati sottoposti ad analisi chimico-fisiche.

Risultati

Nel 2007 su piante alla ha foglia in campo la produzione media per pianta è risultata pari a 2,3 kg nella cultivar Arbosana, 2,7 kg in Arbequina e 3,5 kg in Biancolilla (fig. 1). Nel 2008 la produzione delle piante di Arbequina (5,15 kg/pianta) e Arbosana (5,5 Kg/pianta) è stata quasi doppia rispetto all'anno precedente, mentre nella Biancolilla è stato registrata una sensibile diminuzione (2 kg/pianta). Nel 2009 si è assistito ad un ulteriore incremento delle produzioni nelle piante di Arbequina (7 kg/pianta) e di Arbosana (7,35 kg/pianta) mentre non hanno mostrato alcuna variazione quelle di Biancolilla la cui produzione è stata di circa 2,1 kg per pianta (fig. 1). Le produzioni unitarie (fig. 1), ottenute rapportando la produzione media/pianta al numero di piante/ettaro, nei tre anni di osservazioni non hanno fatto emergere alcuna differenza degna di rilievo tra Arbequina e Arbosana men-

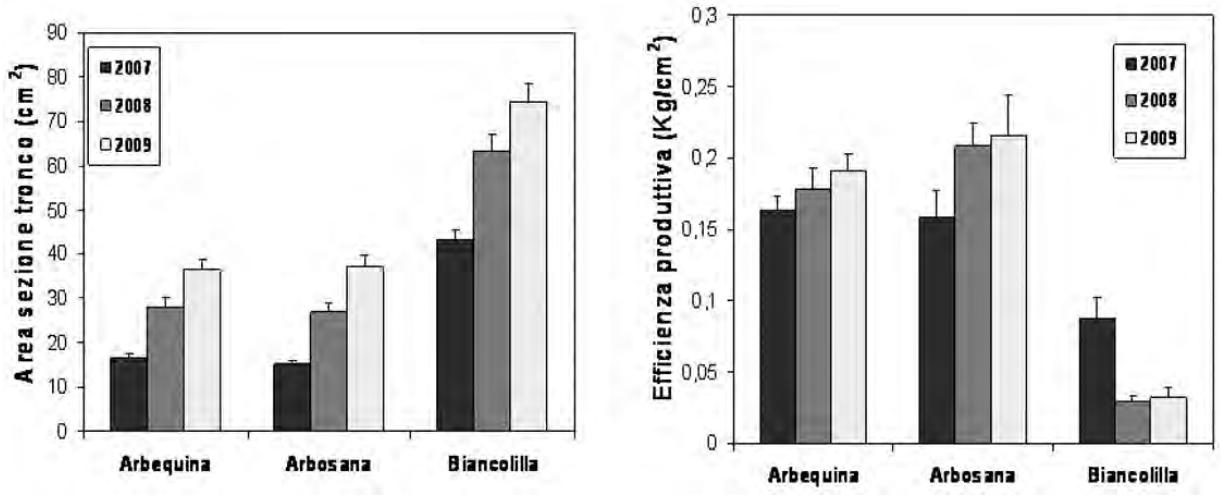


Fig. 1 - Produzione pianta (kg) e unitaria (q/ha) delle tre cultivar in studio nei tre anni di osservazioni (2007/2009).
Fig. 1 - Orchard and tree production in the three olive cultivars studied.

tre sono risultate significativamente inferiori nella Biancolilla. In dettaglio nel 2007 le produzioni sono risultate statisticamente identiche nelle cultivar Arbequina (51 q.li/ha) e Arbosana (44 q.li/ha); produzioni significativamente inferiori sono invece state riscontrate per la Biancolilla (28 q.li/ha). Anche nel 2008 e nel 2009 la Biancolilla ha mostrato una minore produzione unitaria (16 q.li/ha) rispetto alla altre due cultivar in osservazione. In particolare l'Arbequina ha prodotto 98 e 133 q.li/ha rispettivamente nel 2008 e nel 2009 mentre l'Arbosana 104 e 140 q.li/ha nei due suddetti anni rispettivamente.

Riguardo alla vigoria delle piante (fig. 2), valutata attraverso l'area della sezione del tronco (AST), differenze statisticamente significative sono state registrate nelle piante di Biancolilla con valori di AST superiori del 60% rispetto alle cultivar spagnole ed un incremento dell'area della sezione del tronco quasi doppio rispetto a quello registrato in Arbequina e Arbosana**.**

Relativamente al parametro efficienza produttiva (produzione/AST) (fig. 2) non sono state evidenziate differenze significative tra le cultivar Arbequina e Arbosana (0,18 kg/cm^2), mentre una minore efficienza produttiva è stata registrata nelle piante di Biancolilla (approssimativamente 0,03 kg/cm^2). Nel complesso si rileva come tale parametro abbai mostrato un trend positivo per le cultivar spagnole e negativo per la Biancolilla.

La cascola dei frutti (fig. 3) è risultata più intensa nel periodo compreso tra la seconda metà di giugno e la fine di luglio per poi attenuarsi durante il mese di agosto. Una leggera ripresa della cascola è stata registrata nel mese di settembre con l'approssimarsi della fase di maturazione dei frutti. Alla raccolta la percentuale di frutti cascolati è stata del 10% nell'Arbequina, del 7,5% nell'Arbosana e del 7%

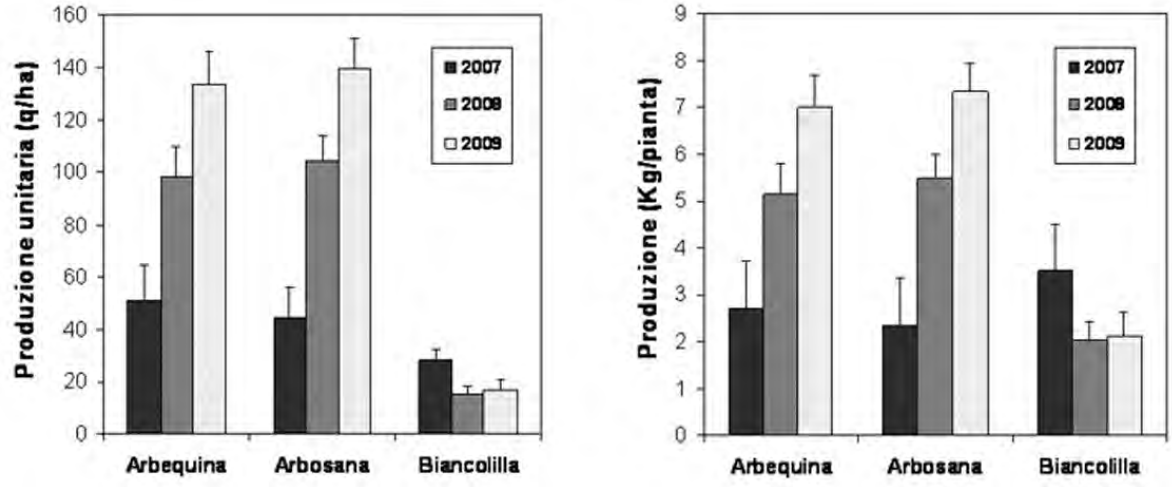


Fig. 2 - Area della sezione del tronco (cm^2) ed efficienza produttiva (kg/cm^2) delle piante delle tre cultivar in studio nei tre anni di osservazioni. (2007/2009).
Fig. 2 - Trunk cross sectional area and crop efficiency of trees of three olive cultivars.

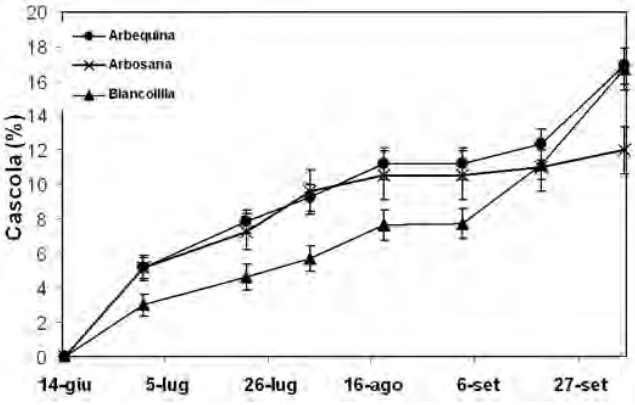


Fig. 3 - Andamento della cascola fisiologica (%) delle drupe rilevata in piante delle cultivar in studio nel 2008.
Fig. 3 - Time course of physiological fruits drops.

Tab. 1 - Peso medio delle drupe.
Tab. 1 - Average fruit weight.

Cultivar	2007	2008
Arbequina	1,83 (±0,07)	1,68 (±0,43)
Arbosana	1,85 (±0,07)	1,42 (±0,32)
Biancolilla	4,74 (±0,06)	5,33 (±1,18)

nella Biancolilla. In entrambi gli anni di osservazione la cultivar Biancolilla si è distinta per aver prodotto frutti di più grosse dimensioni, con un maggior rapporto polpa nocciolo ed un peso medio che è risultato più del doppio rispetto alle cultivar spagnole (tab. 1).

Il numero medio di fiori per mignola (tab. 2) è risultato nella cultivar Arbosana pari a 21; 16 in Arbquina e 8 in Biancolilla. In tutte e tre le cultivar la percentuale di fiori con aborto dell'ovario è risultata pressoché simile oscillando da un minimo di 8,8 nella cultivar Biancolilla ad un massimo di 10,8 in Arbequina.

I migliori risultati, in termini di efficienza meccanica, sono stati conseguiti dalle scavallatrice Pellenc e Gregoire nelle cultivar Arbequina ed Arbosana con

Tab. 2 - Aspetti di biologia fiorale (2008).
Tab. 2 - Inflorescences characteristics.

Cultivar	N° medio fiori/mignola	aborto dell'ovario
Arbequina	16 (± 0,36)	10,8 % (± 1,0)
Arbosana	21 (± 0,47)	9,9 % (± 1,5)
Biancolilla	8 (± 0,22)	8,8 % (± 1,1)

valori di efficienza sempre superiori al 90% (tab. 3). In entrambe le cultivar il maggior valore di efficienza alla raccolta è stato ottenuto con la scavallatrice Pellenc che ha fatto registrare valori compresi tra 94 e 98% (tab. 3). Per quanto riguarda la cultivar Biancolilla, il gran numero di rami rotti manifestatosi già alla raccolta delle prime piante ha indotto a ritenere non applicabile la raccolta con macchine scavallatrici. Di lieve entità sono risultati i danni provocati alle olive dai differenti cantieri di raccolta saggiati. I minori quantitativi di olive danneggiate sono stati rinvenuti nel campione di frutti di Arbosana raccolto con la scavallatrice Gregoire (0,2%); più danneggiate sono risultate le drupe di Arbequina raccolte con la macchina Braud (3,5%). La scavallatrice che ha determinato il minor numero di rami rotti nelle piante della cultivar Arbosana è stata la Gregoire (0,44 %); la Pellenc (0,47%) per quanto concerne la cultivar Arbequina.

Per ciò che riguarda le caratteristiche qualitative degli oli ottenuti dalla molitura delle olive delle tre cultivar, i valori di acidità, numero di perossidi, K232, K270 e DK, sono risultati inferiori ai limiti stabiliti dal regolamento 2568/91 per la classe merceologica extravergine di oliva (tab. 4). Gli oli di tutte e tre le cultivar hanno mostrato una composizione acidica molto simile tra loro. Particolarmente interessante è il dato relativo al contenuto in acido oleico risultato, negli oli di tutte e tre cultivar, superiore al 74%. Il contenuto in clorofilla e carotenoidi è invece risultato maggiore nella cultivar Biancolilla rispetto alle cultivar spagnole.

Tab. 3 - Efficienza meccanica, efficienza alla raccolta, % di olive danneggiate e percentuale di rami rotti per le tre differenti cultivar in relazione alla macchina utilizzata per la raccolta meccanica.
Tab. 3 - Harvest machine efficiency, harvest efficiency, % of damaged fruits and branches in three olive cultivars in relation to the harvest machine adopted.

Macchina	Cultivar	Efficienza meccanica	Efficienza alla raccolta	Olive danneggiate	Rami rotti
Braud	Arbequina	86,62 %	81,15 %	3,5 %	0,58 %
(2007)	Biancolilla	94,39 %	90,98 %	2,7 %	2,34 %
Pellenc	Arbequina	99,34 %	96,61 %	1,5 %	0,47 %
(2007)	Arbosana	97,30 %	94,72 %	3,1 %	2,46 %
Gregoire	Arbequina	98,44 %	91,42 %	0,8 %	2,74 %
(2008)	Arbosana	97,00 %	90,56 %	0,2 %	0,44 %
Pellenc	Arbequina	100 %	98,28 %		1,79%
(2009)	Arbosana	99,32 %	97,96 %		2,33%

Tab. 4 - Risultati delle analisi chimico-fisiche degli oli ottenuti dalle tre cultivar sotto osservazione.
Tab. 4 - Chemical and physical characteristics of olive oils in three olive cultivars.

Cultivar	Acidità (% acido oleico)	Perossidi (meq ossigeno attivo/kg)	Carotenoidi (Ppm)	Clorofille
Arbequina	0,45	3,88	0,048	0,021
Arbosana	0,49	3,48	0,027	0,013
Biancolilla	0,56	4,09	0,033	0,015

Analisi degli Acidi grassi (C)												
Cultivar	16:0	16:1	17:0	17:1	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	22:0	Squalene
Arbequina	13,11	0,94	0,08	0,15	2,16	74,24	8,27	0,68	0,11	0,07	0,03	0,16
Arbosana	11,03	0,81	0,04	0,07	2,46	75,61	7,87	0,60	0,33	0,33	0,12	0,73
Biancolilla	12,30	1,12	0,10	0,21	0,78	74,51	8,55	0,82	0,40	0,27	0,10	0,84

Conclusioni

E' molto difficile trarre conclusioni dai risultati ottenuti nell'ambito del lavoro di ricerca condotto e oggetto della presente nota poiché, eccezione fatta per la Biancolilla, non si ha alcun riferimento relativo al comportamento bio-agronomico delle cultivar Arbequina ed Arbosana nel contesto olivicolo siciliano. Bisogna infatti fare riferimento a dati pubblicati da colleghi della Spagna, Paese nel quale le due suddette cultivar hanno avuto origine e vengono coltivate e, per quanto concerne l'Italia, alle esperienze condotte in Puglia da Camposeo (Camposeo *et al.*, 2006) e da Godini (Godini *et al.*, 2006). Anche per quanto concerne gli impianti superintensivi, modello catalano, nonostante la diffusa presenza di tali tipologie d'impianto nella Penisola Iberica e nei nuovi Paesi olivicoli, non sempre sono stati resi pubblici i dati produttivi e qualitativi del prodotto. In sintesi, molto poco è oggi noto del connubio Arbequina-Arbosana/impianti superintensivi per cui l'unico termine di raffronto dei dati rilevati nel corso del presente lavoro è rappresentato dal prototipo degli impianti superintensivi, il campo sperimentale costituito in Catalogna negli anni '90 e che, attualmente è uno degli impianti superintensivi "più vecchi" (Tous, 2006; 2008).

Pur tenendo infatti conto delle non trascurabili differenze ambientali (evoluzione climatica stagionale) e colturali (densità d'impianto, concimazione, irrigazione) e limitando il raffronto alla cultivar Arbequina, per la quale si dispone di un maggiore numero di dati, emerge che al terzo e al quarto anno, almeno per quanto attiene agli aspetti vegetativi e produttivi, non vi sono sostanziali differenze.

A fronte infatti di una produzione/pianta di circa 6 kg rilevata sulle piante dell'impianto sperimentale di Reus, nell'impianto di Marsala, la produzione/pianta è stata, nel primo anno di osservazioni, mediamente di circa 2,7 kg, mentre, nelle annate successive, il livello produttivo della cultivar spagnola è aumentato sensibilmente assestandosi sui valori riscontrati nell'impianto spagnolo (5 kg/pianta nel 2008 e 7 kg/pianta nel 2009).

Una sensibile differenza è invece riscontrabile nel contenuto in acido oleico che negli oli prodotti a Marsala ha raggiunto valori superiori al 75% decisamente più elevati di quelli comunemente ottenuti in Catalogna che in genere si attestano al 64 % (Rallo *et al.*, 2006).

Relativamente agli aspetti più strettamente biologici sembra opportuno evidenziare come l'elevato numero di fiori per mignola, associato alla bassa incidenza dell'aborto dell'ovario, riscontrati nell'Arbosana e nell'Arbequina, determini un'elevata fertilità delle cultivar spagnole rispetto alla Biancolilla, fenomeno che si cocretizza alla maturazione con la fruttificazione a grappolo (Camposeo *et al.*, 2008).

Preme infine sottolineare che la Biancolilla, tra le cultivar più deboli del panorama varietale siciliano, rispetto alle cultivar spagnole, ha mostrato scarsa adattabilità ai sistemi intensivi a causa del più marcato vigore, del più lungo periodo improduttivo, della minore efficienza produttiva delle piante, della più spiccata tendenza a produrre ad anni alterni e della più spiccata suscettibilità all'occhio di pavone.

Riassunto

Le indagini di cui si riferisce nel presente lavoro sono state effettuate al fine di valutare comparativamente il comportamento agronomico delle cultivar spagnole Arbequina e Arbosana, e della cultivar siciliana Biancolilla, in un impianto superintensivo. Le esperienze sono state condotte in un impianto commerciale, costituito nel 2004, con piante auto radicate di Arbequina e di Arbosana e con piante innestate di Biancolilla. Sulle piante in osservazione sono stati

rilevati aspetti di biologia fiorale e della fruttificazione; è stata, inoltre, rilevata la produzione per pianta, l'area della sezione del tronco e calcolata l'efficienza produttiva. Su campioni di frutti, raccolti meccanicamente attraverso l'impiego d diverse macchine scavallatrici, è stata rilevata l'incidenza di danni all'epidermide. Dopo molitura, sono state valutate le caratteristiche chimico-fisiche dell'olio. E' stata altresì valutata l'incidenza di rami danneggiati in seguito alla raccolta meccanica; per ciascuna cultivar, infine, è stata calcolata l'efficienza della raccolta.

La prova, per quanto attiene agli aspetti vegetativi e produttivi delle due cultivar spagnole non ha messo in evidenza sostanziali differenze rispetto agli impianti spagnoli. Una sensibile differenza è invece riscontrabile nel contenuto in acido oleico che negli oli prodotti in Sicilia raggiunge valori ben più elevati di quelli comunemente ottenuti in Catalogna. La cultivar Biancolilla, ha mostrato scarsa adattabilità agli impianti intensivi, a causa del lungo periodo improduttivo, della tendenza a produrre ad anni alterni e della spiccata suscettibilità all'occhio di pavone.

Parole chiave: impianti superintensivi, cultivar deboli, biologia della fruttificazione, meccanizzazione integrale raccolta, macchine scavatrici.

Ricerche condotte nell'ambito del progetto "Digitalizzazione delle filiere agroaalimentari" (DIFA)

Bibliografia

BELLOMO F., GODINI A., 2003. *Primeros campos expirementales de olivo superintensivo en Puglia - Italia*. Olint 7: 29-30

CARUSO T., DI MARCO L., 1982. *Indagine sull'areale di coltivazione dell'olivo Nocellara del Belice nei comuni di Partanna, Castelvetrano, Campobello di Mazara*. Centro Stampa Siciliana, Palermo

CAMPOSEO S., FERRARA G., PALASCIANO M., GODINI A., 2008. *Varietal behavior according to the superintensive oliveculture training system*. Acta Hort., 791: 271-274.

GODINI A., CAMPOSEO S., SCAVO V., 2006. *Gli aspetti agronomici dell'olivicoltura superintensiva*. Inf. Agr., 62(1): 65-67.

RALLO L., DE LA ROSA R., LEON L., GUERRERO N., BARRANCO D., 2006. *L'olivicoltura intensiva in Spagna*. Atti del Seminario Internazionale sulla Linea Tematica: Innovazione tecnologica in olivicoltura tra esigenze di qualità e di tutela ambientale, Cittanova 11 settembre 2006: 21-25.

TOUS J., ROMERO A., HERMOSO J.F., 2006. *High density planting system, mechanization and crop management in olive*. Second Interational Seminar Olivebioteq, 5-10 Novembre Marsala, invited lectures: 423-430.

TOUS J., ROMEO A., PLANA J., HERMOSO J.J., 2008. *Olive oil cultivar suitable for very-high density planting conditions*. Acta Hort. 791: 403-408.

Periodo ottimale di raccolta e qualità dell'olio in oliveto superintensivo in Abruzzo

Tombesi S.[1], Molfese M.[2], Cipolletti M.[2] e Visco T.[2]
[1] Dipartimento di Scienze Agrarie ed Ambientali, Università di Perugia
[2] ARSSA Abruzzo

Fruit ripening and oil quality in a high-intensive olive orchard in Abruzzo (Italy)

Abstract. The aim of this work was to monitoring the behavior during ripening process of some cvs ('Arbequina', 'Arbosana', 'Don Carlo', 'FS 17') used in Italy in high-intensive olive orchards. During last two months before maturity has been tested for carpological and oil quality parameters samples collected in different ripening stages. The optimal period for harvesting has been established in the last week of October. Regarding oil quality 'Arbosana' and 'Arbequina' expressed oil with low bitterness. Oils obtained from 'FS 17' and 'Don Carlo' were more bitter and spicy. 'Arbosana' showed high Oleic/Linoleic acid ratio followed by 'Don Carlo', 'Arbequina', 'FS 17', respectively. Polyphenols content was higher in oil of 'Don Carlo' than 'FS 17', 'Arbosana', 'Arbequina', respectively.

Key words: ripening, high-intensive, olive, oil quality, Arbequina.

Introduzione

L'individuazione del periodo ottimale di raccolta ha grande importanza nel determinare la qualità e la quantità del prodotto finale (Farinelli *et al.*, 2009). I nuovi impianti superintensivi utilizzano varietà spesso sconosciute nelle realtà olivicole locali e quindi è necessario conoscere meglio il loro comportamento durante la maturazione in modo da massimizzare le rese e la qualità degli oli da esse ottenute (Molfese *et al.*, 2009; Camposeo *et al.*, 2008; Tous *et al.*, 2008). Lo scopo di questo lavoro è di verificare il comportamento di quattro varietà proposte per il modello di impianto superintensivo durante la maturazione dei frutti e di testarne gli oli ottenuti in modo da fornire ulteriori informazioni riguardanti il loro impiego.

Materiali e metodi

Per determinare il miglior periodo di raccolta in relazione alla qualità e per confrontare gli oli delle differenti cultivar, nel 2008, in un oliveto superintensivo localizzato nella provincia di Teramo è stato monitorato il processo di maturazione di quattro varietà: 'Arbequina', 'Arbosana', 'FS 17' e 'Don Carlo'. Le piante, messe a dimora nel 2006 ed allevate a monocono, erano disposte alla distanza di 2 m sulla fila e di 4 m tra le file. L'impianto era irriguo e gli adacquamenti erano eseguiti tramite l'uso di ali gocciolanti. La pluviometria della zona nel 2008 si aggirava intorno agli 800 mm (www.provinciateramo.net) e la temperatura media annua era di circa 15 °C. Le *Growing Degree Units* (GDU) della zona per l'intero 2008, calcolate come descritto da Pannelli *et al.* (1990), sono state pari a circa 4.000 GDU.

Durante gli ultimi due mesi prima della raccolta è stato preso in considerazione l'andamento del peso medio dei frutti, del rapporto polpa/nocciolo, del contenuto in olio, della sostanza secca, della durezza della polpa, dell'indice di colore e della forza di distacco dei frutti. Inoltre per ciascun periodo è stato estratto un campione d'olio che è stato successivamente sottoposto a panel test, per determinarne le caratteristiche organolettiche, e ad analisi chimiche per l'acidità, il contenuto in polifenoli ed il profilo acidico. Le medie presentate sono frutto di almeno tre ripetizioni, a seconda del tipo di analisi, e sono state separate con il test di Tukey per $p<0,05$.

Risultati e discussione

Forza di distacco e contenuto in olio (fig. 1)

La forza di distacco ha mostrato valori costanti con un calo intorno alla seconda settimana di ottobre in tutte le varietà tranne che in 'Don Carlo' dove questo parametro è rimasto elevato per tutto il periodo preso in esame, probabilmente a causa della scarsa produzione peraltro allocata solo su alcune piante. I valori più alti in genere sono stati misurati su piante di 'FS 17' ed 'Arbosana' anche se è da notare la notevole differenza nel peso dei frutti tra le due varietà (fig. 2);'Arbequina' ha mostrato i valori più bassi. Il contenuto in olio ha raggiunto il suo massimo per tutte e quattro le varietà prese in esame intorno alla seconda decade di ottobre. 'FS 17' e 'Arbequina' hanno

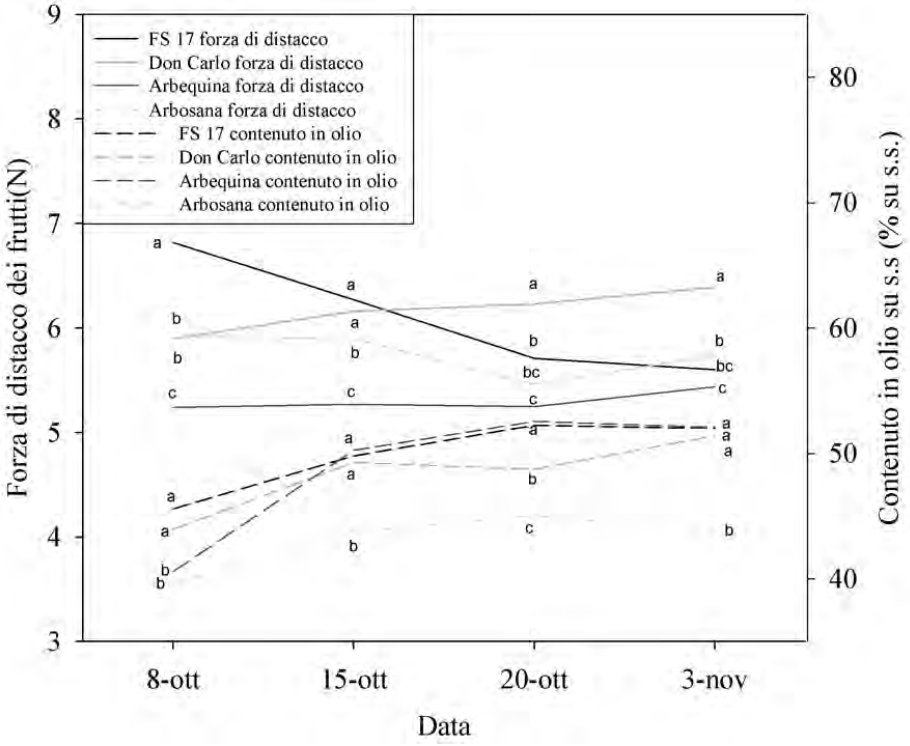


Fig 1 - Forza di distacco dei frutti e contenuto in olio.
Fig. 1 - Detachment force and fruit oil content.

mostrato i valori maggiori seguite rispettivamente da 'Don Carlo' e 'Arbosana'.

Peso medio dei frutti e sostanza secca (fig. 2)

Il peso delle drupe ed il loro contenuto in sostanza secca è aumentato per tutto il periodo monitorato. 'Don Carlo' e 'FS 17' sono le due varietà con le drupe più grosse seguite da 'Arbequina' e 'Arbosana' con drupe due o tre volte più piccole rispetto alle prime due.

Rapporto polpa nocciolo, durezza della polpa ed indice di colore

Il rapporto polpa/nocciolo è rimasto pressoché costante durante tutta la fase di maturazione, 'FS 17' e 'Don Carlo' hanno mostrato i valori più alti per questo parametro nettamente al di sopra rispetto ad 'Arbequina' e 'Arbosana'. 'FS 17' ha mostrato una durezza della polpa più bassa, seguita da 'Don Carlo', 'Arbequina' e 'Arbosana'. Le drupe di 'FS 17' e

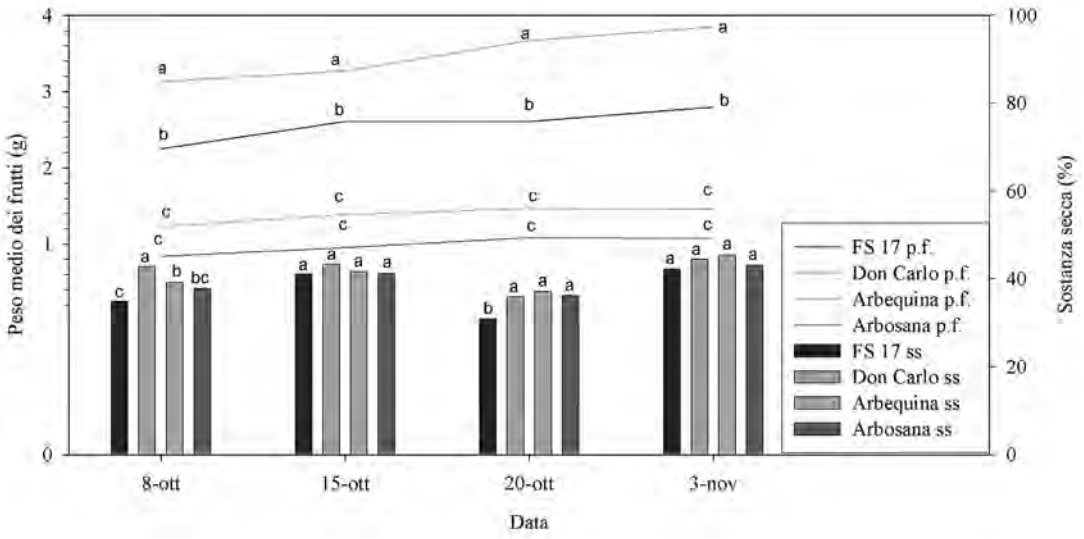


Fig 2 - Peso medio dei frutti e sostanza secca.
Fig. 2 - Mean fruit weight and fruit dry matter.

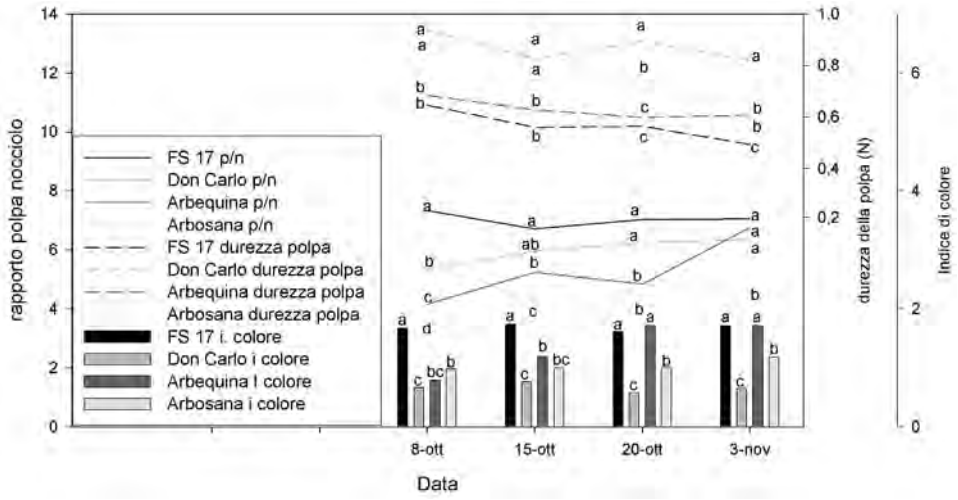


Fig 3 - Caratteristiche fisiche delle drupe.
Fig 3 - Fruit physical characteristics.

'Arbequina' hanno mostrato una progressiva invaiatura che non è però giunta a coprire l'intera superficie della drupa. Le drupe di 'Don Carlo' sono in genere rimaste verdi, quelle di 'Arbosana' a maturità hanno virato verso il giallo (indice di Jaen pari ad 1).

Analisi sensoriale (fig. 6)

I voti più alti per quanto riguarda l'analisi sensoriale si sono registrati nella terza settimana di ottobre. 'FS 17' ed 'Arbosana' hanno ricevuto i punteggi migliori mentre 'Don Carlo' e 'Arbequina' hanno ricevuto i punteggi inferiori. In particolare (fig. 6) gli oli ottenuti da 'Don Carlo' sono risultati tendenzialmente squilibrati verso l'amaro ed il piccante, quelli ottenuti da 'Arbequina' erano tendenzialmente piatti, mentre quelli di 'Arbosana' e 'FS 17' erano abbastanza equilibrati con un sentore di amaro accentuato in 'FS 17'.

Caratteristiche chimiche degli oli (figg. 4 e 5)

Gli oli sono risultati essere tutti extravergini senza differenze né tra date di campionamento né tra varietà. 'FS 17' e 'Don Carlo' hanno mostrato il maggiore contenuto in polifenoli totali mentre 'Arbosana' e 'Arbequina' hanno mostrato valori inferiori. 'Don Carlo' è risultata essere la varietà con più ac. oleico seguita rispettivamente da 'Arbosana', 'Arbequina' ed

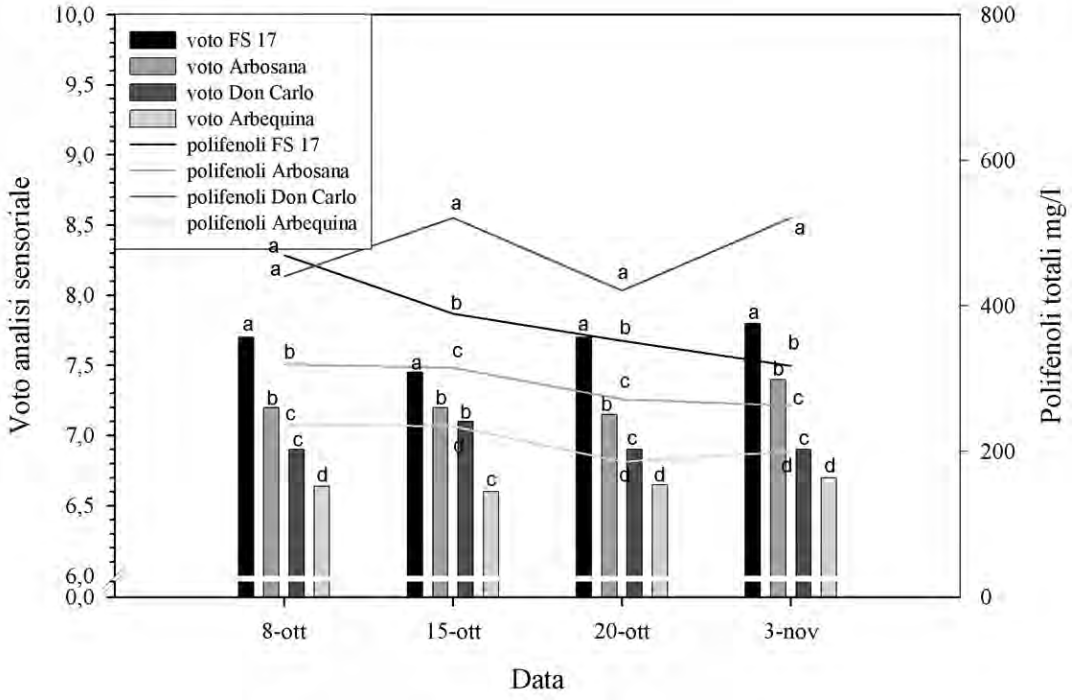


Fig 4 - Polifenoli totali e voto complessivo analisi sensoriale.
Fig. 4 - Total polyphenol content and panel test grand vote.

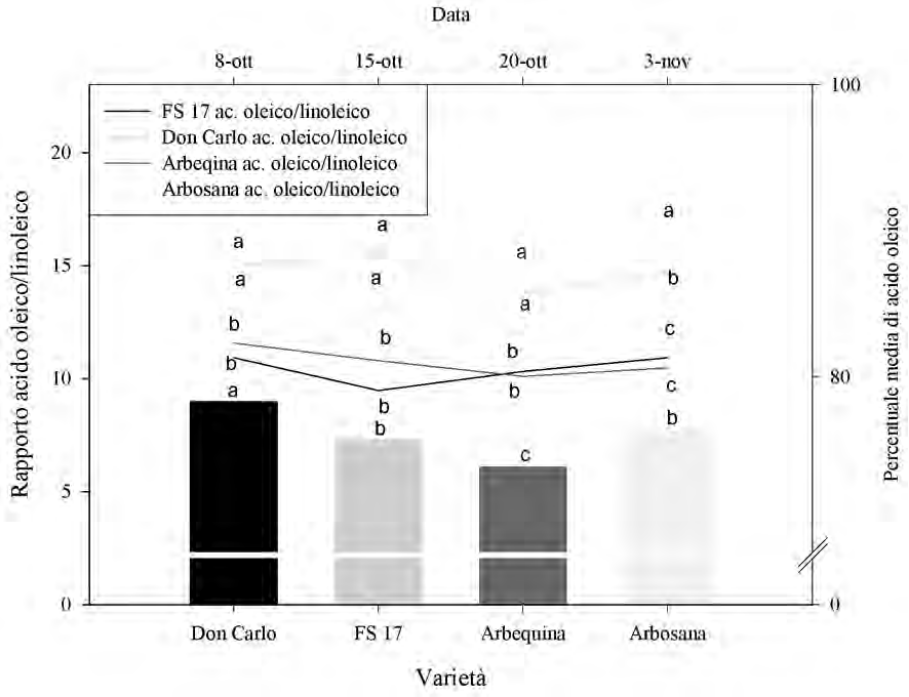


Fig 5 - Rapporto ac. oleico/ac. linoleico e contenuto medio ac. oleico nelle varie cvs.
Fig. 5 - Oleic/Linoleic acid ratio and Oleic acid content in the considered cultivars.

'FS 17'. I valori dei vari acidi grassi non sono variati di molto durante la maturazione. 'Arbosana' e 'Don Carlo' hanno mostrato i migliori rapporti ac. oleico/ac. linoleico (importanti per determinare la stabilità nel tempo dell'olio) seguite da 'Arbequina' ed 'FS 17'.

Conclusioni

Il periodo ottimale di raccolta si è collocato nell'ultima decade di ottobre per tutte le varietà tranne 'FS 17' e 'Arbosana': il periodo ottimale della prima era avvenuto una settimana prima delle altre, mentre l''Arbosana', a causa anche delle elevate forze di distacco, ha mostrato un ritardo di circa dieci giorni rispetto ad 'Arbequina' e 'Don Carlo'. Per quanto riguarda la qualità degli oli in relazione alla cultivar è stato rilevato che 'Arbosana' e soprattutto 'Arbequina' mostravano un olio con attenuate note di amaro e piccante al contrario di quelli 'FS 17' e 'Don Carlo' che risultavano invece sbilanciati verso questa

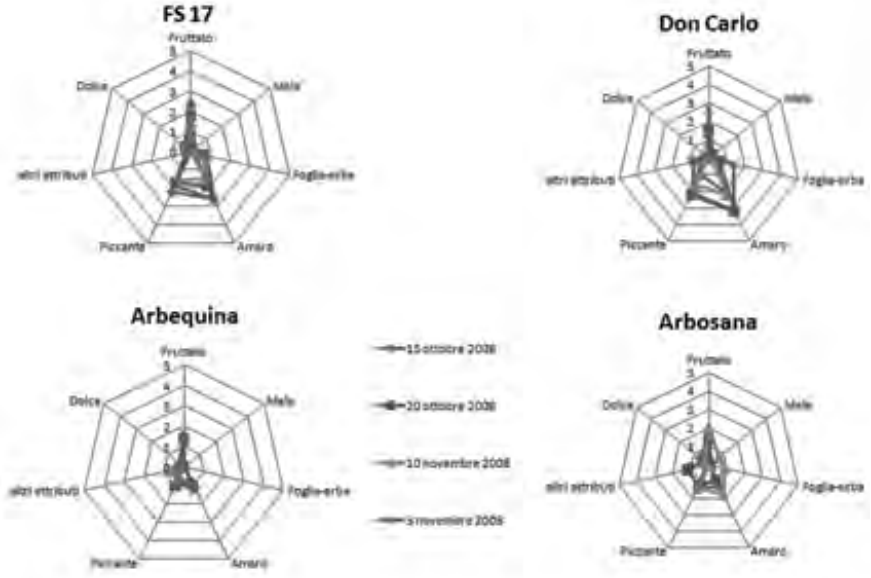


Fig 6. Profilo sensoriale degli oli per varietà ed epoca di campionamento.
Fig. 6 - Cultivar sensory profiles in different ripening stages.

caratteristica. Dall'esame dei campioni e in relazione al periodo di prelievo è emerso che i campioni prelevati alla fine di ottobre risultavano più equilibrati rispetto a quelli risultanti dai primi campionamenti. Le caratteristiche dell'olio risultavano comunque maggiormente influenzate dalla varietà piuttosto che dall'epoca di raccolta.

Un'adeguata scelta del periodo di raccolta può svolgere un importante ruolo nel migliorare le caratteristiche organolettiche dell'olio ottenibile sempre però all'interno delle caratteristiche varietali.

Riassunto

Per determinare il miglior periodo di raccolta in relazione alla qualità e per confrontare gli oli delle differenti cultivar, nel 2008, in un oliveto superintensivo localizzato nella provincia di Teramo è stato monitorato il processo di maturazione di quattro varietà: 'Arbequina', 'Arbosana', 'FS 17' e 'Don Carlo'. Durante gli ultimi due mesi prima della raccolta sono state prese in considerazione le caratteristiche carpologiche dei frutti, la qualità e la quantità dell'olio estratto in ciascun periodo. E' stato poi determinato il periodo ottimale di raccolta che si è collocato nell'ultima decade di ottobre. Per quanto riguarda la qualità degli oli in relazione alla cultivar è stato rilevato che 'Arbosana' e soprattutto 'Arbequina' mostravano un olio con attenuate note di amaro e piccante al contrario di 'FS 17' e 'Don Carlo' che risultavano invece tendenzialmente sbilanciati verso questa caratteristica. Per quanto riguarda il contenuto in polifenoli è risultato che 'Arbequina' e 'Arbosana' mostravano un contenuto più basso di 'FS 17' e 'Don Carlo', mentre per quanto riguarda il rapporto ac. oleico/ac. linoleico, 'Arbosana' e 'Don Carlo' mostravano un valore più alto rispetto ad 'Arbequina' e 'FS 17', soprattutto per il maggior contenuto in ac. oleico.

Parole chiave: periodo ottimale di raccolta, superintensivo, qualità olio, Arbequina.

Bibliografia

CAMPOSEO S, FERRARA G, PALASCIANO M, GODINI A., 2008. *Varietal behaviour according to superintensive olive culture training system.* Acta Hort. 791: 271-274.

FARINELLI D, RUFFOLO M, SCATOLINI G, SIENA M, TOMBESI A., 2009. *Monitoraggio del periodo ottimale di raccolta nella DOP Umbria.* In questo volume

MOLFESE M, CIPOLLETTI M, VISCO T, TOMBESI S., 2009. *Scavallatrici in difficoltà sulle piante più giovani*. Olivo e olio, 10: 46-50.

PANNELLI G, FAMIANI F, SERVILI M, MONTEDORO GF., 1990. *Agro-climatic factors and characteristics of the composition of virgin olive oils.* Acta Hort., 286: 477-480.

TOUS J, ROMERO A, PLANA J, HERMOSO JF., 2008. *Olive oil cultivars suitable for very-high density planting conditions*. Acta Hort., 791: 403-408.

Aspetti quantitativi e qualitativi della produzione nella cultivar da mensa 'Nocellara del Belice' in rapporto all'evoluzione dello stato idrico della pianta nel corso della stagione estiva

Di Miceli C., Nicolosi P., Marra F.P. e Caruso T.
Dipartimento di Colture Arboree, Università di Palermo

Summer variation of tree water status and fruit quality in the Sicilian table olive cultivar "Nocellara del Belice" irrigated under water shortage regime

Abstract. To improve the efficiency of irrigation, relations between water status and production were studied in a typical Sicilian orchard for the production of table olive cultivar. Trees of "Nocellara del Belice" were differently supplied with water during the summer, from the end of pit hardening until harvest. Different irrigation volumes were calculated in order to provide approximately 100% and 50% of Etc. Control rainfed trees were also token into consideration. Olive trees water status was monitored during the summer using a Scholander pressure chamber. Measurement of stem water potential (SWP) were performed at midday biweekly. The daily curve of (SWP) from predawn until sunset was performed, as well. Gas exchanges (CO_2 and H_2O) were measured using a CIRAS-2 (PP Systems®), coupled with an automatic cuvette (Parkinson Leaf Cuvette), contemporaneously to MSWP; moreover, fruit and shoot growth have been monitored during irrigation period. At harvest yield per tree has been determined; samples of fruit have been selected on the basis of caliber and analyzed for weight of fruit, pulp and pit. Fully irrigated trees (100% Etc) received about 1500 m^3/ha while plants irrigated at 50% received about 750 m^3/ha. Values of maximum stress were registered at the end of August in the trees under rainfed conditions. Irrigation increased fruit production and quality, in terms of incidence of fruit that reached table olive commercial calibers (>19 mm) and flesh/pit ratio.

Key words: water stress, gas-exchanges, water potential, quality production.

Introduzione

Considerata la grande diffusione dell'olivicoltura da mensa in Sicilia e l'importanza della pratica irrigua per la qualità del prodotto, diviene di estremo interesse mettere a punto la tecnica dell'irrigazione in funzione delle soglie di tolleranza agli stress idrici dell'olivo ai fini di ridurre i volumi d'irrigazione (Goldhamer, 1999). E' stato infatti osservato come differenti criteri d'irrigazione, che non sempre conducono al pieno soddisfacimento delle esigenze idriche stimate per la coltura, possano apportare reali benefici qualitativi, economici ed ambientali rispetto alla piena e costante irrigazione (Patumi *et al.*, 1999; d'Andria *et al.*, 2002; Tognetti *et al.*, 2005). Un'estesa indagine territoriale, volta a conoscere i modelli di gestione colturale adottati nel comprensorio della DOP "Nocellara del Belice olive da tavola" ha messo in evidenza che la pratica dell'irrigazione avviene su base empirica, con un'ampia variabilità nei volumi irrigui stagionali e nel numero di interventi irrigui (Caruso *et al.*, 2007). Il suddetto distretto olivicolo è esteso circa 8.000 ettari (Caruso e Di Mauro, 1982). Gran parte dei quali condotti in irriguo, per cui la possibilità di razionalizzare l'impiego dell'acqua, oltre a comportare notevoli economie nei costi di gestione aziendale, ha risvolti positivi non indifferenti anche sotto l'aspetto ambientale.

Nella presente nota si riferisce dei primi risultati di esperienze condotte al fine di valutare effetti di stati di stress idrico su aspetti quantitativi e qualitativi del prodotto della cultivar Nocellara del Belice.

Materiali e metodi

Le prove sono state svolte presso un impianto commerciale, della cultivar di olivo da mensa Nocellara del Belice, sito in Castelvetrano (TP). L'azienda, estesa circa 13 ettari, viene irrigata mediante un impianto di sub-irrigazione. L'oliveto oggetto di studio si basa su piante di sessanta anni, disposte ad un sesto di 5x6 m.

La prova è stata impostata adottando uno schema sperimentale a blocchi randomizzati, con 2 blocchi per tesi e 3 alberi per blocco, tutti circondati da alberi che assolvevano a funzione di bordo. In agosto, nell'impianto di irrigazione sono stati installati contatori di acqua nei settori oggetto di studio. Le prove hanno messo a confronto 2 livelli irrigui (T50 e T100), oltre al controllo non irrigato (T0), che sono stati determinati restituendo quantitativi di acqua corrispondenti al

50% e 100% dell'evapotraspirazione della coltura (ETc) calcolata come segue:

$$ETc = ETP * Kc * Kr$$

dove ETP è l'evapotraspirazione potenziale, così come stimata dalla rete SIAS (staz. di Castelvetrano-TP) in base all'equazione di Penman-Monteith; il coefficiente colturale scelto per l'olivo adattato (Kc) durante la stagione irrigua è variato fra 0,66 e 0,70; il coefficiente di copertura del suolo adottato (Kr) è stato di 0,5.

I volumi irrigui stagionali, restituiti con interventi a turno con cadenza settimanale, sono stati di circa 1500 m^3/ha per la tesi T100 e 750 m^3/ha per la tesi T50. Il periodo d'irrigazione è cominciato dopo la fase di indurimento del nocciolo (prima decade di luglio) ed è proseguito fino alla raccolta dei frutti, avvenuta nella seconda settimana di ottobre. L'inizio delle prove era stato preceduto da un intervento di fertirrigazione, effettuato nella prima settimana di luglio su tutta la superficie aziendale.

Su ciascuna pianta in studio sono stati rilevati il potenziale idrico xilematico, la fotosintesi e la conduttanza stomatica. Per la misura di potenziale è stata utilizzata una camera a pressione, operando su foglie prelevate da rametti di olivo opportunamente coperti con foglio di alluminio circa 2 ore prima del rilievo. Le misurazioni della fotosintesi netta (A max), respirazione (E) e conduttanza stomatica (gs), sono state effettuate per mezzo di un analizzatore di gas (CO_2 e H_2O) a raggi infrarossi (IRGA) portatile CIRAS-2 (PP Systems®), accoppiato ad una camera di assimilazione automatica (Parkinson Leaf Cuvette).

I rilievi di potenziale xilematico e di scambi gassosi si sono stati effettuati con cadenza settimanale per l'intera stagione irrigua e fino alla raccolta dei frutti. Inoltre, con cadenza mensile è stato seguito l'andamento giornaliero del potenziale xilematico: i rilevamenti sono iniziati prima del sorgere del sole e sono proseguiti fino alle ore pomeridiane.

I rilievi biometrici, effettuati su quattro rami/pianta, hanno riguardato la lunghezza dei germogli e il diametro dei frutti su di essi portati. In concomitanza di ciascun rilevamento è stato prelevato un campione di 20 frutti/ tesi, per studiare le relazioni tra diametro dei frutti e peso (fresco e secco) degli stessi e per seguirne la dinamica dell'accrescimento ponderale. Alla raccolta, su 12 piante/ tesi è stata determinata la produzione/pianta; dalla massa dei frutti raccolti sono state ottenute campioni di 400 kg di frutti. Le drupe sono state poste in cassette da 25 kg e trasportate subito dopo allo stabilimento di lavorazione. Si è proceduto, quindi, alla calibrazione della produzione; i frutti con calibro inferiore ai 19 mm sono stati classificati come "scarto" ai fini della destinazione alla concia come olive da tavola. Per quanto riguarda i parametri qualitativi delle olive è stato calcolato il peso medio dei frutti e la relativa classe commerciale di appartenenza; su un campione di 160 frutti per tesi è stato determinato il rapporto polpa nocciolo.

Risultati e discussione

Durante il mese di luglio, probabilmente a seguito dell'intervento aziendale di fertirrigazione, tutte le piante in osservazione non hanno mostrato differenze significative di potenziale xilematico (MSWP) misurato nelle ore più calde, tali valori, inoltre, non hanno evidenziato una situazione di stress delle piante attestandosi su un range compreso fra - 1,5 MPa e -2,0 MPa (fig. 1). Con il procedere della stagione estiva, la tesi T0 ha cominciato a far registrare valori più negativi di potenziale xilematico, differenziandosi dalle altre due tesi (T100 e T50) fin dalla prima decade di agosto. I valori più bassi di MSWP, ovvero di massimo stress sono stati rilevati nella prima decade di settembre. La tesi T50 ha seguito fino ad agosto lo stesso andamento della T100, in termini di potenziale xilematico, mostrando valori non inferiori a -1,8 MPa. La differenza di MSWP nelle tesi T100 e T50 si è evidenziata solamente agli inizi di settembre. A partire dalla seconda decade di settembre si sono verificati i primi eventi piovosi che hanno determinato il recupero dello stato d'idratazione delle piante della tesi T50; le piante della tesi T0 hanno invece sempre mantenuto un gap negativo nei valori di potenziale xilematico rispetto alle altre due tesi. L'andamento stagionale del MSWP riscontrato nel corso delle presenti prove è simile a quanto già osservato da Moriana *et al.* (2007) in un impianto tradizionale a bassa densità in Spagna.

Passando ad esaminare la curva dell'andamento giornaliero del potenziale xilematico nel mese di luglio (fig. 2), è possibile evidenziare che durante la giornata è modesta la variazione dei valori di potenziale idrico fra il rilievo prima dell'alba, in cui la pianta ha le massime riserve idriche, e le ore più calde della giornata. Le differenze di potenziale xilematico fra alba e mezzogiorno si sono accentuate in agosto e nei mesi successivi (fig. 2), fino a registrare valori compresi fra -0,5 Mpa (*predawn*) e -2,9 Mpa (*midday*) per la tesi in asciutto (T0). È tuttavia apparsa chiara la capacità di tutte le piante delle diverse tesi irrigue di recuperare il proprio stato di idratazione al tramonto e durante la notte. Interessante evidenziare come il MSWP sia stato il parametro più adatto a descrivere lo stato idrico della pianta di olivo (Fernandez *et al.*, 2008). Nel contesto colturale in cui

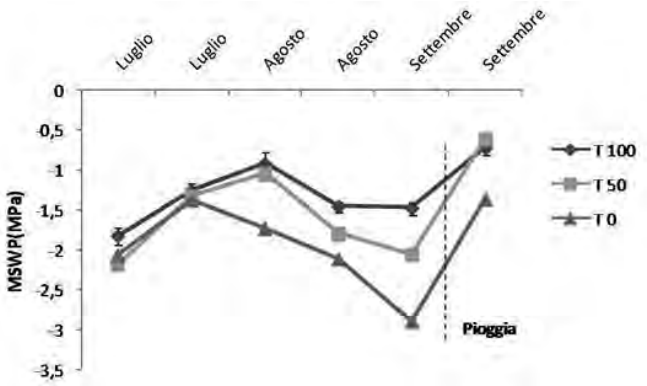


Fig. 1 - Valori di *Midday Stem Water Potential* (MSWP) rilevati in piante di Nocellara del Belice. Media ± E.S.
Fig. 1 - Midday Stem Water Potential (MSWP) of Nocellara del Belice trees subjected to three different irrigation treatments. (Mean ± S.E).

si è operato i potenziali idrici all'alba non hanno evidenziato differenze correlabili con i diversi volumi irrigui delle tesi in prova (Gucci *et al.*, 2007).

A prescindere dalla quantità di acqua erogata, le piante non hanno mostrato differenze nella crescita della vegetazione in corrispondenza del periodo di accrescimento dei frutti durante la stagione estiva (dati non riportati).

I rilievi di fotosintesi effettuati durante il periodo irriguo hanno messo in evidenza differenze nel tasso di assimilazione netta (Amax) fra i trattamenti a confronto (fig. 3). Nonostante tali differenze non siano risultate significative, la maggiore disponibilità di acqua irrigua delle tesi T100 e T50 ha favorito l'attività fotosintetica rispetto alla tesi in asciutto (T0). I processi fisiologici che stanno alla base di tale comportamento sono molto probabilmente i medesimi riscontati da Angelopoulos *et al.* (1996). I valori piuttosto bassi di fotosintesi rilevati nel mese di agosto sono da mettere in relazione alle alte temperature che si sono verificate, che hanno determinato la chiusura degli stomi, contribuendo così ad inibire la fotosintesi. Tali considerazioni trovano riscontro nell'andamento della traspirazione (fig. 4) e della conduttanza stomatica (fig. 5), che hanno evidenziato un abbassamento dei valori nei mesi più caldi.

Alla raccolta, effettuata il 9 ottobre 2008, la produzione delle delle piante tesi T100 e T50 non ha mostrato differenze significative, mentre inferiori sono state le rese produttive delle piante della tesi T0 (tab. 1). Diverso è apparso anche il numero di frutti, influenzato da una cascola pre-raccolta maggiore per le piante in asciutto (tab. 1).

La tesi T100 ha mostrato una percentuale di olive con calibro superiore ai 19 mm (fig. 6) pari al 43,7%, sensibilmente maggiore rispetto a T50 (36,6%) e T0 (32,6%) (fig. 7). Il peso medio delle olive destinate alla produzione da mensa è stato di 5,5 g. Tutte le olive prodotte nel calibro superiore a 19 mm sono rientrate, nella categoria "Extra-Large" della classificazione commerciale (161-200 olive/kg). Il rapporto polpa nocciolo (fig. 8), ha invece, messo in evidenza che le tesi irrigate T100 e T50 hanno fornito frutti con un maggiore sviluppo della polpa rispetto alla tesi T0.

Conclusioni

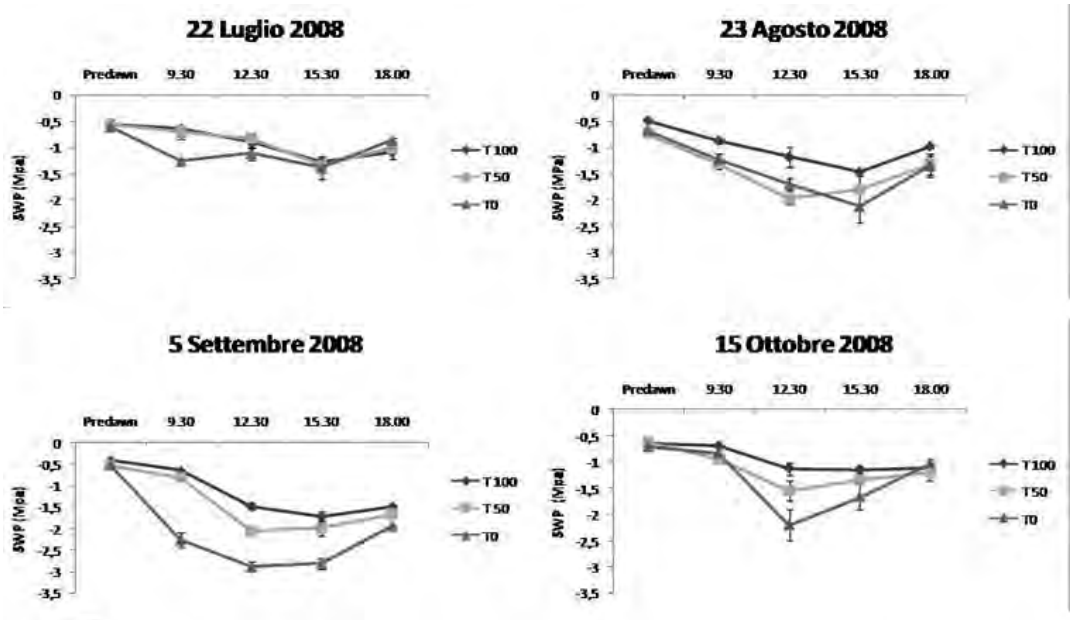


Fig. 2 - Evoluzione giornaliera dello stato idrico (SWP) di piante di Nocellara del Belice. Media ± E.S.
Fig. 2 - Daily trend of water status (SWP) of Nocellara del Belice trees subjected to three different irrigation treatments (Mean ± S.E).

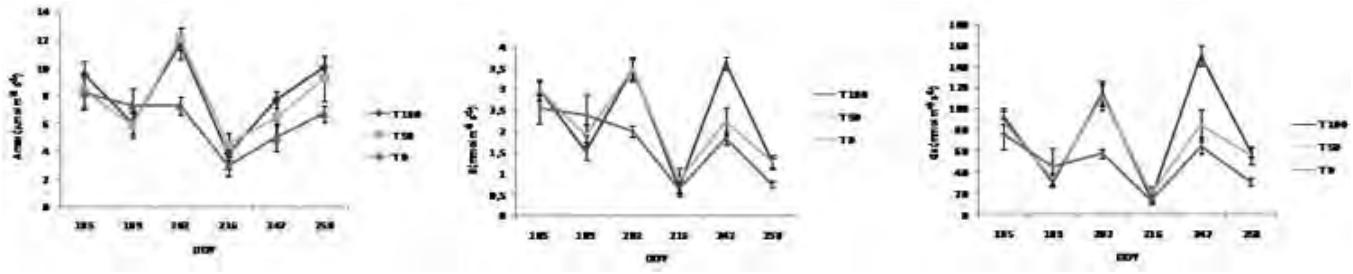


Fig. 3 - Fotosintesi (Amax), Traspirazione (E) e Conduttanza Stomatica (gs) di piante di Nocellara del Belice durante la stagione estiva. Media ± E.S.
Fig. 3 - Trend of photosynthesis (Amax), Transpiration (E) and Stomatal Conductance (gs) of Nocellara del Belice trees during summer season. (Mean ±S.E).

Fig. 4 - Incidenza (%) di frutti di Nocellara del Belice che possono essere destinati al consumo diretto (Ø> 19mm) prodotti da piante sottoposte a diversi trattamenti irrigui.
Fig. 4 - Partitioning of Nocellara del Belice fruits suitable as table olive (ø > 19mm) produced by trees subjected to three different irrigation treatments.

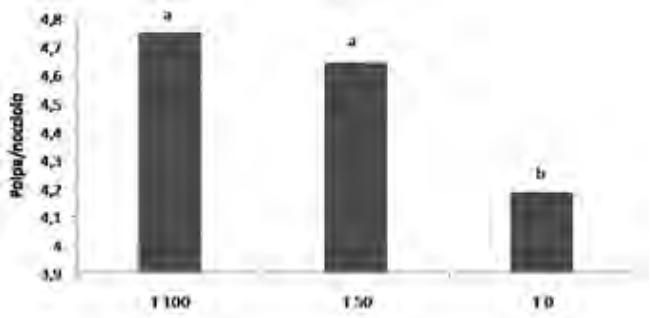


Fig. 5 - Rapporto polpa nocciolo in frutti di Nocellara del Belice prodotti da piante sottoposte a diverse regime idrico. Lettere diverse indicano differenze significative per P<0,05 (test di Tukey).
Fig. 5 - Flesh/pit ratio in fruits of Nocellara del Belice produced by trees under different irrigation treatments.Different letters means significative differences for P<0.005 (Turkey test).

Nel contesto colturale in cui si è operato (bassa densità d'impianto, chioma poco densa, modesta carica produttiva), la restituzione del 50% ETc non sembra avere pregiudicato, rispetto al 100%, i livelli produttivi e qualitativi delle olive. In Sicilia la disponibilità di acqua irrigua è modesta e l'offerta dei consorzi di distribuzione dell'acqua è per lo più concentrata nei mesi di luglio – settembre. Tale tipo di organizzazione influenza sia la quantità totale di acqua che può essere distribuita che il momento d'intervento in rapporto alle fasi fenologiche della pianta non consente di tenere conto delle effettive esigenze idriche delle piante (irrigazione fisiologica). Nell'ambito delle prove eseguite quantitativi di acqua somministrati durante la stagione estiva, compresi tra 750-1.500 m^3/ha, sono risultati adeguati per il regolare svolgimento dell'attività vegeto-produttiva delle piante.

Non è da escludere la possibilità di ridurre ulteriormente i volumi irrigui stagionali e mettere a punto la gestione dell'irrigazione in deficit anche per la produzione di olive da mensa "Nocellara del Belice". Altro aspetto meritevole di indagine riguarda l'influenza del regime irriguo sulla quantità di zuccheri accumulati nella polpa e sulla biodiversità microbica che colonizza i frutti, ai fini dell'avvio di processi di fermentazione naturale nella concia in verde e, in definitiva, al miglioramento qualitativo complessivo del prodotto trasformato.

Tab. 1 - Produzione pianta (media ± E.S.), numero di frutti alla raccolta e percentuale di cascola pre-raccolta in piante di Nocellara del Belice sottoposte a diversi regimi irrigui.
Tab. 1 - Yield per tree (Mean ± S.E.), number of fruits/tree and percentage of pre-harvest drop in Nocellara del Belice trees subjected to three different irrigation treatments.

	Produzione a pianta (kg)	Numero frutti/pianta	Cascola pre-raccolta (%)
T 100	43,3 ± 1,19	8.294	4,5
T 50	45,5 ± 1,98	8.765	12,6
T 0	32,6 ± 2,44	6.530	19,4

Riassunto

L'ottimizzazione della pratica irrigua, induce a considerare con un certo interesse le tecniche che consentono di risparmiare l'acqua d'irrigazione senza alterare la resa produttiva e la qualità dei frutti. Negli ultimi anni, anche in olivicoltura, sono state intraprese ricerche volte a studiare gli effetti del deficit idrico controllato ("regulated deficit irrigation" o RDI). Considerata la grande diffusione nel territorio siciliano dell'olivo (155.000 ha circa) e la crescente tendenza all'utilizzo dell'irrigazione quale mezzo per incrementare le rese produttive e la qualità delle produzioni dei frutti, diviene di estremo interesse mettere a punto una corretta gestione fisiologica della pratica irrigua in funzione delle soglie di tolleranza agli stress idrici dell'olivo nello specifico contesto colturale.

Per tale finalità piante di olivo della cv Nocellara del Belice sono state sottoposte a diversi livelli di irrigazione, attraverso la somministrazione di volumi irrigui pari a 100% (1500 m^3/ha) ed al 50% (750 m^3/ha) dell'evapotraspirazione massima (ETc) calcolata in base all'equazione di Penman-Montheith, oltre al controllo non irrigato (T0).

I rilievi di potenziale idrico SWP e degli scambi gassosi (Amax, E, gs) sono stati effettuati sulle piante in osservazione per l'intera stagione irrigua e fino alla raccolta, in corrispondenza di osservazioni non distruttive, condotte allo scopo di determinare i flussi di crescita vegetativa e dei frutti. Alla raccolta oltre alla produzione per pianta, sono state eseguite le analisi sulla qualità dei frutti, in termini di calibro e rapporto polpa/nocciolo.

Valori di SWP nella soglia di stress sono stati registrati nella tesi T0 alla fine di Agosto. I livelli produttivi e la qualità dei frutti sono stati influenzati dai trattamenti irrigui. La sperimentazione ha dimostrato che l'irrigazione è utile a incrementare la produzione di frutti con calibro commerciale da tavola e migliorare il rapporto polpa/nocciolo.

Parole chiave: stress idrico; scambi gassosi, potenziale idrico; qualità delle produzioni.

Ricerche condotte nell'ambito del progetto "Digitalizzazione delle filiere agrolamimentari " (DIFA)

Bibliografia

ANGELOPOULOS 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): 1093-1100.

CARUSO T., DI MARCO A., 1982. I*ndagine sull'areale di coltivazione dell'olivo Nocellara del Belice nei comuni di Partanna, Castelvetrano, Campobello di Mazara*. Centro Stampa Siciliana. Palermo

CARUSO T., CAMPISI G., OCCORSO G., CAPPELLO A., 2007. *Tecnica colturale da migliorare per l'olivo da mensa del Belice*. Informatore Agrario, Supplemento Sicilia n. 47: 19-23.

D'ANDRIA R., MORELLI G., PATUMI M., FONTANAZZA G., 2002. *Irrigation regimes affects yield and oil quality of olive trees*. Acta Hort. 586: 273-276.

FERNÀNDEZ J.E., DÌAZ-ESPEJO A., GIRO´N I.F., DURA´N P.J., PALOMO M.J., INFANTE J.M., CHAMORRO V., VILLAGARCI´A L., 2008. *Sap flow, stem water potential and stomatal conductance to water and CO2 in mature olive trees under regulated deficit irrigation and partial root drying.* Acta Hort. 791(2): 465-469.

GOLDHAMER D.A., 1999. *Regulated deficit irrigaton for California canning olives*. Acta Hort. 474: 369-372.

GUCCI R., LODOLINI E., RAPOPORT H.F., 2007. *Productivity of olive trees with different water status and crop load*. J. Hort. Sci. Biotech. 82 (4): 648-656.

MORIANA A., PEREZ-LOPEZ D., GOMEZ-RICO A., DE LOS DESAMPERADOS SALVADOR M., OLMEDILLA N., RIBAS F., FREGAPANE G., 2007. *Irrigation scheduling for traditional, low-density olive orchards: Water relations and influence on oil characteristics*. Agricultural Water Management 87: 171-179.

PATUMI M., D'ANDRIA R., FONTANAZZA G., MORELI G., GIORIO G., 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 (6): 729-737.

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 (1-2): 139-155.

Influenza della simbiosi micorrizica sulla risposta vegetativa di cinque cultivar di *Olea europaea* L.

Tataranni G.[1], Santilli E.[2], Briccoli Bati C.[2] e Dichio B.[1]
[1] *Dipartimento di Scienze dei Sistemi Colturali, Forestali e dell'Ambiente, Università della Basilicata*
[2] *CRA OLI Centro di Ricerca per l'Olivicoltura e l'Industria olearia, Rende (CS)*

The influence of mychorrizae on the vegetative growth of five *Olea europaea* L. cultivars

Abstract. The artificial mychorrization, in nursery phase, becomes useful particularly when the populations of native fungi are not present or have been reduced by intensive agricultural practices. We show preliminary results on the effects of mychorrizic symbiosis induced in five cultivars of *Olea europaea*: Carolea, Coratina, Maiatica of Ferrandina, Leccino and Tondina. During the experimentation, self-rooted cuttings, approximately 500 per each cultivar, were inoculated, in correspondence of the two transplants in pot, with: *Glomus intraradices*, *Glomus* spp., *Glomus* spp. + *Trichoderma* sp. + bacteria. The plants have been grown, according the ordinary management techniques, guaranteeing an optimal water status and apporting limited fertilization. The percentage of mychorrizic colonization has been high, with values to 100%, while the intensity of mychorrization results variable, from 20 to 50%. Destructive and not-destructive biometric measurements were carried out to estimate eventual variations, in terms of plant growing rate and stored dry matter. Altogether, in the first eighteen months, all the inoculated treatments showed greater increments, from 8 to 20%, than controls; *Glomus intraradices* determined the best result, +20%. However, a strong interaction inoculo-cultivar emerges; Maiatica cultivar, in fact, reached higher stem diametrical increments, +20%, with the *Glomus* spp. ; Carolea cultivar, +11%, and Coratina, +33%, with the *Glomus* spp. + *Trichoderma* sp. + bacteria; Leccino and Tondina confirmed the efficiency of *Glomus intraradices*, +29% and +24%, respectively.

Key words: olive tree, mychorrizae, *Glomus*, vegetative growth.

Introduzione

In natura, le radici delle piante vivono quasi sempre in simbiosi con funghi del suolo. In questo tipo di associazione, micorriza, il fungo fornisce alla pianta fosfati ed altri minerali (zinco e rame) poco mobili, la protegge da stress diversi e da organismi patogeni, in cambio utilizza i suoi zuccheri. Nelle endomicorrize arbuscolari i funghi simbionti, appartenenti al phylum Glomeromycota, penetrano all'interno delle cellule epidermiche e corticali della radice, sempre avvolti dalla membrana plasmatica dell'ospite. Tutte le specie del genere *Glomus* formano relazioni simbiotiche con le radici delle piante.

La presenza di funghi endomicorrizici arbuscolari è stata evidenziata, già da vari anni, anche nelle radici di piante di olivo, in varie zone del globo. E' evidente la notevole dipendenza di questa specie da questi microrganismi simbionti relativamente alla funzione micotrofica (Hayman *et al*., 1976; Roland-Fajardo e Barrea, 1986; Briccoli Bati *et. al*., 1992). L'influenza positiva delle micorrize è già stata dimostrata sperimentalmente sia su talee di olivo in radicazione (Di Marco *et al*. 2002), che durante la loro crescita in vivaio (Citernesi e Vitagliano, 1998; Briccoli Bati e Godino, 2002; Briccoli *et al*., 2003). Lo studio dell'influenza della simbiosi micorrizica indotta in piante di olivo, consentirebbe di ottimizzare lo sviluppo della pianta e migliorare la resistenza a stress abiotici e biotici. La possibilità di accelerare o migliorare la produzione delle piante con la micorrizazione in vivaio suscita, infatti, particolare interesse. La micorrizazione artificiale in fase di preimpianto diventa particolarmente utile quando le popolazioni di funghi nativi non sono presenti o sono state eliminate dalle pratiche agricole intensive.

Materiale e metodi

Le prove sperimentali sono state condotte su talee di circa 30 cm, auto-radicate in perlite, di *Olea europaea* L. cultivar: Leccino, Maiatica di Ferrandina, Carolea, Tondina, Coratina, successivamente invasate (dimensione del vaso: 7*7*10 cm, circa 360 ml), in substrato mix: 80% terriccio Novobalt (torba bionda di sfagno: sostanza organica 35%, azoto totale 0.4%, pH 3,5 - 4), 15% terreno limoso (fumigato "Basamid"), 5% perlite; per ogni m^3 sono stati aggiunti anche: 4 kg di Nitrophoska Gold, 6 kg di letame attivato Fertigrena.

La sperimentazione è stata condotta presso un'azienda vivaistica con sede a Metaponto, dove il materiale vegetale è stato trapiantato, inoculato e mantenuto. Le piante di olivo sono state allevate uniformemente, secondo la tecnica ordinaria utilizzata dal vivaista, garantendo un'ottimale dotazione idrica (irrigazione per aspersione) ed una limitata concimazione azotata fogliare (Urea - 46, soluzione 2%). La composizione del substrato utilizzato per il trapianto, nei vasi a diametro maggiore, è la seguente: 50% torba bionda, 25% pomice vulcanica, 25% sabbia di cava.

Le piante (circa 500 per ogni cultivar) sono state inoculate con tre preparati commerciali a base di funghi micorrizici e batteri: *Glomus intraradices* (Aegis, ditta Hydro – Italpollina, Italia), *Glomus spp*. (Endorize mix, Granular AMF inoculum, ditta Biorize, Francia), *Glomus spp.* + *Trichoderma* sp. + batteri (Mycosat F, società CCS di Aosta, Italia), in due differenti periodi. Circa due mesi dopo la prima invasatura un quantitativo di inoculo, rispettivamente di 5 ml, 30 ml, 5 ml per pianta, è stato distribuito in 4 fori applicati nel substrato a pochi cm di distanza dal colletto delle piante (Luglio 2007). Contemporaneamente al secondo trapianto (Ottobre 2007), è stato ripetuto l'inoculo, mescolando, singolarmente, i tre preparati direttamente al substrato, in misura di: 15 L di inoculo a base di *G. intraradices*, 15 L di *Glomus* spp. e 10 L di *Glomus* spp. + *Trichoderma* sp. + batteri per m^3 di terriccio.

Dal secondo trapianto in poi, le piante non sono state più concimate, con lo scopo di massimizzare gli eventuali effetti positivi offerti dalla simbiosi; sono state potate in settembre 2008 e maggio 2009.

All'ottimizzazione della tecnica di inoculo ed allevamento, sono seguite le prove di analisi microscopica, su campioni di radici, allo scopo di valutare la progressiva colonizzazione da parte dei microrganismi simbionti. La tecnica prevede decolorazione a caldo delle radici in KOH al 10% e successiva colorazione in Trypan blue (Phillips, Hayman 1970), mentre la frequenza (F%) l'intensità di micorrizazione (M%), la presenza di arbuscoli (a%) viene valutata secondo il metodo descritto da Trouvelot *et al*. (1986), su almeno 30 frammenti di 1 cm ciascuno per tesi.

Per misurare le eventuali variazioni occorse nel tempo e dopo i trattamenti, rispetto al controllo, in termini di tasso di accrescimento, ripartizione della sostanza secca nella chioma e nelle radici delle piante, è stato calcolato il punto zero, di riferimento, a fine 2007. L'accrescimento vegetativo delle piantine è stato periodicamente rilevato; contestualmente è sato misurato anche il peso fresco e secco sia dell'apparato radicale che della porzione epigea. In questa nota si riportano i risultati del primo anno di osservazione. Tutti i dati rilevati sono stati sottoposti ad analisi statstica della varianza (ANOVA) confrontando le medie con il Tukey test alla massima significatività.

Risultati e discussione

Colonizzazione micorrizica

Il parametro "intensità della colonizzazione micorrizica" è risultato nelle tesi trattate, circa il 50%, significativamente differente rispetto al 20% del controllo (fig. 1). La frequenza della micorrizazione, invece, è massima anche nel sistema controllo, prossima al 100%. L'ambiente nel quale le piante crescono e si sviluppano non è mai completamente sterile ed i microrganismi, soprattutto quando questi sono autoctoni (Gaur *et al*., 1998; Corkidi *et al*., 2004; Tarbell e Koske, 2007; Rowe *et al*., 2007; Briccoli *et al*., 2009), facilmente tendono a stabilire simbiosi con le specie vegetali.

Evoluzione dei parametri vegetativi

Complessivamente, tutte le tesi inoculate hanno mostrato accrescimenti vegetativi maggiori rispetto a quelle controllo, dall'8 al 20% (fig. 2); i risultati concordano con quanto riportato in letteratura (Briccoli e Godino, 2002; Briccoli *et al*., 2003, 2009; Estaùn *et al*., 2003; Calvente *et al*., 2004): piante di olivo da coltura in vitro o talea, quando inoculate nella fase di trapianto, mostrano maggiore vigoria. Il *Glomus intraradices* ha determinato i migliori risultati, presentando un incremento del 20%.

La distribuzione, suddivisa per classi, delle misure di altezza, raggiunta dalle singole piante, ha permesso di quantificare le differenze già osservate. Dalle figu-

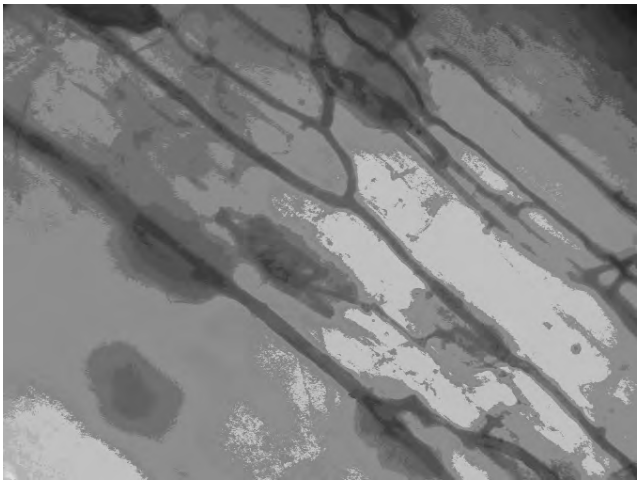


Fig. 1 - Ife, gomitolo ed arbuscolo di *Glomus intraradices* tra cellule radicali di olivo cv Coratina.
Fig. 1 - Hyphae, coil and arbuscule of Glomus intraradices *among olive radical cells cv. Coratina.*

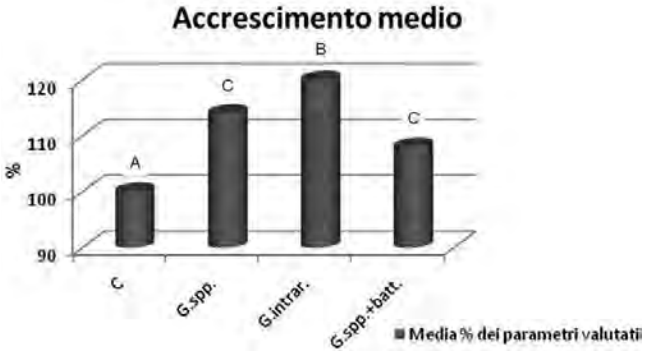


Fig. 2 - Media dei parametri studiati (peso secco delle piante, altezza e diametro dei fusti) in %; lettere: classi di significatività (Tukey test $p \leq 0,01$).
Fig. 2 - Average of studied parameters (plant dry weight, height and trunk diameter) in percentage; letters: classes of significance (Tukey test $p \leq 0.01$).

re 3 e 4 emerge chiaramente che il formulato a base di *Glomus intraradices* ha, almeno in questa prima fase della sperimentazione, determinato, in confronto agli altri inoculi saggiati, i migliori risultati.

In aprile 2009, la misura dei diametri del fusto, rilevato a 5 cm dalla talea, ha evidenziato effetti cultivar-specifici (fig. 4), indicando un diverso grado di compatibilità tra pianta ospite e fungo AM, come osservato anche da altri ricercatori (Citernesi *et al*., 1998). L'efficienza dei trattamenti varia, dopo 18 mesi dall'inoculo, anche in funzione delle cultivar. Briccoli *et al*. (2009) riportano comportamenti differenti di cultivar di olivo sottoposte allo stesso trattamento. Dai grafici si evince come le risposte di una stessa cultivar al trattamento con i diversi ceppi fungini spesso presentino differenze altamente significaive. La cultivar Maiatica di Ferrandina, infatti, ha raggiunto accrescimenti diametrali medi del fusto elevati, maggiori del 20%, con il *Glomus* spp.; le cultivar Carolea, del 11%, e Coratina, del 33%, con il *Glomus* spp. + *Trichoderma* sp. + batteri; Leccino e Tondina hanno messo in evidenza l'efficienza del *Glomus*

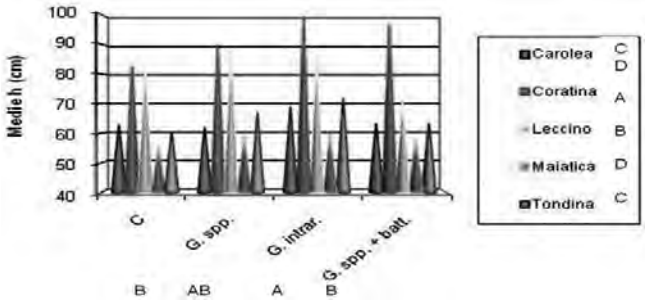


Fig. 3 - Altezza media dei fusti delle piante (in cm; per trattamento e per cultivar); lettere: classi di significatività per il confronto tra cultivar e tra trattamenti (Tukey test $p \leq 0,01$).
Fig. 3 - Average height of plant trunks (cm); letters: classes of significance per treatment and cultivars (Tukey test $p \leq 0.01$)

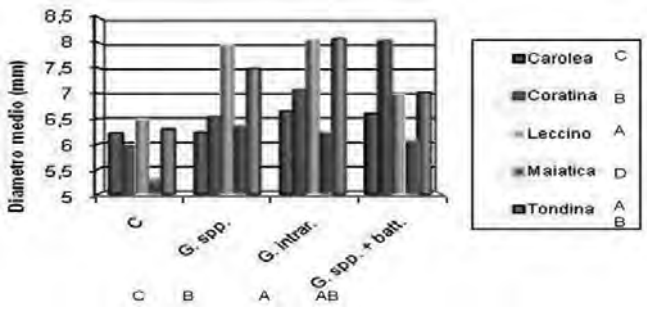


Fig. 4 - Diametro medio dei fusti delle piante (in mm; per trattamento e per cultivar); lettere: classi di significatività per il confronto tra cultivar e tra trattamenti (Tukey test $p \leq 0,01$).
Fig. 4 - Average diameter of plant trunks (mm); letters: classes of significance per treatment and cultivars (Tukey test $p \leq 0.01$).

intraradices, presentando un accrescimento diametrale medio maggiore del 29% e del 24%, rispettivamente. Le differenze sono in tutti i casi significative.

Conclusioni

La simbiosi rappresenta un eccellente esempio di adattamento ecologico. Piante e microrganismi interagiscono nello stesso ambiente per ottenere vantaggi evolutivi. L'accrescimento della pianta, la sua qualità aumentano. In un'ottica di sostenibilità ambientale e nuove esigenze di mercato, migliora l'efficienza d'uso degli input antropici e si riducono i tempi produttivi in vivaio.

Riassunto

In questo lavoro, si riportano i risultati preliminari degli effetti della simbiosi micorrizica indotta in cinque cultivar di *Olea europaea*: Carolea, Coratina, Maiatica di Ferrandina, Leccino e Tondina. Per la sperimentazione sono state utilizzate talee autoradicate, circa 500 per ogni cultivar, inoculate, in corrispondenza dei due trapianti in contenitore, con tre preparati commerciali a base di funghi micorrizici e batteri: *Glomus intraradices*, *Glomus* spp., *Glomus* spp. + *Trichoderma* sp. + batteri. Le piante sono state allevate, secondo la tecnica ordinaria, garantendo un'ottimale dotazione idrica ed una limitata concimazione azotata. La percentuale di colonizzazione micorrizica è risultata elevata, con valori prossimi al 100%, mentre l'intensità di micorrizazione variabile, dal 20 al 50%. Al fine di valutare le eventuali variazioni occorse nel tempo, dopo i trattamenti, in termini di tasso di accrescimento delle piante e ripartizione della sostanza secca, sono state effettuate misure biometriche distruttive e non distruttive. Complessivamente, nei primi diciotto mesi, tutte le tesi inoculate hanno

mostrato accrescimenti maggiori rispetto a quelle controllo, dall'8 al 20%; il *Glomus intraradices* ha determinato i migliori risultati, +20%. E' stata evidenziata, comunque, una forte interazione inoculo-cultivar; la cultivar Maiatica, infatti, ha raggiunto accrescimenti diametrali medi del fusto elevati, +20%, con il *Glomus* spp.; le cultivar Carolea, +11%, e Coratina, +33%, con il *Glomus* spp. + *Trichoderma* sp. + batteri; Leccino e Tondina hanno confermato l'efficienza del *Glomus intraradices*, +29% e +24% rispettivamente. La simbiosi rappresenta un eccellente esempio di adattamento ecologico.

Parole chiave: olivo, micorrize, *Glomus*, risposta vegetativa.

Bibliografia

BRICCOLI BATI C., GODINO G., 2002. *Influenza delle micorrize sull'accrescimento in vivaio di piante di olivo*. Italus Hortus, vol. 9, n. 3: 20-21.

BRICCOLI BATI C., RINALDI R., SIRIANNI T., 1992. *Prime osservazioni sulla presenza di micorrize di tipo VAM in oliveti dell'Italia meridionale*. Atti Giornate scientifiche S.O.I., Ravello 8-10 Aprile: 46-47.

BRICCOLI BATI C, GODINO G., BELFIORE T., 2003. *Ruolo della simbiosi micorrizica nella produzione vivaistica di piante di olivo*. Italus Hortus vol. 10, n. 4: 160-164.

BRICCOLI BATI C., SANTILLI E., VARLARO M.E, ALESSANDRINO M., 2009. *Effects of a commercial arbuscular mycorrhizal Fungi Inoculum on vegetative Growth of three young Olive Cultivars*. XXXIII CIOSTA - CIGR V Conference 2009, Reggio Calabria (Italy): 2015-2019.

CALVENTE R., CANO C., FERROL N., AZCÓN-AGUILAR C., BAREA J. M., 2004. *Analysing natural diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in olive tree (*Olea europaea *L.) plantations and assessment of the effectiveness of native fungal isolates as inoculants for commercial cultivars of olive plantlets*. Applied Soil Ecology, 26: 11–19.

CITERNESI A.S., VITAGLIANO C., GIOVANNETTI M., 1998. *Plant growth and root systems morphology of Olea europaea L. rooted cuttings as influenced by arbuscular mycorrhizas*. J.Hort. Sci Biotech., 73: 647-654.

CORKIDI L, ALLEN E.B., MERHAUT D, ALLEN M.F., DOWNER J., BOHN J, EVANS M., 2004. *Assessing the infectivity of commercial mycorrhizal inoculants in plant nursery conditions*. J Environ Hort, 22: 149–154.

DI MARCO L., POLICARPO M., CORSO A., TORTA L., 2002. *Indagini preliminari sull'inoculazione artificiale di talee di olivo con funghi VAM*. Convegno Intern. Olivicoltura. Atti VI Giornate scientifiche SOI. Spoleto 22-25 Aprile: 117-122.

ESTAÚN V., CAMPRUBÍ A., CALVET C., PINOCHET J., 2003. *Nursery and Field Response of Olive Trees Inoculated with Two Arbuscular Mycorrhizal Fungi,* Glomus intraradices *and* Glomus mosseae. J. Amer. Soc. Hort. Science, vol. 28 (5): 767-775.

GAUR A., ADHOLEYA A., MUKERJI K.G., 1998. *A comparison of AM fungi inoculants using Capsicum and Polianthes in marginal soil amended with organic matter*. Mycorrhiza, 7: 307-312.

HAYMAN D.S., BAREA J.M., AZCÓN-AGUILAR R., 1976. *Vesicular-arbuscular mycorrhiza in Southern Spain: its distribution in crops growing in soil of different fertility*. Phytopath. medit., 15: 1-6.

PHILLIPS J.M., HAYMAN D.S., 1970. *Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection*. Trans. Br. Mycol. Soc., 55 (1): 158-161.

ROLDÁN-FAJARDO B.E., BAREA J.M., 1986. *Mycorrhizal dependency in the olive tree (*Olea europaea *L.)*. In "Les mycorhizes: physiologie et gènètique" I ESM. Dijon 1-5 July 1985. Eds. Gianninazzi-Pearson V., Gianninazzi S., INRA, Paris: 323-326.

ROWE H.I., BROWN C.S., CLAASSEN V.P., 2007. *Comparison of mycorrhizal responsiveness with field soil and commerciai inoculum for six native montane species and* Bromus tectorum. Restar. Ecol., 15: 44-52.

TARBELL T.J., KOSKE R.E., 2007. *Evaluation of commercial arbuscular mycorrhizal inocula in a sand/peat medium*. Mycorrhiza, 18: 51–56.

TROUVELOT A., KOUGH J.L., GIANINAZZI-PEARSON V., 1986. *Mesure du taux de mycorrhization VA d'un systeme radiculaire. Recherce de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionelle*. In Mycorrhizae: physiology and genetic. Ist ESM, Dijon, 1-5 July,1985. - INRA, Paris: 217-221.

Recupero di composti fenolici da materiale di potatura dell'olivo

Andreoni N.*
Dipartimento di Biologia delle Piante Agrarie, Università di Pisa

Recovery of phenolic compounds from the residue of the pruning of olive trees

Abstract. The pruning is an expensive and necessary agronomical work of the chain of production of the olive oil. The resulting woody and leafy material is often crushed and spread on the soil, or burned. But, if well utilized, it could be a resource. An exploitation which seems promising is the extraction of various classes of compounds, especially of polyphenols, among which some are peculiar of the olive tree and show interesting biological and chemical properties. In this work two methods of extraction of phenolic compounds from olive leaves were qualitatively investigated in order to evaluate their potential application in little factories. In the experiments carried out phenolic compounds like oleuropein and flavonoids and other compounds like chlorophyll were separated. Besides, the possibility of further utilization of the solid residue after the extraction of phenols was also estimated. Nevertheless it was also noticed that, in order that the extraction of phenolic compounds from the olive tree trimmings might be advantageous, this material, devoid of pesticides, must be suitably processed for inactivating endogenous enzymes, which could affect the phenolic compounds. From the examination of the preliminary experiments carried out, although only qualitative, it could be concluded that harvesting, stabilization and preparation of the olive tree trimmings could be done in the farms, whereas the extraction of the phenolic compounds could be done only by trained personnel in factories equipped with suitable structures for their separation and storage and for the use of solvents. In this way, by a careful selection of solvents and reagents, the recovery of phenolic compounds from this material could be, as well as profitable from an economic point of view, also sustainable for the soil and the environment.

Key words: Oleuropein, flavonoids, olive leaves, extraction with alcohol, endogenous enzymes inactivation.

Introduzione

L'olivo è una delle più antiche piante coltivate dall'uomo nel bacino mediterraneo per la produzione dell'olio, come documentato da varie fonti fin dal tempo degli Egizi (Melillo, 1994). Tra le pratiche colturali di questa pianta, di fondamentale importanza è la potatura. Il materiale vegetale che ne deriva, costituito di rami e di foglie, deve essere rimosso sia per liberare il terreno, che per evitare lo sviluppo di insetti parassiti. Di solito, i rami più piccoli vengono bruciati sul posto. Più raramente sono utilizzati come combustibile per la cottura di prodotti da forno tradizionali, oppure come alimento per il bestiame (Gómez-Cabrera *et al.*, 1992). Tuttavia, nella pianta di olivo, ed in particolare nelle foglie, sono presenti vari composti con attività farmacologiche che hanno dei riscontri nell'uso di questa pianta nella medicina popolare (Capretti e Bonaconza, 1949; Visioli *et al.*, 1998; Andrikopoulos *et al.*, 2002; Somova *et al.*, 2003; Al-Azzawie and Alhamdani, 2006). Tra questi sono da rilevare i composti di natura fenolica come l'oleuropeina ed i flavonoidi (Panizzi *et al.*, 1960; Servili *et al.*, 1999; Heimler *et al.*, 2002; Ranalli *et al.*, 2006; Fabbri *et al.*, 2008; DeJong e Lanari, 2009). Dato l'interesse che queste sostanze presentano sia nel settore medico e alimentare, che in quello industriale, sono stati fatti diversi studi sul loro contenuto nelle foglie di olivo e sui metodi per la loro estrazione (Altiok *et al.*, 2006; Bonilla et al., 2006; Garcia *et al.*, 2000; Guinda, 2006; Ranalli *et al.*, 2006; Malik and Bradford, 2008). Ma, analogamente a quanto avviene nelle olive nelle fasi di post raccolta e di lavorazione per l'estrazione dell'olio, anche nel materiale derivante dalla potatura dell'olivo si possono verificare varie reazioni, soprattutto di natura enzimatica, a carico di questi composti come l'idrolisi di legami glucosidici o l'ossidazione con formazione di pigmenti bruni (Ragazzi e Veronese, 1973; Servili *et al.*, 1999; Hata, 2004; Coultate, 2005). Per poter ottenere prodotti con valore aggiunto da questo materiale, è perciò necessario organizzare il lavoro di potatura, raccolta e preparazione delle parti verdi della pianta con accorgimenti tesi ad ottimizzare l'estrazione e a contrastare l'azione di enzimi endogeni.

Sono stati pertanto provati in modo qualitativo dei metodi di estrazione di composti fenolici da foglie di olivo, le parti della pianta più ricche di tali sostanze, per avere delle indicazioni sia sulle condizioni di lavorazione più convenienti, che sui trattamenti da effettuare sul materiale per evitarne la degradazione

* nandre@agr.unipi.it

prima della estrazione. Nelle prove fatte sono stati inoltre considerati, anche altri aspetti come la sicurezza d'uso dei solventi ed il loro riciclo e la possibilità di distribuzione sul suolo agrario degli effluenti acquosi prodotti.

Materiali e metodi

Per le prove sono state usati campioni di 200 mg preparati da foglie di olivo, trattate con microonde subito dopo la raccolta, essiccate e ridotte a polvere con un macinacaffé elettrico.

Estrazione con acqua (metodo A). Ciascun campione utilizzato in questo tipo di estrazione è stato sottoposto ad ebollizione in 5 ml di acqua per 5 minuti. Dopo 1 ora, la miscela è stata basificata con una soluzione di NH_3 (Riedel-de Haën), agitata, lasciata stare per 10 minuti e, infine centrifugata separando la soluzione. Il residuo è stato nuovamente estratto con soluzione acquosa di NH_3 e infine con acqua. Le soluzioni estratte, acidificate con H_2SO_4 1 M sono state riunite e frazioni di 3 ml della miscela ottenuta sono state eluite attraverso una colonna C_{18} (Isolute StepBio, Bologna), che dopo lavaggio con acqua è stata eluita con etanolo ottenendo una soluzione che, dopo rimozione dell'alcol a pressione ridotta, ha dato un residuo contenente i composti fenolici estratti.

Estrazione con etanolo (metodo B). Ciascun campione, è stato sottoposto ad ebollizione per 5 minuti in 2,5 ml di etanolo e, dopo 1 ora, è stato filtrato raccogliendo la soluzione. Il residuo solido, dopo nuova estrazione, è stato lavato con etanolo finché non si è ottenuto un filtrato quasi incolore. Le soluzioni estratte e la soluzione di lavaggio sono state riunite e portate a secchezza a pressione ridotta ottenendo un residuo che è stato lavato con n-esano.

Il materiale solido è stato poi nuovamente estratto in modo analogo con 2 ml della miscela: etanolo/H_2O/NH_3 = 60/35/5 e infine lavato con la stessa miscela finché non si è avuto un eluato quasi incolore. Gli eluati, acidificati con H_2SO_4 1 M, riuniti e ridotti di volume a pressione ridotta per allontanare l'alcol, hanno dato una miscela acquosa che è stata eluita attraverso una colonna C_{18} come sopra descritto. Da questa, per estrazione con alcol, è stata ottenuta una soluzione dalla quale, dopo rimozione del solvente, si è avuto un residuo giallo.

Da ultimo, il materiale solido è stato lavato con acqua contenente NH_3 e, infine, con acqua riunendo gli estratti. La soluzione acquosa ottenuta è stata infine acidificata e sottoposta agli stessi trattamenti sopra descritti.

Analisi cromatografiche. Le varie frazioni di fenoli separate sono state valutate qualitativamente per cromatografia su strato sottile con fogli di plastica al gel di silice (Merck) che, dopo eluizione, sono state trattate con una soluzione idroalcolica del reattivo di Folin-Ciocalteu (Carlo Erba) per rivelare i composti fenolici, o con una soluzione alcolica di $AlCl_3$ per evidenziare i flavonoidi (Stahl, 1969).

Risultati e discussione

A seguito della estrazione con acqua (metodo A) e le successive operazioni sopra descritte, è stato ottenuto un "olio" che, ripreso con acetato di etile, ha dato luogo, per aggiunta di n-esano, ad un precipitato leggermente colorato in giallo e igroscopico. Queste caratteristiche, descritte da Panizzi *et al.* (1960) per il glucoside oleuropeina, suggeriscono che questo potrebbe essere appunto uno dei principali composti estratti. Estraendo con alcol (metodo B), dopo le operazioni sopra riportate, sono stati ottenuti tre estratti che in prove cromatografiche hanno mostrato diversa composizione. In particolare, la frazione estratta con alcol, dopo lavaggi con n-esano, ha fornito un prodotto solido costituto in gran parte da oleuropeina. Nell'ultima frazione estratta con NH_3 acquoso sono risultati, invece, presenti quasi esclusivamente flavonoidi evidenziati con la reazione con $AlCl_3$. Durante il trattamento con alcol sono stati estratti anche vari altri composti lipofili, tra cui in modo particolare la clorofilla che, tuttavia, è risultata facilmente separabile dai composti di natura fenolica e che potrebbe avere utili applicazioni nei settori alimentare e industriale. Il preliminare trattamento con alcol a caldo ha reso inoltre più agevoli le successive estrazioni con soluzioni contenenti NH_3, presumibilmente a seguito della rimozione di sostanze lipofile dalla superficie del materiale da estrarre. Questo secondo metodo (metodo B) è risultato pertanto da preferire da un punto di vista pratico. Può essere considerato preferibile anche rispetto ad altri metodi usati nella routine per l'estrazione di composti fenolici da foglie di olivo per scopi analitici con l'impiego di miscele di alcoli ed acqua al fine di effettuare una estrazione completa di queste sostanze evitando la presenza di composti lipofili, che potrebbero dar luogo ad interferenze nell'analisi dei composti fenolici (Heimler *et al.*, 2002; Hata, 2004, Ranalli *et al.*, 2006; Malik e Bradford, 2008). Ma, in una possibile lavorazione delle foglie di olivo per ottenere composti fenolici è proprio la contemporanea estrazione anche di composti diversi dai fenoli, dai quali possano essere facilmente separati, che rende interessante questo metodo di estrazione.

Sebbene la preliminare estrazione con etanolo a

caldo non abbia consentito l'estrazione completa dei composti fenolici, questa è stata possibile con le estrazioni successive a seguito delle quali sono state ottenute frazioni di fenoli con diversa composizione. Il metodo potrebbe tuttavia essere semplificato evitando ad esempio l'estrazione intermedia con la miscela: etanolo/H_2O/NH_3. In ogni caso, le possibili modifiche al metodo di estrazione potrebbero essere suggerite anche dall'impiego successivo del materiale estratto che si presenta come un interessante sottoprodotto di lavorazione. Questo potrebbe ad esempio essere usato per l'alimentazione del bestiame o come fibra alimentar per l'uomo. In questo ultimo caso, potrebbe essere sufficiente effettuare la sola estrazione con alcol, dal momento che il materiale solido, privato del solvente e recuperato senza pericolo di attacco di muffe, potrebbe rivelarsi interessante da un punto di vista salutistico per un moderato contenuto di flavonoidi. Altri aspetti rendono interessante l'estrazione con etanolo come ad esempio la bassa tossicità, la possibilità di recupero di questo solvente e la possibilità di utilizzare impianti predisposti per l'estrazione dell'olio dai semi nei periodi in cui questi non sono attivi. Utilizzando infine soluzioni di ammoniaca per estrarre i fenoli e di acido solforico per estrarre i fenoli e per acidificare gli estratti, i reflui prodotti, contenenti ioni ammonio e solfato, potrebbero essere distribuiti come fertilizzante sul suolo agrario. Un limite della estrazione di sostanze fenoliche dalle foglie di olivo per scopi preparativi con la metodologia descritta potrebbe essere rappresentato dalla eventuale necessità di impiego di resine apolari analoghe alle C_{18}, di basso costo e rigenerabili più volte, per la separazione di composti fenolici da soluzioni acquose. Poiché, inoltre, è stato visto che utilizzando foglie di olivo non adeguatamente trattate, si hanno basse rese di composti fenolici, è importante programmare la potatura in modo da raccogliere il materiale e sottoporlo quanto prima possibile a blanching, ad esempio in adeguati impianti a microonde per inattivare gli enzimi endogeni, essiccarlo e ridurlo in polvere prima di effettuare l'estrazione.

Conclusioni

Le prove preliminari effettuate, sebbene solo qualitative, hanno mostrato che l'estrazione con alcol a caldo sembra un metodo promettente per ottenere dalle foglie di olivo frazioni di composti fenolici, altri sottoprodotti come la clorofilla e il materiale solido estratto. Nella fase di estrazione il limite maggiore sembra legato all'eventuale necessità di colonne apolari, facilmente rigenerabili, che consentano l'eluizione di apprezzabili volumi di soluzioni ed il recupero di fenoli. Perché il processo di lavorazione possa essere remunerativo, è inoltre necessario che il materiale arrivi integro all'impianto di estrazione. Ciò comporta una capillare organizzazione del lavoro, una parte del quale potrebbe essere fatta presso le aziende agricole, mentre la parte più tecnologica potrebbe essere fatta solo presso impianti di lavorazione specializzati.

Riassunto

La potatura dell'olivo è una costosa e inevitabile pratica agronomica della filiera di produzione dell'olio di oliva. Il materiale vegetale che ne deriva è spesso triturato e disperso sul suolo, oppure è bruciato. Ma, se ben utilizzato, potrebbe costituire una risorsa. Un impiego che appare promettente è l'estrazione di varie classi di composti e, in particolare, dei polifenoli, alcuni dei quali sono tipici dell'olivo e presentano interessanti proprietà biologiche e chimiche. In questo lavoro sono stati provati due metodi di estrazione dei composti fenolici da foglie di olivo, studiati per una loro potenziale applicazione in piccoli impianti di lavorazione. Nelle prove fatte sono stati separati, oltre a composti fenolici come l'oleuropeina e flavonoidi, anche altri composti come la clorofilla. È stata inoltre valutata la possibilità di ulteriori utilizzazioni del materiale solido dopo l'estrazione dei fenoli. Tuttavia, perché l'estrazione dei composti fenolici dal materiale di potatura dell'olivo possa essere vantaggiosa, è necessario che questo, privo di composti tossici derivanti da trattamenti antiparassitari, venga adeguatamente trattato per inattivare gli enzimi endogeni che possono alterare i composti fenolici. Dall'esame delle prove preliminari fatte si può dedurre che la raccolta, la stabilizzazione e la preparazione del materiale potrebbero essere eseguite presso le aziende agricole, mentre l'estrazione dei composti fenolici potrebbe essere fatta solo da personale addestrato presso strutture fornite di adeguati impianti per la loro separazione e conservazione e per l'uso di solventi. In questo modo, con un'attenta scelta di solventi e reagenti, il recupero di composti fenolici dal materiale proveniente dalla potatura dell'olivo potrebbe essere, oltre che vantaggiosa da un punto di vista economico, anche sostenibile da un punto di vista agronomico e ambientale.

Parole chiave: Oleuropeina, flavonoidi, foglie di olivo, estrazione con alcol, inattivazione di enzimi endogeni.

Ricerca eseguita con fondi di Ateneo dell'Università di Pisa (ex 60%).

Bibliografia

AL-AZZAWIE H.F., SAEED ALHAMDANI M.S., 2006. *Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits*. Life Sciences., 78: 1371-1377.

ALTIOK E., BAYÇIN D., BAYRAKTAR O., ÜLKÜ S., 2008. *Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea *L.) by adsorption on silk fibroin*. Separation and Purification Technology, 62: 342-348.

ANDRIKOPOULOS N.K., ANTONOPOULOU S., KALIORA A.C., 2002. *Oleuropein inhibits LDL oxidation induced by cooking oil frying by-products and platelet aggregation induced by platelet-activating factor*. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie, 35: 479–484.

BONILLA M., SALIDO S., BEEKB T., LINARES-PALOMINO P.J., ALTAREJOS J., NOGUERAS M., SANCHEZ A., 2006. *Isolation and identification of radical scavengers in olive tree (*Olea europaea*) wood*. J. Chromatogr., 1112: 311-318.

CAPRETTI G., BONACONZA E., 1949. *Effetti di infusioni o decotti di foglie di olivo (*Olea europea*) su alcune costanti fisiche del sangue e componenti del metabolismo.* Giorn. Clin. Med., 30: 630-642.

COULTATE T.P., 2005. La Chimica degli alimenti. Zanichelli, Bologna.

DEJONG S., LANARI M.C., 2009. *Extracts of olive polyphenols improve lipid stability in cooked beef and pork: Contribution of individual phenolics to the antioxidant activity of the extract*. Food Chem., 116: 892-897.

FABBRI A., GALAVERNA G., GANINO T., 2008. *Polyphenol composition of olive leaves with regard to cultivar time of collection and shot type*. Acta Hort. 791: 459-464.

GARCIA O.B., CASTILLO J., LORENTE J., ORTUNO A., DEL RIO J.A., 2000. *Antioxidant activity of phenolics extracted from* Olea europaea *L. leaves*. Food Chem., 68, 457-462.

GÓMEZ-CABRERA A., GARRIDO A., GUERRERO J.E., ORTIZ V., 1992. *Nutritiva value of the olive leaf: effects of cultivar, season of harvesting and system of drying*. J. Agric. Sci. Cambridge, 119: 205-210.

GUINDA Á., 2006. *Use of solid residue from olive industry*. Grasas y Aceites, 57: 107-115.

HATA SHUICHI, 2004. *Effect of drying temperature on the oleuropein content in olive (*Olea europea *L.) leaves*. Food Preservation Sci., 30: 191-193.

HEIMLER D., PIERONI A., CIMATO A., SANI G., GALARDI C., ROMANI A., 2002. *Flavonoids from olive leaves (*Olea europaea *L.*) *as affected by light*. J. Commodity Science (Italy), 41(1): 31-39.

MALIK N.S.A., BRADFORD J.M., 2008 *Recovery and stability of oleuropein and other phenolic compounds during extraction and processing of olive (*Olea europaea *L.) leaves*. J. Food Agric. & Environment, 6(2): 8-13.

MELILLO L., 1994. *Diuretic plants in the paintings of Pompeii*. Am J. Nephrol., 14(4-6): 423-425.

PANIZZI L., SCARPATI M.L., ORIENTE G., 1960. *Costituzione della oleuropeina, glucoside amaro ad azione ipotensiva dell'olivo*. Nota II. Gazz. Chim. Ital., 90: 1449–1485.

RAGAZZI E., VERONESE G., 1973. *Indagine sui componenti fenolici dell'olio di oliva*. Riv. Ital. Sostanze Grasse, 50: 443-452.

RANALLI A., CONTENTO S., LUCERA L., DI FEBO M., ARCHEGIANI D., FONZO V., 2006. *Factors affecting the contents of iridoid oleuropei in olive leaves (*Olea europaea *L.)*. J. Agric. Food Chem. 2006, 54: 434-440.

SERVILI M., BALDIOLI M., SELVAGGINI R, MINIATI E., MACCHIONI A., MONTEDORO G.F., 1999. *High-Performance Liquid Chromatography evaluation of phenols in olive fruit, virgin olive oil, vegetation waters and pomace and 1D- and 2D-Nuclear Magnetic Resonance characterization*. J. Am. Oil Chem. Soc., 76: 873-882.

SOMOVA L.I., SHODE F.O., RAMNANAN P., NADAR A., 2003. *Antihypertensive, anti atherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from* Olea europea*, subspecies Africana leaves*. J. Ethnopharmacology, 80 (2-3): 299-305.

STAHL E., 1969. T*hin Layer Chromatography: a Laboratory Handbook* (Translated by Ashworth). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

VISIOLI F., BELLOSTA S., GALLI C., 1998. *Oleuropein, the bitter principles of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages.* Life Sciences, 62(6): 541–546.

Stima del consumo idrico in olivo tramite monitoraggio di flussi xilematici e fluttuazioni diametriche del tronco

Giovannelli A.[1], Traversi M.L.[1], d'Andria R.[2], Morelli G.[2], Fragnito F.[2], Lavini A.[2], Tognetti R.[3], Sebastiani L.[4]

[1] *CNR-Istituto Valorizzazione Legno e Specie Arboree, Laboratorio Xilogenesi, Sesto Fiorentino (FI)*
[2] *CNR-Istituto per i Sistemi Agricoli e Forestali del Mediterraneo, Ercolano (NA)*
[3] *Dipartimento di Scienze e Tecnologie per l'Ambiente e il Territorio, Università del Molise, Pesche (IS)*
[4] *BioLabs-Scuola Superiore Sant'Anna di Studi Universitari e di Perfezionamento, Pisa*

Evaluating water consumption in olive trees through monitoring sap flow and stem radius variation

Abstract. The effect of different water availability regimes on several plant water status indicators was studied in order to assess water consumption and drought adaptation in *Olea europaea* growing in an experimental site plantation in southern Italy (41°06'N, 14°43'E; at an elevation of 250 m a.s.l.). The study was carried out on mature olive plants, (cv. Nocellara del Belice) subjected to different water availability since 1994. Treatments were a rainfed (non-irrigated) and fully irrigated regime (100% of ETc throughout the irrigation season). During the growing season 2007 plants were continuously monitored by automatic point dendrometers measuring stem radius variation. Whole-plant water use was determined using a xylem sap flow method (compensation heat-pulse technique). Additional ecophysiological parameters, such as stomatal conductance and water potential, were periodically measured, as well as vegetative development and biochemical characteristics. Stem Maximum Daily Shrinkage (MDS) and sap flux were also compared. Results were evaluated to investigate water use strategies, functional, and structural acclimation to watering. These observations were analysed to identify valuable parameters that may be used to implement automatic management irrigation practices in olive tree plantations.

Key words: heat pulse, point dendrometer, stem cycle variation, osmotic adjustment, water use strategies

Introduzione

Negli ambienti a clima mediterraneo il comportamento produttivo dell'oliveto è dipendente dalla capacità della pianta di regolare l'uso dell'acqua. La determinazione dello stato idrico delle piante è una condizione dinamica che dipende principalmente dalle condizioni dell'ambiente, la frequenza e intensità dello stress, l'età della pianta, la fase fenologica, la cultivar, l'effetto dell'acclimatazione a condizioni di stress idrico di lungo termine, l'efficienza dell'uso dell'acqua, il sistema idraulico di trasporto di linfa della specie. L'olivo allevato in condizione di deficit idrico mette in atto strategie di riduzione del consumo, anche se i meccanismi fisiologici che intervengono devono essere ulteriormente confermati (Tognetti *et al.*, 2005; 2007). Moderati livelli di stress idrico applicati in olivicoltura, ottenuti limitando l'apporto irriguo durante le fasi di divisione cellulare e lento accrescimento del frutto, non deprimono molto la produzione ed hanno un effetto positivo sullo sviluppo della chioma poiché controllano l'eccessivo vigore vegetativo (Tognetti *et al.*, 2006). Il monitoraggio in continuo della traspirazione (Nadezhdina *et al.*, 2007) e delle variazioni del restringimento del tronco (Moreno *et al*., 2006) possono fornire una stima dello stato idrico delle piante e rappresentano un sistema integrato funzionale allo sviluppo di metodi automatici per la stima del fabbisogno irriguo in tempo reale o per intervalli frequenti (Moriana e Fereres, 2002).

Con il presente lavoro si è voluto testare l'ipotesi a) che il sistema ad impulso di calore e l'analisi di crescita del tronco con sistemi ad alta risoluzione (dendrometri a puntale) possono essere uno strumento idoneo per la stima del consumo e dello stato idrico in piante di olivo; b) che gli indicatori dello stato idrico delle piante di olivo possono essere utilizzati per discriminare strategie di adattamento a differenti stati di stress idrico.

Materiali e metodi

La prova sperimentale è stata condotta nel 2007 in un oliveto di quattordici anni della cv. Nocellara del Belice presso il centro sperimentale del CNR-ISAFoM di Benevento (41°06' N, 14°43' E; 250 m s.l.m). L'ambiente di coltivazione è caratterizzato da un clima mediterraneo sub-umido (piovosità media

periodo 1984-2007 è di 729 mm) e da una evapotraspirazione potenziale media di riferimento di 1.240 mm. Le piante sono state poste a dimora nel 1992 e sono state irrigate in modo uniforme nei primi due anni; dal 1994 è iniziata la differenziazione irrigua sulla base della stima dell'evapotraspirazione massima (ETc, mm), al netto delle piogge sulla base dell'evaporimetro di Classe A (Doorembos e Pruitt, 1977). L'evaporazione di riferimento, nel 2007, è stata corretta con un coefficiente colturale (kc=0,65) ed un coefficiente di copertura (kr=0,85) (Fereres *et al*., 1981). La prova è stata condotta sulla cv. Nocellara del Belice e tesi a confronto sono state: un controllo non irrigato (T0) ed una tesi che ha ricevuto il 100% dell'ETc (T100). Il volume irriguo è stato distribuito con il metodo a goccia con quattro gocciolatori per pianta da 4 l h^{-1} posti alla distanza di 0,5 e 1 m dal tronco. Le parcelle elementari erano costituite da sette piante adiacenti, di cui due sono state scelte per i rilievi a livello fogliare e una per il monitoraggio della traspirazione (sap flow) e delle variazioni di diametro del tronco (dendrometri a puntale). Il contenuto idrico del suolo è stato determinato con il metodo del dominio nel tempo (TDR, 1502B, Tektronix, USA) durante la stagione irrigua e la frazione di acqua estraibile dal suolo (REW) è stata stimata mediando le profondità e le posizioni dei sensori come riportato da Tognetti *et al*. (2007).

Il potenziale idrico in pre-dawn (Ψ_{pd}, MPa) è stato monitorato da maggio a settembre con la camera di Sholander (SKPM 1400, Sky Instruments, UK) su due foglie e, nella stessa giornata, sono stati eseguiti misure di conduttanza stomatica (AP4, Delta-T Devices Ltd., Cambridge, UK) in corrispondenza dei valori massimi (g_{smax}, mmol m^{-2} s^{-1}). Le variazioni radiali del tronco (ΔR, mm) e il ritiro massimo giornaliero (MDS, mm) sono stati monitorati durante la stagione di crescita con dendrometri a puntale (Giovannelli *et al.*, 2007). Sulle stesse piante il *sap flow* era monitorato con il metodo *heat-pulse compensation* (Swanson e Whitfield, 1981). La densità del flusso linfatico è stata stimata e poi integrata su tutta la sezione per ottenere il tasso di sap flow (S*f*, l h^{-1}) (Giorio e Giorio, 2003). Le medie relative ai trattamenti sono state confrontate con un test Mann-Whitney Rank Sum. Il valori percentuali sono stati preventivamente trasformati in arcoseno, ed i confronti statistici considerati significativi a $P \leq 0,05$.

Risultati e discussione

L'andamento del contenuto idrico del suolo (REW) è stato tipico per l'ambiente considerato ed ha mostrato valori decrescenti con l'avanzare della stagione estiva, in concomitanza con i valori più elevati di temperatura ed evapotraspirazione (fig. 1). Il controllo non irrigato ha mostrato valori sempre inferiori alla tesi irrigata. Quest'ultimo trattamento ha mostrato anche una significativa diminuzione della conduttanza stomatica determinata dalle elevate temperature dell'aria e dal deficit idrico. I valori medi giornalieri di g_{smax} sono stati di 200 mmol m^{-2} s^{-1} nel trattamento irriguo (T100) e di 150 mmol m^{-2} s^{-1} nella tesi controllo (fig. 1). Il trattamento irrigato dall'inizio della differenziazione delle tesi (tab. 1) ha determinato incrementi significativi sull'accrescimento del tronco e sul volume della chioma (Δ BA_{trunk}). I valori massimi del trasporto di linfa (S*f*) sono aumentati rapidamente all'inizio dell'estate, quando la REW era relativamente elevata per effetto delle piogge primaverili, successivamente le tesi non irrigate hanno mostrato

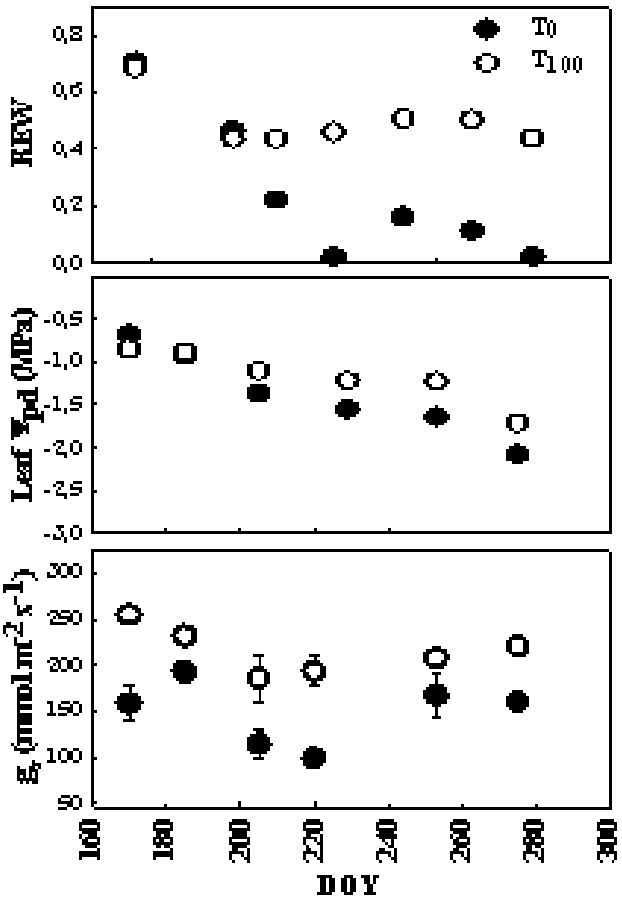


Fig. 1 - Andamento stagionale dell'acqua estraibile dal suolo (REW), potenziale idrico rilevato prima dell'alba (MPa) e conduttanza stomatica (mmol m^{-2} s^{-1}) misurata nel controllo non irrigato (T0) e nella tesi irrigua (T100). Le barre indicano l'errore standard.

Fig. 1 - Seasonal evolution of relative extractable water in the soil (REW), pre-dawn water potential (MPa) and stomatal conductance (mmol m-2 s-1) measured in the rainfed (T0) and irrigated plants (T100). Bars indicated standard error.

Tab. 1 - Area del tronco, incremento della sezione dell'area del tronco (metà dicembre 2007), volume della chioma in relazione al trattamento irriguo. I dati sono la media di tre ripetizioni. L'errore standard è riportato in parentesi. Le lettere, se presenti, indicano le differenze significative tra i trattamenti irrigui per P ≤ 0,05.

Tab. 1 - Trunk cross-section area, relative increase in trunk section area (mid-December 2007), crown volume in relation to irrigation regime. Data are the mean of three replicates. The standard error is reported in parenthesis. Letters indicate significant differences between irrigation treatments for P ≤0,05.

Trattamento irriguo	Area basale del fusto cm^2	Δ BA fusto cm^2	Volume chioma m^3
T0	200a (±16.4)	15.8 (±2.1)	10.8 (±0.7)
T100	253b (±15.7)	21.2 (±2.3)	12.6 (±0.6)

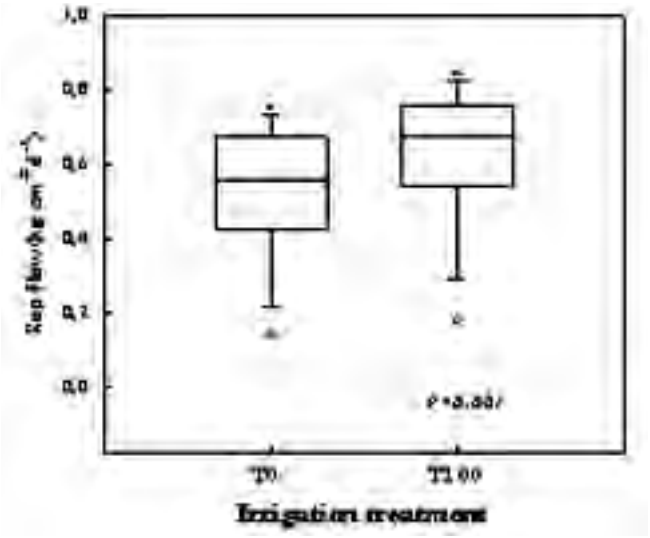


Fig. 2 - Media stagionale del trasporto di linfa stagionale nel controllo non irrigato (T0) e nella tesi irrigua (T100). I disegni indicano il 25 mo ed il 75 mo percentile e le linee tra i disegni la mediana. Le barre dell'errore indicano il 95 mo e 5 to percentile. Le differenze significative sono stimate con il test Mann-Whitney Rank Sum.

Fig. 2 - Mean seasonal variation of the sap flux in the rainfed (T0) and irrigated regime (T100). Boxes indicate the 25th and 75th percentiles and the lines between boxes the median. Error bar indicate the 90th and 5th percentile. Significant differences are estimate with the Mann-Whitney Rank Sum test.

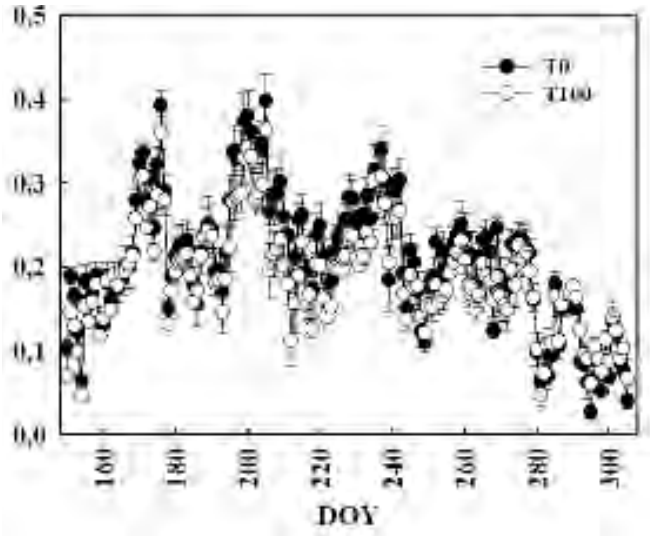


Fig. 3 - Variazione stagionale del massimo restringimento giornaliero (MDS) durante il periodo di prova. Le barre indicano l'errore standard.

Fig. 3 - Seasonal variation of the maximum daily shrinkage of the stem (MDS) during the experiment. The bars indicate the standard error.

valori inferiori alla tesi irrigata nel periodo di inizio estate, quando la REW era relativamente alta (fig. 2).

L'MDS ha mostrato ampie fluttuazioni durante la stagione d'irrigazione e non sono state evidenti le differenze tra i due trattamenti (fig. 3). Tale comportamento è dovuto dall'alternanza di precipitazioni e periodi asciutti, ciò nonostante le T0 hanno mostrato una maggiore percentuale di cicli negativi rispetto alla tesi irrigata (fig. 4). I risultati ottenuti supportano l'ipotesi che la misura del trasporto di linfa (*Sf*) con il metodo dell'heat-pulse e l'analisi ad alta risoluzione della crescita del tronco (MDS) sono un utile e complementare metodo per la determinazione dello stato idrico dell'olivo. S*f* e MDS hanno mostrato un trend simile durante la stagione di crescita risultando entrambe influenzate dalle condizioni climatiche, soprattutto dal VPD e dall'evapotraspirazione potenziale (dati non riportati), mentre solo l'*Sf* è stato significativamente influenzato dall'intervento dell'irrigazione (P≤0,001). I dati del presente esperimento confermano che questi indicatori devono essere considerati nell'ambito della variabilità sta-

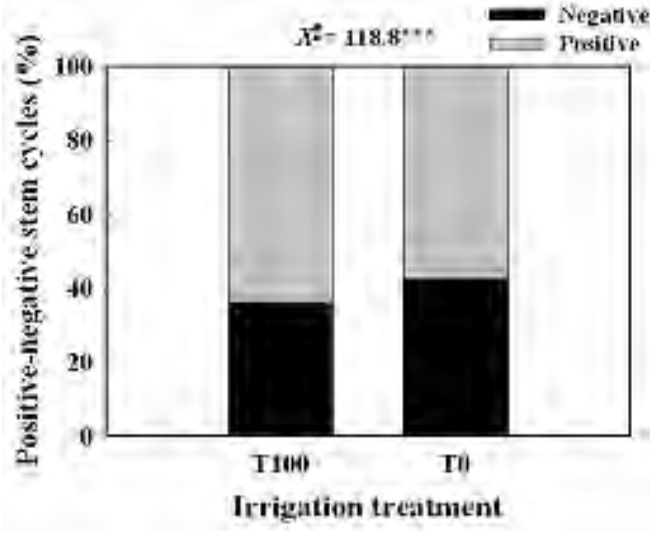


Fig. 4 - Distribuzione di frequenza (%) di ΔR+ (grigio) e ΔR- (nero) nel periodo sperimentale. Le differenza significative sono state testate con χ^2 test (P ≤ 0,05).

Fig. 4 - Frequences distribution (%) of ΔR+ (gray) and ΔR- (dark) during the experiment. Significant differences are tested by χ^2 test (P ≤ 0,05).

gionale (Goldhamer e Fereres, 2001) con particolare riferimento all'intensità dello stress, al momento in cui questo interviene (Giovannelli *et al.*, 2007) ed allo stato fenologico della pianta (Intrigliolo *et al.*, 2007). L'MDS si è dimostrato più sensibile alla disponibilità di acqua a livello stagionale del S*f* (Ortuño *et al.*, 2006). Come riportato da Huguet *et al.* (1992), l'MDS può essere considerato un valido indicatore dell'intensità di traspirazione in condizioni di stress idrici moderati. Sulla base di tali considerazioni, la maggiore sensibilità di S*f* vs. MDS in condizioni di assenza di irrigazione potrebbe dimostrare che l'olivo della T0 è stato sottoposto solo ad un moderato stress idrico. In questa tesi infatti, il Ψ_{pd} non ha mostrato in nessun rilievo valori inferiori al valore relativo alla perdita di turgore di -3,5 MPa (Dichio *et al.*, 2005). I cambiamenti giornalieri del raggio del tronco indicano che la riserva idrica del suolo è stata periodicamente utilizzata dalle piante per mantenere le esigenze traspirative durante il crescente stress del periodo estivo. Quando la traspirazione è massima, l'acqua è attinta dalle riserve più attive, mentre durante la fase di recupero (*swelling*) le riserve idriche interne sono ripristinate. L'irrigazione aveva un effetto significativo sulla frequenza dei cicli negativi (ΔR-) e positivi (ΔR+) a livello stagionale. Nelle piante non irrigate la frequenza dei cicli negativi (ΔR-) era più alta rispetto alle piante irrigate. Su base giornaliera la presenza di cicli negativi è generata dalla diminuzione delle riserve idriche presenti nella corteccia, floema, regione cambiale e xilema in differenziamento dovuta ad eventi siccitosi e/o condizioni di deficit idrico (Giovannelli *et al.*, 2007).

I dati ottenuti sono consistenti con l'interpretazione che vede l'olivo acclimatarsi a variabili condizioni di disponibilità idrica nel lungo periodo. Le piante monitorate sono state capaci di ridurre le perdite idriche modulando l'apertura degli stomi con i diversi livelli di disponibilità idrica imposti con i trattamenti. La sensibilità della conduttanza stomatica alla disponibilità idrica del suolo potrebbe aver ridotto l'impatto dello stress sulle rese della cv. Nocellara del Belice, come osservato in altre cvs. (Tognetti *et al.*, 2006).

Riassunto

L'effetto di differenti regimi d'irrigazione su alcuni indicatori dello stato idrico è stato studiato per determinare l'efficienza dell'uso dell'acqua e la strategia adattativa in piante di *Olea europaea* cresciute nel centro sperimentale di Benevento (41°06'N, 14°43'E; 250 m s.l.m.) dell'Istituto per i Sistemi Agricoli e Forestali del Mediterraneo del CNR. Lo studio è stato condotto su piante di olivo (impianto 1992) della cv. Nocellara del Belice, soggette a differenti regimi d'irrigazione dal 1994. I trattamenti sono stati: a) controllo non irrigato; b) irrigato con un volume tale da restituire, con frequenza giornaliera, il 100% dell'evapotraspirazione massima (ETc) durante tutta la stagione irrigua. Durante la stagione di crescita 2007 le piante sono state continuamente monitorate con dendrometri a puntale con sistema di acquisizione automatico che misuravano le variazioni radiali del fusto e delle radici ad intervalli di 15 minuti. L'uso dell'acqua al livello di pianta intera è stato determinato con il metodo di stima dei flussi idrici xilematici (*heat-pulse technique*). Altri parametri ecofisiologici, come la conduttanza stomatica ed il potenziale idrico sono stati misurati periodicamente cosi come lo sviluppo vegetativo della chioma e gli aggiustamenti osmotici delle foglie. Il massimo ritiro giornaliero del fusto (MDS) ed i flussi idrici sono stati comparati. I risultati sono stati valutati per evidenziare le strategie di efficienza idrica, funzionale e di acclimatazione ai diversi regimi d'irrigazione nel lungo periodo allo scopo di implementare sistemi automatici di gestione dell'irrigazione.

Parole chiave: heat pulse, dendrometri, variazioni radiali del fusto, aggiustamenti osmotici, efficienza idrica.

Bibliografia

GIORIO P., GIORIO G. 2003. *Sap flow of several olive trees estimated with the heat pulse technique by continuous monitoring of a single gauge*. Environ. Exp. Bot. 49: 9-20.

GIOVANNELLI A., DESLAURIERS A., FRAGNELLI G., SCALETTI L., CASTRO G., ROSSI S., CRIVELLARO A. 2007. *Evaluation of drought response of two poplar clones (*Populus canadensis *Monch 'I-214' and* P. deltoides *Marsh. 'Dvina') through high resolution analysis of stem growth*. J. Exp. Bot. 58:2673–83.

GOLDHAMER D.A., FERERES E. 2001. *Irrigation scheduling protocols using continuously recorded trunk diameter measurements*. Irrig. Sci. 20: 115–125.

HUGUET J. G., LI S. H., LORENDEAU J.Y., PELLOUX G. 1992. *Specific micromorphometric reactions of fruit trees to water stress and irrigation scheduling automation*. J. Hort. Sci. 67: 631–640.

INTRIGLIOLO D.S., CASTEL J.R. 2007. *Crop load affects maximum daily trunk shrinkage of plum trees*. Tree Physiol. 27: 89–96.

MORENO F., CONEJERO W., MARTÍN-PALOMO M.J., GIRÓN I.F., TORRECILLAS A. 2006. *Maximum daily trunk shrinkage reference values for irrigation scheduling in olive trees*. Agric. Water Manage. 84: 290-294.

MORIANA A., FERERES E. 2002. *Plant indicators for scheduling irrigation of young olive trees*. Irrig. Sci. 21: 83–90.

NADEZHDINA N., NADEZHDIN V., FERREIRA M.I., PITACCO A. 2007. *Variability with xylem depth in sap flow in trunks and branches of mature olive trees*. Tree Physiol. 27: 105-111.

ORTUÑO M.F., GARCÍA-ORELLANA Y., CONEJERO W., RUIZ-SÁNCHEZ M.C., ALARCÓN J.J., TORRECILLAS A., 2006. *Stem and leaf water potentials, gas exchange, sap flow and trunk diameter fluctuations for detecting water stress in lemon trees*. Trees 20: 1–8.

SWANSON R.H., WHITFIELD D.W.A. 1981. *A numerical analysis of heat-pulse velocity theory and practice*. J. Exp. Bot. 32: 221-239.

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 Soil 273: 139-155.

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)*. Eur. J. Agron. 25: 356-364.

TOGNETTI R., D'ANDRIA R., SACCHI R., LAVINI A., MORELLI G., ALVINO A. 2007. *Deficit irrigation affects seasonal changes in leaf physiology and oil quality of* Olea europaea *L. (cultivars Frantoio and Leccino)*. Ann. Appl. Biol. 150:169-186.

Acta Italus Hortus 1: 85-90

Il contributo delle biotecnologie e del miglioramento genetico per l'innovazione dell'olivicoltura

Rugini E.*, Cristofori V. e Gutiérrez-Pesce P.
Dipartimento di Produzione Vegetale, Università della Tuscia

The contribution of biotechnologies and of genetic improvement for the oliviculture innovation

Abstract. Classical methods of genetic improvement such as clonal selection, induced mutation and recurrent selection have not given very advantageous results in olive breeding. Therefore, there is a need an hybridization program based on "gene pools", by using all the available biotechnological and molecular techniques. The unconventional techniques such as in vitro pollination, embryo rescue, constitution of dihaploids, spontaneous and under selective pressure somaclonal variation, somatic hybridization, genetic transformation, employment of molecular markers for the assisted hybridization, analysis of single alleles as well as the gene isolation, and techniques for reducing seedling juvenility have been described. All these techniques are essential both as a support to the classical hybridization and as techniques able to directly constitute new proper genotypes for a modern oliviculture, based on the culture intensification. Some successful results have been reported.

Key words: Olea spp., in vitro culture, rootstocks, gene pools, cultivar.

Introduzione

La coltivazione dell'olivo, diffusa prevalentemente in aree collinari, interessa tutte le regioni italiane, nelle quali sono spesso consolidate specificità storiche, paesaggistiche, di conduzione degli oliveti, sovente con impiego di cultivar adattate al particolare ambiente. Vista la pressante competizione mondiale nel settore oleario, diviene fondamentale promuovere un approccio innovativo all'olivicoltura italiana, tramite l'intensificazione degli impianti e la meccanizzazione integrale delle operazioni colturali, garantendo in ogni caso il mantenimento delle peculiarità del variegato comparto olivicolo nazionale, capace di garantire produzioni d'olio di elevata qualità. L'innovazione dell'olivicoltura italiana è legata allo sfruttamento delle risorse e delle tecnologie disponibili, tradizionali e moderne, e non può più prescindere dalla sinergia del settore imprenditoriale e della ricerca scientifica, ancora troppo frammentaria e responsabile in parte della contrazione delle potenzialità produttive. Una olivicoltura competitiva necessita di genotipi adatti alla intensificazione colturale, che sono scarsamente disponibili e poco valutati, sia come cultivar autoradicate sia innestati su eventuali portinnesti nanizzanti. In conformità a tali premesse diviene prioritaria la ricerca di nuove varietà e/o portinnesti, utilizzando tutte le tecniche a disposizione. É ormai chiaro che la selezione clonale, la selezione massale ricorrente, l'ibridazione classica e la mutagenesi indotta, presentano notevoli limiti.

La *selezione clonale* e la *mutagenesi indotta* non hanno prodotto i risultati auspicati negli anni '60, prevalentemente a causa delle difficoltà nel migliorare certi caratteri senza peggiorarne altri e per le difficoltà riscontrate nell'isolamento di mutanti stabili. Testimonianza ne è il mutante a ridotta vigoria "*Briscola*" (Roselli e Donini, 1982), oggi impiegato soltanto come pianta ornamentale, e il mutante nano di Leccino (LD), con buone prospettive d'impiego sia come portinnesto nanizzante (Rugini *et al.*, 2001), sia come cultivar a fioritura molto tardiva, qualora si disponga di impollinatori adatti (fig. 1).

Anche l'*ibridazione* presenta difficoltà applicative a causa della prolungata fase giovanile, della prevalente autoincompatibilità e per limitata presenza di caratteri monogenici nella specie. Tuttavia, oggi sono disponibili tecnologie moderne di supporto, come l'impollinazione *in vitro*, il salvataggio di embrioni, l'impiego di marcatori molecolari per l'ibridazione assistita, l'analisi dei singoli alleli, la possibilità di costituire diaploidi e tecniche per accelerare l'ingentilimento dei semenzali. Ben poche sono le "nuove varietà" costituite e statica appare la prospettiva per il futuro, sebbene si disponga di un'ampia quantità di germoplasma sia tra le varietà coltivate sia tra quelle selvatiche. Tuttavia, degne di menzione sono alcune cultivar selezionate recentemente (Fontanazza e Bartolozzi, 1998) quali la *FS17* (Patent IRO-CNR 1165/nv), *Don Carlo* (United States Patent PP13077) e *Giulia*, tutte caratterizzate da media vigoria, da por-

* rugini@unitus.it

Fig. 1 - Piante adulte della cv San Felice autoradicata (a sinistra) a confronto con la stessa innestata su portinnesto LD (Leccino dwarf) (a destra) (da Pannelli *et al.*, 1992).
Fig. 1 - Adult plants of cv San Felice self-rooted (on the left) compared with the same cv grafted onto LD rootstock (dwarf Leccino) (on the right) (Pannelli et al.*, 1992).*

tamento eretto, da autofertilità, da frutto medio-grosso con buona qualità dell'olio (Cipriani *et al.*, 2006) e con produzione costante. Poche altre meritano di essere segnalate, come la cv da tavola *Kadesh* e da olio *Barnea* (Lavee *et al.*, 1986), ed alcune altre selezioni italiane (Bellini *et al.*, 1995). L'ibridazione programmata ha dunque dei limiti, dovuti alla scarsa conoscenza delle modalità di ereditabilità dei principali caratteri, e per il ridotto numero di genotipi noti con caratteri stabili associati a espressioni genetiche definite. E' necessario quindi studiare con più attenzione l'agrobiodiversità con impiego di tecniche molecolari e catalogando i genotipi con le caratteristiche migliori. La frammentarietà dei risultati finora conseguiti, quindi, evidenzia la necessità di attivare un nuovo approccio di MG, che utilizzi sia tecnologie classiche sia moderne (trasformazione genetica, ibridazione somatica, variabilità somaclonale), e basato sul modello di organizzazione dell'agrobiodiversità, denominato "*Gene Pools*" (Rugini *et al.*, 2010).

Organizzazione dell'agrobiodiversità (*Gene Pools*) per l'Ibridazione Programmata

La scelta delle risorse genetiche di partenza da utilizzare per l'ibridazione programmata deve essere preceduta da una accurata raccolta di germoplasma. I vari paesi olivicoli, infatti, dispongono di collezioni proprie che nella maggior parte dei casi sono rappresentate da un limitato numero di genotipi, ad eccezione della collezione realizzata in Sicilia (Fontanazza, comunicazione personale) che, sebbene incompleta, vanta centinaia di genotipi provenienti da tutto il mondo. È auspicabile, dunque, una raccolta completa ed una accurata valutazione dei genotipi da impiegare nel MG, sia tra le varietà coltivate sia tra quelle selvatiche, da sottoporre ad attività di MG in senso stretto (*pre-breeding*), ed impiegando accessioni promettenti anche con ricorso alla mutagenesi e all'ingegneria genetica. La scelta dei caratteri da migliorare non può prescindere da alcune espressioni fenotipiche quali: la limitata taglia della pianta, l'eventuale portamento assurgente o pendulo dei rami, l'autofertilità, la costanza produttiva, la dimensione del frutto e il suo contenuto in olio di qualità, nonché l'elevata resistenza a parassiti e patologie più frequenti. La scelta deve essere prioritariamente accompagnata dall'acquisizione di informazioni filogenetiche, di domesticazione, di affinità all'ibridazione tra varietà coltivate, ecotipi selvatici e specie afferenti allo stesso genere (*gene pools* di primo e secondo livello), distinguendo dalle forme ferali derivate da seme, magari con l'ausilio degli "alleli per la selvaticità" (Lumaret e Ouazzoni, 2001). Genotipi selvatici, come l'oleastro, potrebbero essere molto utili per fornire variabilità genetica assente in quelli domesticati, sia in quanto la progenie ibrida può garantire interazioni geniche nuove, non possibili tra i soli alleli "domesticati", sia per evitare il reincrocio, considerata la ridotta presenza di espressioni fenotipiche di tipo selvatico rispetto alle ibrida-

zioni tra specie dello stesso genere (es. *O. europea* o *O. ferruginea*).

Metodi non convenzionali di MG

Tra i metodi non convenzionali appare interessante l'uso della *variazione somaclonale*, della *trasformazione genetica* e, secondariamente, dell'*ibridazione somatica*. Per un'efficiente applicazione di queste tecnologie è necessario disporre di conoscenze di biochimica, di fisiologia, di genetica e di tecniche biotecnologie di base. Anche per queste però sussistono ancora delle limitazioni applicative dovute alla non sempre elevata efficienza di alcuni metodi di: **1)** coltura in vitro (micropropagazione per stimolazione di gemme ascellari e coltura di tessuti e cellule), **2)** rigenerazione in vitro, **3)** isolamento di geni target e trasformazione genetica, alle quali si assomma inoltre la diffidenza dell'opinione pubblica, dovuta spesso ad una propaganda avversa nei riguardi delle piante transgeniche.

Coltura in vitro *per produzione di germogli e coltura di tessuti*

La moltiplicazione in vitro per stimolazione di gemme ascellari è indispensabile per la produzione di germogli da destinare: **a)** alla propagazione rapida di nuovi genotipi; **b)** al risanamento da patogeni attraverso la coltura di meristemi; **c)** alla conservazione del germoplasma; **d)** alla selezione di mutanti stabili.

La coltura di tessuti è invece necessaria principalmente per **a)** la fertilizzazione in vitro tra varietà incompatibili, e **b)** il salvataggio di embrioni zigotici.

La micropropagazione per stimolazione di gemme ascellari si basa sull'impiego iniziale di espianti nodali in quanto le gemme, gli apici e i meristemi hanno difficoltà a sviluppare. Attualmente, per svariate decine di cultivar di olivo, questo metodo di coltura in vitro è una realtà commerciale nella produzione vivaistica (Rugini *et al.*, 2001).

Relativamente al *risanamento da patogeni*, la vigente legislazione non consente la certificazione di piantine d'olivo se non esenti da virus. Finora, non risultando efficace la "termoterapia", la coltura del meristema è da considerarsi ancora l'unica tecnica di risanamento per questa specie. Ciò è possibile solo se i meristemi sono prelevati da germogli in proliferazione *in vitro*, in quanto quelli prelevati da gemme *ex vitro* sono destinati a non svilupparsi a causa del loro imbrunimento. Piante di alcune cultivar risanate con questa tecnica, sono a dimora da 4 anni presso l'azienda dell'Università degli Studi della Tuscia (fig. 2), per un confronto diretto con quelle non risanate e provenienti dallo stesso genotipo virosato *(in litteris* in collaborazione con il Dipartimento PPMA, Università degli Studi di Bari*)*.

Fig. 2 - piante di olivo risanate da virus con la coltura del meristema a confronto con controlli virosati, allevate in campo.
Fig. 2 - Olive trees virus healed by meristem culture in comparison with control viruses, grown in field.

Riguardo la *conservazione del germoplasma*, è indispensabile favorirne la prosecuzione per contrastare la scomparsa di genotipi portatori di caratteri di pregio, spesso a rischio di estinzione. La conservazione dei semi di olivo non è consigliabile in quanto specie altamente eterozigote, mentre quella di parti vegetative offre molti benefici tra i quali: *a*) elevata velocità di moltiplicazione del genotipo in caso di necessità; *b*) limitata esigenza di spazi; *c*) possibilità di mantenere le piante libere da patogeni interni e di superficie; *d)* protezione da calamità naturali e da mutazioni. Attraverso la conservazione dei germogli *in vitro* a +4°C, è possibile la loro conservazione nello stesso substrato per circa 8 mesi, mentre con quella a -196°C, sia gli apici gemmari sia gli embrioni somatici evidenziano un'incidenza di sopravvivenza alla criopreservazione del 40% (Lambardi *et al.*, 2000; Lambardi e Rugini, 2003). La conservazione *in vitro* sia di embrioni somatici che di espianti uninodali di olivo, trova inoltre giovamento della tecnica d'incapsulamento (Micheli *et al.*, 2007).

Le tecniche *in vitro*, consentono una più efficiente *selezione di mutanti stabili* rispetto a quelle *in vivo*, in quanto con esse è possibile utilizzare piccoli frammenti di apici gemmari chimerici e/o la rigenerazione dei germogli da cellule singole. Con la prima metodologia sono stati separati, da germogli mixoploidi di due cultivar (Leccino e Frantoio), numerosi germogli tetraploidi (4n), riconoscibili dalla morfologia delle foglie, più larghe e più spesse di quelle dei diploidi (2n) (Rugini *et al.*, 1996). Le piante da essi derivate, a dimora da circa 8 anni, sono caratterizzate da una fase improduttiva brevissima, ma con produzione di fiori

molto scarsa; le stesse, presentano frutti più grossi di quelli dei diploidi, una taglia ridotta, e se usate come portinnesto riducono la vigoria del nesto (fig. 3).

Per quanto riguarda, infine, l'impiego delle colture in vitro per la *fertilizzazione* di ovuli con polline di cultivar incompatibili tra loro, finora non risulta disponibile alcuna letteratura, mentre il *salvataggio di embrioni immaturi*, derivati da incrocio tra due cv iraniane, è stato riportato con successo da Hossein Ava e Hajnajari (2006).

Rigenerazione in vitro*: contributo dell'organogenesi ed embriogenesi somatica al MG*

L'*organogenesi* e l'*embriogenesi somatica* sono tecniche indispensabili per rigenerare e selezionare rispettivamente germogli ed embrioni somatici da cellule somatiche e non. Entrambe le tecniche, sono state applicate con successo su olivo sia in tessuti zigotici sia in tessuti somatici maturi di cultivar. L'organogenesi è da preferirsi in quanto il processo di rigenerazione di genotipi stabili da tessuti chimerici ha inizio da una sola cellula, contrariamente all'embriogenesi somatica. Tuttavia in olivo, anche l'embriogenesi somatica presenta con frequenza origine unicellulare (Lambardi *et al.*, 1999). La rigenerazione, molto facile da tessuti embrionali caratterizzati da un elevato grado di giovanilità, è di difficile ottenimento da tessuti maturi di cultivar, il cui impiego, per le ragioni già esposte, è indispensabile per favorire il buon esito del MG. Gli unici tessuti maturi di cultivar finora ritenuti capaci di rigenerare le gemme sono i piccioli derivati da germogli proliferati *in vitro* (Mencuccini e Rugini, 1993). Anche se caratterizzata da una bassa frequenza di rigenerazione, l'organogenesi è tuttavia essenziale per avviare con successo il primo *step* del processo di embriogenesi somatica, la quale risulterà altamente efficiente e di facile impiego nella rigenerazione di piante, per "embriogenesi somatica ciclica", capace di produrre indefinitamente nuovi embrioni. Finora infatti, l'embriogenesi somatica da tessuti maturi di cultivar, ha avuto successo soltanto da abbozzi fogliari di gemme avventizie, formatesi con il processo di organogenesi (Rugini e Caricato, 1995).

Fig. 3 - Piante della cv Canino innestate su portinnesti polipoidi (4n) (a destra) e diploidi (2n) (a sinistra). Notare la riduzione della taglia indotta dal portinnesto 4n.

Fig. 3 - Plants of cv Canino grafted onto rootstocks polypoid (4n) (on the right) and diploid (2n) (on the left). Note the size reduction induced by the rootstock 4n.

Le piante derivate da embriogenesi somatica, sebbene originate da tessuti maturi, manifestano solitamente un periodo di giovanilità piuttosto lungo e fruttificano solitamente a partire dal 4°-5°anno (Rugini *et al.*, 2008).

Entrambe le tecniche sono indispensabili per rigenerare piante da: a) cellule aploidi (micro e macrospore per ottenere diaploidi); b) cellule sottoposte a variazione somaclonale; c) ibridi somatici; d) cellule trasformate.

La costituzione di linee *diaploidi* (piante omozigoti diploidi derivate dalla duplicazione di cellule apolidi), è un obiettivo da non sottovalutare, considerata la difficoltà a realizzare linee omozigoti con l'autofecondazione, vista la frequente auto-sterilità che caratterizza la specie, ed a causa del lungo periodo richiesto dai semenzali per superare la fase giovanile. Anche la costituzione di *ibridi somatici*, derivati dalla fusione di cellule somatiche con microspore, o preferibilmente con organelli citoplasmatici, è di particolare interesse, analogamente alla rigenerazione di piante da tessuti o cellule sottoposte a *variazione somaclonale*. In particolare, quest'ultima andrebbe stimolata sotto la pressione selettiva di specifici prodotti chimici, tossine o filtrati colturali di patogeni, per indurre e/o selezionare rigeneranti con caratteristiche desiderate. Queste tecniche per l'ottenimento di aploidi, ibridi somatici e per induzione di variazione somaclonale non sono state ancora affrontate adeguatamente.

Isolamento di geni target e trasformazione genetica

Ad oggi sono presenti nelle banche dati pubbliche soltanto 1.427 sequenze geniche di olivo a fronte delle 345.582 per il melo, 592.039 per *Citrus* e 526.237 per la vite. Il numero delle sequenze si riduce drasticamente se si considera che il 30% di queste sono non codificanti, gran parte appartenenti al trascritto con ridondanze intrageniche ed intervarietali, sono prevalentemente sequenze degli organelli e non del nucleo, e sequenze EST; soltanto 164 codificano per proteine legate ad altri processi biologici tra cui la biosintesi degli acidi grassi.

Risultati interessanti sono stati conseguiti nella produzione di *piante transgeniche* della cv Canino. La tecnica del DNA ricombinante appare infatti molto promettente per accelerare lo sviluppo di nuove cultivar, e migliorare i caratteri più importanti, poco o troppo espressi, delle cultivar più diffuse nel panorama olivicolo nazionale. I primi risultati sulla trasformazione genetica, ottenuti con l'*A. rhizogenes wt* per indurre radici transgeniche in microtalee, risalgono agli anni ottanta (Rugini, 1986). Piante d'olivo con il solo apparato radicale transgenico potrebbero risultare utili per un'olivicoltura intensiva, in quanto, come già dimostrato in susino, manifestano una drastica riduzione della mole della chioma (Rugini, comunicazione personale). Ciò nonostante, non sono ancora disponibili dati relativi all'influenza sulla differenziazione a fiore. Successivamente, utilizzando l'efficiente capacità rigenerativa dell'embriogenesi somatica ciclica della cv Canino, sono state prodotte numerose piante transgeniche per i geni *rolABC* di *A. rhizogenes* e per il gene di *osmotina*, con l'obiettivo di ridurre rispettivamente la mole della pianta e la suscettibilità a patogeni fungini. Nel primo caso le piante hanno manifestato una maggiore ramificazione, internodi più corti e foglie più piccole, un sistema radicale più denso e un miglioramento nell'efficienza d'uso dell'acqua. Le piante, a dimora dal 1999 (fig. 4), manifestano tuttavia una marcata giovanilità, dovuta probabilmente alla prolungata permanenza in vitro dei tessuti embriogenetici (Rugini *et al.*, 2008).

Le piante transgeniche per il *gene dell'osmotina*, presente in natura su molte piante superiori saggiate, incluso olivo, hanno manifestato un maggiore accumulo della proteina nelle cellule, ed una tolleranza superiore all'occhio di pavone (*Spilocaea oleagina*). Questo gene, appartenente alla famiglia PR (Proteine di Patogenesi), si esprime infatti a seguito di stress di varia natura, inclusi quelli indotti da patogeni fungini per i quali la sua proteina risulta tossica (Rugini *et al.*, 2008).

Considerazioni conclusive

Al fine di guadagnare il tempo perduto nel MG dell'olivo, urge pianificare un serio programma d'ibridazione, basato sul modello d'organizzazione dell'agrobiodiversità (*Gene Pools*), preceduto da una accurata raccolta e catalogazione di tutti i genotipi d'*Olea europea* e di specie affini, sfruttando altresì le tecniche biotecnologie disponibili, per accelerare la costituzione di nuove cultivar adatte ad un'olivicoltura intensiva. Quest'ultima infatti necessita di cultivar altamente produttive con qualità di olio eccellente, non alternanti, di limitata vigoria e meno suscettibili a

Fig. 4 - Piante di olivo della cv Canino, transgeniche per i *rolABC* di *A. rhizogenes*, e piante *over*-esprimenti *osmotina* a dimora nel campo sperimentale dell'Università della Tuscia.
Fig. 4 - Olive trees of cv Canino, transgenic for rolABC of A. rhizogenes *and plants over-expressing osmotin planted in the experimental field of Tuscia University.*

stress di natura biotica. Allo stesso tempo, è necessario intensificare la ricerca nel settore biotecnologico e molecolare per accelerare l'isolamento di geni utili e approfondire le conoscenze sulla loro funzione. La ricerca in campo molecolare è molto arretrata, in quanto si conoscono poco più di un migliaio di sequenze geniche a fronte delle diverse centinaia di migliaia note per altre specie principali da frutto. L'avviamento di un progetto di genomica diviene quindi fondamentale, senza trascurare la ricerca nel settore del DNA ricombinante, oggi ancora quasi negletta, ma di straordinaria potenzialità per una specie così difficile da migliorare e che potrebbe consentire all'olivicoltura quel salto di qualità tanto atteso dai ricercatori e dagli operatori del settore.

Riassunto

I metodi classici di miglioramento genetico (MG), quali la selezione clonale, la mutagenesi indotta e selezione massale ricorrente non hanno dato risultati incoraggianti, contribuendo al mancato salto di qualità tanto auspicato per l'olivicoltura. Si rende sempre più necessario, pertanto, un programma di ibridazione programmata basata sul metodo dei "gene pools", utilizzando tutte le tecniche biotecnologiche e molecolari disponibili. Le tecniche non convenzionali quali l'impollinazione *in vitro*, il salvataggio di embrioni, la costituzione di diaploidi, la variazione somaclonale spontanea e indotta sotto pressione selettiva, l'ibridazione somatica, la trasformazione genetica, l'impiego di marcatori molecolari per l'ibridazione assistita, l'analisi dei singoli alleli, nonché l'isolamento di geni, insieme a tecniche capaci di anticipare l'ingentilimento dei semenzali, divengono oggi essenziali per il supporto alla ibridazione classica oltre che per costituire direttamente nuovi genotipi adatti ad una olivicoltura moderna, basata sull'intensificazione colturale. Viene dimostrato che alcune di queste tecniche possono essere applicate con successo.

Parole chiave: *Olea spp.*, coltura *in vitro*, portinnesti, gene pool, cultivar.

Bibliografia

BELLINI E., PARIAH M.V., PANDOLFI S., GIORDANI E., PERRI E., SILLETTI A., 1995. *Miglioramento genetico dell'olivo: prime osservazioni su selezioni ottenute da incrocio.* Italus Hortus, 2: 3-12.

CIPRIANI M., CERRETANI L., BENDINI A., FONTANAZZA G., LERCKER G., 2006. *Study of Phenolic Compounds in* Olea europea *L. Fruits of cvs Frantoio, FS17 and Don Carlo during olives growth.* In: Proc. 4th EuroFed Lipid Congress. Oils, Fats and Lipids for a Healthier Future. The Need for Interdisciplinary Approaches, Madrid (Spain), 1-4 449.

FONTANAZZA G,, BARTOLOZZI F., 1998. *Olive*. In: Scarascia-Mugnozza, G.T. and Pagnotta, MA (eds.) Italian Contribution to Plant Genetics and Breeding. pp, 723-748.

HOSSEIN AVA S. AND HAJNAJARI H., 2006. *Obtaining embryo rescued hybrid plants of olive (Mary Roghani M.) in cross breeding for precocity induction*. Proc. 2nd Int. Seminar on Biotechnology and Quality of Olive Tree Products around the Mediterranean Basin. November 5–10, 2006, Marsala, Italy, pp. 27–29.

LAVEE S., HASKAL A., WODNER M., 1986. *Barnea: a new olive cultivar from first breeding generation*. Olea 17: 95-99.

LAMBARDI M., CACCAVALE A., RUGINI E., CARICATO G., 1999. *Histological observations on somatic embryos of olive (*Olea europaea *L.).* Acta Hort. 474: 67-70.

LAMBARDI M., BENELLI C., DE CARLO A., FABBRI A., GRASSI S., LYNCH P.T., 2000. *Medium and long-term in vitro conservation of olive germplasm (*Olea europaea *L.).* Acta Hort. 586.

LAMBARDI M., RUGINI E., 2003. *Micropropagation of olive (*Olea europaea *L).* In: Micropropagation of woody trees and fruits. SM Jain and K. Ishii (eds). Kluwer Academic Publishers, The Netherlands: 621-646.

LUMARET R., OUAZZANI N., 2001. *Ancient wild olives in Mediterranean forests*. Nature 413:700.

MENCUCCINI M., RUGINI E., 1993. *In vitro shoot regeneration from olive (*Olea europaea *L.) cultivar tissues*. Plant Cell Tissue and Organ Culture 32: 283-288.

MICHELI M., HAFIZ I.A., STANDARDI A. 2007. *Encapsulation of in vitro-derived explants of olive (*Olea europaea *L. cv* Moraiolo). *II: Effects of storage on capsule and coated shoots performance.* Sci. Hort., 113: 286-292.

PANNELLI. G., FAGIANI F. RUGINI E., 1992. *Effects of the change on ploidy levels on anatomical, cytological, reproductive, growth performance and polyamine contents, in mutants of olive irradiated olive plants*. Acta Hort. 317: 209-218.

ROSELLI U., DONINI B., 1982. *Briscola. Nuova cultivar di olivo a sviluppo compatto*. Rivista di Ortoflorofrutticoltura Italiana 66: 103–114.

RUGINI E., 1986. *Olive (*Olea europaea *L.).* In: Biotechnology in Agriculture and Forestry 1, Trees I, (Bajaj Y.P.S. ed.) p 253-267. Springer-Verlag, Berlin.

RUGINI E., CARICATO G., 1995. *Somatic embryogenesis and plant recovery from mature tissues of olive cultivars (*Olea europaea *L.) "Canino" and "Moraiolo"*. Plant Cell Reports 14: 257-260.

RUGINI E., PANNELLI G., CECCARELLI M., MUGANU M., 1996. *Isolation of triploid and tetraploid olive (*Olea europaea *L.) plants from mixoploid cv Frantoio and Leccino mutants by* in vivo *and* in vitro *selection*. Plant Breeding 115: 23-27.

RUGINI E., BIASI R, MUGANU M., PANNELLI G., AVERSA G., MAGGINI F., MARTELLI G.P., ZAMBONI E., ZUCCHERELLI G., BARBA M., 2001. *L'organizzazione di un moderno vivaismo olivicolo alla base della produzione di piante certificate*. Frutticoltura, 5:11-24.

RUGINI E., GUTIÉRREZ-PESCE P., MULEO R., 2008. *Olive*. In Kole and Hall (eds.), Compendium of Transgenic Crop Plants: Transgenic Temperate Fruits and Nuts, Blackwell Publishing, Oxford, UK: 233-258.

RUGINI E., GUTIÉRREZ PESCE P., DE PACE C., 2010. *Diversità genetica, ereditabilità e miglioramento genetico delle specie arboree da frutto.* Giornata di studio "La biodiversità nell'arboricoltura italiana". Palermo, 20 Aprile 2007. Atti (in press).

L'oleastro come potenziale riserva di geni agronomicamente utili

Mulas M.[1*], Mura G.[1], Dessena L.[1], Bandino G.[2] e Sedda P.[2]
[1]Dipartimento di Economia e Sistemi Arborei, Università di Sassari
[2]Dipartimento per la Ricerca nella Arboricoltura di AGRIS Sardegna, Cagliari

Oleaster as a potential reservoir of agronomically useful genes

Abstract. Oleaster (Olea europaea var. oleaster Hoffmgg e Link) populations spontaneously growing in Sardinia have been studied for a decade and over 25 accessions agamically propagated in a repository. The collection was planted in 1998 in the experimental fields of Department of Economics and Tree systems of the University of Sassari located at Fenosu (OR). Here systematic observations were carried out for the study of some characters that can be useful if higher variability than in olive cultivars was observed. Cambium activity and plant phenology were particularly observed. The population of accessions was also compared to the population of autochthonous cultivars of germplasm of Sardinia, by using AFLP and SSR markers to delineate possible relationships between the two groups of olive genetic resources. Recent studies have focused on the pollination and fruit-set in different accessions. In this work data on the pollen viability and germination, as well as rates of fruit set in open- and self-pollination are reported for some accessions.

Key words: Olea europaea var. oleaster, variability, pollen, germinability, self-pollination.

Introduzione

La forma selvatica dell'olivo coltivato è l'oleastro (*Olea europaea* var. *oleaster* Hoffgg et Link) (Mulas, 2005). La sua diffusione in Sardegna e l'ampia variabilità fenotipica reperibile hanno giustificato la realizzazione di numerosi studi (Mulas, 1999; Mulas *et al*., 2001; 2002). Grazie alla diversità biologica, infatti, le specie coltivate possono adattarsi ai diversi ambienti di coltivazione, resistere alle avversità biotiche e abiotiche e sopravvivere attraverso la ricombinazione del patrimonio genetico e la produzione continua di nuova variabilità genetica (Angiolillo *et al.*, 2000; Baldoni *et al.*, 2000; 2006).

La base genetica della variabilità naturale è quindi una risorsa preziosa da tutelare e valorizzare (Deidda e Mulas, 2004). A questo fine, da oltre un decennio, il Dipartimento di Economia e Sistemi Arborei ha condotto ricerche per la caratterizzazione e valorizzazione delle popolazioni naturali di oleastro. In particolare è stata studiata l'ecologia, la variabilità morfologica e fenologica della specie allo stato spontaneo (Mulas e Francesconi, 2000; Mulas *et al.*, 2003; 2005). Altri studi hanno riguardato lo studio delle basi genetiche di questa variabilità (Mulas, 2009).

L'obiettivo di questo specifico lavoro è contribuire alla caratterizzazione delle popolazioni spontanee di oleastro attraverso lo studio della fertilità naturale delle diverse accessioni, in particolare sono state analizzate le fasi dall'impollinazione all'allegagione valutando la vitalità e germinabilità del polline, i tassi di allegagione in libera impollinazione e di autocompatibilità delle accessioni.

Materiali e metodi

La prova è stata svolta presso il campo collezione di oleastro, impiantato nel 1998 a Fenosu (OR) nell'azienda sperimentale del Dipartimento di Economia e Sistemi Arborei. Il campo è costituito da 25 selezioni derivanti dalla propagazione agamica di piante di oleastro selezionate dalla flora spontanea e rappresentative della variabilità intrapopolazione. Altre selezioni derivate da propagazione per seme sono state inserite a titolo di confronto. Da oltre 10 anni sui diversi cloni sono stati svolti studi sulla morfologia, la fenologia e l'attività cambiale. Altri studi hanno riguardato le analisi biometriche e morfologiche di laboratorio.

Nel 2009 lo studio ha riguardato la caratterizzazione biologica del polline, è stata quindi analizzata la vitalità e la germinabilità dei granuli pollinici e l'autocompatibilità delle cultivar prese in esame.

La prova sulla vitalità e germinabilità del polline ha riguardato 12 selezioni (10 cloni e 2 semenzali) scelte tra le più produttive. Nel mese di maggio (in piena fioritura) sono stati prelevati alcuni rami fruttiferi di ogni selezione e disposti in dei sacchetti di tessuto non tessuto. In laboratorio si è provveduto alla separazione delle mignole dai rami. In seguito a disidratazione delle mignole e conseguente deiscenza delle antere è stato possibile raccogliere i granuli pollinici, posti successivamente in essiccatori a gel di silice alla temperatura di 5 °C.

I test di vitalità del polline sono stati eseguiti

* mmulas@uniss.it

mediante colorazione con 3-4,5 dimethylthiazol-2-yl-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) che conferisce al polline vitale una colorazione violacea mentre il polline non vitale mantiene una colorazione translucida (Mulas e Fadda, 2004). Il reagente contenente MTT è stato preparato diluendo 0,5 ml di Tris HCl 1 M in 95 ml di acqua. Il pH della soluzione è stato portato a 7,7 e successivamente sono stati aggiunti 100 mg di MTT. La soluzione è stata poi conservata al buio a 5 °C. Successivamente i campioni di polline sono stati posti in vetrini dotati di incavi contenenti la soluzione colorante di MTT, posti in stufa per 1 giorno e osservati al microscopio ottico per valutarne la vitalità.

Per testare la germinabilità del polline i granuli pollinici sono stati fatti germinare su un substrato solido costituito dall'1% di agar, 10% di saccarosio e 20 ppm di acido borico. Successivamente è stata valutato il tasso di germinabilità tramite l'osservazione al microscopio.

Per valutare l'autocompatibilità delle accessioni alcuni rami ricchi di mignole sono stati isolati, sino all'allegagione, tramite dei sacchetti in tessuto non tessuto. Per ogni ramo è stata eseguita la conta delle mignole per ramo. Altri rami invece sono stati lasciati alla libera impollinazione per il confronto. In seguito si è proceduto alla conta diretta dei frutticini allegati.

Risultati e discussione

Dalle analisi effettuate sul polline (fig. 1) i risultati mostrano che i test di vitalità, effettuati tramite MTT, hanno fatto registrare valori compresi tra 1,6% e 66,4%. Il polline più vitale è risultato quello delle selezioni Vil 14, Lac 1s e Vlr 14 mentre la selezione Lac 24 ha presentato valori di vitalità del polline nettamente inferiori (fig. 2).

Per quanto riguarda la prova sulla germinabilità del polline (fig. 3), la percentuale di germinabilità varia dall'1,6% al 24,6% a seconda della selezione. In particolare le selezioni che hanno fatto rilevare i valori più elevati sono state Vil 2 (24,1%) e Lac 1s (semenzale). I valori più bassi riguardano le selezioni Vil 14 e Cpt 12 (fig. 3).

Dai dati di vitalità e germinabilità possiamo notare la debole correlazione lineare positiva tra i due caratteri ($r = 0,63$; $p \leq 0,05$).

Il numero di fiori per mignola erano compresi tra 21,8 e 29,5 con una discreta variabilità tra le diverse accessioni (fig. 4). Per quanto riguarda la prova sull'autocompatibilità, il 50% delle selezioni è risultato almeno parzialmente autocompatibile, mostrando comunque percentuali di allegagione con autoimpollinazione sempre inferiori rispetto alla libera impollinazione (fig. 5).

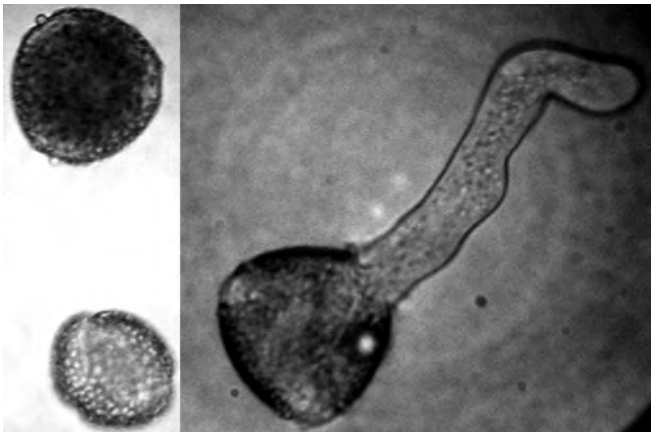


Fig. 1 - Foto al microscopio ottico (~ 400x) di un granulo pollinico vitale (sinistra) e germinato (destra) .
Fig. 1 - Light photomicroscope (about 400x) of a viable pollen grain (left) and of a germinated pollen grain (right).

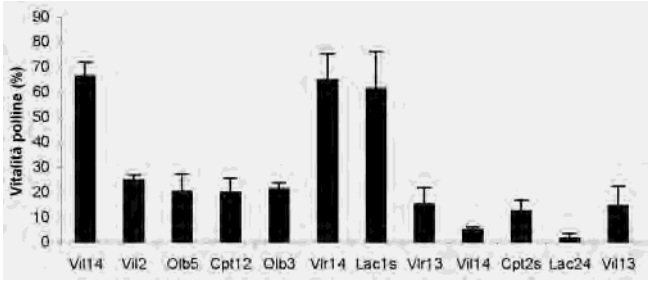


Fig. 2 - Vitalità del polline delle 12 selezioni analizzate mediante l'utilizzo dell'MTT.
Fig. 2 - Pollen viability as observed by MTT staining test in 12 selections.

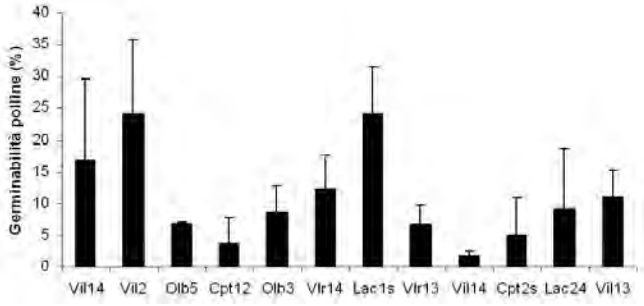


Fig. 3 - Percentuale di germinabilità del polline nelle diverse selezioni di oleastro (le sigle seguite dalla "s" identificano i semenzali).
Fig. 3 - In vitro *pollen germination of oleaster selections (sample label followed be "s" indicated a seedling origin of the selection).*

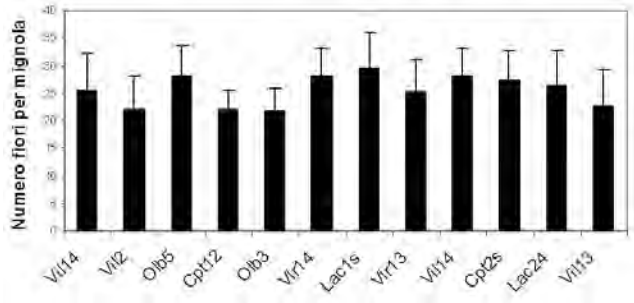


Fig. 4 - Numero di fiori per mignola nelle diverse accessioni.
Fig. 4 - Flower number per inflorescence in the different selections.

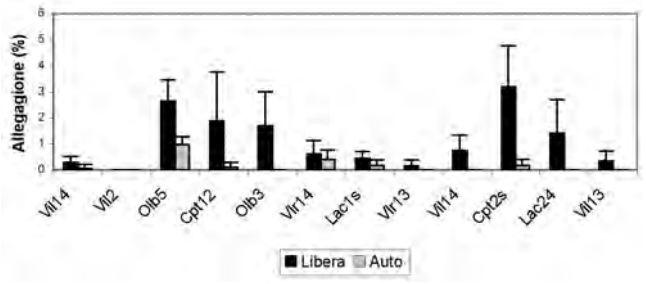


Fig. 5 - Confronto delle percentuali di allegagione in selezioni lasciate alla libera impollinazione e sottoposte ad autoimpollinazione.
Fig. 5 - Fruit-set comparison among selections and under free or self-pollination conditions.

Conclusioni

L'analisi delle caratteristiche fisiologiche del polline di 12 accessioni di oleastro mostra dati di vitalità e germinabilità media comparabili con quelli registrati in alcune cultivar del germoplasma di olivo della Sardegna. I dati di vitalità, in particolare, risulterebbero leggermente inferiori, mentre quelli di germinabilità registrati su alcuni cloni, sono più o meno simili a quelli registrati per l'olivo (Mulas *et al.*, 2008). Mediamente inferiori risultano anche i dati di allegagione, soprattutto in libera impollinazione, ma non bisogna dimenticare che una allegagione intorno al 3% è comunque sufficiente per un livello produttivo normale, che l'oleastro ha mignole normalmente dotate di un numero di fiori superiore rispetto all'olivo e che l'esperimento si è svolto nelle condizioni di una tipica e marcata annata di scarica.

Riassunto

Le popolazioni di oleastro (*Olea europaea* var. *oleaster* Hoffmgg e Link) spontanee della Sardegna sono state studiate per circa un decennio e oltre 25 accessioni sono state propagate agamicamente e raccolte in un campo collezione messo a dimora nel 1998 presso l'azienda sperimentale di Fenosu (OR) del Dipartimento di Economia e Sistemi Arborei dell'Università di Sassari. Qui sono state svolte osservazioni sistematiche per lo studio di alcuni caratteri che possono rivelarsi utili qualora eventualmente plusvarianti rispetto alle forme coltivate dell'olivo. In particolare sono stati studiati i ritmi di attività cambiale e l'attività fenologica delle accessioni. La popolazione di accessioni è stata anche ripetutamente confrontata con la popolazione di cultivar autoctone del germoplasma della Sardegna, tramite l'utilizzo di marcatori AFLP e SSR al fine di delineare eventuali parentele tra i due gruppi di risorse genetiche dell'olivo. Recenti studi hanno riguardato lo studio dell'impollinazione e della fruttificazione nelle diverse accessioni. In particolare in questo lavoro vengono presentati i dati relativi alla vitalità e germinabilità del polline, nonchè i tassi di allegagione in libera impollinazione e di autocompatibilità delle accessioni.

Parole chiave: *Olea europaea* var. *oleaster*, variabilità, polline, germinabilità, autocompatibilità.

Bibliografia

ANGIOLILLO A., BALDONI L., BANDINO G., MULAS M., 2000. *Analisi molecolare con marcatori AFLP delle risorse genetiche di olivo della Sardegna*. Atti 4° Congresso Nazionale su "Biodiversità: Germoplasma locale e sua valorizzazione". Alghero (SS), 8-11 settembre 1998: 413-416.

BALDONI L., PELLEGRINI M., MENCUCCINI M., MULAS M., ANGIOLILLO A., 2000. *Genetic relationships among cultivated and wild olives revealed by AFLP markers*. Acta Hort., 521: 275-284.

BALDONI L., TOSTI N., RICCIOLINI C., BELAJ A., ARCIONI S., PANNELLI G., GERMANA' M.A., MULAS M., PORCEDDU A., 2006. *Genetic structure of wild and cultivated olives in the Central Mediterranean basin.* Annals of Botany, 98: 935-942.

DEIDDA P., MULAS M., 2004. *La coltivazione e la valenza polifunzionale delle piante mediterranee.* Italus Hortus, 11(4): 31-36.

MULAS M., 1999. *Characterisation of olive wild ecotypes.* Acta Hort., 474: 121-124.

MULAS M., 2005. Olea europaea *L. var.* sylvestris. In: C. Cervelli. Le specie arbustive della macchia mediterranea: un patrimonio da valorizzare. Editore: Dipartimento Azienda Regionale Foreste Demaniali, Palermo: 121-127.

MULAS M. (2009). *Domesticazione delle forme selvatiche di* Olea europaea *L. per la produzione di biomasse legnose*. Atti del III Convegno Nazionale "Piante Mediterranee - Le Piante Mediterranee nelle Scelte Strategiche per l'Agricoltura e l'Ambiente". Bari, 27 settembre/1 ottobre. Italian Journal of Agronomy, Supplemento al Vol. 4(4): 77-84.

MULAS M., FADDA A., 2004. *First observation on biology and organ morphology of myrtle* (Myrtus communis *L.*) *flower*. Agricultura Mediterranea, 134: 223-235.

MULAS M., FRANCESCONI A.H.D., 2000. *Wild olive (*Olea europaea *L.) as a forestry species*. Atti dell II Congresso su "Applicazioni e prospettive per la ricerca forestale italiana". Bologna, 20-22 ottobre 1999: 55-60.

MULAS M., CAULI E., FRANCESCONI A.H.D., 2001. *Valorizzazione delle forme selvatiche di* Olea europaea *L. per gli usi forestali della specie*. Monti e Boschi, LII(2): 47-54.

MULAS M., CAULI E., FRANCESCONI A.H.D., 2002. *Advances in the study od wild olive genetic resources*. Acta Hort., 586: 121-124.

MULAS M., PERINU B., RUIU E.P., 2003. *Ecologia delle forme selvatiche di* Olea europaea *L. in una formazione a macchia mediterranea.* Atti del III Congresso Nazionale SISEF "Alberi e Foreste per il Nuovo Millennio". Viterbo, 15-18 ottobre 2001: 159-165.

MULAS M., FADDA A., CAULI E., GADDARI I., 2005. *Valorizzazione di selezioni clonali di oleastro (*Olea europaea *var*. sylvestris *Hoffmk et Link) per la produzione di legname di pregio*. Atti del "IV Congresso Nazionale SISEF". Rifreddo (PZ), 7-10 ottobre 2003: 551-557.

MULAS M., CADDEO C., BANDINO G., MORO C., SEDDA P., 2008. *L'olivicoltura sarda punta sulle varietà autoctone*. L'Informatore Agrario (34): 57-59.

Individuazione e profilo di espressione di geni coinvolti nello sviluppo del fiore e nell'aborto dell'ovario

Colao M.C.[1], Reale L.[2], Miano D.[1], Ferrante F.[2], Sgromo C.[2], Fornaciari M.[2], Orlandi F.[2], Romano B.[2], Rugini E.[1] e Muleo R.[1*]

[1]Dipartimento di Produzioni Vegetali, Laboratorio di Ecofisiologia Molecolare delle Piante Arboree, Università della Tuscia

[2]Dipartimento di Biologia Applicata, Università di Perugia

Identification and transcriptional profile of genes involved in flower development and ovule abortion

Abstract. In order to elucidate the mechanisms for ovule abortion in olive, genes potentially involved in the ovary and flower development has been isolated and investigated. The transcriptional analysis has been performed on samples from the cultivars Leccino and Dolce Agogia, which exhibited higher and lower fruit set. The results showed that transcripts for nuclear genes, sucrose synthase, glycolsyltransferase, chloroplastic gene, psbA gene, and mitochondrial ATPase gne could be involved during flower development. Finally, in order to consider a higher number of genes differentially expressed, an experimental approach based on suppressive subtractive hybridisation (SSH) was employed on Leccino sampled at different times of development.

Key words: Subtractive libraries, flower development, transcriptional analysis, Gene Ontology, ovule abortion.

Introduzione

Olea europaea L. è la più importante pianta coltivata per la produzione di olio nei paesi del bacino del Mediterraneo. Nonostante il notevole impatto economico, poche sono le informazioni relative alle basi molecolari e fisiologiche dell'aborto fiorale e dell'abscissione delle drupe neoformate, due fenomeni che influenzano in modo significativo la produttività. L'olivo è caratterizzato da una abbondante fioritura, con fenomeni di alternanza, accompagnati a una bassa produttività. Nell'infiorescenza dell'olivo sono presenti sia fiori perfetti, ermafroditi, che fiori staminiferi, imperfetti, ed è stato osservato che il numero di frutti che si formano è correlato con la percentuale di fiori perfetti per infiorescenza. Da uno studio condotto sullo sviluppo del fiore in cinque cultivar DOP umbre è risultato che la cultivar Dolce Agogia ha la più alta percentuale di fiori ed ovari abortiti, mentre la cultivar autoincompatibile Leccino la più bassa (Reale *et al*., 2006). Lo sviluppo del pistillo si interrompe dopo il differenziamento della cellula madre della megaspora, quando le cellule madri delle microspore sono circondate da una parete di callosio (Angenent *et al*., 1996). Nello stesso stadio dello sviluppo, nell'ovario, stilo e stigma dei fiori ermafroditi sono presenti granuli di amido, mentre nessun granulo di amido è presente nei fiori staminiferi (Reale *et al.*, 2009). Sin dal differenziamento degli organi, i carboidrati sono necessari per lo sviluppo del fiore (Rodrigo *et al.*, 2000; Yu *et al.*, 2000) e per l'allegagione dei frutti (Iglesias *et al.*, 2003), ma generalmente l'attività fotosintetica del fiore non assicura energia sufficiente (Bazzaz e Carlson 1979). E' stato osservato inoltre che cultivar con minore capacità di accumulare carboidrati sono maggiormente soggette a fenomeni di abscissione del fiore (Aloni *et al.*, 1996).

L'obiettivo principale di questo lavoro è lo studio di meccanismi di regolazione genica che determinano lo sviluppo del fiore in olivo e la comprensione delle cause dell'aborto fiorale. A questo scopo sono stati isolati e analizzati alcuni geni la cui espressione è modulata durante lo sviluppo del fiore nelle cultivar Leccino e Dolce Agogia. Successivamente sono state costruite due librerie di cDNA con la tecnica della *suppressive subtractive hybridization* (SSH) per identificare su larga scala geni espressi in modo differenziale.

Materiali e metodi

Materiale vegetale e condizioni di crescita

I campioni sono stati prelevati nell'anno 2007 e 2008 nel Campo Collezione dell'Istituto Sperimentale di Olivicoltura di Castel Ritaldi (42°49' N, 12°40' S) a 300 m a.s.l. da piante di Leccino e Dolce Agogia a diversi stadi di sviluppo del fiore. Per ciascuna cultivar sono stati analizzati due campioni prelevati a Maggio e Giugno, a distanza di due settimane.

* muleo@unitus.it

Estrazione di acidi nucleici, isolamento di nuovi geni e analisi trascrizionale

L'RNA totale è stato estratto dai fiori con il kit NuleoSpin RNA Plant kit (Macherey Nagel) mentre le reazioni di retrotrascrizione sono state effettuate con le Ready-To-Go RT-PCR beads (Amersham Biosciences) seguendo le istruzioni del produttore. L'analisi trascrizionale è stata effettuata utilizzando la tecnica della RT-PCR quantitativa Real-Time con un Lyght cycler (Roche) adoperando gli RNA ribosomali 18S, 23S e 26S come geni housekeeping per valutare il livello globale di trascritti. Le amplificazioni sono state effettuate con il kit QuantiTect SYBR Green PCR (Qiagen) seguendo le istruzioni del produttore con una quantità cDNA equivalente a 20 ng di RNA totale come stampo. I geni analizzati ed i primers utilizzati sono descritti in tabella 1.

Costruzione di librerie sottrattive

500 µg di RNA totale dei campioni di Leccino del 22 e 29 Maggio sono stati ulteriormente purificati con RNAeasy Plus Mini Kit (Qiagen) per la costruzione delle librerie sottrattive (SSH). Sono state preparate due librerie, una forward ed una reverse, presso la ditta Rx Biosciences (Rockville, MD, USA), e sono stati analizzati quindi 1.127 cloni utilizzando un sequenziatore automatico ABI3700. Le sequenze nucleotidiche sono state analizzate per eliminare le contaminazioni del vettore di clonaggio e degli adattatori utilizzando uno *script* BioPerl descritto in Galla *et al.*,. (2009), mentre i contig sono stati assemblati con programma CAP3 (http://deepc2.psi.iastate.edu/aat/cap/cap.htlm/). L'annotazione computazionale dei due insiemi di dati è stato effettuato con il software Blast2GO v.2.3.6 (http://www.blast2go.org). La banca dati Kyoto Enciclopedia of Genes and Genomes (KEGG – http://www.genome.jp/kegg/) è stata consultata per definire le principali vie metaboliche nelle quali sono presenti le proteine enzimatiche annotate.

Risultati e discussione

L'analisi trascrizionale è stata effettuata su campioni appartenenti alle due cultivar in esame: Dolce Agogia, caratterizzata da una abbondante fioritura e scarsa allegagione, e Leccino caratterizzata da una più spiccata capacità di allegagione. Per ciascuna cultivar sono stati analizzati due prelievi a tempi differenti, nei mesi di Maggio e, a distanza di due settimane, di Giugno. In considerazione delle caratteristiche delle due cultivar in esame è stato osservato che nei campioni esaminati di Leccino la proporzione di fiori ermafroditi è significativamente maggiore rispetto a quella dei fiori staminiferi, mentre l'inverso si realizza in Dolce Agogia.

L'analisi trascrizionale è stata effettuata utilizzando la tecnica della PCR quantitativa real time utilizzando gli RNA ribosomali come geni housekeeping. I risultati ottenuti dall'analisi dell'espressione mostrano che i trascritti corrispondenti ai geni analizzati presentano variazioni significative nei prelievi a tempi differenti e pertanto sono coinvolti nello sviluppo del fiore.

Risultati interessanti sono stati ottenuti nell'analisi dei trascritti per le glicosil-tranferasi (Fig. 1B): in particolare abbiamo studiato una *glicosil-transferasi* (gruppo 8) isolata nel nostro laboratorio di cui non è stata determinata la specificità di substrato, ma che presenta una sequenza molta conservata tra specie arboree appartenenti a famiglie diverse. Sulla base dell'analisi di sequenza e delle informazioni sul profilo di espressione del gene che codifica per questa *glicosil-transferasi* è stato ipotizzato che possa determinare la glicosilazione di ormoni e flavonoidi i quali agiscono da molecole segnale. Negli esperimenti condotti sui campioni di olivo delle cultivar Leccino e Dolce Agogia è stato osservato che sono presenti differenze tra le varietà in esame, infatti questo gene sembra essere espresso prevalentemente nei fiori ermafroditi e non negli staminiferi e la sua espressione aumenta nel tempo.

Tab. 1 - Descrizione dei geni e sequenza dei primers utilizzati negli esperimenti di analisi trascrizionale.
Tab 1 - Description of genes and primer sequences employed in transcript analyses.

Geni	Primer forward	Primer reverse
Saccarosio sintasi	5'-GATCGGTACCATGGCGAACAAG-3'	5'-CCAAAACCCGTAAACTCCAGCA-3'
Glicosil-transferasi	5'-ACTCAGAGGGAGAAGGGAAGCA-3'	5'-CTCGTCGGTCACAAGGTGGAAG-3'
ATPasi mitocondriale	5'-AGGCTTTCCCAGGGGATGTTTT-3'	5'-ACGGGTAAGGCGGTCAAGCTAC-3'
psbA	5'-GAAACCACAGAAAATGAATCTGC-3'	5'-TACCTAAAGCGGTGAACCAGATA-3'
18S rRNA	5'-ACGGGGAGGTAGTGACAATAAAT-3'	5'-CGAGCTTTTTAACTGCAACAACT-3'
23S rRNA	5'-TGAAACCGTAAGCTCCCAAGCA-3'	5'-TGAAGACTCGCTTTCGCTACGG-3'
26S rRNA	5'-ATGACCCCGTAACTTCGGGAGA-3'	5'-TGCGACAAGGAATTTCGCTACC-3'

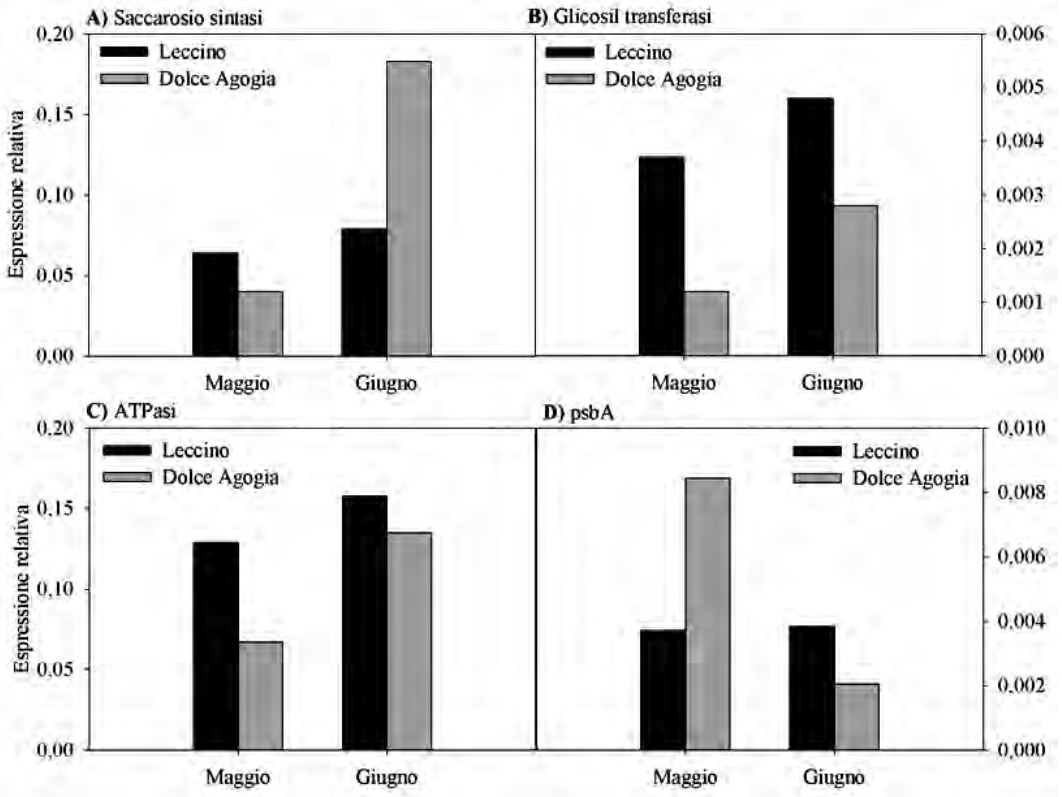


Fig. 1 – Quantificazione relativa dei trascritti che codificano per *saccarosio sintasi, glicosil-transferasi, ATPasi* e *psbA* in fiori di Leccino e Dolce Agogia. I valori rappresentati sono la media di tre determinazioni con un errore inferiore al 10%. Per i trascritti della *saccarosio sintasi* e della *glicosil-transferasi* è stato utilizzato come gene hosekeeping il gene che codifica per l'*rRNA18S*, per l'*ATPasi* l'*rRNA26S*, per il *psbA* l'*rRNA23S*.

Fig. 1 - Relative expression of transcripts encoding sucrose synthase, glycosyl transferase, ATPase and psbA in Leccino and Dolce Agogia flowers. The presented values are the mean of three samples with an error below 10%. The housekeeping gene is rRNA 18S for sucrose synthase and glycosyl transferase, 26S for ATPase and 23S for psbA.

E' stata inoltre analizzata l'espressione della *saccarosio sintasi* (glicosil-transferasi gruppo 1) ed i risultati ottenuti mostrano che, prima dell'antesi, i livelli di trascritto per questo gene sono significativamente più elevati nei campioni di Leccino in cui la proporzione di fiori ermafroditi è più alta (fig. 1A). La presenza di livelli più elevati di *saccarosio sintasi* in campioni con un elevato numero di fiori ermafroditi correla con l'accumulo di amido evidenziato dalle osservazioni con colorazioni istologiche specifiche.

Oltre a ciò è stato analizzato il profilo trascrizionale del gene *psbA*, che codifica per una delle due proteine presenti al centro di reazione del fotosistema II (proteina D1 del fotosistema II). I risultati ottenuti (fig. 1D) mostrano che l'espressione di questo gene diminuisce nel tempo e, all'antesi, è più alta nei campioni di Leccino dove è presente una maggiore proporzione di fiori ermafroditi. Questo potrebbe indicare che lo sviluppo dei fiori necessita di nutrienti quali i carboidrati, anche se è noto che l'attività fotosintetica dei fiori non è sufficiente, da sola, ad assicurare il loro sviluppo. I risultati ottenuti sono in accordo con le osservazioni cito-istologiche che evidenziano, nella fase precoce, la presenza di trascritti psbA in tutte le porzioni del pistillo e del peduncolo, mentre all'antesi l'espressione è localizzata soprattutto nella parete dell'ovario e negli ovuli, e quindi solo nei fiori ermafroditi (Sgromo *et al.*, 2009). Questi risultati suggeriscono che i cloroplasti svolgono un ruolo attivo nel determinare il destino del fiore, forse non solamente legato alla funzione fotosintetica.

Infine i livelli di espressione del gene che codifica per l'*ATPasi* mitocondriale aumentano durante lo sviluppo del fiore e sono significativamente più elevati nei campioni di Leccino che presentano un elevato numero di fiori ermafroditi (fig. 1C). Anche in questo caso i risultati sono in accordo con analisi cito-istologiche che evidenziano che il gene che codifica per l'*ATPasi* è poco espresso in stadi precoci, mentre all'antesi l'espressione è localizzata prevalentemente nella parete dell'ovario e negli ovuli. L'espressione può essere evidenziata solo nei fiori ermafroditi e non nei fiori staminiferi, indicando che nei primi il fabbisogno energetico di ATP è elevato ed aumenta nel tempo, almeno fino all'antesi.

Al fine di individuare un repertorio più ampio di

geni espressi in modo differenziale sono state costruite due librerie sottrattive tra due tempi di sviluppo in fiori di Leccino. Sono state ottenute 1127 sequenze e, tra queste, 232 ESTs (*Expressed Sequenze Tag*) sono state sottoposte ad ulteriori analisi: 148 sequenze sono presenti una sola volta (*singleton*) mentre 84 sono *contigs* generati assemblando sequenze contigue o sovrapposte. La lunghezza media delle sequenze analizzate è di 842 bp e può variare da un valore minimo di 20 bp fino a 2952 bp. L'analisi BlastX, le analisi di *mapping* e annotazione in accordo con i termini dei vocabolari di Gene Ontology sono stati effettuati con il software Blast2GO. Le sequenze analizzate presentano un grado di similarità significativo con sequenze presenti nel genoma di diverse specie vegetali (fig. 2) quali *Vitis*, *Populus*, *Oryza*, *Arabidopsis* e *Ricinus*, ma non sono di *Olea europaea*. Questo indica che in queste librerie sono stati isolati geni di olivo mai caratterizzati precedentemente.

Circa il 70% delle sequenze sono state annotate ed è stato osservato che la libreria forward ha un grado di ridondanza molto superiore a quello della libreria reverse. Infatti la libreria ottenuta sottraendo il cDNA del campione al tempo di sviluppo più avanzato da quello precedente, contiene 14 ESTs non ridondanti che comprendono il 90% delle sequenze effettuate e questo indica che l'espressione di tali geni è fortemente regolati nelle condizioni esaminate. Per quanto riguarda l'annotazione rispetto ai vocabolari di Gene Ontology che si riferiscono ai processi biologici e alle funzioni molecolari sono stati trovati geni coinvolti nel metabolismo dei carboidrati, quali amido e saccarosio, fruttosio e mannosio, glicolisi/gluconeogenesi, nel metabolismo dei lipidi, nel metabolismo energetico, nel metabolismo di aminoacidi, nucleotidi, cofattori e vitamine, nella regolazione delle trascrizione, della traduzione e del turnover delle proteine, nella biosintesi di fenilpropanoidi, terpenoidi, steroidi e ormoni vegetali.

Conclusioni

In questo studio sono stati isolati e individuati geni la cui trascrizione è modulata durante lo sviluppo del fiore nelle due cultivar Leccino e Dolce Agogia, indicando una loro stretta relazione con gli accadimenti biologici che avvengono nel fiore di olivo durante il periodo esaminato. La differenza quantitativa di ciascun trascritto osservata tra le due cultivar indica che ciascun di essi è regolato diversamente, dando così credito all'ipotesi che il pathway dei carboidrati e quello energetico siano fortemente implicati nella regolazione dell'aborto dell'ovario. Il grande repertorio di geni isolati tramite le librerie sottrattive potrebbe dare un impulso notevole alla comprensione della regolazione dello sviluppo del fiore.

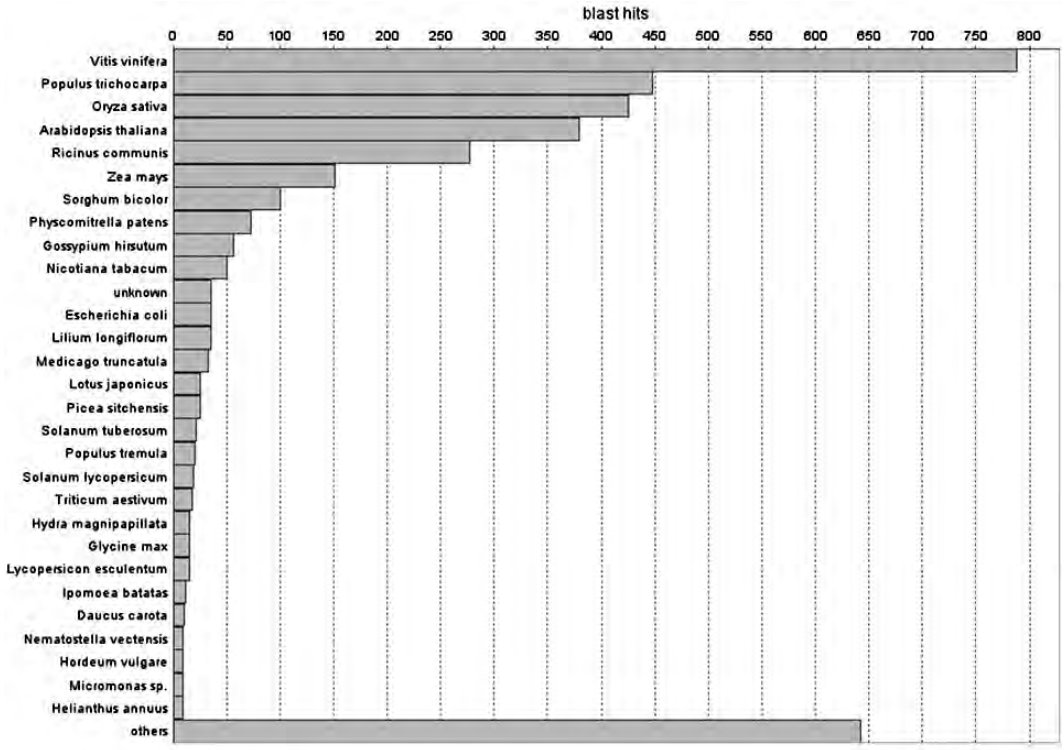


Fig. 2 - Distribuzione delle hits individuate con analisi BlastX nel database NCBI tra differenti specie vegetali ed organismi.
Fig. 2 - Distribution of BlastX hits in the nr NCBI database in different plant and organism species.

Riassunto

Al fine comprendere meglio le cause della elevata frequenza di aborto fiorale in olivo, sono stati individuati e studiati geni potenzialmente coinvolti nello sviluppo del fiore ed in particolare dell'ovario. L'analisi trascrizionale è stata effettuata su campioni appartenenti a due cultivar, Dolce Agogia e Leccino, ed i risultati mostrano che i trascritti corrispondenti ai geni che codificano per *saccarosio sintasi*, *glicosiltransferasi*, *psbA* e *ATPasi* mitocondriale potrebbero essere coinvolti nel fenomeno in esame. Infine, per individuare un repertorio più esteso di geni implicati nello sviluppo del fiore e nell'aborto dell'ovario, è stato impiegato un altro approccio sperimentale basato sulla tecnica della *suppressive subtractive hybridisation* (SSH) utilizzando campioni della cultivar Leccino a due tempi diversi di sviluppo.

Parole chiave: librerie sottrattive, sviluppo del fiore, analisi trascrizionale, Gene Ontology, aborto dell'ovario.

L'attività di ricerca è stata finanziata dalla Fondazione Anna Maria Catalano ONLUS (Roma), e dal MiUR PRIN prot. 2006053825 dal titolo"Indagini molecolari e fisiologici dello sviluppo del fiore".

Bibliografia

ALONI B, KARNI L., ZAIDMAN Z., SCHAFFER A.A., 1996. Annals of Botany 78: 163-168.

ANGENENT G.C., COLOMBO L., 1996. Trends in plant science 1(7): 228-232.

BAZZAZ F.A., CARLSON R.W., HARPER J.L., 1979. Nature 279: 554-555.

GALLA G., BARCACCIA G., RAMINA A., ALAGNA F., BALDONI L., CULTRERA N.G.M., MARTINELLI F., SEBASTIANI L., TONUTTI P., 2009. *Computational annotation of genes differentially expressed along olive fruit development.* BMC Biology in press

IGLESIAS D.J., TADEO F.R., PRIMO-MILLO E., TALON M., 2003. Tree Physiol 23: 199-204.

REALE L., SGROMO C., EDERLI L., PASQUALINI S., ORLANDI F., FORNACIARI M., FERRANTI F., ROMANO B., 2009. *Morphological and cytological development and starch accumulation in hermaphrodite and staminate flowers of olive* (Olea europaea *L.).* Sex Plant Reprod. 22: 109-119.

REALE L., SGROMO C., BONOFIGLIO T., ORLANDI F., FORNACIARI M., FERRANTI F., ROMANO B., 2006. Sex Plant Reprod 19: 151–161.

SGROMO C., COLAO C., REALE L., ORLANDI F., RUGINI E., FORNACIARI M., FERRANTI F., MULEO R., ROMANO B., 2009. *Isolation and expression analysis of organelle genes involved in the development of olive flowers (*Olea europaea *L.).* Plant Biosystems, submitted.

RODRIGO J., HORMAZA J.I., HERRERO M., 2000. Physiol Plant 108: 35-41.

YU T.S., LUE W.L., WANG S.M., CHEN J.C., 2000. Plant Physiol 123: 319-325.

Caratterizzazione e valutazione bio-agronomica di cultivar del germoplasma di olivo in Campania

Di Vaio C.[1*], Nocerino S.[1], Paduano A.[2], Sacchi R.[2]
[1] *Dipartimento di Arboricoltura, Botanica e Patologia vegetale, Università di Napoli "Federico II"*
[2] *Dipartimento di Scienza degli Alimenti, Università di Napoli "Federico II"*

Characterization and bio-agronomic evaluation of olive germplasm cultivars in Campania

Abstract. Olive cultivars from Campania, thanks to the region's pedo-climatic conditions and to its large varietal heritage, are able to produce oils with high typicity, each significantly different from the other. The aim of this study was to characterize 20 varieties belonging to Campania's gene pool, evaluating their vegetative and production aspects and the quality characteristics of their oils. The study was conducted from 2003 to 2008 in the germplasm field of the Improsta experimental farm at Eboli (SA). The following surveys were carried out on six plants per variety: entry into production, vigour, veraison, and oil content upon ripening. The following analyses were carried out on monovarietal oils, obtained by micro-extractor: acid composition, polyphenol content and aromatic profile. The agronomic results showed early entry into production for cv. Racioppella, Ortolana Biancolilla and Carpellese, but it was delayed for cvs. Ritonnella, Ortice, Cornia and Rotondella. As regards vegetative behaviour, cv. Aspirinia, for the province of Caserta, and cvs. Pisciottana and Carpellese, for Salerno, proved the most vigorous. Groups of similar cultivars emerged from the chemical and sensory analysis of the oils, while other accessions were well characterized and separated from each other, showing a high level of diversity and specificity.

Key word: olive, oil, germplasm, Campania.

Introduzione

Le varietà autoctone rappresentano la strategia di punta per la valorizzazione commerciale degli oli extravergini di oliva italiani. La Campania, grazie alla sua eterogeneità orografica e bioclimatica, vanta un ricco patrimonio genetico di olivo (Di Vaio, 2006; Pugliano, 2000), che ben si è adattato nel corso dei millenni ai differenti agro-ecosistemi. Questa importante fonte di biodiversità va salvaguardata e valorizzata per evitare il rischio di erosione genetica e per produrre oli notevolmente diversificati con spiccata tipicità organolettica (Sacchi *et al*., 1999). L'obiettivo del presente lavoro è quello di completare la caratterizzazione delle varietà più diffuse appartenenti al patrimonio genetico campano, valutandone sia gli aspetti vegetativi e produttivi che le caratteristiche chimiche e sensoriali degli oli.

Materiali e metodi

Lo studio è stato condotto, negli anni 2003-2008, presso il campo di germoplasma dell'azienda sperimentale "Improsta" della Regione Campania (Eboli, SA) ed ha interessato 20 cultivar autoctone di olivo, 4 della provincia di Avellino (Ravece, Ogliarola campana, Ritonnella e Ruveia), 5 della provincia di Benevento (Ortice, Ortolana, Pampagliosa, Femminella e Racioppella), 4 della provincia di Caserta (Asprinia, Caiazzana, Tenacella e Tonda) e 7 della provincia di Salerno (Biancolilla, Carpellese, Cornia, Oliva Bianca, Pisciottana, Rotondella e Salella) tutte allevate a monocono con un sesto di impianto di 6 x 5 m. Le piante, 6 per ogni varietà, sono state sottoposte ai seguenti rilievi: produzione per pianta; vigoria, mediante determinazione del volume della chioma e dell'area della sezione del tronco; evoluzione della maturazione, mediante la pigmentazione delle olive (Indice di Jaén 0-7) e il contenuto in olio delle drupe espresso in percento del peso fresco (metodo Soxhlet). Sui campioni di olio monovarietali, ottenuti mediante microleificazioni, sono state effettuate le seguenti determinazioni analitiche: composizione in acidi grassi (Christie, 1982); contenuto in polifenoli totali con metodo colorimetrico (Singleton e Rossi, 1965) e le caratteristiche sensoriali (Panel test, Reg CE 796/02). Tutti i risultati ottenuti sono stati sottoposti all'analisi della varianza (ANOVA) con il programma statistico XL-STAT e le medie valutate mediante il test di Duncan al 5%. Le variabili bio-agronomiche delle cultivar oggetto di studio sono state elaborate attraverso un'analisi delle componenti principali (PCA, *Principal Component Analysis*).

* divaio@unina.it

Risultati e discussione

Alla fine del sesto anno dall'impianto la produzione cumulata (fig. 1) indica chiaramente una più precoce entrata in fruttificazione della cultivar Carpellese (42,51 kg/pt) e Biancolilla (39,19 kg/pt) della provincia di Salerno, Ortolana (38,28 kg/pt) e Racioppella (37,73 kg/pt) per quella di Benevento. Le cultivar Rotondella (6,01 kg/pt), Ortice (8,20 kg/pt), Ritonnella (8,49 kg/pt) e Cornia (9,42 kg/pt), viceversa, sono risultate le cultivar più tardive nell'entrata in produzione.

Per quanto concerne il comportamento vegetativo espresso mediante l'area della sezione del tronco (fig. 2), l'Asprinia (168,82 cm^2) è risultata la più vigorosa, seguita dalla Carpellese (163,51 cm^2), Pisciottana (116,18 cm^2) e Tenacella (116,18 cm^2). Le cultivar caratterizzate da una vigoria più contenuta sono risultate la Pampagliosa (37,32 cm^2), l'Ortice (47,96 cm^2), Racioppella (47,98 cm^2) e la Ruveia (48,26 cm^2). L'area della sezione del tronco, inoltre, ha mostrato un'elevata correlazione positiva (R^2 = 0,98) con il volume della chioma delle piante.

Rapportando la produzione alla vigoria e quindi valutando le cultivar in termini di efficienza produtti-

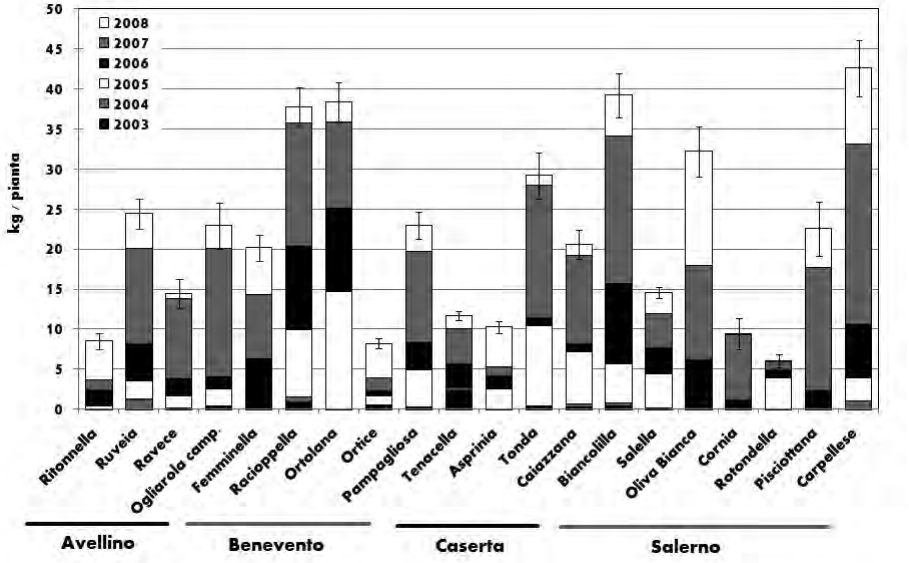


Fig. 1 - Produzioni annue e cumulate (kg/pianta) dei primi 6 anni dall'impianto (media ± errore standard).
Fig. 1 - Annual and cumulative plant production: (kg/plant) of the first six years after planting (mean ± standard error)

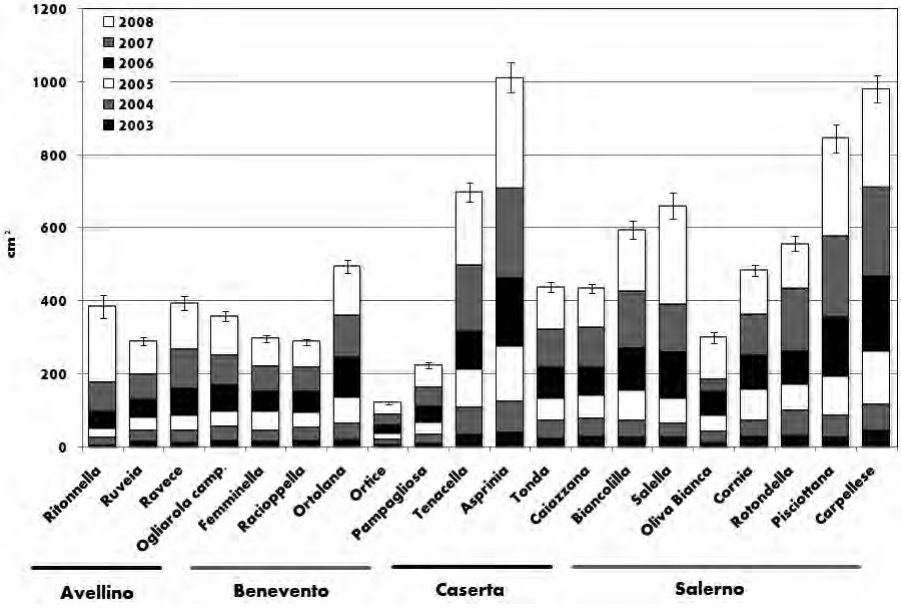


Fig. 2 - Incrementi dell'area della sezione del tronco (cm^2) dei primi 6 anni dall'impianto (media ± errore standard).
Fig. 2 - Increases in the trunk cross section area (cm^2) of the first six years after planting (mean ± standard error)

va cumulata (fig. 3) la Racioppella (0,71 kg/cm^2), l'Oliva Bianca (0,59 kg/cm^2) e la Pampagliosa (0,52 kg/cm^2) si sono dimostrate le più efficienti, mentre l'Asprinia (0,04 kg/cm^2), la Rotondella (0,07 kg/cm^2) e la Cornia (0,09 kg/cm^2) hanno mostrato un comportamento meno efficiente. Nella figura 4 è illustrata graficamente la relazione polinomiale (R^2 = 0,47), di tipo inverso, tra l'efficienza produttiva (kg/cm^2) e la vigoria delle piante, espressa quest'ultima con l'area della sezione del tronco.

Per quanto riguarda le dimensioni del frutto Ortolana (5,25 g), Ravece (4,56 g), Ortice (3,94 g) e Oliva Bianca (3,42 g) sono le cultivar con un peso medio della drupa maggiore, mentre Tenacella (1,19 g), Pisciottana (1,61 g) e Carpellese (2,06 g) si caratterizzano per un peso medio delle drupe molto inferiore, risultando meno idonee per la raccolta meccanica con scuotitori al tronco.

L'accumulo della sostanza grassa nelle drupe è oscillato da un massimo di resa per le cv Carpellese (21,84% p.f.), Oliva Bianca (21,25% p.f.) e Pisciottana (21,04% p,f,) a un minimo fatto registrare dalle cultivar Cornia (12,53% p.f.) e Caiazzana (13,65% p.f.) (fig. 5).

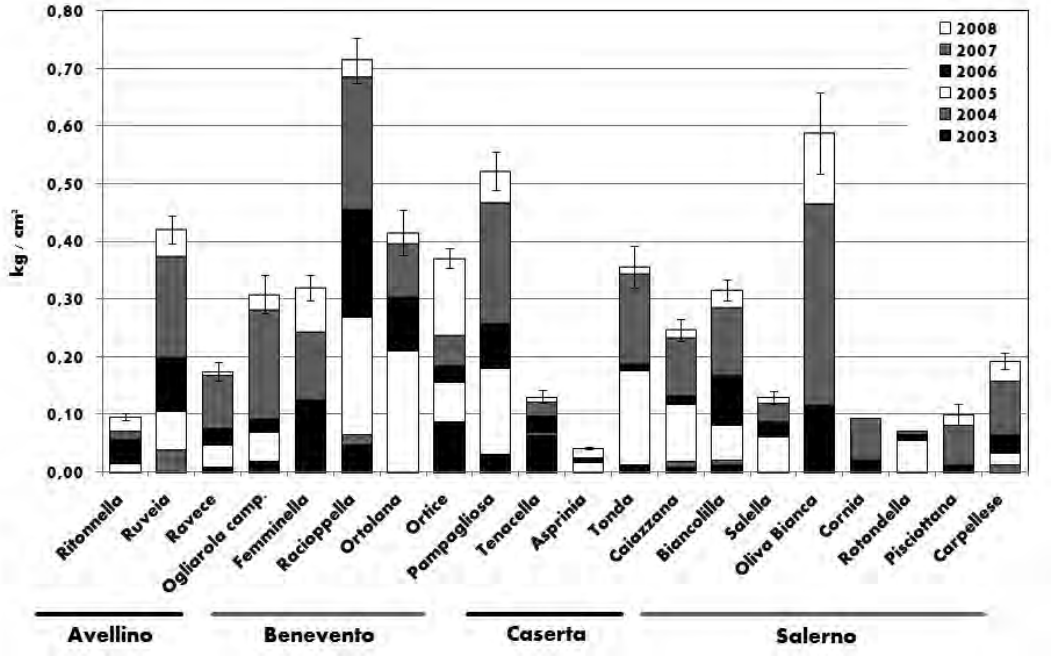


Fig. 3 - Indice di produttività annua e cumulata (kg/cm^2) dei primi 6 anni dall'impianto (media ± errore standard).
Fig. 3 - Annual and cumulative productivity index (kg/cm^2) of the first six years after planting (mean ± standard error).

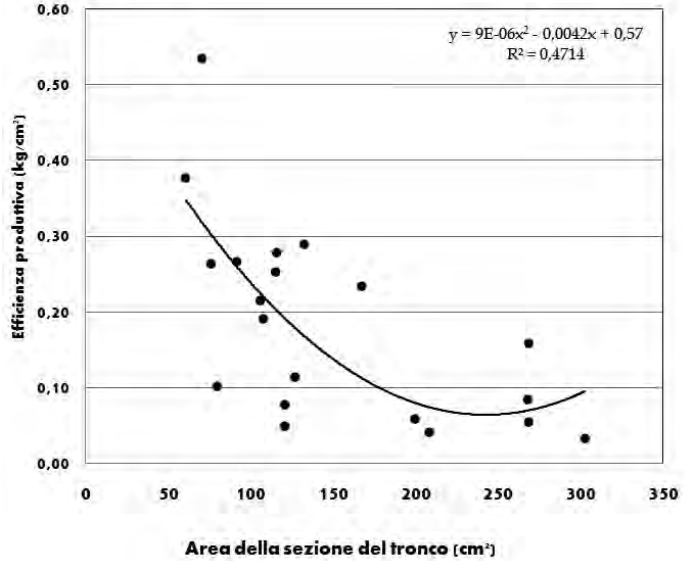


Fig. 4 - Relazione tra vigoria ed efficienza produttiva delle piante.
Fig. 4 - Relationship between plant vigor and yield efficiency

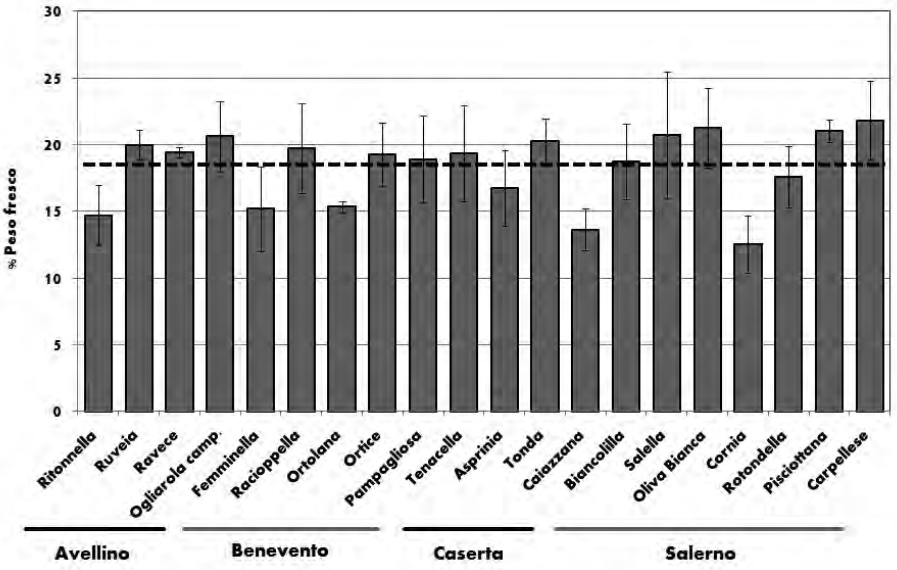
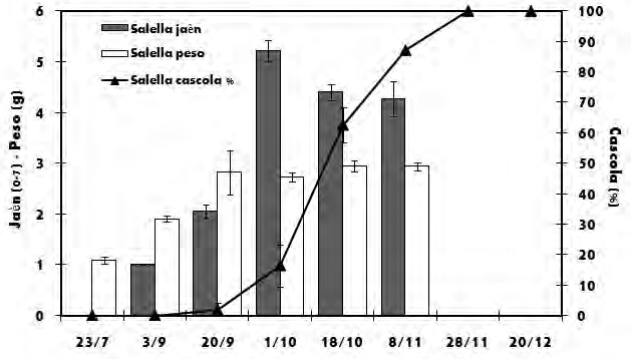
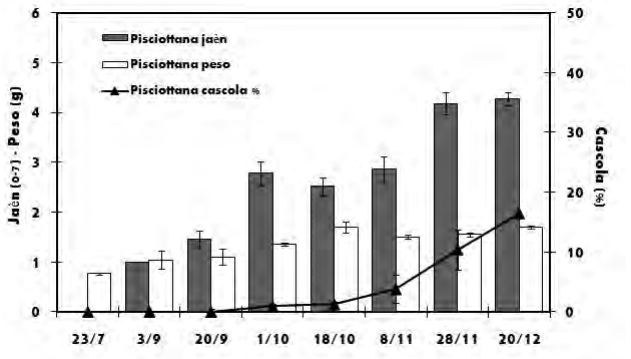


Fig. 5 - Contenuto in olio delle drupe alla raccolta per le 20 cultivar di olivo campane (media ± errore standard).
Fig. 5 - Drupe oil content at harvest for the 20 olive cultivars from Campania (mean ± standard error).

Le cultivar di olivo hanno mostrato modelli di maturazione e di pigmentazione differenti. Nelle figure 6 e 7 vengono rappresentate le relazioni tra il peso delle drupe, la colorazione dell'epicarpo e la cascola dei frutti nel corso della maturazione di due cultivar della provincia di Salerno, che hanno mostrato un comportamento molto diversificato. La cv Salella si caratterizza per un anticipo dell'epoca di maturazione rilevabile sia dall'indice di Jaen, che alla data del 1 ottobre era superiore a 5, e sia dall'incremento della cascola, che al rilievo del 15 ottobre, era ben al di sopra del 50% dei frutti. Tale comportamento è in netto contrasto con quello della cv Pisciottana, che, invece, mostra fenomeni di cascola, nello stesso periodo di rilevazione, compresi tra 0 e 10%, raggiungendo il valore massimo solo nella terza decade di dicembre (<20%). Per quest'ultima cultivar l'indice di Jaen risulta inferiore a 3 fino alla data dell'8 novembre e solo al rilievo del 28 novembre raggiunge il valore di 4, quindi la piena invaiatura.

L'analisi delle componenti principali (PCA) (fig. 8) effettuata su tutti i parametri vegetativi e produttivi evidenzia una chiara separazione tra le cultivar oggetto di studio, consentendo di raggruppare le cultivar con performance piuttosto simili. In particolare, si osserva un primo gruppo costituito dalle cv Ogliarola campana, Tonda, Biancolilla, Ruveia ed Oliva bianca che si caratterizzano per un'elevata produttività, a cui si contrappone un secondo gruppo, costituito dalle cv. Ritonnella, Cornia e Rotondella, con una bassa produttività. Un terzo gruppo di cultivar, Pisciottana, Salella e Tenacella, tende a raggrupparsi per un attività vegetativa superiore a tutte le altre. E' possibile, infine, identificare un quarto gruppo costituito da Ortice, Pampagliosa, Ortalana e Femminella, che si distingue per un più alto peso medio delle drupe.





Figg. 6 e 7 – Evoluzione della cascola dei frutti (%), del peso delle drupe e della colorazione dell'epicarpo (Indice di Jaen O-7) durante la maturazione delle cv. Salella e Pisciottana (media ± errore standard).
Figs. 6-7 - Evolution of fruit drop (%), drupe weight and skin color (Jaèn index 0-7) during the ripening of Salella and Pisciottana cv. (mean ± standard error).

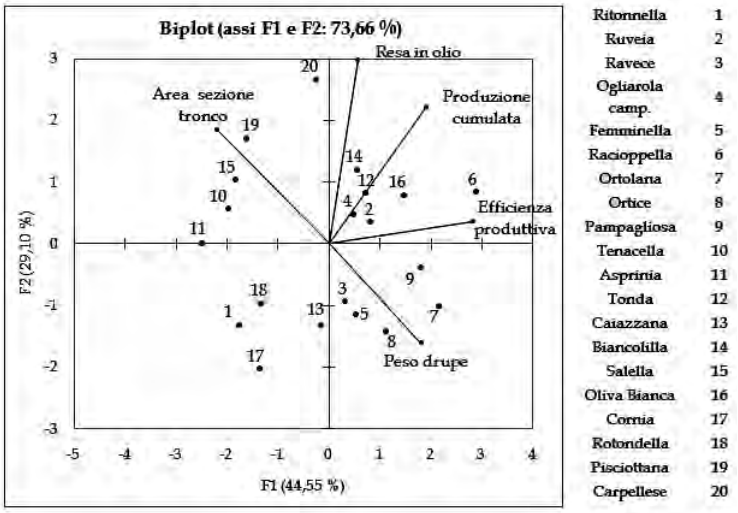


Fig. 8 - Analisi PCA (*Principal Component Analysis*) delle variabili bio-agronomiche relative alle cultivar oggetto di studio.
Fig. 8 - PCA (Principal Component Analysis) of bio-agronomic variables in relation to the cultivars studied.

Dall'analisi chimiche sulla composizione in acidi grassi degli oli monovarietali si riscontra un contenuto in acido oleico più alto delle cv Ortolana (76,91%) ed Ortice (68,79%) appartenenti alla provincia di Benevento e della Carpellese (68,71%) per quella di Salerno. L'olio della cv Racioppella, invece, si fa notare per il più basso contenuto in acido oleico (51,0%).

L'analisi sensoriale, eseguita da un Panel riconosciuto dal Mi.P.A.A.F. costituito da 12 assaggiatori esperti, ha permesso di descrivere il profilo sensoriale di ciascuna cultivar (Ambrosino *et al.*, 2003). Sono emersi, così, gruppi di oli dal profilo sensoriale simile, mentre altri oli sono risultati ben caratterizzati nelle loro percezioni organolettiche, mostrando un alto livello di diversità e specificità. Analizzando tali profili (fig. 9) si riscontrano oli dai profili sensoriali molto ricchi e complessi, come quello ottenuto dalla cv Ravece della provincia di Avellino, per il quale è possibile apprezzare elevati sentori di foglia, erba e pomodoro e dalla spiccata percezione di amaro e piccante, o oli da cultivar come la Salella, della provincia di Salerno, in cui predominano la percezione di dolce e di fruttato di oliva e leggere note gustative di amaro e piccante.

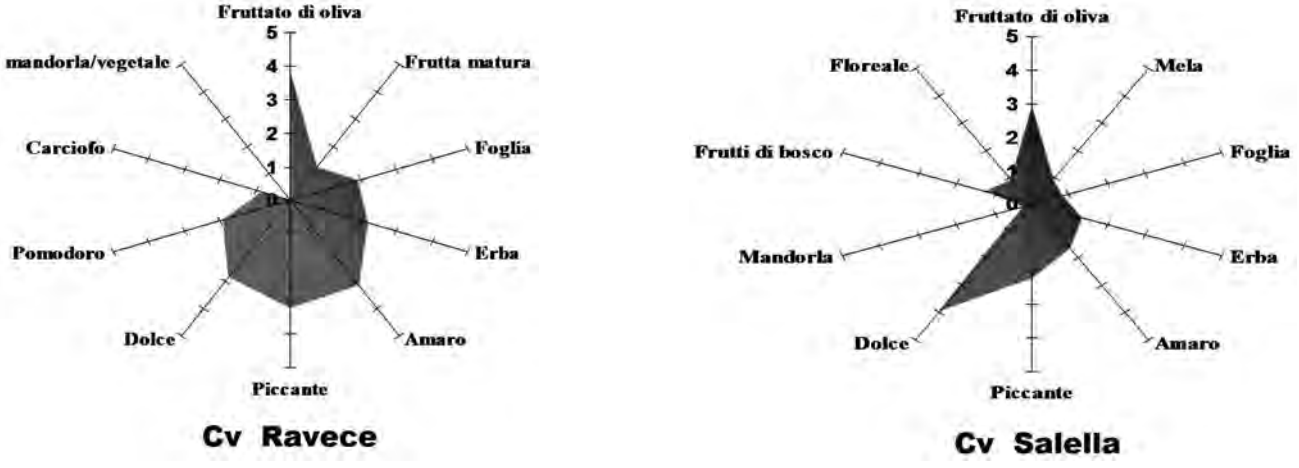


Fig. 9 - Confronto dei profili sensoriali degli oli delle cultivar Ravece e Salella appartenenti al germoplasma di olivo campano.
Fig. 9 - Comparison of sensory profiles of oils from cvs Ravece and Salella belonging to germplasm from Campania.

Ringraziamenti

Si ringraziano i tecnici Gennaro Acunzo e Giustino Bocchetti per la collaborazione prestata nei rilievi di campo e nelle analisi di laboratorio.

Riassunto

L'olivicoltura campana, sia grazie alle sue condizioni pedo-climatiche che all'ampio patrimonio varietale, è in grado di produrre oli di spiccata tipicità, notevolmente diversificati tra loro. L'obiettivo del lavoro è stato di caratterizzare 20 varietà appartenenti al patrimonio genetico campano, valutandone gli aspetti vegetativi e produttivi e le caratteristiche qualitative degli oli. Lo studio è stato condotto, negli anni 2003-2008, presso il campo di germoplasma dell'azienda sperimentale "Improsta" della Regione Campania (Eboli, Sa). Su 6 piante per varietà sono stati condotti i seguenti rilievi: entrata in produzione, vigoria, evoluzione della maturazione, mediante il grado di pigmentazione delle olive, contenuto in olio delle drupe. Sugli oli monovarietali, ottenuti mediante microestrattore, sono state condotte le seguenti analisi: composizione acidica, contenuto in polifenoli e profilo aromatico. I risultati agronomici hanno evidenziato un'entrata in produzione precoce per le cv Racioppella, Ortolana, Biancolilla e Carpellese, mentre è risultata ritardata per la cv Ritonnella, Ortice, Cornia e Rotondella. Circa il comportamento vegetativo la cv Asprinia per la provincia di Caserta e la Pisciottana e la Carpellese per quella di Salerno sono risultate le più vigorose. Dall'analisi chimiche e sensoriali degli oli sono emersi gruppi di cultivar affini, mentre altre accessioni sono risultate ben caratterizzate e separate tra di loro, mostrando un alto livello di diversità e specificità.

Parole chiave: olivo, olio, gemoplasma, Campania.

Lavoro eseguito con il contributo del Progetto RIOM "Ricerca ed Innovazioni per l'Olivicoltura Meridionale" e del Progetto OLVIVA "Qualificazione del Vivaismo. Caratterizzazione varietale, sanitaria ed innovazione nella tecnica vivaistica".

Bibliografia

AMBROSINO M., CONTE F., PADUANO A., SANSONE L., TERMINIELLO R., SACCHI R., 2003. *Gli oli di oliva monovarietali in Campania*. Regione Campania.

DI VAIO C., 2006. *Le cultivar di olivo autoctone della Campania: salvaguardia, valorizzazione e caratterizzazione*. Atti dell'Accademia dei Georgofili, VIII (3): 238-246.

CHRISTIE W.W., 1982. *Lipid Analysis*. 2nd Edition, Pergamon Press, Oxford (UK)

PUGLIANO G., 2000. *La risorsa genetica dell'olivo in Campania*. Regione Campania.

SACCHI R., AMBROSINO M. L., DELLA MEDAGLIA D., PADUANO A., SPAGNA MUSSO S., 1999. *Gli oli della Campania*. Regione Campania.

SINGLETON V.L, ROSSI J.A., 1965. *Colorimetry of total phenolic with phosphomolybcphotungstic acid reagent*. Am. J. Enology Viticulture, 16: 144-158.

Acta Italus Hortus 1: 105-108

Una banca dati genetica (SSR) per il germoplasma olivicolo dell'Emilia Romagna

Beghè D. [1], Patrizia Amendola A. [1], Ganino T.[1], Rotondi A.[2] e Fabbri A.[1]
[1]Dipartimento di Biologia Evolutiva e Funzionale, Sezione Biologia Vegetale e Orto Botanico, Università di Parma
[2]IBIMET-CNR, Bologna

Genetic database (SSR) for olive germplasm of Emilia Romagna region

Abstract. In a number of areas of the Emilia Romagna hill belt particular microclimate conditions exist such as to allow in the past the cultivation of the olive, of which a number of multisecular specimens still exists. In the last decade 275 ancient olive plants, growing in the Emilia and Romagna Apennin hills were located and described. Each accession was subjected to molecular characterization with a set of 10 SSR (Simple Sequence Repeat) markers. The markers have been utilized to evaluate the genetic variability of the studied plants, and the relationships existing with a number of national and european cultivars. From the results a high genetic diversity could be observed within the studied regional population, and 48 genotypes could be discriminated, of which 12 were identified as synonyms of national cultivars. The genetic profiles obtained with the SSR molecular markers were collected in a spreadsheet for the construction of a genetic Data Bank which includes all olive genetic profiles of Emilia-Romagna. The Data Bank was integrated with the genotypes of the most common national and international cultivars; it consequently represents an useful tool, both to evaluate new accessions eventually found in the Emilia-Romagna territory, and to compare the obtained data with those of other laboratories.

Key words: Olea europaea L., Microsatellites, cultivar identification, Database, Emilia Romagna.

Introduzione

L'olivo (*Olea europaea* L.) presenta un vastissimo patrimonio genetico, rappresentato da più di 1200 cultivar, da innumerevoli sinonimi ed omonimi e da "ecotipi" locali non ancora adeguatamente caratterizzati (Bartolini *et al.,* 2005). Proprio per questo elevato grado di biodiversità e per l'importanza che la specie ha assunto negli ultimi decenni in ambito economico, paesaggistico e salutistico, nella maggior parte dei Paesi olivicoli e non, sono stati intrapresi programmi atti da un lato all'identificazione e alla caratterizzazione del germoplasma esistente e dall'altro alla conservazione della diversità genetica.

La regione Emilia-Romagna situata nell'Italia settentrionale, per la sua posizione geografica e la sua storia presenta un germoplasma di particolare interesse. Nonostante, infatti, questa regione si configuri per gran parte della sua superficie come un'area assimilabile all'Italia padana, con un clima quindi continentale, lungo gli Appennini, microclimi particolarmente miti che hanno permesso la sopravvivenza di piante e ceppaie alcune delle quali plurisecolari (Ganino *et al.*, 2006a).

È nell'ottica della valorizzazione e della salvaguardia della biodiversità che è nata la necessità di avviare programmi di ricerca che portino al mantenimento del patrimonio genetico esistente.

Diverse tecniche sono state utilizzate allo scopo di identificare e caratterizzare cultivar di molte specie, come l'olivo (Ganino *et al.*, 2006b); tra queste la tecnica SSR si è dimostrata in grado di fornire marcatori molto affidabili e utili per l'identificazione varietale e per la tipizzazione genetica dell'olivo; i microsatelliti presentano, infatti, caratteristiche quali: alta trasferibilità, elevato polimorfismo e co-dominanza (Belaj *et al.*, 2003).

Inoltre, anche nel campo dell'olivo, come in quello di altre specie quali frumento, vite, pomodoro, sono state create Banche Dati di marcatori molecolari utili per l'identificare e la discriminazione delle cultivar; queste banche rappresentano un importante strumento per scienziati e vivaisti (Doveri *et al.*, 2008). La Banca Dati di Olivo consultabile on line "the Olive Database" (http://www.oleadb.eu) fornisce, per esempio, profili genetici di cultivar nazionali ed internazionali studiati da più equipe e con più tipi di marcatori molecolari. Non meno importanti sono Banche Dati di entità più circoscritte a comprensori più omogenei, come per esempio il database del germoplasma Istriano "Istrian olive database" (http://www.iptpo.hr/iod/index.php), che

risultano di grande utilità per la certificazione varietale e la tracciabilità di filiera.

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di valutare la variabilità genetica del germoplasma presente in Emilia Romagna mediante 10 marcatori SSR e di creare una Banca Dati Genetica del germoplasma emiliano-romagnolo di *Olea europaea* L.; database costituito dal profilo microsatellite di tutti i genotipi individuati nella regione ed integrato con quello dei genotipi delle cultivar nazionali ed internazionali più diffuse.

Materiali e metodi

Materiale vegetale ed estrazione del DNA

Lo studio, iniziato nel 2003, ha previsto la ricerca e la caratterizzazione di piante di olivo presenti da secoli lungo la fascia pedemontana dell'Appennino emiliano- romagnolo, più precisamente delle province di Piacenza, Parma, Reggio Emilia, Modena, Bologna, Ravenna, Rimini e Forlì-Cesena); attualmente, sono state individuate e censite 275 piante di olivo.

Al fine di ottenere un primo confronto con alcune varietà delle regioni limitrofe e valutare le relazioni intercorrenti con importanti varietà nazionali e di altri paesi europei, sono stati aggiunti alla caratterizzazione 67 genotipi nazionali e internazionali.

Il materiale relativo ai genotipi di olivo delle varietà nazionali ed internazionali è stato prelevato in parte dal campo collezione di Mirto-Crosia dell'Istituto Sperimentale per l'olivicoltura di Rende (Cosenza, IT), in parte dalla collezione di olivi del CNR-IBIMET di Bologna e in parte dal campo collezione di Salsomaggiore (Parma, IT), realizzato dall'Università di Parma. Il DNA genomico è stato estratto seguendo la metodologia CTAB (Belaj *et al*., 2001).

Amplificazione SSR e analisi dati

Tutta la popolazione individuata nel territorio è stata sottoposta a caratterizzazione mediante marcatori SSR. Per l'amplificazione del DNA sono state usate 10 coppie di primer SSR già utilizzate da altri Autori: DCA3, DCA4, DCA9, DCA16 e DCA18 (Self *et al.*, 2000), UDO24 e UDO43 (Marrazzo *et al.*, 2002) e GAPU59, GAPU101, GAPU103A (Carriero *et al.*, 2002). La reazione di amplificazione è stata effettuata in un volume di 25 ml contenente: 1x Tampone di Reazione (International PBI, Milano, IT), 1.5 mM $MgCl_2$ (International PBI, Milano, IT), 0.2 mM dNTPs (Amersham Biosciences), 0.2 mM primer (MWG Biotech, Ebersberg), 20 ng DNA genomico e 0.6 U di Taq polimerasi (International PBI, Milano, IT). La reazione di amplificazione è stata ottimizzata in thermal cycler MJ PCT 100 Research (Watertown, Mass.) programmando un primo passaggio a 95 °C per 5 minuti seguito da 30 cicli di 45 secondi a 94 °C, 45 secondi alla temperatura di annealing specifica per ogni coppia di primer, 45 secondi a 72 °C rispettivamente per la denaturazione, l'annealing e l'estensione del primer, al termine dei cicli sono stati effettuati 8 minuti di incubazione a 72 °C.

I prodotti di amplificazione sono stati separati mediante l'uso di sequenziatore CEQ 2000 Genetic Analysis System (Beckman Coulter, Inc.) su gel di acrilamide CEQ Separation Gel LPA-1 (Beckman Coulter, Inc.). I profili di corsa sono stati analizzati per confronto con un marker CEQ DNA Size Standard kit 400 (Beckman Coulter, Inc.).

La determinazione delle dimensioni alleliche in termini di paia basi (bp) è stata realizzata usando un approccio conservativo binning (Kirby,1990), mediante l'utilizzo del software statistico R (R Development Core Team, 2005).

La biodiversità della popolazione in studio è stata valutata in base al numero di alleli per locus all'interno della popolazione, alla frequenza allelica, alla percentuale di eterozigosi (H), sia osservata (H_o) che attesa (H_e). Tali valori sono stati ottenuti utilizzando il software Identity 1.0 (Wagner and Sefc, 1999).

L'analisi dei cluster e la costruzione del dendrogramma relativo alle distanze genetiche sono stati ottenuti mediante il metodo UPGMA (Unweighted Pair-Grop Method) e distanza di legame euclidea, mediante software Statistica 8.0 (StatSoft, Inc., 2007).

Costruzione del database

I risultati ottenuti mediante marcatori molecolari SSR sono stati raccolti in un foglio di calcolo per la costruzione di un database genetico che racchiude tutti i profili genetici di olivo presenti in Emilia – Romagna. La costruzione della banca dati è stata concepita in maniera semplice e intuitiva mediante l'utilizzo della funzione "filtro" nel software Microsoft Office Excel.

Risultati e discussione

L'analisi molecolare con microsatelliti si è rivelata un metodo altamente discriminante, i 10 oligonucleotidi appartenenti alla serie DCA, UDO e GAPU hanno prodotto frammenti di amplificazione polimorfici e riproducibili (tab. 1).

Il polimorfismo allelico ha permesso di discriminare i 342 individui analizzati (275 accessioni emiliano-romagnole e 67 cultivar nazionali ed internaziona-

Tab. 1 - Dimensione degli alleli (bp) individuati nell'analisi della popolazione relativa all'Emilia Romagna, numero di alleli amplificati per locus (N), frequenza allelica (f), eterozigosi osservata (H_0) e attesa (H_E). Le lettere indicano gli alleli per ogni locus. Sono indicati i valori di eterozigosi osservata (H_0) e attesa (H_E) relative alla popolazione totale (Emilia Romagna e cultivar nazionali e internazionali).

Tab. 1 - Size of alleles (bp) obtained from the analysis of Emilia-Romagna population, number of amplified alleles per locus (N), allele frequency (f), expected (H_E) and observed (H_0) heterozygosis. The underlined values for the same parameters make reference to total population (Emilia Romagna and national and international cultivars).

	Locus		Locus		Locus		Locus		Locus		Locus		Locus		Locus		Locus		Locus	
Allele	DCA 3	f	DCA 4	f	DCA 9	f	DCA 16	f	DCA 18	f	UDO 24	f	UDO 43	f	GAPU 59	f	GAPU 101	f	GAPU 103	f
a	232	0,196	132	0,416	156	0,001	125	0,009	163	0,001	168	0,050	171	0,005	203	0,001	186	0,153	134	0,001
b	237	0,155	134	0,227	163	0,209	127	0,189	171	0,003	174	0,137	175	0,019	209	0,373	191	0,187	138	0,104
c	239	0,054	142	0,032	173	0,081	148	0,074	173	0,120	180	0,104	177	0,110	213	0,532	193	0,075	152	0,115
d	243	0,245	153	0,005	183	0,146	151	0,351	177	0,449	182	0,160	179	0,379	219	0,001	198	0,014	162	0,153
e	245	0,027	163	0,009	185	0,059	155	0,120	179	0,203	184	0,010	191	0,034	223	0,090	200	0,211	164	0,149
f	249	0,120	166	0,245	187	0,025	157	0,137	181	0,037	186	0,001	203	0,001			202	0,193	166	0,003
g	253	0,200	189	0,063	193	0,001	173	0,005	185	0,182	188	0,532	211	0,005			204	0,001	168	0,005
h					195	0,106	176	0,111			191	0,001	214	0,108			207	0,050	174	0,048
i					197	0,003							216	0,135			219	0,111	176	0,229
l					199	0,001							218	0,144					179	0,012
m					201	0,003							220	0,048					181	0,001
n					205	0,025							223	0,007					183	0,001
o					207	0,305													185	0,001
p					209	0,021													187	0,007
q					211	0,007													189	0,158
r																			193	0,003
N.	7		7		15		8		7		8		12		5		9		16	
H_E		0,818		0,708		0,818		0,788		0,707		0,658		0,789		0,568		0,838		0,849
H_O		0,992		0,826		0,985		0,935		0,750		0,537		0,920		0,761		0,996		0,805
H_E		0,820		0,725		0,828		0,802		0,728		0,675		0,795		0,569		0,846		0,847
H_O		0,988		0,811		0,988		0,941		0,781		0,526		0,930		0,732		0,994		0,776

li) producendo un totale di 111 alleli, con un numero medio, per i loci indagati, pari a 11,1. Le frequenze alleliche sono variate tra 0,001 e 0,547 all'interno della popolazione totale analizzata. Relativamente alle sole accessioni dell'Emilia Romagna (275 individui), gli alleli prodotti sono stati 94, con un numero medio per i loci indagati pari a 9,4 e le frequenze alleliche sono variate tra 0,001 e 0,532.

I valori di eterozigosità (H_O e H_E) si sono mantenuti sempre maggiori di 0.5, non solo, come atteso, nella popolazione totale di 342 individui (popolazione eterogenea in quanto costituita da più cultivar provenienti da diverse aree italiane ed europee), ma anche nella popolazione emiliano-romagnola, evidenziando così una buona variabilità genetica nel germoplasma locale (tab. 1).

Le relazioni tra le accessioni in studio sono state studiate mediante cluster analysis (UPGMA) e attraverso l'analisi statistica è stato generato un dendrogramma da cui sono emerse delle differenze all'interno della popolazione in esame (dati non mostrati).

Per quanto riguarda il germoplasma emiliano-romagnolo i marcatori SSR hanno discriminato 48 genotipi e tra questi sono emersi 12 casi di sinonimia con cultivar nazionali inserite nell'analisi (Ascolana Tenera, Frantoio, Leccino, Maurino, Moraiolo, Grappuda - Arnasca, Ghiacciolo, Nostrana di Brisighella, Rossina - Selvatico, Carbuncion, Capolga e Santa Caterina). L'analisi con marcatori SSR ha permesso quindi di identificare come cultivar note il 51% della popolazione emiliano-romagnola presa in esame, mentre il 49% della popolazione non è stato identificato.

I risultati ottenuti mediante marcatori molecolari SSR sono stati raccolti in un foglio di calcolo per la costruzione di un database genetico che racchiude tutti i profili genetici di olivo presenti in Emilia – Romagna. Questo database è stato integrato con i genotipi delle cultivar nazionali ed internazionali più diffuse; esso rappresenta un elemento utile sia per il confronto di nuove accessioni individuate nel territorio dell'Emilia Romagna e sia per il confronto dei dati con altri laboratori di ricerca.

Il database contenente 275 individui presenti nella

regione Emilia – Romagna e analizzati con 10 microsatelliti, diventa quindi uno strumento indispensabile per la caratterizzazione di nuovi genotipi, per l'identificazione di genotipi ancora ignoti e per l'impostazione di eventuali programmi di miglioramento genetico.

Conclusioni

La caratterizzazione molecolare dell'olivo è una necessità irrinunciabile se si vuole salvaguardare il ricco patrimonio genetico che nei millenni questa specie ha saputo esprimere.

Lo studio ha permesso di ottenere informazioni sul genotipo di ognuna delle antiche accessioni rinvenute nel territorio emiliano-romagnolo. I risultati hanno mostrano una interessante variabilità genetica nel germoplasma in studio.

I profili genetici ottenuti mediante marcatori molecolari SSR sono stati raccolti in un foglio di calcolo per la costruzione di una banca dati genetica che racchiude tutti i profili genetici di olivo presenti in Emilia Romagna. L'importanza del database è direttamente correlata all'importanza che sempre più i dati molecolari assumono per la certificazione varietale, per la tracciabilità di filiera e per il miglioramento genetico. Il database dell'olivo in Emilia Romagna rappresenta quindi, l'elemento e/o il mezzo per far sì che tali informazioni non vengano perse, ma bensì vengano immagazzinate per poi essere sfruttate, gestite e/o trattate.

Riassunto

In ampie zone collinari dell'Emilia Romagna esistono particolari condizioni microclimatiche che hanno reso possibile la coltivazione di piante di olivo, molte delle quali risultano essere plurisecolari. Attualmente sono state individuate e censite 275 antiche piante di olivo lungo la fascia pedemontana dell'Appennino emiliano e romagnolo. Ognuna delle accessioni rinvenute nel territorio è stata sottoposta a caratterizzazione mediante l'utilizzo di 10 marcatori SSR *(Simple Sequence Repeat).* Tali marcatori sono stati utilizzati per valutare la variabilità genetica di queste piante e le relazioni intercorrenti con varietà nazionali e di altri paesi europei. Dai risultati ottenuti si è potuta osservare una elevata diversità genetica nella popolazione emiliano-romagnola in studio e si sono discriminati 48 genotipi di cui 12 sono stati identificati come sinonimi di cultivar nazionali. I profili genetici ottenuti mediante marcatori molecolari SSR sono stati raccolti in un foglio di calcolo per la costruzione di una Banca dati genetica che racchiude tutti i profili genetici di olivo presenti in Emilia–Romagna. Questa Banca dati è stata integrata con i genotipi delle cultivar nazionali ed internazionali più diffuse, rappresentando così un elemento utile sia per il confronto di nuove accessioni individuate nel territorio dell'Emilia Romagna e sia per il confronto dei dati con altri laboratori di ricerca.

Parole chiave: *Olea europaea* L., Microsatelliti, identificazione varietale, Banca dati, Emilia Romagna.

Bibliografia

BARTOLINI G ., PREVOST G ., MESSERI C., CARIGNANI G. (2005).*Olive germplasm cultivar and word-wide collections.* FAO: http://www.apps3.fao.org/wiews/olive/oliv.jsp

BELAJ A., SATOVIC Z., CIPRIANI G., BALDONI L., TESTOLIN R., RALLO L., TRUJILLO I., 2003. *Comparative study of the discriminating capacity of RAPD, AFLP and SSR markers and of their effectiveness in establishing genetic relationships in olive.* Theor. and Appl. Genet., 107: 736-744.

BELAJ A., TRUJILLO I., ROSA R.D.L., RALLO L., 2001. *Polymorphism and discrimination capacity of randomly amplified polymorphic markers in an olive germplasm bank.* J Amer Soc Hort Sci, 126:64-71.

CARRIERO F., FONTANAZZA G., CELLINI F., GIORIO G., 2002. *Identification of simple sequence repeats (SSRs) in olive (Olea europaea L.).* Theor. Appl. Genet. 104:301-307.

DOVERI S., SABINO GIL F., DÍAZ A., REALE S., BUSCONI M., DA CÂMARA MACHADO A., MARTÍN A., FOGHER C., DONINI P., LEE D., 2008. *Standardization of a set of microsatellite markers for use in cultivar identification studies in olive (Olea europaea L.).* Sci Hort., 116:367-373.

GANINO T., BEGHÈ D., NISI R., FABBRI A., 2006a. *Provenance of Olea europaea L. germplasm of Emilia*. Proceedings in Olivebioteq 2006 Second International Seminar "Biotechnology and quality of olive tree products around the mediterranean basin" 5-10 november 2006, Marsala-Mazzara del Vallo, Italy, 1: 77-85.

GANINO T., BARTOLINI G., FABBRI A., 2006b. *The classification of olive germplasm - A review.* J Hortic Sci Biotech, 81:317-334.

KIRBY L.T., 1990. *DNA fingerprinting. An introduction*. Stockton Press, New York.

MARRAZZO T., CIPRIANI G., MARCONI R., CIMATO A., TESTOLIN R., 2002. Isolation and characterisation of microsatellite DNA in Olive (*Olea europaea* L.). Acta Hort., 586:61-64.

R DEVELOPMENT CORE TEAM 2005 R: *A language and environment for statistical computing. R* Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. http://www.R-project.org.

SEFC K.M., LOPES M.S., MENDONÇA D., RODRIGUES DOS SANTOS M., LAIMER DA CÂMARA MACHADO M. AND DA CÂMARA MACHADO A., 2000. *Identification of microsatellite loci in olive (Olea europaea) and their characterization in Italian and Iberian olive trees*. Mol. Ecol., 9:1171-1173.

STATSOFT, INC., 2007. STATISTICA (data analysis software system), version 8.0. www.statsoft.com.

WAGNER H.W., SEFC K.M., (1999) *Identity 1.0: freeware program for the analysis of microsatellite data*. Vienna. http://www.boku.ac.at/zag/forsch/identity.htm

Selezione di sequenze EST ed identificazione di geni diversamente espressi in olivo a seguito dell'attacco della mosca *Bactrocera oleae*

Varricchio P.[1], Imperato A.[1], Corrado G.[1], Alagna F.[1], Baldoni L.[2] e Rao R.[1*]
[1]Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta, dell'Ambiente e delle Produzioni Animali, Università di Napoli "Federico II"
[2]Istituto di Genetica Vegetale, CNR, Perugia

Selection and identification of up-regulated genes in olive fruits under *Bactrocera oleae* attack

Abstract. The olive fruit fly Bactrocera oleae (Rossi) is a serious pest of olive in most of the countries around the Mediterranean Basin, where it causes significant yield losses. To gain insight into molecular mechanisms involved in olive defence response to olive fly, we have constructed a SSH (Suppression Subtractive Hybridisation) cDNA library from infested fruits of 'Moraiolo' cultivar. Sequence analysis of 219 expressed sequence tags (ESTs) indicated that 48% of the ESTs could be classified into putative known functions. ESTs with functions typically involved in stress response were analyzed by Real Time PCR. The rapid amplification of cDNA ends (RACE) was performed for a subset of interesting genes both to obtain full-length cDNA not yet available in public databases and to confirm their putative functions. To our knowledge, our study reports the first expression analysis of genes up-regulated under olive fruit fly attack, an initial step towards the understanding of the molecular basis of olive fruit - B. oleae interaction.

Key words: Olea europea, SSH-PCR Select, defence genes, insects.

Introduzione

La mosca *Bactrocera oleae* (Rossi), il fitofago chiave dell'ecosistema olivo, e' strettamente associata al genere *Olea* e causa notevoli danni economici nei diversi areali olivicoli dei paesi del bacino del Mediterraneo. I danni provocati dalla mosca risultano essere diretti o indiretti. I danni diretti sono causati dall'infestazione attiva, che consiste nella distruzione della polpa con conseguente cascola precoce. I danni indiretti sono causati dalle infestazioni batteriche e fungine, responsabili di significative alterazioni dei parametri qualitativi dell'olio d'oliva, come l'aumento dell'acidità libera e numero di perossidi, alterazione della frazione sterolica, riduzione delle capacità antiossidanti, in conseguenza della riduzione del contenuto in polifenoli (Iannotta *et al*., 2007).

Il *management* della mosca dell'olivo diventa sempre più importante a causa delle perdite economiche da essa provocate. Nell'ambito della lotta agronomica, oggi si tende ad utilizzare pratiche colturali (potature mirate, raccolta anticipata etc.), capaci di ridimensionare l'uso di fitofarmaci. Fra i mezzi agronomici di difesa, esiste la possibilità di scegliere le cv di olivo in base non solo alle loro capacità di rispondere a diverse esigenze legate alla produttività, ma anche in base alla bassa suscettibilità nei confronti dei parassiti. Esiste una differente capacità delle cv di olivo di rispondere alla mosca, in base all'incidenza dell'entità del danno a parità di condizioni ambientali e agronomiche di coltivazione. Le possibili cause che determinano la suscettibilità o resistenza alla mosca non sono state ancora chiarite. E' noto che esistono delle caratteristiche fisiche (spessore o colorazione dell'epicarpo) o chimiche (quantità di oleuropeina o cianidina) associate alla bassa suscettibilità alla mosca esibita da alcune varietà (Iannotta *et al*., 1999). Si ritiene che il livello di suscettibilità esibito dalle cv di olivo alla mosca, dipenda sia dalla disponibilità dell'oleuropeina ad essere degradata dall'enzima β-glucosidasi che dall'efficienza dell'enzima. Ad esempio, una quantità cospicua di oleuropeina (30mg/g di polpa alla raccolta) risulta avere una significativa azione inibitoria, esibita dai metaboliti volatili che derivano dalla sua degradazione, nei confronti del ciclo biologico del dittero durante lo stadio di preimmagine (Iannotta *et al*., 2007). E' stato inoltre, osservato che il contenuto di cianidina, responsabile della colorazione più o meno anticipata delle drupe, presenta un'azione repellente cromatica, confondendo la femmina adulta nel riconoscimento della drupa in cui ovideporre. Sembra, infatti, che le olive verdi siano più infestate di quelle marroni (Rizzo *et al* 2006). Diversi studi sono stati condotti sulla correlazione positiva fra dimensione della drupa e preferenza di ovideposizione della femmina adulta. Questa relazione, che è stata confermata negli studi condotti in campo (Burrack e Zalom, 2008; Iannotta *et al*., 1999), sembra essere meno chiara per

* rao@unina.it

quelli condotti in condizioni controllate di laboratorio, effettuati mediante l'uso di uno o pochi individui (Kombargi *et al*., 1998). Le varietà di olivo da tavola forniscono frutti la cui pezzatura maggiore consente una migliore sopravvivenza delle larve. Ciononostante le cultivar da olio, con drupe di minor pezzatura, sono comunque ospiti eccellenti per la mosca. Anche la durezza del frutto, sembra influenzare la scelta delle drupe in cui ovideporre. Esiste infatti una correlazione negativa fra durezza e infestazione (Burrack e Zalom, 2008).

Nonostante il panorama varietale italiano sia ricco e diversificato, non molto si sa sulla risposta molecolare della pianta di olivo alla mosca *B. oleae*. E' noto che durante il processo di interazione tra la pianta e gli organismi dannosi, si attivano una serie di geni coinvolti nei meccanismi di difesa. Studiare la variazione dei trascritti e caratterizzarne il loro ruolo può chiarire le basi del complesso meccanismo molecolare della risposta della pianta all'attacco della mosca. Considerando le scarsissime informazioni disponibili sul genoma dell'olivo, un'utile approccio sperimentale per lo studio delle risposte della drupa alla infestazione della mosca è rappresentato dalla tecnica SSH (*Suppression Subtractive Hybridization*). Nel nostro lavoro abbiamo identificato sequenze EST e geni diversamente espressi nella drupa infestata della cultivar 'Moraiolo'.

Materiali e metodi

E' stata costruita una libreria, sottraendo il cDNA preparato a partire da drupe sane al cDNA ottenuto da drupe attaccate della varietà 'Moraiolo'. Tale tecnica consente di comparare due popolazioni di trascritti, il *driver* (tessuti di piante sane) ed il *tester* (tessuti vegetali di piante attaccate) ed ottenere una libreria sottrattiva di EST espresse in una popolazione (*tester*) piuttosto che nell'altra (*driver*). L'RNA totale è stato isolato dalle drupe come descritto nel kit RNeasy plant Mini kit (QIAGEN, USA) ed il cDNA ds è stato preparato seguendo quanto descritto nel kit "Clontech PCR-SelectTM cDNA substraction kit" (BD Biosciences Clontech, USA). I trascritti sottratti e amplificati, sono stati poi clonati utilizzando il vettore plasmidico pCRII-TOPO® (TOPO TA Cloning, Invitrogen). Il DNA plasmidico, purificato dalle colonie positive alla selezione *blue/white,* è stato digerito con l'enzima EcoRI e sequenziato mediante il metodo Sanger. Le sequenze dei trascritti sottratti sono state analizzate mediante Blast della banca dati NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) ed Expasy Proteomic Server (Gasteiger *et al*., 2003). Le sequenze sono state assemblate in cluster di contigui, mediante il software CAP3 (Huang e Madan, 1999); le sequenze non formanti contigui sono state considerate singoletti. L'annotazione funzionale è stata eseguita utilizzando il software Blast2GO (Conesa e Gotz, 2007). La validazione dell'alterata espressione (drupe sane rispetto alle drupe attaccate) dei trascritti funzionalmente più interessanti, è stata eseguita mediante Real-Time PCR (Corrado *et al*., 2007). Tre geni sovraespressi nelle drupe attaccate, sia della cv 'Moraiolo' che 'Leccino', sono stati sottoposti a 3' e 5' RACE (kit, Invitrogen), per completare le parziali cds (*Coding DNA Sequence)*. I prodotti RACE, ottenuti sono stati clonati nel vettore pGEM-Teasy (Promega) ed i cloni positivi alla digestione con EcoRI, sono stati sequenziati, mediante il metodo Sanger.

Risultati e discussione

Ai fini di identificare EST differenzialmente espresse coinvolte nel meccanismo di interazione olivo-mosca, si è impiegata la tecnica SSH (*Suppression Subtractive Hybridization*). Duecentodiciannove cloni, aventi un inserto maggiore di 200 bp, sono stati sequenziati. La dimensione massima dell'inserto è risultata essere di 920 bp, quella media di 371 bp. Per assegnare una putativa funzione ai diversi trascritti, è stata effettuata l'analisi di similarità locale, eseguita per confronto della "*query sequence*" di ciascun trascritto, con la sequenza bersaglio, ovvero con le sequenze non ridondanti della banca dati di NCBI mediante l'algoritmo di allineamento locale tblastx. Circa il 70% dei trascritti ha mostrato un *e-value* significativo (<0,001). Dall'analisi bioinformatica effettuata, è emerso che 113 trascritti risultano avere similarità locale con trascritti di proteine depositate in banca dati. In tabella 1 è riportata la distribuzione del numero di sequenze EST, considerando le prime 30 hit, ottenute per confronto della *query-sequence* di ciascun trascritto con le sequenze bersaglio della banca dati.

La specie di gran lunga più rappresentata è la *Vitis vinifera*. Soltanto tredicesima si posiziona l'*Olea europea*, a dimostrazione che ancora poche sono le sequenze nucleotidiche depositate in banca dati (ca 1.400). La scarsità delle informazioni sul genoma olivo potrebbe essere uno dei motivi per cui soltanto il 48% delle sequenze EST sono state annotate funzionalmente nelle diverse categorie (Processo biologico, Funzione molecolare, Componente cellulare), in accordo con il consorzio Gene Ontology. In tabella 2 si riporta la distribuzione percentuale dei trascritti annotati, in accordo alla specifica funzione molecolare.

Tab. 1 - Distribuzione del numero di sequenze delle specie vegetali, per le prime 30 hit, ottenute per ciascun trascritto per confronto, mediante l'algoritmo di allineamento locale tblastx, della *query sequence* contro le sequenze presenti nella banca dati NCBI (*Viridiplantae*).
*Tab. 1 - Species distribution of the first 30 hits for each transcript analysed by tBlastx against all sequences of NCBI data bank (*Viridiplantae*).*

Specie	blast hits	Specie	blast hits
Vitis vinifera	432	*Malus x*	432
Oryza sativa	166	*Plantago major*	166
Populus trichocarpa	164	*Populus tremula*	164
Arabidopsis thaliana	154	*Hordeum vulgare*	154
Zea mays	108	*Digitalis lanata*	108
Ricinus communis	100	*Glycine max*	100
Picea sitchensis	47	*Solanum tuberosum*	47
Medicago truncatula	37	*Rosa hybrid*	37
Prunus dulcis	35	*Rauvolfia serpentina*	35
Sconosciuta	31	*Tamarix hispida*	31
Lucaena leucocefala	26	*Catharanthus roseus*	26
Pisum sativum	26	*Brassica rapa*	26
Physicomitrella patens	23	*Capsicum annuum*	23
Olea europea	23	*Salvia miltiorrhiza*	23
Nicotiana tabacum	21	*altre (meno di 4 hit)*	21

Tab. 2 - Distribuzione percentuale delle sequenze EST classificate in diverse categorie di funzione molecolare in accordo con il consorzio Gene Ontology.
Tab. 2 - The percentage of ESTs' distribution according to specific annotation of the Gene Ontology database.

Funzioni molecolari	Specie	blast hits
F: hydrolase activity, hydrolyzing O-glycosyl compounds	22	28
F: cation binding	21	26
F: protein binding	4	5
F: transmembrane receptor activity	3	4
F: nucleoside -triphosphatase activity	3	4
F: ATP binding	3	4
F: metal ion binding	3	4
F: ubiquitin -protein ligase activity	3	4
F: magnesium ion binding	3	4
F: lipid binding	2	3
F: protein disulfide oxidoreductase activity	2	3
F: iron ion binding	2	3
F: electron carrier activity	2	3
F: nucleotide diphodphatase activity	1	1
F: acyltransferase activity	1	1
F: endopectidase activity	1	1
F: ATP ase activity	1	1
F: gluthathione transferase activity	1	1
F: caffeoyl-CoA-O-activity	1	1
F: manganase ion activity	1	1

La funzione molecolare delle sequenze EST sottolinea la complessità della risposta molecolare dell'olivo alla mosca. Tale risposta comporta un'alterazione delle vie primarie e secondarie del metabolismo. Sulla base dei risultati ottenuti dall'analisi bioinformatica, sono stati selezionati i trascritti più interessanti, perché putativamente coinvolti nella risposta di difesa delle piante agli stress biotici. Pertanto, per dieci trascritti è stata effettuata l'analisi di espressione mediante Real Time PCR, al fine di validare la diffe-

rente espressione tra le drupe attaccate e drupe non attaccate della cv 'Moraiolo'. Il livello dei trascritti risulta essere più alto nelle drupe attaccate (galleria larvale) rispetto a quelle sane, indicando che i trascritti identificati appartengono a geni che sono sovraespressi. Si è pensato di valutare l'espressione relativa di tre trascritti, che hanno mostrato la maggiore espressione, anche in un'altra varietà di olivo ('Leccino'), in due stadi di attacco differenti (drupe punte e drupe con galleria larvale) rispetto alle drupe sane. Risulta confermata la sovraespressione dei tre trascritti nei due stadi di attacco rispetto alle drupe non attaccate. Inoltre la sovraespressione dei trascritti analizzati, è maggiore nella cv 'Leccino' rispetto alla cv 'Moraiolo' in risposta all'attacco della mosca. Sulla base dei risultati ottenuti, si è ritenuto interessante anche valutare l'espressione costitutiva dei tre trascritti nelle drupe non attaccate delle cv 'Moraiolo' e 'Leccino', che è risultata essere più elevata nella cv 'Moraiolo' rispetto alla cv 'Leccino'. In base ai risultati ottenuti dall'analisi di espressione, si è pensato di procedere con il *recovery* dei cDNA dei tre geni studiati indotti dall'attacco della mosca. Pertanto è stata effettuata la 3' e 5' RACE PCR ottenendo un cDNA *full lenght* per due geni sovraespressi. Le sequenze aminoacidiche dei due geni, rispettivamente di 229 e 268 aa, sono state sottoposte ad analisi di similarità locale per confronto con le sequenze proteiche della banca dati, evidenziando la presenza di un dominio conservato, che ne ha confermato la putativa funzione e l'appartenenza alla specifica famiglia proteica.

Conclusioni

La risposta molecolare dell'olivo all'attacco della mosca è complessa e coinvolge numerose e differenti funzioni molecolari. L'identificazione di geni coinvolti nella risposta all'attacco della mosca rappresenta il primo passo per comprendere le funzioni di difesa attivate nell'*Olea europea* da questo insetto dannoso. Sarà necessario identificare e caratterizzare un più ampio set di geni di difesa della pianta di olivo e confrontarne l' espressione in varietà con diversa suscettibilità alla mosca. Se le conoscenze genomiche su questa specie saranno incrementate, come è auspicabile che accada in tempi brevi, si può ipotizzare che, in un futuro non troppo lontano, l'analisi di espressione di specifici trascritti potrà rappresentare uno strumento, per identificare e selezionare genotipi con livelli superiori di tolleranza alla mosca.

Riassunto

La mosca *Bactrocera oleae* (Rossi) è il più importante stress biotico dell'olivo, responsabile di numerosi danni alle produzioni nei paesi del Bacino del Mediterraneo. Per identificare e caratterizzare geni diversamente espressi in risposta alla mosca, è stata costruita una libreria sottrattiva mediante la metodica SSH (*Suppression Subtractive Hybridization*). Tra i 590 cloni della libreria, ne sono stati sequenziati 219 aventi un inserto di dimensioni maggiori di 200 bp. Le sequenze dei trascritti sono state annotate funzionalmente in accordo con il consorzio Gene Ontology. La validazione dell'espressione differenziale dei trascritti funzionalmente più interessanti è stata eseguita mediante Real-Time PCR. Per ottenere i trascritti *full-lenght* de geni indotti dall'attacco della mosca, è stata eseguita la RACE-PCR. Data la scarsa conoscenza sulle basi molecolari delle risposte di difesa dell'olivo, tale studio ha permesso di identificare i primi geni di olivo omologhi a quelli notoriamente coinvolti nella difesa delle piante contro insetti e funghi fitofagi.

Parole chiave: *Olea europea*, SSH-PCR Select, resistenza ad insetti.

Bibliografia

BURRACK H.J., ZALOM F., 2008. *Olive fruit fly (Diptera:* Tephritidae*) ovipositional preference and larval performance in several commercially important olive varieties in California*. Journal of Economic Entomology 3: 750-758.

CONESA A., GOTZ S., 2007. *Blast2GO: A Comprehensive suite for functional analysis in plant genomics*. International Journal of Plant –Genomics. 2008, 1-13.

CORRADO G., SASSO R., PASQUARIELLO M., IODICE L., CARRETTA A., CASCONE P., ARIATI L., DIGILIO M.C., GUERRIERI E., RAO R., 2007. *Systemin regulates both systemic and volatile signalling in tomato plants*. J. Chem. Ecol. 33(4): 669-681.

GASTEIGER E., GATTIKER A., HOOGLAND C., IVANYI I., APPEL D. R., BAIROCH A., 2003. *ExPASy: the proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis*. Nucleic Acids Research, 31(13): 3784-3788.

HUANG X., MADAN A., 1999. *CAP3: A DNA sequence assembly program*. Genome Res. 9 (9): 868-877.

IANNOTTA N., NOCE M.E., RIPA V., SCALERCIO S., VIZZARRI V., 2007. *Assessment of susceptibility of olive cultivar to the* Bactrocera oleae *(Gmelin, 1790) and* Camarosporium dalmaticum *(Thum.) Zachos & Tzav-Klon. Attacks in Calabria (Southern Italy)*. Journal of Environmental Science and Health, 42: 789-793

IANNOTTA N., PERRI L., TOCCI C., ZAFFINA F., 1999b. *The behaviour of different olive cultivars following attacks by* Bacrtocera oleae *(Gmel.).* Acta Hort. 472: 545-548.

KOMBORAGI W.S., MICHELAKIS S.E., PETRAKIS C.A., 1998. *Effect of olive surface waxes on oviposition by* Bactrocera oleae *(Gmel.)*. J. Economic Entomology. 91: 993-998.

RIZZO R., CALECA V., 2006. *Resistance to the attack of* Bactrocera oleae *(Gmelin) of some Sicilian olive cultivars*. Olivebiotech 2006- Mazara del Vallo, Marsala. 2: 35-42.

Acta Italus Hortus 1: 113-116

Produzione di somacloni da cultivar di olivo e prime osservazioni in campo

Mencuccini M. *
CNR ISAFOM, Sezione di Perugia

Somaclons production from olive cultivar and first observations in field

Abstract. Somatic embryos of olive (Olea europaea L.) cv. Moraiolo was obtained from embryogenic callus derived from axillary shoots (10 days) picked up by explants micropropagated in vitro. The embryogenic callus were cultured on substrate modified OMe and when somatic embryos germination and plantlet conversion were observed, somatic embryos were grown on OMM medium with 2 mg/l of zeatin. Plantlets produced from somatic embryos (eight somaclonal lines) were before established in vivo in greenhouse and after transferred in the field to determine agronomic characteristics. The somatic olive plants showed different developmental behaviour. These morphological variations include plant height, number of flowers and number of fruits.

Key words: Olea europaea L., somatic embriogenesis, field performance, cv Moraiolo.

Introduzione

Da alcuni anni esiste la possibilità di ottenere, da specifici tessuti di alcune cultivar di olivo micropropagate *in vitro*, la rigenerazione di individui o per organogenesi (Mencuccini e Rugini 1993) o per embriogenesi somatica (Rugini e Caricato 1995; Mencuccini e Dell'Orco 2000). La possibilità di ottenere embrioni somatici da cultivar di olivo ha aperto nuove prospettive nell'ambito della propagazione e del miglioramento genetico. La rigenerazione di embrioni somatici direttamente dai tessuti o indirettamente, cioè mediata da callo, può portare alla formazione di somacloni che presentano variabilità morfologiche e fisiologiche rispetto al genotipo di origine. Per l'olivo sono riportati lavori con osservazioni in campo di piante provenienti da embrioni somatici rigenerati da cotiledoni (Leva e Petruccioli 2007). Il presente lavoro riporta le prime osservazioni ed i primi dati sul comportamento in campo di piante ottenute da embrioni somatici differenziati da tessuti di una cultivar olivo (cv Moraiolo).

* m.mencuccini@isafom.cnr.it

Materiali e metodi

Rigenerazione e crescita di embrioni somatici

Giovani germogli di 10-15 giorni provenienti dalla cultivar di olivo Moraiolo micropropagata *in vitro* su OMM medium (Mencuccini *et al*., 1997), sono stati colturati su piastre Petri contenenti substrato OMe (Rugini e Caricato 1995) modificato. Le piastre sono state poste in camere di crescita al buio a 25 °C. La formazione degli embrioni somatici è stata favorita da un'incubazione di 2 giorni a 35 °C del substrato di rigenerazione (Mencuccini e Dell'Orco, 2000).

Moltiplicazione in vitro, *trasferimento ed ambientamento in serra*

Gli embrioni isolati sono stati fatti crescere su terreno OMM (Mencuccini *et al.*, 1997) con zeatina 2 mg/l e successivamente moltiplicati per avere più soggetti dello stesso genotipo. Dopo la fase di proliferazione gli espianti sono stati posti in vasi Magenta contenenti 75 ml di substrato di radicazione (Mencuccini 2003) per un periodo di 40 giorni. Gli espianti radicati sono stati poi trasferiti *in vivo* in serra in vasetti da 250 cc contenente torba, foglia di faggio e sabbia (1:1:1) per la fase di ambientamento e poi in vasi da 3 litri per la fase di crescita prima del trasferimento in pieno campo nel periodo primaverile.

Trasferimento in campo

Per ogni genotipo ottenuto sono stati messi in campo cinque esemplari (repliche) disposti lungo due filari (3 metri sulla fila e 5 tra file) con irrigazione a goccia ed allevati a monocono. Dall'anno dell'impianto sono stati effettuati i rilievi riguardanti la crescita della pianta (misura dell'altezza, numero di palchi, diametro del tronco, volume della chioma, ecc.), la presenza e la durata della fase giovanile (adottando un valore arbitrario) ed infine parametri di fioritura ed allegazione. Per valutare la giovanilità e la conseguente capacità di fruttificazione, ciascuna pianta è stata idealmente divisa in tre zone (apicale, mediana, basale) (fig. 1). Per mettere in evidenza eventuali differenze tra i somacloni, per ogni zona sono stati fatti rilievi e si è proceduto ad un calcolo statistico utilizzando le repliche per ciascun soggetto. Ogni anno sono stati acquisiti dati metereologici riguardanti la temperatura

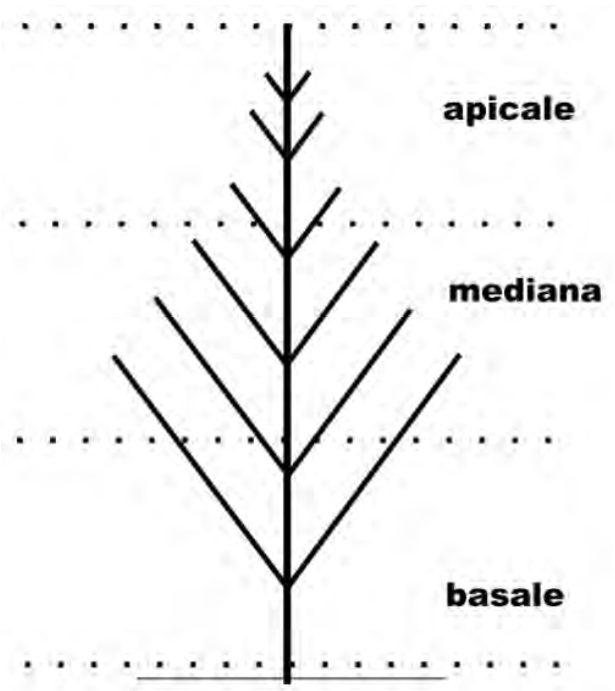


Fig. 1 - Divisione arbitraria della pianta in zona basale, mediana e apicale.
Fig. 1 - Arbitrary division of the plant per area basal, median and apical.

minima, la temperatura massima e la temperatura media superficiale, oltre la precipitazione totale riportate mensilmente.

Risultati e discussione

Embriogenesi somatica

Da giovani germogli delle cultivar Moraiolo sono stati ottenuti calli embriogenici che hanno prodotto embrioni somatici in diverse fasi di sviluppo (fig. 2a). Gli embrioni somatici in fase matura sono stati isolati e trasferiti su terreno di crescita, per un totale di 18 soggetti (tab. 1). Alla fine del periodo di crescita si è avuta la conversione in plantule di solo 6 embrioni (tab. 2, fig. 2b). I sei individui selezionati sono stati messi in moltiplicazione (fig. 2c) allo scopo di ottenere una certa quantità di repliche dello stesso soggetto, completando le fasi di sviluppo e crescita e successivamente la fase di acclimatazione in serra (fig. 2d).

Tab. 1 - Stadi di sviluppo degli embrioni somatici di cultivar di olivo dopo 30 gg.
Tab. 1 - Development stages of somatic embryos of olive cultivar after 30 days.

Forma	N.	%
Globulare	50	26,0
Cuore	57	29,7
Torpedo	67	34,9
Cotiledonare	18	9,4
Totale	192	100

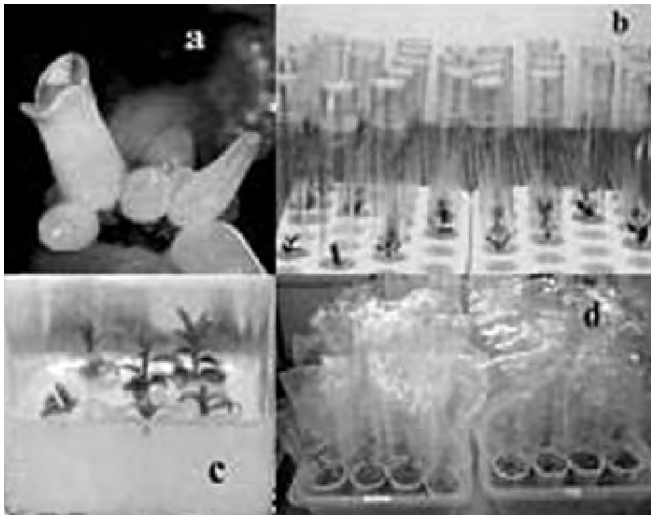


Fig. 2 - Embrioni somatici in diversi stadi di sviluppo (a), in fase crescita (b), di moltiplicazione (c) ed ambientamento (d).
Fig. 2 - Somatic embryos in various stages of development (a), growth stage (b), multiplication stage (c) and environment stage (d).

Tab. 2 - Embrioni somatici in fase cotiledonare isolati e convertiti in plantule.
Tab. 2 - Cotyledon stage somatic embryos isolated and converted into plantlets.

Cultivar	Totali n.	Conversione n.	Conversione %
Moraiolo	18	6	33.3

Rilievi in campo

Altezza e diametro tronco. Dopo tre anni in campo i soggetti mostrano poche differenze di crescita statisticamente significative. Un'ampia variabilità, presente in alcuni casi tra le repliche, indica che è necessario attendere altro tempo prima di poter attribuire differenze significative. Per ora si può dire solo che nel caso dei somacloni M1, M5 e M12 c'è una tendenza ad un più rapido sviluppo in altezza, nel diametro del tronco e nella distanza del 1° palco di branche dal colletto (tab. 3).

Giovanilità. I palchi di branche che presentano foglie di aspetto giovanile, cioè di forma lanceolata e spinescente, sono ancora presenti nella parte basale (fig. 3) di quasi tutti i soggetti a tre anni dalla messa in campo. In particolare i somacloni M9, M12 e M13 mostrano branche di aspetto giovanile in più del 60% dei palchi (tab. 3).

Tab. 3 - Media dei valori di cinque repliche, dei somacloni in campo, riferite all'altezza della pianta, al diametro del tronco, alla distanza del 1° palco di branche dal colletto, all'aspetto giovanile o evoluto della pianta ed alla presenza di frutti per zona (1 apicale; 2 mediana; 3 basale).

Tab. 3 - Average value of five replicates in somaclons on the field, refers to the height of the plant, the diameter of the trunk, the height of the first stage of branches, the youthfulness or mature form and the presence of fruit per area (apical, median; basal).

Somacloni	Altezza pianta (cm)	Tronco diametro (cm)	Altezza 1° palco (cm)	Aspetto pianta		Frutti presenti (%)		
				giovanile (%)	evoluto (%)	zona apicale	zona mediana	zona basale
M1	207,6±5,5	3,6±0,2	59,9±2,9	39,8±4,1	60,3±4,1	49,8	50,2	0,0
M5	194±13,8	3,7±0,1	63,6±4,4	52,7±7,9	47,4±7,9	85,7	14,3	0,0
M6	179,4±7,9	3,1±0,2	49 ±9,6	37,8±23,3	62,3±23,3	34,6	54,3	11,1
M9	160,4±25,9	2,6±0,5	39,4±16	76,7±14,6	23,4±14,6	64,3	35,7	0,0
M12	184±20,6	3,3±0,4	60,7±0,7	74,5±7,3	24,5±4,5	0	0	0
M13	147,5±27,5	2,6±0,4	37 ±3	66,7±33,4	33,4±33,4	0	0	0

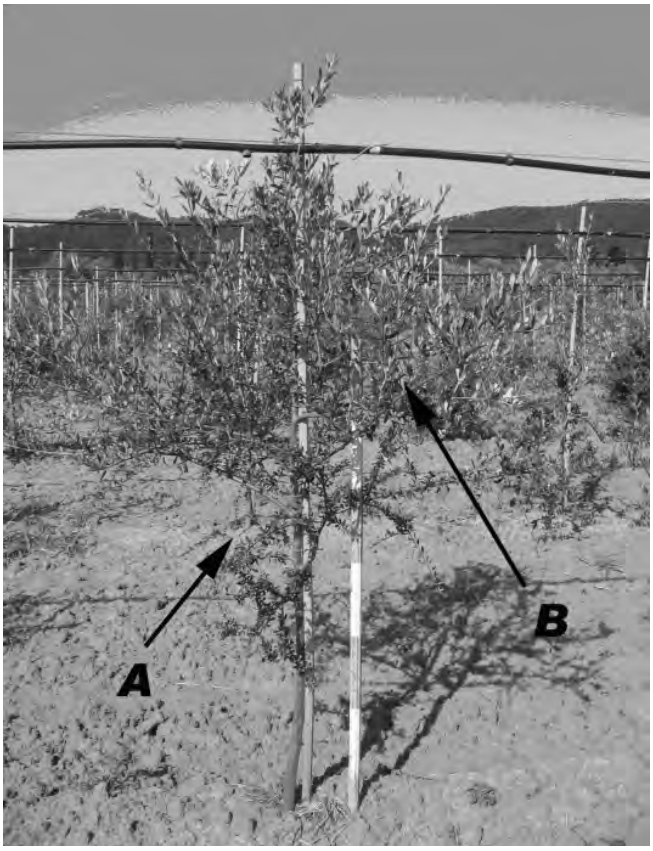


Fig. 3 - Somaclone a 3 anni dall'impianto, con i rami basali che presentano il carattere giovanile (A) e quelli apicali in fase matura (B).

Fig. 3 - Somaclone 3 years from planting, with basal juvenile (A) and apical mature branches (B).

Fruttificazione. Al terzo anno dall'impianto su alcuni dei soggetti in osservazione si è avuta la prima differenzazione di mignole con la successiva fioritura, allegagione e formazione di frutti. I somacloni M12 e M13 caratterizzati da forte giovanilità non hanno differenziato gemme a fiore e quindi non presentano frutti. Nel caso dei somacloni M5 e M9 la fioritura e fruttificazione si è avuta solo nella zona apicale. Solo i somacloni M1 e M6 presentano frutti anche nella zona mediana oltre che in quella apicale e nel caso di quest'ultimo anche in quella basale anche se in percentuale molto ridotta (tab. 3).

Conclusioni

In letteratura esistono osservazioni sul comportamento in campo di piante derivate da embrioni somatici di altre specie come l'abete (Tremblay *et al.*, 1999) o papaia (Homhuana *et al.*, 2008), mentre per l'olivo si ha un confronto tra piante in campo derivate da embrioni somatici prodotti da cotiledoni e piante micropropagate (Leva, 2009). Il fattore che condiziona fortemente la possibilità di sviluppo degli embrioni somatici di olivo è la bassa percentuale di rigenerazione di embrioni somatici perfettamente formati alla quale si aggiunge l'asincronia di maturazione degli stessi che rende più difficile la fase di sviluppo e crescita. Tutti i somacloni prodotti e trasferiti *in vivo*, presentano inizialmente un aspetto giovanile sia nella fase di allevamento in vaso che nei primi anni dalla messa a dimora in campo. Tuttavia per alcuni soggetti si nota la tendenza ad una più rapida evoluzione delle branche alla fase matura. Per poter accertare differenze morfologiche e fisiologiche tra i vari somacloni è necessario attendere un maggior sviluppo delle piante ed una evoluzione completa verso la forma matura con perdita di ogni sintomo di giovanilità. Analisi biomolecolari ed osservazioni morfoanatomiche completeranno l'indagine.

Riassunto

Embrioni somatici di olivo (*Olea europaea* L.) cv Moraiolo sono stati ottenuti da callo embriogenico

derivato da germogli ascellari (10 giorni) di espianti micropropagati *in vitro*. I calli embriogenici sono stati coltivati su substrato modificato OMe e quando gli embrioni somatici sono germinati e convertiti in plantula, sono stati coltivati in substrato OMM con 2 mg/l di zeatina. Le piantine ottenute (otto linee di somacloni) sono state prima stabilizzate *in vivo* in serra e poi trasferite in campo per verificare le caratteristiche agronomiche. I somacloni di olivo hanno mostrato comportamenti di sviluppo diversi tra loro. Queste variazioni morfologiche riguardano in particolare l'altezza delle piante, il numero di fiori ed il numero di frutti.

Parole chiave: *Olea europaea* L., embriogenesi somatica, soma cloni, comportamento in campo, cv Moraiolo.

Bibliografia

DELL'ORCO P., MENCUCCINI M., 2000. *Embriogenesi somatica e primi risultati nella trasformazione genetica dell'olivo.* Atti Convegno Annuale SIGA, Bologna 20-23 Settembre, p. 142.

HOMHUANA S., KIJWIJANA B., WANGSOMNUKA P., BODHIPADMAB K.,. LEUNGC D.W.M, 2008. *Variation of plants derived from indirect somatic embryogenesis in cotyledon explants of papaya.* Science Asia 34: 347–352.

LEVA A.R .AND PETRUCCELLI R., 2007. *Field performance of olive somaclones derived from somatic embryos*. Acta Hort. 748

LEVA A., 2009. *Morphological evaluation of olive plants propagated invitro culture through axillary buds and somatic embryogenesis methods*. Afr. J. Plant Sci. 3(3): 037-043.

MENCUCCINI M., RUGINI E.,1993. *In vitro shoot regeneration from olive cultivars tissues*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 32: 283-288.

MENCUCCINI M., MICHELI M., STANDARDI A., 1997. *Micropropagazione dell'olivo: effetto di alcune citochinine sulla proliferazione*. Italus Hortus 4(7): 32-37.

MENCUCCINI M., 2003. *Effect of medium darkening on in vitro rooting capability and rooting seasonality of olive (*Olea europaea *L.) cultivars*. Sci. Hort. 97(2): 129-139.

RUGINI E., CARICATO G., 1995. *Somatic embryogenesis and plant recovery from mature tissues of cultivars (*Olea europaea *L.) "Canino" and "Moraiolo"*. Plant Cell Rep. 14: 257-260.

TREMBLAY L., LEVASSEUR C., TREMBLAY F. M., 1999. *Frequency of somaclonal variation in plants of black spruce (*Picea mariana, *Pinaceae) and white spruce (*P. glauca, *Pinaceae) derived from somatic embryogenesis and identification of some factors involved in genetic instability*. Am. J. Bot. 86(10): 1373-1381.

Caratterizzazione delle cultivar di olivo autoctone del lazio con microsatelliti e catteri morfologici

Colao M.C., Miano D., Fountoulaki G., Cristofori V., Gutierrez Pesce P., Camilli C., Rugini E. e Muleo R.*

Dipartimento di Produzioni Vegetali, Laboratorio di Ecofisiologia Molecolare delle Piante Arboree, Università della Tuscia

Characterization of autochthonous olive cultivar from Latium using microsatellite and morphological markers

Abstract. In this work we report on the utilisation of eighteen previously developed olive microsatellite markers for the identification and differentiation of a set of twenty-one olive varieties from Latium. All analysed SSR markers, excepted EmoL, revealed a high level of polymorphism that allowed the genotyping of most of all the examined varieties. One hundred and twenty-eight alleles were detected at all 18 loci, which multiplied into a large number of observed genotypes, giving high discrimination value for varietal identification. Twenty distinct alleles was found in olive cultivars population. The cultivars were found to be belong to four distinct genetic groups, and Oleastro and Olivago in a separate group. The outer cultivar, Brisighella, clustered a grouped, through PCA Analysis in one of the four cultivar groups. Therefore, our findings would lead us to support the hypothesis that the current diversity found in Latium olive cultivars may be regionally differentiated not only from autochthonous origin, but also from allochthonous origin. The information obtained in this work gives insights into the genetic resources of the Latium, demonstrating that local cultivars both represent potential sources of useful variability for olive breeding programs.

Key words: Biodiversity, Finger printing, Olea europaea L., SSR, Pomological description.

Introduzione

La coltura dell'olivo, nel Lazio, è diffusa su tutto il territorio ed interessa una superficie di circa 76.000 ettari, dal livello del mare fino ai 700 metri di altitudine, rappresentando quasi il 50% dell'intera superficie destinata alle colture arboree da frutto, compresa la vite (ARSIAL, 2009). L'ampia diffusione è dovuta alla ricchezza del germoplasma, alla sua plasticità biologica, che lo rendono adattabile ai diversi climi e aspetti agronomici del suolo, nonché al forte impatto socio/economica e colturale l'olivo ha sin dall'epoca della *Roma Repubblicana e Imperiale*. Molte cultivar che compongono il germoplasma sono autoctone e il loro prodotto oleario è il componente principale di molti oli DOP, con alto grado di gradevolezza e di valore nutraceutico (Parlati e Pandolfi, 2003).

In questo lavoro è stata condotta un'attività di analisi molecolare e biometrica di alcune varietà di olivo locali presenti nel campo di collezione dell'ente, della regione Lazio, ARSIAL, sito presso il comune di Montopoli in Sabina (Rieti), nell'ambito del progetto di ricerca interregionale OLVIVA. I marcatori molecolari scelti, per le indagini, sono stati i microsatelliti (SSR, Simple Sequence Repeats), che per l'olivo, ne sono stati selezionati diversi particolarmente polimorfici e informativi (Baldoni *et al.*, 2009; Carriero *et al.*, 2002; Cipriani *et al.*, 2002; Sefc *et al.*, 2000), ed impiegati per la genotipizzazione varietale (Bandelj *et al.*, 2002), per la costruzione di mappe genomiche e studi di paternità (de la Rosa *et al.*, 2003; de la Rosa *et al.*, 2004), per l'analisi di relazioni tra specie affini (Rallo *et al.*, 2003) e per la rintracciabilità degli oli di oliva (Pasqualone *et al.*, 2004; Testolin e Lain, 2005). Pertanto gli obiettivi sono stati: (a) la genotipizzazione di un set di cultivar della Regione Lazio, (b) l'identificazione di casi di sinonimie ed omonimie tra le cultivar analizzate, (c) la costruzione di una scheda pomologica di ciascuna varietà, secondo lo standard UPOV/CPVO (www.cpvo.europa.eu) da piante da cui sarà propagato il materiale per la costituzione della fonte primaria di ciascuna cultivar.

Materiali e metodi

I rilievi pomologici sono stati effettuati su 3 piante delle cultivar presenti nel campo collezione (ARSIAL), ove di ogni cultivar è presente replicazione clonale di 5 piante, propagate agamicamente. Il DNA è stato isolato utilizzando il protocollo di Sul e Korban (1996) e l'estratto è stato ulteriormente purificato per le reazioni di amplificazione con il Dneasy Plant Mini Kit (Qiagen). L'analisi SSR è stata condot-

* muleo@unitus.it

ta con 18 differenti loci, e in tabella 1, di ogni locus, è riportato l'acronimo la sequenza ripetuta e il riferimento bibliografico. Le cultivar analizzate sono *Canino, Carboncella, Frantoio, Olivago, Itrana, Itrana precoce, Leccino, Marina, Maurino, Minutella, Moraiolo, Oleastro, Olivella, Pendolino, Reale, Raja Sabina, Rosciola, Salvia, Salviana, Sirole, Vallanell*a. La cultivar Brisighella (Emilia-Romagna) è stata impiegata come riferimento esterno. Il primer forward di ciascuna coppia è stato marcato con uno dei tre fluorocromi WellRed D2-PA, D3-PA, D4-PA. La PCR è stata effettuata utilizzando il seguente protocollo di amplificazione touchdown: denaturazione iniziale 5 min a 95°C, 5 cicli con 45 sec a 95°C, 5 min a 68°C (con un decremento di 2,0°C/ciclo), 1 min a 72°C, 5 cicli con 45 sec a 95°C, 2 min a 58°C (con un decremento di 2,0°C/ciclo), 1 min a 72°C, 25 cicli con 45 sec a 95°C, 2 min a 50°C, 1 min a 72°C, 30 min di estensione finale a 72°C. I prodotti amplificati sono stati analizzati su gel di agarosio, e la loro taglia è stata determinata con il CEQ 8800 Genetic Analysis System (Beckman Coulter) ed il marcatore CEQ DNA Size Standard kit 400.

Tab. 1 - Acronimi dei loci SSR impiegati nell'analisi molecolare della biodiversità delle cultivar laziali. I parentesi sono riportati i motivi delle basi ripetute ed il numero di volte. Con gli asterischi sono indicate le fonti da cui da cui ciascun locus è stato dedotto ($_{*}$ da Sefc *et al.*, 2000; $_{**}$ da Cipriani *et al.*, 2002; $_{***}$ da Carriero *et al.*, 2002; $_{****}$ da de La Rosa *et al*., 2002)

Tab. 1 - SSR loci employed for the molecular analysis of the biodiversity between Latium cultivars. The repeated motif is displayed in brackets and the number of repeats is indicated. The reference of each locus is indicated in the last column ($_{*}$ Sefc et al.*, 2000; $_{**}$ Cipriani* et al.*, 2002; $_{***}$ Carriero* et al.*, 2002; $_{****}$ De La Rosa* et al.*, 2002).*

SRR	Motivo ripetuto	Fonte
Dca3	$(GA)_{19}$	*
Dca4	$(GA)_{16}$	*
Dca5	$(GA)_{15}$	*
Dca7	$(AG)_{19}$	*
Dca9	$(GA)_{23}$	*
Dca13	$(CA)_{15}$	*
Dca14	$(CA)_{18}$	*
Dca15	$(CA)_3$ G $(AC)_{14}$	*
Dca16	$(GT)_3$ $(GA)_{14}$	*
Dca17	$(GT)_9$ $(AT)_7$ AGATA $(GA)_{38}$	*
Dca18	$(CA)_4$ CT $(CA)_3$ $(GA)_{19}$	*
Udo43	$(GT)_{12}$	**
Gapu45	$(AG)_7$	***
Gapu71B	GA $(AG)_6$ $(AAG)_8$	***
Gapu101	$(GA)_8$ GGG $(AG)_3$	***
Gapu103A	$(TC)_{26}$	***
Emo90	$(CA)_{10}$	****
EmoL	$(GA)_{12}$	****

Risultati e discussione

Il numero di alleli individuati, la loro dimensione in paia di basi, e l'eterozigosità osservata e attesa di ciascun locus SSR sono riportati in tabella 2. I loci analizzati sono tutti polimorfi con un numero di alleli che varia da 2 a 13 ed un valore medio di 7,1. La variabilità genetica all'interno della popolazione totale è piuttosto elevata come indicato dagli indici di eterozigosità attesa e osservata. L'eterozigosità attesa varia fra 0,105 e 0,853 (valore medio di 0,68), mentre quella osservata raggiunge il valore di 1 per il locus Gapu101, sempre eterozigote, e di 0,037 per EmoL, che è omozigote nella maggior parte dei campioni. Questo locus, infatti, ha solo 2 alleli, uno con lunghezza di 202 bp (frequenza 0,94) e uno di 206 bp (frequenza 0,06), e risulta poco discriminante per distinguere le varietà del Lazio analizzate.

L'analisi delle frequenze di ciascuno dei 128 alleli individuati nei 18 loci: tralasciando EmoL, ha evidenziato che i valori più elevati si osservano per l'allele di 245 bp del locus Dca15 (64,8%) e per gli alleli di 131 bp e di 120 bp rispettivamente dei loci Dca04 e Dca13 (61,1%), mentre 20 alleli sono presenti una sola volta tra quelli individuati. Come atteso i loci Dca15, 04 e 13 presentano i valori più bassi di eterozigosità. I risultati ottenuti permettono di individuare 19 genotipi laziali e due casi di sinonimia. Infatti *Itrana* e *Itrana precoce* hanno lo stesso profilo SSR, così come *Sirole* e *Salviana*. Inoltre le varietà *Reale* e *Raja sabina* differiscono per un solo allele nel locus Gapu45, mentre *Moraiolo* e *Carboncella*, indicati in precedenza come sinonimi, differiscono per 1 allele nei loci Udo43 e Gapu71b. Per alcune varietà, le repliche analizzate hanno dato risultati non perfettamente concordanti, in particolare *Salvia* e *Canino* hanno un grado di eterogeneità che non identificano come omologhe le accessioni del campo di collezione dell'ARSIAL. Le relazioni tra le varietà sono state studiate tramite analisi PCA basata sulle distanze genetiche tra le cultivar laziali (distanza genetica di Nei). Nel grafico riportato in figura 1a la percentuale di variabilità spiegata dalle due componenti principali riportate è del 50,9% e i genotipi sono raggruppati nel modo seguente:

gruppo 1: *Oleastro, Olivago*

gruppo 2: *Itrana* e *Itrana precoce, Olivella, Villanella, Brisighella*

gruppo 3: *Canino, Minutella, Carboncella, Moraiolo*

gruppo 4: *Marina, Rosciola, Salvia, Salviana* e *Sirole*

gruppo 5: *Frantoio, Leccino, Maurina, Pendolino,*

Tab. 2 - Numero, lunghezza ed eterozigosità osservata (*Ho*) e attesa (*He*) per i 18 loci SSR studiati.
Tab. 2 - Number, lenght and heterozigosity observed (Ho) and expected (He) for the 18 SSR loci employed.

Geni	Alleli	N. alleli	*Ho*	*He*
Dca3	231 237 239 241 243 245 249 253	8	0,926	0,835
Dca4	131 133 143 151 163	5	0,481	0,545
Dca5	194 198 202 206 212	5	0,778	0,612
Dca7	129 131 143 149 150 151 154 156 167	9	0,778	0,783
Dca9	162 166 172 182 184 186 192 194 196 204 206 208 210	13	0,963	0,853
Dca13	120 122 124 130 140	5	0,222	0,567
Dca14	162 172 178 180 182 190	6	0,926	0,709
Dca15	245 255 265 267	4	0,259	0,518
Dca16	124 126 128 146 150 154 156 172 174 176	10	0,704	0,772
Dca17	107 109 113 115 117 121 143 181	8	0,889	0,816
Dca18	167 171 173 175 177 179 180 181 185 187	10	0,741	0,799
Udo43	174 176 178 180 186 188 190 214 216 218 220	11	0,926	0,804
Gapu45	181 182 184 196	4	0,444	0,636
Gapu71B	119 121 123 127 141	5	0,852	0,717
Gapu101	184 190 192 198 200 202 206 208 218	9	1,000	0,849
Gapu103	136 150 158 160 162 164 174 176 186 190	10	0,741	0,782
Emo90	184 186 188 192	4	0,815	0,658
EmoL	202 206	2	0,037	0,105

Raja sabina, *Reale*.

La matrice delle distanze è stata analizzata anche mediante cluster analysis con algoritmo UPGMA ed il dendrogramma risultante (fig. 1b) permette di individuare gli stessi raggruppamenti ottenuti con l'analisi PCA con *Oleastro* e *Olivago* (gruppo 1) in una linea ben distinta dell'albero. L'analisi di bootstrap evidenzia la presenza di valori molto elevati per le ramificazioni terminali, mentre, i valori di bootstrap diminuiscono in modo significativo quando ci si avvicina alla radice dell'albero. La varietà *Brisighella,* introdotta come riferimento esterno, si trova nello stesso gruppo di *Itrana*, *Olivella* e *Vallanella*, pertanto non è risulta essere una cultivar in grado di svolgere la funzione di referente esterno al gruppo delle varietà laziali. Il risultato evidenzia che l'*Oleastro* è l'accessione che può essere utilizzata con maggiore vantaggio come riferimento esterno nell'analisi delle relazioni tra le varietà di olivo. Particolare è la situazione di *Olivago*, che presenta un indice di similarità molto basso (inferiore a 0,28) con le altre varietà laziali, ma appare essere vicino a Oleastro. Meno chiara è la collocazione di *Minutella*, *Canino*, *Carboncella* e *Moraiolo*, che, anche nell'analisi PCA, sono le varietà la cui posizione è spiegata meno bene dall'elaborazione statistica utilizzata, in quanto sono le più vicine al centroide.

Per ciascuna cultivar analizzata è stata costituita la scheda pomologica con i dati biometrici rilevati sulle 5 piante di ciascuna cultivar presente nel campo collezione. Infine sono state costituite delle schede pomologiche per ciascuna cultivar studiata.

Conclusioni

La diversità genetica tra le cultivar locali del Lazio analizzate, unitamente allo studio della possibile presenza di variazione intra-clonale, è stata studiata impiegando 18 loci SSR. Inoltre, è stato condotto o studio sulle relazioni e tra e le cultivar e una pianta secolare di *Oleastro*. Una varietà coltivata, *Olivago*, clusterizza con *Oleastro*, e tale relazione genetica è confermata dall'analisi della PCA. La cultivar *Brisighella*, impiegata come controllo *outer*, si raggruppa e clusterizza con il gruppo 2, insieme alle *Itrana*, *Villanella* e *Olivella*. Le informazioni ottenute in questa indagine molecolare evidenzia che nel germoplasma laziale di olivo è presente una ricca variabilità genetica, la quale potrebbe essere utile in programmi di miglioramenti genetici. Dallo studio molecolare è possibile ipotizzare che le cultivar, differenziate regionalmente, abbiano sia un origine autoctono sia alloctono.

Riassunto

L'obiettivo è stato quello di genotipizzare cultivar e ecotipi laziali con 18 loci SSR, di identificare sinonimie e omonimie, e di costruire la scheda pomologi-

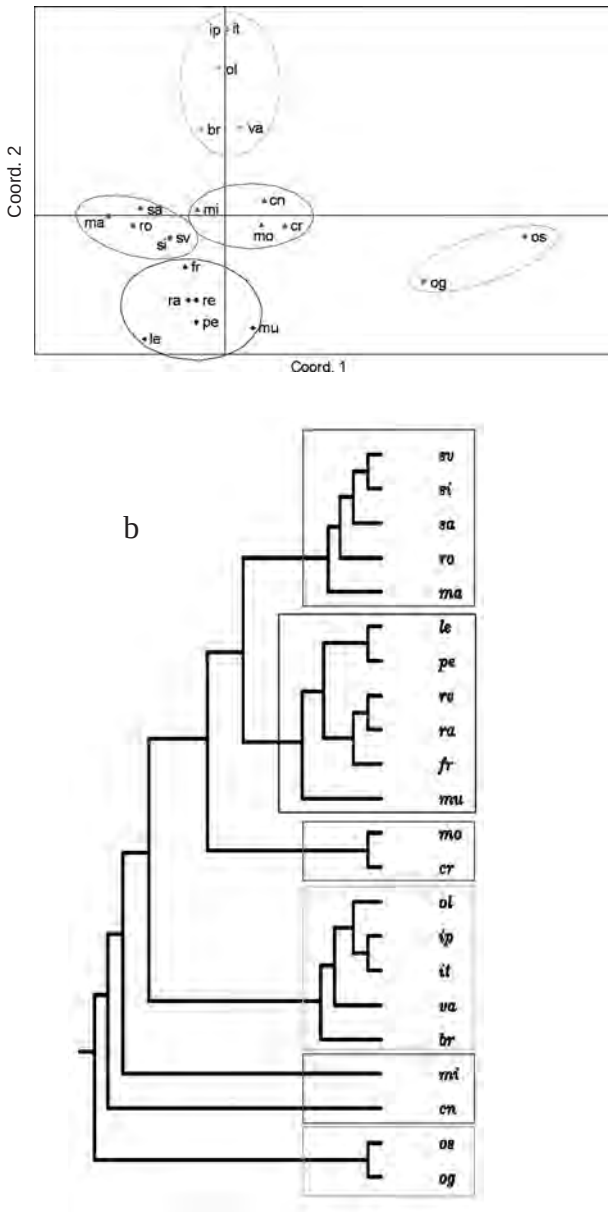


Fig. 1 - Analisi delle distanze genetiche tra i 21 genotipi analizzati mediante PCA (a) e dendrogramma ottenuto utilizzando l'algoritmo UPGMA (b, sono riportati i valori di bootstrap superiori a 75). Varietà analizzate: **br**, Brisighella; **cn**, Canino; **cr**, Carboncella; **fr**, Frantoio; **ip**, Itrana precoce; **it**, Itrana; **le**, Leccino; **ma**, Marina; **mi**, Minutella; **mo**, Moraiolo; **mu**, Maurina; **og**, Olivago; **ol**, Olivella; **os**, Oleastro; **pe**, Pendolino; **ra**, Raja sabina; **re**, Reale; **sa**, Salvia; **si**, Sirole; **sv**, Salviana; **va**, Vallanella.

Fig. 1 - Analysis of the genetic distance between the 21 genotypes with the Principal Component Analysis (a) and cluster analysis with UPGMA algorithm (b, the bootstrap values higher than 75 are displayed).

ca di ogni cultivar. Sono stati valutati la composizione allelica e la loro frequenza, i livelli di eterozigosità osservata e attesa tra le cultivar. Del totale di 128 alleli individuati 20, presenti una sola volta, hanno appartenenza univoca a un locus e genotipo. Il modello di variazione genetica indica la presenza di quattro gruppi genetici e la percentuale di variabilità spiegata dai due componenti principali riportati, secondo l'analisi PCA, è del 50,9%. I loci SSR impiegati sono risolutivi per la genotipizzazione, due casi di sinonimia sono stati individuati: *Itrana* e *Itrana precoce* così come *Sirole* e *Salviana*. Inoltre le varietà *Reale* e *Raja Sabina* differiscono per un solo allele, mentre *Moraiolo* e *Carboncella*, indicati in precedenza come sinonimi, differiscono per 2 alleli. La matrice delle distanze, generata con l'algoritmo UPGMA e il dendrogramma risultante, conferma gli stessi raggruppamenti dell'analisi PCA, con *Oleastro* e *Olivago* in una linea ben distinta dell'albero. Le analisi pomologiche seguono un trend simile a quelli dell'analisi SSR e arricchiscono di informazione le diversità molecolari osservate.

Parole chiave: Biodiversità, *Olea europaea* L., Relazioni genetiche, Scheda varietale, SSR

Ricerca svolta nell'ambito del Progetto della Regione Puglia (B.U.R.P. n. 123 del 29/9/2005), "Miglioramento e qualificazione del vivaismo olivicolo. Diagnosi delle malattie da virus e virus simili, loro ruolo eziologico e tecniche di risanamento. Miglioramento delle tecniche di propagazione dell'olivo. Identificazione e riordino del patrimonio olivicolo mediante analisi e descrizione del loro DNA."

Bibliografia

BALDONI L., ET AL., 2009.. Molecular Breeding, 34(3): 213-231.
BANDELJ D., ET AL., 2002. Food Technol. Biotechnol. 40(3):185-190.
BELAJ A., ET AL., 2003. Theor Appl Genet 107:736-744.
CARRIERO F., ET AL., 2002. Theor Appl Genet 104:301-307.
CIPRIANI G., ET AL., 2002. Theor Appl Genet 104:223-228.
DE LA ROSA R., ET AL., 2002. Mol. Ecol. Notes 2, 265–267.
DE LA ROSA R., ET AL., 2003. Theor Appl Genet 106:1273-1282.
DE LA ROSA R., JAMES C.M. TOBUTT K.R., 2004. 39(2):351-354.
HANNACHI H., ET AL., 2008. Sci Hortic 116:280-290.
PARLATI M.V., PANDOLFI S. 2003. Ed. Regione Lazio.
PASQUALONE A., ET AL., 2004. Jour Agric Food Chem 52:1068-1071.
SARRI V., ET AL., 2006. Genome 49:1606-1615.
SEFC K.M., ET AL., 2000. Mol Ecol 9:1171-1173.
TESTOLIN R., LAIN O., 2005. Food Chem Toxicol 70(1):108-112.

Acta Italus Hortus 1: 121-124

Prime valutazioni pomologiche su ibridi ottenuti da incrocio di cultivar di olivo

Bandino G.[1], Sedda P.[1], Moro C.[1] e Mulas M.[2*]
[1]*Dipartimento per la Ricerca nella Arboricoltura, AGRIS – Sardegna, Cagliari*
[2]*Dipartimento di Economia e Sistemi Arborei, Università di Sassari*

First pomological evaluation of new hybrids obtained by cross pollination of olive cultivars

Abstract. Because of their tested adaptability to the environment, olive cultivars from autochthonous germplasm are of fundamental importance for traditional olive industry of Mediterranean regions. However, not always traditional cultivar are able to respond to the improvement of the crop management with consequent increases of yields. There is a need of breeding programs of the olive cultivars aimed to the increase of the crop yield and to maintain the environmental adaptability of the traditional cultivars. The breeding program of AGRIS-Sardinia started in 1991 with the use of the following autochthonous cultivars in the cross pollination: 'Tonda di Cagliari' and 'Nera di Gonnos' (synonimous), 'Semidana', 'Tonda di Villacidro', 'Pizz'e Carroga', 'Tondo sassarese' and many others from the germplasm of Sardinia, as well as some cultivar showing good environmental adaptability after introduction, such as 'Nocellara del Belice'. Hybrid seedlings were planted in 1994 in a experimental plot for the observation of plant development and morphology, yield, pomological characters, and oil content of fruit pulp.

Key words: Olea europaea, germplasm, breeding, cultivar selection, phenotype analysis.

Introduzione

La coltivazione dell'olivo in Sardegna è diffusa praticamente in tutti i comuni, sebbene tale presenza sia caratterizzata da forti differenze riscontrabili tra gli areali a maggior incidenza e vocazionalità, e quelli nei quali l'olivo è una specie marginale, spesso relegata a consociazioni con vigneti e a un'elevata disomogeneità di piantagione.

Sebbene l'olivo sia con i suoi 38.600 ettari la coltura legnosa più diffusa nell'Isola, esso contribuisce alla costituzione della PLV totale agricola solo per il 4% circa. In Sardegna, come nella maggior parte delle regioni mediterranee convivono modelli dell'olivicoltura tradizionale con significative esperienze di innovazione tecnica della coltura (Mulas *et al.*, 2008). Malgrado la ricchezza di risorse genetiche della specie (Rugini e Lavee, 1992) e del germoplasma autoctono in particolare (Bandino *et al.*, 2001), sembra che la risposta media delle colture ai maggiori inputs in termini di incremento delle produzioni sia largamente inferiore alle aspettative. Esiste quindi una concreta esigenza per la ricerca di nuove risorse genetiche più adatte alle nuove tecnologie di produzione.

Nonostante l'importanza dell'olivo nel Bacino del Mediterraneo sia elevata, non lo è stata altrettanto l'attività di miglioramento varietale, che solo negli ultimi anni sta avendo una certa crescita. Tale attività ha riguardato principalmente: la selezione clonale, l'incrocio, la mutagenesi e le biotecnologie. Scarsi sono i programmi di miglioramento genetico basati sull'uso dell'incrocio intervarietale principalmente per la lunga durata della fase giovanile dell'olivo, difficilmente inferiore ai dieci anni, le difficoltà relative all'elevatissima eterozigosi che caratterizza le specie, la molto frequente incompatibilità tra le cultivar, la bassa allegagione, la difficoltà di demasculare i fiori.

Su tale aspetto diversi sono stati i programmi condotti nei vari Paesi a cultura olivicola radicata (Roselli, 1990). A Firenze negli anni 70 è stato messo in atto un programma d'incrocio volto all'ottenimento di nuove cultivar con la realizzazione di 127 combinazioni d'incrocio, 5000 semenzali di cui 200 selezionati per diversi caratteri di pregio (Bellini *et al.*, 2002).

La sperimentazione di AGRIS-Sardegna è stata avviata nel 1991 con lo scopo principale di creare un nuovo germoplasma olivicolo da impiegare per il rinnovamento - ammodernamento dell'olivicoltura, in particolar modo nei riguardi dell'Isola. Può essere schematizzata in cinque punti chiave (Mulas *et al.*, 2008): individuazione piante madri (portasemi e impollinatori); ottenimento del materiale di propagazione; semina e allevamento del materiale ottenuto; trapianto in pieno campo; valutazione agronomica degli ibridi ottenuti. In questa nota si riferisce su alcuni dati preliminari relativi all'ultima fase di valutazione delle nuove linee varietali ottenute.

* mmulas@uniss.it

Materiali e metodi

La ricerca si è svolta presso la stazione sperimentale di Villasor (sud-ovest della Sardegna: 39° 21' lat. Nord) dell'Agenzia della Regione Sardegna per la ricerca scientifica, la sperimentazione e l'innovazione tecnologica nei settori agricolo, agroindustriale e forestale (AGRIS).

Il campo oggetto di studio è realizzato su suolo alluvionale a reazione acida, ricco di scheletro, ben dotato di magnesio e ferro ma poco di altri elementi quali fosforo, potassio e calcio. I livelli di salinità sono tali da non costituir problemi di riduzione della fertilità. La gestione del suolo è basata sulla non lavorazione e sulla periodica triturazione delle essenze erbacee spontanee e dei residui di potatura. Il piano di concimazione prevede la distribuzione di circa 150 kg/ha di azoto e ogni 2 anni vengono distribuiti sia 100 kg/ha di P_2O_5 che di K_2O. All'occorrenza viene eseguita la fertilizzazione fogliare. L'apporto idrico è affidato ad un sistema di distribuzione localizzata, per microaspersione, con volumi medi crescenti dai primi anni dall'impianto fino a circa 2.000 m^3/ha. Le piante sono state messe a dimora nel 1994, utilizzando sesti di 4,5x2,5 e forma di allevamento monocaule, opportunamente governato nella potatura per anticiparne la fruttificazione.

Diverse sono state le cultivar scelte per gli incroci, per lo più appartenenti al germoplasma sardo (tab. 1). I cloni oggetto di studio durante il tirocinio sono denominati con dei codici alfanumerici che riprendono la loro posizione in campo (n. fila, blocco, n. pianta).

Tab. 1 - Ibridi osservati e loro origine.
Tab. 1 - List of the studied hybrids and their origin.

Selezione	Cultivar madre	Cultivar padre
1) 2A-15	Terza piccola	Terza piccola
2) 3A-16	Tonda di Villacidro	Nera di Gonnos
3) 4A-5	Olivastro	Libera impollinazione
4) 5A-12	Tonda di Cagliari	Tondo Sassarese
5) 6A-5	Tonda di Cagliari	Tonda di Cagliari
6) 6A-6	Tonda di Cagliari	Semidana
7) 6A-20	Semidana	Nera di Villacidro
8) 7A-15	Tonda di Villacidro	Tonda di Villacidro
9) 7A-17	Semidana	Pizz'e carroga
10) 10A-18	Tondo Sassarese	Tonda di Cagliari
11) 12A-11	Tonda di Cagliari	Pizz'e carroga
12) 12A-20	Tonda di Cagliari	Pizz'e carroga
13) 13A-14	Nera di Gonnos	Semidana
14) 18A-6	Nera di Gonnos	Nocellara del Belice
15) 18A-16	Tonda di Cagliari	Tondo Sassarese

Il campionamento di drupe, eseguito nella seconda metà di ottobre sulle piante che nella fase di valutazione delle produzioni avevano ricevuto un giudizio positivo, è stato effettuato suddividendo la chioma in 4 settori e prelevando casualmente 100 drupe da ognuno. Sui campioni sono state eseguite diverse misurazioni e osservazioni morfologiche. In questa nota vengono riportati i dati relativi al peso medio delle drupe integre, al rapporto polpa/nocciolo e al contenuto di lipidi sul peso fresco della polpa dopo estrazione mediante Soxlet.

I dati sono stati sottoposti ad analisi della varianza mediante utilizzo del software MSTAT-C e la separazione delle medie è stata realizzata mediante applicazione del Multiple Range Test di Duncan.

Risultati e discussione

La caratterizzazione dei cloni riguarda principalmente l'analisi dei dati carpometrici e di analisi chimica delle drupe. Il primo elemento di caratterizzazione è il peso medio delle drupe, correlato positivamente con il loro volume medio, infatti appare logico come drupe di dimensioni (e quindi volume) maggiori mostrino pesi maggiori, e viceversa. Risulta che i frutti di maggior dimensione appartengono ai cloni 18A-16 e 13A-14 (rispettivamente 11,03 e 7,33 g), entrambi derivanti da incrocio tra 'Tonda di Cagliari', caratterizzata dal produrre drupe a peso elevato, e rispettivamente 'Sassarese', con drupe di peso medio, e 'Pizz'e carroga' con drupe di peso elevato.

Altri cloni quali 12A-11, 6A-6, 7A-17, 6A-20, hanno mostrato poi dei valori in termini di pesi unitari delle drupe compresi tra i 4 e i 6 g, tali da esser considerate di peso medio elevato. Questi cloni sono tutti ottenuti da incroci nei quali almeno uno dei 2 genitori, generalmente il portaseme, appartiene ad una cultivar caratterizzata dal produrre drupe di peso elevato o medio.

Altri cloni quali il 6A-5, 2A-15, 10A-18, 7A-15, 18A-6, 5A-12, 12A-20 presentano un peso unitario compreso tra i 2 e i 4 grammi tali da esser considerate a media pezzatura. Solo alcuni cloni quali il 4A-5 e il 3A-16 hanno prodotto drupe di peso <2 g e rientrano pertanto nella categoria dei frutti di peso basso.

I caratteri quali spessore medio della polpa, percentuale media della polpa, peso medio della polpa sono elementi di caratterizzazione dell'attitudine tecnologica delle drupe e, pertanto, risulta logico come le cultivar aventi questi parametri elevati sono tendenzialmente a duplice attitudine o da mensa. Tutti i cloni nella cui F_1 di origine ci siano cultivar a duplice attitudine quali 'Nera di Gonnos' o 'Tonda di Cagliari', o

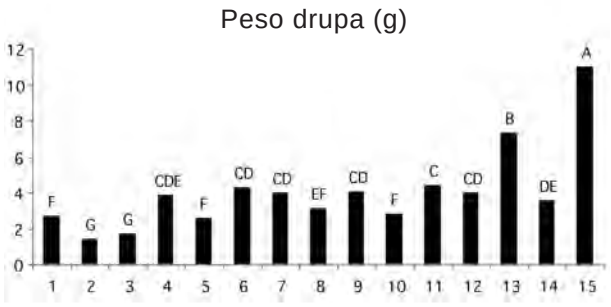


Fig. 1 - Peso medio delle drupe degli ibridi. Lettere uguali indicano valori statisticamente non differenti per $p \leq 0,01$.
Fig. 1 - Fruit mean weight of hybrids. Values labelled with the same letters are not statistically different at $p \leq 0.01$ level.

da mensa quali la 'Pizz'e carroga', sono caratterizzate da elevate percentuali di polpa. Il clone 12A-11 è risultato quello con il maggior valore d'incidenza della polpa sul peso totale della drupa, pari a circa l'89%, fattore sicuramente correlato alla maternità e paternità del clone stesso, rispettivamente 'Tonda Cagliari' e 'Pizz'e carroga'. Correlato positivamente alla percentuale di polpa è il suo peso medio. Non altrettanto valida è la correlazione con lo spessore medio della polpa che è risultato fortemente legato alla forma della drupa e alla dimensione del nocciolo. I frutti di forma sferica e con un rapporto polpa/nocciolo elevato, sono spesso caratterizzati da maggiore spessore della polpa, rispetto a frutti di forma allungata e ovoidale, o con basso rapporto p/n.

Il rapporto polpa/nocciolo è altro parametro caratterizzante l'attitudine tecnologica delle diverse cultivar (fig. 2). I valori più elevati si riscontrano nei cloni 12A-11, 13A-14, 18A-16, dove assumono rispettivamente valori di 8,11-7,56, tutti cloni derivanti da portaseme a duplice attitudine e impollinatore da olio, ad eccezione del clone 12A-11 la cui paternità è prettamente da mensa.

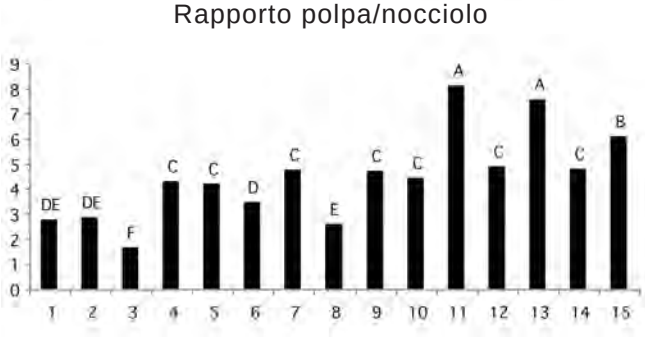


Fig. 2 - Rapporto polpa/nocciolo nelle drupe degli ibridi. Lettere uguali indicano valori statisticamente non differenti per $p \leq 0,01$.
Fig. 2 - Flesh/stone ratio in fruits of the hybrids. Values labelled with the same letters are not statistically different at $p \leq 0.01$ level.

Ed infine l'ultimo aspetto che è stato preso in considerazione per la caratterizzazione dei cloni è stata la quantità di materia grassa, espressa in percentuale sul peso fresco. Altro parametro importante per definire la destinazione d'uso delle drupe, infatti come risulta logico, da una drupa ricca di olio sarà più economicamente conveniente estrarre tale componente piuttosto che destinare il frutto al confettamento.

Dalle analisi effettuate i campioni dei cloni 10A-18, 6A-5, 6A-6, 13A-14, 7A-15, 6A-20, 18A16 hanno mostrato elevati quantitativi di materia grassa sul tal quale, con valori sempre superiori al 18%, che evidenzierebbero un elevata attitudine di questi cloni alla produzione di olio; i campioni 6A-20, 18A-6, 2A-15, 5A-1;2, 12A-20 hanno evidenziato una media dotazione con valori compresi tra 15 e 18%; i cloni 7A-17, 3A-16, 4A-15 sono risultati poco dotati di materia grassa sul tal quale (fig. 3).

Conclusioni

Per una caratterizzazione anche solo preliminare dei cloni osservati sarà fondamentale uno studio molto più approfondito e, soprattutto, un riferimento ai dati delle annate precedenti, e che saranno completati da quelli delle annate successive (Bandino *et al.*, 2001). Una volta definiti alcuni aspetti generali dei cloni che riguardano principalmente la caratterizzazione delle loro produzioni, si dovrà prendere in considerazione solo quegli individui che si ritengono "interessanti" per un elemento o per una altro, e che meritano pertanto uno studio più approfondito. L'individuazione di nuovi elementi varietali da inserire nel già ricco germoplasma sardo potrebbe esser un punto di forza per il rilancio di un settore dalle ampie possibilità.

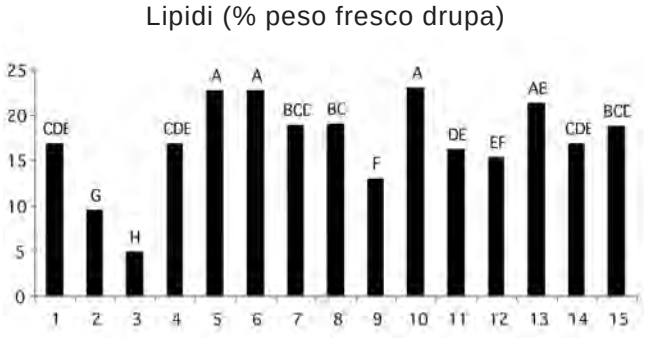


Fig. 3 - Contenuto di lipidi nella polpa delle drupe degli ibridi. Lettere uguali indicano valori statisticamente non differenti per $p \leq 0,01$.
Fig. 3 - Lipid content in the flesh of olives from hybrids. Values labelled with the same letters are not statistically different at $p \leq 0.01$ level.

Riassunto

Le cultivar di olivo appartenenti al germoplasma autoctono, o di introduzione storica, costituiscono la base dell'olivicoltura tradizionale nei diversi territori regionali mediterranei, grazie alla loro sperimentata adattabilità all'ambiente colturale. Non sempre però le cultivar storiche sono in grado di accompagnare il rinnovamento del comparto olivicolo, rispondendo in modo proporzionale al miglioramento della tecnica colturale, con adeguati incrementi quantitativi della produzione. Si rende necessario quindi lo sviluppo di programmi di miglioramento varietale dell'olivo finalizzati principalmente all'incremento produttivo della coltura, in cui si cerchi di recuperare anche l'adattabilità delle cultivar tradizionali e quella delle cultivar giudicate positivamente tra le introduzioni storicamente conosciute.

E' questo il caso del programma di incroci controllati che AGRIS – Sardegna ha iniziato nel 1991con l'utilizzo delle cultivar 'Tonda di Cagliari' e 'Nera di Gonnos' (sinonimo), 'Semidana', 'Tonda di Villacidro', 'Pizz'e Carroga', 'Tondo sassarese' e numerose altre appartenenti al germoplasma della Sardegna, insieme a qualche varietà che aveva mostrato buona adattabilità ambientale, come la 'Nocellara del Belice'.

Gli ibridi messi a dimora nel 1994 in apposito campo di valutazione agronomica hanno consentito di realizzare alcune osservazioni sullo sviluppo e morfologia della pianta, produttività, caratteri pomologici relativi alle dimensioni e morfologia delle drupe e dei noccioli, nonchè alcune determinazioni preliminari sulla polpa matura di selezioni risultate particolarmente interessanti per il contenuto di olio.

Parole chiave: *Olea europaea*, germoplasma, miglioramento varietale, selezione, analisi fenotipica.

Bibliografia

BANDINO G., MULAS M., SEDDA P., MORO C., 2001. *Le varietà di olivo della Sardegna*. Consorzio interprovinciale per la frutticoltura Cagliari – Oristano – Nuoro.

BELLINI E., GIORDANI E., PARLATI M. V., 2002. *Three new cultivars obtained by cross-breeding*. Acta Hort., 586: 221-223.

MULAS M., CADDEO C., BANDINO G, MORO C., SEDDA P., 2008. *L'olivicoltura sarda punta sulle varietà autoctone*. L'Informatore Agrario 34: 57-59.

ROSELLI G.. 1990. *Miglioramento genetico dell'olivo: la selezione del materiale di moltiplicazione e la tutela del germoplasma*. Atti del Convegno "Nuove prospettive del vivaismo olivicolo", Pescia, Italia.

RUGINI E., LAVEE S., 1992. *Olive*. In: Hammerschlag F. A., Ltz R. (Eds) Biotecnology of perennial fruit crop. Cab international, Wallingford, UK, pp. 371-382.

Impiego dell'analisi di *High Resolution Melting* nella genotipizzazione di cultivar di olivo tramite marcatori SNPs

Colao M.C., Colli F., Miano D., Rugini E. e Muleo R.*
Dipartimento di Produzione Vegetale, Laboratorio di Ecofisiologia Molecolare delle Piante Arboree, Università della Tuscia

Use of High Resolution Melting analysis in the genotyping of olive cultivar by single nucleotide polymorphisms

Abstract. novel molecular markers snps have been developed in sequences coding for functional enzymes with relevant roles in plant and fruit development and in secondary metabolism. high resolution melting (hrm) analysis was used as a simple and cost-effective method for high throughput mutation scanning and genotyping. this technique measures temperature induced strand separation of pcr amplicons (melting curve) in order to detect variation of one base difference between samples with size around 300 bp. the analysis allowed to explore a high number of genotypes starting from information about a single gene from one genotype. the snp set developed has been employed to genotype 23 olea europaea l. cultivars distributed in the central region of italy. both genes in which snp presence was supposed by comparing dna sequences from different accessions and non-characterized genes were considered. in particular genes coding for phytochrome a, lupeol synthase, cycloartenol synthase and glycosyltranferase were investigated. the results were used to establish the genetic relationship among olive cultivars using cluster analysis. new genetic markers were developed with a simple and original approach for resolving cultivars genotyping, as well as for providing data for map construction, association studies, marker-assisted selection and targeting induced local lesion in genomes (tilling), in order to find natural allelic variants for breeding programmes in olive.

Key words: allelic variants, functional genes, HRM, nucleotide polymorphism, Olea europaea L.

Introduzione

L'Italia è il paese con il più ampio patrimonio genetico della forma coltivata di *Olea europaea* subsp. *europaea* var. *europaea* ed anche la forma selvatica, conosciuta come oleastro (*Olea europaea* subsp. *europaea* var. *sylvestris*) è molto diffusa. Negli anni recenti, sono stati individuati diversi marcatori molecolari per caratterizzare ed identificare le cultivar e le forme selvatiche di olivo. Tra questi possono essere annoverati isoenzimi (Ouazzani *et al*., 1993), RFLP di DNA cloroplastico (Lumaret *et al*., 2000), AFLP (Baldoni *et al*., 2000), RAPD (Besnard *et al*. 2001), microsatelliti (Rallo *et al*., 2000), ed anche l'impiego combinato di più marcatori (Belaj *et al*., 2003).

Recentemente, molti metodi sono stati sviluppati per individuare polimorfismi a livello del singolo nucleotide (SNP), che rappresentano la più avanzata generazione di marcatori molecolari nelle piante. L'impiego degli SNP potrebbe migliorare la comprensione delle basi genetiche di caratteri complessi, quali la produttività della pianta, lo sviluppo della chioma e dell'apparato radicale, il cambiamento di fase, la resistenza a stress abiotici e la tolleranza a stress biotici. Queste conoscenze potrebbero essere determinanti per lo sviluppo di programmi di miglioramento genetico. Infine, la presenza di SNP in sequenze di geni, che putativamente influenzano i tratti di interesse, possono essere impiegati per la costruzione di mappe genetiche funzionali (Salmaso *et al.,* 2008). Diverse sono le tecniche di identificazione degli SNP, ma si tratta di metodi spesso tecnicamente complessi che richiedono la presenza di primer e/o sonde allele specifiche (Bottero *et al.,* 2007) e pertanto non possono essere usati per individuare mutazioni ignote, ma solo conosciute. In questo lavoro è stata utilizzata una tecnologia innovativa che velocizza e facilita l'individuazione degli SNPs e nello stesso tempo permette la genotipizzazione di un notevole numero di accessioni (Krypuy *et al.,* 2007). La tecnologia sfrutta l'andamento differenziale delle temperature di associazione e dissociazione del doppio filamento di DNA (*melting curve*) in presenza di mutazioni puntiformi in frammenti di circa 300 bp. L'analisi melting è in grado di sostituire buona parte degli esperimenti di sequenziamento che altrimenti dovrebbero essere effettuati, unitamente alle analisi *in silico*, per individuare SNPs che possano essere impiegati per la genotipizzazione.

* muleo@unitus.it

Materiali e metodi

Le cultivar impiegate in questa indagine, collezionate presso l'azienda dell'ARSIAL di Monopoli (RI), sono 'Brisighella', 'Canino', 'Carboncella', 'Dolce agogia', 'Frantoio', 'Itrana', 'Itrana precoce', 'Marina', 'Maurino', 'Minutella', 'Moraiolo', 'Oleastro', 'Olivago', 'Olivella', 'Pendolino', 'Raja Sabina', 'Rosciola', 'Salvia', 'Salviana', 'Sirole', 'Vallenella'. La purificazione del DNA genomico, la PCR, l'acquisizione e l'analisi delle curve di melting sono state effettuate come descritto in Muleo *et al.* 2009. In tabella 1 sono riportati la descrizione dei geni analizzati e dei primers impiegati.

Risultati

L'analisi HRM indica che i quattro geni esaminati, fitocromo A, glicosiltransferasi, lupeol sintasi e cicloartenol sintasi, presentano polimorfismi a livello del singolo nucleotide in una popolazione di 23 cultivar di *Olea europaea* L. diffuse nel centro Italia.

In particolare, per il fitocromo A, sono stati analizzati due frammenti di DNA ciascuno dei quali presenta un singolo SNP, utilizzando una metodica messa a punto precedentemente (Muleo *et al.* 2009). Come mostrato in figura 1, la curva di melting degli individui omozigoti ha un singolo dominio di melting (omozigoti C/C), mentre gli individui eterozigoti ne presentano due (eterozigoti C/A). L'analisi indica che, complessivamente, le cultivar si raggruppano in due insiemi: 17 cultivar sono doppi omozigoti e 6 cultivar sono doppi eterozigoti. Per ottenere informazioni più dettagliate sulla natura degli omozigoti senza ricorrere all'analisi di sequenza, questi campioni sono stati ulteriormente controllati in presenza di un DNA di riferimento con genotipo omozigote noto. Dal momento che le curve di melting delle miscele a presentano un singolo dominio, non esistono differenze di sequenza tra campione e riferimento; in caso contrario il risultato atteso sarebbe stato una curva di melting con due domini.

Nel caso della glicosiltransferasi, lupeol sintasi e cicloartenol sintasi, la presenza di polimorfismi era stata ipotizzata soltanto sulla base delle informazioni depositate in banca dati. In questo caso, sono stati analizzati tratti di sequenza di 804 bp, 572 bp e 2178 bp rispettivamente, suddivisi in frammenti parzialmente sovrapposti tra loro, con lunghezza che varia da 95 a 329 bp. Come atteso i profili delle curve di mel-

Tab. 1 - Descrizione dei geni, nome e sequenza dei primers utilizzati, dimensioni dei frammenti amplificati.
Tab.1 - Description of genes, name, primer sequence and size of amplification fragments.

Geni	Primer forward	Primer reverse
Fitocromo A		
816F – 914R	5'-ACTCAGAGGGAGAAGGGAAGCA-3'	5'-CTCGTCGGTCACAAGGTGGAAG-3'
1029F – 1123R	5'-AAGAAGTGTCTGATTCTGCACAG-3'	5'-ACCTCGGAGTTGTGTTATGGC-3'
Glicosiltransferasi		
1F – 183R	5'-AACGCGCAACTATGATCATGAGA -3'	5'- CTTCCCTTCTCCCTCTGAGTTTTCTTTG -3'
148F – 333R	5'-CAACTGAATGGTACAAGAACTC -3'	5'-GGTGGAAGACTACCTTATTGGG -3'
258F -374R	5'-CATTCTTGCAACTTCAGTTGTGG -3'	5'- CCAGGCCTTCATTGCAGCATA -3'
353F – 498R	5'- TATGCTGCAATGAAGGCCTGG -3'	5'- GGGTGTCAGAGTCTTGAAGAAGC-3'
601F – 759R	5'- ATCCCGAATTGAACAAGGTGG-3'	5'- AACGCGCAACCACATGCATCAGG-3'
Lupeol sintasi		
8F – 251R	5'- GAGCCCGTTCTAACTCGATGG -3'	5'- GGATCTTCTACCCAACAAGC -3'
243F – 572R	5'- GAAGATCCTATTTCTGAAGC -3'	5'- AAACCCACATTTGACACC -3'
Cicloartenol sintasi		
5F – 306R	5'- TGCTACTTTTTCAGGCAAACA -3'	5'- TGCTACAATCTCCTTTGTCCAG -3'
248F – 605R	5'- GCAGGGCTATAATGGAAGTCA -3'	5'- TCATGGTATCGTCACATTTCG -3'
587F – 908R	5'-TGAAGCTTTTTAATTTGATTAGTTTGG-3'	5'-TAACTGGATATTGGAAAAAGATGG-3'
853F – 1148R	5'-CCTGACCTGAGAATCCCAAA-3'	5'-CTTGCAGAACGATGGAGGTG-3'
1144F – 1489R	5'-TGGACAAAGGAGATTGTAGCA-3'	5'-CTTCCATTATAGCCCTGCAA-3'
1400F – 1720R	5'-CATGGTCTGCGGTTGAAAAG-3'	5'-CAACCAAACTAATCAAATTAAAAGC-3'
1716F – 2025R	5'-AAATTCTTCCAAAGCATTATTATCG-3'	5'-TATATTTGGGATTCTCAGGTAAGG-3'
1960F – 2178R	5'-CCTCCATCCAACTATAGGATCTTG-3'	5'-GAAATGATCTTCATACGCATCAG-3'

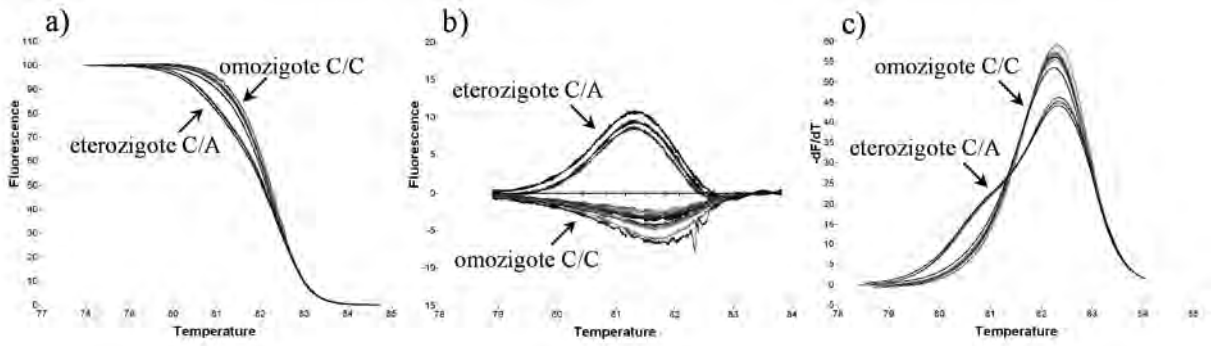


Fig. 1 - Analisi della melting del frammento di 98 bp 816F – 914R del fitocromo A: a) curva di melting che mostra la caduta della fluorescenza in relazione all'incremento di temperatura; b) differential plot che indica la differenza di fluorescenza rispetto ad un genotipo di riferimento; c) derivate plot che riporta la derivata della curva di melting; il valore massimo corrisponde alla temperatura di melting.
Fig. 1 - High resolution melting analysis of phytochrome A 98 bp fragment (816F -914R): a) melting curve displaying the fluorescence behavior versus temperature; b) differential plot displaying the difference in fluorescence of samples in relation to a reference genotype; c) derivate plot displaying the derivate of the melting curve; the maximum value corresponds to the melting temperature.

ting per le 23 cultivar hanno mostrato un grado di complessità che può essere attribuito sia alla presenza di domini più complessi in frammenti di dimensioni superiori alle 100 bp sia alla presenza di SNP singoli, doppi, multipli e di *indel*. I polimorfismi individuati con l'HRM sono stati confermati tramite l'analisi di sequenza evidenziando che le predizioni avevano una accuratezza quasi del 100%. I risultati ottenuti hanno permesso di limitare il numero delle sequenze da effettuare ai soli campioni che presentavano differenze nei profili delle curve di melting. In tabella 2 sono indicati gli SNP e gli *indel* individuati, è da notare che il loro numero è significativamente superiore a quello ipotizzato sulla base delle informazioni disponibili in

Tab. 2 - Risultati ottenuti dall'analisi dei geni che codificano per fitocromo A, glicosiltransferasi, lupeol sintasi, cicloartenol sintasi tramite analisi HRM e sequenziamento di Sanger.
Tab. 2 - Results obtained for genes encoding phytochrome A, glycosyltransferase, lupeol synthase, cyclortenol synthase with HRM analysis and Sanger sequencing.

Gene	Frammento (bp)	Polimorfismo individuato
Fitocromo A		
816F – 914R	98 bp	865C > A
1029F – 1123R	94 bp	1065C > A
Glicosiltransferasi		
1F – 183R	182 bp	43C > T, 171G > A
148F – 333R	146 bp	171G > A, 230C > A
258F -374R	95 bp	314C > A, 334C > T
353F – 498R	115 bp	376C > T
601F – 759R	175 bp	700C > T
Lupeol sintasi		
8F – 251R	243 bp	136C > T
243F – 572R	324 bp	273G > A; 291G > T, 412G > T
Cicloartenol sintasi		
5F – 306R	301 bp	156A > T, 185A > T, 260C > A
248F – 605R	321 bp	378C > A, 500G > A, 567C > T
587F – 908R	321 bp	778G > A, 804G > T, 887G > T, 888G > T
853F – 1148R	321 bp	887G > T, 888G > T, 907C > T, 979C > T, 1103C > T
1144F – 1489R	325 bp	1324C > A, 1369G > A, 1401G > A, 1418C > A, 1447C > T
1400F – 1720R	320 bp	1418C > A, 1447C > T, 1478G > A, 1539G > A, 1600G > A,1616Δ2, 1669Δ3
1716F – 2025R	329 bp	1900A > T, 1924G > A
1960F – 2178R	218 bp	2035G > A, 2099G > A

banca dati. Sono stati individuati complessivamente 38 nuovi SNPs, 22 transversioni e 16 transizioni, e 2 *indel* di 2 e 3 bp.

In particolare il tratto di 804 bp della glicosil transferasi analizzato presenta tre SNPs che determinano sostituzioni conservative nella sequenza proteica dedotta (N57S, L67I, N105Y) e tre SNPs silenti in quanto non determinano sostituzioni aminoacidiche. Invece, nel tratto della lupeol sintasi di 572 bp, 2 SNPs sono localizzati in sequenze introniche, e 2 sono silenti. Più complessa è la situazione della ciclartenol sintasi per la quale il cDNA è stato caratterizzato solo parzialmente. Solo 4 SNPs possono essere posizionati con certezza del tratto codificante del gene e di questi 2 sono silenti, mentre altri due (887G > T, 888G > T) sono stati verificati solo nella cultivar Maurina. L'analisi di sequenza rivela inoltre che 13 SNPs sono localizzati nelle sequenze introniche e, di questi, 10 SNPs ed i 2 *indel* sono localizzati tutti in un unico introne di 828 bp.

Sulla base dei profili delle curve di melting del DNA e della corrispondenza fra i risultati e l'analisi di sequenza, sono stati infine individuati 9 frammenti di DNA che appartengono ai 4 geni studiati utili per effettuare un fingerprinting molecolare di cultivar di diversa provenienza. I risultati preliminari ottenuti su un gruppo di 23 cultivar hanno permesso di costruire una matrice di similarità e un dendrogramma (fig. 2) che conferma alcuni risultati ottenuti con un'analisi di genotipizzazione classica tramite marcatori molecolari SSR.

Pertanto la tecnologia HRM si è dimostrata utile per individuare marcatori molecolari SNPs per la genotipizzazione di cultivar di olivo, ma anche per la caratterizzazione di varianti alleliche in geni funzionali. Questo approccio potrebbe pertanto essere impiegato per la scoperta di polimorfismi nel DNA di geni di importanza agronomica sia in popolazioni naturali che in esperimenti di TILLING (*Target Induced Local Lesions IN Genome*).

Conclusioni

La tecnologia HRM è altamente risolutiva per individuare polimorfismi in frammenti genici di cui non è nota la sequenza. In questo lavoro sono stati individuati su 4 geni funzionali una serie di SNPs da impiegare in analisi di genotipizzazione e di popolazioni segreganti. L'analisi HRM si è dimostrata duttile, economica ed ha consentito non soltanto lo sviluppo di nuovi marcatori SNPs utili per il fingerprinting molecolare in olivo, ma anche per la ricerca di varianti alleliche in geni portatori di caratteri utili. I marca-

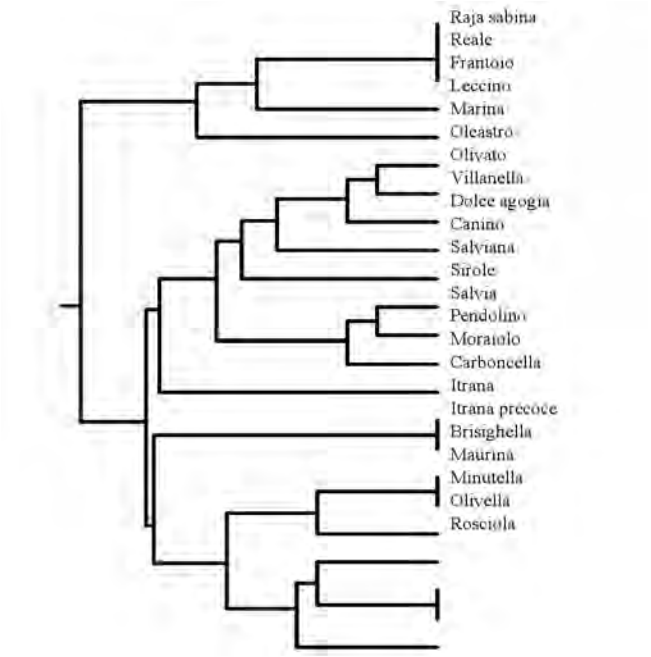


Fig. 2 - Relazioni genetiche tra 23 cultivar di olivo sulla base del coefficiente di similarità ottenuto dalla caratterizzazione di 9 marcatori SNPs e *cluster analysis* con l'algoritmo UPGMA.
Fig. 2 - Genetic relationship between 23 olive cultivars on the basis of similarity coefficient with 9 SNP markers and cluster analysis with UPGMA algorithm.

tori SNP e la tecnica della HRM permettono di analizzare una notevole quantità di varietà ed ecotipi ambientali al fine di ottenere nuove varietà tramite il miglioramento genetico da condurre con l'ausilio della selezione assistita con marcatori molecolari.

Riassunto

Sono stati individuati nuovi marcatori molecolari SNP nelle sequenze di regioni geniche di olivo che codificano per proteine ed enzimi con funzioni rilevanti per lo sviluppo della pianta e del frutto ed implicati nella regolazione della sintesi di prodotti secondari. A questo scopo è stata utilizzata l'analisi HRM (*High Resolution Melting*), una metodica di genotipizzazione innovativa che facilita l'individuazione delle mutazioni e nello stesso tempo ha costi ridotti. Questa tecnica viene usata per caratterizzare campioni di DNA in base al loro comportamento durante la dissociazione del doppio filamento che si verifica con l'aumento della temperatura (*melting curve*) e rileva la presenza di mutazioni puntiformi in frammenti di circa 300 bp. In questo modo, partendo dalla sequenza di un gene in un solo genotipo, è possibile caratterizzare un elevato numero di accessioni. L'insieme di SNP sviluppati è stato utilizzato per la genotipizzazione di 23 cultivar di *Olea europaea* L. diffuse nell'Italia centrale. Sono stati considerati sia geni in

cui la presenza di SNPs era stata ipotizzata sulla base dell'analisi delle sequenze disponibili, sia geni per i quali non si avevano informazioni dettagliate. In particolare sono stati considerati tratti di DNA genomico che codificano per fitocromo A, lupeol sintasi, cicloartenol sintasi, glicosil tranferasi. I marcatori SNP individuati sono pertanto stati impiegati per ricostruire le relazioni genetiche tra le cultivar analizzate tramite *cluster analysis*. I risultati ottenuti hanno consentito di sviluppare nuovi marcatori genetici in olivo con un approccio innovativo e semplice, che risolve problemi di identificazione varietale e fornisce dati per la costruzione di mappe geniche, importanti negli studi di associazione, di *marker-assisted selection* e di *Targeting Induced Local Lesion IN Genomes* (TILLING), per la ricerca di varianti naturali di alleli da impiegare nei programmi di miglioramento genetico.

Parole chiave: geni funzionali, HRM, *Olea europaea* L, polimorfismi di sequenza, varianti alleliche.

Ricerca finanziata dal Ministero dell'Economia e delle Finanze, dell'Istruzione, Università e Ricerca, dell'Ambiente della Tutela del Territorio, delle Politiche Agricole e Forestali, nell'ambito del progetto "Miglioramento delle proprietà sensoriali e nutrizionali di prodotti alimentari di origine vegetale relativi alla prima ed alla seconda trasformazione".

Bibliografia

BALDONI L., ET AL., 2000. *Acta Hortic* 521:275-284.
BELAJ A., ET AL., 2003. *Theor Appl Genet* 107:736-744.
BESNARD G., BARADAT P., BERVILLÉ A. 2001. *Theor Appl Genet* 102: 251-258.
BOTTERO M.T., ET AL., 2007. *J Biotechnol* 129:575-580.
KRYPUY M., ET AL., 2007. *BMC Cancer* 7(168):16-17.
LUMARET R., ET AL., 2000. *Theor Appl Genet* 101:547-553.
MULEO R., ET AL., 2009. *Genome* 52(3):252-260.
OUAZZANI N., LUMARET R., VILLEMUR P., DI GIUSTO F. (1993) *J Hered* 84:34-42.
RALLO P., DORADO G., MARTÍN A. (2000) *Theor. Appl. Genet.* 101:984-989.
SALMASO M., MALACARNE G., TROGGIO M., FAES G., STEFANINI M., GRANDO M.S., VELASCO R. (2008) *Theor Appl Genet 116:1003-1013.*

Valorizzazione del germoplasma autoctono della regione Puglia: corrispondenza varietale e fingerprinting molecolare di olivi monumentali

Zelasco S.[1], Faccioli P.[2], Madeo A.[1], Cesari G.[3], Perri E.[1], Simeone V.[3] e Lanza B.[1*]
[1] CRA OLI, Centro di Ricerca per l'Olivicoltura e l'industria Olearia, Rende (CS)
[2] CRA GPG, Centro di Ricerca per la genomica e la postgenomica animale e vegetale, Fiorenzuola (PC)
[3] Istituto Agronomico Mediterraneo, 70010 Valenzano (BA)

Autochthon germplasm exploitation from Apulia region: varietal correspondence and molecular fingerprinting of monumental olive trees

Abstract. In this work, a first level investigation was carried out to study the genetic variability inside a sample of secular trees and in comparison with known autochthonous cultivars. Leaf samples were collected from plants located in a large area between Bari and Brindisi provinces. Genomic DNA was extracted using a commercial kit (Sigma-Aldrich) and seven pair of AFLP primers were used to conduct selective amplifications. AFLP fragments were processed by 3130XL genetic analyzer (Applied Biosystems) and qualitative binary data processed using NT-SYSpc 2.2 software. A similarity matrix was obtained using Dice coefficient and a dendrogram was constructed by means of the UPGMA algorithm. AFLP analysis of 19 accessions provided a total of 717 markers. An interesting cluster including all secular olive accessions emerged and a tight relationship was observed between secular olive accessions and Ogliarola Salentina and Cima di Mola cultivars. Genetic variability detected within secular olive germplasm by AFLP analysis indicates a certain amount of genetic variability such to justify a larger exploitation and biodiversity maintenance of Apulia secular germplasm.

Key words: secular Olive, AFLP, molecular characterization, genetic variability.

Introduzione

La Puglia è la regione più olivetata d'Italia e vanta la più antica tradizione per la coltivazione dell'olivo e la produzione di olio. La superficie coltivata ad oliveto è di circa 370.000 ettari di cui il 10% è costituito da olivi secolari e l'1% multisecolari che oltre ad essere inseriti nel panorama produttivo pugliese, mostrano anche una grande valenza paesaggistica. La crisi del mercato dell'olio di oliva però ha portato a credere che la sostituzione degli olivi plurisecolari con sistemi di coltivazione più intensivi possa risolvere i problemi di redditività aziendale. La legge regionale 4 giugno 2007 n.14 "Tutela e valorizzazione del paesaggio degli ulivi monumentali della Puglia" recentemente introdotta, prevede che l'olio prodotto da tali piante venga valorizzato attraverso una serie di misure quali la rintracciabilità, la certificazione e la commercializzazione con l'impiego della menzione speciale: "Olio extravergine degli ulivi secolari di Puglia". In questo contesto, la necessità di caratterizzare geneticamente il materiale vegetale di origine diventa ancor più significativa. L'origine stessa delle cultivar attuali di olivo non è ancora chiara: considerata la longevità della pianta e la propagazione vegetativa a cui la specie è stata sottoposta per diverse generazioni, la maggior parte delle varietà in coltivazione sono molto vecchie e distribuite entro aree ristrette, probabilmente derivate da selezioni locali svolte dall'uomo (Besnard *et al*., 2001, Belaj *et al*., 2004). Tuttavia, la specie ha subito una ridotta azione di miglioramento genetico che associata alla scarsa manifestazione di fenomeni di erosione genetica hanno contribuito alla conservazione, pressoché intatta, della sua variabilità (Ganino *et al*., 2007). Studi inerenti la struttura della diversità genetica possono fornire delle indicazioni riguardo l'origine e la selezione delle forme coltivate e questo può consentire una migliore gestione della loro diversità (Besnard *et al*., 2001). La Puglia presenta un germoplasma olivicolo molto ricco e variegato: sono state individuate più di 40 cultivar (Lombardo *et al*., 2004) e molte di esse sono già state caratterizzate sotto il profilo molecolare (Muzzalupo *et al*., 2006) e morfo-bioagronomico (Lombardo *et al*., 2004), mentre scarse sono le conoscenze relative alla biodiversità del germoplasma plurisecolare pugliese. In questo lavoro è stato condotto un primo studio utilizzando marcatori molecolari AFLP, per descrivere la variabilità genetica all'interno di un campione di olivi monumentali, localizzati in un areale situato tra le province di Bari e di Brindisi, in comparazione con nove tra le principali varietà pugliesi in coltivazione.

* barbara.lanza@entecra.it

Materiali e metodi

Materiale vegetale

Nell'areale situato a sud-est tra le province di Bari e di Brindisi, sono stati selezionati alcuni individui monumentali rappresentativi del contesto aziendale e/o del sito di reperimento. L'età delle piante è stata approssimativamente stimata attraverso una misurazione del diametro della ceppaia e le piante campionate sono state oggetto di georeferenziazione. Durante il periodo invernale da novembre a gennaio, sono stati prelevati campioni di foglie adulte dalle piante plurisecolari selezionate (tab. 1) e dalle seguenti cultivar pugliesi: 'Cima di Mola', 'Ogliarola Salentina', 'Cellina di Nardò', 'Oliastro', 'Lezze' ed 'Ogliarola Barese', localizzate nel campo collezione di Mirto Crosia (CS) del CRA-Centro di Ricerca per l'Olivicoltura e l'Industria Olearia di Rende (CS), 'Nociara', 'Coratina' e 'Pasola', situate invece nel campo sperimentale annesso al suddetto Centro di Ricerca.

Analisi AFLP

Il DNA genomico è stato estratto utilizzando il kit commerciale *Genelute Plant Genomic*™ *DNA miniprep Kit* (Sigma-Aldrich) a cui è seguita una precipitazione con 2 volumi di etanolo assoluto e un decimo del volume di Sodio-Acetato 3M. Il DNA è stato quantificato mediante lettura spettrofotometrica. L'analisi AFLP è stata condotta secondo la metodologia descritta da Vos *et al*. (1995) e per le amplificazioni selettive sono state utilizzate 7 combinazioni di primer, M-CAA/E-ACT, M-CAC/E-ACA, M-CAG/E-AAC, M-CAC/E-ACT, M-CAA/E-ACA, M-CAG/E-ACT, M-CAG/E-ACA. I frammenti amplificati sono stati analizzati mediante sequenziatore automatico (3130 XL Genetic Analyzer). I dati qualitativi binari sono stati prodotti direttamente dal software Genemapper v.4.0 che ha selezionato esclusivamente i picchi polimorfici. Il livello di similarità genetica è stato stimato utilizzando l'indice di Dice che ha prodotto una matrice di similarità successivamente analizzata mediante l'algoritmo UPGMA per la costruzione del dendrogramma.

E' stato inoltre calcolato il coefficiente di correlazione cofenetico ed eseguito il Mantel test per verificare la bontà dell'analisi *cluster* rispetto alla matrice di similarità sulla quale essa si basa, mediante il software NT-SYSpc v. 2.2.

Risultati

L'analisi AFLP condotta con sette combinazioni di primer selettivi ha prodotto 717 marcatori polimorfici che hanno consentito di discriminare tutte le 19 accessioni analizzate. Il coefficiente di correlazione cofenetico *r* tra il dendrogramma e la matrice di similarità originaria è risultato alto e pari a 0,99, indicando l'elevata bontà dell'analisi *cluster*.

Il dendrogramma (fig. 1) evidenzia un primo *cluster* che raggruppa tutte le accessioni di olivi monumentali analizzate con una stretta relazione con due cultivar, 'Ogliarola Salentina' e 'Cima di Mola'. La corrispondenza genetica della cultivar Ogliarola Salentina con le accessioni di olivi monumentali varia da 0,89 a 0,93 mentre quella della cultivar Cima di Mola varia da 0,86 a 0,95. Tra le due cultivar il valore di similarità è pari a 0,93. Le accessioni di olivi monumentali Sec003 e Sec009 e quest'ultima e la cultivar Cima di Mola risultano avere la maggiore corrispondenza genetica con un valore di similarità pari a 0,95, mentre il *range* di similarità genetica fra tutte le accessioni varia da 0,67 e 0,95. Analizzando la variabilità genetica entro le accessioni di olivi monumentali rispetto alle accessioni delle

Tab. 1 - Codici di identificazione del materiale vegetale plurisecolare analizzato, località e sito di reperimento, dati di georeferenziazione.
Tab. 1 - Identification codes of secular plant material analysed, location and retrieval area, georeferencing informations.

Codice	Località	Sito di reperimento	Longitudine	Latitudine
Sec 001	Ostuni (BR)	ITAS Ostuni	17.574122°	40.743421°
Sec 002	Fasano (BR)	Museo Egnazia	17.388343°	40.886333°
Sec 003	Ostuni (BR)	Az. Brancati	17.554230°	40.763567°
Sec 005	Fasano (BR)	Az. Borri	17.382750°	40.869940°
Sec 006	Cisternino (BR)	Az. Raggioverde	17.450233°	40.729794°
Sec 007	Monopoli (BA)	Az. Barnaba	17.326830°	40.894530°
Sec 009	Monopoli (BA)	Az. Annese	17.273333	40.912500°
Sec 010	Monopoli (BA)	Az. Angiulli	17.255278°	40.952500°
Sec 012	Ostuni (BR)	Az. Asciano	17.621430°	40.747430°
Sec 017	Carovigno (BR)	Az. Carrone	17,648456°	40.686201°

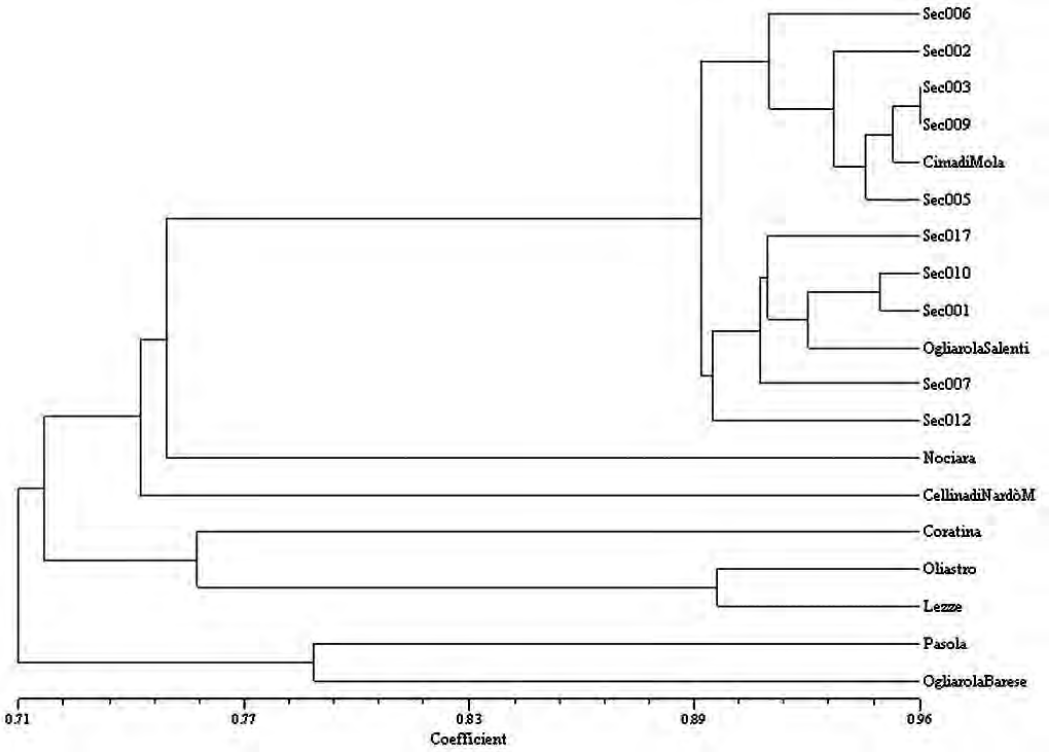


Fig.1 - Dendrogramma elaborato con l'algoritmo UPGMA delle 19 accessioni analizzate.
Fig. 1 - Dendrogram procesied with the algorithm UPGMA of 19 accessions analysed.

cultivar pugliesi note si riscontrano valori di similarità da 0,86 a 0,95, mentre le accessioni delle cultivar note mostrano tra loro una maggiore variabilità genetica con valori di similarità da 0,67 a 0,93.

Discussione

L'impiego di marcatori molecolari AFLP si è dimostrato molto efficace nella discriminazione delle 19 accessioni analizzate grazie alla loro natura in grado di produrre numeri molto elevati di bande polimorfiche ad alto grado di copertura del genoma, associata alla possibilità di automazione che ha reso la metodologia ancor più efficiente. Infatti in questo lavoro è stato prodotto un numero elevato di marcatori polimorfici (717) mediante l'impiego di sette combinazioni selettive di primer.

La cultivar Ogliarola Salentina è la più diffusa sul territorio pugliese ed è coltivata su una superficie pari a 130.000 ha, nella provincia di Lecce, Brindisi e nella zona sud-est del barese definita localmente 'Cima di Mola' (Lombardo *et al.*, 2004). I campionamenti eseguiti corrispondono geograficamente all'areale di diffusione di tale cultivar. Come atteso, le strette relazioni genetiche tra gli ulivi plurisecolari e le cultivar *Ogliarola Salentina* e *Cima di Mola* sembrano indicare un *pool* genico fortemente condiviso, che sembra confermare la loro antica origine. I valori di similarità riscontrati tra le due cultivar e il germoplasma plurisecolare sembrano indicare comunque che non vi sia stato rimescolamento del patrimonio genetico attraverso eventi gamici, confermando come la diffusione delle cultivar nel tempo sia avvenuta mediante propagazione vegetativa. L'autoincompatibilità della 'Ogliarola Salentina' (Lombardo *et al.*, 2004) esclude con grande probabilità anche eventi di autoimpollinazione. Essa mostra inoltre caratteristiche agronomiche e tecnologiche molto simili alla 'Cima di Mola' (Pannelli e Alfei, 2008) e la corrispondenza genetica osservata tra le due cultivar conferma questa potenziale sinonimia. Sebbene i campionamenti siano stati eseguiti in un areale piuttosto ristretto ed il numero di accessioni analizzate limitato, l'analisi AFLP ha evidenziato un certo grado di variabilità genetica (14%) anche all'interno degli ulivi plurisecolari che merita di essere ulteriormente indagata per la pianificazione di programmi di valorizzazione di risorse genetiche *in situ* e mantenimento della biodiversità. Ai fini della valorizzazione degli olivi monumentali, nell'ambito del progetto 'Ricerca e Innovazione per l'Olivicoltura Meridionale-Risorse aggiuntive', ulteriori informazioni saranno ottenute con un campionamento più ampio ed associando la caratterizzazione molecolare all'analisi morfo-bioagronomica e quali-quantitativa dell'olio extravergine ottenuto.

Riassunto

In questo lavoro è stato condotto un primo studio per descrivere la variabilità genetica di un campione di olivi secolari in comparazione con alcune delle principali cultivar pugliesi. Campioni fogliari sono stati raccolti da piante localizzate in un ampio areale situato tra le province di Bari e di Brindisi. Il DNA genomico è stato estratto utilizzando un kit commerciale (Sigma-Aldrich) e sette combinazioni di primer AFLP sono state impiegate per condurre le amplificazioni selettive. I frammenti amplificati analizzati mediante sequenziatore automatico (3130 XL Genetic Analyzer) su 19 accessioni hanno prodotto 717 marcatori polimorfici. Una matrice di similarità è stata ottenuta usando il coefficiente di similarità di Dice ed il dendrogramma è stato ottenuto mediante l'algoritmo UPGMA (software NT-SYS pc v.2.2). Tutte le accessioni degli olivi monumentali risultano raggruppate in un primo cluster, mostrando una stretta relazione con due cultivar note, 'Cima di Mola' e 'Ogliarola Salentina'. La variabilità genetica del germoplasma secolare pugliese campionato, ottenuta mediante analisi AFLP, indica un livello di diversità genetica tale da giustificare un programma più ampio di valorizzazione e conservazione della biodiversità del patrimonio secolare a livello regionale.

Parole chiave: olivo secolare, Puglia, DNA, caratterizzazione molecolare, biodiversità.

Bibliografia

ANGIOLILLO A., MENCUCCINI M., BALDONI L., 1999. *Olive genetic diversity assessed using amplified fragment length polymorphisms*. Theor Appl Genet. 98 : 411-421

BELAJ A., RALLO L., TRUJILLO I., BALDONI L., 2004. *Using RAPD and AFLP Markers to Distinguish Individuals Obtained by Clonal Selection of 'Arbequina' and 'Manzanilla de Sevilla' Olive*

BESNARD G., BARADAT P.,· BERVILLÉ A., 2001. *Genetic relationships in the olive (*Olea europaea *L.) reflect multilocal selection of cultivars*. Theor Appl Genet 102:251–258

GANINO T., BEGHÉ D., VALENTI S., NISI R., FABBRI A., 2007. *RAPD and SSR markers for characterization and identification of ancient cultivars of* Olea europaea *L. in the Emilia region, Northern Italy*. Genet Resour Crop Evol. 54:1531–1540

LOMBARDO N., ALESSANDRINO M., GODINO G., MADEO A., 2006. *Comparative observations regarding the floral biology of 150 Italian olive (*Olea europaea *L.) cultivars*. Adv. Hort. Sci., 4.

LOMBARDO N., GODINO G., ALESSANDRINO M., BELFIORE T., MUZZALUPO I., 2004. *Contributo alla caratterizzazione del germoplsma olivicolo pugliese*. Volume a cura dell'Istituto Sperimentale per l'Olivicoltura-Rende(CS).

MUZZALUPO I., LOMBARDO N., MUSACCHIO A., NOCE M.E., PELLEGRINO G., PERRI E., SAJJAD A., 2006. *DNA sequence analysis of microsatellite markers enhances their efficiency for germplasm magement in an italian olive collection.* J. Amer. Soc. Hort. Sci. 131(3): 352-359

PANNELLI G., ALFEI B., 2008. *I parametri importanti per scegliere le cultivar*. Olivo e Olio, 6: 46-56.

Acta Italus Hortus 1: 134-137

Esperienze condotte presso il DSAA di Perugia sull'incapsulamento di propaguli *vitro*-derivati di olivo: risultati e prospettive

Micheli M.*, Compagnone A., Prosperi F., Standardi A.
Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università di Perugia

Studies on the encapsulation of vitro-derived propagules of olive at the DSAA of Perugia: results and perspectives

Abstract. In recent years, the researchers of the DSAA (University of Perugia) focused their studies on the encapsulation technology for the production of capsules and synthetic seeds as innnovative tools for the nurseries. Interesting results were obtained using vitro-derived propagules of commercial and local cultivars of olive (Olea europaea L.). The aim of this work has been to report the main experiences in order to specific problems related with type of explants, effect of the alginate matrix on the propagules regrowth, suitability of the inductive treatments, improvement of procedures for the storage and the conversion, and simplification of protocols.

Key words: in vitro cultures, micropropagation, microcutting, capsule, synthetic seed.

L'innalzamento degli standard qualitativi delle produzioni vivaistiche deve passare anche attraverso l'individuazione e l'applicazione di nuovi strumenti tecnologici che consentano, da un lato di aumentare efficienza e produttività e, dall'altro, di contenere i costi delle diverse fasi della filiera. In tal senso, grandi passi avanti sono stati fatti con l'adozione di alcune tecniche di coltura *in vitro* (micropropagazione), soprattutto nel settore frutticolo e floricolo, anche se l'impiego delle plantule *vitro*-derivate risulta ancora molto limitato. Infatti, tale materiale, prodotto in condizioni di asepsi, è poco maneggevole e inadatto alle consuete pratiche di stoccaggio e di trasporto a causa della possibilità di deperimento e/o danneggiamento durante la movimentazione e, perciò, sembrano presentarsi limiti applicativi, soprattutto di natura commerciale. In merito a ciò, già da tempo, presso il Laboratorio di colture *in vitro* del Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali (DSAA) dell'Università degli Studi di Perugia, si sta studiando la possibilità di mettere a punto nuove tecnologie in grado di coniugare i vantaggi della clonazione (elevata efficienza produttiva in spazi ridotti, certezza sanitaria, omogeneità ed uniformità del materiale vegetale, rapidità del ciclo produttivo) con quelli propri dei semi gamici, quali maneggevolezza, conservabilità e dimensioni ridotte. Tali potenzialità sembrano poter essere offerte dalla tecnologia dell'incapsulamento, in grado di integrarsi con la micropropagazione. Trattasi di un processo mediante il quale espianti *vitro*-derivati (unipolari o bipolari) vengono racchiusi in una matrice con funzione nutritiva e protettiva (*endosperma artificiale*), capace di mantenere inalterata la loro vitalità e la capacità di crescita, anche dopo eventuale stoccaggio (conservazione) e trasporto (Standardi *et al.*, 1999) (fig. 1). I prodotti dell'incapsulamento possono essere distinti in *capsule*, quando i germogli da esse scaturiti verranno nuovamente allevati nelle condizioni di coltura *in vitro* e quindi riutilizzati nella tecnica della micropropagazione. Si parla, invece, di *semi sintetici* se l'espianto inglobato dalla matrice di alginato di calcio è destinato ad evolvere in plantula completa (*conversione*), a seguito di semina in condizioni di asepsi (*in vitro*) o *in vivo* (*ex vitro*). In tutti i casi, comunque, si tratta di strutture caratterizzate da

Fig. 1 – Propaguli *vitro*-derivati di olivo incapsulati in alginato.
Fig. 1 - Vitro-*derived propagules of olive encapsulated in alginate.*

* micheli@agr.unipg.it

ridotte dimensioni (4-6 mm di diametro) e quindi più semplici da gestire in prospettiva di possibili differenti impieghi, quali la salvaguardia della biodiversità, lo scambio e diffusione di piante, fino alla commercializzazione del materiale di propagazione.

Considerati i soddisfacenti risultati ottenuti in numerose specie frutticole (Ganapathi *et al.*, 1992; Pattnaik *et al.*, 1995; Gardi *et al.*, 1999; Adriani *et al.*, 2000; Micheli *et al.*, 2002b; Romay Alvarez *et al.*, 2003; Lucaccioni *et al.*, 2005; Naik e Chand, 2006; Germanà *et al.*, 2007), alcuni studi effettuati presso il DSAA sono stati rivolti anche ad alcune varietà commerciali e locali di olivo (*Olea europaea* L.), con particolare riferimento alla identificazione e risoluzione di questioni relative alla tipologia degli espianti destinati all'incapsulamento, alla composizione dell'endosperma artificiale, agli effetti della matrice di alginato sulla ripresa dei propaguli, all'efficacia di alcuni trattamenti induttivi e all'individuazione ed ottimizzazione di specifiche procedure.

Alcuni studi preliminari hanno consentito di individuare la tipologia di espianto più idonea all'incapsulamento. Infatti il protocollo messo a punto da Standardi *et al.* (1995) prevede l'impiego di *microtalee*, rappresentate da porzioni uninodali di 3-4 mm di lunghezza, prive di foglie e provviste di gemme, prelevate da germogli micropropagati tagliando l'asse caulinare 1-2 mm sotto e sopra ciascun nodo (fig. 2).

Studi successivi hanno evidenziato una tendenziale migliore risposta all'incapsulamento da parte delle microtalee dotate di gemma apicale rispetto a quelle provviste di gemme ascellari (Micheli *et al.*, 1998; Menghini *et al.*, 1999), che hanno fatto riscontrare una *ripresa* (intesa come incidenza di propaguli incapsulati capaci di germogliare, quando seminati in opportune condizioni nutritive) rispettivamente pari al 58,3 e 23,3% in 'Ascolana Tenera', 100 e 66,7% in 'Canino', 97,7 e 37,8% in 'Dolce Agogia', 100 e 57,7% in 'Frantoio' e 96,7 e 74% in 'Moraiolo'. Tuttavia, nella prospettiva di applicare la tecnologia dell'incapsulamento nell'attività vivaistica, sembrerebbe antieconomico escludere l'impiego delle microtalee ascellari. In tal senso, quindi, ulteriori esperienze sono state indirizzate verso l'ottimizzazione della composizione della matrice incapsulante, che consentisse, nella sua funzione trofica, di migliorare la capacità di ripresa vegetativa delle microtalee, ad esempio, stimolando opportunamente la schiusura delle gemme o rendendo prontamente disponibili le componenti necessarie a sostenere i propaguli incapsulati durante le prime fasi di sviluppo. In tal senso, i risultati più interessanti sono stati conseguiti addizionando all'endosperma artificiale, costituito da Olive Medium Modified (OMM) (Mencuccini *et al.*, 1997) a metà concentrazione, zeatina (1 mg l^{-1}) e 50 g l^{-1} di saccarosio (Gardi *et al.*, 1999): in 'Moraiolo' è stato così riscontrato un incremento significativo della ripresa delle microtalee ascellari (90%). Risultati interessanti sono stati successivamente ottenuti anche in 'Dolce Agogia' e 'Correggiolo' mantenendo le capsule a 4 o 7°C per 30 giorni, prima della semina (Micheli *et al.*, 2003) o attraverso la somministrazione di GA_3 (1 mg l^{-1}) alle microtalee ascellari, prima dell'incapsulamento, allo scopo di interromperne la dormienza (Micheli e Standardi, 2005). Ulteriori indicazioni sono emerse anche modificando il substrato di semina: infatti, utilizzando OMM completamente privo di fitoregolatori, il 91,7% delle capsule di 'Moraiolo' ha mostrato ripresa completa (Micheli *et al.*, 2002).

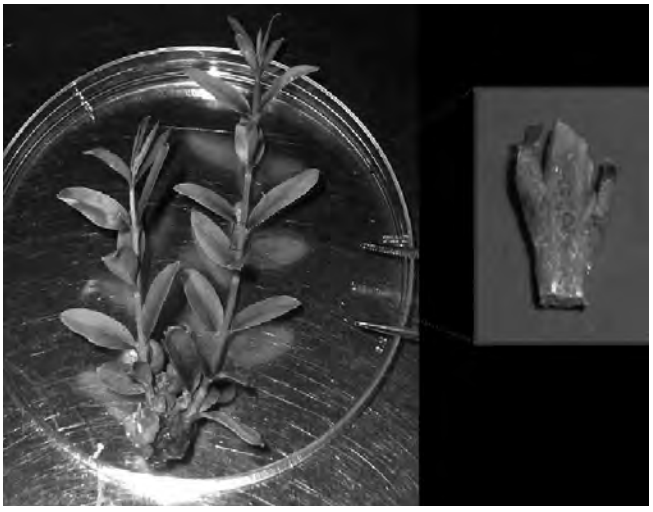


Fig. 2 – Microtalea di olivo (a destra) prelevata da germogli proliferati *in vitro*.
Fig. 2 - Microcutting of olive (right) excised from in vitro proliferated shoots (left).

Per quanto concerne l'utilizzazione delle capsule di olivo al fine di ripristinare cicli di colture *in vitro* nei laboratori commerciali, Micheli *et al.* (2007), dopo aver conseguito il 100% di ripresa da capsule di 'Moraiolo' sottoposte ad un breve periodo di stoccaggio (30 giorni) a 4°C o a temperatura ambiente, hanno confrontato le performance dei germogli da esse sviluppati con quelle di germogli provenienti dalla micropropagazione. I risultati mettono in evidenza come i primi mostrino un coefficiente di moltiplicazione statisticamente superiore (10 rispetto a 8,6) e, a parità di attitudine rizogena (rispettivamente pari a 90 e 86,7%), ciascuno dei germogli originati da microtalee incapsulate abbia mediamente sviluppato 2,6 radici di 19,3 mm di lunghezza, significativamente superiori a quanto riscontrato nei germogli micropropagati (1,7 radici di 16,1 mm).

Significative sono state anche le indagini condotte

al fine di verificare la possibilità di allestire semi sintetici di olivo. Studi preliminari, infatti, hanno consentito di conseguire conversione da embrioni somatici di 'Canino' incapsulati in alginato (55,5%) (Micheli *et al.*, 2002a). Tuttavia, poiché l'impiego di questo tipo di propaguli presenta rischi di variazioni somaclonali (Standardi e Piccioni, 1998), gli studi successivi sono stati indirizzati all'impiego delle microtalee unipolari. Ciò, ovviamente, ha comportato la necessità di superare le problematiche connesse con l'individuazione di idonee modalità di somministrazione dei trattamenti induttivi rizogeni ai fini della conversione. In tal senso, significative sono state le esperienze condotte da Micheli *et al.* (2003), che hanno reso possibile la conversione del 43,3% dei semi sintetici di 'Moraiolo' sottoponendo le microtalee, prima dell'incapsulamento, ad una immersione in soluzione di IBA (5 mg l^{-1}) e saccarosio (15 g l^{-1}) per 72 ore e, successivamente ad un periodo di *pre-emissione* su carta da filtro, al fine di favorire gli scambi gassosi ritenuti essenziali per mantenere elevate le attività enzimatiche connesse con le funzioni respiratorie durante le prime fasi della rizogenesi (Standardi *et al.*, 1999). Questi dati hanno dimostrato come sia possibile realizzare semi sintetici anche in olivo, prospettando così grandi potenzialità applicative in un settore del vivaismo che, in questi ultimi anni, ha ritrovato nuovi impulsi, soprattutto grazie ai grandi flussi di piante, necessari a soddisfare le richieste dei nuovi mercati internazionali interessati alla olivicoltura. Tuttavia, poiché la piena fruibilità della tecnologia dell'incapsulamento da parte degli operatori interessati alla diffusione di germoplasma vegetale si può concretizzare necessariamente nella possibilità di ridurne i costi applicativi e di poter ricorrere anche a tecniche di stoccaggio idonee a predisporre opportuni piani produttivi e distributivi, i ricercatori del DSAA hanno rivolto i loro studi più recenti al tentativo di semplificare le procedure per l'allestimento dei semi sintetici di olivo. In particolare, i risultati hanno consentito di verificare l'efficacia della somministrazione del trattamento induttivo la rizogenesi direttamente al materiale incapsulato, introducendo una interessante novità metodologica che lascia intravedere anche la possibilità di meccanizzare completamente tutte le fasi. I dati raccolti hanno mostrato, infatti, che questo protocollo consente di mantenere elevata la capacità di ripresa delle microtalee di 'Moraiolo' (100%) e di conseguire la radicazione in oltre il 40% dei casi (fig. 3), oltre che rendere possibile un breve periodo di stoccaggio a basse temperature (4°C) prima o dopo il trattamento induttivo (Micheli *et al.*, 2006).

In conclusione, i risultati finora ottenuti lasciano intravedere interessanti potenzialità riguardo a questa nuova biotecnologia, in grado di fornire prodotti "multifunzionali" (più maneggevoli, più semplici da stoccare e a basso rischio di deperimento o danneggiamento durante il trasporto), che in un prossimo futuro potrebbero anche essere utilizzati direttamente nelle medesime strutture vivaistiche attualmente usate per la propagazione tradizionale, qualora le ricerche consentissero, anche in olivo, di conseguire soddisfacenti livelli di conversione in condizioni di *ex vitro*, come già verificato in altre specie da frutto.

Fig. 3 – Conversione di seme sintetico di olivo.
Fig. 3 - Conversion of synthetic seed of olive.

Riassunto

Da alcuni anni, presso il Laboratorio di colture *in vitro* del Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali (DSAA) dell'Università degli Studi di Perugia, si sta studiando la possibilità di rendere applicativa la tecnologia dell'incapsulamento a fini vivaistici, attraverso l'allestimento di capsule e di semi sintetici a partire da materiale *vitro*-derivato. Soddisfacenti risultati sono stati ottenuti in numerose specie e, particolarmente significative, sembrano le esperienze condotte su alcune varietà commerciali e locali di olivo (*Olea europaea* L.). A tale proposito, con questo lavoro si riportano sinteticamente alcuni dei risultati più significativi, con particolare riferi-

mento allo studio degli effetti dell'incapsulamento sull'attività vegetativa dei propaguli e dell'efficacia di alcuni trattamenti induttivi, all'individuazione di procedure idonee per la frigoconservazione e la conversione, nonché alla semplificazione di alcuni protocolli.

Parole chiave: colture *in vitro*, micropropagazione, microtalea, capsula, seme sintetico.

Bibliografia

ADRIANI M., PICCIONI E., STANDARDI A., 2000. *Effects of different treatments on the conversion of "Hayward" kiwifruit synthetic seeds to whole plants following encapsulation of* vitro-*derived buds*. New J. Crops Hortic. Sci., 29: 59-67.

GANAPATHI T.R., SUPRASANNA P., BAPAT V.A. RAO P.S., 1992. *Propagation of banana through encapsulated shoot tips*. Plant Cell Rep., 11: 571-575.

GARDI T., PICCIONI E., STANDARDI A., 1999. *Effect of bead nutrient composition on regrowth of stored vitro-derived encapsulated microcuttings of different woody species*. J. Microencapsulation, 16 (1): 13-25.

GERMANÀ M.A., MICHELI M., PULCINI L., STANDARDI A., 2007. *Perspectives of the encapsulation tecnology in the nursery activity of* Citrus. Caryologia, 1 (60): 192-195.

LUCACCIONI L., MICHELI M., STANDARDI A., 2005. *Incapsulamento di microtalee proliferate in vitro di GF 677 per l'allestimento di semi sintetici*. V Conv. Naz. Peschicoltura Meridionale, Locorotondo (BA), 29-30 settembre: 139-146.

MENCUCCINI M., MICHELI M., STANDARDI A., 1997. *Micropropagazione dell'olivo: effetto di alcune citochinine sulla proliferazione*. Italus Hortus, 4 (6): 32-37.

MENGHINI A., MICHELI M., STANDARDI A., 1999. *Indagine preliminare sull'incapsulamento di gemme di olivo (*Olea europaea *L.)* vitro-*derivate*. Italus Hortus, 6 (6): 3-9.

MICHELI M., STANDARDI A. (2005). Encapsulation of *in vitro*-derived explants of olive (cv. Moraiolo). I: Effects of pretreatments, their size and the coating. Current Topics in Biotech., 2: 81-86.

MICHELI M., MENCUCCINI M., STANDARDI A. (1998). Encapsulation of *in vitro* proliferated buds of olive. Adv. in Hortic. Scie., 12: 163-168.

MICHELI M., GARDI T., STANDARDI A. (2003). La tecnologia dell'incapsulamento per la diffusione e/o la conservazione di materiale vivaistico. Italus Hortus, 10 (4): 259-262.

MICHELI M., HAFIZ I.A., STANDARDI A., 2007. *Encapsulation of* in vitro-*derived explants of olive (Olea europaea L. cv. Moraiolo). II: Effects of storage on capsule and derived shoots performance*. Sci. Hort., 113 (3): 286-292.

MICHELI M., DALL'ORCO P., MENCUCCINI M., STANDARDI A., 2002a. *Preliminary studies on the synthetic seed and encapsulation technologies of* vitro-*derived olive explants.* Acta Hort., 586 (2): 911-914.

MICHELI M., PELLEGRINO S., PICCIONI E., STANDARDI A., 2002b. *Effects of double encapsulation and coating on synthetic seed conversion in M.26 apple rootstock*. J. of Microencapsulation, 19 (3): 347-356.

MICHELI M., HAFIZ I.A., BAZZURRI N., STANDARDI A., 2006. *Methodological development for the synthetic seeds production of 'Moraiolo'*. OliveBioteq 2006, II Int. Seminar "Biotechnology and Quality of Olive Trees Products around the Mediterranean Basin" (Marsala, Mazara del Vallo 5-10 November), Vol. I: 155-158.

NAIK S.K., CHAND P.K., 2006. *Nutrient-alginate encapsulation of* in vitro *nodal segments of pomegranate (*Punica granatum *L.) for germplasm distribution and exchange*. Sci. Hort., 108: 247–252.

PATTNAIK S.K., SAHOOY., CHAND P.K., 1995. *Efficient plant retrieval from alginate-encapsulated vegetative buds of mature mulberry trees*. Sci. Hort., 61: 227-239.

ROMAY ALVAREZ C., GARDI T., STANDARDI A., 2003. *Indagine sulla conversione di microtalee vitro-derivate ed incapsulate di lampone (*Rubus idaeus *L.)*. Italus Hortus, 1 (10): 29-34.

STANDARDI A., PICCIONI E., 1998. *Recent perspectives on the synthetic seed technology using no-embryogenic* vitro-*derived explants*. Int. J. of Plant Sciences, 159 (6): 968-978.

STANDARDI A., MICHELI M., PICCIONI E., 1995. *Incapsulamento in alginato di espianti micropropagati*. Italus Hortus, 2 (1/2): 46-52.

STANDARDI A., PICCIONI E., MICHELI M., 1999. *Recent strategies in plant biotechnology micropropagation and synthetic seed*. In: New Trends in Agrobiotechnology Education (Tempus-Phare CME 03066-97) (Bucharest, 15-22 march): 38-53.

Il germoplasma olivicolo del CRA-OLI: caratterizzazione molecolare mediante marcatori microsatellite

Muzzalupo I. [1,2*], Stefanizzi F. [3], Bucci C. [2,3], Pellegrino M. [2], Godino G.[2] e Perri E.[2]
[1] *CRA FLC, Centro di ricerca per le produzioni foraggere e lattiero casearie, Lodi*
[2] *CRA OLI, Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia, Rende (CS)*
[3] *Dipartimento di Chimica, Università della Calabria, Arcavacata di Rende (CS)*

CRA-olive germplasm collection: molecular characterisation by microsatellite markers

Abstract. Olive (Olea europaea L.) is a species of great economic importance in the Mediterranean basin. Italy is very important for the olive industry; in fact, olive's genetic patrimony is very rich and characterized by an abundance of cultivars. It is likely that the number of cultivars is underestimated because of inadequate information on minor local cultivars that are widespread in different olive-growing areas. The existence of many cultivars reinforces the need for a reliable identification method. It is important to improve the ex situ plant germplasm collection and fairly to characterize all cultivars for future breeding programs. In the present report, we used 11 loci microsatellites to characterize 545 olive cultivars of an olive collection. The FCA analysis showing the clear structuring of the variability relative to the geographic origin of olive cultivars. This work, for the very high number of the olive cultivars analyzed, highlights the degree and distribution of genetic diversity of this species for better exploitation of olive resources and for the design of plant breeding programs. Besides, the use of molecular markers, like simple sequence repeats, is imperative to build a database for cultivar analysis, for traceability of processed food, and for appropriate management of olive germplasm collections.

Key words: genetic diversity, genotyping, Olea europaea, SSR.

Introduzione

Nel Bacino del Mediterraneo sono segnalate 1208 cultivar di olivo presenti in 52 Nazioni e conservate in 94 collezioni del germoplasma olivicolo (Muzzalupo *et al.*, 2009). Il germoplasma olivicolo italiano è raccolto in diverse collezioni si te in varie regioni italiane; una delle più importanti è quella del CRA-OLI, sita presso l'azienda sperimentale ARSSA a Mirto-Crosia (CS), nella quale i ricercatori del Centro da anni, hanno avviato un lavoro di individuazione, recupero, valorizzazione e conservazione delle cultivar di olivo (Rekik *et al*.,2008).

L'obiettivo del presente lavoro è la conoscenza, la conservazione ed il mantenimento del germoplasma olivicolo nonché la valorizzazione e la tutela dei suoi prodotti alimentari (l'olio e l'olive da tavola). A tale scopo sono state analizzate tutte le accessioni di olivo presenti nella collezione del CRA-OLI di Cosenza ed è stata creata una banca dati contenente tutti i profili microsatellite ottenuti. Il presente lavoro pertanto, illustra i risultati della caratterizzazione molecolare condotta mediante l'analisi di undici *loci* microsatelliti selezionati in precedenti lavori (Baldoni *et al.*, 2009; Bartolini *et al.*, 2005; Muzzalupo *et al.*, 2008) di cui quattro (GAPU71B, GAPU103, DCA09 e DCA18) indicati tra quelli più idonei alla genotipizzazione dell'olivo (Muzzalupo *et al.*, 2009).

Materiale e metodi

Attualmente presso il campo collezione varietale del CRA-OLI di Mirto-Crosia (CS) sono presenti 545 accessioni di olivo di cui 16 originarie della Grecia, 9 della Spagna, 8 della Francia, 5 della Tunisia e della Croatia, 4 del Portogallo, 3 dell'Albania, 2 della Siria e Israele, 1 del Marocco e dell'Algeria mentre le rimanenti 489 originarie dell'Italia. Da tessuti fogliari congelati in azoto liquido e conservati a -80ºC è stato estratto il DNA mediante protocollo CTAB modificato (Baldoni *et al.*, 2009). Le piante di olivo sono state genotipizzate mediante l'uso combinato di 11 *loci* microsatellite, precedentemente selezionati e riportati da Baldoni *et al.* (2009), Bartolini *et al.*, (2005), Muzzalupo *et al.*, (2008 e 2009). Quattro di questi *loci* sono presenti nell'elenco riportato da Muzzalupo *et al.* (2009). La reazione amplificazione, la separazione e l'analisi degli alleli microsatellite sono riportati da Muzzalupo *et al.* (2008).

* innocenzo.muzzalupo@entecra.it

Risultati e discussione

Lo studio dei polimorfismi del DNA, mediante analisi molecolare mediante SSR, si è rivelato di grande utilità la caratterizzazione e lo studio delle relazioni esistenti tra i 545 genotipi di olivo del CRA-OLI. Gli undici loci microsatellite hanno prodotto, per tutte le accessioni oggetto di studio, un profilo allelico basato sul numero e la dimensione dei frammenti microsatellite. Tutti e undici i loci analizzati sono risultati polimorfici e il numero totale di alleli ottenuti è stato di 84 con un valore medio di 7,6 alleli per locus, con una variazione di 3 alleli, per il locus UDO99-01, ad un massimo di 12 alleli, per i loci UDO99-39 e ssrOeUA DCA09 (tab. 1).

I valori di eterozigosità osservata, per *locus*, variano da 0,070 a 0.914, con una media di 0,596. Mentre i valori di eterozigosità aspettata variano da 0,586 a 0,850 con un valore medio di 0.755. Tutti i *loci* utilizzati i questo lavoro sono risultati essere polimorfici ed, eccetto per il *locus* UDO99-01, altamente informativi come mostrato dagli alti valori dell'indice di informazione (da 1,345 a 1,886) e dal potere discriminante (da 0,734 a 0,944) (tab. 1).

Si sono evidenziati 24 alleli (tab. 2) presenti esclusivamente tra le cultivar italiane. Alcuni di questi si

Tab. 1 - Polimorfismi osservati con 11 loci SSR su 545 cultivar di olivo del bacino del Mediterraneo. Per ogni locus sono riportati: il numero di alleli (N), l'indice di informazione (I), l'eterozigosità osservata (Ho) l'eterozigosità aspettata (Ha) e il potere discriminante (PD).
Tab. 1 - Polymorphisms observed with 11 loci SSR on 545 olive cultivars of the Mediterranean basin. For each locus, the number of alleles detected (N), the index information (I), the observed heterozygosity (Ho), the expected heterozygosity (Ha) and the power of cultivar discrimination (PD) are reported.

SSR locus	N	I	H_o	H_a	PD
GAPU59	5	1,499	0,684	0,763	0,881
GAPU71A	9	1,381	0,536	0,699	0,826
GAPU71B	5	1,436	0,883	0,732	0,821
GAPU103A	8	1,844	0,761	0,831	0,939
UDO99-01	3	1,039	0,070	0,586	0,651
UDO99-03	6	1,345	0,108	0,695	0,734
UDO99-12	6	1,437	0,802	0,756	0,860
UDO99-28	9	1,773	0,732	0,821	0,927
UDO99-39	12	1,848	0,327	0,820	0,886
ssrOeUA DCA09	12	1,886	0,914	0,850	0,944
ssrOeUA DCA18	9	1,440	0,739	0,753	0,889
Media	7.6	1,539	0,596	0,755	0,851

Tab. 2 - I 24 alleli esclusivi delle varietà italiane analizzate. Per ogni *locus* viene riportata la lunghezza in coppie di basi e la frequenza di ogni singolo allele esclusivo.
Tab. 2 - The 24 alleles exclusive Italian variety analysed. For each locus the size (expressed in base pairs) and the allele frequency are reported.

Locus	Lunghezza allele (bp) e frequenza				
GAPU 71A	210	228	250	259	
frequency	*0,105*	*0,001*	*0,002*	*0,005*	
GAPU 103A	197				
frequency	*0,017*				
UDO99-03	202				
frequency	*0,013*				
UDO99-12	156				
frequency	*0,016*				
UDO99-28	156	245			
frequency	*0,007*	*0,003*			
UDO99-39	108	164	170	209	243
frequency	*0,049*	*0,023*	*0,031*	*0,009*	*0,010*
ssrOeUA DCA09	166	184	188	204	210
frequency	*0,005*	*0,006*	*0,002*	*0,004*	*0,009*
ssrOeUA DCA18	163	169	173	175	183
frequency	*0,005*	*0,013*	*0,021*	*0,012*	*0,002*

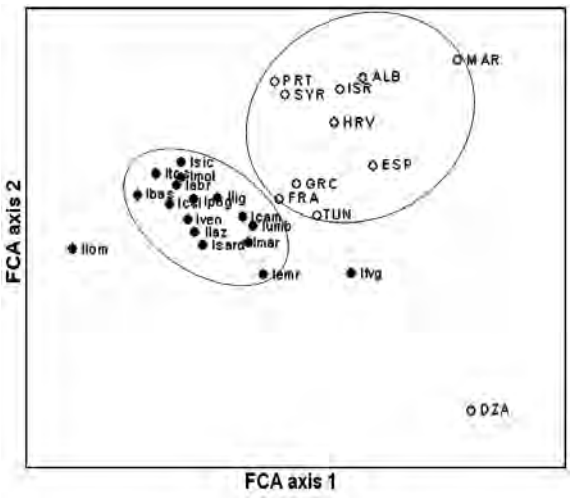


Fig. 1 - Analisi fattoriale delle corrispondenze (FCA) basata sui polimorfismi ottenuti con 11 loci SSR su 545 genotipi corrispondenti a 28 gruppi di varietà di olivo definiti in figura 1. L'analisi permette di distinguere la maggior parte delle varietà italiane (●) da quelle degli altri paesi del bacino Mediterraneo (○).
Fig. 1 - Factorial correspondence Analysis (FCA) based polymorphisms obtained with 11 loci SSR on 545 genotypes corresponding to 28 groups of varieties of olive. The analysis consent it possible to distinguish most Italian varieties (●) from those of other countries of the Mediterranean basin (○).

ritrovano esclusivamente in alcune regioni italiane come ad esempio, l'allele di 228 coppie di basi del locus GAPU71A che è presente solo in alcune varietà della regione Puglia, mentre gli alleli 156 bp del locus UDO99-12 e 184 bp del locus ssrOeUA DCA09 sono presenti solo in alcune varietà della Toscana. Altri alleli quali: il 166, il 188, il 204 e il 210 bp del locus ssrOeUA DCA09 e il 163 e il 183 del locus ssrOeUA DCA18 sono presenti solo in alcune varietà delle regioni dell'Italia centrale (Abruzzo, Marche, Molise, Lazio, Toscana e Umbria). I rimanenti alleli esclusivi si ritrovano tra le altre varietà presenti su tutto il territorio italiano.

L'analisi fattoriale delle corrispondenze (FCA), basata sui polimorfismi ottenuti con 11 loci SSR su 545 genotipi corrispondenti a 28 gruppi di varietà di olivo suddivisi secondo la provenienza geografia, ha permesso di distinguere la maggior parte delle varietà italiane dal quelle degli altri Paesi del Bacino del Mediterraneo. Sole 6 varietà, presenti in Algeria (1), Lombardia (2) e Friuli Venezia Giulia (3), non si clusterizzano col le altre piante di olivo, probabilmente proprio perché sono state maggiormente influenzate dalle condizioni pedo-climatiche (temperatura e confini geografici). I risultati hanno evidenziato diversi casi di sinonimie ed di omonimie alcune già note in letteratura (Bartolini *et al.*, 2005; Muzzalupo *et al.*, 2008; 2009) ed hanno confermano che i marcatori SSR selezionati sono altamente efficienti per realizzare la genotipizzazione del germoplasma olivicolo.

Riassunto

L'olivo (*Olea europaea* L.) è, fra le più antiche piante coltivate nel bacino del Mediterraneo, quella che riveste un maggiore interesse economico. La presenza simultanea, in una data area del Mediterraneo, di cultivar locali e la potenziale presenza di varianti intra-varietali, oltre alla notevole diffusione di casi di omonimia e sinonimia, rende laboriosa l'identificazione delle diverse varietà di olivo. Nel Bacino del Mediterraneo sono segnalate 1208 cultivar di olivo presenti in 52 Nazioni e conservate in 94 collezioni del germoplasma olivicolo. Il germoplasma olivicolo è raccolto in diverse collezioni site in vari paesi del Mediterraneo; tra queste c'è quella del CRA-OLI, nella quale sono presenti oltre 540 varietà di olivo. L'obiettivo del presente lavoro è la valorizzazione del patrimonio olivicolo mediante l'identificazione e la caratterizzazione molecolare mediante marcatori microsatellite di tutte le accessioni presenti nella collezione del CRA-OLI. I risultati hanno evidenziato diversi casi di sinonimie ed di omonimie alcune già note in letteratura ed hanno confermano che i marcatori SSR selezionati sono altamente efficienti per realizzare la genotipizzazione del germoplasma olivicolo.

Parole chiave: diversità genetica, genotipizzazione, *Olea europaea*, SSR.

Ricerca finanziata dai progetti RGV-FAO e RIOM risorse aggiuntive

Bibliografia

BALDONI L., CULTRERA N., MARIOTTI R., RICCIOLINI C., ARCIONI S., VENDRAMIN G.G., BUONAMICI A., PORCEDDU A., SARRI V., OJEDA M.A., TRUJILLO I., RALLO L., BELAJ A., PERRI E., SALIMONTI A., MUZZALUPO I., CASAGRANDE A., LAIN O., MESSINA R., TESTOLIN R., 2009 *A consensus list of microsatellite markers for olive genotyping.* Mol. Breed. 24: 213-231.

BARTOLINI G., PREVOST G., MESSERI C., CARIGNANI G., 2005. *Olive germplasm: cultivars and world-wide collections*. Rome: FAO/Plant Production and Protection Division, 2005. Available at: http://www.apps3.fao.org/wiews/olive/oliv.jsp.

MUZZALUPO I., PERRI E., 2008. *Genetic characterization of olive germplasms by molecular markers*. Eur. J. Plant. Sci. Biotech. 2: 60-68.

MUZZALUPO I, STEFANIZZI F, PERRI E., 2009. *Evaluation of Olives Cultivated in Southern Italy by Simple Sequence Repeat Markers*. HortScience 44: 582-588.

MUZZALUPO I., STEFANIZZI F., SALIMONTI A., FALABELLA R., PERRI E., 2009. *Microsatellite markers for identification of a group of Italian olive accessions*. Sci. Agricola 66: 685-690

REKIK I., SALIMONTI A., GRATI KAMOUN N., MUZZALUPO I., PERRI E., REBAI A., 2008. *Characterisation and identification of Tunisian olive tree varieties by microsatellite markers*. HortScience 43: 1371-1376.

Acta Italus Hortus 1: 141-143

Analisi di loci SSR per identificare sequenze alleliche del DNA estratto da oli vergini d'oliva

Muzzalupo I.[1,2*], Pellegrino M.[2], Godino G.[2] e Perri E.[2]
[1] CRA-FLC, viale Piacenza, Lodi
[2] CRA-OLI, C/da Li Rocchi, 87036 Rende (CS)

Analysis of SSR loci for allele sequences identification from DNA extracted in virgin olive oils

Abstract. Among instruments utilized for quality control, Protected Designation of Origin (PDO), Protected Geographical Indication (PGI) and Traditional Specialty Guaranteed (TSG), recognized by Council Regulation EEC/2081/1992, are very effective since the origin and the typicality of a food product warrant product healthiness and safety. In the case of olive oil, there are several difficulties both for origin and authenticity. The principal aim is to warrant the entrust able quality oil production and certify, at the same time, the country origin.

Key words: Olea europaea L., microsatellite markers, olive oil, amplification products. PCR.

Introduzione

La rintracciabilità degli oli vergini d'oliva si rende utile per combattere frodi dovute all'aggiunta di oli vegetali (girasole, nocciole, mais ed arachidi) oltre che a permette di verificare il contributo di ogni cultivar utilizzata per la produzione degli oli DOP (CEE 2081/92). Con la rintracciabilità molecolare s'intende la capacità di analizzare il DNA presente negli oli vergine di oliva utilizzando tecniche molecolari che si basano sull'impiego della PCR (Consolandi *et al*., 2008; Muzzalupo *et al.*,2007; Muzzalupo *et al*., 2002; Muzzalupo *et al*., 2008; Wu *et al*., 2008; Alba *et al.*, 2009; Busconi *et al.*,2003; Breton *et al*., 2004; Doveri *et al.*, 2006; Mafra *et al.*, 2008) e sul successivo confronto dei prodotti ottenuti con una banca dati che contenga tutti i profili molecolari del germoplasma olivicolo. In letteratura i marcatori più utilizzati per l'identificazione varietale degli oli vergini di oliva sono rappresentati dai microsatellite o SSR (Muzzalupo *et al.*,2007; Alba *et al.*, 2009; Muzzalupo *et al*., 2008; Breton *et al*., 2004; Doveri *et al.*, 2006). Il DNA presente nell'olio è degradato, scarsamente concentrato e ricco di inibitori della reazione di amplificazione e ciò in alcuni casi potrebbe determinare la mancata amplificazione di alcuni alleli oppure, a causa del contributo genetico paterno, la comparsa di alleli estranei al patrimonio genetico della pianta madre (Muzzalupo *et al*., 2002; Wu *et al*., 2008; Breton *et al*., 2004). Ciò ostacola la rintracciabilità rendendo arduo il confronto tra il profilo allelico ottenuto dall'olio con quello della banda dati del germoplasma olivicolo. Confronto che può essere ulteriormente complicato dalla presenza di dati discordanti sulle dimensioni degli alleli ottenuti da una stessa cultivar e con lo stesso *locus* (Alba *et al.*, 2009; Doveri *et al.*, 2006; Baldoni *et al.*, 2009). Lo scopo del seguente lavoro è il sequenziamento di tutti gli alleli SSR ottenibili con 5 loci SSR su un gruppo di 20 cultivar di olivo ampiamente diffuse nel bacino del Mediterraneo, al fine di individuare delle sequenze cultivar-specifiche facilmente rintracciabili negli alleli presenti dai rispetti olio vergini di oliva.

Materiale e metodi

Il materiale vegetale è stato prelevato da piante del campo collezione varietale del CRA-OLI (CS) e riportate in tabella 1. Per l'estrazione del DNA, l'amplificazione e il sequenziamento di tutti i campioni analizzatii sono stati seguiti i metodi e le procedure descritte in (Muzzalupo *et al*., 2006).

I risultati dell'identificazione degli alleli vengono usati per creare una matrice qualitativa di presenza (1) o assenza (0) e usata per l'elaborazione statistica col programma NTSYS-PC (Rohlf *et al*., 1994). Il programma utilizzando il coefficiente di Dice (1945) elabora una matrice di similarità che viene utilizzata per la costruzione del dendrogramma con l'algoritmo UPGMA.

Risultati e discussione

Le 20 cultivar sono state genotipizzate a livello di 5 loci microsatelliti nucleari, che sono risultati altamente polimorfici ed informativi (eterozigosità da 0,61 per il *locus* GAPU45 a 0,84 per UDO09 e potere di discriminazione da 0,75 per GAPU45 a 0,88 per DCA05). Sono stati ottenuti e sequenziati 163 alleli. Il

* innocenzo.muzzalupo@entecra.it

Tab. 1 - Profilo allelico ottenuto da 5 loci SSR su 20 cultivar di olivo esaminate.
Tab. 1 - Allelic profile obtained from 5 loci SSR on 20 olive cultivar examined.

Codice CRA-OLI	Nome cultivar	Origine	Loci SSR				
			GAPU45	GAPU89	UDO09	DCA5	DCA14
S32	Arbequina	Spagna	183a-185	160-160	90-119	203-206a	191-191
S12	Leucocarpa	Grecia	182-182	160-170	103-119	194-208	179-191
347	Biancolilla	Italia	183a-183a	160-176	90-119	194-206a	191-191
32	Canino	Italia	183a-185	161-161	90-103	203-206a	179-179
19	Carolea	Italia	183a-183a	160-176	86-101	194-206a	179-191
SFX	Chemlali	Tunisia	183a-196	160-176	86-119	194-206b	173-191
57	Coratina	Italia	182-183a	160-176	102-103	198-203	183b-183b
63	Ogliarola Barese	Italia	182-185	160-194	103-119	198-206a	183b-183b
S34	Hojiblanca	Spagna	185-185	160-204	86-103	206b-206b	191-191
S4	Kalamata	Grecia	183a-183a	170-204	101-119	206a-206a	183a-183a
S3	Konservolia	Grecia	183a-183a	160-176	90-101	206b-206b	179-191
S13	Koroneiki	Grecia	183a-183a	160-194	101-119	194-194	179-179
93	Leccino	Italia	183a-185	160-204	90-101	198-206a	179-179
S35	Lechin	Spagna	182-183a	204-204	86-101	203-206a	173-191
S25	Manaki	Grecia	196-196	170-194	102-102	194-206b	183b-183b
S37	Megaritiki	Grecia	183a-183a	176-194	86-101	206a-206a	179-191
94	Moraiolo	Italia	183a-183a	160-194	103-103	206b-206b	183b-191
64	Ogliarola Leccese	Italia	183b-183b	160-208	90-101	198-206a	173-191
S11	Picholine	Francia	183a-183a	160-176	90-101	206b-206b	173-179
S40	Salonenque	Francia	183a-183a	161-161	90-101	202-202	173-189
		Totale alleli	27	36	38	32	30

numero di alleli varia da 5 per GAPU45 a 7 per GAPU89 e DCA05 con un numero medio di 6,2 per *locus.*

Dal dendrogramma ottenuto con il metodo UPGMA utilizzando la matrice di similarità (fig. 1), si osserva che tutte le cultivar analizzate risultano essere ben separate tra loro. Dal confronto delle sequenze degli alleli, ottenute per ogni singolo *locus*, è emerso, per i loci GAPU45, DCA05 e DCA14, la presenza di omoplasie (alleli dello stesso *locus* che presentano la stessa lunghezza ma diversa sequenza) (Muzzalupo *et al*., 2006). Le omoplasie riscontrate sono relative all'allele di 183 bp per GAPU45, all'allele di 206 bp per DCA05 e all'allele di 183 bp per DCA14 che per diversificarli sono stati indicati con il suffisso *a* e *b* (tab. 1). Inoltre, l'allineamento delle sequenze ha evidenziato un'alta variabilità nella regione del *repeat*, come mostrato dall'elevato valore di entropia, ma sono emerse anche diverse variazioni nelle regioni laterali al *repeat* (fig. 2). Alcune di queste sono risultate essere cultivar specifiche, cioè riscontrate in una sola cultivar (basso valore di entropia) e proprio queste risultano essere molto importanti per la rintracciabilità degli oli vergini di oliva.

A seguito dell'inserimento delle sequenze in GeneBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank) sarà possibile per tutti gli operatori un confronto univoco tra le sequenze alleliche ottenute da oli vergini di oliva e quelle delle cultivar d'olivo corrispondenti.

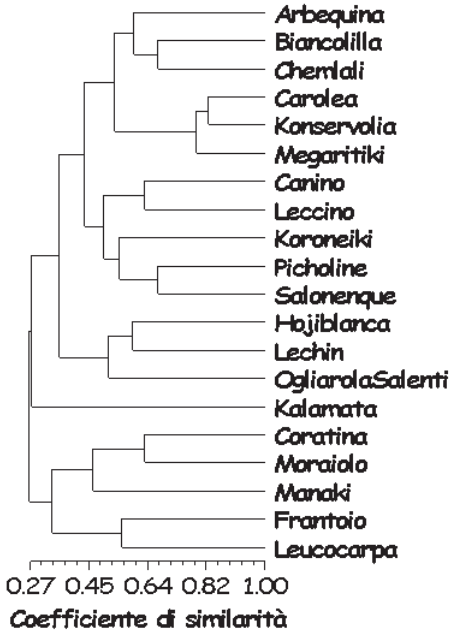


Fig. 1 - Dendrogramma delle cultivar esaminate ottenuto dall'elaborazione UPGMA della matrice di similarità genetica di Dice (1945)
Fig. 1 - Dendrogram of olive genotypes analyzed, obtained by processing the Dice (1945) genetic similarity by mean of UPGMA.

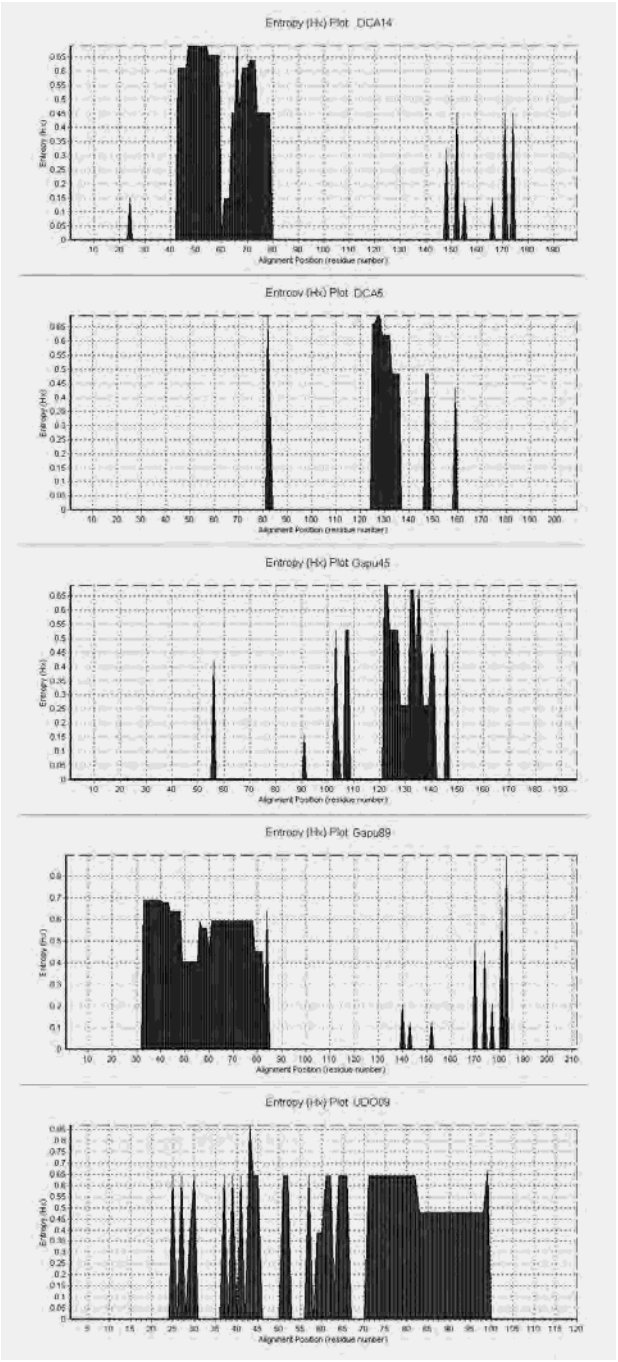


Fig. 2 - Variazione dell'entropia nelle sequenze degli alleli ottenuti ed allineate calcolata per ogni *locus.* La zona con maggior variazioni di entropia corrispondono ai nucleotidi maggiormente variabili.

Fig. 2 - Variation of entropy in sequences of alleles obtained and aligned calculated for each locus. The area with many variations of entropy correspond to nucleotides more variables.

Riassunto

In Europa, i disciplinari degli oli a Denominazione di Origine Protetta (DOP), previsti dal Regolamento CEE N. 2081/92, precisano, per ogni denominazione, il contributo percentuale delle cultivar di olivo interessate. Pertanto, accertare il contributo varietale in ciascun olio DOP permetterebbe di dimostrare il rispetto delle composizioni e delle proporzioni dell'olivaggio.

Il principale scopo del presente lavoro è quello di verificare e certificare la qualità degli oli prodotti e nello steso tempo avere indicazioni sul loro paese di origine.

Parole chiave: *Olea europaea* L., marcatori micro satellite, oli d'oliva, prodotti di amplificazione, PCR

Ricerca finanziata dal progetto RIOM risorse aggiuntive e RGV-FAO.

Bibliografia

ALBA V., SABETTA W., BLANCO A., PASQUALONE A., MONTEMURRO C., 2009. *Microsatellite markers to identify specific alleles in DNA extracted from monovarietal virgin olive oils.* Eur Food Res Technol, 229: 375-382.

BALDONI L., CULTRERA N.G., MARIOTTI R., RICCIOLINI C., ARCIONI S., VENDRAMIN G.G., BUONAMICI A., PORCEDDU A., SARRI V., OJEDA M.A., TRUJILLO I., RALLO L., BELAJ A., PERRI E., SALIMONTI A., MUZZALUPO I., CASAGRANDE A., LAIN O., MESSINA R., TESTOLIN R. *A consensus list of microsatellite markers for olive genotyping.* Mol Breeding 24: 213-231

BRETON C., DELPHINE C., METTON I., SKORSKI G., BERVILLE A., 2004. *Comparative study of methods for dna preparation from olive oil samples to identify cultivar ssr alleles in commercial oil samples: possible forensic applications*. J. Agric. Food Chem., 52: 531-537.

BUSCONI M., FORONI C., CORRADI M., BONGIORNIA C., CATTAPANC F., FOGHERA C., 2003. *DNA extraction from olive oil and its use in the identification of the production cultivar*. Food Chem, 83: 127-134.

CONSOLANDI C., PALMIERI L., SEVERGNINI M., MAESTRI E., MARMIROLI N., AGRIMONTI C., BALDONI L., DONINI P., DE BELLIS G., CASTIGLIONI B., 2008. *A procedure for olive oil traceability and authenticity: DNA extraction, multiplex PCR and LDR–universal array Analysis.* Eur. Food Res. Technol., 227:1429-1438.

DICE L.R., 1945. *Measures of the amount of ecologic association between species*. Ecology, 26: 297-302.

DOVERI S., O'SULLIVAN D.M., LEE D., 2006. *Non-concordance between Genetic Profiles of Olive Oil and Fruit: a Cautionary Note to the Use of DNA Markers for Provenance Testing*. J. Agric. Food Chem. 54: 9221-9226.

MAFRA I., FERREIRA I., BEATRIZ M., OLIVEIRA P.P., 2008. *Food authentication by PCR-based methods*. Eur. Food Res. Technol., 227: 649-665.

MUZZALUPO I., LOMBARDO N., MUSACCHIO A., NOCE M.E., PELLEGRINO G., PERRI E., SAJJAD A., 2006. *Sequencing microsatellite markers enhances their efficiency for germplasm management in a Italian olive collection.* J. Am. Soc. Hort. Sci., 131: 352-359.

MUZZALUPO I., PELLEGRINO M., PERRI E., 2007. *Detection of DNA in virgin olive oils extracted from destoned fruits.* Eur. Food Res. Technol., 224: 469-475.

MUZZALUPO I., PELLEGRINO M., PERRI E., 2008. *The traceability along the olive oil chain: recovery and characterization of DNA from virgin olive oil*. Life Science, 23: 4-6.

MUZZALUPO I., PERRI E., 2002. *Recovery and characterisation of DNA from virgin olive oil.* Eur. Food Res. Technol., 214: 528-531.

ROHLF F.J., 1994. *NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 1.80.* Exeter Software, Setauket, N.Y.

WU Y., CHEN Y., GE Y., WANG ·J., XU B., HUANG W.,·YUAN F., 2008. *Detection of olive oil using the Evagreen real-time PCR method.* Eur. Food Res. Technol., 227: 1117-1124.

Attività del gene *OECHLP* nei frutti di *Olea europaea*: confronto tra diversi genotipi

Muzzalupo I.[1,2*], Stefanizzi F.[2], Chiappetta A.[3], Bruno L.[3], Bucci C.[2,4], Pellegrino M.[2], Perri E.[2]
[1] *CRA FLC, Centro di ricerca per le produzioni foraggere e lattiero casearie, Lodi*
[2] *CRA OLI, Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia, Rende (CS)*
[3] *Dipartimento di Ecologia, Laboratorio di Botanica, Università della Calabria, Arcavacata di Rende, (CS)*
[4] *Dipartimento di Chimica, Università della Calabria, Arcavacata di Rende, (CS)*

Gene activity of *OECHLP* in fruit of *Olea europaea:* genotypes confrontation

Abstract. Traditionally, the olive tree is grown mainly in the Mediterranean area, but the benefits of olive products on human health have been widely recognized and spread throughout the world. Olive drupes can be either processed as table olives or milled to produce olive oil. The NADPH-dependent geranylgeranyl reductase gene (OeCHLP) was characterised in olive (Olea europaea L.). OeCHLP catalyses the formation of carbon double bonds in the phytolic side chain of chlorophyll, tocopherols and plastoquinones and, therefore, is involved in metabolic pathways related to plant productivity and stress response, besides to nutritional value of its products. In order to relate gene activity to tocopherol synthesis, expression levels of OeCHLP have been evaluated by Q-PCR in the fruits of eleven olive cultivars with different tocopherol and chorophyll contents. Levels of tocopherols increased while the chlorophyll content decrease during the fruits development. Moreover, OeCHLP transcripts increased during the fruits development. We suggest that gene activity during ripening stage of fruit could be related to tocopherol action.

Key words: developmental regulation, drupe, geranylgeranyl reductase, gene expression, tocopherol

Introduzione

L'olivo (*Olea europaea* L.) è una delle più antiche e importanti piante coltivate del bacino del Mediterraneo ed è la sola specie del genere *Olea* che produce frutti eduli. L'importanza dell'olivicoltura in Italia è legata principalmente ai suoi derivati, olio e olive da tavola, che rappresentano elementi fondamentali della "dieta mediterranea". La rilevanza nutrizionistica di tali prodotti è da ricondursi al loro elevato contenuto in composti antiossidanti, quali ad esempio fenoli e i tocoferoli che, oltre a conferire le proprietà edonistiche - sensoriali al prodotto, esercitano effetti benefici sulla salute umana, come ampiamente documentato in letteratura (Rice-Evans *et al.,* 1997; Bianco *et al.*,1999; Psomiadou *et al.,* 2002; Briante *et al.,* 2003).

La qualità dei prodotti eduli dell'olivo, olio ed olive da tavola, è pertanto strettamente correlata all'accumulo ed al metabolismo di tali composti antiossidanti nel corso dello sviluppo del frutto o drupa e varia in relazione alla varietà e verosimilmente all'ecotipo (Ryan *et al.,* 1999; Visioli *et al.,* 2002). Per un'olivicoltura moderna che mira a prodotti di qualità, salubri per l'uomo e l'ambiente, la scelta delle varietà appropriate all'habitat di coltivazione è, quindi, un punto cruciale per raggiungere gli obiettivi sopra menzionati.

Al fine di fornire un contributo alla problematica esposta, in undici cultivar di *Olea europaea* L. è stato analizzata l'espressione di un gene coinvolto in un importante *pathway* biochimico quale quello che porta alla biosintesi dei tocoferoli. In particolare il marcatore funzionale preso in esame è stato il gene *OeCHLP,* che codifica per l'enzima geranylgeranyl-idrogenasi NADPH-dipendente che interviene nei *pathway* metabolici dei tocoferoli, delle clorofilla e del fillochinone catalizzando la riduzione del geranylgeranyl-difosfato a fitil-difosfato necessario per l'integrazione dei tocoferoli e del fillochinone nelle membrane cellulari e delle clorofille nei complessi proteici che costituiscono i fotosistemi (Bruno *et al.,* 2009; Giannino *et al.,* 2004).

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare l'espressione del gene *OeCHLP* mediante saggi di Q-PCR sul mesocarpo di drupe di olivo a differente stadio di maturazione (verde e nero) e provenienti da undici varietà presenti nel campo collezione del CRA-OLI di Rende (CS). I valori di espressione genica sono stati messi in relazione ai contenuti di tocoferoli e clorofille, ottenuti mediante HPLC, dallo stesso materiale su cui è stato effettuata la Q-PCR.

* innocenzo.muzzalupo@entecra.it

Tab. 1 - Elenco delle varietà di olivo analizzate, numero di catalogo CRA-OLI, data di raccolta delle drupe con relativo indice di Jaen e area di presunta origine.
Tab. 1 - List of the olive genotypes analyzed, CRA-OLI code number, date of drupes harvested with its Jaen index and presumed origin area, are reported.

Cultivar	Cod.	Data I prelievo	Indice di Jaen	Data II prelievo	Indice di Jaen	Provenienza
Bardi i Tirana	B-S48	10/10/2008	0,1	12/12/2008	3,3	Albania
Buscionetto	A-79	13/10/2008	0,1	15/12/2008	3,3	Sicilia
Carolea	A-19	13/10/2008	0,1	15/12/2008	3,3	Calabria
Casaliva	A-51	10/10/2008	0,1	12/12/2008	3,4	Liguria
Gaggiolo	A-52	10/10/2009	0,1	12/12/2008	3,4	Liguria
Gnagnaro	B-187	08/10/2008	0,2	10/12/2008	3,4	Molise
Nocellara Belice	A-85	13/10/2008	0,1	15/12/2008	3,3	Sicilia
Semidana	A-76	08/10/2008	0,1	10/12/2008	3,4	Sardegna
Taggiasca	A-50	08/10/2008	0,1	10/12/2008	3,4	Liguria
Tonda dolce	B-226	08/10/2008	0,2	10/12/2008	3,4	Calabria
Verdello	A-91	13/10/2008	0,1	15/12/2008	3,2	Sicilia

Materiali e metodi

Il materiale vegetale è stato prelevato da piante del campo collezione varietale del CRA-OLI ubicato presso Mirto-Crosia (CS). L'elenco delle cultivar analizzate con indicazioni sullo stadio di maturazione delle drupe (indice di Jaen) è riportato in tabella 1. Per l'estrazione dell'RNA, dei tocoferoli e della clorofilla sono state prelevate le drupe in diverse fasi di maturazione (verdi e nere). Le drupe sono state raccolte ed immediatamente congelate in azoto liquido e polverizzate. L'omogenato ottenuto è stato conservato a -80°C e successivamente utilizzato sia per l'estrazione del DNA secondo il protocollo utilizzato in Muzzalupo *et al.*, (2009) che delle clorofille, dei tocoferoli e dell'RNA totale secondo quanto descritto in Bruno *et al.*, (2009).

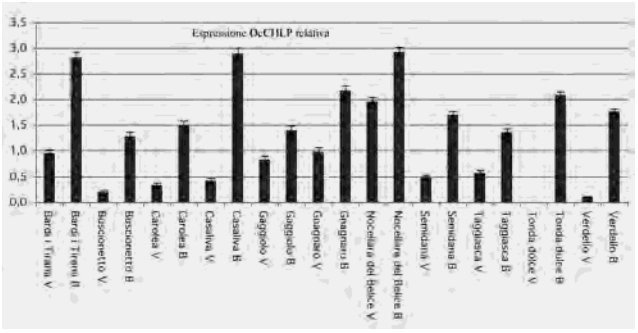


Fig. 1 - I livelli di espressione relativa del gene *OeCHLP* ottenuti mediante qRT-PCR sono stati normalizzati rispetto all'espressione del gene 18S rRNA. Il campione della della cultivar Tonda Dolce (drupa verde) è stato usato come campione calibratore il cui valore è stato posto pari a 0,0.
Fig. 1 - Expression levels of OeCHLP gene obtained by qRT-PCR, the 18S rRNA gene was used as a normalization control. To the 'Tonda Dolce' samples collected on the green mature stage was assigned the value of 0.0 and been used as calibrators.

Risultati e discussioni

I risultati mostrano che l'espressione del gene *OeCHLP* aumenta con l'avanzare della maturazione del frutto, in tutte le undici cultivar analizzate (fig. 1). Tale andamento è sempre accompagnato da un aumento del contenuto di tocoferoli (fig. 2) e da una diminuzione della clorofilla nella drupa (fig. 3). Dai dati ottenuti si riscontra che la minore attività genica spetta alla drupa verde della cv Verdello in cui il gene *OeCHLP* risulta solo 0,10 volte più espresso rispetto al campione calibratore. Alti valori di espressione genica si riscontrano invece nelle drupe nere: di Nocellara del Belice (2,92), Casaliva (2,89), Bardi I Tirana (2,82) e Tonda dolce (2,08) che presentano anche i più alti valori di tocoferoli (252 µg/g; 258 µg/g; 278 µg/g; 349 µg/g rispettivamente). Tutto ciò

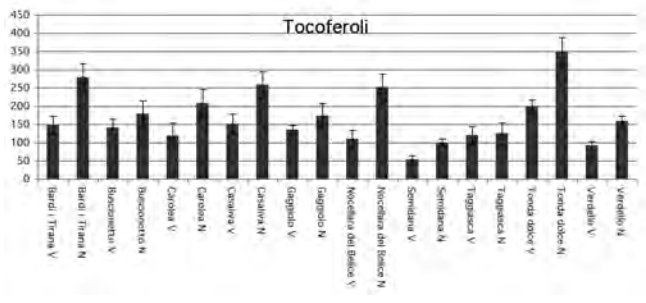


Fig. 2 - Dosaggio dei tocoferoli nel pericarpo di drupe a diverso stadio di maturazione (V= verdi e N= nere) in undici cultivar di olivo italiane espresso in microgrammi per grammo di pericarpo secco.
Fig. 2 - Total tocopherols amount in mature green and black fruits of 11 Italian olive cultivars amount (µg/g dry weight).

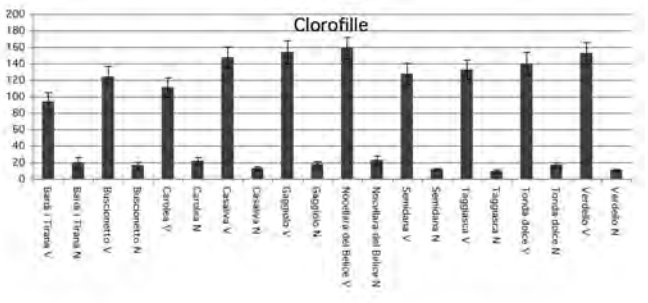


Fig. 3 - Contenuto di clorofilla totale (Chl *a+b*) nel pericarpo di drupe a diverso stadio di maturazione (V = verdi e N = nere) in undici cultivar di olivo italiane espresso in milligrammi su grammo di pericarpo secco.
Fig. 3 - Total chlorophylls amount (Chl a+b) in mature green and black fruits of 11 Italian olive cultivars amount (mg/g dry weight).

conferma che l'espressione del gene *OeCHLP* è modulato in relazione ai fattori di sviluppo del frutto (Bruno *et al.*, 2009). In tale contesto i dati relativi al dosaggio delle clorofille tendono fortemente a suggerire come nella drupa nera il basso contenuto di clorofilla e l'elevata attività trascrizionale del gene ne implica un maggiore coinvolgimento nella via di biosintesi dei tocoferoli ed eventualmente dei fillochinoni.

Conclusioni

Al fine pertanto di avere un quadro esaustivo degli aspetti investigati sono in corso lavori per caratterizzare, in *Olea europaea* L., ulteriori geni che, lungo il *pathway* biosintetico, siano candidati a giocare un ruolo maggiore nel determinare la quantità totale e/o il livello delle singole classi di tocoferoli.

Il raggiungimento di tale obiettivo appare di particolare significato alla luce della necessità di disporre di più ampie basi genetiche per la valorizzazione del germoplasma di pregio, tanto più se a vocazione territoriale, così da rispondere alle esigenze della moderna olivicoltura.

Riassunto

L'importanza dell'olivicoltura è legata principalmente ai suoi derivati, olio e olive da tavola, che rappresentano elementi fondamentali della "dieta mediterranea". Il gene *OeCHLP* in olivo codifica per l'enzima geranylgeranyl-idrogenasi NADPH-dipendente che interviene nei *pathway* metabolici dei tocoferoli, delle clorofilla e del fillochinone catalizzando la riduzione del geranylgeranyl-difosfato a fitil-difosfato necessario per l'integrazione dei tocoferoli e del fillochinone nelle membrane cellulari e delle clorofille nei complessi proteici che costituiscono i fotosistemi. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare l'espressione del gene *OeCHLP* mediante saggi di Q-PCR sul mesocarpo di drupe di olivo a differente stadio di maturazione (verde e nero) e provenienti da dieci varietà presenti nel campo collezione del CRA-OLI di Rende (CS). I valori di espressione genica verranno messi in relazione ai contenuti di tocoferoli e clorofille, ottenuti mediante HPLC, dallo stesso materiale su cui è stato effettuata la Q-PCR. I risultati mostrano che l'espressione del gene *OeCHLP* è modulato in relazione ai fattori di sviluppo del frutto.

Parole chiave: maturazione, drupe, geranilgeranil reduttasi, espressione del gene, tocoferoli.

Ricerca finanziata dal progetto RGV-FAO.

Bibliografia

BIANCO A.D., MUZZALUPO I., PIPERNO A., ROMEO G., UCCELLA N., 1999. *Bioactive derivatives of oleuropein from olive fruits*. J. Agric. Food Chem., 47: 3531-3534.

BRIANTE R., FEBBRAIO F., NUCCI R., 2003. *Antioxidant properties of low molecular weight phenols present in the Mediterranean diet*. J. Agric Food Chem., 51: 6975-6981.

BRUNO L., CHIAPPETTA A., MUZZALUPO I., GAGLIARDI C., IARIA D., BRUNO A., GRECO M., DONATO G., PERRI E., BITONTI M.B., 2009. *Role of geranylgeranyl reductase gene in organ development and stress response in olive (*Olea europaea*) plants*. Funct Plant Biol, 36: 370-381.

GIANNINO D., CONDELLO E., BRUNO L., TESTONE G., TARTARINI A., COZZA R., INNOCENTI A.M., BITONTI M.B., MARIOTTI D., 2004. *The gene geranylgeranyl reductase of peach [*Prunus persica *(L.) Batsch] is regulated during leaf development and responds differentially to distinct stress factors*. J. Exp. Bot., 55: 2063-2073.

PSOMIADOU E., TSIMIDOU M., 2002. *Stability of Virgin Olive Oil. 1. Autoxidation Studies*. J. Agric. Food Chem., 50: 716-721.

RICE-EVANS E., MILLER N., PAGANA G., 1997. *Antioxidant proprieties of phenolic compounds.* Trend. Plant Sci., 2: 152-159.

RYAN D., ROBARDS K., LAVEE S., 1999. *Changes in phenolic content of olive during maturation.* Int. J. Sci. Food Technol., 34: 265-274.

VISIOLI F., POLI A., GALLI C., 2002. *Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil.* Med Res ReV, 22: 65-75.

Acta Italus Hortus 1: 147-149

Nuovi marcatori microsatelliti per lo studio del germoplasma di olivo (*Olea europaea* L.) coltivato in Puglia

Akkak A.[1*], Madeo A.[2] e Perri E.[2]
[1] *Dipartimento di Scienze Agro-Ambientali, Chimica e Difesa vegetale, Università di Foggia,*
[2] *CRA OLI, Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia, Rende (CS)*

New microsatellite markers for the characterization of the olive germplasm grown in Apulia

Abstract. New microsatellite markers or SSR (Simple Sequence Repeats) were isolated in olive (Olea europaea L.). from two. genomic libraries enriched for GA / GT repeats. Ten microsatellites loci were selected for the analysis of forty accessions collected mainly in the field collection of CRA-OLI of Rende (CS). Preliminary results have confirmed the reliability and efficiency of these new genetic markers to contribiute to the genetic identification and characterization of olive germplasm.

Key words: microsatellites, fingerprinting, germplasm, biodiversity, olive.

Introduzione

In Puglia, l'olivo (*Olea europaea* L.) rappresenta l'albero per eccellenza e costituisce una componente fondamentale del paesaggio agrario regionale, da cui deriva circa il 16% della produzione mondiale di olio e il 40% di quella nazionale. Per questi motivi la Puglia è spesso definita come un immenso uliveto e vanta una notevole ricchezza di biodiversità per questa specie. Tale situazione porta inevitabilmente ad uno stato di confusione nella individuazione, enumerazione e classificazione delle varietà di olivo, a causa dei molteplici casi di sinonimia ed omonimia. Recentemente, l'analisi del DNA si è affiancata alle tecniche tradizionalmente usate per la descrizione delle cultivar ed ha permesso di risolvere problematiche quali l'identificazione e la caratterizzazione varietale, l'individuazione di sinonimie/omonimie e la certificazione genetica delle cultivar protette. Il DNA *fingerprinting* permette di analizzare in modo diretto il genotipo, consentendo l'identificazione ripetibile di differenze varietali e clonali. Nel presente lavoro, 10 nuovi *loci* microsatelliti o SSR sono stati isolati in *O. europaea* L. ed impiegati per la caratterizzazione genetica di 40 cultivar d'origine pugliese disponibili presso il campo collezione di Mirto, gestito dal Centro di Ricerca per l'Olivicoltura e l'Industria Olearia di Rende-Cosenza.

Materiali e metodi

L'amplificazione dei *loci* SSR richiede la caratterizzazione delle sequenze fiancheggianti il motivo ripetuto. A tale scopo, il DNA genomico estratto dalla cultivar 'Peranzana', secondo il protocollo di Thomas *et al*. (1993), è stato digerito con l'enzima *Rsa*I per costruire due librerie genomiche arricchite con sequenze ripetute di tipo (GA) e (GT) secondo il metodo proposto da Akkak *et al*. (2009). I frammenti ottenuti dalle singole colonie positive sono stati sequenziati con un sequenziatore automatico ABI PRISM 3130xl (Applied Biosystems). Successivamente, 10 loci microsatelliti sono stati selezionati e valutati su 40 accessioni appartenenti al germoplasma pugliese di olivo. Il materiale vegetale è stato raccolto in prevalenza nel campo collezione del CRA-OLI di Rende (CS). Per ciascun *locus*, la PCR è stata eseguita su un volume di 20 µl contenente: 50 ng di DNA, 0,5 U di AmpliTaq Gold DNA polimerasi (Applied Biosystems), 2 µl di GeneAmp 10x buffer (100mM Tris-HCl, pH8.3, 500mM KCl), 1,5 mM di $MgCl_2$, 0,5 µM di ciascun primer e 200 µM di dNTPs. Il ciclo di amplificazione prevedeva: un ciclo iniziale di 9 min a 95 °C, cui sono seguiti 28 cicli di 30 sec a 95 °C, 45 sec a 56 °C e 60 sec a 72 °C; infine una fase di polimerizzazione di 45 min a 72°C. I prodotti dell'amplificazione sono stati analizzati mediante un sequenziatore automatico ABI PRISM 3130xl ed i risultati elaborati mediante il software GeneMapper (Applied Biosystems). L'analisi statistica dei dati è stata eseguita con il software IDENTITY 1.0 (Wagner e Sefc, 1999).

Risultati e discussione

Dalla genoteca arricchita sono stati ottenuti inserti con una lunghezza media compresa tra 350bp e

* a.akkak@unifg.it

850bp. Dal sequenziamento casuale di 96 colonie delle due genoteche GA/GT, è risultato che ben 46 sequenze contenevano il microsatellite ricercato. Questo risultato rivela la buona qualità della libreria considerata l'alta percentuale di arricchimento ottenuto (48%), anche in confronto ad altri valori ottenuti da Cipriani *et al.* (2002) e Carriero *et al.* (2004), 4% e 54% rispettivamente.

Si è scelto di iniziare a designare 10 coppie di primers, da impiegare per la valutazione del germoplasma olivicolo pugliese. Tutti i *loci* analizzati hanno prodotto amplificati, presentando 1 o 2 alleli del peso molecolare atteso (tab. 1). Dai risultati ottenuti è emerso che 7 marcatori microsatelliti sono risultati particolarmente polimorfici, consentendo di discriminare tra loro tutti i genotipi analizzati. Due *loci* (UFOe8 e UFOe9), invece, sono stati scartati a causa della presenza di più alleli e questo è probabiblmente dovuto alla presenza di siti di amplificazione simili sul DNA cloroplastico. I dati ottenuti hanno permesso di confermare alcuni casi di sinonimia già noti ('Nolca' e 'Mele', 'Marina pugliese' e 'Ogliarola barese', 'Coratina' e 'Racemo') e di individuare altre nuove probabili sinonimie: come quella tra le cultivar: 'Peppino Leo' e 'Termite di Bitetto'. Dall'analisi dei dati, sono anche state osservate alcune interessanti mutazioni di 2bp e 10bp che, se confermate, potranno consentire di rivedere alcuni casi di sinonimia riportati in letteratura (Muzzalupo *et al*., 2006).

I criteri adottati nella progettazione di questi nuovi *loci*, infine, sono stati tali da consentire il loro impiego in analisi multipla in un'ottica di un processo di genotipizzazione automatico. Inoltre, l'ampio intervallo di amplificazione osservato per qualche *locus* (in particolare UFOe2 e UFOe4) ne permetterà l'analisi su un semplice gel di agarosio, permettendo di conseguenza il loro utilizzo anche presso i laboratori meno attrezzati.

Infine i nuovi marcatori microsatelliti isolati potranno essere impiegati non solo nello studio dell'ampia biodiversità che caratterizza l'olivo, ma potranno anche essere impiegati nella saturazione di mappe genetiche.

Riassunto

Nuovi marcatori molecolari microsatelliti o SSR (Simple Sequence Repeats) sono stati isolati in olivo (*Olea europaea* L.) a partire da una genoteca arricchita con sequenze dinucleotidiche GA/GT. Sono stati selezionati 10 loci microsatelliti per lo studio di una quarantina di accessioni raccolte in prevalenza nel campo collezione del CRA-OLI di Rende (CS). I risultati preliminari hanno confermato l'affidabilità e l'efficienza della tecnica d'analisi come valido mezzo per contribuire all'identificazione e alla caratterizzazione varietale di questa specie.

Parole chiave: microsatelliti, fingerprinting, germoplasma, biodiversità, olivo.

Il presente lavoro è stato realizzato ed è tuttora in corso grazie al prezioso contributo della Fondazione Cassa di Risparmio di Puglia.

Bibliografia

AKKAK A., SCARIOT V., TORELLO MARINONI D., BOCCACCI P., BELTRAMO C., BOTTA R. 2009. *Development and evaluation of microsatellite markers in* Phoenix dactylifera *L. and their transferability to other* Phoenix *species*. Biologia Plantarum 53(1):164-166.

CARRIERO F., FONTANAZZA G., CELLINI F., GIORIO G. 2002. *Identification of simple sequenze repeats (SSRs) in olive (*Olea europaea *L.).* Theor. Appl. Gen. 104: 301-307.

Tab. 1 - Caratteristiche dei 10 *loci* impiegati per analizzare 40 cultivar di olivo.
Tab. 1 - Characterization of 10 microsatellite loci used for the analysis of 40 cultivar from olive.

Locus	Tipo ripetizione	Dimensioni attese (bp)	N° alleli	N° Genotipi	Eterozigosi attesa
UFOe1	$(CA)_2(CT)_{19}$	52-102	8	9	0,73
UFOe2	$(CT)CC(CT)CGTT(CT)_{16}$	337-361	6	13	0,80
UFOe3	$(CT)3GTCTTT(CT)CGTTAT(CT)_{11}$	99-148	8	13	0,72
UFOe4	$(CT)_{18}$	301-335	9	15	0,81
UFOe5	$(CT)_{13}(CA)_{12}$	239-267	12	20	0,87
UFOe6	$(CT)_{19}$	59	1	1	0,00
UFOe7	$(CT)_{16}$	134-167	6	9	0,69
UFOe8	$(CT)_{12}$	206	Multi-allelico	-	-
UFOe9	$(GA)_4CGCTA(GA)GAA(GA)_{21}$	122	Multi-allelico	-	-
UFOe10	$(CT)_{17}$	213-251	15	27	0,85

CIPRIANI G., MARRAZZO M.T., MARCONI R., CIMATO A. 2002. *Microsatellite markers isolated in olive (*Olea europea *L.) are suitable for individual fingerprinting and reveal polymorphism within ancient cultivars*. Theor. Appl. Gen. 104:223-228.

MUZZALUPO I., LOMBARDO N. 2006. *DNA Sequence analysis of microsatellite markers enhances their efficiency for germplasm management in an Italian olive collection*. J. Am. Soc. Hort. Sci. 131(3):352-359.

THOMAS M.R., MATSUMOTO S, CAIN P., SCOTT N.S. 1993. *Repetitive DNA of grapevine: classes present and sequences suitable for cultivar identification.* Theor. Appl. Gen. 86:985-990.

WAGNER H.W., SEFC K.M.. 1999. *IDENTITY 1.0*. Centre for Applied Genetics, University of Agricultural Sciences, Vienna.

Caratterizzazione primaria di 4 nuove accessioni di olivo ottenute per incrocio tra 'Nocellara del Belice' e 'Tonda dolce Partanna'

Fodale A.S., Mulè R., Tucci A., Tagliavia M. e Fodale R.
CRA-SFM, Unità di ricerca per il recupero e la valorizzazione delle specie floricole mediterranee

Characterization of 4 new olive genotypes obtained by cross between 'Nocellara del Belice' and 'Tonda dolce Partanna'

Abstract. 'Nocellara del Belice' is the most important italian cultivar, not only for the quality of its fruits, but also due to the extension of its cultivation. This cultivar is late maturing: that is why it is not cultivated for black olives production. Given the insufficient production of black table olives in Italy, and with the aim of enhancing the productivity of the 'Nocellara del Belice' cultivation area, a breeding programme was started in 1991 to cross this cultivar with the early ripening 'Tonda dolce Partanna' so to create new earlier ripening olive genotypes similar to 'Nocellara del Belice'. The crosses produced 560 fruit; from these, 336 extracted embryos germinated "in vitro", of which 134 survived acclimatization and transplantation. 3-year-old seedlings were planted at 2 x 1.5 m spacing. Their growth was monitored until the end of the juvenile phase. Afterwards phenotypical characteristics were collected for the classification of 20 primary descriptors pertinent to the drupes. Agronomic data were also collected. Only four genotypes showed early maturation. In particular, TD x NB IV produces fruits highly suitable for black olive processing; in fact they present high weight, excellent pulp/pit ratio, ease of separating pulp from pit, high levels of reducing sugars and they always complete the maturing in October. Moreover the other three genotypes, besides to appear more early than 'Nocellara del Belice', show some peculiarities: TD x NB III, a high weight of the fruit and pulp hardness; TD x NB V a reduced vigour; TD x NB I an ability to reach a high oil content early.

Key words: Olea europaea L., olive breeding, germplasm, early maturing cultivars, table olives.

Introduzione

L'Italia produce ogni anno una media di 70.000 t di olive da mensa già trasformate e ne consuma intorno a 130.000 t. La differenza viene importata principalmente dalla Spagna (olive verdi), dalla Grecia (olive nere). La 'Nocellara del Belice' che da recente, ha acquisito la D.O.P. è nota per la qualità dei suoi frutti e l'estensione della sua coltivazione (circa 12.000 ha in provincia di Trapani) che da luogo ad una produzione annuale di circa 30.000 t il cui 30% è destinato alla trasformazione di olive verdi da mensa. Tale varietà matura le sue drupe tardivamente (Mulè *et al*., 1987), per cui non può essere coltivata per la produzione di olive nere sebbene questo suo prodotto sia molto apprezzato dai consumatori. Considerata la insufficiente produzione nazionale di olive nere, le consistenti importazioni, le caratteristiche organolettiche della Nocellara e allo scopo di incrementare ulteriormente la produttività del comparto in provincia di Trapani, nel 1991 venne intrapreso un programma di breeding nel quale la suddetta cultivar è stata incrociata con una selezione a maturazione precocissima denominata 'Tonda dolce Partanna' (Mulè *et al*., 1992) nell'intento di ottenere nuovi genotipi simili alla Nocellara ma più precoci. In questo lavoro vengono presentati i dati relativi alla caratterizzazione primaria dei frutti di quattro nuovi genotipi ottenenti nell'ambito di tale attività di ricerca.

Materiali e metodi

Gli incroci furono realizzati con la tradizionale tecnica dell'insacchettamento. I noccioli estratti dai frutti furono risciacquati e trattati con un fungicida (ossicloruro di rame), quindi lasciati ad asciugare all'aria, conservati, per tre mesi, a temperatura ambiente (14-22 °C) e a 6 °C per un ulteriore mese per ridurre la dormienza embrionale. Dai noccioli furono accuratamente estratti i semi che vennero sterilizzati con alcool etilico (75%) per un minuto, quindi immersi in una soluzione di ipoclorito di sodio (1,6 %) per 20 minuti e risciacquati diverse volte con acqua distillata sterilizzata. Vennero quindi posti su doppio strato di carta da filtro entro piastre Petri da 90 mm ed esposti a 25 °C e a un fotoperiodo di 17 ore di luce generata da tubi fluorescenti (Philips TLD 36 W/54). Dopo tre giorni gli embrioni furono separati dall'endosperma e seminati in un substrato solido di Phytagel (Sigma P8169) addizionato di soluzione Hoagland (Hoagland e Arnon, 1950). Dopo 30 giorni di coltura i semenzali

con radici ed il primo stadio di foglie vere furono ambientati, travasati e trasferiti in serra. Dopo tre anni furono piantati in campo ad una distanza di 2 m x 1,5 m. e regolarmente coltivati. Non sono mai stati applicati fitofarmaci per potere evidenziare la resistenza agli stress biotici. Raggiunto lo stadio riproduttivo vennero raccolti i dati relativi ai descrittori primari così come definiti dal Consiglio Oleicolo Internazionale nel catalogo mondiale delle varietà di olivo (Barraco et al. 2000) ed osservati diversi caratteri bioagronomici.

Risultati

Nel biennio 1991-1992 sono stati raccolti 560 frutti ben sviluppati ed esenti da attacchi parassitari. Degli embrioni estratti 336 germinarono regolarmente ma solo il 40 % delle piantine sopravvisse alla fase di trapianto. I differenti semenzali completarono il periodo giovanile in un arco di tempo compreso tra 4 e 10 anni mostrando notevoli differenze nell'habitus vegetativo e nei parametri dei frutti. Tra tutti i semenzali alcuni hanno presentano caratteristiche interessanti, in particolare quattro denominati con le seguenti sigle: TD x NB I; TD x NB III; TD x NB IV; TD x NB V (fig. 1).

Nella tabella 1 vengono riportati i descrittori primari relativi ai genotipi selezionati e ai parenti. I genitori presentano in comune 7/20 caratteri di cui tre riguardano i frutti e 4 i noccioli. I genotipi selezionati hanno mostrato caratteri corrispondenti ai genitori: i frutti sono più conformi a quelli della Nocellara mentre i noccioli sono paragonabili a quelli della 'Tonda dolce Partanna'. Rispetto ai genitori sono, comunque, emerse delle differenze. Infatti il genotipo TD x NB I si differenzia per avere il diametro massimo dei frutti verso l'apice anzicchè centrale ed un numero di solchi fibrovascolari del nocciolo di valore medio, a differenza dei genitori dove è basso; la dimensione del mucrone è invece una via di mezzo tra quello dei genitori. Nel genotipo TD x NB III l'invaiatura del frutto inizia dai lati mentre nella Nocellara inizia dalla base e può iniziare dai lati; nella 'Tonda dolce Partanna' inizia sempre dall'apice. La TD x NB IV si distingue per avere un nocciolo molto scabroso, un numero di fasci fibrovascolari medio e un mucrone poco evidente. Infine il genotipo TD x NB V si diversifica per una superficie del nocciolo leggermente rugosa, quasi liscia, a differenza di quella dei genitori nei quali risulta rugosa. Nella figura 2 vengono riportati le curve di accrescimento, da luglio ad ottobre,

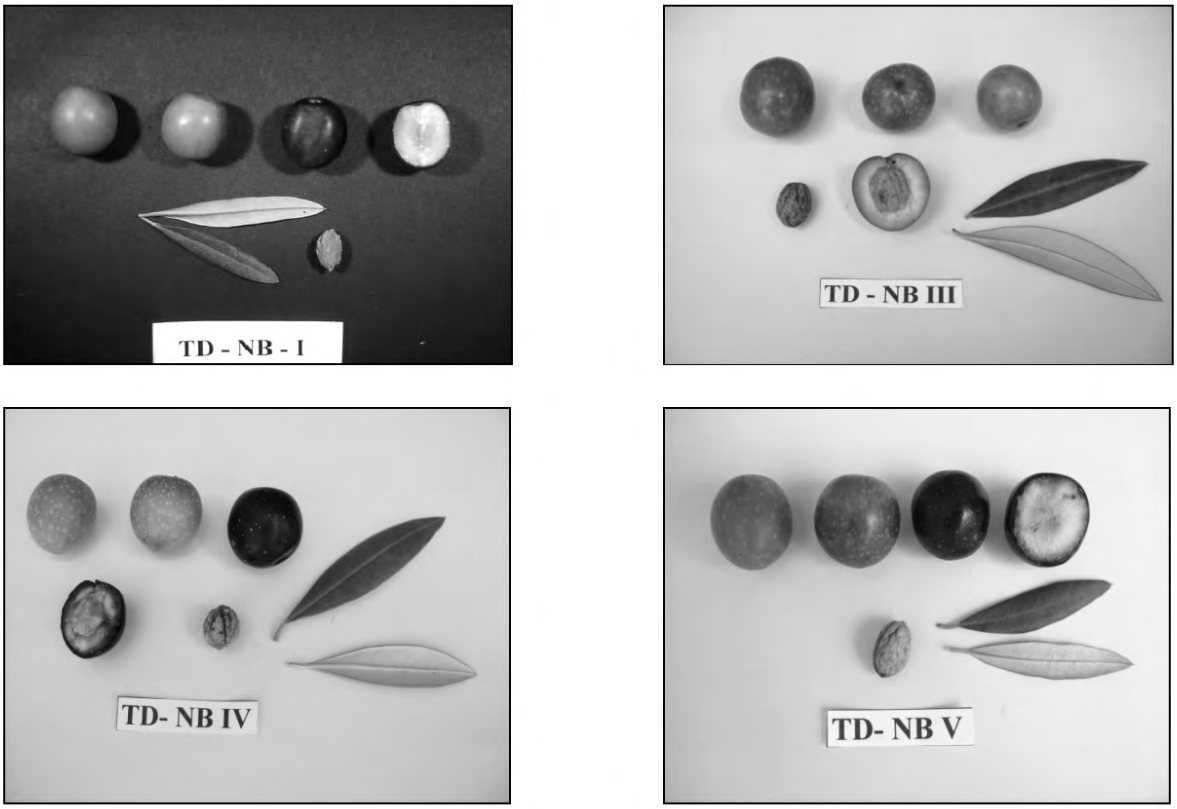


Fig. 1 - Foglie, frutti e noccioli dei nuovi genotipi.
Fig. 1 - Leaves, fruits and stones of new genotypes.

Tab. 1 - Caratteri morfologici dei frutti e dei noccioli
Tab. 1 - Morphological characters of fruits and stones.

Caratteri morfologici	Nocellara del Belice	Tonda dolce Partanna	TD x NB I	TD x NB III	TD x NB IV	TD x NB V
Frutti						
Peso	elevato	elevato	elevato	elevato	elevato	elevato
Forma	ellittica	sferica	ellittica	ellittica	sferica	sferica
Simmetria	leggermen. asimmetrico	simmetrico	leggermen. asimmetrico	simmetrico	leggermen. asimmetrico	leggermen. asimmetrico
Posizione diam. max	centrale	centrale	Verso l'apice	centrale	centrale	centrale
Forma dell'apice	arrotondato	arrotondato	arrotondato	arrotondato	arrotondato	arrotondato
Forma della base	troncata	arrotondata	arrotondata	troncata	troncata	troncata
Umbone	presente	assente	assente	assente	assente	assente
Lenticelle	rare	numerose	rare	numerose	rare	rare
Dimensione lenticelle	grandi	piccole	grandi	grandi	grandi	piccole
Colore del frutto	viola scuro	nero	viola scuro	viola scuro	viola scuro	viola scuro
Inizio della colorazione	dalla base o dai lati	verso l'apice	verso la base	dai lati	dalla base o dai lati	dalla base o dai lati
Noccioli						
Peso	elevato	medio	medio	elevato	elevato	elevato
Forma	ovoidale	sferica	ovoidale	sferica	sferica	ovoidale
Simmetria	leggermen. asimmetrico	leggermen. asimmetrico	leggermen. asimmetrico	leggermen. asimmetrico	leggermen. asimmetrico	leggermen. simmetrico
Posizione diam. max	centrale	verso l'apice	verso l'apice	verso l'apice	verso l'apice	verso l'apice
Forma dell'apice	rotondo	rotondo	rotondo	rotondo	rotondo	rotondo
Forma della base	troncata	arrotondata	arrotondata	troncata	troncata	arrotondata
Superficie	rugosa	rugosa	rugosa	rugosa	scabra	leggermenterugosa
N. solchi fibrovascol.	ridotto	ridotto	medio	ridotto	medio	ridotto
Apice	mucronato	senza mucrone	senza mucrone	senza mucrone	mucronato	senza mucrone

delle drupe delle quattro entità selezionate. La TD x NB III si è distinta dalle altre selezioni e dalla stessa 'Nocellara del Belice' per un rapido e costante accrescimento completatosi ai primi di Ottobre. Nella successiva figura 3 si può evincere la notevole precocità di maturazione di tutte e quattro selezioni rispetto alla Nocellara (carattere derivato dalla Tonda Dolce Partanna; Mulè *et al*., 1992), e soprattutto si distingue la TD x NB IV che nella prima decade di Ottobre ha presentato, nel triennio di osservazioni, oltre l'85 % delle drupe invaiate. Infine, con la figura 4 si può mettere in risalto la capacità della TD x NB I di raggiun-

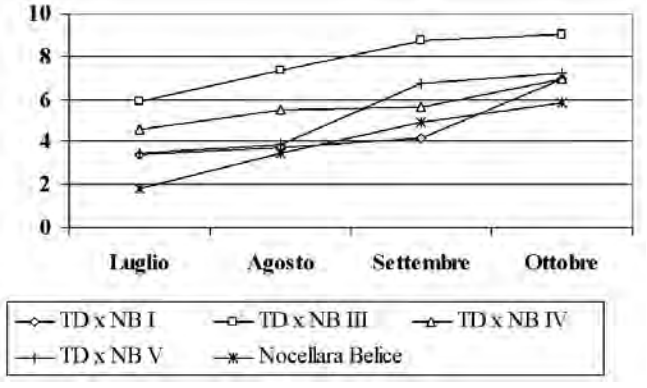


Fig. 2 - Incremento in peso delle olive (medie 2003-2005).
Fig. 2 - Increase of olives weight from July to October (average 2003-2005).

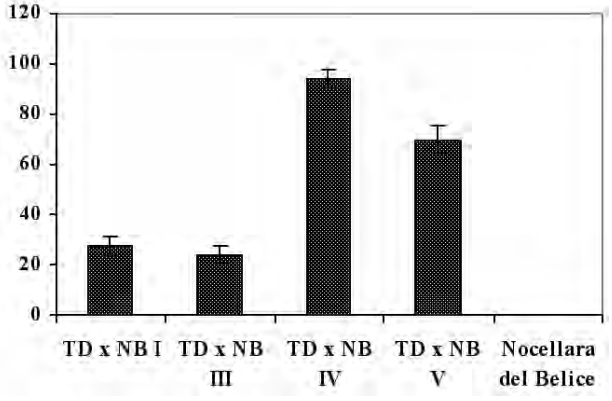


Fig. 3 - Percentuale di olive nere nella prima decade di Ottobre (medie 2003-2005).
Fig. 3 - Percentage of black olives in the first ten days of October; data show means and standard errors (n=3; 2003-2005).

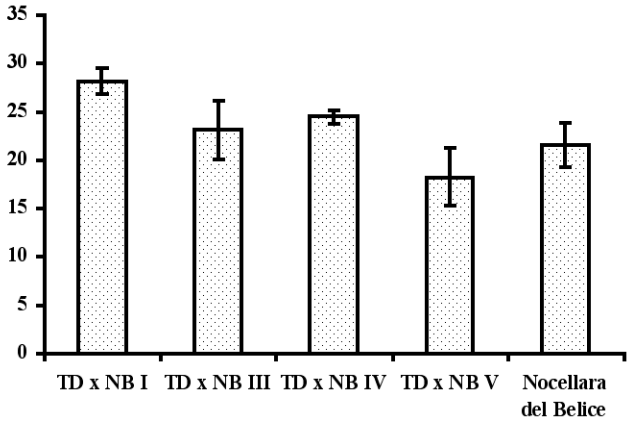


Fig. 4 - Contenuto in olio delle drupe nella seconda decade di Ottobre (medie 2003-2005).
Fig. 4 - Drupes' oil content in the second ten days of October; data show means and standard errors (n=3; 2003-2005)

gere, più delle altre, livelli lipidici elevati già dalla seconda decade di Ottobre.

Caratteri agronomici e biologici

Di seguito sono riportate le osservazioni per ciascuno dei nuovi genotipi; i dati relativi alle olive sono stati raccolti prevalentemente nel mese di settembre.

TDxNB I

Tempo di fioritura: maggio; autoincompatibile; aborto dell'ovario: 27,80%; produttività: alta e costante; precocità di maturazione; peso medio dei frutti: 5,48 g; rapporto polpa/nocciolo: 5,8; resistenza alla compressione della polpa: 1.100 g; distribuzione dei calibri: per il 62,5% nella classe Extra Jumbo; contenuto in olio sulla sostanza fresca: 28,16%; facile separazione della polpa dal nocciolo; livello zuccheri riduttori a Settembre: 2,26%; resistenza al distacco: media (500 g); tolleranza media a *Spilocaea oleagina*, *Bactrocera oleae* e *Camarosporium dalmaticum*; capacità di attecchimento dell'innesto: circa 50%; capacità rizogena: oltre il 57%.

TDxNB III

Tempo di fioritura: maggio; autoincompatibile; aborto dell'ovario: 6,33%; produttività: media e costante; precocità di maturazione; peso medio dei frutti: 8,83 g; rapporto polpa/nocciolo: 7,45; resistenza alla compressione della polpa: 1.700 g; alta tolleranza alle manipolazioni; distribuzione dei calibri: per il 82,5% nella classe Super colossal ; contenuto in olio sulla sostanza fresca 23,16%; facile separazione della polpa dal nocciolo; livello zuccheri riduttori a settembre: 1,73%; resistenza al distacco: media (500 g); tolleranza *Spilocaea oleagina*, moderatamente sensibile *a Bactrocera oleae* e *Camarosporium dalmaticum;* capacità di attecchimento dell'innesto bassa: circa 20%; capacità rizogena media: circa 52%.

TDxNB IV

Tempo di fioritura: maggio; autoincompatibile; aborto dell'ovario: 12,59%; produttività: alta e costante; precocità di maturazione; peso medio dei frutti: 6,30 g; rapporto polpa/nocciolo: 6,15; resistenza alla compressione della polpa:1.200 g; distribuzione dei calibri: per il 87,05% nelle classi Colossal ed Extra Jumbo; contenuto in olio sulla sostanza fresca 24,50%; facile separazione della polpa dal nocciolo; livello zuccheri riduttori a settembre: 2,36%; resistenza al distacco del frutto: media (500 g); moderatamente sensibile a *Spilocaea oleagina, Bactrocera oleae* e *Camarosporium dalmaticum;* buona capacità di attecchimento dell'innesto: circa 80%; buona capacità rizogena: media oltre 80%.

TDxNB V

Tempo di fioritura: maggio; autoincompatibile; aborto dell'ovario: 15,13%; produttività: media ed alternante; precocità di maturazione; peso medio dei frutti: 6,81 g; rapporto polpa/nocciolo: 6,5; resistenza alla compressione della polpa: 1.150 g; distribuzione dei calibri: per il 59,9% nella classe Colossal; contenuto in olio sulla sostanza fresca 18,25%; facile separazione della polpa dal nocciolo; livello zuccheri riduttori: 1,73%; resistenza al distacco del frutto: media (500 g); moderata sensibilità a *Spilocaea oleagina, Bactrocera oleae* e *Camarosporium dalmaticum;* buona capacità di attecchimento dell'innesto: circa 90%; capacità rizogena: medio-bassa circa 38%

Discussione

Le nuove selezioni hanno mostrato eccellenti caratteristiche carpologiche quali elevato peso dei frutti e buona distribuzione dei calibri compresi entro due classi adiacenti di diametro: nota distintiva, questa, di una buona partita di olive da mensa. Altre caratteristiche positive sono rappresentate dall'ottimo rapporto polpa/nocciolo, il facile distacco della polpa dal nocciolo, il sufficiente livello di zuccheri riduttori, l'elevato contenuto in olio e la precocità di maturazione. In particolare la selezione TD x NB III si è distinta per la rapida crescita delle drupe che alla fine di Settembre hanno raggiunto un peso finale più elevato di quello della 'Nocellara del Belice', rispettivamente 8,83 g contro 5 g.: questa qualità la rende interessante per la produzione di olive verdi da tavola. Lo stesso genotipo ha mostrato un ridotto aborto dell'ovario

pari a 6,33% e una discreta tolleranza a *Spilocaea oleagina*. La selezione TD x NB IV si è dimostra adatta alla produzione di olive nere da mensa ed è quella da noi ritenuta più vicina agli obiettivi prefissati; le sue drupe diventando nere entro il mese di ottobre consentono di sfuggire alle cause della cascola determinata da attacchi parassitari e/o intemperie. Inoltre gli altri parametri carpologici risultano eccellenti, in particolare il peso medio delle drupe ed il contenuto in zuccheri riduttori pari al 2,36%: il livello degli zuccheri nella polpa è di basilare importanza per lo sviluppo, in salamoia, delle fermentazioni naturali (Borbolla y Alcalà e Rejano Navarro, 1978). Anche gli altri due genotipi hanno dimostrato maggiore precocità rispetto alla 'Nocellara del Belice' e buone caratteristiche carpologiche e agronomiche. La selezione TD x NB V si è qualifica per un ridotto vigore; ciò la può rendere interessante per sperimentazioni relative alla costituzione di oliveti ad elevata densità. Infine il genotipo TD x NB I ha dimostrato capacità di raggiungere, già alla fine di Settembre, elevati tenori di olio (27,80%) che possono permettere una raccolta anticipata con evidenti vantaggi per la salubrità del prodotto che sfuggendo agli attacchi della *Bactrocera* consente un innalzamento dei parametri qualitivi.

Conclusioni

Il programma di incroci attuato per ottenere dei genotipi simili alla varietà Nocellara del Belice e con una maggiore precocità rispetto a questa, ha permesso di isolare quattro nuovi genotipi con caratteristiche interessanti sia per la trasformazione da mensa che da olio. In relazione all'obiettivo che ci si era prefissato, cioè quello di ottenere accessioni adatte alla produzione di olive nere, si è distinto soltanto il genotipo denominato TD x NB IV. Le nuove accessioni dopo essere state moltiplicate, sono state impiantate in due campi di valutazione agronomica siti uno a Menfi (AG) e l'altro presso i campi sperimentali del CRA-ACM di Acireale .

Riassunto

Considerato che il nostro Paese importa dall'estero notevoli quantità di olive nere si è attuato, a partire dal 1991, un programma di incrocio tra la 'Nocellara del Belice', importante varietà da mensa italiana, e una selezione a maturazione precocissima denominata 'Tonda dolce Partanna', allo scopo di ottenere nuovi genotipi che potessero avere caratteristiche carpologiche simili a quelle della 'Nocellara' ma più precoci. Gli incroci, realizzati nel corso di un biennio, hanno prodotto 560 semi vitali; di questi, 336 sono germinati *in vitro,* dando luogo, nell'arco di 40 giorni, ad altrettante piantine. I diversi semenzali, all'età di tre anni, sono stati posti in campo ad un sesto di 2 x 1,5 m e coltivati secondo la normale tecnica. Superata la fase giovanile sono stati raccolti, per ciascun semenzale, i dati di 20 descrittori primari relativi alle drupe; nonché osservate, in via preliminare, alcune caratteristiche agronomiche. Dei 134 genotipi soltanto 4 si sono distinti in relazione agli obiettivi che ci si era prefissati. In particolare il genotipo denominato TD x NB IV ha mostrato un peso elevato, un eccellente rapporto polpa/nocciolo, facilità di distacco della polpa dal nocciolo, alto tenore di zuccheri riduttori e precocità di maturazione. Anche gli altri tre genotipi pur mostrando maggiore precocità rispetto alla Nocellara sono risultati interessanti per altri caratteri: TD x NB III per il peso elevato dei frutti e la resistenza alla compressione; TD x NB V per vigore ridotto; TD x NB I per la capacità di raggiungere precocemente elevati contenuti di olio.

Parole chiave: *Olea europaea* L., germoplasma, precocità di maturazione, olive da mensa.

Bibliografia

BARRANCO D., CIMATO A., FIORINO P., RALLO L., TOUZANI A., CASTANEDA C., SERAFINI F., TRUJLLO I., 2000. *World Catalogue of olive varieties*. International Olive Oil Council, Spain, pp. 359

BORBOLLA Y ALACALÀ', J.M.R. DE LA, REJANO NAVARRO L., 1978. *Sobre la preparacion de las aceitunas estilo sevillano. El lavado de los frutos tratados con lejia.* Grassa y Aceites 29: 281-291.

HOAGLAND D.R., ARNON D.I., 1950. *The water culture method for growing plants without soil*. California Agricultural Experiment Station Circular 347.

MULÈ R., FODALE A.S., PARLATI M.V., TUCCI A., 1992. *'Tonda Dolce Partanna': nuova varietà di olivo da mensa a maturazione precocissima*. Frutticoltura, 11: 25-29.

Acta Italus Hortus 1: 155-158

Caratterizzazione e valorizzazione del germoplasma dell'olivo a duplice attitudine in Puglia

Russo G.
Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali, Università di Bari

Characterization and evaluation of olive germplasm at double attitude in Apulia

Abstract. The scope of the research was to valorize the bio-agronomic and qualitative characteristics of table olives individualized ecotypes, that in the past were utilized for oil extration. Particular attention was placed to the pulp quality, that is very important for industrial utilization. The morfo-qualitative characteristics of fruits and seeds were determined in order to discriminate, in the rich local Apulia germplasm, the homonymy/synonimity of some varieties. The results of analytical study showed high differences in both fruit and seed characteristics.

Key words: olive, genetic resources, Apulia region, fruit morphology, fruit quality.

Introduzione

Nell'ambito di un programma di ricerca relativo all'identificazione, salvaguardia e valorizzazione del germoplasma dell'olivo in Puglia, è in corso un pluriennale studio delle specifiche caratteristiche agrofenologiche e morfo-qualitative delle cultivar popolazioni native scelte mediante un primo screening tra quelle coltivate in tale regione (Russo, 1996; 1998; Russo *et al.*, 1999; 2000). La ricerca è stata svolta in particolare su ecotipi/cultivar di olive, che in passato erano utilizzate per l'ottenimento dell'olio e che oggi potrebbero essere utilizzate anche per altri usi. Lo scopo della ricerca è quello di valorizzare le caratteristiche bio-agronomiche e qualitative in particolare, per una maggiore utilizzazione della polpa a livello industriale degli ecotipi individuati. Sulla drupa e sui semi sono state rilevate le caratteristiche morfo-qualitative, parametri indispensabili per la caratterizzazione varietale al fine di risolvere problematiche legate alla omonimia/sinonimia molto frequente nel ricco germoplasma autoctono pugliese.

Materiali e metodi

Le varietà sono state raccolte in Puglia al momento di piena maturazione. Per ogni ecotipo è stata caratterizzata una pianta, sulla quale sono stati raccolti venti frutti nei diversi orientamenti della pianta (sud, est, nord ed ovest), e all'altezza media della chioma.

Sul frutto sono state determinate le seguenti caratteristiche: peso, lunghezza, larghezza e rapporto lunghezza/larghezza, descrizione, simmetria in posizione A, posizione del diametro trasversale max, apice in posizione A, base in posizione A, mucrone, luogo inizio invaiatura e colore in piena maturazione. Sul nocciolo sono state determinate le seguenti caratteristiche: peso, lunghezza, larghezza e rapporto lunghezza/larghezza, descrizione, simmetria in posizione A e B, posizione del diametro trasversale max, apice in posizione A, base in posizione A, superficie in posizione B, numero e distribuzione dei solchi fibrovascolari, terminazione dell'apice. I dati sono stati sottoposti all'analisi della varianza e le medie sono state confrontate con il test di Duncan.

Tab. 1 - Luogo ed epoca di raccolta.
Tab. 1 - Place and time of collection.

Ecotipi	Provincia	Città	Data di raccolta
Leccino 1	TA	Massafra	01/11/00
Leccino 2	TA	Massafra	01/11/00
Fasola	TA	Massafra	12/11/00
Coratina	BA	Bitonto	02/11/00
Oliva dolce 1	TA	Grottaglie	03/11/00
Oliva dolce 2	BA	Bitonto	03/11/00

Risultati

Le caratteristiche morfologiche del frutto sono riassunte in tabella 2. Il peso è in media 3.36 g con oscillazioni che variano da 4.90 g nel Leccino 2, 4.71 g nell'Oliva dolce 1 e 4.13 g nella Coratina, fino a valori molto bassi nella Fasola 1.42 g. La dimensione piccola della Fasola è confermata anche dalle misure della lunghezza (14.30 mm) e della larghezza (13.10 mm). Il rapporto lunghezza/larghezza è in media 1.40.

Le caratteristiche descrittive del frutto riassunte in tabella 3, indicano molte differenze. La varietà Leccino ha forma ellissoidale-allungata, la varietà Coratina ellissoidale e la Fasola, Oliva dolce hanno forma ellissoidale breve.

Le caratteristiche morfologiche del nocciolo sono riassunte in tabella 4. Il peso è basso nella Fasola (0.33 g), e alto nella Coratina (0.91 g). La lunghezza è in media 16.84 mm e la larghezza è in media 7.73 mm e il rapporto lunghezza/larghezza è in media 2.17, in tutti e tre i caratteri c'è differenza significativa.

Le caratteristiche descrittive del nocciolo riassunte nelle tabella 5a e 5b, indicano molte differenze tra le varietà. La varietà Leccino e Coratina hanno forma allungata, la varietà Coratina ellittica e la Fasola è rotonda.

Tab. 2 – Caratteristiche morfologiche del frutto.
Tab. 2 - Morphological characteristics of the fruit.

Ecotipi	Peso (g)	Diametro		Rapporto lunghezza/larghezza
		lunghezza (mm)	larghezza (mm)	
Leccino 1	3.05 B	21.99B	15.50B	1.42 B
Leccino 2	4.90 A	25.86A	18.50A	1.40 B
Fasola	1.42 C	14.30D	13.10C	1.09 D
Coratina	4.13 A	25.71A	16.04B	1.61 A
Oliva dolce 1	4.71 A	24.06A	18.52A	1.30 C
Oliva dolce 2	1.95 C	19.47C	12.54C	1.56 A
Media	3.36	21.90	15.70	1.40

Le medie con lettere uguali non sono differenti al P<0.01 (Test di Duncan)

Tab. 3 - Caratteristiche descrittive del frutto.
Tab. 3 - Descriptive characteristics of the fruit.

Ecotipi	Descrizione	Simmetria in posizione A	Posizione del diametro trasversale max	Apice in posizione A	Base in posizione A	Mucrone	Luogo inizio invaiatura	Colore in piena maturazione
Leccino 1	Ellissoidale - allungato	Leggermente assimmetrica	Centrato	Arrotondato	Troncata	Assente	Base	Nero - violaceo
Leccino 2	Ellissoidale - allungato	Leggermente assimmetrica	Verso base	Arrotondato	Troncata	Assente	Base	Violaceo -scuro
Fasola	Ellissoidale - breve	Leggermente assimmetrica	Centrato	Arrotondato	Troncata	Assente	Centro	Nero
Coratina	Ellissoidale	Leggermente assimmetrica	Centrato	Arrotondato	Arrotondata	Assente	Apice	Nero
Oliva dolce 1	Ellissoidale - breve	Leggermente assimmetrica	Centrato	Arrotondato	Troncata	Assente	Apice	Nero
Oliva dolce 2	Ellissoidale - breve	Leggermente assimmetrica	Verso l'apice	Arrotondato	Arrotondata	Assente	Base	Nero

Tab. 4 – Caratteristiche morfologiche del nocciolo.
Tab. 4 - Morphological characteristics of the core.

Varietà	Peso (g)	Diametro lunghezza (mm)	Diametro larghezza (mm)	Rapporto lunghezza/larghezza
Leccino 1	0.63 BC	17.39BC	7.59AB	2.30 B
Leccino 2	0.80 AB	18.92B	8.19A	2.31 B
Fasola	0.33 D	10.23D	7.10B	1.44 D
Coratina	0.91 A	20.81A	7.94B	2.62 A
Oliva dolce 1	0.77 ABC	16.95C	8.01A	2.11 C
Oliva dolce 2	0.57 C	7.52AB	7.52AB	2.24 BC
Media	0.67	16.84	7.73	2.17

Le medie con lettere uguali non sono differenti al P<0.01 (Test di Duncan)

Tab. 5a – Caratteristiche descrittive del nocciolo.
Tab. 5a - Descriptive characteristics of the stone.

Ecotipi	Descrizione	Simmetria in posizione A	Simmetria in posizione I	Posizione del diametro trasversale max
Leccino 1	Allungata	Simmetria	Leggermente assimmetrico	Centrata
Leccino 2	Allungata	Simmetria	Leggermente assimmetrico	Centrata
Fasola	Rotonda	Leggermente assimmetrico	Leggermente assimmetrico	Verso la base
Coratina	Allungata	assimmetrico	Leggermente assimmetrico	Centrata
Oliva dolce 1	Ellittica	Simmetria	Assimmetrico	Verso la base
Oliva dolce 2	Ellittica	Simmetria	Leggermente assimmetrico	Verso l'apice

Tab. 5b – Caratteristiche descrittive del nocciolo.
Tab. 5b - Descriptive characteristics of the stone.

Ecotipi	Apice in posizione A	Base in posizione A	Superficie In posizione B	Numero di solchi fibrovascolari	Distribuzione solchi fibrovascolari	Terminazione dell'apice
Leccino 1	Appuntito	Arrotondato	Ruvida	Medio	Uniforme	Mucronato
Leccino 2	Appuntito	Arrotondato	Rugosa	Medio	Uniforme	Mucronato
Fasola	Arrotondata	Arrotondato	Scabra	Medio	Uniforme	Senza mucrone
Coratina	Appuntito	Appuntito	Rugosa	Medio	Uniforme	Mucronato
Oliva dolce 1	Appuntito	Arrotondato	Rugosa	Alto	Uniforme	Senza mucrone
Oliva dolce 2	Appuntito	Appuntito	Liscia	Basso	Uniforme	Mucronato

Conclusioni

Lo studio analitico ha portato alla individuazione di una diversità genetica espressa da evidenti differenziazioni delle caratteristiche morfo-qualitative delle drupe e dei semi, importanti per la caratterizzazione ed individuazione del germoplasma olivicolo pugliese. L'analisi dei risultati evidenzia differenze che possono avere attenzione nei processi di trasformazione dell'industia alimentare, per soddifare i nuovi bisogni del consumatore.

Riassunto

La ricerca è stata svolta in particolare su ecotipi/cultivar di olive da mensa che in passato erano utilizzate per l'ottenimento dell'olio, allo scopo di valorizzare le caratteristiche bio-agronomiche e qualitative in particolare, per una maggiore utilizzazione della polpa a livello industriale degli ecotipi individuati. Sulla drupa e sui semi sono state rilevate le caratteristiche morfo-qualitative, parametri indispensabili per la caratterizzazione varietale al fine di risol-

vere problematiche legate alla omonimia/sinonimia molto frequente nel ricco germoplasma autoctono pugliese. Lo studio analitico ha portato alla individuazione di una diversità genetica espressa da evidenti differenziazioni delle caratteristiche morfo-qualitative delle drupe e dei semi, importanti per la caratterizzazione ed individuazione del germoplasma olivicolo pugliese.

Parole chiavi: olivo, risorse genetiche, regione Puglia, morfologia e qualità dei frutti.

Ricerca svolta nell'ambito del Progetto POM (Programma Operativo Multiregionale) - n. B37 "Valorizzazione delle risorse frutticole locali mediante tecniche di essiccazione delicate"

Bibliografia

RUSSO G., 1996. *"Oliva Dolce" antica cultivar pugliese di olivo*. III Giornate Scientifiche SOI, Erice, 10-14 marzo 1996: 625-626.

RUSSO G., 1998. *Biodiversity of the olive germplasm in Apulia*. Ecoliva: Second Mediterranean sessions of the ecological olive grove. Puente de Genave – Sierra de Segura – Spagna, 11-14 novembre, 1998.

RUSSO G., CORONA M.G., LIUZZI V., GAMBACORTA G., 1999. *Cultivar autoctone di olivo pugliese:caratteristiche morfologiche delle drupe e qualità degli olii da Limongella, Olivastro e Simone*. 5° Convegno Nazionale sulla Biodiversità. Caserta, Belvedere di San Leucio 9-10 settembre 1999: 352-355.

RUSSO G., CORONA M.G., LIUZZI V., GAMBACORTA G., 2000. *Caratteristiche morfo-qualitative di alcune cultivar autoctone minori di olivo pugliese*. V Giornate Scientifiche SOI, Sirmione, 28-30 marzo 2000: 341-342.

Monitoraggio del periodo ottimale di raccolta nella DOP "Umbria"

Farinelli D.[1*], Ruffolo M.[1], Scatolini G.[2], Siena M.[2] e Tombesi A.[1]
[1] Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università di Perugia
[2] Società Agricola APROL, Perugia

Influence of fruit ripening on oil quality to establish the optimum harvesting time for olive cultivars in "Umbria" DOP

Abstract. The aim of this work was to study the influence of fruit ripening on parameters which determine oil quality of the monovarietal "Umbria" DOP olive oils, during three successive crop seasons in attempt to establish the optimum harvesting time for olives. The study was carried out in Central Italy from 2006 to 2008. The quantity and quality of oil during fruit ripening (from mid of October to end of November) were monitored in the olive cultivar Dolce Agogia, Frantoio, Leccino and Moraiolo. Differences among years were found for optimum harvesting time according to seasonal changes. For the driest year 2007 the optimum harvesting time was prearranged and cultivars showed contemporaneous ripening stages and higher polyphenol concentrations. In conclusion all the data indicate that drupe characteristics (i.e. oil content on dried weight, detachment force of fruits), fruit-drop and sensorial evaluation of the oil, used as harvest indexes, help to establish the optimum fruit harvesting date according to the nutritional, sensorial and commercial advantages.

Key words: Frantoio, Leccino, Moraiolo, olive ripeness, polyphenols.

Introduzione

Nel recente passato e nella fase attuale, la carenza di manodopera e la scarsa applicazione di mezzi meccanici hanno portato ad allargare il periodo di raccolta ed ad anticiparlo per poter concludere la raccolta prima che la caduta a terra del prodotto determini una forte riduzione delle quantità e della qualità dell'olio raccoglibili. Oggi, con le buone prospettive della raccolta meccanica ed in virtù delle elevate capacità operative delle macchine, è opportuno ritornare a raccogliere le olive quando qualità del prodotto, quantità d'olio e facilità di raccolta possano realizzarsi (Farinelli *et al.*, 2009). Da qui nasce l'esigenza di seguire l'evoluzione dei parametri agronomici dei frutti durante il periodo di maturazione e la qualità dell'olio ottenuto, per definire il periodo migliore in cui eseguire la raccolta, attraverso la valutazione, della quantità e della qualità dell'olio e delle caratteristiche dei frutti, quali il peso fresco e la resistenza al distacco, che sono importanti per l'utilizzo delle macchine per l'esecuzione della raccolta, le caratteristiche organolettiche, i costituenti responsabili della conservazione e delle proprietà salutari e dietetiche dell'olio di oliva. Naturalmente diversi fattori vi concorrono tra cui l'ambiente, la varietà, le tecniche colturali e l'andamento stagionale. Inoltre, è da considerare anche che l'importanza della qualità è aumentata notevolmente negli ultimi anni in cui si è assistito ad un crescente interesse verso l'ottenimento di oli aventi caratteristiche peculiari, quali particolari sentori e/o livelli di fruttato, amaro, piccante, ecc., che permettono di differenziare/tipicizzare il prodotto (Famiani *et al.*, 2004, Inglese *et al.*, 2009; Tombesi, 2009); c'è poi l'esigenza di fornire, in base all'evoluzione dei suddetti parametri, immediatamente, l'informazione all'olivicoltore di quando iniziare la raccolta. Tale informazione è molto sentita in Umbria, dove più dell'8% dell'olio prodotto ogni anno viene certificato DOP (Consorzio di tutela olio DOP Umbria).

Materiale e metodi

Lo studio è stato condotto nel 2006, 2007 e nel 2008, presso oliveti rappresentativi (numero 10 per annualità), costituti da piante adulte e produttive, scelti all'interno delle 3 sottozone di produzione dell'olio DOP "Umbria" comprese nel territorio della provincia di Perugia (Colli Assisi - Spoleto, Colli del Trasimeno e Colli Martani), gestiti in coltura asciutta. I rilievi sono stati eseguiti sulle cultivar più importanti indicate dal Disciplinare di Produzione per ciascuna sottozona, cioè Dolce Agogia, Frantoio, Leccino e Moraiolo.

In ogni oliveto e per ogni varietà sono state scelte tre piante, omogenee per conformazione della chioma e carica dei frutti, e, per ognuna di essa, sono stati determinati il peso dei frutti ed i principali indici di maturazione delle drupe ad intervalli bisettimanali, compresi all'interno dell'arco di tempo che si estende tra i mesi d'ottobre e novembre, periodo durante il

* d.farinelli@unipg.it

quale si verificano i processi evolutivi fondamentali che caratterizzano la fase di maturazione. I rilievi hanno riguardato i seguenti indici di maturazione: Forza al distacco delle drupe, determinata mediante l'utilizzo di un dinamometro manuale "Carpo"; Indice di colore o grado di pigmentazione delle drupe, rilevato su un campione di 100 olive per pianta in base al colore dell'epicarpo e del mesocarpo, suddividendo i frutti secondo una scala che va da 0 (olive verdi) a 5 (mesocarpo invaiato in profondità); Durezza della polpa, mediante l'utilizzo di un penetrometro con puntale di 1,5 mm; Cascola, determinata su tre rami fruttiferi, per pianta e per ogni cultivar, racchiusi in sacchetti di rete ad inizio ottobre, così da poter monitorare, nelle successive epoche, l'intensità della cascola naturale, mediante il conteggio delle drupe cadute; Peso fresco delle drupe su un campione di 100 olive; contenuto in olio e contenuto in acqua dei frutti determinati impiegando l'apparecchiatura SpectraAlyzer Zeutec.

Per quanto riguarda la qualità dell'olio nel 2007 e nel 2008, durante la maturazione delle olive sono stati prelevati dei campioni del peso di circa 1 chilogrammo, da cui è stato estratto l'olio, con una mini-linea di estrazione, per determinare l'acidità libera, il numero di perossidi e il contenuto in polifenoli secondo le metodiche ufficiali di analisi. La valutazione sensoriale degli oli (richiesta dal Reg. CE n. 796/2002) è stata effettuata da assaggiatori esperti di olio d'oliva seguendo le indicazioni del Reg (CE) n. 2568/91, appartenenti al panel ufficiale APROL. Essendo il processo di maturazione condizionato da fattori climatici, è stato monitorato l'andamento termopluviometrico durante l'indagine, avvalendosi dei dati rilevati dalla Rete Meteorologica regionale. Nei grafici e nelle tabelle sono riportati i valori medi dei dati accompagnati dall'errore standard.

Risultati e discussione

Il 2006, 2007 e 2008 sono anni caratterizzati da andamenti climatici differenti, soprattutto per quanto riguarda la piovosità da giugno a novembre, pari rispettivamente a 350, 201 e 329 mm (fig. 1). La programmazione della raccolta delle olive è stata fatta in base al valore degli indici di maturazione, quali forza di distacco dei frutti, contenuto in olio su peso secco, cascola, e ai risultati dell'assaggio organolettico dell'olio, considerando anche l'accrescimento in peso dei frutti, l'indice di colore e la percentuale di frutti con resistenza al distacco <3 N. In particolare l'epoca di raccolta è stata individuata tenendo presente che la raccolta delle olive dovrebbe iniziare quando la forza

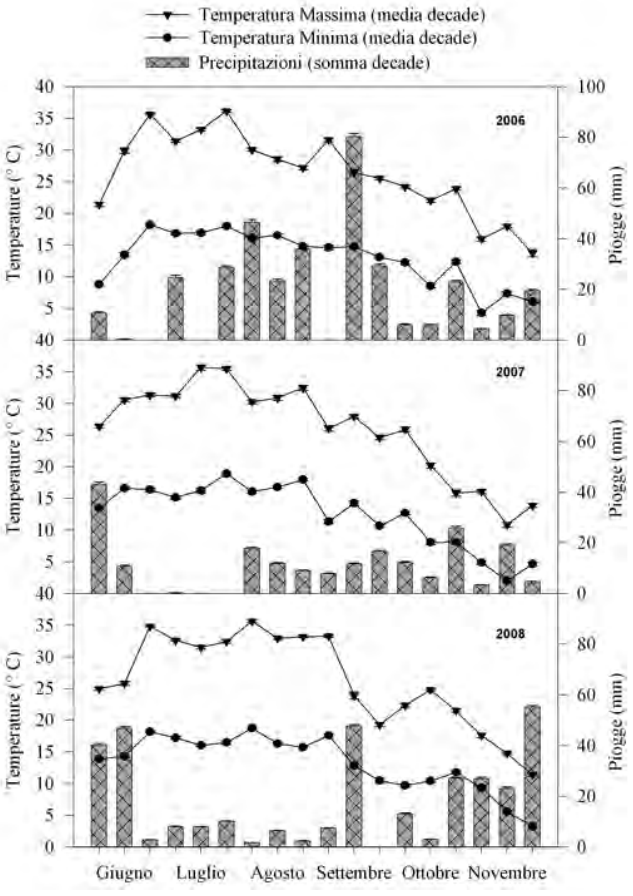


Fig. 1 – Andamento termopluviometrico.
Fig. 1 – Weather conditions recorded from June to November in 2006, 2007 and 2008.

di distacco dei frutti è inferiore ai 3 N per il 10-20 % delle olive, o quando cominciano a distaccarsi naturalmente i primi frutti, e dovrebbe poi protrarsi per 10-15 giorni, concludendosi prima che la cascola sia superiore al 5-10%. In tali condizioni si conseguono gli obiettivi di ottenere la maggiore quantità di olio, della migliore qualità e con condizioni di raccolta favorevoli alla meccanizzazione (Tombesi, 2009). Nel 2006, il periodo ottimale di raccolta delle olive è stato dal 1° novembre al 15 novembre nelle sottozone Assisi-Spoleto e Colli Martani, con periodi simili per Leccino e Moraiolo; nel Leccino è stata riscontrata una leggera maggiore ampiezza del periodo di raccolta (dati non mostrati). Nella sottozona Colli del Trasimeno è stato riscontrato un anticipo nella maturazione dei frutti di 5-6 giorni, con la Dolce Agogia in anticipo rispetto a Leccino e Moraiolo (fig. 2).

Lo stress idrico verificatosi nell'estate e nell'autunno 2007 ha comportato una rapida evoluzione della qualità complessiva dell'olio raccoglibile sulla pianta, legata al rapido evolversi della popolazione di frutti presente sulla pianta. In queste condizioni è risultata ancora più strategica l'esatta individuazione dell'epoca ottimale di raccolta (Inglese *et al.*, 2009). Infatti, il

Tab. 1 - Caratteristiche dei frutti ed indici di maturazione nella sottozona Colli Assisi-Spoleto.
Tab. 1 - Fruit characteristics and ripening indexes in subzone Assisi-Spoleto.

Culrivar	Date rilievi	Peso fresco (g)	Contenuto in acqua (%)	Durezza polpa (g)	Indice di colore (0-5)	Frutti con FD<3N (%)
Moraiolo	10/10/2007	1,76 ± 0,08	54,10 ± 0,18	684 ± 45	0,83 ± 0,19	6,25 ± 1,87
	25/10/2007	1,83 ± 0,08	52,16 ± 0,52	638 ± 46	2,67 ± 0,21	4,75 ± 1,52
	16/11/2007	1,90 ± 0,10	45,84 ± 1,37	451 ± 15	3,83 ± 0,26	16,90 ± 1,43
Frantoio	30/09/2008	1,32 ± 0,05	57,43 ± 0,51	620 ± 48	0,57 ± 0,15	5,58 ± 1.15
	14/10/2008	1,25 ± 0,06	50,33 ± 0,22	678 ± 49	0,73 ± 0,22	6,12 ± 1,51
	04/11/2008	1,82 ± 0,05	57,09 ± 0,27	878 ± 72	2,54 ± 0,16	9,40 ± 1,25
	27/11/2008	1,26 ± 0,01	51,45 ± 0,48	899 ± 85	2,88 ± 0,16	39,09 ± 2,25
Moraiolo	30/09/2008	1,15 ± 0,06	53,88 ± 0,68	871 ± 18	0,77 ± 0,27	8,07 ± 1,82
	14/10/2008	1,37 ± 0,05	49,26 ± 4,05	909 ± 16	1,13 ± 0,18	15,11 ± 3,47
	01/11/2008	1,47 ± 0,01	51,35 ± 0,32	754 ± 43	2,23 ± 0,20	13,26 ± 2,15
	27/11/2008	1,57 ± 0,01	50,26 ± 0,51	720 ± 33	3,46 ± 0,15	30,30 ± 3,57

Tab. 2 - Caratteristiche dei frutti ed indici di maturazione nella sottozona Colli del Trasimeno.
Tab. 2 - Fruit characteristics and ripening indexes in subzone Colli del Trasimeso.

Culrivar	Date rilievi	Peso fresco (g)	Contenuto in acqua (%)	Durezza polpa (g)	Indice di colore (0-5)	Frutti con FD<3N (%)
Frantoio	18/102007	1,38 ± 0.03	27,31 ± 9,26	625 ± 18	1,38 ± 0,36	28,48 ± 9,59
	25/10/2007	1,41 ± 0,06	36,76 ± 2,65	485 ± 14	1,78 ± 0,59	13,61 ± 2,55
	16/11/2007	1,56 ± 0,01	37,63 ± 1,15	421 ± 4	4,38 ± 0,07	27,19 ± 2,92
Leccino	08/10/2007	1,64 ± 0,04	53,60 ± 0,18	352 ± 47	1,50 ± 0,72	20,70 ± 5,19
	25/10/2007	1,57 ± 0,01	46,00 ± 3,56	351 ± 52	2,38 ± 0,22	10,12 ± 1,33
	16/11/2007	1,51 ± 0,07	42,93 ± 1.61	348 ± 47	3,25 ± 0,14	18,72 ± 0,34
Frantoio	30/09/2008	1,18 - 0,04	50,61 ± 0,35	892 ± 35	0,00 ± 0,01	24,64 ± 4,24
	22/10/2008	1,40 ± 1.10	50,05 ± 6,01	904 ± 57	0,00 ± 0,04	19,28 ± 5,66
	04/11/2008	1,88 ± 0,18	50,01 ± 5,66	898 ±74	3,00 ± 0,18	17,93 ± 7,07
	27/11/2008	1,90 ± 0,25	48,57 ± 3,49	782 ± 106	3,00 ± 0,21	35,80 ± 10,61
Leccino	30/09/2008	1,22 ± 0,05	52,00 ± 0,99	811 ± 32	0,57 ± 0,15	9,49 ± 1,87
	22/10/2008	1,29 ± 0,07	48,96 ± 2,15	700 ± 33	1,64 ± 0,21	7,77 ± 1,50
	04/11/2008	1,53 ± 0,12	49,90 ± 2,69	633 ± 15	3,04 ± 0,16	13,20 ± 2,43
	27/11/2008	1,61 ± 0,11	50,80 ± 0,29	671 ± 43	3,84 ± 0,19	35,10 ± 5,88

deficit idrico condiziona i fenomeni di maturazione. La cascola pre-raccolta del frutto, anticipando e accelerando la prima ed intensificando la seconda; negli oliveti in studio lo stress idrico ha determinato un anticipo ed un'omogeneizzazione della raccolta, ha incrementato il contenuto in polifenoli ed ha modificato l'accrescimento ed il contenuto in olio dei frutti. Infatti, in tutte e tre le sottozone di produzione e per tutte le varietà studiate, il periodo ottimale è risultato compreso tra il 22 ottobre e l'11 novembre (fig. 3). In specifico, i frutti della cv. Moraiolo nella sottozona Assisi-Spoleto nell'epoca ottimale avevano un contenuto in olio su peso secco intorno al 37%, valori di forza di distacco di 5,2 N e di cascola minore del 2%, il punteggio della valutazione organolettica era maggiore di 7 (punteggio minimo per la certificazione DOP Umbria); nella sottozona Colli del Trasimeno i frutti delle cv. Leccino e Frantoio avevano in media un contenuto di olio su peso secco del 35%, valori di forza di distacco superiori a 4 N, cascola inferiore al 2%; il punteggio della valutazione organolettica era di 7,6 per l'olio di Frantoio e 7,2 per quello di Leccino. Infine nella sottozona Colli Martani, i frutti delle cultivar Moraiolo e Leccino avevano un contenuto in olio su peso secco intorno al 33 %, cascola inferiore al 2%, la forza di distacco era rispettivamente di 4,3 e 5,9 N e la valutazione organolettica di7,5 e 8. Nel 2008, nella sottozona Colli Assisi-Spoleto il periodo ottimale di raccolta è risultato compreso tra il 20 ottobre ed il 15 novembre per il Moraiolo e leggermente prima per Frantoio. Nella sottozona Colli Martani, il periodo è stato simile al precedente sia per Moraiolo che per Leccino. Nella sottozona Colli del Trasimeno il periodo ottimale di raccolta è risultato compreso tra il 27 ottobre ed il 24 novembre (fig. 4). In particolare, nel periodo ottimale di raccolta, nella

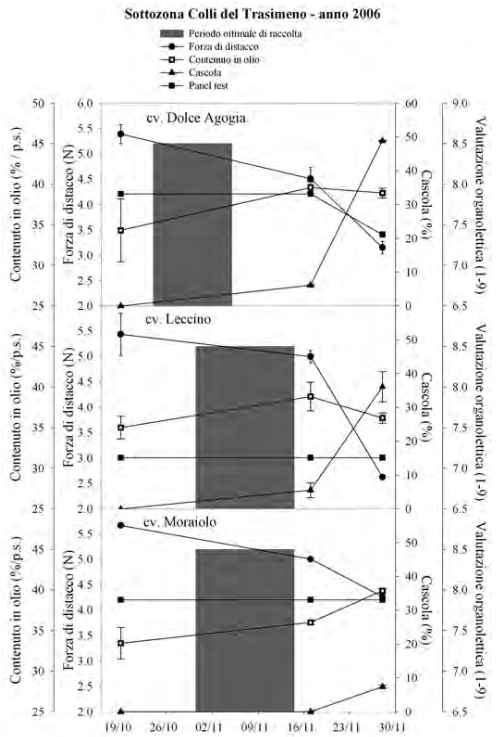


Fig. 2 - Epoche ottimali di raccolta nel 2006.
Fig. 2 – Optimum harvesting times in 2006.

sottozona Colli Assisi-Spoleto i frutti delle cultivar Moraiolo e Frantoio avevano un contenuto in olio in media del 34%, forze di distacco di 4,3 N, la cascola era medio-alta; nella sottozona Colli Martani i frutti delle cv. Moraiolo e Leccino avevano un contenuto in olio del 34%, forze di distacco intorno a 4 N e cascola intorno al 5%; nella sottozona Colli del Trasimeno i frutti delle cv. Frantoio e Leccino avevano un contenuto in olio su peso secco del 34%, forze di distacco intorno ai 4 N, mentre la cascola era dell'8,5% nel Frantoio e minore del 5% nel Leccino. Tutti gli oli ottenuti in questo periodo hanno presentato valori elevati all'assaggio organolettico, ai massimi livelli stagionali e valutazioni alte e simili per Leccino, Frantoio e Moraiolo. Gli oli del 2007 e 2008 sono risultati conformi al disciplinare DOP "Umbria"; il contenuto in polifenoli è risultato elevato in tutte e tre le sottozone di produzione della DOP "Umbria", con valori maggiori nel 2007 e minori nel 2008 (tab. 3).

Conclusioni

La corretta individuazione dell'epoca di raccolta delle olive è molto importante in quanto influenza la quantità e la qualità del prodotto, e la sua scelta deve essere fatta in funzione dell'obiettivo produttivo prefissato (Inglese *et al.*, 2009). In effetti, sulla base dei parametri qualitativi dell'olio, modulando opportunamente l'epoca di raccolta si possono produrre diverse tipologie di prodotto / qualità. Tale possibilità è molto importante in Umbria, regione nella quale più dell'8% dell'olio prodotto ogni anno è certificato DOP, dove la raccolta delle olive deve essere fatta nel periodo ottimale per ottenere un olio "tipico" o comunque "differenziato", raccogliendo quando la composizione dell'olio che si ottiene permette di esaltare i caratteri di tipicità. Il presente monitoraggio ha evidenziato come gli andamenti stagionali possono modificare il periodo di raccolta delle olive, in particolare le estati e gli autunni siccitosi determinano un anticipo ed un'omogeneizzazione della raccolta, incrementano il contenuto in polifenoli e modificano l'accrescimento ed il contenuto in olio dei frutti; da qui la necessità di monitorare ogni anno l'andamento della maturazione dei frutti e dare immediatamente informazione all'olivicoltore di iniziare la raccolta (Tombesi, 2009). In conclusione la presente sperimentazione conferma che alcune delle principali caratteristiche dei frutti, quale contenuto in olio su peso secco, resistenza al distacco delle olive, cascola, assieme alla valutazione sensoria-

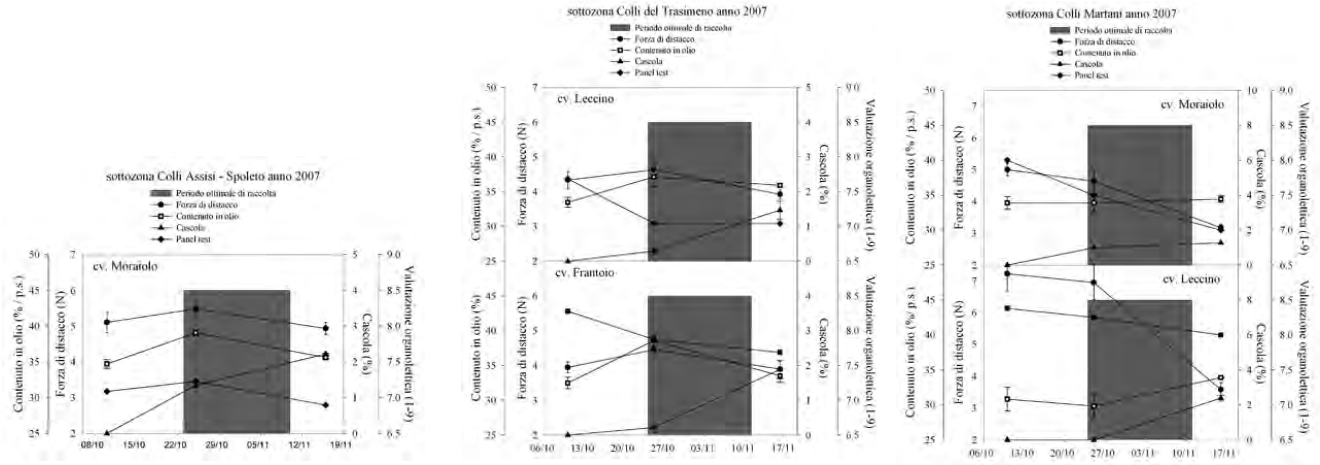


Fig. 3 – Epoche ottimali di raccolta nel 2007.
Fig. 3 – Optimum harvesting times in 2007.

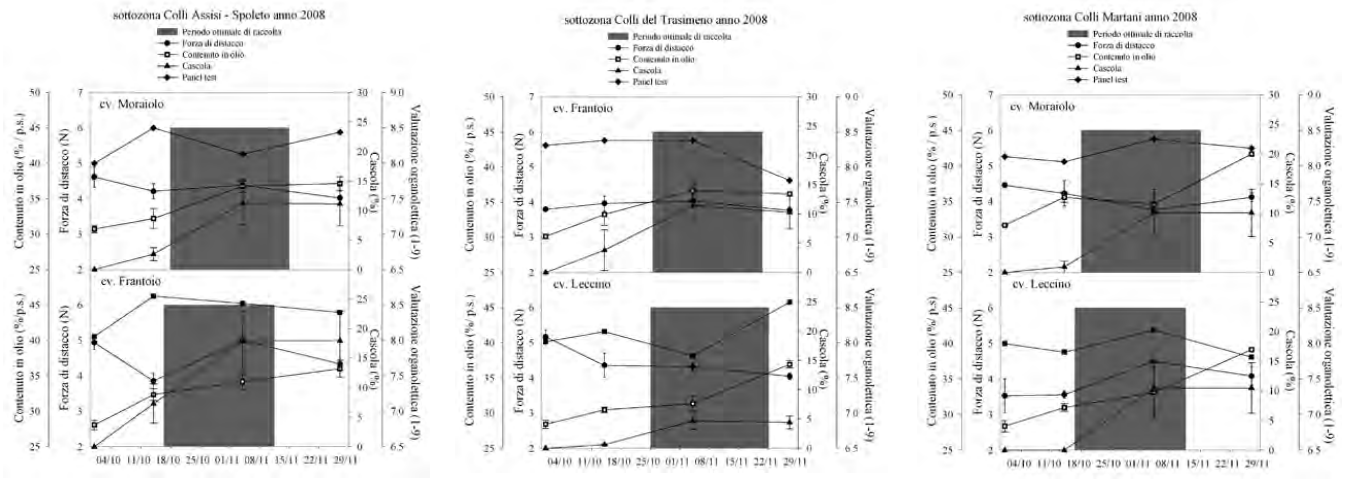


Fig. 4 - Epoche ottimali di raccolta nel 2008.
Fig. 4 - Optimum harvesting times in 2008.

Tab. 3 - Parametri chimici degli oli.
Tab. 3 - Chemical characteristics of olive oils during olive ripening.

Epoca campionamento	Anno 2007			Anno 2008		
	Acidità libera (%)	Perossidi (N.)	Polifenoli totali (p.p.m.)	Acidità libera (%)	Perossidi (N.)	Polifenoli totali (p.p.m.)
Prima	0,30 ± 0,01	6,2 ± 0,5	788 ± 44	0,28 ± 0,01	7,8 ± 0,5	562 ± 45
Seconda	0,29 ± 0,01	7,9 ± 0,6	626 ± 40	0,26 ± 0,02	6,5 ± 0,5	607 ± 41
Terza	0,34 ± 0,02	6,2 ± 0,4	621 ± 39	0,26 ± 0,01	5,9 ± 0,5	503 ± 44
Quarta				0,24 ± 0,02	4,3 ± 0,5	443 ± 39

le dell'olio, aiutano a stabilire l'epoca ottimale di raccolta per l'ottenimento d'olio di oliva di qualità.

Riassunto

Nel 2006, 2007 e 2008, anni caratterizzati da andamenti climatici differenti, in aziende rappresentative della DOP "Umbria", comprese nelle sottozone Colli Assisi – Spoleto, Colli Martani e Colli del Trasimeno, per le varietà più importanti è stato monitorato: 1. l'evoluzione dei parametri agronomici dei frutti (peso fresco, peso secco, contenuto in olio, cascola, forza di distacco, durezza della polpa ed indice di colore); 2. l'andamento dei parametri analitici dell'olio ottenuto (acidità, numero di perossidi e contenuto in polifenoli) e 3. la valutazione organolettica degli oli attraverso un panel ufficiale di assaggio per definire il periodo ottimale di raccolta delle olive. Nei tre anni, l'epoca di raccolta delle olive è stata differente in funzione degli andamenti stagionali. Nel 2007, anno molto siccitoso, l'epoca di raccolta delle olive è stata anticipata, inoltre le cultivar hanno mostrato contemporaneità di maturazione, mentre gli oli sono risultati più ricchi in polifenoli. In conclusione la presente sperimentazione conferma che alcune delle principali caratteristiche dei frutti, quale contenuto in olio su peso secco, resistenza al distacco delle olive, cascola, assieme alla valutazione sensoriale dell'olio, aiutano a stabilire l'epoca ottimale di raccolta per l'ottenimento di olio di oliva di qualità.

Parole chiave: Frantoio, Leccino, Moraiolo, maturazione delle olive, polifenoli.

Bibliografia

CONSORZIO DI TUTELA DELL'OLIO EXTRAVERGINE DI OLIVA DOP UMBRIA http://www.oliodopumbria.it/olio_umbro/index

FAMIANI F., FARINELLI D., PROIETTI P., 2004. *Raccolta dell'olive*. Atti "Corso di aggiornamento sulle tecniche colturali in olivicoltura", Spoleto 3 - 4 aprile 2003. Accademia Nazionale dell'olivo e dell'olio Spoleto. Pag. 123-162.

FARINELLI D., TOMBESI A., RUFFOLO M., 2009. *Programmazione della raccolta delle olive per un olio di qualità*. Frutticoltura 10: 70-75.

INGLESE P., FAMIANI F., SERVILI M., 2009. *I fattori di variabilità genetici, ambientali e colturali della composizione dell'olio di oliva.* Italus Hortus 16 (4), 2009: 67-81.

TOMBESI A., 2009. *Sistemi di raccolta*. In "L'ulivo e l'olio" M. Pisante, P. Inglese, G. Lercker (coord.), Bayer CropScience, Ed. Script, Bologna: 538-553.

Soglie termiche significative per la produttività dell'olivo

Mulas M.[1*], Cauli E.[1], Bandino G.[2] e Sedda P.[2]
[1]Dipartimento di Economia e Sistemi Arborei, Università di Sassari
[2]Dipartimento per la Ricerca nella Arboricoltura, AGRIS – Sardegna, Cagliari

The influence of temperature thresholds on olive yield

Abstract. Because of the lack of suitability of local yield data, the understanding of the influence that meteorological factors have on olive yield was always difficult. The present research was made in Sardinia with the establishment of 15 local areas of observation. For every area data on olive processing by local factories were directly recorded for a period of 9-13 years. Every area was also associated to a meteorological station of reference for the same period. Yield data were indexed for every area and correlated to the average month temperature of the current and previous years. Average temperatures of April were negatively correlated with the yield of the current year and positively correlated to the yield of the next year. On the contrary, average temperatures of May were positively correlated to the yield of the current year and negatively to the yield of the next year, such as for the average temperature of the Autumn period. Further observations were carried out to calculate the number of days in a period of one or more months, showing average day temperature over o under a temperature thresholds which was the average temperature of the same period. By this analysis it is possible to observe that the strongest (negative) correlations were established between Autumn average temperature and the yield of the next year.

Key words: *Olea europaea*, agrometeorology, cultivar, chilling requirements, alternate bearing.

Introduzione

La crescita dell'olivo si svolge in maniera ottimale a temperature comprese tra 20 e i 30 °C (Rinaldelli e Mancuso, 1994). Mancuso (2000) ha dimostrato che l'attività metabolica comincia a diminuire in maniera rilevante già a temperature intorno ai 25 °C. Il rallentamento del metabolismo diventava molto più accentuato quando le temperature scendevano al di sotto dei 14 °C, fino ad assumere valori pressoché nulli quando le temperature si portavano in prossimità dello zero. Lo stesso autore, analizzando il mantenimento del potenziale di membrana, notava che le sue diminuzioni diventavano rilevanti quando si scendeva al di sotto dei 10 °C di temperatura.

Bongi e Long (1987) hanno dimostrato che temperature superiori a 38 °C risultano essere il principale fattore limitante la fotosintesi nelle piante di olivo nel periodo estivo. Studi fatti sulla risposta della clorofilla delle foglie ai test di fluorescenza dimostrano che i primi danni legati alla degradazione della clorofilla e quindi alla lessatura dei tessuti si registrano intorno ai 48 °C (Gucci *et al.*, 2003). Cuevas *et al.* (1994), studiando le influenze che le alte temperature potevano avere sul processo di fioritura e allegagione, dimostrarono che temperature costanti a 30 °C compromettevano gravemente l'allegagione e che questa si manifestava nel migliore dei modi quando le temperature si mantenevano a 25 °C.

Anche sull'olivo è stata dimostrata l'importanza delle basse temperature invernali affinché possa espletarsi con buon esito la fase riproduttiva. Hartmann e Porlingis (1957) riportano per l'olivo fabbisogni in freddo pari a 800-900 ore con temperature al di sotto di 7 °C. Hartman e Wisler (1975) constatarono che temperature fluttuanti tra 2 °C e 15 °C per un periodo di 70-80 giorni inducevano la fioritura, ma se le temperature venivano mantenute costanti a 7 °C o a 16 °C la fioritura era scarsa. Gli stessi Autori stabilirono che le temperature che si mostravano più efficaci sulla buona riuscita della fioritura erano quelle che fluttuavano attorno ai 12,5-13 °C. Denney e McEachen (1983) considerarono la temperatura media giornaliera di 12,5 °C come temperatura limite per il soddisfacimento delle esigenze in freddo. Secondo questi Autori si dimostrerebbero efficaci per il soddisfacimento in freddo i giorni con temperature medie massime comprese tra 12,5 e 21,1 °C e i giorni con temperature medie minime comprese tra 0 e 12,5 °C. Milella e Deidda (1968), in uno studio condotto in Sardegna, trovarono che quando le temperature medie del mese di gennaio erano inferiori a 7,3 °C la cascola delle gemme preantesi e le percentuali di aborto dell'ovario diminuivano sensibilmente. Inoltre, sono emerse sensibili differenze di comportamento a seconda della varietà.

La carica produttiva dell'albero provocherebbe una risposta differente rispetto alla quantità di freddo necessaria per la fioritura. Così gli alberi in scarica

* mmulas@uniss.it

sarebbero meno esigenti in ore di freddo rispetto agli alberi in carica, che invece trarrebbero un grande vantaggio dalle basse temperature (Cimato e Fiorino, 1986). Secondo Martin *et al*. (1994), le varietà di olivo adattate ai climi più caldi hanno un fabbisogno in freddo minore rispetto alle varietà che sono tipiche di ambienti più freschi. Rallo e Martin (1991) hanno dimostrato che le necessità di freddo nell'olivo non sono legate all'induzione fiorale, ma all'uscita dal riposo delle gemme già indotte precedentemente.

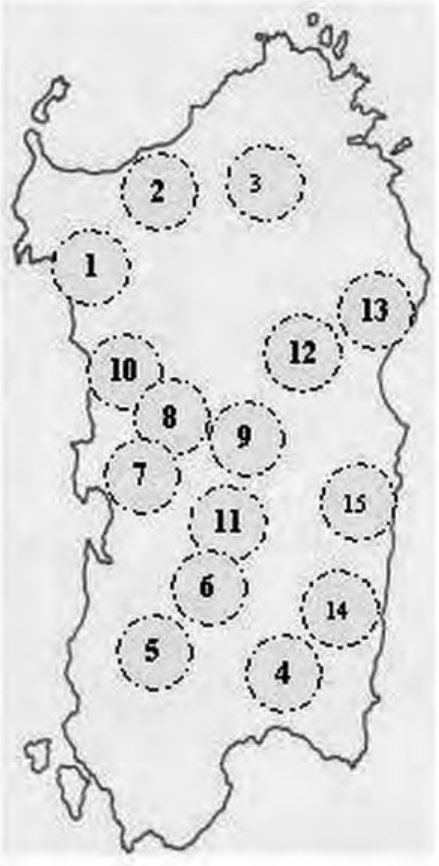
Considerata l'importanza economica dell'olivo, la rilevanza del fenomeno dell'alternanza produttiva e l'ancora ampia diffusione della coltura in coltivazione senza l'ausilio dell'irrigazione, si è ritenuto importante approfondire lo studio delle relazioni tra l'evoluzione dei parametri meteorologici e le manifestazioni fenologiche che determinano la produzione.

Materiali e metodi

Partendo dai dati storici di produzione registrati dai conferimenti in frantoio sono state individuate 15 aree di aggregazione di tali dati, dislocate nelle principali zone olivicole della Regione Sardegna (fig. 1). Le aree avevano quindi sia elementi comuni che differenze per quanto riguarda il pool varietale e sono state scelte in modo da poter comprendere nel loro interno una stazione agrometeorologica di riferimento. Per ciascuna stazione è stato possibile ottenere i dati storici dei principali parametri meteorologici, quali le temperature giornaliere e le pluviometrie. La disponibilità dei dati meteorologici interessa un periodo di almeno 9 anni a partire dal 1995. Per questo livello di studio, infatti, si è potuto disporre di dati medi giornalieri per ciascuna stazione. I dati di produzione delle differenti aree sono stati indicizzati rispetto alla media dei 13 anni a disposizione all'interno dei quali erano compresi gli anni osservati per l'andamento meteorologico. In questo modo si sono potuti evidenziare i comportamenti produttivi.

Sono state anche cercate le correlazioni tra le temperature medie mensili e il cumulato dei giorni in cui le temperature medie giornaliere risultavano discostarsi dal valore soglia, calcolato come temperatura media di ciascun mese analizzato per tutte le 15 stazioni utilizzate.

I cumulati sono stati calcolati su differenti periodi ritenuti importanti per il ciclo produttivo e riproduttivo della specie. Particolare attenzione è stata posta al periodo invernale (dicembre, gennaio e febbraio), a



area 1	Algherese	Olmedo
area 2	Sassarese	Sassari
area 3	Berchidda	Berchidda
area 4	Parteolla	Dolianova
area 5	Villacidrese	Villacidro
area 6	Bassa marmilla	Sardara
area 7	Oristanese	Milis
area 8	Seneghe	Scano montiferro
area 9	Paulilatino	Ghilarza
area 10	Ciglieri-Bosa	Modolo
area 11	Alta marmilla	Nurallao
area 12	Nuorese	Oliena
area 13	Dorgali-Siniscola	Onosei
area 14	Ierzu-Tertenia	Jerzu
area 15	Lanusei-Ilboro	Villarova Strisaili

Fig. 1 - Collocazione geografica delle aree di studio sul territorio della Sardegna.
Fig. 1 - Geographic location of study sites in Sardinia land.

Tab. 1 - Correlazioni (r) tra le temperature medie mensili e le produzioni in ciascuna delle aree olivicole della Sardegna.
Tab. 1 - Correlations (r) between mean month temperature and olive yield (indexed) in the same year for every study sites of Sardinia.

Mese	Area 1	Area 2	Area 3	Area 4	Area 5	Area 6	Area 7	Area 8
G	0,14	-0,09	-0,38	0,44	0,32	0,35	0,14	0,20
F	0,42	0,49	-0,01	-0,05	-0,01	-0,27	0,01	-0,23
M	0,19	0,05	-0,19	0,01	0,10	0,07	0,36	0,01
A	-0,43	-0,27	0,18	-0,56	-0,45	-0,22	-0,26	-0,13
M	0,24	0,13	0,22	0,26	0,21	0,38	0,37	0,47
G	0,33	-0,16	0,30	0,48	0,44	0,55	0,30	0,31
L	0,38	-0,08	-0,38	0,02	0,01	0,06	-0,05	-0,05
A	0,33	-0,06	-0,44	0,16	0,31	0,42	0,09	0,32
S	0,63*	0,41	0,17	0,31	0,51	0,57	0,51	0,60*
O	0,71*	0,61*	-0,37	0,44	0,75**	0,33	0,39	0,40
N	0,20	0,03	0,36	0,32	0,11	0,26	0,34	0,21
D	-0,09	0,05	0,45	-0,18	-0,14	-0,22	0,02	-0,12
	Area 9	Area 10	Area 11	Area 12	Area 13	Area 14	Area 15	
G	0,62	0,31	0,28	0,54	0,13	0,09	0,04	
F	-0,69*	-0,04	-0,31	-0,76	0,16	-0,35	-0,43	
M	0,08	0,18	0,33	-0,37	0,23	-0,36	-0,38	
A	0,09	-0,10	-0,01	-0,45	-0,31	-0,67*	-0,47	
M	0,20	0,03	0,53	0,15	-0,03	0,08	0,29	
G	0,55	0,33	0,70*	0,46	0,30	0,65*	0,61*	
L	0,11	-0,52	0,26	0,04	-0,10	0,26	0,23	
A	0,53	-0,29	0,44	0,55	-0,05	0,48	0,48	
S	0,19	0,33	0,28	0,19	0,03	0,26	0,26	
O	0,06	-0,14	0,44	0,15	0,45	0,04	0,39	
N	0,23	0,10	0,38	-0,18	0,23	0,15	0,25	
D	-0,38	0,00	-0,35	-0,36	0,10	-0,02	-0,06	

*; ** = correlazioni significative per $p < 0,05$ e $p < 0,01$.

quello primaverile (marzo, aprile e maggio) e a quello autunnale (settembre, ottobre e novembre). Le temperature medie del periodo di volta in volta analizzato (uno, due o tre mesi) e i cumulati sono stati correlati sia con le produzioni dell'anno (espresse attraverso l'indice di produzione: media del periodo = 1) che con quelle dell'anno successivo. In particolare sono state cercate le funzioni di regressione lineare con l'ausilio del software MSTAT-C.

Risultati e discussione

Dai risultati delle correlazioni sembrerebbero emergere legami più significativi tra le produzioni e le temperature di aprile e maggio e tra produzioni e temperature di settembre e ottobre. In particolare, la correlazione tra le temperature in aprile delle diverse aree e la produzione è negativa se si considera lo stesso anno, ma diventa positiva se si considera la produzione dell'anno successivo. Le correlazioni per il mese di maggio presentano andamento opposto (tabb. 1 e 2). Le correlazioni tra la temperatura dei mesi autunnali e la produzione sono positive per le produzioni dell'anno e negative per le produzioni dell'anno successivo.

Partendo dalla media delle temperature mensili sono stati calcolati il numero di giorni all'interno del mese, o di un periodo di diversi mesi, in cui le temperature medie giornaliere si presentavano superiori o inferiori al valore calcolato. Il calcolo di queste somme del n° di giorni è stato effettuato per i periodi che si mostravano più interessanti, dalle correlazioni con le temperature medie mensili, e sulla base delle conoscenze fornite dalla letteratura in materia di relazioni tra ciclo produttivo della specie e temperature (Maracchi *et al.*, 1994).

Le correlazioni sono state calcolate effettuando diversi tentativi. In particolare sono state cercate le relazioni della produzione con le temperature invernali specialmente per i mesi di dicembre e gennaio. Sono state poi analizzate le correlazioni con le temperature nel periodo primaverile e autunnale.

Le temperature maggiormente correlate con la produzione sono quelle autunnali (tab. 3). I coefficienti di correlazione *r* assumono valori medi di 0,64 quando si associano il numero di giorni superiore alla media di

Tab. 2 - Correlazioni (r) tra le temperature medie mensili e le produzioni dell'anno successivo indicizzate rispetto alla media del periodo.
Tab. 2 - Correlations (r) between mean month temperature and olive yield (indexed) in the next year for every study sites of Sardinia.

Mese	Area 1	Area 2	Area 3	Area 4	Area 5	Area 6	Area 7	Area 8
G	0,32	0,68*	0,65*	0,28	0,19	0,30	0,54	0,26
F	-0,33	-0,40	-0,37	-0,29	-0,38	-0,15	-0,25	-0,03
M	0,07	-0,31	0,19	-0,36	-0,19	-0,11	0,11	-0,24
A	0,19	0,19	-0,40	0,32	0,32	0,32	0,11	-0,15
M	-0,20	-0,25	-0,52	-0,65*	-0,37	-0,79**	-0,56	-0,79
G	-0,01	0,06	-0,08	-0,56	-0,56	0,00	-0,21	-0,31
L	-0,46	-0,30	0,37	-0,38	-0,39	-0,34	-0,52	-0,28
A	-0,28	-0,10	0,00	-0,40	0,03	-0,62	-0,28	-0,55
S	-0,31	-0,12	-0,51	-0,65*	-0,52	-0,68*	-0,69*	-0,59
O	-0,37	-0,39	0,11	-0,89**	-0,85	-0,77*	-0,57	-0,68*
N	-0,09	0,04	-0,41	-0,07	-0,26	-0,08	-0,28	-0,37
D	-0,09	0,20	-0,78*	0,35	-0,02	0,04	-0,28	-0,15
	Area 9	Area 10	Area 11	Area 12	Area 13	Area 14	Area 15	
G	-0,34	0,70*	-0,07	-0,34	0,16	0,10	-0,06	
F	0,38	-0,01	-0,12	0,28	-0,27	-0,29	-0,08	
M	-0,20	0,11	0,13	-0,42	0,06	-0,03	0,14	
A	0,26	-0,59	0,36	0,09	0,32	0,36	0,36	
M	-0,67*	-0,59	-0,59	-0,66*	0,11	-0,39	-0,46	
G	-0,18	-0,26	-0,07	-0,41	-0,61	-0,08	0,08	
L	-0,07	-0,01	-0,15	0,03	-0,17	-0,23	-0,02	
A	-0,78*	-0,23	-0,49	-0,73	-0,11	-0,36	-0,34	
S	-0,66*	-0,66*	-0,66*	-0,63	-0,53	-0,58	-0,62	
O	-0,60	-0,06	-0,68*	-0,77*	-0,31	-0,55	-0,61	
N	-0,07	-0,28	0,08	0,39	0,10	0,09	0,03	
D	-0,03	-0,53	0,08	0,28	-0,10	-0,06	-0,09	

*; ** = correlazioni significative per $p < 0,05$ e $p < 0,01$.

ciascun mese per i mesi di settembre e ottobre e le produzioni dell'anno successivo. Le correlazioni calcolate con le temperature dei mesi invernali non appaiono particolarmente significative. Le temperature dei mesi primaverili, in particolare quelle del periodo maggio-giugno, sembrano essere correlate alle produzioni dell'anno successivo (tab. 3). Le aree che mostrano correlazioni più marcate con le temperature invernali, e in particolare con quelle superiori alla media nel mese di dicembre, sono l'area 3 e l'area 10 (correlazioni negative con le produzioni dell'anno successivo). L'area 12, l'area 9, l'area 6 e l'area 4 sembrerebbero far registrare maggiori produzioni nello stesso anno con temperature di gennaio più alte. I legami tra le temperature più alte rispetto alla media del mese febbraio e le produzioni dello stesso anno sembrano essere più stretti per le aree 9 e 12 e in minor misura per la 1 e la 2 (correlazioni negative).

Particolarmente rilevanti appaiono le correlazioni calcolate per le aree 1, 5 e 7, confrontando per il periodo settembre-ottobre i dati riferiti a 13 anni di produzioni e le temperature medie del periodo. In generale le aree risultate meno sensibili alle temperature più elevate rispetto alla media nei mesi di settembre e ottobre (correlazione negativa con le produzioni dell'anno successivo) sono state l'area 1, 2, 3, 13 e 15.

Riassunto

La possibilità di interpretare l'influenza che i fattori meteorologici hanno sulla produttività dell'olivo è sempre stata piuttosto difficoltosa, a causa della scarsa attendibilità dei dati statistici sulle produzioni, a livello territoriale. La ricerca di cui vengono presentati alcuni risultati è stata svolta su 15 macroaree in Sardegna, ciascuna associata ad una stazione di rilevamento meteorologico e per la quale sono stati rilevati direttamente i dati di lavorazione relativi ai frantoi presenti, ottenendo una stima attendibile della produzione locale di olive per un periodo storico compreso tra 9 e 13 anni. I dati di produzione indicizzati per ciascuna macroarea sono stati correlati alle temperature medie mensili dell'anno in corso e dell'anno precedente, ottenendo indicazioni soprattutto circa l'influenza delle temperature dei mesi di aprile/maggio e

Tab. 3 - Correlazioni esistenti (r) tra somme termiche del periodo indicato tra preantesi e le produzioni indicizzate dello stesso anno o dell'anno successivo registrate nel periodo di osservazione per ciascuna delle aree olivicole.
Tab 3 - Correlations (r) between temperature sum in the time (between parenthesis) and olive yield (indexed) in the same or next year for every study sites of Sardinia.

Correlazione	Area 1	Area 2	Area 3	Area 4	Area 5	Area 6	Area 7	Area 8
Produzioni dell'anno successivo / n° di giorni con temperature più alte della media mensile (settembre+ottobre)	-0,44	-0,33	-0,35	-0,89**	-0,82**	-0,93**	-0,86**	-0,77*
Produzioni dell'anno successivo / n° di giorni con temperature più alte della media mensile (settembre+ottobre+novembre)	-0,47	-0,28	-0,45	-0,84**	-0,75*	-0,89**	-0,87**	-0,82**
Produzioni dell'anno successivo / n° di giorni con temperature più alte della media mensile (settembre+ottobre+novembre+dicembre)	-0,46	-0,16	-0,74*	-0,63*	-0,62	-0,70*	-0,80**	-0,98**
Produzioni dell'anno successivo / n° di giorni con temperature più alte della media mensile (dicembre)	-0,01	0,17	-0,75*	0,31	-0,06	0.19	-0,18	-0,42
Produzioni dello stesso anno / n° di giorni con temperature più alte della media mensile (gennaio)	0,36	0,01	-0,18	0,51	0,37	0,55	0,25	0,12
Produzioni dello stesso anno / n° di giorni con temperature più alte della media mensile (febbraio)	0,61*	0,49	-0,19	0,15	0,14	-0,09	0,17	-0,16
Produzioni dell'anno successivo / n° di giorni con temperature più alte della media mensile (aprile+maggio+giugno)	0,01	-0,02	0,51	0,43	0,38	0,22	0,25	0,56
Produzioni dello stesso anno / n° di giorni con temperature più alte della media mensile (aprile+maggio+giugno)	-0,08	0,09	-0,33	0,01	-0,30	-0,21	0,04	-0,39
Produzioni dell'anno successivo / n° di giorni con temperature più alte della media mensile (maggio+giugno)	0,17	0,08	0,51	0,68*	0,58	0,48	0,32	0,49
Produzioni dello stesso anno / n° di giorni con temperature più alte della media mensile (maggio+giugno)	-0,35	0,06	-0,33	-0,28	-0,58	-0,49	-0,18	-0,43

Correlazione	Area 9	Area 10	Area 11	Area 12	Area 13	Area 14	Area 15	
Produzioni dell'anno successivo / n° di giorni con temperature più alta della media mensile (settembre e ottobre)	-0,82**	-0,45	-0,87**	-0,75*	-0,46	-0,59	-0,26	
Produzioni dell'anno successivo / n° di giorni con temperature più alte della media mensile (settembre+ottobre+novembre)	-0,75*	-0,56	-0,82**	-0,67*	-0,42	-0,51	0,04	
Produzioni dell'anno successivo / n° di giorni con temperature più alte della media mensile (settembre+ottobre+novembre+dicembre)	-0,72*	-0,74*	-0,70*	-0,42	-0,36	-0,41	0,00	
Produzioni dell'anno successivo / n° di giorni con temperature più alte della media mensile (dicembre)	-0,22	-0,54	-0,03	0,32	-0,08	0,06	-0,08	
Produzioni dello stesso anno / n° di giorni con temperature più alte della media mensile (gennaio)	0,62*	0,27	0,14	0,64*	0,21	0,12	0,15	
Produzioni dello stesso anno / n° di giorni con temperature più alte della media mensile (febbraio)	-0,65*	0,23	-0,32	-0,64*	-0,05	-0,31	0,32	
Produzioni dell'anno successivo / n° di giorni con temperature più alte della media mensile (aprile+maggio+giugno)	0,50	0,73*	0,26	0,52	0,24	0,13	-0,09	
Produzioni dello stesso anno / n° di giorni con temperature più alte della media mensile (aprile+maggio+giugno)	-0,35	-0,09	-0,53	-0,22	-0,07	-0,10	-0,49	
Produzioni dell'anno successivo / n° di giorni con temperature più alte della media mensile (maggio+giugno)	0,59	0,65*	0,44	0,73*	0,39	0,42	-0,06	
Produzioni dello stesso anno / n° di giorni con temperature più alte della media mensile (maggio+giugno)	-0,37	-0,18	-0,64*	-0,38	-0,20	-0,49	-0,47	

*; ** = correlazioni significative per $p < 0,05$ e $p < 0,01$.

di settembre/ottobre. Le temperature medie di aprile sarebbero correlate negativamente con la produzione dell'annata in corso e positivamente alla produzione dell'anno successivo. Le temperature medie del mese di maggio, invece, avrebbero correlazioni opposte, cioè positive con la produzione dell'anno in corso e negative con quella dell'anno successivo, esattamente come le temperature medie dei mesi autunnali. Ulteriori osservazioni hanno portato al calcolo del numero di giorni all'interno di un periodo di uno o più

mesi, con temperature medie giornaliere superiori o inferiori rispetto al valore medio del periodo ritenuto fenologicamente critico. Da queste analisi si evidenzia come le temperature maggiormente correlate (negativamente) con la produzione sono quelle del periodo autunnale.

Parole chiave: *Olea europaea*, agrometeorologia, cultivar, fabbisogno in freddo, alternanza.

Bibliografia

BONGI G., LONG S.P., 1987. *Light-dependent damage to photosyntesis in olive leaves during chilling and high temperature stress*. Plant Cell Environ., 10: 241-249.

CIMATO A., FIORINO P., 1986. *Influence of fruit bearing on flower induction and differentiation in olive*. Olea, 17: 55-60.

CUEVAS J., RALLO L., RAPOPORT H.F., 1994. *Initial fruit set at high temperature in olive*, Olea europaea *L.* J. Hort. Sci., 69 (4): 665-672.

DENNEY J.O., MCEACHEN G.R., 1983. *An analysis of several climatic temperature variables dealing with olive reproduction*. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 108: 578-581.

GUCCI R., MANCUSO S., SEBASTIANI L., 2003. *Resistenza agli stress ambientali*. In: P. Fiorino. "Olea. Trattato di Olivicoltura". Edagricole, Bologna.

HARTMANN H.T., PORLINGIS I.C., 1957. *Effects of different amounts of winter chilling on fruitfulness of several olive varieties.* Bot.Gaz., 119: 102-104.

HARTMANN H.T., WISLER J.E., 1975. *Flower production in Olive as influenced by various chilling temperature regimes*. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 100 (6): 670-674.

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: 221-229.

MARACCHI G., PITTALIS F., BINDI M., SILLARI B., 1994. *La produzione dell'olivo e i fattori meteorologic*i. Studio preliminare. Olivae, 52: 30-37.

MARTIN G.C., FERGUSON L., POLITO V.S., 1994. *Flowering, pollination, fruiting, alternate bearing and abscission*. In : Ferguson L., Sibbett G.S., Martin G.C. Olive Production Manual. Oakland, CA: University of California: 51-56.

MILELLA A., DEIDDA P., 1968. *Le esigenze in freddo dell'olivo. Relazioni tra caratteristiche termiche invernali e cascola preantesi delle gemme, aborto dell'ovario e allegazione*. Studi Sassaresi, Sez. III, XVI: 386-405.

RALLO L., MARTIN G.C., 1991. *The role of chilling in releasing olive floral buds from dormancy*. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 116: 1059-1062.

Acta Italus Hortus 1: 170-173

Variabilità della maturazione delle drupe nella chioma di cultivar venete di olivo

Giulivo C.[1*], Ferasin M. e Manoli A.
Dipartimento Agronomia Ambientale e Produzioni Vegetali, Università di Padova

Fruit ripening variability in the canopy of olive cultivar grown in Veneto

Abstract. Maturation level of olive fruit is one of the main determining factors in oil quality. A research was started in 2008 in Veneto region (45°16' Long N, 11°43' Lat E) on 3 local varieties (Favarol, Grignano, Rasara) in order to study the variability inside the canopy of some putative maturity indices (fruit colour, fresh weight, firmness, oil content on dry matter basis). Maturity was delayed in the parts of the canopy less exposed to sunlight i.e. on the bottom and in the north zones. Fruit sampling at medium height around the canopy may be useful to represent the olive maturity status of the tree.

Key words: olive, maturity, canopy, oil, quality.

Introduzione

L'olivicoltura veneta si è recentemente espansa rapidamente per un rinnovato interesse imprenditoriale, acquisendo importanza nel settore primario regionale. Gli oli veneti si caratterizzano per profili organolettici graditi ai consumatori attenti e competenti, che ne riconoscono il valore anche in termini di prezzo.

L'olivicoltura veneta ha alcuni punti di debolezza: resa unitaria relativamente bassa, modelli d'oliveto spesso inadeguati all'ambiente e alle necessità operative, costi di produzione elevati. Le potenzialità qualitative delle cultivar locali o naturalizzate, che forniscono oli con spiccata tipicità, sono spesso parzialmente espresse per la scarsa conoscenza della fenologia e della specifica risposta ai fattori ambientali, i quali condizionano alcune caratteristiche del frutto che non sono migliorabili nella trasformazione. La resa in olio e la sua tipicità dipendono in modo rilevante dallo stato di maturazione e, quindi, l'individuazione del periodo ottimale di raccolta rappresenta un punto cruciale per massimizzare sia la resa in olio sia i suoi pregi (Beltran *et al.*, 2004; Garcia e Yousfi, 2005). Una ricerca (OLIDRUP), finanziata dalla Regione del Veneto, è stata avviata su questo argomento, per mettere a punto parametri di facile uso per monitorare l'andamento della maturazione nel Veneto. Nell'ambito della chioma esiste un'ampia scalarità di maturazione e, pertanto, per la definizione di indici di maturazione attendibili è prioritario stabilire la zona più rappresentativa dove effettuare i campionamenti delle drupe.

Materiali e metodi

Nell'ambito di un oliveto in produzione in Arquà Petrarca (Colli Euganei, Padova, 45°16' Long N, 11°43' Lat E, 235 m s.l.m.), sono stati scelti tre alberi per ciascuna delle cv Rasara, Grignan e Favarol. La chioma di ciascun albero è stata suddivisa in 4 quadranti secondo i punti cardinali e per ciascuno di questi sono state considerate 3 altezze. In tre date del 2008 (24/10, 4/11, 18/11) sono stati prelevati da rami a frutto di medio vigore campioni di 10 drupe per ciascuna delle 12 zone della chioma.

Su tali campioni sono stati misurati la durezza della polpa con un penetrometro digitale da tavolo, la massa delle drupe, il colore dell'epidermide con uno spettrofotometro Konica Minolta (CM-2600) e l'inolizione con il metodo Soxtec (Di Giovacchino, Seghetti, 1981).

Per il colore sono stati considerati lo spazio colorimetrico L*a*b*, dove L* è la luminosità, a* è l'asse del colore da verde a giallo e b* quello da blu a giallo, e lo spazio colorimetrico L*C*h* dove L* è la luminosità, C* il croma e h* la tinta (Konica Minolta). Su questa base è stato elaborato un indice sintetico di colore ICOL= (360-h)/(L*+C) derivato dall'indice CIRG proposto per l'uva rossa da Carreño et al. (1995) sostituendo 180 con 360. L'indice di colore proposto da Garcia et al. (2005) per le olive [L*(b*-a*)/100] non è stato considerato poiché non discrimina molto bene dopo l'inizio dell'invaiatura che alla I epoca era già completata.

I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica multivariata (PCA) e della varianza (ANOVA) con il programma Statistica vs 8.

Risultati

L'analisi PPCA, estraendo due fattori che spiegavano almeno il 70% della varianza, ha messo in evi-

* claudio.giulivo@unipd.it

denza che la variabilità nel processo di maturazione delle drupe tra i diversi settori della chioma viene spiegata da fattori differenti a seconda della varietà e dell'epoca di campionamento (tab. 1).

Nel complesso si può osservare che nella prima epoca di raccolta le variabili ad avere più peso sono state quelle legate al colore dell'epidermide. Nelle epoche successive queste sono diventate meno rilevanti mentre hanno acquistato più peso le variabili "massa" e "durezza" della drupa soprattutto in Grignano e Rasara. A titolo di esempio per queste due cultivar si riportano nella figura 1 le coordinate fattoriali dei casi relative alla seconda epoca; si può osservare che in Rasara il fattore 1 (Durezza, L*, b*) ha discriminato dagli altri settori quelli NE basso e NO medio e basso e tra questi il fattore 2 (massa) il settore NO basso dagli altri due; in pratica in questi tre settori il processo di maturazione sembra essere stato più ritardato. Nel caso della cultivar Grignano (fig.1) il settore NO Alto è stato nettamente separato dai settori NO Medio e Basso dal fattore 1 (Durezza, Massa) e dal fattore 2 (b*) indicando uno stato di evoluzione della drupa più avanzato (minore durezza e maggiore massa).

Dall'analisi fattoriale della varianza è apparso evidente il diverso comportamento delle tre cultivar nei diversi settori della chioma. Nella prima epoca di raccolta, ad esempio, gli effetti dei diversi fattori sulla durezza della drupa non sono risultati significativi in Favarol e Grignano al contrario di quanto osservato in Rasara. Di particolare interesse per i campionamenti può essere l'interazione "Esposizione x Altezza" che non è mai risultata significativa per la massa in Grignano mentre in Rasara e Favarol è apparsa significativa a seconda dell'epoca. L'interazione per la durezza è apparsa non significativa in tutti i casi. Per quanto riguarda il colore l'interazione "Esposizione x Altezza" in Favarol è risultata non significativa in quasi tutti i casi mentre in Grignano e Rasara si è verificato l'opposto (fig. 2).

L'indice di colore (ICOL) è risultato in relazione inversa con la Luminosità (L*) e con il croma (C*) mentre è apparso relativamente indifferente alla tinta (h*). I valori dell'indice sono risultati più elevati nei settori SE e SO e nelle zone alte della chioma, per-

Tab. 1 - Coordinate fattoriali delle variabili della drupa. Analisi PPCA con due fattori (varianza spiegata 70-80%); le percentuali sotto i fattori indicano la quota di varianza spiegata.

Tab. 1 - Factorial coordinates of the fruit variables. PPCA analysis with 2 factors (explained variance 70-80%); percentages under the factors indicate the relative part of explained variance.

Variabili	Epoche di raccolto					
	I		II		III	
	Grignano					
	Fattore 1	Fattore 2	Fattore 1	Fattore 2	Fattore 1	Fattore 2
	67%	14%	50%	23%	69%	20%
Durezza (N)	-0,68	0,48	-0,14	0,91	-0,86	0,03
Massa (g)	0,81	-0,08	0,33	-0,85	0,91	0,31
L*	-0,93	0,17	-0,88	0,02	-0,93	-0,19
C*	-0,95	-0,11	-0,96	-0,22	-0,94	0,10
h*	0,68	0,66	0,82	0,26	0,35	-0,92
	Favarol					
	Fattore 1	Fattore 2	Fattore 1	Fattore 2	Fattore 1	Fattore 2
	53%	23%	48%	28%	43%	26%
Durezza (N)	-0,41	-0,63	-0,71	0,34	-0,63	0,03
Massa (g)	0,58	-0,68	0,47	-0,84	0,65	0,48
L*	-0,98	0,03	-0,90	-0,33	-0,73	0,54
C*	-0,87	0,20	-0,62	0,21	-0,90	-0,04
h*	-0,66	-0,51	-0,71	-0,65	0,08	0,89
	Rasara					
	Fattore 1	Fattore 2	Fattore 1	Fattore 2	Fattore 1	Fattore 2
	62%	19%	57%	23%	69%	17%
Durezza (N)	-0,86	0,14	-0,96	0,12	-0,90	-0,28
Massa (g)	0,67	0,23	-0,13	0,83	-0,89	-0,40
L*	-0,92	-0,25	-0,90	-0,35	-0,62	0,61
C*	-0,95	-0,11	-0,96	-0,23	-0,98	-0,11
h*	0,40	-0,90	0,51	-0,63	0,69	-0,49

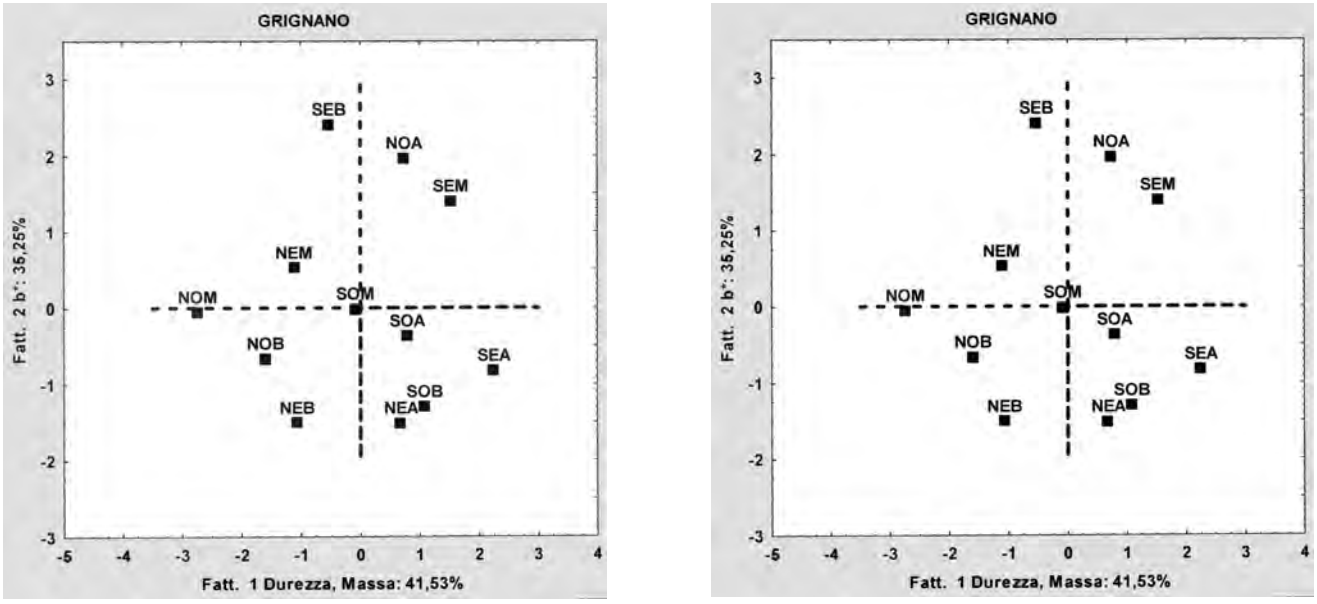


Fig. 1 - Coordinate fattoriali dei casi (settori della chioma) di Rasara e di Grignano nella seconda epoca di raccolta. Analisi PPCA come in tabella 1.

Fig. 1 - Cases (canopy zones) factorial coordinates of cvs Rasara and Grignano related to the second harvest time. PPCA analysis as in table 1.

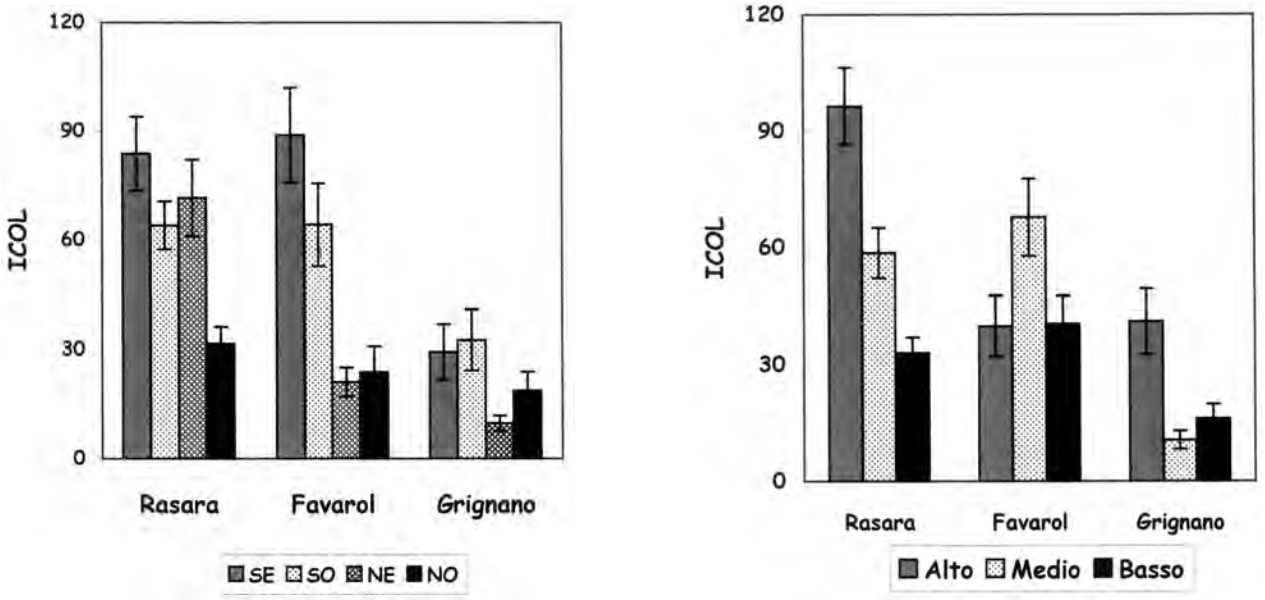


Fig. 2 - Indice di colore delle drupe delle tre cultivar in funzione dell'esposizione (*a sinistra*) e dell'altezza nella chioma (*a destra*).

Fig. 2 - Fruit color index of the 3 varieties in relation to exposition (left) and to height in the canopy (right).

tanto nelle zone più esposte il colore delle drupe è apparso meno luminoso e meno saturo rispetto a quello delle zone meno esposte (settori NE, NO e nelle zone basse). La tinta è risultata poco diversa e compresa tra il blu-verde e il blu poiché l'inaviatura era stata già completata in corrispondenza della I epoca.

In generale le zone NE e NO e le zone basse si differenziano notevolmente dalle altre parti della chioma e la variabile discriminante più importate è la luminosità del colore della drupa (varianza spiegata 51-55%) e in qualche caso la massa del frutto. In generale l'esposizione ha influito in modo chiaro sulla durezza ma non sulla massa della drupa; l'altezza ha presentato effetti opposti non significativi per la durezza e significativi per la massa della drupa (tab. 2). Nell'ambito della chioma il processo di maturazione procede, quindi, in modo abbastanza diverso in funzione delle condizioni di esposizione alla luce in conseguenza di effetti diretti, ma probabilmente anche indiretti dovuti alla disponibilità di assimilati (Tombesi *et al.*, 1999). Per quanto riguarda l'inolizione non sono emerse differenze significative nell'ambito della chioma (tab. 3), si può però notare come si sia verificato un ritardo della massima inolizione passando dalle zone alte a quelle sottostanti

Tab. 2 - Effetto dell'esposizione e dell'altezza sulla durezza e sulla massa delle drupe. Media delle tre cultivar. A lettere diverse differenze significative per p<0,05, test Duncan.
Tab. 2 - Effects of exposition and height on fruit firmness and weight. Average for the 3 varieties. Different letters indicate significant differences (Duncan test, p< 0,05).

Parametri	Esposizione			
	SE	SO	NE	NO
Durezza	0,64 b	0,69 ab	0,79 ab	0,84 a
Massa	2,44	2,40	2,29	2,32
Altezza				
	Alto	Medio	Basso	
Durezza	0,67	0,74	0,80	
Massa	2,53 a	2,30 b	2,26 b	

della chioma. Si può anche osservare il diverso comportamento delle cultivar; in Favarol la maggiore percentuale di olio sul secco è stata rilevata nella prima epoca mentre in Grignano e Rasara nelle seconda epoca.

Tab. 3 - Percentuali di oli sul secco delle tre cultivar a tre altezza della chioma e in tre epoche di raccolta. Nessuna differenza significativa nell'ambito delle singole cultivar. Le medie tra le cultivar sono significative per p<0,05.
Tab. 3 - Percent of oil over dry weight of the 3 varieties determined at 3 heights in the canopy and at 3 harvest times. No significant differences inside each variety. Differences among the mean values of the varieties are significant (p<0,05).

	Altezza della chioma			
	Alto	Medio	Basso	Medie
Grignano				
Epoca I	30,4	27,5	24,8	27,6
Epoca II	38,3	28,6	32,6	33,2
Epoca III	26,9	29,8	21,3	26,0
Medie	31,9	28,6	26,2	28,9 c
Favarol				
Epoca I	49,1	45,5	46,4	47,0
Epoca II	45,7	35,2	47,4	42,8
Epoca III	40,9	42,4	27,3	36,9
Medie	45,2	41,1	40,4	42,2 a
Rasara				
Epoca I	40,1	37,0	35,8	37,6
Epoca II	39,7	36,4	41,1	39,1
Epoca III	33,4	32,9	37,0	34,4
Medie	37,7	35,4	38,0	37,0 b

Conclusioni

Da queste osservazioni preliminari appare chiaro che la maturazione procede in modo sensibilmente diverso nelle varie parti della chioma in conseguenza delle diverse condizioni microclimatiche e nutrizionali. Al fine di sincronizzare il più possibile il processo di maturazione nell'ambito dell'albero appare evidente la necessita di garantire un'ottimale distribuzione dell'energia nella chioma con corrette spaziature degli alberi e forme di allevamento.

Per quanto riguarda l'obiettivo principale delle osservazioni si può ritenere che campionamenti di frutti sufficientemente rappresentativi possono essere quelli effettuati a mezza altezza e tutto attorno alla chioma su rami di medio vigore.

Riassunto

Tenuto conto dell'importanza per la qualità dell'olio dello stadio di maturazione delle olive al momento della raccolta e mancando specifiche informazioni su indici di raccolta applicabili nella realtà veneta è stata avviata una ric erca sulle cultivar locali Favarol, Grignano e Rasara per verificare la variabilità della maturazione delle drupe nell'ambito della chioma al fine di individuare la zona più conveniente di campionamento dei frutti. Nel periodo 24 Ottobre-18 Novembre 2008 il colore, la durezza e massa delle drupe e l'inolizione sono stati determinati in 12 zone della chioma. Il processo di maturazione in queste zone è stato sensibilmente diverso e ritardato nelle zone basse e nei settori nord-ovest e nord-est della chioma. Un accettabile campionamento dei frutti può essere effettuato a metà altezza tutto intorno alla chioma.

Parole chiave: olivo, maturazione, zona della chioma, qualità

Ricerca finanziata dalla Regione Veneto

Bibliografia

BELTRAN G, DEL RIO C, SANCHEZ S, MARTINEZ L., 2004. *Seasonal changes in olive fruit characteristics and oil accumulation during ripening process*. J Sci Food Agric, 84: 1783-1790

CARREÑO J, MARTINEZ A, ALMELA L., FERNANDEZ_LOPEZ J.A., 1995. *Proposal of an index for the objective evaluation of the colour of red table grapes*. Food Res. Int., 4: 373-377

DI GIOVACCHINO L, SEGHETTI L., 1981. *La determinazione del contenuto in olio delle olive e delle sanse mediante l'apparecchiatura Soxtec.* Riv.Ital.Sost. Grasse, LXVIII: 251-256

GARCIA JM, YOUSFI K, 2005. *Non-destructive and objective methods for evaluation of the maturation level of olive fruit.* Eur Food Res Technol, 221:538-541

MINOLTA. *La comunicazione precisa del colore*. Minolta Co. Ltd, 1994 (www.konicaminolta.eu)

TOMBESI A, BOCO M, PILLI M., 1999. *Influence of light exposure on olive fruit growth and composition*. Proc. 3rd Int. ISHS Symp. on Olive Growing, Acta Hort. 474: 255-259.

Il ruolo delle temperature primaverili sull'evento fioritura in olivo ed elaborazione delle soglie di "risveglio" degli apparati riproduttivi

Fornaciari M., Orlandi F., Sgromo C., Bonofiglio T., Ruga L. e Romano B.
Dipartimento di Biologia applicata, Università di Perugia

Spring temperature influences on olive flowering and threshold temperatures determination on reproductive structure formation

Abstract. Olive flowering was monitored in 15 monitoring stations located in four south-Italy regions (Campania, Calabria, Puglia and Sicily) representing about the 90% of national olive territories. The flowering phenophase has been studied through the pollen emission monitoring realized utilizing scientific instruments which capture defined volumes of atmoshpere and which permit us to know the pollen emission trends determining daily average pollen concentrations (pollen grains/m^3). The combined analysis of pollen monitoring and meteorological data permitted to determine firstly a group of stations characterized by the fact that the better relationships between reproductive structure development and Growing degree days were obtained using low spring threshold temperatures (7-10° C). This first group is constituted by 4 stations (Benevento, Avellino, Salerno and Cosenza) located on Appenninic mountains those coldest of the entire monitoring database. Probably in theses areas the cultivated olive cultivars need lower temperatures to start their awakening processes to develop the reproductive structures. A second group of stations is characterized by higher threshold temperatures (11-14° C) where the olive cultivars evidenced thermal requirements typical of warm mediterranean areas. The stations of this group are above all those located in Sicily and Puglia. The scientific instrument utilized to monitor flowering phenomenon permit to show "recent" climatic trends furnishing useful information about the relationships plant-climate.

Key words: olive cultivars, flowering, pollen, thermal requirements.

Introduzione

Il presente lavoro, che prende in considerazione le relazioni tra andamento termico e sviluppo riproduttivo di piante arboree da frutto, si inserisce in un campo di ricerca che negli ultimi anni ha visto un interesse sempre crescente e un approfondimento della ricerca bioclimatica (Bonhomme 2000). Numerosi sono infatti gli studi volti a determinare i rapporti tra clima e fasi di fioritura in diverse specie (Pellizzaro *et al.*, 1996), ed in particolare ad evidenziare le relazioni tra fabbisogno in caldo e la conseguente fase di maturazione e liberazione del polline (Orlandi et al, 2005). La ricerca condotta su undici anni (1999-2009) intende indagare l'esistenza di rapporti tra temperature primaverili espresse come accumulo di somme termiche (GDD = *Growing Degree Days*) e la fase di fioritura definita come periodo antesico nella specie olivo (*Olea europaea* L.); al fine di valutare le cultivar più adatte per determinati territori di interesse, alla interpretazione delle risposte biologiche delle piante coltivate rispetto ai cambiamenti più o meno marcati del clima.

La fase di fioritura della specie in esame è stata studiata in alcune delle principali aree coltivate ad olivo in Italia utilizzando particolari apparecchiature scientifiche che aspirano quantità note di aria e riescono a definire volumi esatti di aspirazione in unità tempo. Tali strumenti, chiamati volumetric pollen trap, catturano il particolato in sospensione in atmosfera che, nelle successive fasi di studio viene esaminato fino alla sua precisa identificazione. Metodiche di laboratorio che seguono comuni protocolli internazionali hanno permesso di definire le esatte concentrazioni giornaliere di granuli pollinici di olivo presenti in atmosfera grazie alle quali è stato possibile seguire l'andamento di emissione pollinica e perciò quello di fioritura degli oliveti limitrofi allo strumento.

Scopo principale di tale tipologia di ricerche risulta quindi essere quello di rappresentare gli sviluppi riproduttivi delle piante in funzione dell'andamento termico stagionale potendo quindi realizzare mappe di fioritura per le diverse cultivar olivicole nelle rispettive aree di produzione.

Materiali e metodi

Nel corso dello studio (1999-2009) l'emissione pollinica è stata studiata in maniera continuativa e direttamente in campo attraverso l'impiego di campionatori volumetrici (VPPS 2000 Lanzoni) collocati in 15 aree vocate alla olivicoltura del sud Italia, in particolare nelle 4 regioni del meridione, Campania,

Calabria, Puglia e Sicilia in grado di rappresentare circa il 90% del territorio olivicolo nazionale. La scelta delle aree di studio è stata effettuata grazie ad un preliminare campionamento a due stadi che teneva conto della superficie olivicola comunale e del numero di aziende presenti nel territorio. Grazie all'impiego combinato di alimentatori elettrici forniti di pannelli solari (fig. 1) ciascun catturatore pollinico è stato collocato all'interno degli oliveti. Tali strumenti aspirando costantemente, durante un intera settimana, 10 litri di aria al minuto permettono di esprimere la concentrazione di pollini per unità di volume e tempo arrivando a definire concentrazioni medie giornaliere (Fornaciari *et al.*, 2000). Lo studio degli andamenti relativi alle emissioni polliniche giornaliere ha permesso di ricostruire gli spettri completi di emissione. Per ogni area geografica studiata sono stati individuati i giorni esatti in cui si registrano incrementi significativi di polline emesso in atmosfera, dai quali parte il fenomeno di emissione di massa. Una volta definite le date di inizio pollinazione nelle 14 stazioni si è passati ad esaminare i valori giornalieri delle unità di calcolo del "calore utile" espresse in GDD (*Growing Degree Days*) al fine di porre in relazione l'andamento termico primaverile e lo sviluppo delle strutture fiorali.

Per quanto riguarda il calcolo dei GDD, sono stati utilizzati 7 metodi: Single Triangle, Single Sine, Allen, De Wit, Wilkerson, Parton e Cesaraccio.

Per il calcolo dei GDD giornalieri sono state utilizzate le temperature min e Max fornite da 14 stazioni meteorologiche site nelle vicinanze delle postazioni di monitoraggio pollinico e facenti parte della rete agrometeorologica nazionale, inoltre sono state considerate 13 temperature soglia comprese tra 3-15° C. Per ciascuna stazione, sono state quindi calcolate le sommatorie di GDD considerando come data di inizio accumulo il 1° Gennaio, fine accumulo le date di fioritura e le 13 temperature soglia. Una volta conosciuti i valori di accumulo negli anni sono state calcolate le standard deviation in degree days utilizzando il metodo RSME (*Root Square Min Error*). Si è provveduto, infine, a verificare le principali caratteristiche legate alle diverse stazioni in esame, in particolare, a definire per ciascuna di esse la temperatura soglia che minimizza le differenze tra le distribuzioni anno per anno. Tale temperatura è da considerarsi come soglia sopra la quale si accumula il "calore utile" allo sviluppo delle strutture fiorali dell'olivo nelle aree in esame.

Fig. 1 - Catturatore pollinico (Lanzoni VPPS 2000).
Fig. 1 - Pollen sampler (Lanzoni model VPPS 2000).

Infine è stata realizzata una *"trend analysis"* per quanto riguarda le date di fioritura nel periodo 1999-2009 considerando tutte le stazioni di monitoraggio. La presenza di trend positivi o negativi (ritardo o anticipo di fioritura) negli anni è stata indagata attraverso il test Mann-Kendall. La presenza di un trend viene valutata dal coefficiente Z (valore positivo-trend crescente; negativo-decrescente). Tale tipo di analisi è stata condotta anche per quanto riguarda gli accumuli termici registrati negli anni in ciascun area di indagine.

Risultati e discussione

L'analisi degli andamenti della emissione pollinica ed i relativi valori evidenziano come, in quasi tutte le realtà oggetto di studio e in entrambi gli anni, la liberazione massiccia del polline venga effettuata entro l'intervallo di una settimana. I risultati forniti dagli strumenti di monitoraggio evidenziano come la pollinazione per la specie olivo nell'Italia meridionale inizi nei primissimi giorni di maggio, in tutti gli anni, per poi terminare entro lo stesso mese. Appare chiaro come, per tutte le stazioni considerate, sia possibile registrare strette correlazioni tra il calcolo delle temperature utili allo sviluppo riproduttivo (Σ GDD) ed il momento in cui si realizza l'effettiva apertura del maggior numero di fiori (picco di emissione pollinica). Occorre, inoltre, evidenziare come in fase di elaborazione, utilizzando nel calcolo delle Σ delle GDD temperature soglia basse (1-2-3 °C) si ottengono valori di RSME non attendibili poiché in alcune località (Messina-Reggio Calabria) le temperature non scendono quasi mai durante il periodo invernale sotto tali soglie e, quindi, i valori relativi alle GDD rimangono costanti non dando l'opportunità di evidenziare scostamenti nei diversi anni di studio. Una volta ottenuti i valori delle Σ delle GDD, calcolate quindi le loro variabilità annuali, è stato possibile visualizzare e interpretare gli andamenti dei coefficienti di variazione calcolati sulle variabilità annuali nei dieci anni

considerati. In corrispondenza dei minimi valori di RSME per ogni stazione si osservano i valori delle T° soglia che minimizzano la variabilità delle distribuzioni massimizzando l'omogeneità tra le stesse. Tali soglie indicano la temperatura al di sopra della quale in ogni particolare area geografica può considerarsi realizzato l'accumulo di "calore utile" allo sviluppo delle strutture fiorali di olivo (fig. 2). Stesso discorso per quanto riguarda la definizione del miglior metodo di calcolo delle GDD giornaliere. In questo caso il metodo del "seno" per il calcolo orario delle temperature risulta essere il migliore in assoluto per tutte le stazioni considerate.

L'analisi dei trend ha permesso di identificare 4 diversi scenari riscontrabili nelle diverse aree di studio. Il primo individua un ritardo di fioritura che a sua volta determina maggiore accumulo termico d'altra parte un anticipo di fioritura in altre aree determina un ridotto accumulo. Questi due comportamenti sono stati definiti "plasticità fenotipica" non indotta direttamente da variazioni termiche in quanto probabilmente variazioni degli accumuli delle precipitazioni, nel periodo precedente la fioritura, sono coinvolti in tali fenomeni. Un terzo scenario è stato quello presente in altre aree dove le date di fioritura praticamente non hanno evidenziato un chiaro trend mentre l'accumulo di GDD alla data di fioritura è mutato (sia con trend positivi che negativi). Questo caso è stato identificato con il termine di "rigidità fenotipica", in tali aree (all'interno delle provincie di Benevento, Salerno, Bari, Lecce e Trapani), cultivar specifiche non variano l'epoca di fioritura anche in presenza di variazioni in accumulo. Infine in una sola stazione (Palermo) si è manifestato un quarto caso dove l'andamento termico ha chiaramente indotto la variazione fenotipica ("plasticità fenotipica" indotta da variazione termica).

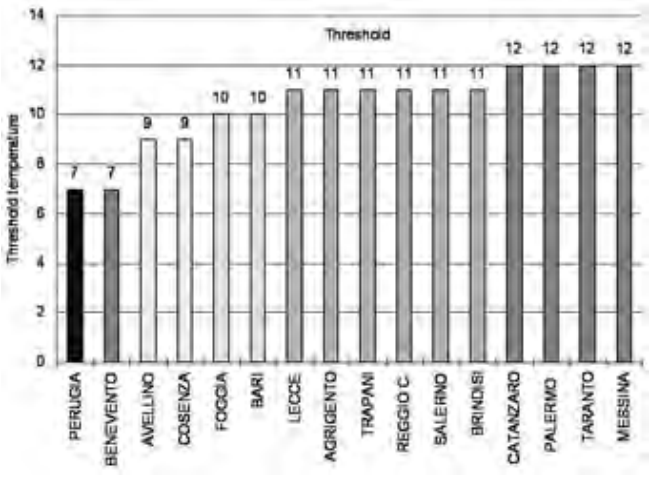


Fig. 2 - Differenti temperature soglia (threshold) per il calcolo delle GDD che minimizzano la variabilità di accumulo durante il periodo di studio (1999-2009) in ciascuna area.
Fig. 2 - Different GDD calculation threshold temperatures minimizing the variability of temperature summations during the study period (1999-2000) in each area.

Conclusioni

L'analisi dei dati ottenuti combinando il monitoraggio pollinico alle valutazioni bioclimatiche delinea innanzitutto la presenza di un primo gruppo di stazioni di monitoraggio dove le migliori correlazioni tra sviluppo degli apparati riproduttivi e accumulo di GDD si ottengono qualora si utilizzano soglie termiche basse (7-10°C) nel calcolo delle stesse GDD. Questo gruppo è costituito dalle 4 stazioni di monitoraggio di Benevento, Avellino, Salerno e Cosenza le quali, si trovano lungo l'ultimo tratto della dorsale montuosa Appenninica nelle aree climatiche più fredde tra quelle in esame. In particolare, tali stazioni mostrano i migliori risultati con temperature soglia relativamente basse confermando come in tali aree gia a quelle temperature sia possibile che le strutture fiorali accumulino calore necessario al loro sviluppo. Altri due gruppi di stazioni di monitoraggio possono essere individuati in base a stesse caratteristiche climatiche in quanto per essi i risultati migliori in termini di maggiori correlazioni meteo-biologiche si ottengono con soglie termiche più elevate (11-14 °C). I due gruppi però rappresentano realtà geografiche diverse poste ai due lati della dorsale montuosa precedentemente citata. I valori delle temperature soglia possono rispecchiare in maniera i diversi andamenti termici locali ma occorre ricordare come derivino dalla precisa interazione pianta-clima e come quindi dipendano anche dalle esigenze biologiche della specie in esame.

Riassunto

Nell'ambito delle indagini di tipo bioclimatico, da alcuni anni sono in corso ricerche che prendono in considerazione gli andamenti termici registrati e le loro dirette implicazioni nello scatenamento dei fenomeni durante le diverse fasi di crescita e sviluppo delle piante. La fioritura è stata monitorata in 15 stazioni di campionamento dislocate nel sud Italia (Campania, Calabria, Puglia e Sicilia) in grado di rappresentare circa il 90% del territorio olivicolo nazionale. La fenofase antesica è stata studiata analizzando le concentrazioni medie giornaliere di polline/metro cubo d'aria di volume definito. L'analisi dei dati ottenuti, combinando il monitoraggio pollinico con i dati climatici, ha consentito di delineare innanzitutto la presenza di un primo gruppo di stazioni dove le migliori correlazioni tra sviluppo degli apparati ripro-

duttivi e accumulo di Growing Degree Days, si ottengono con l'utilizzo di soglie termiche primaverili basse (7-10°C). Questo gruppo è costituito da 4 stazioni di monitoraggio (Benevento, Avellino, Salerno e Cosenza) nelle aree climatiche più fredde tra quelle in esame. In queste aree evidentemente, le cultivars utilizzate rispondono in maniera efficiente anche con temperature di "risveglio" più basse rispetto ai valori classici delle aree mediterranee. Un secondo gruppo di stazioni può essere individuato sulla base di valori di soglie termiche primaverili più elevate (11-14 °C), dove le cultivars che vengono utilizzate compiono l'evento fioritura con fabbisogni termici tipici delle zone "calde (Sicilia, Reggio Calabria, Catanzaro e Puglia). Lo strumento utilizzato per rilevare la fioritura in maniera quali-quantitativa, permette di verificare eventuali "nuovi" comportamenti della specie, in relazione ai nuovi scenari delineati dal clima, fornendo utili informazioni sulle interazioni pianta-clima che determinano la fioritura, evento strategico per questa specie agraria di cui i frutti rivestono particolare interesse economico.

Parole chiave: varietà olivicole, fioritura, polline, fabbisogni termici.

Bibliografia

BONHOMME R. 2000. *Bases and limits to using 'degree.day' units*. Eur. J. Agr., 13: 1-10.

FORNACIARI M., ORLANDI F., ROMANO B., 2000. *Phenological and aeropalynological survey in an olive orchard in Umbria (Central Italy)*. Grana, 39, 246-251.

ORLANDI F., ROMANO B., FORNACIARI M., 2005. *Relationship between flowering and Heat Units to analyze crop efficiency of olive cultivars located in southern Italy*. Hortscience, 40: 64-68.

PELLIZZARO G., SPANO D., CANU A., CESARACCIO C., 1996. *Calcolo dei gradi-giorno per la previsione delle fasi fenologiche nell'actinidia*. Italus Hortus, 3, 24-30.

Contributo allo studio della biologia fiorale: indagine sul grado di autocompatibilità dell'olivo in Toscana

Bartolini S. e Andreini L.
Scuola Superiore Sant'Anna, Piazza Martiri della Libertà 33, Pisa

On the floral biology of olive: evaluation of self-sterility responses of several cultivars in Tuscany

Abstract. The self-sterility characterize most of olive cultivars although important differences in fruit set were found for the same cultivars but grown in different areas. Floral biology studies carried out on olive genotypes classified as self-incompatible, like Leccino cultivar, showed that, independently of the degree of fruit-set recorded under field conditions, the pollen tube was capable of reaching the ovary. This investigation focused on observations of compatibility in several olive cultivars, mainly of Tuscan germplasm, which are described as totally or partially self-sterile. The trials of many years were focused on observations of pollination, fertilization and fruiting processes after self-pollination. After self-pollination and by the fluorescent method, which allows to follow the pollen tube growth *in vivo*, it was possible to establish that in all analysed cultivars the pollen tubes were able to reach the ovary, without self-incompatibility reactions.

Key words: *Olea europaea* L., olive cultivars, self-pollination, pollen tube growth, self-compatibility

Introduzione

L'autoincompatibilità pollinica è un carattere associato alla maggior parte delle cultivar di olivo, anche se è stata riscontrata una variabilità di risposta da parte dello stesso genotipo quando allevato in ambienti colturali diversi (Androulakos e Loupassaki, 1990). Le conoscenze sulla biologia fiorale di molte cultivar di olivo appartenenti al germoplasma toscano si basano sui risultati di ricerche di 40-50 anni fa, quando le prove venivano condotte in pieno campo e comportavano il conteggio dei frutti allegati all'interno di brachette isolate mediante insacchettamento. Affiancando alle prove di pieno campo le analisi che consentono di seguire in fluorescenza la germinazione del polline ed il suo accrescimento dallo stigma all'ovario (Martin, 1959; Viti *et al.*, 1990), è emerso che cultivar ritenute autoincompatibili, come Leccino e Pendolino, non siano propriamente affette da autosterilità in quanto, nei pistilli autoimpollinati, i tubetti pollinici si sono regolarmente sviluppati fino a raggiungere l'ovario, con assenza delle classiche reazioni legate al fenomeno dell'incompatibilità gametofitica (Bartolini *et al.*, 2002; Solfanelli *et al.*, 2006). Il successo del processo fecondativo sarebbe piuttosto legato alle interazioni tra fattori come stato fisiologico della pianta e condizioni termiche durante la fioritura (Cuevas *et al.*, 1994; Bartolini e Guerriero, 1995; Lavee *et al.*, 2002)

Lo scopo della ricerca è stato quello di estendere le osservazioni sulla compatibilità pollinica su un numero più ampio di cultivar, appartenenti prevalentemente al germoplasma toscano e ritenute autoincompatibili o parzialmente autoincompatibili.

Materiali e metodi

Le ricerche sulla biologia fiorale dell'olivo sono state intraprese tra il 2002 ed il 2008 ed hanno riguardato diverse cultivar appartenenti prevalentemente al germoplasma toscano. Le piante, in piena produzione, sono ubicate presso i campi sperimentali del Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose dell'Università di Pisa siti nella pianura costiera tirrenica in provincia di Pisa (43° 42' N, 10° 24' E). Le piante sono distribuite secondo un disegno sperimentale a blocchi randomizzati ciascuno costituito da 4 alberi. Le cultivar oggetto di studio sono state: 'Allora', 'Ascolana Tenera', 'Cipressino', 'Frantoio', 'Leccino', 'Leccio del Corno', 'Leccino Millennio' (clone migliorato della cv Leccino, ex 'Pisa 9'), 'Maurino', 'Nociara', 'Pendolino'. Le cultivar in esame sono ritenute per lo più autoincompatibili (tab. 1), ad eccezione del 'Frantoio' e del 'Leccino Millennio' che sono state considerate come cultivar di controllo.

Durante le prime fasi della mignolatura (Stadio 50 BBCH) sono state selezionate da 4 ad 8 branchette/pianta diversamente orientate, allo scopo di studiare il processo di impollinazione e di fecondazione in seguito ad auto- e a libera impollinazione.

Per saggiare l'autocompatibilità ed evitare la contaminazione di pollini estranei alla cultivar, le branchette sono state isolate con sacchetti di carta quando

Tab. 1 - Grado di fertilità delle cultivar oggetto di studio (AC = Autocompatibile; AI = Autoincompatibile; PAC = Parzialmente Autoincompatibile; AN = Androsterile).
Tab. 1 - Fertility degree of the considered olive cultivars (AC = self-compatible; AI = self-incompatible; PAC = Partially self-compatible; AN = male-sterile).

Cultivar	Origine	Grado di fertilità	Riferimenti bibliografici
Allora	Toscana	AC	Tonini, 1937 (in Cimato et al., 1997)
Ascolana Tenera	Marche	PAC	Lombardo, 2003
Cipressino	Puglia	AI	Casini e Anzilotti,1963 (in Prevost et al.,1993)
Frantoio	Toscana	AC	Cimato et al., 1997
Leccino	Toscana	AI	Basso, 1958 (in Cimato et al., 1997)
Leccio del Corno	Toscana	AI	Baldini, 1953 (in Cimato et al., 1997)
Leccio Millennio (ex Pisa 9)	Toscana	AC	Bartolini e Guerriero, 1995
Maurino	Toscana	AN	Morettini, 1950 (in Cimato et al., 1997)
Nociara	Puglia	PAC	AA.VV, 2004
Pendolino	Toscana	AI	Baldini, 1950 (in Cimato et al., 1997)

i fiori erano allo stadio del botton bianco (Stadio 59 BBCH). Sono stati isolati tra i 16.000 ed i 18.000 fiori allo scopo di stabilire il grado di fruttificazione in seguito ad auto-impollinazione passiva, consistente nel ripetuto scuotimento delle brachette insacchettate per facilitare la deposizione del polline sullo stigma. Un simile numero di fiori è stato lasciato come controllo per determinare l'allegagione dei frutti ottenuta con la libera impollinazione.

Le classiche prove di pieno campo sono state corredate da osservazioni *in vivo* per determinare il grado di germinazione e lo sviluppo dei tubetti pollinici dallo stigma alla cavità ovarica. A tale scopo è stata utilizzata la metodologia di Martin (1959), specificatamente modificata per l'olivo (Viti *et al.*, 1990). Dopo dieci giorni dall'isolamento delle branchette, sono stati prelevati 100 pistilli, fissati in Carnoy e conservati in frigorifero (+4 °C) fino alla successiva preparazione (lavaggi in acqua corrente, ammorbidimento dei tessuti con passaggio in NaOH 8N, colorazione con blu di anilina) per l'osservazione al microscopio ottico a fluorescenza (Nikon-Fluophot, corredato di camera digitale Olimpus C-2000 z), previo schiacciamento dei pistilli.

Questa tecnica permette di studiare l'interazione tra tubetto pollinico ed i tessuti del pistillo a livello dello stigma prima, e dello stilo poi. Attraverso la fluorescenza del callosio, presente lungo la parete del tubetto pollinico, è possibile seguire lo sviluppo del polline (fig. 1).

Risultati e discussione

Attraverso le osservazioni al microscopio a fluorescenza è stato possibile determinare il grado di allungamento dei tubetti pollinici che è risultato sostanzialmente simile tra l'autoimpollinazione e la libera impollinazione (dati non mostrati). In seguito all'autoimpollinazione, in tutte le cultivar il polline è regolarmente germinato ed i tubetti pollinici sono stati capaci di raggiungere non solo la base dello stilo ma anche di penetrare nella cavità ovarica, raggiungendo gli ovuli. Soltanto in 179 "Leccino" i tubetti non sono entrati nell'ovario anche se sono stati prevalentemente rinvenuti in fondo allo stilo (fig. 2).

In generale non sono stati osservati fenomeni ascrivibili ad una incompatibilità gametofitica dovuta ad un meccanismo di tipo SI, come il rigonfiamento o la rottura dell'apice del tubetto pollinico, con arresto della crescita fino a ¾ della lunghezza dello stilo (Ascher, 1976).

Le cultivar 'Cipressino', 'Ascolana Tenera', 'Frantoio' e 'Leccino Millennio' sono state caratterizzate dalla più elevata percentuale di pistilli (30-40%) in cui il tubetto pollinico è penetrato nell'ovulo attraverso il canale micropilare (fig. 3), presupposto per l'avvio della fecondazione.

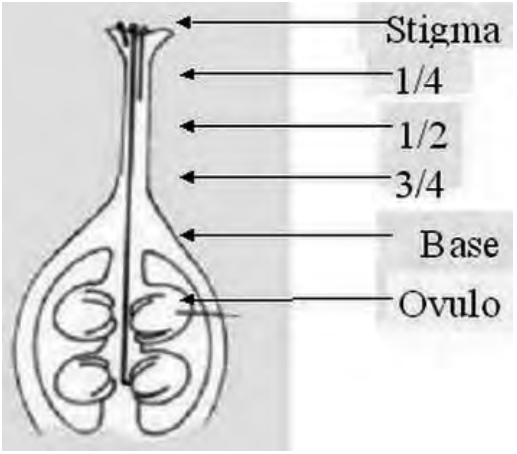


Fig. 1 - Rappresentazione schematica della crescita del tubetto pollinico nelle diverse parti del pistillo.
Fig. 1 - Schematic representation of the pollen tube growth from stigma to the ovary.

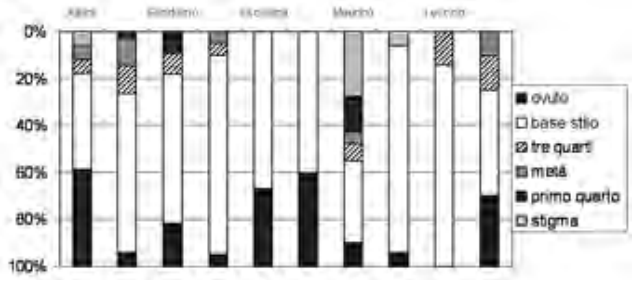


Fig. 2 - Percentuale di pistilli e relativo grado di allungamento dei tubetti pollinici dallo stigma alla cavità ovarica, dopo autoimpollinazione.
Fig. 2 - Percentage of pistils and pollen tube growth from stigma to ovary after self-pollination.

Nella maggior parte delle cultivar esaminate, è stata riscontrata una percentuale di pistilli, variabile tra il 15 ed il 30%, in cui lo sviluppo dei tubetti pollinici si è arrestato entro la prima metà dello stilo (fig. 2). Hanno fatto eccezione 'Frantoio' e 'Ascolana Tenera', in cui non si è verificata una tale condizione, in conseguenza di una maggiore omogeneità e velocità di germinazione dei granuli pollinici. Una situazione diversa è stata osservata in 'Maurino' dove, al contrario, si è avuta una inerzia del polline che si è tradotta con una maggiore frequenza di pistilli con granuli pollinici appena germinati o che, al massimo, sono arrivati a livello del primo quarto dello stilo. E' probabile che ciò sia dovuto alla scarsa produzione di polline in conseguenza dell'androsterilità di questa cultivar.

Le osservazioni relative alla fruttificazione ottenuta con l'autoimpollinazione hanno messo in evidenza

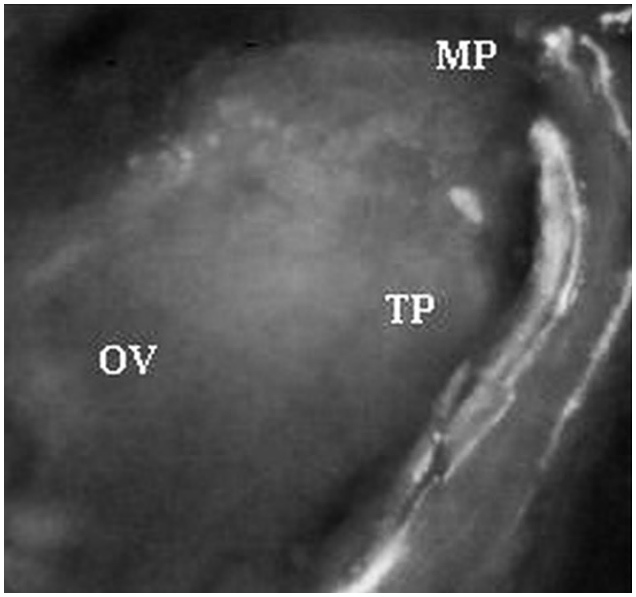


Fig. 3 - Tubetti pollinici fluorescenti a livello del micropilo (MP micropilo; TP tubetto pollinico; OV ovulo).
Fig. 3 - Fluorescent pollen tube entering the ovule.

Tab. 2 - Punteggi attribuiti al tasso di fruttificazione ed al grado di sviluppo del tubetto pollinico in vivo, in seguito all'autoimpollinazione.
Tab. 2 - Score of fruit and pollen tube growth degree after self-pollination.

Cultivar	Tasso di fruttificazione	Grado di sviluppo tubetto pollinico
Allora	3	2
Ascolana Tenera	2	3
Cipressino	3	3
Frantoio	3	3
Leccino	1	1
Leccio del Corno	2	2
Leccino Millennio	3	3
Maurino	1	2
Nociara	1	2
Pendolino	1	2

risultati variabili negli anni e non sempre coincidenti con quanto osservato *in vivo* (tab. 2). I risultati sono espressi sulla base di punteggi (da 1 a 3) attribuiti in relazione al tasso medio di fruttificazione (FR 1 da 0,1 a 0,5%; FR 2 da 0,6 a 1%; FR 3 > 1%) ed alla percentuale di pistilli in cui i tubetti hanno raggiunto la base dello stilo (TP 1) o il micropilo (TP 2 dal 5 al 20%; TP 3 oltre il 20%).

E' da notare il risultato emerso per la cultivar Cipressino, ritenuta autoincompatibile, che ha ottenuto i massimi punteggi, paragonabili a quelli di 'Frantoio' e 'Leccino Millennio', genotipi di cui è nota l'autocompatibilità. Una soddisfacente corrispondenza tra fruttificazione e capacità fecondativa è stata riscontrata anche nelle cultivar Allora e 'Ascolana Tenera', classificate rispettivamente come autosterile e parzialmente autoincompatibile. Nelle cvs Nociara, Pendolino e Maurino è stata rilevata una discrepanza tra i risultati in quanto i tubetti pollinici sono stati capaci di raggiungere l'ovulo (TP 2), mentre in pieno campo è stato registrato un trascurabile tasso di fruttificazione (FR 1). Un tale comportamento potrebbe essere imputato ad una maggiore sensibilità di questi genotipi a determinate condizioni ambientali (temperatura, umidità) che andrebbero ad ostacolare il regolare sviluppo del frutticino (Cuevas *et al.*, 1994; Bartolini *et al.*, 2002). La cultivar Leccino ha manifestato una più bassa attitudine all'autofecondazione che, tuttavia, può essere favorevolmente stimolata con trattamenti ad azione fitoregolatrice (Viti *et al.*, 1990).

Conclusioni

I risultati hanno messo in evidenza che in tutte le cultivar studiate, e descritte dalla letteratura come

autoincompatibili, non sono emersi fenomeni ascrivibili ad una incompatibilità gametofitica dovuta al meccanismo genetico di tipo SI. In seguito all'autoimpollinazione controllata, infatti, il polline è regolarmente germinato ed i tubetti pollinici si sono sviluppati lungo lo stilo, fino a raggiungere la cavità ovarica e penetrare nell'ovulo attraverso il canale micropilare. Tuttavia, a questo processo, osservato con le analisi *in vivo*, non sempre ha fatto seguito un adeguato tasso di fruttificazione. E' il caso delle cultivar Maurino, Nociara e Pendolino dove, per il pieno successo della fase gamica, sarebbero determinanti le interazioni tra stato fisiologico della pianta e fattori ambientali. Di conseguenza, la perdita dei frutticini sarebbe dovuta ad anomalie che interverrebbero tra la fecondazione ed i primi stadi di sviluppo dell'embrione o nella fase post-zigotica.

Riassunto

L'autosterilità è un meccanismo genetico che caratterizza la maggior parte delle cultivar di olivo, benché sia stata riscontrata una variabilità di comportamento da parte dello stesso genotipo allevato in ambienti colturali diversi. In questi ultimi anni, le ricerche sulla biologia fiorale di cultivar ritenute autoincompatibili hanno affiancato, alle classiche prove di pieno campo, analisi di laboratorio che consentono di seguire l'allungamento dei tubetti pollinici *in vivo*. I risultati hanno permesso di individuare, in particolare nell'ambito della cultivar Leccino, alcuni genotipi dotati di un elevato grado di autofertilità. Lo scopo della ricerca è stato quello di estendere gli studi sulla compatibilità saggiando diverse cultivar appartenenti prevalentemente al germoplasma toscano e descritte in letteratura come autosterili o parzialmente autocompatibili. Le indagini pluriennali si sono focalizzate sul monitoraggio dei processi di impollinazione, fecondazione e fruttificazione in seguito ad auto-impollinazione. Attraverso la valutazione sia del grado di fruttificazione che del processo di germinazione ed accrescimento del polline *in vivo* è emerso come nessuna delle cultivar analizzate sia autoincompatibile in quanto i tubetti pollinici sono stati capaci di raggiungere la base dello stilo e penetrare nella cavità ovarica, senza chiare reazioni di autoincompatibilità.

Parole chiave: *Olea europaea* L., cultivar di olivo, autoimpollinazione, allungamento tubetto pollinico, autocompatibilità.

Bibliografia

AA.VV., 2004. *Contributo alla caratterizzazione del germoplasma olivicolo pugliese*. Istituto Sperimentale per la Olivicoltura - Rende (CS).

ANDROULAKOS I.I, LOUPASSAKI, M.H., 1990. *Studies on the self-fertility of some olive cultivars in the area of Crete*. Acta Hort., 286: 159-162.

ASCHER P.D., 1976. *Self-incompatibility systems in floriculture crops*. Acta Hort. 63: 205-15.

BARTOLINI S., GUERRIERO R., 1995. *Self-compatibility in several clones of oil olive cv. Leccino*. Adv. Hort. Sci. 9: 71-74.

BARTOLINI S., VIRI R., GUERRIERO R., 2002. *Observations on the fertilization process in self-pollinated flowers of cultivar "Leccino"*. Acta Hort. 586: 521-524.

CIMATO A., CANTINI C., SANI G., MARRANCI M., 1997. *Il germoplasma dell'olivo*. Regione Toscana-IPSL CNR-A.R.S.I.A.

CUEVAS, J., RALLO, L., RAPOPORT, H.F. 1994. *Initial fruit set at high temperature in olive,* Olea europaea *L.* J. Hort. Sci. 69: 665-672.

LAVEE S., TARYAN J., LEVIN J., HASKAL A., 2002. *Importanza dell'impollinazione incrociata per alcune varietà di olivo in condizioni di coltura intensive e irrigue*. Olivae 91:25-36.

LOMBARDO N., 2003. *Descrizione delle principali cultivar di olivo da olio e da tavola italiane*. In Olea, Ed. Ed agricole pp.169-193.

MARTIN F.W., 1959. *Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence*. Stain Tech. 34:125-128.

PREVOST G., BARTOLINI G., MESSERI C, 1993. *Cultivar italiane di olivo e loro sinonimi*. Menegazzo Ed., Lucca.

SOLFANELLI C., BARTOLINI S., VITAGLIANO C., R. LORENZI, 2006. *Immunolocalization and quantification of IAA after self- and free-pollination in* Olea europaea *L.* Sci. Hort., 110: 345:351.

VITI R., BARTOLINI S., VITAGLIANO C., 1990. *Growth regulators on pollen germination in olive*. Acta Hort. 286:227-230.

Acta Italus Hortus 1: 182-186

Andamento naturale della cascola e topofisi in organi riproduttivi di olivo, cv Leccino

Fabbri A., Beghè D., Montali L., Silvanini A. e Ganino T.
Dipartimento di Biologia Evolutiva e Funzionale, Sezione di Biologia Vegetale e Orto Botanico, Università di Parma

Natural course of abscission and topophysis in reproductive organs of olive, cv Leccino

Abstract. The chance an individual flower or growing fruit has to stay on the tree until ripening have always been a mystery, also because the number of flowers which turn into mature fruits is in the olive extremely low. This peculiarity of the species has always been an hindrance for any research on abscission anatomy and physiology, which at any rate has been scarce and isolated, and mostly on organs previously treated with loosening agents. The widespread diffusion of superdense orchards, and of olive mechanical harvesting, makes the thorough knowledge of fruit growth and maturation models, and of their attitude to abscise, a primary necessity. The research reported here was carried out on "Leccino" plants, over a two year period, to ascertain which influence a number of conditions realted to fruit position on the canopy may have on its susceptibility to set and persist on the tree until maturity. The results, apart from reporting on the natural course of abscission in the considered environment (Emilia hills) and for the studied cultivar, indicate that the effects due to position persist in the years, independently from fruit set entity. The dynamics of flower and fruit drop is instead influenced by the year (climate and fruit load), and by the initial fruit size. As concerns the position on the canopy, differences were detected for shoot exposure and, above all, for the position of the fruit on the inflorescence.

Key words: abscission , fruit drop, olive tree.

Introduzione

L'abscissione è un fenomeno naturale complesso, controllato da numerosi fattori ambientali, genetici e fisiologici che regolano il distacco di parti di pianta, quali fiori e frutti (Tromp *et al.*, 2005).

Nell'olivo lo studio dell'abscissione dei frutti è particolarmente difficile in quanto il processo di maturazione non è sincrono, né lo è il distacco del frutto, che ha luogo nell'arco di un periodo di diversi mesi (Zucconi, 1973); si tratta di un comportamento che dipende dalla presenza di popolazioni diverse di frutti che in un dato momento sono caratterizzate da diverse condizioni fisiologiche, e quindi da diverse attitudini ad abscindere. L'andamento dell'abscissione dei frutti è stato studiato da diversi ricercatori (Morettini, 1972; Fiorino, 1975), ma non è ancora disponibile un marcatore capace di indicare l'attitudine ad abscindere di un dato frutto; d'altronde senza un marcatore individuabile in modo non distruttivo qualsiasi studio del fenomeno, sia esso di natura fisiologica, anatomica o morfologica, può basarsi solo su dati ottenuti da materiale estremamente eterogeneo.

Le prospettive di permanenza sull'albero dei singoli fiori e frutti in accrescimento sono quindi sempre state un mistero, anche perché il numero di fiori che divengono frutti maturi è nell'olivo estremamente basso. Questa caratteristica della specie è sempre stata di ostacolo a qualunque ricerca di fisiologia e anatomia dell'abscissione, ricerche peraltro condotte in rare e isolate occasioni, e quasi sempre su organi trattati con cascolanti.

Il progressivo affermarsi degli impianti superdensi e della raccolta meccanica delle olive rende primaria la necessità di conoscere in dettaglio il modello di crescita e maturazione dei frutti, nonché della loro attitudine ad abscindere. A tale scopo questa ricerca è stata condotta su piante di Leccino, per un periodo di due anni, per evidenziare quali influenze alcune condizioni dovute alla posizione del frutto sulla chioma possano avere sulle sue possibilità di allegare e persistere fino a completa maturità.

Il lavoro qui presentato rappresenta un primo contributo per valutare l'influenza di un numero di parametri morfologici e ambientali sull'abscissione dei frutti di olivo.

Materiali e metodi

Sono state utilizzate piante in produzione di 8-9 anni del medesimo clone di Leccino. In ognuno dei 2 anni della prova furono selezionati 4 alberi di uguale vigore presenti in un oliveto esposto a sud su un leggero pendio, in terreno argilloso di una zona di bassa

collina in provincia di Parma. Pur se la zona si trova oltre l'areale considerato ottimale per l'olivo, l'esposizione a sud e l'insieme del microclima rendono l'ambiente scelto adatto all'olivo, come è d'altronde confermato da abbondante documentazione storica sull'olivicoltura emiliana (Fabbri, 2009).

La scelta di alberi diversi nei due anni è stata dovuta al desiderio di evitare qualsiasi influenza dovuta al persistere dei frutti nel corso dell'inverno sulla induzione e differenziazione a fiore dell'anno successivo. Gli alberi erano allevati a Y, a distanza di 5 x 5 m, e potati regolarmente ogni anno. Le altre operazioni colturali erano quelle ordinarie di un'olivicoltura biologica, compreso l'inerbimento ininterrotto.

Su ogni albero furono scelti 10 rami fertili (con un minimo di 6 mignole ciascuno), cinque dei quali posti nella parte bassa della chioma (sotto l'altezza di 1,5 m) e cinque in alto (tra 1,8 e 2 m). Ogni ramo era caratterizzato per l'esposizione (nord o sud), e per il portamento (eretto, orizzontale, pendulo). Ogni infiorescenza era numerata secondo la posizione sul ramo, e divisa in tre parti (basale, mediana e apicale).

I dati furono raccolti a partire dall'inizio dell'antesi fino alla caduta naturale degli ultimi frutti. I dati raccolti consistevano in numero di fiori e frutti presenti nel corso dell'intero periodo che va dalla fioritura all'abscissione dei frutti, e nella dinamica dell'accrescimento dimensionale del frutto. Nel 2005 la cadenza delle misurazioni fu bisettimanale, da inizio antesi a allegagione, settimanale, da allegagione a invaiatura, mensile, per tutto il periodo della maturazione fino alla caduta naturale di tutti i frutti.

Nel 2006 la cadenza dei rilievi fu leggermente modificata in seguito all'esperienza del 2005: bisettimanale, da inizio antesi a allegagione, settimanale, da allegagione a completa invaiatura, quindicinale, nel primo periodo di maturazione (fino a tutto dicembre), mensile, per il rimanente periodo di maturazione fino alla caduta naturale di tutti i frutti. Nel periodo metà giugno-luglio l'indurimento dell'endocarpo fu misurato ogni settimana. L'invaiatura fu considerata iniziata quando il 10% dei frutti aveva iniziato a cambiare colore, cioè quando almeno il 50 % della superficie aveva acquisito la colorazione scura.

Risultati

La fioritura durò 21 giorni nel 2005 e 19 nel 2006 ed ebbe luogo nelle prime due decadi di giugno, iniziando il 27/5 e l'1/6, rispettivamente. L'entità della fioritura fu relativamente alta nel 2005 (anno di carica), e relativamente bassa nel 2006 (anno di scarica).

I risultati dei rilievi sono riportati nelle figure 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

Conclusioni

- Nel 2005, annata di carica, il numero di frutti allegati per mignola è risultato inferiore del 40% rispetto all'anno di scarica (fig. 1);
- la cascola di giugno, cioè nel mese successivo all'allegagione, è di eguale entità percentuale nei 2 anni, ma si compie in tempi molto diversi (più rapidamente nell'anno di carica) (fig. 2);
- la curva di accrescimento dei frutti è una sigmoide nell'anno di carica, e una sigmoide doppia nell'anno di scarica, mentre le due epoche di indurimento dell'endocarpo coincidono in pieno (figg. 3 e 4);
- in coincidenza con l'indurimento dell'endocarpo si completa la cascola di giugno, e il numero dei frut-

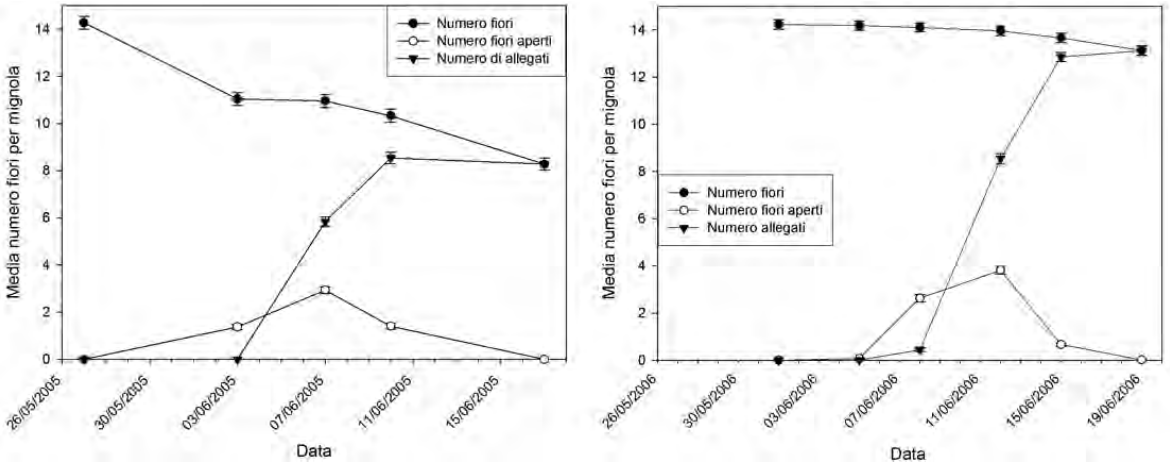


Fig. 1 - Andamento della fioritura nell'anno 2005 e nell'anno 2006.
Fig. 1 - Time course of flowering in the years 2005 and 2006.

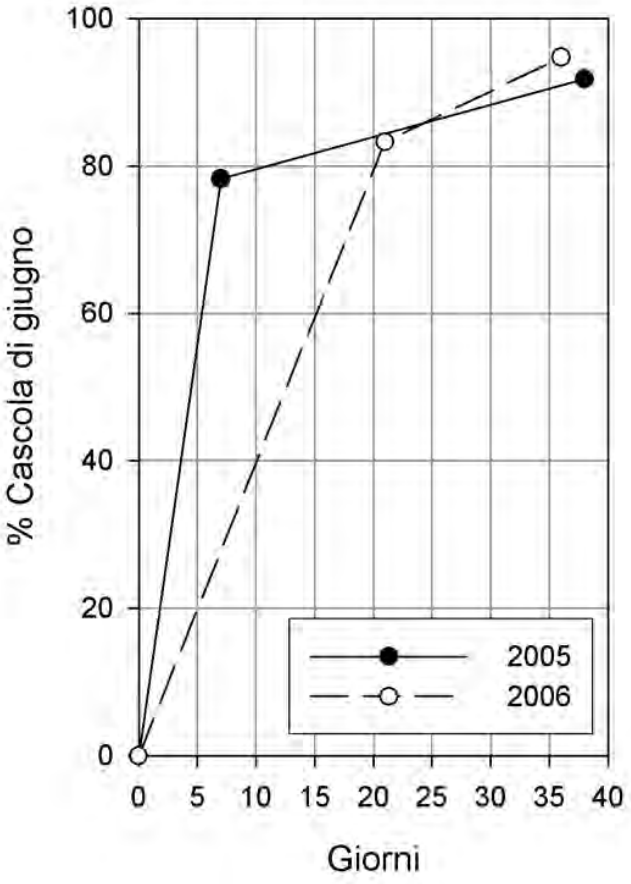


Fig. 2 - Andamento percentuale della cascola di giugno nel 2005 e nel 2006. Lo zero corrisponde alla data di completa allegagione (19 giugno 2005 e 2006).
Fig. 2 - June drop in the years 2005 and 2006, expressed as percentage of set fruits. Zero days refers to the date of complete fruit set (June 19 in both years).

ti presenti rimane pressoché costante fino alle prime settimane dell'anno successivo;
- nell'anno di scarica (2006) i frutti persistono per più tempo sulla pianta e la cascola è più lenta rispetto all'anno di carica (2005) (fig. 5).
- Effetto posizione del frutto:
  - altezza del ramo da terra: nessun effetto;
  - esposizione: minore cascola sui rami a Sud, ma solo nell'annata di scarica (fig. 6);
  - posizione sulla mignola: i frutti in posizione distale sono meno soggetti a cascola, e tale differenza rispetto ai frutti in posizione mediana o prossimale diviene particolarmente evidente e significativa nelle annate di carica (figg. 7 e 8).

Riassunto

Le prospettive di permanenza sull'albero dei singoli fiori e frutti in accrescimento sono sempre state un mistero, anche perché il numero di fiori che divengono frutti maturi è nell'olivo estremamente basso. Questa caratteristica della specie è sempre stata di ostacolo a qualunque ricerca di fisiologia e anatomia dell'abscissione, ricerche peraltro condotte in rare e isolate occasioni, e quasi sempre su organi trattati con cascolanti.

Il progressivo affermarsi degli impianti superdensi e della raccolta meccanica delle olive rende primaria la necessità di conoscere in dettaglio il modello di crescita e maturazione dei frutti, nonché della loro attitudine ad abscindere. A tale scopo questa ricerca è stata

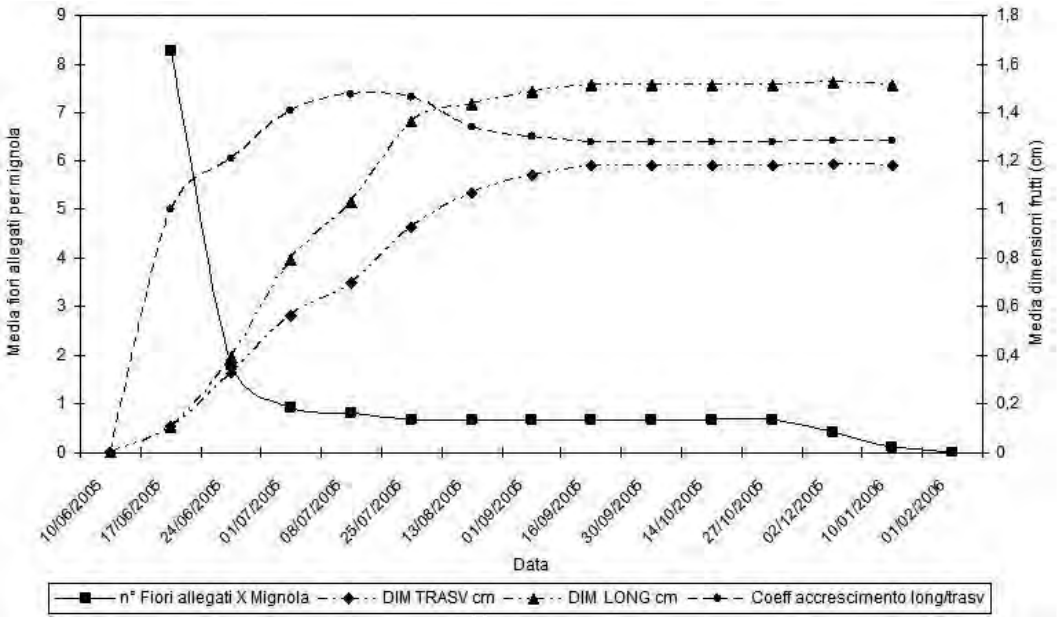


Fig. 3 - Andamento della cascola, accrescimento e maturazione dei frutti nell'anno 2005.
Fig. 3 - Time course of fruit drop, fruit growth and maturation in the year 2005.

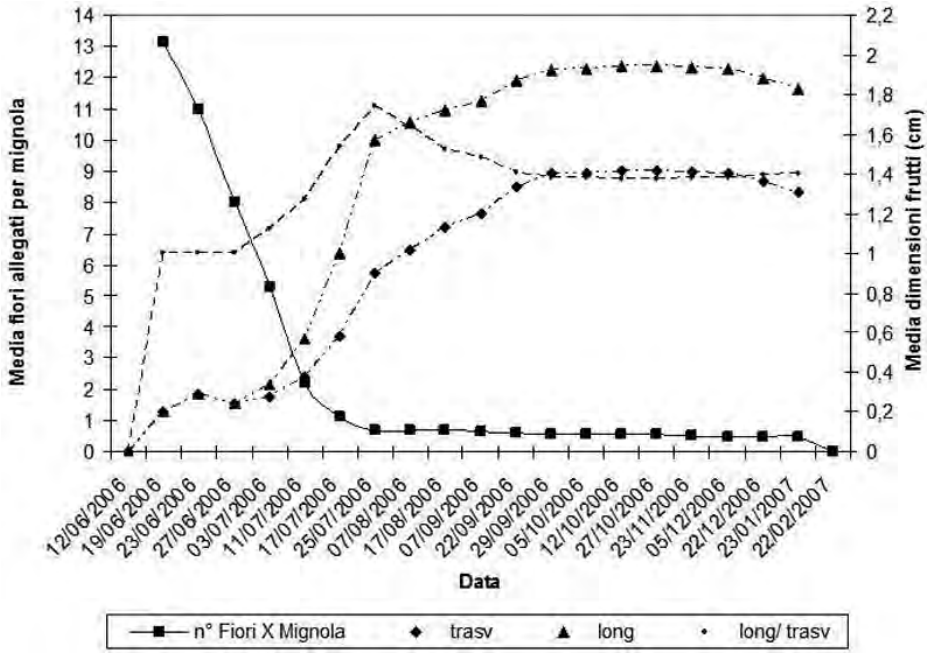


Fig. 4 - Andamento della cascola, accrescimento e maturazione dei frutti nell'anno 2006.
Fig. 4 - Time course of fruit drop, fruit growth and maturation in the year 2006.

condotta su piante di Leccino, per un periodo di due anni, per evidenziare quali influenze alcune condizioni dovute alla posizione del frutto sulla chioma possano avere sulle sue possibilità di allegare e persistere fino a completa maturità.

I risultati della ricerca, oltre a fornire una documentazione sull'andamento della cascola naturale nell'ambiente considerato (collina emiliana) e per la cv oggetto della prova, evidenziano che gli effetti dovuti alla posizione si mantengono negli anni indipendentemente dall'abbondanza dell'allegagione. La dinamica della cascola invece risulta influenzata dall'annata (ambiente, carica o scarica di frutti), e dalla dimensione iniziale del frutto.

Riguardo agli effetti della posizione sulla pianta, sono state riscontrate differenze relativamente all'esposizione del ramo, e soprattutto alla posizione del frutto sulla mignola.

Parole chiave: abscissione, cascola dei frutti, olivo.

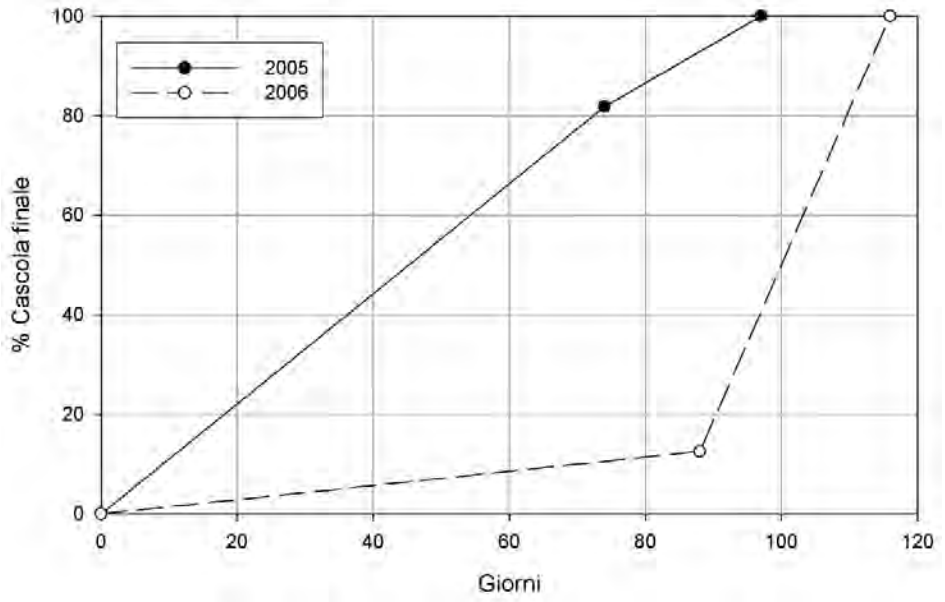


Fig. 5 - Andamento percentuale della cascola durante la fase di maturazione del frutto, dal 27 ottobre 2005 e 2006 (94 giorni dalla fine della cascola di giugno). In questa data in entrambi gli anni i frutti avevano una percentuale di invaiatura del 98%.
Fig. 5 - Time course of fruit drop during the maturation stage, from October 27 in both years (94 days after the end of June drop). At that time, in both years, 98% of fruits had turned black.

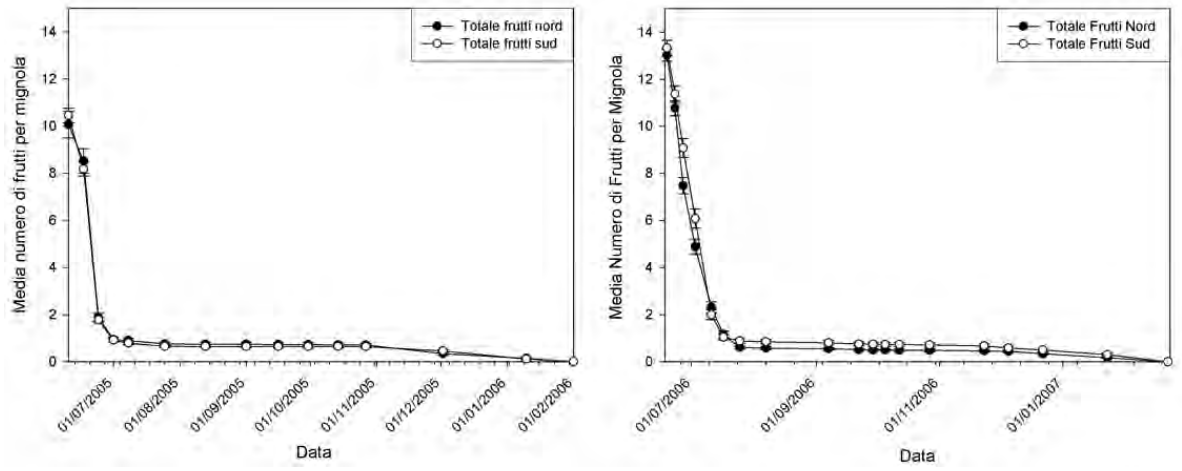


Fig. 6 - Andamento della cascola durante l'accrescimento e la maturazione fisiologica dei frutti esposti a nord e a sud nell'anno 2005 e nell'anno 2006.

Fig. 6 - Time course of fruit drop during growth and maturation stages, with reference to north and south exposures, in the years 2005 and 2006.

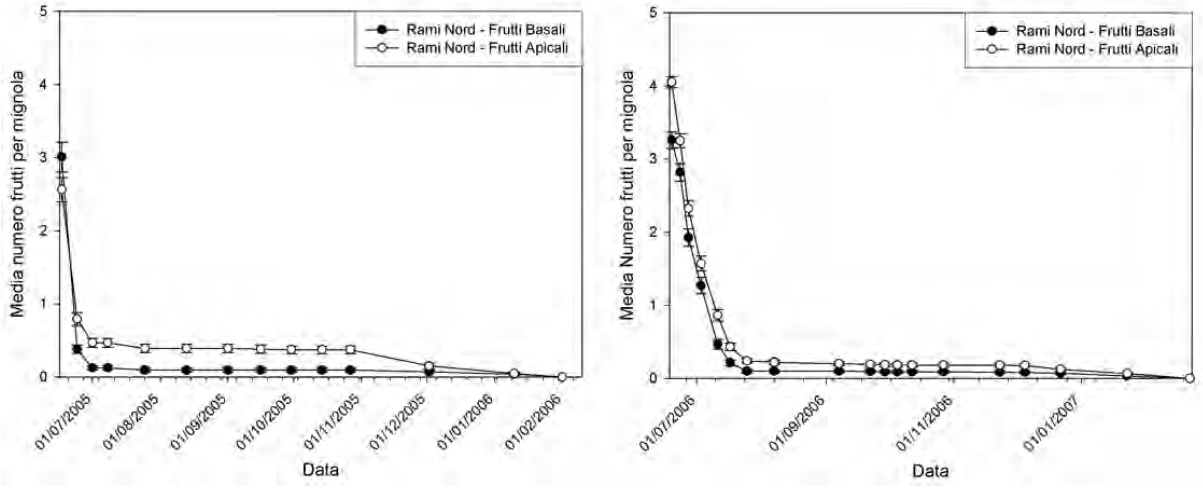


Fig. 7 - Andamento della cascola durante l'accrescimento e la maturazione fisiologica dei frutti apicali e basali nell'anno 2005 e nell'anno 2006.

Fig. 7 - Time course of fruit drop during growth and maturation stages, with reference to apical and basal positions, in the years 2005 and 2006.

Bibliografia

FABBRI A., 2009. *Olivo in Italia Settentrionale*. In: Pisante M., Inglese P., Lercker G. EDS. L'ulivo e l'olio. (pp. 312-325). Milano: Bayer Crop Science.

FIORINO P., LOMBARDO N., SETTINERI D., CILIBERTI A., 1975. *La maturazione delle olive: evoluzione simultanea di un certo numero di fattori*. Annali dell'Istituto Sperimentale per l'Olivicoltura 3:25-46.

MORETTINI, A., 1972. *Olivicoltura.* Reda, Roma.

TROMP J., WEBSTER A.D., WERTHEIM S.J., 2005. Fundamental *of temperature zone tree fruit production.* Backhuys Publishers, Leiden, Netherlands, 258-262.

ZUCCONI F., 1973. *Fisiologia della abscissione delle olive in: Ricerche sulla raccolta delle olive.* CNR Roma.

Evoluzione della drupa e dei principali composti che determinano la qualità dell'olio in tre cultivar di olivo allevate in Umbria

Scamosci M, Ridolfi M. e Patumi M.
CNR-ISAFoM- UOS Olivicoltura di Perugia

Development of the drupe and of the principal compounds determining the oil quality in three olive cultivars grown in Umbria

Abstract. The present work studied the development of some biometric characteristics and principal compounds determining the oil quality related to the ripening degree during the phases of oil accumulation in the fruit of three cultivars of *Olea europaea* L. (Moraiolo, Frantoio and Fs 17) grown in Umbria. During the ripening the weight of the drupes, the flesh/pit ratio, the pigmentation index and the oil content in the mesocarp cells increase with different speed and amounts in the three cultivars. Instead the concentrations of phenolic compounds in the fruit tend to decrease following diversified trend among the varieties. The fruits of cv Moraiolo, Frantoio and Fs 17 differ in the quantitative of C_6 aldehydes (Hexanal, *cis*-3-Hexenal and *trans*-2- Hexenal), the volatile compounds related to green-fruity aroma of the olive oil. These aromatic compounds however show a strong drop of their concentration in the drupe since the initial stage of ripening.

Key words: *Olea europaea* L., ripening, oil accumulation, phenols, aromatic compounds.

Introduzione

La maturazione dei frutti di olivo richiede diversi mesi ed è influenzata da molteplici fattori quali la cultivar, le condizioni pedoclimatiche e le pratiche agronomiche. Durante la maturazione avvengono cambiamenti nella fisiologia del frutto, tra cui importanti variazioni nella composizione chimica, legate ai principali parametri che determinano le caratteristiche qualitative di un olio, quali acidi grassi, fenoli e aromi. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare l'influenza dello stadio di maturazione sull'evoluzione dei composti sopracitati e delle caratteristiche biometriche del frutto durante la fase intermedia e finale di accumulo dell'olio in tre cultivar di olivo ('Moraiolo', 'Frantoio' e 'Fs 17') allevate in Umbria.

Materiali e metodi

I prelievi di campioni di olive delle varietà 'Moraiolo', 'Frantoio' e 'Fs 17' sono stati effettuati presso un oliveto situato in località Sanguineto di Tuoro sul Trasimeno (PG) da inizio settembre a fine novembre 2008 con cadenza di circa dieci giorni. Durante i prelievi sono stati campionati circa 2 kg di olive per cultivar raccogliendo a mano i frutti da quattro piante per ogni varietà. Per ogni data di prelievo su un campione rappresentativo di olive appartenenti a ciascuna delle tre varietà sono stati determinati: indice di maturazione, peso del frutto, rapporto polpa/nocciolo (peso del frutto/peso del nocciolo), contenuto in olio sulla polpa secca, composizione acidica, contenuto in polifenoli totali e o-difenoli e composti aromatici. La valutazione dell'indice di maturazione è stata effettuata secondo il metodo utilizzato dalla Stazione Agronomica di Jaen (Spagna) (Hermoso *et al.*, 1998). Il contenuto in olio sulla polpa secca è stato determinato tramite estrazione chimica della sostanza grassa con n-esano (Scamosci *et al.*, 2001). L'analisi degli acidi grassi è stata effettuata secondo la metodica prevista dal Reg. CE 2568/91. I composti fenolici sono stati estratti omogeneizzando 4g di polpa di olive con una soluzione idrometanolica; dopo agitazione e centrifugazione una aliquota filtrata del sovranatante è stata dosata tramite saggi colorimetrici (Singleton *et al.*, 1965; Mateos *et al.*, 2001). La determinazione dei composti volatili è avvenuta su 4 g di polpa di olive finemente macinata dopo congelamento in azoto liquido effettuando il campionamento nello spazio di testa statico (*Static Headspace*) tramite la tecnica SPME (*Solid Phase Microextraction*), separando la miscela di aromi con la gascromatografia (GC) e determinando la loro struttura tramite la spettrometria di massa (MS) (Terenziani *et al*., 2005).

Risultati e discussione

I frutti della cultivar FS 17 iniziano a pigmentarsi più tardi rispetto a quelli di 'Moraiolo' e 'Frantoio', che raggiungono a fine novembre livelli di invaiatura del frutto molto più elevati (tab. 1).

L'evoluzione ponderale del frutto e del rapporto polpa nocciolo rispetto all'indice di maturazione

Tab. 1 - Indici di maturazione rilevati per le tre varietà nelle nove date di prelievo.
Tab. 1 - Ripening index of the three varietes in nine period.

Prelievo	Data	Indice di Maturazione		
		Moraiolo	Frantoio	Fs 17
I	6 set	0,26	0,42	0,50
II	17 set	0,64	0,62	0,90
III	26 set	1,40	1,10	1,12
IV	8 ott	2,04	1,82	1,30
V	18 ott	2,60	2,52	1,86
VI	29 ott	3,22	2,91	2,18
VII	7 nov	3,46	3,74	2,30
VIII	21 nov	3,80	4,36	2,76
IX	29 nov	4,20	4,40	3,00

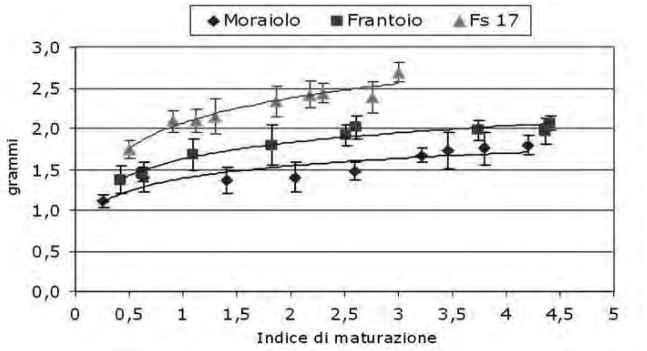


Fig. 1 - Evoluzione ponderale del frutto rispetto all'indice di maturazione.
Fig. 1 - Evolution of fruit weight related to ripening index.

(figg. 1 e 2), nel periodo considerato, evidenzia un andamento adattabile ad una curva di tipo logaritmico con alti coefficienti di regressione per tutte le varietà esaminate. La cv Fs 17 si distingue nettamente dalle altre due sia per il peso del frutto che per i valori di rapporto polpa/nocciolo che risultano notevolmente più elevati rispetto al 'Moraiolo' e al 'Frantoio'.

Uno stesso tipo di andamento si registra per il contenuto in olio sulla polpa secca (fig. 3). Il Moraiolo

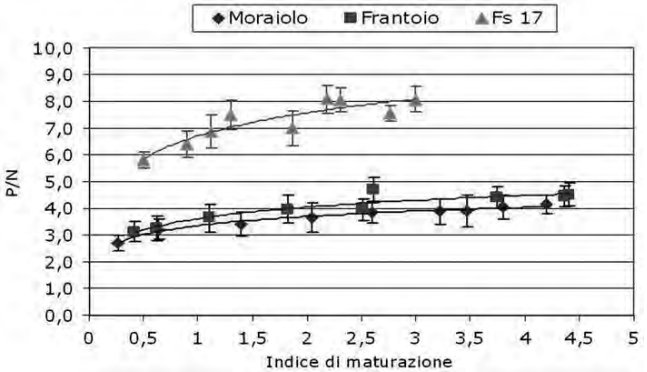


Fig. 2 - Evoluzione del rapporto polpa/nocciolo rispetto all'indice di maturazione.
Fig. 2 - Evolutiopn of pulp/stone ratio related to ripening index.

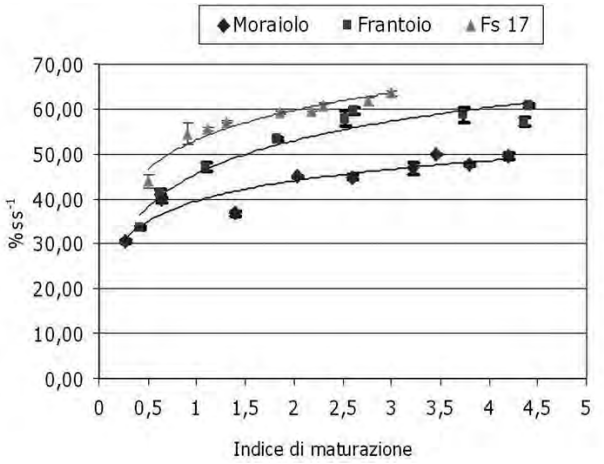


Fig. 3. Contenuto in olio sulla polpa secca rispetto all'indice di maturazione.
Fig. 3 - Oil content on pulp related to ripening index.

presenta una minor capacità di accumulo dell'olio rispetto alle altre due cultivar in particolare rispetto alla 'Fs 17' che risulta essere quella con inoliazione più precoce e quantitativamente più elevata nonostante la maggior lentezza nel processo di pigmentazione.

Per quanto riguarda la composizione acidica nel periodo considerato non sono stati riscontrati andamenti particolari ne differenze significative tra le

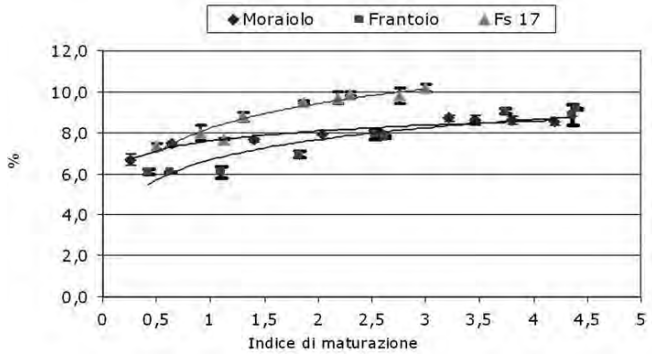


Fig. 4 - Percentuale di acido linoleico rispetto all'indice di maturazione.
Fig. 4 - Percentage of linoleic acid related to ripening index.

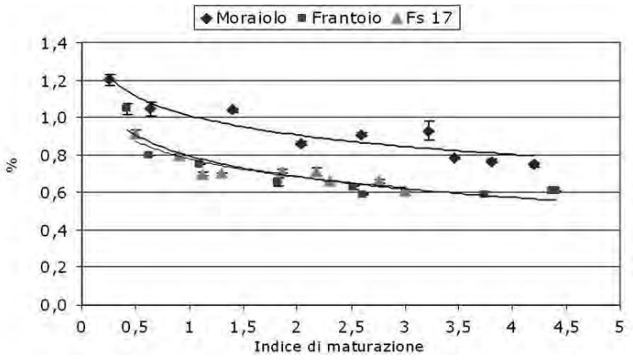


Fig. 5 - Percentuale di acido linolenico rispetto all'indice di maturazione.
Fig. 5 - Percentage of linolenic acid related to ripening index.

diverse cultivar in relazione al contenuto percentuale di acido palmitoleico, stearico ed oleico; una modesta diminuzione è stata osservata per l'acido palmitico (dati non mostrati), mentre acido linoleico e linolenico mostrano una tendenza più netta ad aumentare il primo (fig. 4) e a diminuire il secondo (fig. 5).

La cv Fs 17 presenta i valori maggiori e l'incremento più accentuato di acido linoleico, mentre la cv Moraiolo mostra le più alte percentuali di acido linolenico che solo negli stadi più avanzati di maturazione scendono sotto lo 0,9%, limite fissato dal Reg. CE 2568/91 per la categoria degli oli extravergini di oliva.

Si evidenzia (figg. 6 e 7) una generale tendenza alla diminuzione del contenuto di polifenoli nella polpa dei frutti di 'Moraiolo' e 'Frantoio', mentre in 'Fs 17' si osserva un andamento leggermente differente con un iniziale incremento della concentrazione fenolica che tende poi a diminuire nelle fasi più inoltrate della maturazione. Il 'Moraiolo' si distingue nettamente dalle altre due cultivar per l'elevato contenuto di polifenoli ed in particolare di o-difenoli che risultano quasi il doppio rispetto a quelli di 'Frantoio' ed 'Fs 17'. A questo fattore potrebbero essere attribuibili le tipiche caratteristiche organolettiche di amaro e piccante e la buona stabilità all'ossidazione dell'olio di 'Moraiolo'.

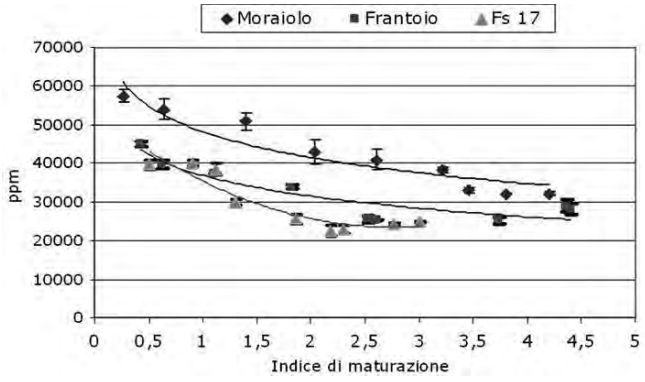


Fig. 6 - Contenuto in polifenoli totali sulla polpa secca rispetto all'indice di maturazione.
Fig. 6 - Total phenole content related to ripening index.

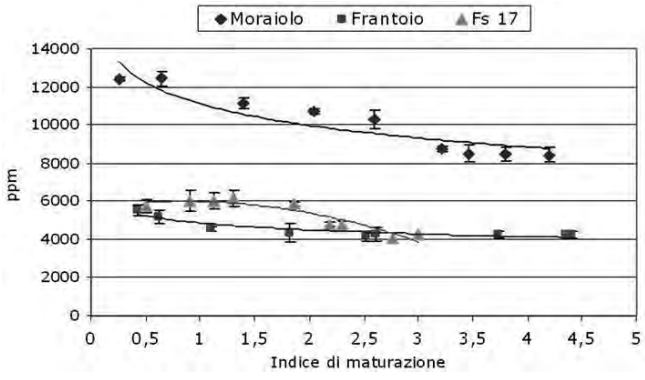


Fig. 7 - Contenuto in o-difenoli sulla polpa secca rispetto all'indice di maturazione.
Fig. 7 - Content of o-diphenol related to ripening index.

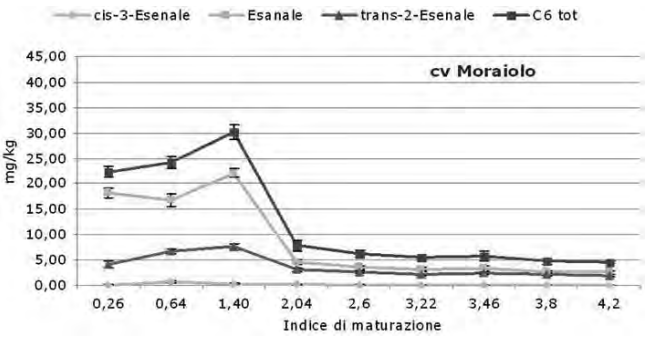


Fig. 8 - Contenuto di aldeidi C6 della cv Moraiolo rispetto all'indice di maturazione.
Fig. 8 - Content of C6 aldeid of cv Moraiolo related to ripening index.

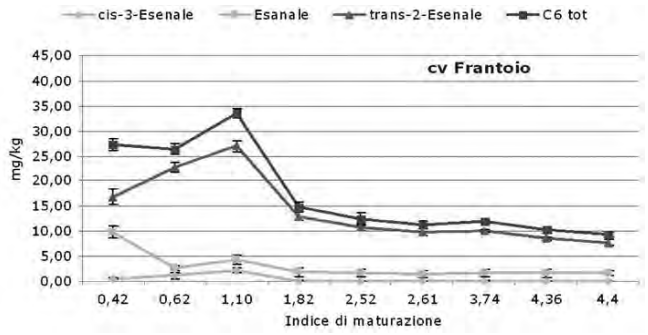


Fig. 9 - Contenuto di aldeidi C6 della cv Frantoio rispetto all'indice di maturazione.
Fig. 9 - Content of C6 aldeid of cv Frantoio related to ripening index.

Le tre cultivar si differenziano tra loro per il diverso quantitativo delle singole aldeidi considerate. Nel 'Moraiolo' (fig. 8) l'aldeide C_6 presente in maggior concentrazione è l'esanale seguita da quantitativi ridotti di *trans*-2-esenale e tracce occasionali di *cis*-3-esenale. Nel 'Frantoio' (fig. 9) invece la *trans*-2-esenale è l'aldeide predominante mentre l'esanale si presenta in quantità modeste e la *cis*-3-esenale sempre solo in tracce.

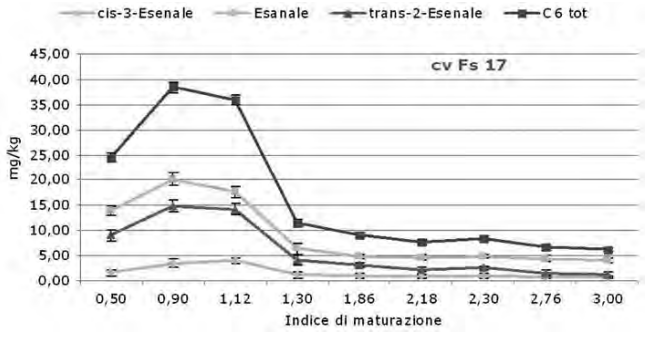


Fig. 10 - Contenuto di aldeidi C6 della cv Fs 17 rispetto all'indice di maturazione.
Fig. 10 - Content of C6 aldeid of cv Fs 17 related to ripening index.

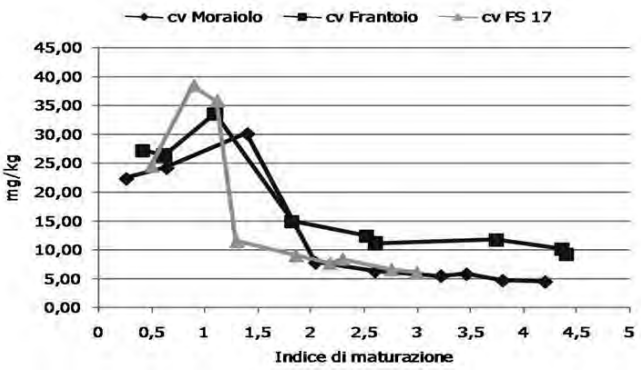


Fig. 11 - Contenuto di aldeidi C6 totali rispetto all'indice di maturazione.
Fig. 11 - Content of total C6 aldeid related to ripening index.

In 'Fs 17' (fig. 10) il maggior contributo alla componente aromatica di tipo aldeidico è dato di nuovo dall'esanale seguita dalla *trans*-2-esenale con quantità abbastanza rilevanti e in piccola parte anche dalla *cis*-3-esenale.

Il contenuto di aldeidi C_6 totali più elevato si riscontra in 'Fs 17' nelle fasi iniziali della maturazione mentre nelle fasi più tardive è il 'Frantoio' che mantiene le più alte concentrazioni (fig. 11). In tutte le tre varietà comunque si registra un netto calo nel quantitativo di questi composti aromatici già negli stadi iniziali della pigmentazione prima in 'Fs 17', poi in 'Frantoio' ed infine nel 'Moraiolo'.

Conclusioni

Lo studio ha mostrato come l'evoluzione del frutto durante la maturazione è avvenuta con modalità quantitativamente e qualitativamente differenti nelle diverse varietà. Determinare le caratteristiche delle drupe in relazione alla cultivar e allo stadio di maturazione risulta di fondamentale importanza per ottenere informazioni sulle potenzialità in resa e in qualità dell'olio prodotto.

Riassunto

Nel presente lavoro sono state valutate le modalità con cui evolvono alcune caratteristiche biometriche e i principali composti che determinano la qualità dell'olio in relazione al grado di maturazione durante l'inoliazione nel frutto di tre cultivar di *Olea europaea* L. ('Moraiolo', 'Frantoio' e 'Fs 17') allevate in Umbria. Con il procedere della maturazione si assiste ad un accrescimento ponderale della drupa, del rapporto polpa/nocciolo, dell'indice di pigmentazione e ad un incremento del contenuto di olio nelle cellule del mesocarpo, in tutte e tre le varietà. La concentrazione di composti fenolici nella drupa tende a diminuire in maniera più o meno accentuata nelle diverse cultivar. Le varietà si differenziano tra loro per il diverso quantitativo di aldeidi a sei atomi di carbonio (esanale, *cis*-3-esenale e *trans*-2- esenale), composti volatili a cui si associa la nota aromatica definita con l'attributo di fruttato erbaceo. In tutte le tre varietà comunque si registra un netto calo nel quantitativo di questi composti aromatici nel frutto già negli stadi iniziali della pigmentazione.

Parole chiave: *Olea europaea* L., maturazione, ino liazione, fenoli, aromi.

Bibliografia

HERMOSO M., UCEDA M., FRIAS L., BELTRAN G. MATURACION, 1998. in: El Cultivo del Olivo – Barranco D., Fernandez-Escobar R., Rallo L. (Eds); Junta de Andalucia, Ediciones Mundi-Prensa: Madrid, Spain: 147-161.

MATEOS R., ESPARTERO J.L., TRUJILLO M., RIOS J.J., LEÒN-CAMACHO M., ALCUDIA F., CERT A., 2001. *Destination of phenols,flovone, and lignans in virgin olive oil by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array ultraviolet detection*. J.Agric. Food Chem., 49: 2185-2192.

SCAMOSCI M., CIPRIANI M. E FONTANAZZA G., 2005. *Cap. 3. Valutazione bio-agronomica di accessioni di olivo della Provincia di Enna: Schede elaiografiche* In: Studio del germoplasma olivicolo e valutazione qualitativa degli oli della Provincia di Enna.- Provincia Regionale di Enna- CNR-ISAFoM Sez. Olivicoltura Perugia.- Tipolitografia Arti Grafiche Jesus, Leonforte (EN): 35-85.

SINGLETON V.L., RAUNDOPOULO A., KRAMER S., KRAMER C., 1972. *An analisis of wine to indicate aging in wood or treatment with wood chip or tannic acid*. Am. J. Enol. vatic., 22: 161-166.

TERENZIANI S., RIDOLFI M., PRENZLER P.D., PATUMI M., 2005. *Methods to assay LOX - HPL activities and to measure volatile compounds during olive fruit ripening*. Atti 26th World Congress and exhibition of the ISF "Modern aspect of fats and olis". Praga, 25-28 settembre.

Acta Italus Hortus 1: 191-193

Studio comparativo dello sviluppo del frutto e dell'accumulo dell'olio in tre cultivar di *Olea europaea* L.

Cáceres M.E.[1*], Giordano C.[2], Bonzi Morassi L.[2], Mencuccini M.[1], Patumi M.[1] e Fontanazza G.[1]
[1] CNR ISAFOM, Perugia
[2]Centro di Microscopia Elettronica, Polo Scientifico, Firenze

Comparative analysis of fruit development and oil accumulation in tree cultivars of *Olea europaea* L.

Abstract. Few informations are available in literature regarding the morphological characteristics of olive fruits in relation to oil accumulation. To gain insights into the differences in efficiency of oil accumulation in three different cvs "Frantoio", "FS17" and "Don Carlo", this parameter was evaluated at different stages of fruit development using electronic microscopy. A morphological analysis of fruit tissues implicated in oil accumulation was also undertaken in the same phases of fruit development. Significant among-cultivars differences in size and shape of the cuticle layer and mesocarp, have been detected: "Don Carlo" showed the thickest cuticle layer whereas "FS17" showed the largest oil bodies. 3D observations of oil accumulation allowed us to detect timing and oil body formation in relation to surrounding tissue and cell ultrastructure. Results are discussed in relation to the developing of new strategies for olive tree breeding and/or to the dual use of fruits for both direct consumption and oil extraction.

Key words: *Olea europaea* L., oil accumulation, optical microscope, ESEM, CRYO-SEM.

Introduzione

Esiste una notevole variabilità all'interno della specie *Olea europaea* L. per le caratteristiche morfologiche delle drupe e per la composizione chimica e la dinamica dell'accumulo di olio nelle cellule del mesocarpo (Lavee e Wodner 1991; Lavee, 1996; Romano *et al.*, 2004). Nel presente lavoro sono state confrontate per tali caratteristiche tre cultivar, il 'Frantoio' antica varietà italiana e altre due nuove varietà 'Fs17' e 'Don Carlo' provenienti la prima, da libera impollinazione e la seconda da autoimpollinazione dalla stessa varietà 'Frantoio'. Le ultime due varietà sono state selezionate e brevettate presso l'Istituto sede della ricerca (Fontanazza e Bartolozzi, 1996).

L'indagine pertanto, oltre allo scopo di approfondire le conoscenze solo parzialmente note nell'olivo, sulla morfologia dell'endocarpo e del mesocarpo dei frutti e dei sistemi di accumulo di olio nei tessuti, si prefigge di mettere in evidenza attraverso l'analisi al microscopio ottico ed elettronico eventuali differenze tra queste varietà per l'efficienza dell'accumulo dell'olio e per la qualità del frutto come oliva da tavola.

Materiali e metodi

La raccolta delle drupe è avvenuta durante l'estate-autunno del 2005 prendendo in considerazione due diversi stadi di sviluppo del frutto: Stadio II (sviluppo intermedio del seme ed indurimento graduale del nocciolo) e lo Stadio IV (invaiatura del frutto e graduale riduzione della sua crescita) (Lavee, 1986). Alcune metodologie di microscopia ottica ed elettronica (ESEM, SEM) sono state utilizzate per comparare lo sviluppo delle cellule dell'endocarpo e del mesocarpo in relazione all'accumulo dell'olio nelle tre cultivars di *Olea europaea*: 'Frantoio', 'FS 17' e 'Don Carlo' allevate in due zone dell'Umbria (Sanguineto, Tuoro sul Trasimeno-PG, 43° 12' 0'' N, 12° 5' 0'' E, 309 m s.l.m. e Montecampano, Amelia-TN 42° 33' 27'' N, 12° 24' 49'' E, 347 m s.l.m.). La realizzazione della curva d'inoliazione è stata effettuata secondo Cipriani *et al.* (2006).

Risultati e discussione

La cv 'Don Carlo' presenta uno strato cuticolare di dimensioni maggiori (12,78micron) rispetto alle altre cultivar analizzate (fig. 1a-c; tab. 1). Questa differenza si mantiene inalterata nei due ambienti analizzatati. Questo fa supporre che questo carattere abbia una componente genetica. Alcuni autori hanno osservato che questo carattere può essere influenzato da condizioni di stress idrico (Patumi *et al.*, 2002).

Sono state osservate delle differenze tra le cultivar, per la morfologia nelle cellule del mesocarpo, per la loro dimensione (fig. 1d-f; tab. 1) e per la dinamica dell'accumulo di olio. L'uso della microscopia elettronica associata alla tecnica del Cryo-Sem ha permesso di osservare la formazione degli oleosomi e dell'accumulo di olio all'interno del citoplasma e

[*] eugenia.caceres@yahoo.com.ar

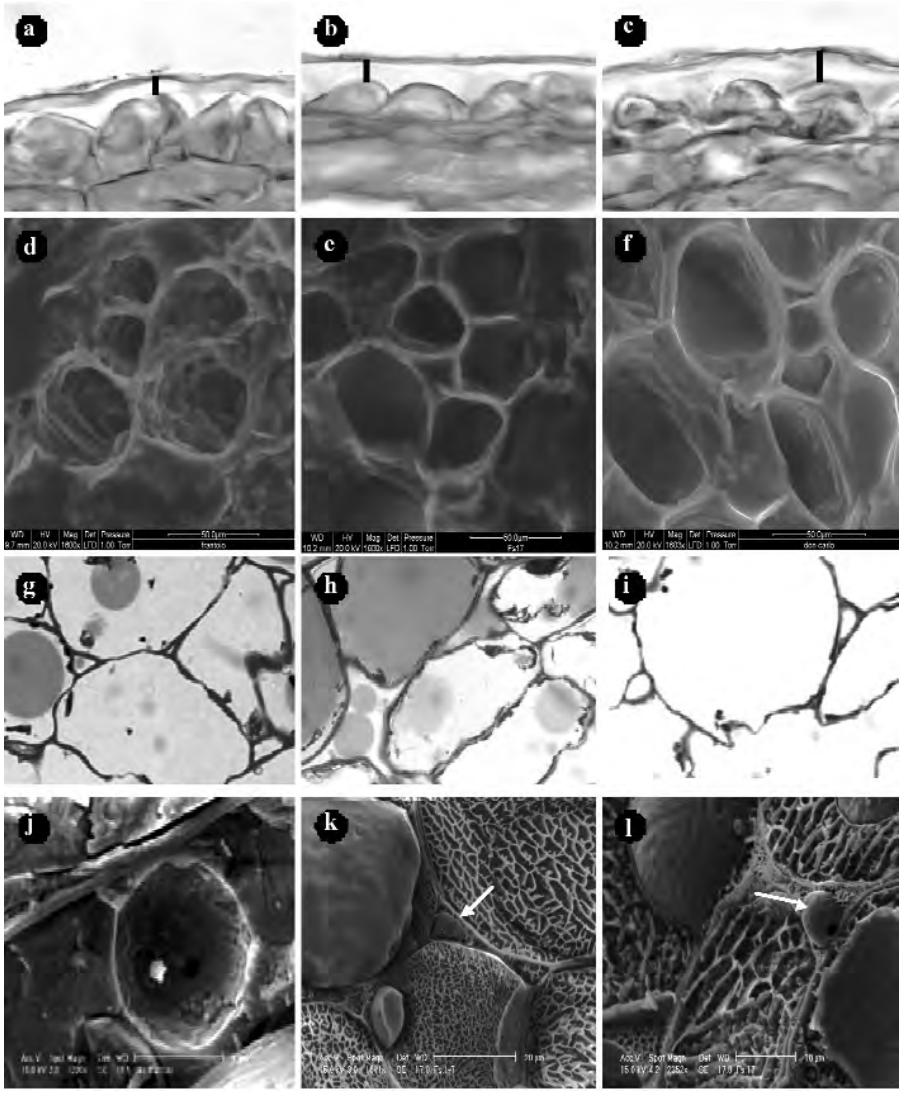


Fig. 1 - Sezioni dello strato dell'epicarpo e dell'area epidermica dei frutti di olivo (x 1250), (a-c) . Microscopio elettronico ad escanzione (ESEM) analisi dello strato intermedio del mesocarpo di frutti di olivo (d-f).Sezioni semifini dello strato intermedio di mesocarpo all'inizio dell'accumulo di olio (x 312,5) in frutti di olivo (g-i).Analisi delle cellule intermedie del mesocarpo in frutti di olivo utilizzando il Cry-SEM (Cry- microscopio elettronico a scanzione)(j-l).Cellule della polpa del frutto coltivati ad Amelia (PG) nelle cv 'Frantoio' (a,d,g,j), 'Fs-17' (b,e,h,k) e 'Don Carlo' (c,f,i,l). Le frecce indicano degli oleosomi negli spazi intercellulari.

Fig.1 - Sections of the epicarp layer and of the underlying epidermic area of the olive fruit (x 1250), (a-c). Environmental Scanning Electron Microscopy (ESEM) analysis of the itermediate layer of the mesocarp of fruits of olive (d-f). Semi-thin sections of the intermediate layer of mesocarp, in fruits of olive at the initial stage of oil accumulation (x 312.5, g-i). Analysis of the intermediate cell layer of the mesocarp in olive fruits with the aid of the SEM-Cry (Cry- Scanning Electron Microscope; j-l). Cells of the pulp of the fruit collected from trees bred in Amelia (TR), belonging to the cv 'Frantoio' (a, d, g, j), 'Fs-17' (b, e, h, k) and 'Don Carlo' (c, f, i, l). The arrows indicate the oil bodies in the intercellular spaces.

negli spazi intercelullari (fig.1j-l).Si è osservato un accumulo di olio maggiore e molto precoce nella cultivars 'FS 17' rispetto alle altre due (fig. 1g-i), come si è evidenziato dalla curva d'inoliazione osservata nel periodo compreso luglio-novembre 2005 nella località Amelia (PG) (Cipriani *et al.*, 2006).

Conclusioni

Sulla base dei risultati ottenuti si può concludere che esistono differenze significative tra le cultivar analizzate sia per la morfologia delle cellule del mesocarpo che per la formazione e accumulo di olio. La cultivar 'Don Carlo' si distingue dalle altre per un maggiore strato cuticolare della drupa che le conferisce una maggiore consistenza della polpa in relazione alla dimensione. In base a tale caratteristica si ritiene che questa varietà possa essere utilizzata come produttrice di olive da tavola, contrariamente alla cultivar 'Frantoio' dalla quale deriva. Infine la cultivar 'FS 17' presenta una maggiore velocità ed efficienza di accumulo dell'olio sia all'interno della cellula che negli spazi intercellulari rispetto alle altre due cultivar. Tali caratteristiche bio-morfologiche unite ad

Tab. 1 - Caratteristiche morfologiche e accumulo dell'olio di tre cultivar di *Olea europaea*: 'Frantoio', 'Fs 17' e 'Don Carlo' in due stadi di sviluppo dei frutti (Stadio II e Stadio IV, vedere materiali e metodi). Olivi coltivati nella località Sanguineto, Tuoro sul Trasimeno (PG). I dati sono espressi in micron.

Tab. 1 - Morphological features and oil accumulation in three cultivars of Olea europaea, 'Frantoio', 'FS 17' and 'Don Carlo' in two stages of fruit development (Stage II and Stage IV, see materials and methods). Olives fruit from trees bred at Sanguineto, near to Tuoro sul Trasimeno (PG). Data are expressed in microns.

Caratteristiche		Stadio II			Stadio IV		
		Frantoio	FS-17	Don Carlo	Frantoio	FS-17	Don Carlo
Spessore della cuticola	Media	10,33	9,64	14,72	8,05	8,62	12,78
	SD	1,72	1,29	2,52	1,77	1,51	2,31
Lunghezza della cellule del mesocarpo	Media	57,44	56,11	74,27	68,73	70,44	88,16
	SD	5,5	5,7	6,3	6,2	7,3	6,8
Larghezza delle cellule del mesocarpo	Media	46,43	42,86	46,14	56,52	50,87	52,71
	SD	5,2	5,3	5,4	4,6	5,7	5,4
Diametro delle cellule del mesocarpo	Media	1,24	1,31	1,61	1,22	1,39	1,68
	SD	0,08	0,09	0,09	0,10	0,9	0,09
Lunghezza degli oleosomi nelle cellule del mesocarpo	Media	46,63	44,4	38,05	53,88	59,97	47,71
	SD	4,4	4,2	4,9	4,1	4,3	3,8
Lunghezza degli oleosomi negli spazi intercellulari	Media	8,66	15,55	7,73	15,51	24,85	19,02
	SD	1,01	2,1	1,4	1,6	1,7	1,8
Percentuale di oleosomi nelle cellule del mesocarpo	Media	80,10	93,48	62,51	95,77	95,90	95,30
	SD	2,40	2,81	2,64	1,11	2,20	1,67
Percentuale di oleosomi negli spazi intercellulari	Media	19,47	40,67	5,87	35,27	64,82	15,81
	SD	3,45	3,02	2,10	3,30	5,06	3,13

altre caratteristiche agronomiche e merceologiche della cv. 'FS 17' mettono in evidenza la validità della nuova cultivar per la produzione di olio.

Riassunto

Esistono in letteratura poche informazioni riguardanti la relazione che esiste tra morfologia del frutto e capacità di accumulo dell'olio in olivo. Con lo scopo di evidenziare eventuali differenze per la capacità di accumulo dell'olio nelle tre cultivar 'Frantoio', 'FS17' e 'Don Carlo' è stata effettuata un'analisi comparativa del frutto in via di sviluppo nelle stesse cultivar mediante microscopia elettronica. Le principali differenze messe in evidenza hanno riguardato lo spessore e la forma delle strato cuticolare del mesocarpo e le dimensioni degli oleosomi. In particolare la cultivar 'Don Carlo' presentava lo strato cuticolare più spesso e la cultivar 'FS 17' gli oleosomi di maggiori dimensioni. E' stato inoltre possibile, attraverso l'osservazione tridimensionale, evidenziare la dinamica dell'accumulo dell'olio nelle tre cultivar e mettere in relazione tale parametro con alcune caratteristiche ultrastutturali e morfologiche della cellula e di alcuni tessuti del frutto. I risultati ottenuti sono discussi sulla base della possibilità di sviluppare nuove strategie per la selezione di nuove cultivar che possano essere impiegate sia per la produzione di olio che di olive da tavola.

Parole chiave: *Olea europaea* L., accumulo oleo, microscopia ottica, ESEM, CRYO-SEM.

Bibliografia

CIPRIANI M., CERRETANI L., SCAMOSCI M., FONTANAZZA G., 2006. *Composizione in acidi grassi ed in fenoli delle drupe di "Frantoio", "FS17" e "Don Carlo" durante l'inoliazione*. Atti del Convegno Nazionale Maturazione e raccolta delle olive, Sala Convegni ITAS , Alanno- PE (Abruzzo)?.

FONTANAZZA G., BARTOLOZZI F., 1996. *Italian contribution to plant genetics and breeding: Olive.* Eucarpia.Editor, Scarascia Mugnozza G.T. and Pagnotta M.A., pag. 723-748.

LAVEE S., WODNER M., 1991. *Factors affecting the mature of oil accumulation in fruit of olive (*Olea europaea *L.) cultivars*. J. Hort. Sci., 66: 583-591.

LAVEE S., 1996. *Olive biology and physiology*. In: World olive encyclopedia, (C.O.I. Ed.) Barcelona, Spain.

PATUMI M., D'ANDRIA R., MARSILIO V., FONTANAZZA G., MORELLI G., LANZA B., 2002. *Olive and olive oil quality after monocone olive growing (*Olea europaeae *L., cv.Kalamata) in different irrigation regimes*. Food Chemistry 77: 27-34.

ROMANO R., DE MICCO V., ARONNE G., 2004. *Caratteristiche istologiche e citologiche dei frutti.*

Acta Italus Hortus 1: 194-197

Osservazioni sulla biologia fiorale e di fruttificazione nell'olivo

Lombardo L., Lombardo N[*]. e Briccoli Bati C.
CRA-OLI, Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia, Rende (CS)

Flowering and fructification biology of olive trees

Abstract. The present work was made to evaluate the influence that the plant production entity has on flower induction and buds differentiation, on fruit set percentage and, eventually, on summer fruit drops. The influence of the bud position on high or low part of canopy, on the same processes, is also studied. The obtained data showed, even in presence of a great variability of the considered cultivars, a highly significant negative correlation between production and following flower differentiation. Even the correlation between flower bud differentiation and fruit set has resulted significantly negative. The buds position, on high or low part of the canopy, has influenced the bud differentiation entity only in 5 cultivars, but it hasn't influenced fruit set. The summer fruit drop wasn't influenced by the examined factors.

Key words: *Olea europaea* L., production, flower bud differentiation, fruit set.

Introduzione

Nell'ultimo secolo moltissimi sono stati i lavori sperimentali pubblicati sulla biologia fiorale e di fruttificazione dell'olivo. In particolare sono stati studiati i processi di induzione e differenziazione a fiore delle gemme e le cause che li influenzano, tra i quali: la defogliazione (Morettini 1951; Fiorino *et al*. 1979), l'ombreggiamento (Guerriero e Vitagliano 1973; Tombesi e Cartechini 1986), la competizione dei frutti (Crescimanno *et al.* 1976) e quindi l'epoca di raccolta (Lombardo e Briccoli Bati 1983-1990), lo stato nutrizionale delle piante (Gonzales Garcia e Catalina 1982), i trattamenti con sostanze ormonali (Proietti e Tombesi 1996), ecc. Altrettanto numerose sono state le ricerche sulla allegagione e sulla auto- ed interfertilità (Lombardo *et al*. 2006). Avendo però i vari autori operato su differenti varietà, in d ambienti pedoclimatici diversi e con pratiche colturali a volte differenti, i risultati riportati in letteratura non sempre sono omogenei e confrontabili.

Con la presente ricerca si vuole dare un ulteriore contributo alla conoscenza dei fenomeni sopraddetti valutando l'influenza dell'entità della produzione delle piante sulla successiva differenziazione a fiore delle gemme, sulla percentuale di allegagione ed, eventualmente, sulla cascola estiva dei frutticini. Si è voluto inoltre valutare l'influenza che la posizione delle gemme, nella parte medio-alta o bassa della chioma, ha sugli stessi processi. La prova ha interessato 15 varietà di diversa origine, allevate nello stesso campo e con le medesime pratiche colturali.

Materiale e metodi

L'indagine si è svolta nel campo collezione del CRA-OLI di Mirto Crosia (CS).

Le piante delle diverse cultivar, di 9-10 anni dall'impianto, allevate a vaso, con sesto di m 6x4 e caratterizzate da differente vigoria e produttività, sono state potate con diversa intensità, al fine di predisporle a produzioni variabili. Nell'autunno del 2006 si è poi provveduto alla raccolta ed alla pesatura del prodotto portato da tutte le piante in esame.

Per ogni cultivar sono state scelte 2 piante scariche o con bassa produzione e 2-3 piante (a seconda della vegetazione emessa nel 2006) che avevano avuto le produzioni più elevate. Le cultivar prese in esame, con tra parentesi le medie arrotondate delle produzioni più basse e più alte, sono state le seguenti: Ascolana tenera (kg 1-14), Bella di Cerignola (kg 1-43), Bosana (kg 1-27), Carolea (kg 1-20), Coratina (kg 1-44), Frangivento (kg 1-24), Giarraffa (kg 1-5), Leccio del corno (kg 2-21), Ogliarola messinese (kg 1-19), Ogliarola salentina (kg 1-39), Peranzana (kg 3-18), Rosciola delle Marche (kg 9-34), S. Agostino (kg 1-21), Tondina (kg 1-58), Koroneiki (kg 5-18).

La cv greca Koroneiki è stata inserita in questo studio dato il crescente interesse degli olivicoltori prestandosi bene alla utilizzazione in impianti superintensivi.

A febbraio del 2007, prima della ripresa vegetativa, si sono contrassegnate, tutto intorno alla chioma, 40 branchette per pianta, 20 nella parte bassa (fino a 2 metri di altezza) e venti nella parte medio-alta (da 2 a 4 metri di altezza); le branchette, su cui venivano contate le gemme presenti sulla vegetazione emessa l'anno precedente, sono state scelte in modo tale da avere in osservazione oltre 8000 gemme per cultivar, di cui almeno 4000 sulle piante scariche ed altrettante su

[*] nicolalombardo2@libero.it

quelle cariche e, contestualmente, almeno 4000 gemme nella parte bassa della chioma ed altrettante in quella medio-alta. In aprile-inizio maggio, si sono contate le mignole presenti su ogni branchetta per determinare la percentuale di differenziazione a fiore delle gemme nelle diverse tesi. In giugno, ad allegagione ultimata, si sono contati i frutticini presenti per calcolarne la percentuale; lo stesso conteggio si è ripetuto a fine agosto-inizio settembre per determinare l'entità della cascola fisiologica estiva dei frutticini.

I dati sono stati sottoposti ad analisi statistica della varianza (ANOVA) e della regressione semplice con il software Statgraphics 5 plus.

Risultati e discussione

Nella tabella 1 vengono riportate le percentuali di differenziazione a fiore delle gemme nelle diverse tesi. Le percentuali complessive di differenziazione a fiore sono state in media del 59,27% sulle piante scariche o con produzioni ridotte e del 23,19% su quelle con produzioni medie o elevate.

Le differenze registrate tra piante scariche e cariche, sono risultate altamente significative su 12 delle 15 varietà esaminate, ciò a conferma che la produzione influisce sulla induzione a fiore delle gemme riducendo conseguentemente la mignolatura nella primavera successiva.

Sulle piante delle cultivar Frangivento, Ogliarola messinese ed Ogliarola salentina, caratterizzate da notevole vigoria e complessivamente da basse differenziazioni anche sulle piante scariche, non si sono registrate differenze significative nemmeno al 95%.

La conferma della correlazione tra produzione e successiva differenziazione a fiore, si ricava anche dalla analisi statistica, a cui sono stati sottoposti i dati, della regressione semplice risultata altamente significativa (fig. 1).

L'influenza notevole della componente genetica della cultivar sulla differenziazione a fiore si evince dal fatto che, sia sulle piante cariche che sulle scariche le percentuali ottenute variano dal 22,34% al 87,11% e dal 0,36% al 56,64% rispettivamente.

Relativamente alla posizione dei rami e quindi delle gemme sulla chioma si evidenzia che su 10 varietà non si sono avute differenze significative di differenziazione tra la parte bassa ed alta della chioma, così pure per le medie generali di tutte le varietà che sono risultate del 43% circa; invece su 3 varietà (Coratina, Leccio del corno e Rosciola) la differenziazione a fiore è risultata significativamente maggiore nella parte bassa della chioma, mentre su 2 varietà (Koroneiki ed Ogliarola salentina), la differenziazione è stata più elevata nella parte medio-alta.

Tali differenze possono essere utilizzate come guida per una migliore tecnica di potatura.

I dati ottenuti sulla allegagione, vengono riportati nella tabella 2. Come si vede, nelle piante già cariche e con ridotta entità della fioritura, l'allegagione, in 10 varietà su 15, è stata maggiore in maniera altamente significativa rispetto a quanto ottenuto sulle piante scariche.

Anche i risultati della differenziazione a fiore e della allegagione sono stati sottoposti alla analisi della regressione semplice e la correlazione lineare è risultata ugualmente altamente significativa (fig. 2).

Tab.1 - Percentuali di differenziazione a fiore delle gemme nelle piante con diverse produzioni e nelle diverse parti della chioma.
Tab. 1 - Percentages of flower buds differentiation on plants with different productions and in various parts of canopy.

Piante scariche	Piante cariche	Cultivar	In basso	In alto
87,11 A	56,64 B	Ascolana tenera	77,16 ns	77,10
67,19 A	2,12 B	Bella di Cerignola	49,72 ns	39,00
84,07 A	47,63 B	Bosana	54,70 ns	64,37
33,90 A	12,19 B	Carolea	20,43 ns	19,09
66,63 A	9,23 B	Coratina	71,14 A	45,15 B
43,88 ns	42,34	Frangivento	41,25 ns	44,78
77,16 A	16,31 B	Giarraffa	48,42 ns	45,66
63,73 A	50,07 B	Koroneiki	51,85 B	62,40 A
64,94 A	10,96 B	Leccio del corno	31,97 B	47,00 A
25,31 ns	19,47	Ogliarola messinese	19,71 ns	24,80
22,34 ns	22,45	Ogliarola salentina	17,81 B	25,69 A
52,86 A	22,24 B	Peranzana	39,36 ns	35,87 A
77,07 A	24,22 B	Rosciola delle Marche	50,39 A	39,42 B
41,18 A	10,32 B	S. Agostino	28,25 ns	23,83
83,40 A	0,36 B	Tondina	42,70 ns	44,33

Lettere diverse indicano differenze significative al 99% (Tukey test).

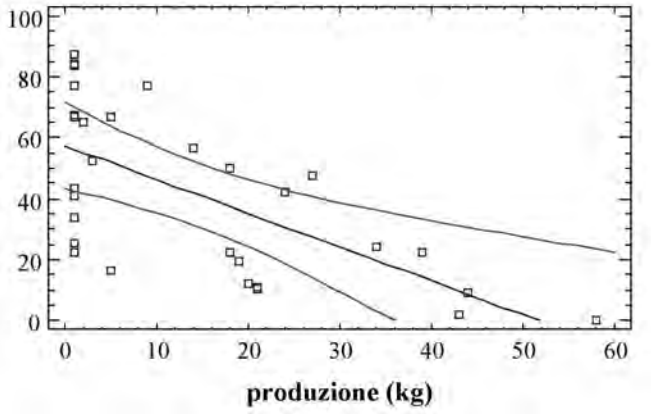


Fig. 1 - Regressione lineare tra produzione e successiva differenzazione a fiore
Fig. 1 - Linear regression between crop production and following flower bud differentiation.

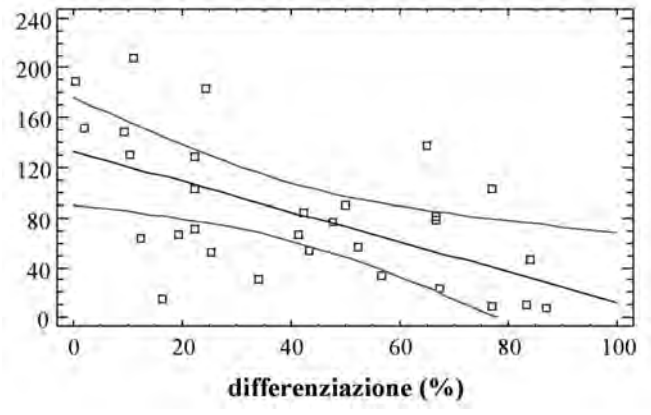


Fig.2 - Regressione lineare tra differenziazione a fiore e allegagione.
Fig. 2 - Linear regression between flower bud differentiation and fruit set.

I dati sulla cascola fisiologica estiva dei frutticini, sottoposti ad analisi statistica, hanno evidenziato, come si era ipotizzato, che il processo non è stato affatto influenzato né dalla posizione della drupa sulla chioma, né dalla carica delle piante e conseguentemente dalla differenziazione ed allegagione, ad eccezione della cv Tondina, ove si è registrata una cascola dell'11,63% sulle piante scariche, mentre la perdita di frutticini è risultata del 41,19% sulle piante già cariche; fenomeno che si ritiene possa essere dovuto alla elevata allegagione non consueta per tale cultivar.

Per quanto sopra, nella tabella 3 si riportano i dati mediati delle diverse tesi per evidenziare la enorme variabilità del fenomeno in funzione della cultivar, con risultati che variano dal 16,14% nella cv Koroneiki al 92,44% nella cv Giarraffa.

Conclusioni

I risultati ottenuti evidenziano nel complesso la grande variabilità presentata dalle diverse varietà nei confronti della differenziazione a fiore delle gemme, della allegagione e della cascola dei frutticini; in particolare:

- si ribadisce l'influenza della produzione delle piante sulla successiva differenziazione a fiore, sia pure in maniera molto variabile ed a volte nulla, differenza dovuta in parte alle diverse entità dei frutti presenti, ma soprattutto alle caratteristiche intrinseche delle cultivar che determinano una differente suscettibilità alla induzione a fiore e quindi anche una maggiore o minore predisposizione alla alternanza di produzione;

Tab. 2 - Percentuali di allegagione nelle diverse tesi (frutti/100 mignole).
Tab. 2 - Percentages of fruit set in the different thesis (fruits/100 fruit buds).

Piante scariche	Piante cariche	Cultivar	In basso	In alto
87,11 A	56,64 B	Ascolana tenera	77,16 ns	77,10
67,19 A	2,12 B	Bella di Cerignola	49,72 ns	39,00
84,07 A	47,63 B	Bosana	54,70 ns	64,37
33,90 A	12,19 B	Carolea	20,43 ns	19,09
66,63 A	9,23 B	Coratina	71,14 A	45,15 B
43,88 ns	42,34	Frangivento	41,25 ns	44,78
77,16 A	16,31 B	Giarraffa	48,42 ns	45,66
63,73 A	50,07 B	Koroneiki	51,85 B	62,40 A
64,94 A	10,96 B	Leccio del corno	31,97 B	47,00 A
25,31 ns	19,47	Ogliarola messinese	19,71 ns	24,80
22,34 ns	22,45	Ogliarola salentina	17,81 B	25,69 A
52,86 A	22,24 B	Peranzana	39,36 ns	35,87 A
77,07 A	24,22 B	Rosciola delle Marche	50,39 A	39,42 B
41,18 A	10,32 B	S. Agostino	28,25 ns	23,83
83,40 A	0,36 B	Tondina	42,70 ns	44,33

Lettere diverse indicano differenze significative al 99%

Tab. 3 - Percentuali della cascola fisiologica estiva
Tab. 3 - Percentages of physiological summer fruit drop.

Cultivar	%	Cultivar	%
Ascolana tenera	72,38	Leccio del corno	26,68
Bella di Cerignola	50,34	Ogliarola messinese	80,48
Bosana	22,92	Ogliarola salentina	20,2
Carolea	46,47	Peranzana	31,07
Coratina	46,45	Rosciola delle Marche	55,97
Frangivento	59,44	S. Agostino	56,2
Giarraffa	92,44	Tondina	26,41
Koroneiki	16,14	*Media*	*46,91*

- le differenze significative, sia pure in sole 5 varietà su 15, della differenziazione a fiore tra la parte bassa e quella medio-alta della chioma fanno pensare che in alcune cultivar vi sia una diversa suscettibilità all'ombreggiamento; differenze che possono, come accennato, dare utili indicazioni per la potatura;
- interessanti e meritevoli di ulteriori indagini si ritengono i risultati sulla allegagione, in particolare sulla significativa correlazione negativa tra differenziazione ed allegagione; dati che fanno ipotizzare l'esistenza di meccanismi di autoregolazione della produzione in funzione della potenzialità delle singole cultivar, riducendo, ad esempio, gli indici di fertilità dei fiori;
- anche la grande variabilità della cascola fisiologica estiva dei frutticini fa pensare a meccanismi di autoregolazione della produzione. Il fatto che le percentuali di tale cascola siano molto elevate in alcune varietà, inducono o a non utilizzare tali cultivar per i nuovi impianti di oliveti, o a ricercare interventi colturali tesi a ridurre il fenomeno.

Ringraziamenti

Hanno collaborato ai rilievi i tecnici e i contrattisti del Centro CRA-OLI: Alessandrino M., Ciliberti A., Godino G., Madeo A. e Miranda O.

Riassunto

Nel presente lavoro si è voluto valutare l'influenza dell'entità della produzione delle piante sulla induzione e differenziazione a fiore delle gemme, sulla percentuale di allegagione ed, eventualmente, sulla cascola estiva dei frutticini; nonché l'influenza, sugli stessi processi, della posizione delle gemme nella parte bassa o alta della chioma.

I risultati ottenuti hanno mostrato, pure in presenza di una grande variabilità delle varietà esaminate, una correlazione negativa altamente significativa tra produzione e successiva differenziazione a fiore. Anche la correlazione tra differenziazione a fiore delle gemme ed allegagione è risultata negativamente significativa. La posizione delle gemme sulla chioma ha influenzato l'entità della differenziazione a fiore solo in 5 varietà, ma non ha condizionato l'allegagione. La cascola estiva dei frutticini non è stata influenzata dai fattori esaminati.

Parole chiave: *Olea europaea* L., produzione, diffe renziazione a fiore, allegagione

Bibliografia

CIMATO A., FIORINO P., 1985. *L'alternanza di produzione dell'olivo: 2. Influenza dei frutti sulla differenziazione a fiore e sulla nutrizione minerale*. Riv. Ortoflorofrutticoltura It. 6: 413-424.

CRESCIMANNO F.G., DI MARCO L., SOTTILE I., 1976. *Effetti della defruttificazione sulla induzione antogena e sull'alternanza di produzione nell'olivo*. Tecnica Agricola 1: 3-12.

FIORINO P., LOMBARDO N., SETTINERI D., 1979. *Effetti della defogliazione parziale o totale sulla differenziazione a fiore nelle gemme di olivo*. Riv. Ortoflorofrutticoltura It. 6: 1-12.

GONZALES GARCIA F., CATALINA L., 1982. *Importancia de los factores nutricionales en la floracion y fructification del olivar*. Anales de Edafologia y Agrobiologia. 41, 959-72.

GUERRIERO R., VITAGLIANO C., 1973. *Influenza dell'ombreggiamento sulla fruttificazione dell'olivo*. L'Agricoltura Italiana. 2, 85-115.

LOMBARDO N., ALESSANDRINO M., GODINO G., MADEO A., 2006. *Comparative observations regarding the floral biology of 150 italian olive (*Olea europaea *L.) cultivars*. Adv. Hort. Sci. 4: 247-255.

LOMBARDO N., BRICCOLI-BATI C., 1983. *L'epoca di raccolta delle olive influisce sulla differenziazione a fiore delle gemme*. L'Informatore Agrario 49: 28581-28583.

LOMBARDO N., BRICCOLI-BATI C., 1990. *Harvest date and fertilizer influence on flower differentiation of olive buds.* Acta Hort. 286: 183-185.

MORETTINI A., 1951. *Influenza della defogliazione anticipata sulla fioritura e la fruttificazione dell'olivo*. Annali Sperimentazione Agraria. 3, 457-79.

PROIETTI P., TOMBESI A., 1996. *Effect of gibberellic acid, asparagine and glutamine on flower bud induction in olive.* J. Hort. Sci. 71: 383-388.

TOMBESI A., CARTECHINI A., 1986. *L'effetto dell'ombreggiamento della chioma sulla differenziazione delle gemme a fiore dell'olivo*. Riv. Ortoflorofrutticoltura It. 70: 277-285.

Osservazioni comparate sull'accrescimento e sull'inoliazione delle drupe di 14 cultivar di olivo

Briccoli Bati C., Lombardo L., Alessandrino M., Godino G. e Madeo A.
CRA-Oli, Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia, Rende (CS)

Compared observations on drupes growth and inoliation of 14 olive cultivars

Abstract. Aim of this work is to deepen the acquaintances about the swelling of fruits, the start and trend of inoliation and the variations of water and other compounds of the dry residual content, on 14 olive cultivars of different origin and growing in the same field. The obtained results showed in particular: the great variability of inoliation start, trend and end; the correlation between drupes water content and inoliation start. Moreover data, from a practical point of view, give indications for an optimal harvest calendar of the studied cultivars.

Key words: *Olea europaea* L., inoliation, fruit growth.

Introduzione

I dati riportati in letteratura sull'accrescimento, la composizione e l'inoliazione delle olive sono molteplici, ma riguardano per lo più singole o poche varietà presenti in determinati areali e normalmente si riferiscono ad osservazioni effettuate nel periodo di maturazione delle drupe (settembre-dicembre) per definire l'epoca ottimale di raccolta (Fiorino *et al*., 1978; Lombardo *et al*., 1981). I dati sull'inizio dell'inoliazione sono scarsi (D'Amore *et al*., 1978; Inglese *et al*., 1999) e si dice genericamente che il processo inizia in luglio dopo l'indurimento del nocciolo (Lavee, 1996; Tombesi, 2003).

Tenendo conto di risultati ottenuti in precedenza, si è voluto approfondire la conoscenza sull'ingrossamento delle drupe, sull'inoliazione, sul contenuto in acqua e sull'accumulo di altre sostanze (residuo secco disoleato) di 14 cultivar di olivo che avevano mostrato valori diversi dalla media e precisamente: 10 tra quelle maggiormente diffuse in Italia (Carolea, Cellina di Nardò, Coratina, Frantoio, Grossa di Cassano, Leccino, Ogliarola messinese, Ogliarola salentina, Rotondella campana e Tondina); 3 varietà italiane minori (Cariasina, Mele ed Ornellaia) ed 1 straniera (Yacouti).

Quindi obiettivo della ricerca è quello di aumentare le conoscenze di base sui processi indicati, ma anche di cercare di stabilire un calendario comparato dell'epoca ottimale di raccolta delle olive delle sopraddette varietà.

Materiale e metodi

Le osservazioni si sono svolte nel campo collezione del germoplasma olivicolo del Cra-Oli ubicato a Mirto Crosia sul litorale ionico della provincia di Cosenza. Il campo è dotato di impianto di irrigazione a goccia per cui settimanalmente, da giugno a settembre, si sono effettuate irrigazioni di soccorso.

Il primo prelievo di drupe è avvenuto il 4/7/2007, allorché l'indurimento del nocciolo era quasi completato; i successivi prelievi si sono effettuati mediamente a distanza di 2 settimane e sono proseguiti fino a dicembre. Tutti i campioni venivano subito pesati, contati i frutti per determinarne il peso medio, esaminati per calcolare l'indice di maturazione di Jaèn, infine triturati e sulla pasta è stato determinato, con lo spettrofotometro a raggi infrarossi InfraAlyzer 2000, il contenuto percentuale in olio, acqua e residuo secco mediando 3 o più letture.

Risultati e discussione

Nella tabella 1 viene riportato il peso medio, fresco e secco, delle olive.

Come si vede gli accrescimenti in peso fresco delle drupe dal 4/7 a piena maturazione sono risultati alquanto variabili, andando dal 148% per la cv Grossa di Cassano al 301% per la cv Yacouti; mentre gli incrementi in peso secco sono variati dal 149% per la cv Rotondella campana al 373% per la cv Carolea.

Il peso fresco più alto si è raggiunto a metà settembre sulla cv Mele e nella seconda metà di ottobre per tutte le altre varietà, ad eccezione della cv Cariasina ove l'accrescimento si è protratto fino ai primi di novembre. Il peso secco delle drupe delle cv Cariasina, Frantoio, Leccino, Mele, Ogliarola messinese e Yacouti ha raggiunto il peso più alto contemporaneamente ai pesi freschi, mentre nelle altre varietà continua a crescere fino alla data dell'ultimo

Tab. 1 - Peso medio fresco e secco (corsivo) delle drupe nelle varie epoche (g).
Tab. 1 - Fresh and dry (italic) average weights of fruits in different periods (g).

Cultivar	4/7	18/7	31/7	20/8	6/9	19/9	2/10	16/10	30/10	13/11	27/11	11/12
Cariasina	1,43	1,98	2,19	2,88	3,20	3,28	3,77	4,03	4,17	4,56	4,04	3,78
	0,44	*0,59*	*0,65*	*0,87*	*1,03*	*1,12*	*1,40*	*1,36*	*1,39*	*1,69*	*1,61*	*1,56*
Carolea	1,75	2,19	2,60	3,40	3,68	4,32	4,33	5,36	5,97	5,93	5,89	5,63
	0,59	*0,80*	*0,96*	*1,29*	*1,44*	*2,18*	*2,30*	*2,38*	*2,58*	*2,56*	*2,63*	*2,79*
Cellina di Nardò	0,52	0,78	0,85	0,88	1,03	1,12	1,32	1,60	1,75	1,69	1,71	=
	0,19	*0,32*	*0,34*	*0,32*	*0,42*	*0,44*	*0,53*	*0,58*	*0,63*	*0,65*	*0,68*	=
Coratina	0,89	1,15	1,61	1,61	1,80	1,98	2,14	2,57	2,56	2,62	2,59	=
	0,33	*0,41*	*0,59*	*0,59*	*0,66*	*0,89*	*1,08*	*1,03*	*1,05*	*1,20*	*1,16*	=
Frantoio	0,91	1,11	1,25	1,48	1,91	2,15	2,41	2,48	2,46	2,28	2,46	2,50
	0,30	*0,41*	*0,48*	*0,54*	*0,77*	*0,99*	*1,14*	*1,08*	*1,26*	*1,24*	*1,12*	*1,15*
Grossa di Cassano	1,53	1,74	1,94	2,06	2,84	3,32	3,35	3,80	3,63	3,68	3,78	3,64
	0,47	*0,51*	*0,69*	*0,81*	*1,00*	*1,16*	*1,40*	*1,39*	*1,21*	*1,38*	*1,45*	*1,50*
Leccino	1,01	1,36	1,54	1,90	2,42	2,72	2,95	3,73	3,74	3,62	3,14	2,95
	0,36	*0,49*	*0,59*	*0,71*	*0,98*	*1,15*	*1,31*	*1,52*	*1,45*	*1,54*	*1,35*	*1,48*
Mele	1,46	1,74	2,83	3,16	4,10	4,21	4,18	3,88	3,75	3,47	3,47	=
	0,39	*0,48*	*0,84*	*0,93*	*1,35*	*1,54*	*1,71*	*1,46*	*1,37*	*1,38*	*1,37*	=
Ogliarola messinese	1,97	1,99	2,90	3,47	5,24	5,51	5,75	6,36	5,84	5,12	5,14	5,55
	0,69	*0,67*	*1,01*	*1,26*	*2,03*	*2,29*	*2,34*	*2,53*	*2,34*	*2,17*	*2,22*	*2,19*
Ogliarola salentina	0,43	0,53	0,60	0,80	0,95	1,12	1,41	1,57	1,67	1,63	1,66	1,64
	0,17	*0,20*	*0,25*	*0,32*	*0,38*	*0,44*	*0,56*	*0,60*	*0,63*	*0,64*	*0,64*	*0,65*
Ornellaia	1,40	2,25	2,45	2,96	3,22	3,66	3,57	3,65	3,81	3,75	=	=
	0,57	*0,93*	*1,03*	*1,31*	*1,48*	*1,73*	*1,61*	*1,67*	*1,75*	*1,90*	=	=
Rotondella campana	1,12	1,24	1,39	1,51	2,01	2,10	2,47	3,03	3,19	3,12	2,93	2,81
	0,51	*0,49*	*0,59*	*0,59*	*0,74*	*0,82*	*0,95*	*1,09*	*1,09*	*1,11*	*1,25*	*1,27*
Tondina	1,07	1,47	1,60	2,02	2,20	2,49	2,74	3,03	3,31	3,35	3,34	3,31
	0,45	*0,59*	*0,60*	*0,78*	*0,86*	*0,96*	*1,04*	*1,13*	*1,10*	*1,28*	*1,31*	*1,40*
Yacouti	1,63	2,15	2,56	3,20	3,68	4,56	5,55	5,94	6,54	5,69	5,49	=
	0,65	*0,90*	*1,10*	*1,48*	*1,78*	*2,35*	*2,69*	*2,74*	*2,91*	*2,70*	*2,56*	=

rilievo, indice di prosecuzione della sintesi di nuove sostanze.

Nella tabella 2 si riportano le percentuali di olio sulla sostanza fresca e secca delle drupe delle diverse varietà. Si evidenzia che l'inoliazione è iniziata prima del 4/7 nelle cv Ornellaia e Yacouti; dal 4/7 al 18/7 nelle cv Carolea, Tondina, Cellina di Nardò, Ogliarola salentina, Frantoio, Leccino e Rotondella; dal 18/7 al 31/7 nelle cv Grossa di Cassano, Coratina ed Ogliarola messinese; dal 31/7 al 20/8 nelle cv Mele e Cariasina.

Il contenuto più elevato in olio sulla sostanza fresca si è avuto sulle cv Yacouti, Carolea ed Ornellaia; quello più basso sulle cv Cariasina, Cellina di Nardò, Mele, Ogliarola salentina e Tondina. Sulla sostanza secca le percentuali di olio più alte si sono avute sulla cv Carolea e Yacouti; quelle più basse sulle cv Cariasina, Cellina di Nardò e Tondina.

L'andamento non lineare delle percentuali di olio sul peso fresco delle olive di molte varietà, dovuto in massima parte al diverso contenuto di acqua, diventa quasi del tutto regolare per l'inoliazione riferita al peso secco dei frutti. Più precise ed esplicative informazioni sull'andamento dell'inoliazione e sui periodi di maggiore sintesi lipidica si pensa che si possano trarre dalla tabella 3, ove viene riportato il contenuto in olio delle singole olive; in merito si segnala l'incremento di ben 442 mg di olio per drupa sulla cv Nocellara messinese tra il 20/8 ed il 6/9.

Infine nella tabella 4 vengono riportate le percentuali di acqua ed altre sostanze presenti nelle olive nelle diverse epoche. Il contenuto in acqua risulta aumentato in valori assoluti nel periodo considerato, ma percentualmente è diminuito nella maggior parte delle cultivar, mentre in alcune si sono avute solo oscillazioni intorno alla media.

Nelle singole varietà il contenuto medio di acqua (media di tutte le epoche) è stato alquanto variabile, andando dal 54,15% al 65,88%; ma ciò che è più interessante (e che potrebbe essere oggetto di ulteriori approfondimenti) è che i valori più bassi del contenuto di acqua si sono avuti sulle cv Yacouti (54,15%) ed

Tab. 2 - Percentuali di olio sul peso fresco e sul peso secco (corsivo) delle drupe.
Tab. 2 - Percentages of oil on fresh and dry (italic) fruit weight.

Cultivar	4/7	18/7	31/7	20/8	6/9	19/9	2/10	16/10	30/10	13/11	27/11	11/12
Cariasina	0,00	0,00	0,00	2,95	6,82	7,60	11,06	11,04	12,86	17,37	17,53	18,49
	0,00	*0,00*	*0,00*	*9,76*	*21,14*	*22,23*	*29,80*	*32,75*	*38,43*	*46,79*	*44,07*	*44,88*
Carolea	0,00	3,15	4,49	9,12	13,92	20,75	23,00	21,65	21,60	22,64	23,70	25,71
	0,00	*8,57*	*12,17*	*24,01*	*35,47*	*41,15*	*43,30*	*48,68*	*49,92*	*52,40*	*53,12*	*54,19*
Cellina di Nardò	0,00	1,26	2,01	4,00	8,55	10,57	12,23	12,15	12,77	16,02	18,22	=
	0,00	*3,12*	*5,02*	*10,95*	*20,84*	*26,62*	*30,39*	*33,64*	*35,53*	*41,72*	*45,77*	=
Coratina	0,00	0,00	2,55	6,27	8,29	15,63	18,47	18,21	19,28	22,81	22,91	=
	0,00	*0,00*	*6,92*	*16,98*	*22,69*	*34,91*	*36,76*	*45,32*	*46,81*	*49,95*	*51,02*	=
Frantoio	0,00	0,85	2,57	6,56	13,16	18,39	20,98	19,73	23,30	25,21	22,65	22,94
	0,00	*2,28*	*6,75*	*17,92*	*32,51*	*39,90*	*44,21*	*45,28*	*45,52*	*46,33*	*49,65*	*49,77*
Grossa di Cassano	0,00	0,00	0,37	5,05	6,72	8,69	13,65	13,34	13,52	17,61	18,40	20,88
	0,00	*0,00*	*1,04*	*12,84*	*19,15*	*24,96*	*32,52*	*36,59*	*40,55*	*46,82*	*47,94*	*50,72*
Leccino	0,00	0,45	1,00	4,75	12,14	14,66	15,69	17,87	17,22	19,68	21,54	23,99
	0,00	*1,26*	*2,63*	*12,66*	*29,94*	*34,76*	*35,43*	*43,80*	*44,30*	*46,32*	*49,92*	*47,76*
Mele	0,00	0,00	0,00	4,01	12,27	13,73	16,00	17,14	16,85	19,03	19,06	=
	0,00	*0,00*	*0,00*	*13,67*	*37,19*	*37,60*	*39,23*	*45,49*	*46,19*	*48,01*	*48,38*	=
Ogliarola messinese	0,00	0,00	2,93	8,27	13,92	15,64	17,63	18,83	19,47	21,14	21,15	18,70
	0,00	*0,00*	*8,44*	*22,73*	*35,90*	*37,67*	*43,38*	*47,32*	*48,49*	*49,78*	*48,91*	*47,49*
Ogliarola salentina	0,00	0,66	5,65	8,40	12,92	13,50	15,21	15,66	15,76	17,18	17,76	19,28
	0,00	*1,76*	*13,43*	*20,91*	*32,22*	*34,16*	*38,24*	*40,99*	*41,54*	*43,60*	*46,05*	*48,77*
Ornellaia	0,28	4,82	8,59	12,30	16,16	19,08	20,86	21,50	21,96	24,13	=	=
	0,68	*11,68*	*20,40*	*27,73*	*35,21*	*40,38*	*46,23*	*47,02*	*47,69*	*47,57*	=	=
Rotondella campana	0,00	1,98	3,72	5,56	10,48	12,69	14,48	14,31	13,69	15,93	20,99	23,03
	0,00	*4,98*	*8,74*	*14,15*	*28,35*	*32,52*	*37,59*	*39,95*	*40,01*	*44,61*	*49,12*	*51,01*
Tondina	0,00	1,82	3,16	6,78	9,55	11,03	13,09	13,02	13,47	17,34	18,02	19,40
	0,00	*4,52*	*8,44*	*17,45*	*24,44*	*28,58*	*34,57*	*35,01*	*40,35*	*45,29*	*45,77*	*45,92*
Yacouti	1,56	5,07	9,05	17,17	21,13	22,71	23,50	23,83	23,21	25,13	24,51	=
	3,94	*12,08*	*21,12*	*37,16*	*43,77*	*44,11*	*48,55*	*51,71*	*52,12*	*52,91*	*52,47*	=

Ornellaia (55,06%) che hanno avuto il più precoce inizio dell'inoliazione, mentre i più alti si sono registrati sulle cv Mele (65,75%) e Cariasina (65,88%), caratterizzate dal più tardivo inizio della sintesi dell'olio.

Le oscillazioni massime del contenuto idrico si sono avute sulla cv Frantoio (21,78%) e Carolea (19,52%), mentre le minime si sono registrate sulle cv Ogliarola salentina (4,51%), Tondina (4,81%) e Cellina di Nardò (5,09%), tutte a frutto piccolo e resistenti alla siccità. Altro dato da evidenziare è che il quasi generalizzato aumento dell'acqua nelle drupe tra il 2 ed il 16 ottobre è dovuto ad una pioggia di 27 mm avutasi l'11 ottobre; in tale periodo le idratazioni maggiori si sono avute sulle cv Coratina e Carolea, quelle minori o nulle sulle cv Ornellaia, Tondina, Ogliarola messinese ed Ogliarola salentina.

Il contenuto dell'insieme delle altre sostanze costituenti il residuo secco, col procedere della maturazione è quasi sempre aumentato in valori assoluti, ma ha subìto una consistente riduzione percentuale che è stata massima nella cv Rotondella (26%) e minima nella cv Mele (10%).

L'inizio della sintesi degli antociani è risultato precoce (entro il 19/9) nelle cv Cellina di Nardò, Mele, Grossa di Cassano, Leccino, Frantoio ed Ornellaia; tardivo (dopo il 16/11) nelle cv Coratina, Cariasina, Tondina e Rotondella; intermedia nelle altre.

La cascola dei frutti è risultata precoce e consistente sulle cv Mele, Leccino ed Ornellaia e tardiva nelle cv Coratina, Ogliarola salentina, Rotondella e Tondina.

Conclusioni

I risultati ottenuti hanno evidenziato oltre alla risaputa variabilità della composizione delle olive nelle varie epoche e varietà:

- la grande variabilità dell'inizio, dell'andamento e termine dell'inoliazione;
- la correlazione tra contenuto in acqua delle drupe ed inizio dell'inoliazione;

Tab. 3 - Contenuto medio di olio (mg) delle singole olive nelle diverse epoche.
Tab. 3 - Average oil content (mg) of single fruits in different periods.

Cultivar	4/7	18/7	31/7	20/8	6/9	19/9	2/10	16/10	30/10	13/11	27/11	11/12
Cariasina	0	0	0	85	218	249	417	445	536	651	708	699
Carolea	0	69	117	310	512	896	996	1.160	1.290	1.343	1.396	1.447
Cellina di Nardò	0	10	17	35	88	118	161	194	223	271	312	=
Coratina	0	0	41	101	149	309	395	468	494	598	593	=
Frantoio	0	9	32	97	251	395	441	489	573	575	557	573
Grossa di Cassano	0	0	7	104	191	289	457	507	491	648	696	760
Leccino	0	6	15	90	294	399	463	664	644	712	676	708
Mele	0	0	0	127	503	578	669	665	632	660	661	=
Ogliarola messinese	0	0	85	287	729	862	1.014	1.198	1.137	1.082	1.087	1.038
Ogliarola salentina	0	3	34	67	123	151	214	246	263	280	295	316
Ornellaia	4	108	210	364	520	698	745	785	837	905	=	=
Rotondella campana	0	25	52	84	211	266	358	434	437	497	615	647
Tondina	0	45	50	137	210	275	359	395	446	581	602	642
Yacouti	25	109	232	549	778	1.036	1.304	1.416	1.518	1.430	1.346	=

Tab. 4 - Percentuali di acqua e altre sostanze (corsivo) nelle drupe nelle varie epoche.
Tab. 4 - Percentages of water and other substances (italic) in olive fruits in different periods.

Cultivar	4/7	18/7	31/7	20/8	6/9	19/9	2/10	16/10	30/10	13/11	27/11	11/12
Cariasina	68,91	70,21	70,51	69,78	67,74	65,81	62,88	66,29	66,54	62,88	60,22	58,80
	31,09	*29,79*	*29,49*	*27,27*	*23,44*	*26,59*	*26,06*	*23,67*	*20,60*	*19,75*	*22,25*	22,71
Carolea	66,40	63,26	63,11	62,10	60,76	49,58	46,88	55,53	56,74	56,79	55,38	52,56
	33,70	*33,59*	*32,40*	*28,87*	*25,32*	*29,67*	*30,12*	*22,82*	*21,66*	*20,57*	*20,92*	*21,73*
Cellina di Nardò	63,83	59,57	59,96	63,46	58,97	60,30	59,75	63,88	64,06	61,60	60,19	=
	36,17	*39,17*	*38,03*	*32,54*	*32,48*	*29,13*	*28,02*	*23,97*	*23,17*	*22,38*	*21,59*	=
Coratina	62,64	64,08	63,15	63,07	63,46	55,23	49,75	59,82	58,81	54,33	55,1	=
	37,36	*35,92*	*34,30*	*30,66*	*28,25*	*29,14*	*31,78*	*21,97*	*21,91*	*22,86*	*21,99*	=
Frantoio	67,37	62,71	61,95	63,39	59,52	53,91	52,54	56,43	48,81	45,59	54,38	53,91
	32,63	*36,44*	*35,48*	*30,05*	*27,32*	*27,7*	*26,48*	*23,84*	*27,89*	*29,20*	*22,97*	*23,15*
Grossa di	69,08	70,50	64,44	60,67	64,91	65,19	58,03	63,54	66,66	62,39	61,62	58,83
Cassano	*30,92*	*29,50*	*35,19*	*34,28*	*28,37*	*26,12*	*28,32*	*23,12*	*19,82*	*20,00*	*19,98*	*20,29*
Leccino	64,01	64,25	61,95	62,47	59,45	57,83	55,72	59,20	61,13	57,51	56,85	49,77
	35,99	*35,3*	*37,05*	*32,78*	*28,41*	*27,51*	*28,59*	*22,93*	*21,65*	*22,81*	*21,61*	*26,24*
Mele	73,45	72,28	70,31	70,67	67,01	63,48	59,21	62,32	63,52	60,36	60,60	=
	26,55	*27,72*	*29,69*	*25,32*	*20,72*	*22,79*	*24,79*	*20,54*	*19,63*	*20,61*	*20,34*	=
Ogliarola messi-	65,01	66,58	65,28	63,62	61,23	58,48	59,36	60,21	59,85	57,53	56,76	60,62
nese	*34,99*	*33,42*	*31,79*	*28,11*	*24,85*	*25,88*	*23,01*	*20,96*	*20,68*	*21,33*	*22,09*	*20,68*
Ogliarola salenti-	61,60	62,43	57,92	59,82	59,90	60,48	60,23	61,80	62,06	60,60	61,43	60,47
na	*38,40*	*36,91*	*36,43*	*31,78*	*27,18*	*26,02*	*24,56*	*22,54*	*22,18*	*22,22*	*20,81*	*20,25*
Ornellaia	59,12	58,75	57,89	55,64	54,10	52,75	54,88	54,27	53,95	49,28	=	=
	40,60	*36,43*	*33,52*	*32,06*	*29,74*	*28,17*	*24,26*	*24,23*	*24,09*	*26,59*	=	=
Rotondella cam-	54,23	60,23	57,45	60,70	63,04	60,98	61,48	64,18	65,78	64,29	57,27	54,85
pana	*45,77*	*37,79*	*38,83*	*33,74*	*26,48*	*26,33*	*24,04*	*21,51*	*20,53*	*19,78*	*21,74*	*22,12*
Tondina	58,33	59,77	62,56	61,14	60,92	61,41	62,13	62,81	66,62	61,71	60,64	57,65
	41,67	*38,41*	*34,28*	*32,08*	*29,53*	*27,56*	*24,78*	*24,17*	*19,91*	*20,95*	*21,34*	*22,85*
Yacouti	60,42	58,02	57,15	53,80	51,73	48,51	51,60	53,92	55,47	52,51	53,29	=
	38,02	*36,91*	*33,80*	*29,03*	*27,14*	*28,78*	*24,90*	*22,25*	*21,32*	*22,36*	*22,20*	=

- la mancanza di correlazione tra invaiatura ed inoliazione, per cui non si può generalizzare la validità dell'indice di Jaén per la scelta dell'epoca ottimale di raccolta, ma ben più importante risulta la conoscenza dell'inizio ed andamento della cascola dei frutti;
- la riduzione del peso medio sia fresco che secco delle drupe di diverse varietà nelle epoche più avanzate, indica che la cascola determina una selezione nella popolazione delle drupe presenti sulle piante.

Pertanto solo dalla conoscenza degli andamenti dell'inoliazione, della cascola e della composizione dell'olio si può stabilire un razionale calendario di raccolta; calendario che nel caso dell'indagine è risultato il seguente:

- fine settembre-prima metà di ottobre per la cv Mele;
- ottobre per le cv Carolea, Frantoio, Leccino, Ornellaia e Yacouti;
- fine ottobre-prima metà di novembre per le cv Cariasina ed Ogliarola messinese;
- novembre ed oltre (avversità climatiche permettendo) per le cv Cellina di Nardò, Coratina, Grossa di Cassano, Rotondella campana e Tondina.

Riassunto

Si sono approfondite le conoscenze sull'ingrossamento dei frutti, sull'inizio e andamento dell'inoliazione e sulla variazione del contenuto in acqua e del residuo secco, su 14 cultivar di olivo di diversa provenienza ed allevate nello stesso campo. I risultati ottenuti hanno evidenziato in particolare: la grande variabilità dell'inizio, dell'andamento e del termine dell'inoliazione; la correlazione tra contenuto in acqua delle drupe ed inizio dell'inoliazione; la diversificata e non sempre valida correlazione tra invaiatura ed inoliazione; e, come dato pratico, l'indicazione di un ottimale calendario di raccolta per le varietà studiate.

Parole chiave: *Olea europaea* L., inoliazione, accrescimento frutti.

Lavoro effettuato nell'ambito dei progetti Mi.P.A.A.F.: "Trattato internazionale FAO per le risorse genetiche vegetali per l'alimentazione e l'agricoltura" (RGV-FAO) e "Ricerca ed Innovazione per l'Olivicoltura Meridionale" (RIOM).

Bibliografia

D'AMORE R., IANNOTTA N., PERRI L., 1977. *Contributo allo studio delle principali cultivar d'olivo presenti in Calabria*. Annali dell'Istituto Sperimentale per l'Olivicoltura. Numero speciale.

FIORINO P., LOMBARDO N., SETTINERI D., CILIBERTI A., 1978. *La maturazione delle olive: evoluzione simultanea di un certo numero di fattori*. Annali dell'Istituto Sperimentale per l'Olivicoltura. Vol. III. 25-46.

INGLESE P., GULLO G., PACE L.S., 1999. *Summer drought effects on fruit growth, ripening and accumulation and composition of "Carolea" olive oil*. Acta Horticulturae. 474: 269-73

LAVEE S., 1996. *Biologia e fisiologia dell'olivo*. In Enciclopedia mondiale dell'olivo - Ed. COI: 61-110.

LOMBARDO N., CILIBERTI A., 1981. *La maturazione delle olive*. Annali dell'Istituto Sperimentale per l'Olivicoltura. Vol. V: 145-66.

TOMBESI A., 2003. *Biologia fiorale e di fruttificazione*. In Olea - Trattato di Olivicoltura - Edagricole: 35-65.

La dimensione del frutto in olivo è un carattere genetico correlato alla grandezza dell'ovario

Rosati A.*, Zipančic M., Caporali S., Paoletti A. e Padula G.
CRA-OLI, Sede distaccata di Spoleto (PG)

Fruit size in olive is a genetic trait correlated to ovary size

Abstract. Fruit size is an important parameter both for scientific understanding and for commercial purposes. In many species, mature fruit size is often related to floral ovary size, but no literature exists in olive that demonstrates such a relationship. Previous work suggests that olive cultivars with different fruit sizes have similar cell number and size in the ovary transectional area, but ovary and fruit dry weight was not measured. In the present study, ovary dry weight and fruit dry weight during the whole fruit development season until harvest were measured in olive cultivars with different fruit size, over three years. Fruit weight at harvest was strongly correlated to ovary weight at bloom, both in single-year data and when data from three years were pooled. Ovary dry weight was strongly correlated not only to the fruit dry weight at maturity, but also at any date during fruit development. These results suggest that, in olive, fruit weight is in great part genetically controlled through the ovary weight at bloom.

Key words: ovary, fruit size, fruit weight, genetic control.

Introduzione

La grandezza del frutto è un parametro di importanza sia scientifica che commerciale, come dimostrato anche dalle numerose ricerche effettuate su diverse specie, volte a studiare i meccanismi che controllano le dimensioni del frutto (Westwood e Blaney, 1963; Scorza *et al*., 1991; Grossman e DeJong, 1995; Famiani *et al*., 2000; Nesbitt e Tanksley, 2001; Jackson, 2003; Zhang *et al*., 2005 a, b). I fattori genetici, ambientali e la disponibilità dei fotosintati, che dipende dal bilancio source-sink, regolano la crescita potenziale del frutto. L'interazione tra crescita potenziale e bilancio source-sink è stata ampiamente studiata, predisponendo anche dei modelli di crescita come quello eseguito per il pesco (Grossmann e DeJong, 1994). McPherson *et al.* (2001) hanno affermato che le dimensioni del frutto sono determinate dal numero delle cellule e dalla grandezza delle stesse. In diverse specie, come nel melo (Marguery e Sangwan, 1993), nel kaki (Hasegawa e Nakajima, 1990), negli agrumi (Praloran *et al*., 1981), nel pesco (Scorza *et al*., 1991), nella vite (Coombe, 1973) e nella fragola (Cheng e Breen, 1992) è stato osservato che i frutti derivati da fiori con antesi anticipata erano più grandi rispetto a quelli derivati da fiori che schiudevano più tardi. Su di una stessa pianta di kiwi è stato osservato che i fiori precoci avevano ovari più grandi di quelli che fiorivano più tardi, dando origine a frutti più grandi che disponevano di un maggior numero di cellule nello strato esterno del pericarpo, mentre le dimensioni delle cellule erano le stesse (Lai *et al*., 1990; Lawes *et al*., 1990; Cruz-Castillo *et al*., 1991). L'elevato numero di cellule era già stato trovato nei tessuti dell'ovario di fiori precoci. Allo stesso modo, cultivar di pesco con frutti grandi disponevano di un maggior numero di cellule rispetto a varietà dal frutto piccolo e tale differenza esisteva già nei primi stadi di crescita dell'ovario (Scorza *et al*., 1991). Handley e Dill (2003) hanno trovato che le cultivar di fragola con fiori più grandi e pesanti avevano anche i frutti di dimensioni maggiori. Questi risultati suggeriscono che le dimensioni finali del frutto in alcune specie sono determinate, almeno in parte, dalle caratteristiche dei fiori, in particolare dalle cellule dei tessuti ovarici. Questa ipotesi è stata testata da Nesbitt e Tanksley (2001) in due linee quasi isogeniche di pomodori che differivano per un solo gene che regola la divisione cellulare ovarica negli stadi primordiali, in grado quindi di generare ovari di differenti dimensioni alla fioritura; gli Autori hanno osservato variazioni proporzionali nelle dimensioni dei frutti, indipendentemente dal bilancio source-sink.

Analoghe informazioni sperimentali per la pianta di olivo non sono disponibili, anche se Rapoport *et al*. (2004) hanno trovato che mentre le dimensioni del frutto erano dovute al numero di cellule, tra otto cultivar di olive con differenti dimensioni dei frutti, quattro settimane dopo la fioritura, le dimensioni e il numero delle cellule erano simili nell'ovario durante l'antesi. Ciò farebbe ipotizzare che cultivar con differenti dimensioni dei frutti partano da ovari simili che poi sviluppano a velocità diversa. Tuttavia nello studio suddetto, il numero e le dimensioni delle cellule

* adolfo.rosati@entecra.it

sono state misurate nella sezione dei frutti e degli ovari (ma non nell'endocarpo dei frutti maturi), mentre i volumi non sono stati considerati. Dato che cultivar diverse hanno differenti proporzioni tra area della sezione e volumi sia del frutto che dell'ovario, e differenti rapporti tra polpa e nocciolo, l'ipotesi che la dimensione finale del frutto in olivo sia relazionata alla dimensione dell'ovario non si può escludere. Martins (2006) ha riportato una forte correlazione (R^2 = 0,67) tra il rapporto polpa/nocciolo ed il rapporto tra tessuti mesocarpo/endocarpo dell'ovario, tra nove cultivar, ma non esistono dati di correlazioni tra le dimensioni del frutto al momento della raccolta e le dimensioni dell'ovario in fioritura. Sorprendentemente, nessuno studio ha ancora misurato direttamente il peso secco dell'ovario e del frutto. L'obiettivo del presente lavoro è stato quello di verificare se il peso del frutto alla maturità era correlato al peso dell'ovario alla fioritura tra olive di cultivar dalle differenti dimensioni dei frutti.

Materiali e metodi

Nel triennio 2006-2008 dal periodo della fioritura fino alla raccolta, sono stati prelevati campioni di ovari e frutti da diverse cultivar di olivo (*Olea europaea* L.), scelte sulla base delle differenti dimensioni dei frutti tra varietà da olio e da tavola.

Nel 2006 le cultivar erano le seguenti: Arbequina, Ascolana tenera, Canino, Frantoio, Koroneiki, Moraiolo e Nocellara del Belice. Nel 2007 alle precedenti sono state aggiunte le cultivar Carolea, Leccino e Rosciola, mentre non è stato possibile campionare l'Arbequina poiché non aveva allegagione dei frutti. Nel 2008 sono state scelte le stesse cultivar del 2007, eccetto per la Nocellara del Belice, che non aveva abbastanza frutti per il campionamento. Il materiale vegetale proveniva da piante non irrigate di circa 25 anni, facenti parte della collezione di germoplasma dell'azienda sperimentale del CRA-OLI sede distaccata di Spoleto (PG). Da almeno 3 fino ad un massimo di 5 piante, sono stati raccolti per ciascuna cultivar 10 ovari nel 2006 e 30 nel 2007 e nel 2008. I fiori che avevano un adeguato grado di apertura venivano immediatamente portati al laboratorio, per prelevarne gli ovari e metterli ad essiccare in stufa ventilata ad una temperatura di 60 °C per 48 ore. Al termine della fioritura sono stati campionati periodicamente fino alla raccolta in novembre, 10 o 30 frutti sviluppati. Come eseguito per gli ovari i frutti sono stati essiccati tenendoli in stufa fin quando non raggiungevano un peso costante. Una volta essiccati, tutti e 10 o 30 gli ovari sono stati pesati con una bilancia analitica in unica misurazione, per avere una sufficiente precisione nella scala di lettura ed allo stesso modo sono stati pesati tutti e 10 o 30 i frutti. L'analisi statistica dei dati è stata effettuata usando il software R Development Core Team (2006).

Risultati e discussioni

Peso di ovari e frutti

Alla raccolta il peso secco del frutto differiva considerevolmente tra le diverse cultivar, infatti i valori medi unitari per i tre anni di osservazione partivano da quelli delle piccole drupe di Koroneiki e Canino (intorno ai 0,40 g) fino ad arrivare ad un peso di quasi 5 volte maggiore per la Nocellara del Belice (circa 2,0 g) (fig. 1).

Anche il peso medio dell'ovario era molto variabile tra le cultivar considerate, con analoghe differenze tra ovari di varietà a frutto piccolo e quelli a frutto più grande, potendo affermare quindi che la differenza iniziale tra i pesi dell'ovario tra le cultivar rimaneva coerente fino alla raccolta (fig. 2). Il rapporto tra peso

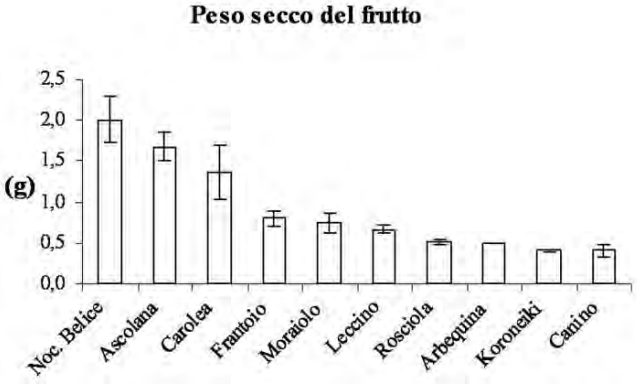


Fig. 1 - Peso secco dei frutti di diverse varietà di olivo alla maturità. I valori sono la media di 3 anni di osservazione e le barre indicano l'errore standard.

Fig. 1 - Dry weight of fruits from different olive cultivars at harvest. Values are 3-year means. Bars indicate standard error.

Fig. 2 - Peso secco degli ovari di diverse varietà di olivo raccolti alla fioritura. I valori sono la media di 3 anni di osservazione e le barre indicano l'errore standard.

Fig. 2 - Dry weight of ovaries from different olive cultivars at bloom. Values are 3-year means. Bars indicate standard error.

secco del frutto alla maturità e peso secco dell'ovario in fioritura, come media dei tre anni, era per la maggior parte delle cultivar intorno a 2000 (fig. 3). Questi risultati concordano con i dati di Rapoport *et al.* (2004) i quali hanno trovato che le dimensioni delle cellule (area della sezione) nel frutto maturo erano in media 40 volte quelle dell'ovario (quindi 250 volte in volume), mentre il numero delle cellule era in media 8,5 volte maggiore.

Correlazione tra peso secco dell'ovario e peso secco del frutto

Il peso secco del frutto alla raccolta era fortemente correlato al peso secco dell'ovario alla fioritura in tutti gli anni, dimostrando che la differenza nel peso dei frutti tra le cultivar era già presente alla fioritura come differenza nel peso degli ovari (dati non mostrati). La correlazione tra peso secco del frutto e peso secco dell'ovario era forte anche riunendo tutti i dati dei tre anni, nonostante la variazione annuale dei pesi sia del frutto che dell'ovario (fig. 4).

Rapoport *et al.* (2004) hanno asserito che in olivo il maggior peso degli ovari e dei frutti maturi era probabilmente dovuto al maggior numero di cellule, piuttosto che alle loro maggiori dimensioni, così come trovato anche in altre specie (Smith, 1950; Cheng e Breen, 1992). La forte correlazione tra peso secco dell'ovario e peso secco del frutto tra diverse cultivar con differenti dimensioni dei frutti, indica che in olivo la crescita potenziale dei frutti è largamente determinata geneticamente attraverso le dimensioni dell'ovario, come trovato anche nel pomodoro (Nesbitt e Tanksley, 2001), nel pesco (Scorza *et al.*, 1991) e nel kiwi (Lai *et al.*, 1990; Lawes *et al.*, 1990; Cruz-Castillo *et al.*, 1991). In modo particolare nel pomodoro, è stato trovato che la competizione sink era più forte tra frutti grandi in una linea quasi isogenica portatrice di un gene codificante per ovari più grandi (e quindi frutti più grandi) che non tra i piccoli frutti del tipo selvatico. Ciò ha dimostrato che il tipo selvatico aveva frutti geneticamente più piccoli e non per una maggiore competizione per le risorse. La più elevata allegagione dei frutti di piccole dimensioni è la conseguenza, non la causa delle dimensioni dell'ovario/frutto. I risultati attuali suggeriscono che anche in olivo la dimensione del frutto è controllata geneticamente attraverso la dimensione dell'ovario.

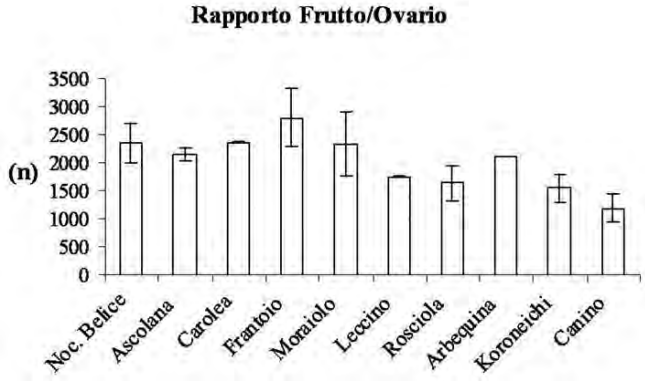


Fig. 3 - Rapporto tra peso secco del frutto alla maturità e peso secco dell'ovario alla fioritura di diverse varietà di olivo. I valori sono la media di 3 anni di osservazione e le barre indicano l'errore standard.

Fig. 3 - Ratio between fruit dry weight at harvest and ovary dry weight at bloom for different olive cultivars. Values are 3-year means. Bars indicate standard error.

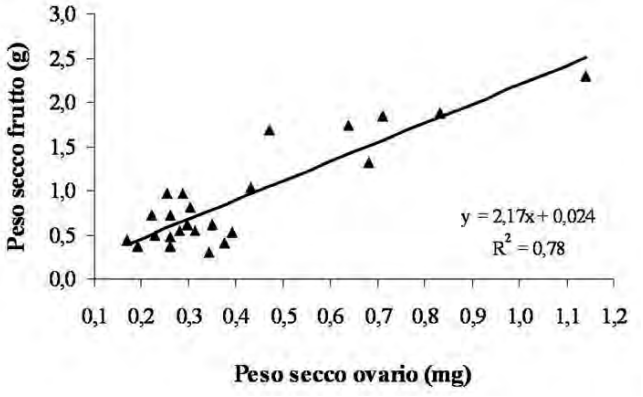


Fig. 4 - Correlazione tra peso secco del frutto alla maturità e peso secco dell'ovario alla fioritura di diverse varietà di olivo.

Fig. 4 - Correlation between fruit dry weight at harvest and ovary dry weight at bloom for different olive cultivars. Data from 3 years are pooled.

Questa ipotesi concorda con quanto riportato da Padula *et al.* (2008) i quali hanno trovato che la dimensione del frutto in olivo aveva un valore elevato di ereditabilità, sebbene questo carattere era fortemente influenzato anche dall'ambiente. Banilas *et al.* (2003) hanno osservato che un marcatore RAPD distingueva le accessioni in base alla grandezza del frutto, suggerendo una base genetica per le dimensioni dei frutti, anche se in olivo sequenze specifiche di DNA relative alle dimensioni dei frutti, devono ancora essere identificate.

La correlazione tra peso secco del frutto e peso secco dell'ovario era buona in tutte le fasi dello sviluppo del frutto, infatti il coefficiente di determinazione (R^2) di queste relazioni era quasi sempre intorno allo 0,80 per le differenti date di campionamento e nei tre anni di osservazione (dati non mostrati). Questo suggerisce che il pattern e il tasso di crescita sono simili in tutte le cultivar e che le differenze nel peso del frutto finale non sono dovute ad un diverso tasso di crescita nello sviluppo dei frutti.

Questa interpretazione è ulteriormente supportata dal fatto che il peso secco del frutto alla maturità non era correlato al rapporto tra peso secco del frutto alla

maturità e peso secco dell'ovario (dati non mostrati). Se il peso maggiore delle drupe di cultivar a frutto grande fosse derivato da un più elevato tasso di crescita nello sviluppo, il peso secco del frutto alla maturità doveva essere correlato al rapporto del peso secco del frutto con il peso secco dell'ovario.

Questo rapporto (peso secco del frutto/peso secco dell'ovario) potrebbe riflettere maggiormente le condizioni di produzione (cioè effetti ambientali sulle dimensioni del frutto) piuttosto che il potenziale genetico nella crescita dei frutti, che sembra essere controllato principalmente dal peso dell'ovario alla fioritura. In effetti, il peso dell'ovario non è l'unico fattore determinante il peso del frutto alla raccolta: bisogna tener conto anche della disponibilità di nutrienti (Grossman e Dejong, 1995) e di acqua (Lavee *et al.*, 1990; Proietti e Antognozzi, 1996; Inglese *et al.*, 1996), così come hanno un ruolo importante la temperatura ambientale e le condizioni generali della produzione. Anche il comportamento alternante dell'olivo ha un forte effetto sul peso del frutto (Hartmann, 1952; Lavee e Spiegel-Roy, 1967; Troncoso *et al.*, 1978), probabilmente attraverso la competizione per le sostanze nutritive (Suarez *et al.*, 1984; Cuevas *et al.*, 1994). Tutti questi fattori tendono a mascherare la relazione tra peso dell'ovario e peso finale del frutto. Nel presente studio, questa relazione era evidente probabilmente perché sono state incluse nell'osservazione varietà che avevano frutti sia estremamente grandi che molto piccoli. Con un ristretto range dei pesi delle drupe, le variazioni nel peso del frutto dovute alle condizioni ambientali probabilmente nasconderebbero l'effetto del peso dell'ovario.

Conclusioni

I risultati attuali dimostrano che in olivo il peso del frutto alla maturità è correlato al peso dell'ovario in fioritura. Il peso del frutto appare quindi geneticamente controllato attraverso il peso dell'ovario, anche se questo non è il solo fattore determinante, in quanto il peso finale del frutto dipende fortemente dalle condizioni ambientali e della pianta.

Riassunto

La dimensione del frutto è un parametro importante sia dal punto di vista scientifico che commerciale. In molte specie la dimensione del frutto è correlata a quella dell'ovario in fioritura. In olivo i pochi dati disponibili indicherebbero mancanza di differenze nella dimensione degli ovari tra diverse cultivar, ma mancano dati definitivi di peso degli ovari e dei frutti. In questo lavoro il peso degli ovari in fioritura è stato misurato su diverse cultivar con dimensioni del frutto molto contrastanti tra loro. E' stata trovata una forte correlazione tra peso dell'ovario in fioritura e peso finale del frutto, sia separatamente per i tre anni di studio, che unendo tutti i dati. La relazione era buona anche in date intermedie durante lo sviluppo del frutto, indicando che la velocità di sviluppo era simile tra le cultivar e la differenza in peso nel frutto maturo dipende dalla differenza in peso tra gli ovari.

Parole chiave: ovario, frutto, dimensione, peso, controllo genetico.

Bibliografia

BANILAS G., MINAS J., GREGORIOU C., DEMOLIOU C., KOURTI A., HATZOPOULOS P., 2003. *Genetic diversity among accessions of an ancient olive variety of Cyprus.* Genome 46 (3): 370-376.

CHENG G.W., BREEN P.J., 1992. *Cell count and size in relation to fruit size among strawberry cultivars*. J. Am. Soc. Hort. Sci. 117: 946-950.

COOMBE B.G., 1973. *The regulation of set and development of the grape berry*. Acta Hort. 34: 261-273.

CRUZ-CASTILLO J.G., LAWES G.S., WOOLLEY D.J., 1991. *The influence of the time of anthesis, seed factors, and the application of a growth regulator mixture on the growth of kiwifruit.* Acta Hort. 297: 475-480.

CUEVAS J., RALLO L., RAPOPORT H.F., 1994. *Crop load effects on floral quality in olive.* Sci. Hort. 59: 123-130.

FAMIANI F., PROIETTI P., PALIOTTI A., FERRANTI F., ANTOGNOZZI E., 2000. *Effect of leaf to fruit ratios on fruit growth in chestnut.* Sci. Hort. 85: 145-152.

GROSSMAN Y.L., DEJONG T.M., 1994. *Peach: a simulation model of reproductive and vegetative growth in peach trees.* Tree Physiol. 14 (4): 329-345.

GROSSMAN, Y.L., DEJONG, T.M., 1995. Maximum fruit growth potential following resource limitation during peach growth. Ann. Bot. 75, 561–567.

HANDLEY D.T., DILL J.F., 2003. *Vegetative and floral characteristics of six strawberry cultivars associated with fruit size, yield and susceptibility to tarnished plant bug injury*. Acta Hort. 626: 161-167.

HARTMANN H.T., 1952. *Spray thinning of Olives*. Calif. Agric. 6, 7.

HASEGAWA K., NAKAJIMA Y., 1990. *Effects of bloom date, seediness, GA treatment and location of fruits in the foliar canopy on the fruit quality of persimmon (*Diospyros kaki *Thunb.)*. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 59: 263-270.

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(2): 257-263.

JACKSON J.E., 2003. *Biology of Apples and Pears*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

LAI R., WOOLLEY D.J., LAWES G.S., 1990. *The effect of inter-fruit competition, type of fruiting lateral and time of anthesis on fruit growth of kiwifruit*. J. Hort. Sci. 65: 87-96.

LAVEE S., SPIEGEL-ROY P., 1967. *The effect of time of application of two growth substances of the thinning olive fruits.* J. Am. Soc. Hort. Sci. 91: 180-186.

LAVEE S., NASHEF M., WODNER M., HARSHEMESH H., 1990. *The effect of complementary irrigation added to old olive trees (*Olea europaea*) cv. Souri on fruit characteristics, yield and*

oil production. Adv. Hort. Sci. 4: 135-138.

LAWES G.S., WOOLLEY D.J., LAI R., 1990. *Seeds and other factors affecting fruit size in kiwifruit.* Acta Hort. 282: 257-264.

MARGUERY P., SANGWAN B.S., 1993. *Sources of variation between apple fruits within a season, and between seasons*. J. Hort. Sci. 68: 309-315.

MARTINS P.C.S., 2006. *Calidad de flor en variedades portuguesas del olivo Olea Europea*. Master en Olivicultura y Elaiotecnia, Ciheam Mediterranean Istitute of Agronomy and University of Cordoba.

MCPHERSON H.G., RICHARDSON A.C., SNELGARK W.P., PATTERSON K.J., CURRIE M.B., 2001. *Flower quality and fruit size in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*)*. N. Z. J. Crop Hort. Sci. 29: 93-101.

NESBITT T.C., TANKSLEY S.D., 2001. *Directly affects the size of developing tomato fruit, with secondary effects on fruit number and photosynthate distribution*. Plant Physiol. 127: 575-583.

PADULA G., GIORDANI E., BELLINI E., ROSATI A., PANDOLFI S., PAOLETTI A., PANNELLI G., RIPA V., DE ROSE F., PERRI E., BUCCOLIERO A., PENNONE C., 2008. *Field evaluation of new olive (*Olea europaea*) selections and effects of genotype and environment on productivity and fruit characteristics*. Adv. Hort. Sci. 22 (2): 87-94.

PRALORAN J.C., VULLIN G., JAQUEMOND C., DESPIERRE D., 1981. *Observations sur la croissance des clementines en Corse*. Fruits 36: 755-767.

PROIETTI P., ANTOGNOZZI E., 1996. *Effect of irrigation on fruit quality of table olives (*Olea europaea*), cultivar 'Ascolana tenera'*. N. Z. J. Crop Hort. Sci. 24: 175-181.

RAPOPORT H.F., MANRIQUE T., GUCCI R., 2004. *Cell division and expansion in the olive fruit.* Acta Hort. 636: 461-465.

SCORZA R., MAY L.G., PURNELL B., UPCHURCH B., 1991. *Differences in number and area of mesocarp cells between small-and-large-fruited peach cultivars*. J. Am. Soc. Hort. Sci. 116: 861-864.

SMITH W.H., 1950. *Cell-multiplication and cell-enlargement in the development of the flesh of the apple fruit*. Ann. Bot. 14: 23-38.

SUAREZ M.P., FERNANDEZ-ESCOBAR R., RALLO L., 1984. *Competition among fruits in olive II. Influence of inflorescence or fruit thinning and cross-pollination on fruit set components and crop efficiency*. Acta Hort. 149: 131-144.

TRONCOSO A., PRIETO J., LIÑAN J., 1978. *Aclareo quimico de frutos en el olivar Manzanillo de Sevilla*. An. Edaf. AGROB. 37: 882-893.

WESTWOOD M.N., BLANEY L.T., 1963. *Non-climatic factors affecting the shape of apple fruits.* Nature 200: 802-803.

ZHANG C., TANABE K., TAMURA F., ITAI A., WANG S., 2005A. *Partitioning of 13Cphotosynthate from spur leaves during fruit growth of three Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*) cultivars differing in maturation date*. Ann. Bot. 95 (4): 685-693.

ZHANG C., TANABE K., TAMURA F., ITAI A., WANG S., 2005B. *Spur characteristics, fruit growth and carbon partitioning in two late-maturing Japanese pear (*Pyrus pyrifolia *Nakai) cultivars with contrasting fruit size*. J. Am. Soc. Hort. Sci. 130 (2): 252-260.

Acta Italus Hortus 1: 208-211

Valutazioni biologico-riproduttive di cultivars tunisine di olivo (*Olea europaea* L.)

Sgromo C.[1*], El Behi A.W.[1], Bonofiglio T.[1], Orlandi F.[1], M' Sallem M.[2], Romano B.[1] e Fornaciari M.[1]
[1] *Dipartimento di Biologia Applicata, Università di Perugia*
[2] *Institut de l'Olivier di Tunisi*

Biological and reproductive evaluations of tunisian olive cultivars (*Olea europaea* L.)

Abstract. In Tunisia, the cultivation of olive (*Olea europaea* L.) with mono-varietal implantation is widespread, however, very few information are available about the reproductive biology of the used cultivars. Therefore, it is appropriate to have a better understanding of the typical varietal behavior. In this context the research program between the Institut de l'Olivier in Tunis and the Department of Applied Biology in the University of Perugia is introduced. The study has considered the three major Tunisian olive cultivars (olive oil cultivar: Chemlali and Chetoui, Table olive cultivar: Meski) with a clear genetic origin, of the same age and in good plant health. It were carried out morphological surveys, viability and *in vitro* germination tests. The results obtained in the two years of investigation, showed that the cultivars have different morphological behaviors both among themselves and within the two years. The results of the viability and germination tests showed different values between the cultivars with the "olive table cultivar" that showed the lowest values than the other two, the germination test confirmed the same behavior trend between the different cultivars.

Key words: *Olea europaea* L., floral morphology, pollen viability, pollen germination.

Introduzione

La Tunisia è uno dei paesi del nord Africa che sta destinando notevoli risorse economiche nella progettazione di nuovi impianti olivicoli sia per la produzione di olio extravergine di qualità che di olive da mensa, per il consumo interno nonché per l'esportazione. E' noto che l'olivo (*Olea europaea* L.) presenta notevoli fenomeni di autosterilità e/o di incompatibilità pollinica che si ripercuote in una bassa produzione di drupe. Notevoli sono stati gli studi agronomici che hanno cercato di individuarne le cause, ma il fenomeno non è stato superato, anzi studi di carattere biologico effettuati su cultivar spagnole ed italiane (Reale et *al*., 2006) hanno evidenziato come la causa dell'auto-incompatibilità ed ipofertilità sia imputabile alle delicate relazioni tra polline e pistillo delle diverse cultivar. Il fenomeno dell'autoincompatibilità si evidenzia o con la mancata germinabilità del granulo pollinico sullo stigma o l'interrotto sviluppo del tubetto pollinico (Heslop-Harrison, 1975) lungo lo stilo (I.G.) o con la mancata germinazione del granulo pollinico (I.S) vitale dovuta alla non reidratazione.

In olivo la bassa percentuale di allegagione dei fiori non è unicamente correlata a fenomeni di autoincompatibilità ma anche alla elevata presenza di fiori staminiferi.

La presenza di questi fiori "maschili" incrementa la quantità di polline presente per la impollinazione e implica un minore dispendio di nutrienti per la pianta che deve differenziare unicamente le porzioni perianziali del fiore e gli stami.

Sicuramente la differenziazione di molti fiori, fenomeno caratterizzante la specie, determina elevate esigenze nutritive per la pianta ma probabilmente consente alla pianta di controllare il numero dei frutti prodotti in base alle risorse nutritive disponibili al momento dell'antesi e che non sono prevedibili al momento della differenziazione delle gemme. Una notevole produzione di polline, inoltre, incrementa la competizione tra i gametofiti maschili in modo che solo i più vigorosi realizzino la fecondazione e quindi frutti.

Il rapporto numero frutti/numero fiori non è basso unicamente per la presenza di fiori staminiferi, infatti anche i fiori ermafroditi evidenziano fenomeni di abscissione precoce (prima dell'antesi in alcuni casi abscindono precocemente), inoltre quelli che non sono sede del processo fecondativo vengono persi dalla pianta nelle fasi immediatamente successive all'antesi.

Per una migliore destinazione delle risorse economiche nella progettazione degli impianti olivicoli è importante conoscere il comportamento riproduttivo delle cultivar che sono disponibili nel ricco panorama olivicolo. Lo studio preliminare, su cultivar caratterizzanti il germoplasma tunisino, delle performance riproduttive del polline e lo studio morfologico della biologia fiorale può aiutare ad evidenziare l'esistenza di eventuali ostacoli che impediscono un più alto livello di fruttificazione e fornire utili indicazioni al

* sgromo@agr.unipg.it

momento della scelta varietale.

A tale scopo Ricercatori dell'Università di Perugia in collaborazione con Colleghi tunisini dell'Institut de l'Olivier (IO), hanno focalizzato lo studio su tre cultivar di olivo (due da olio e una da tavola) individuate nell'ambito della Banca del germoplasma olivicolo tunisino, con l'obiettivo di caratterizzarne la biologia riproduttiva.

Materiali e metodi

Le indagini sono state svolte nel corso degli anni 2008 e 2009 presso il laboratorio di Biologia della Riproduzione della Sezione di Botanica Ambientale ed Applicata dell'Università di Perugia. Il materiale, proveniente dall'IO di Tunisi, comprendeva tre cultivar (Chetoui, Chemlali e Meski) di chiara origine genetica, coeve ed in buono stato fitosanitario.

Per ogni cultivar sono state scelte 3 piante dalle quali sono state prelevate settimanalmente, dalla preantesi alla post-antesi, 10 infiorescenze o mignole su cui, oltre a determinare il numero medio di fiori totali/mignola e la percentuale di fiori aperti/mignola, sono stati effettuati test di vitalità e di germinabilità pollinica. I granuli di polline, su cui testare la vitalità pollinica, sono stati raccolti immediatamente prima e durante la fioritura da antere chiuse e successivamente sono stati colorati con Acetato di Fluoresceina, sciolto in acetone e aggiunto ad una soluzione di saccarosio al 10%, (Heslop Harrison e Heslop Harrison, 1970), quindi osservati al microscopio ottico dotato di epifluorescenza e filtro di eccitazione BP 450-490 e filtro di sbarramento LP 515.

I test successivi di germinabilità pollinica sono stati effettuati su polline delle cultivar Chetoui, Chemlali e Meski posto a germinare al buio in substrato liquido aggiunto di saccarosio in ragione del 10% (Brewbaker e Kwack, 1963) a 25 °C. I granuli di polline sono stati successivamente "seminati" su piastra petri (60 mm) contenente 10 ml di substrato. Dopo 24h di incubazione senza agitazione, il polline è stato osservato al microscopio ottico e i granuli germinati sono stati contati attraverso la lettura randomizzata della superficie della piastra petri. Ogni lettura era riferita al campo ottico del microscopio con obiettivo 10x. Sono stati considerati germinati i granuli che presentavano un tubetto pollinico lungo almeno 1,5 volte il diametro del granulo stesso.

Risultati e discussione

I dati ottenuti nel biennio di attività evidenziano differenze significative nel comportamento delle cultivar analizzate sia per ciò che riguarda la fioritura, numero medio di fiori/mignola, (tab. 1 A e B), sia per i valori di vitalità e di germinabilità del polline. L'analisi del numero medio di fiori/mignola mostra come le cultivar presentino un andamento della fase antesica regolare sia nell'anno 2008 che nell'anno 2009 ma con un diverso numero medio di fiori/mignola/anno. La cultivar Chetoui è quella che presenta una media di fiori/mignola costante nei due anni di studio. La cultivar Chemlali mostra invece un numero medio di fiori nel 2009 minore rispetto al 2008, contrariamente a quanto viene registrato dalla cultivar da mensa Meski.

Anche le percentuali di fiori aperti rilevate in piena antesi evidenziano un andamento diverso della fioritura nei due anni (fig. 1 A e B), nonché un diverso comportamento tra le cultivar. Nell'anno 2008 rispetto all'anno 2009 è evidente un anticipo di fioritura. Infatti al 12 aprile 2008 si registrano i primi fiori aperti mentre nel 2009 si registrano il 4 maggio 2009. Nell'anno 2008 le cultivar da olio Chemlali e Chetoui fanno registrare una percentuale di fiori aperti minore rispetto all'anno 2009, mentre la cultivar da tavola Meski registra valori simili. Infine nell'anno 2008 la

Tab. 1a - Numero medio fiori/mignola (2008).
Tab. 1a – Mean number of flower/raceme (2008).

Data del prelievo	Chemlati	Chetoui	Meski
03-Mar-08	21,3	17,2	9,36
17-Mar-08	18,9	23,9	13,1
25-Mar-08	17,7	22,9	13,7
31-Mar-08	21,3	22,9	11,7
05-Apr-08	18,6	20,2	13
12-Apr-08	15,5	20,3	9
15-Apr-08	20,8	23,8	11,8
21-Apr-08	20,9	27,9	8,3
26-Apr-08	21,2	21,3	8
Media	19,6	22,3	10,9

Tab. 1b - Numero medio fiori/mignola (2009).
Tab. 1b - Mean number of flower/raceme (2009).

Data del prelievo	Chemlati	Chetoui	Meski
01-Apr-09	20,7	30,4	13,3
06-Apr-09	22,1	24	11,7
13-Apr-09	21	23,3	11,6
20-Apr-09	14,4	19,6	7,7
27-Apr-09	16,9	23,1	11,9
04-Mag-09	17,3	23	13,7
06-Mag-09	14,95	22,1	16,4
11-Mag-09	13,3	17,3	19,3
Media	17,6	22,9	13,2

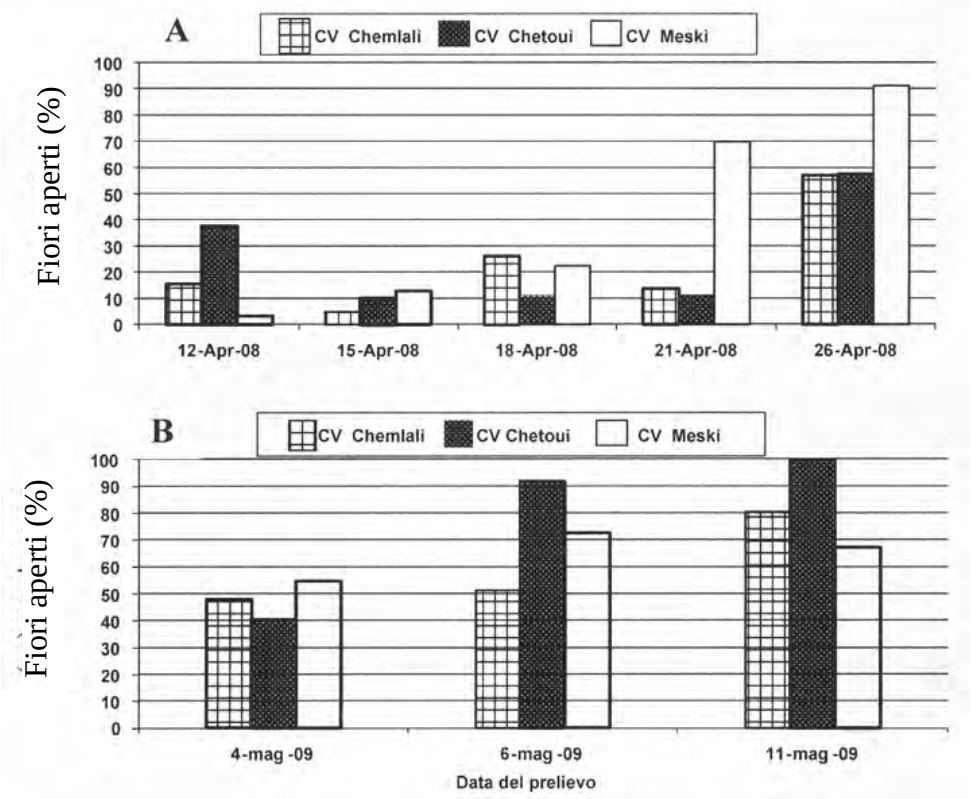


Fig. 1 - Percentuale di fiori aperti nel 2008 (A) e nel 2009 (B).
Fig. 1 - Percentages of open flowers in 2008 (A) and 2009 (B).

cultivar con la maggiore percentuale di fiori aperti è la Meski, mentre nel 2009 risulta essere la Chetoui.

In figura 2 sono invece evidenziati i risultati ottenuti dalle analisi di vitalità pollinica. In particolare è evidente come tutte e tre le cultivar analizzate presentino valori minori nell'anno 2009 rispetto all'anno 2008, Tale diminuzione è soprattutto evidente in Chemlali (da 77,57 % a 44,11 %), in Chetoui (da 80,81 % a 44,90 %) e anche la cultivar Meski presenta valori minori di vitalità pollinica ma la diminuzione è meno marcata (da 52,61 % a 34,34 %), Valori elevati di vitalità pollinica sono registrati in entrambe gli anni dalla cultivar Chetoui. Quest'ultima, nonostante la diminuzione di vitalità pollinica, ha conservato i valori più elevati sia nel 2008 che nel 2009.

Per quanto riguarda la germinabilità *in vitro* (fig. 3) la cultivar Chetoui registra i valori massimi in entrambi gli anni di saggio invece la Meski registra i valori minimi. La Chemlali presenta un comportamento intermedio e abbastanza regolare riguardo alla germinabilità del microgametofito. Tuttavia i valori di vitalità e germinabilità, se confrontati con precedenti esperienze effettuate su cultivar italiane, appaiono molto più bassi soprattutto per quanto riguarda la vitalità. Infatti, tra le cultivar studiate solo quelle da olio (Chemlali e Chetoui) si attestano con valori discreti.

Conclusioni

Questa valutazione biologico riproduttiva sulle cultivar tunisine ha messo in evidenza differenze tra le stesse soprattutto per quanto riguarda il numero

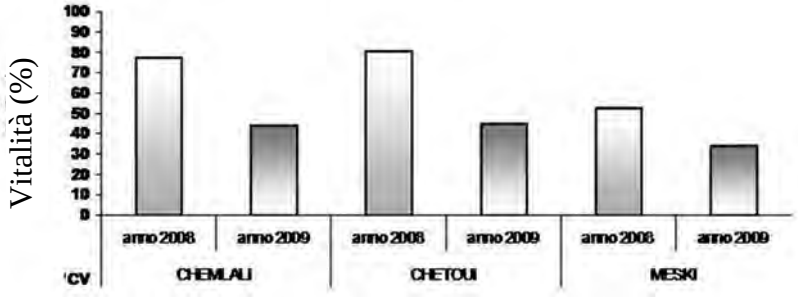


Fig. 2 - Percentuale media annuale di vitalità pollinica nelle tre cultivar.
Fig. 2 - Yearly mean percentage of pollen vitality in the three cultivars.

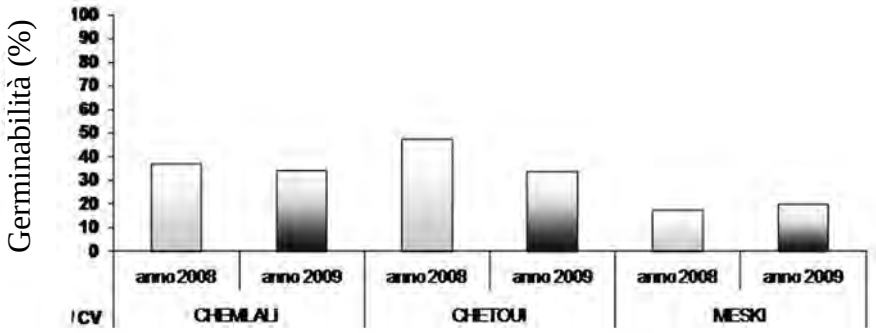


Fig. 3 - Percentuale media annuale di germinabilità pollinica nelle tre cultivar.
Fig. 3 - Yearly mean percentage of pollen germinability in the three cultivars.

medio di fiori per mignola, l'andamento della fioritura, la vitalità del polline e la sua germinabilità. Durante il biennio d'indagine la cultivar da olio Chetoui ha confermato la sua precocità e la regolarità della sua fioritura con valori massimi di vitalità e di germinabilità del microgametofito; invece la Chemlali (cultivar da olio) ha evidenziato una fioritura abbastanza costante e delle potenzialità riproduttive, soprattutto in termini di germinabilità, assai regolari.

Lo studio ha inoltre confermato sia le scarse potenzialità riproduttive della cultivar da mensa Meski sia la necessità di un buon impollinatore per migliorare la produttività della stessa. Nelle indagini future ci porremo come obiettivo il confronto di questi dati con quelli della fenologia nonché con altri saggi (impollinazioni incrociate), soprattutto per le cultivar da olio per verificarne l'eventuale compatibilità e proporre un schema più adatto per la loro coltivazione.

Riassunto

In Tunisia la coltivazione dell'olivo (*Olea europaea* L.) condotta con impianti monovarietali è molto diffusa tuttavia scarse risultano essere le conoscenze delle caratteristiche biologico - riproduttive delle stesse cultivar impiegate. Quindi, si rende opportuna una migliore conoscenza del comportamento varietale tipico in tali territori. In questo quadro si inserisce il programma di ricerca che vede collaborare l'Institut de l'Olivier di Tunisi e il Dipartimento di Biologia Applicata dell'Università degli Studi di Perugia. La ricerca ha considerato le tre cultivar tunisine di maggior interesse economico (Chemlali e Chetoui varietà da olio e Meski come varietà da mensa) di chiara origine genetica, coeve ed in buono stato fitosanitario. Su di esse sono state effettuate indagini morfologiche, test di vitalità e germinabilità in vitro.

I risultati ottenuti nel primo biennio di indagine, hanno evidenziato comportamenti diversi delle cultivars analizzate sia tra loro che nei due anni. I dati relativi alle percentuali di fiori aperti determinati in piena antesi, oltre ad evidenziare un diverso andamento della fioritura nei due anni, mostrano anche comportamenti diseguali tra le cultivars. Anche i risultati delle analisi di vitalità e germinabilità pollinica evidenziano valori diversi tra le cultivars, con la cultivar da mensa che si attesta sempre con valori minori rispetto alle altre due; la germinabilità conferma i diversi comportamenti delle cultivars, confermando però la "scarsa" efficienza riproduttiva della cultivar da tavola.

Parole chiave: *Olea europaea* L. morfologia fiorale, vitalità pollinica, germinabilità pollinica.

Bibliografia

BREWBAKER L., KWACK B.H., 1963. *The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth*. Am. J. Bot. 50 859-865.

HESLOP-HARRISON J., HESLOP-HARRISON Y., 1970. *Evaluation of pollen viability by enzimatically induced fluorescence: intracellular hydrolysis of fluorescein diacetate.* Stain Technol. 30 115-120.

HESLOP-HARRISON J., 1975. *Incompatibility and Pollen-Stigina interaction*. Ann. Rev. Plant Physiol. 26:403-425.

REALE L., SGROMO C., BONOFIGLIO T., ORLANDI F., FORNACIARI M., FERRANTI F., ROMANO B., 2006. Sexual Plant Reproduction 19 (4): 151-161.

Acta Italus Hortus 1: 213-218

La filiera oleicola italiana nei nuovi scenari competitivi

Cioffi A.*
Dipartimento Economia e Politica Agraria, Università "Federico II" di Napoli

The Italian olive oil industry in the new competitive scenario

Abstract. The paper analyses the factors behind the heavy crisis that characterizes the olive oil world market in the last three years, highlighting the position of the Italian industry in the competitive arena. The causes of the crisis are depending essentially on the disequilibrium between supply and demand in the main producing countries and on market power exerted by firms in the distributive channel. In such frame, public and private policies aiming at differentiating high quality products did not have the hoped results, asking now for a comprehensive strategy to recover the competitiveness of the Italian industry.

Key words: Olive oil, common agricultural policy, trade.

Introduzione

La filiera olivicola sta attraversando una fase di prolungata difficoltà, compressa come è dalla tendenza alla diminuzione dei prezzi dei prodotti, che si protrae ormai da molti mesi, e dall'aumento dei costi di produzione soprattutto sul versante dei mezzi tecnici. Paradossalmente, il comparto è tra i pochi che non ha beneficiato della bolla dei prezzi delle principali commodities agricole, che si è protratta fino all'inizio del 2008, subendo invece gli effetti dell'altra faccia della medaglia connessa alla bolla, ovvero l'incremento dei prezzi di molti mezzi tecnici.

Eppure, la riforma del sistema di sostegno del reddito dei produttori, con il trasferimento dell'aiuto al pagamento unico aziendale, avrebbe fatto prevedere una fase della dinamica dei prezzi alla produzione diversa da quella che si è poi registrata. Infatti, la rimozione dell'aiuto alla produzione, trasformato in pagamento disaccoppiato, avrebbe dovuto comportare, se non altro, un andamento dei prezzi non calanti o addirittura crescenti, che invece non si è avuto.

L'obiettivo della relazione è cercare di individuare le ragioni che hanno portato a questo stato di cose e tracciare alcune possibili strategie di politica agraria o di filiera che potrebbero fornire un utile contributo per l'uscita dalla crisi. Nella relazione si cercherà di mettere in evidenza che le cause che hanno determinato l'attuale crisi del settore vanno ricercate in numerosi fattori quali:

- l'aumento dell'offerta e il sentiero di sviluppo tecnologico dell'olivicoltura spagnola, che è ormai determinante nel modellare gli assetti della filiera;
- la scarsa dinamicità della domanda che, nonostante tutto, rimane concentrata in paesi nei quali l'olio d'oliva deve essere considerato un prodotto maturo e nelle modifiche che si stanno avendo nella struttura dei consumi di tale prodotto;
- i cambiamenti in atto negli assetti della filiera di produzione e di distribuzione, con lo spostamento dei centri nevralgici del processo di formazione delle scelte nel principale paese produttore e la crescita del peso della distribuzione organizzata (DO) nella vendita al dettaglio, con le conseguenze che ciò ha in termini di distribuzione del potere di mercato nella filiera;
- le modifiche delle politiche di intervento del settore dopo gli accordi Gatt e i successivi adattamenti nella PAC, non ultimo il disaccoppiamento degli aiuti ai produttori e il ridimensionamento delle misure di stabilizzazione del mercato.

Attraverso alcuni grafici e tabelle verranno delineati fatti ritenuti rilevanti per interpretare l'evoluzione del comparto. Successivamente, saranno sviluppate alcune considerazioni che permetteranno di evidenziare quelle che prima sono state identificate quali cause della crisi della filiera oleicola e di tracciarne l'evoluzione nel medio termine, per poi sviluppare nelle conclusioni alcune possibili strade che potrebbero consentire, se non altro, un'attenuazione degli effetti della crisi stessa.

Le tendenze in atto nella produzione, commercio e distribuzione

Negli ultimi venti anni, la produzione mondiale di olio è stata in crescita continua partendo da 1,5 milioni di tonnellate nel 1990 fino al massimo di 3,1 milioni nel 2003, stabilizzandosi poi intorno a un livello di 2,8 milioni di tonnellate (fig. 1). La produzione dell'UE ha seguito lo stesso andamento, crescendo però un po' meno che nel resto del mondo per effetto dell'affacciarsi sulla filiera oleicola internazionale di

*cioffi@unina.it

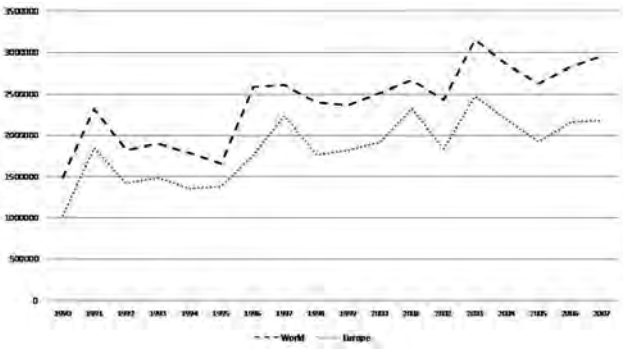


Fig. 1 - Produzione mondiale di olio d'oliva.
Fonte: Consiglio Oleicolo Internazionale
Fig. 1 - World production of olive oil (thousands of tons).

nuovi paesi produttori che, però, continuano a rappresentare una quota marginale dell'offerta mondiale. In questo periodo, la Spagna è divenuto il primo produttore mondiale, sostituendosi all'Italia (Pupo D'Andrea, 2007). La produzione spagnola è stata in crescita continua fino al 2003, quando ha raggiunto e superato il livello di 1,4 milioni di tonnellate, per stabilizzarsi successivamente intorno a 1,2 milioni. I tassi di crescita sono stati molto accentuati a partire dalla seconda metà degli anni '90, quando si sono fatti sentire gli effetti dei massicci investimenti realizzati nella filiera dopo l'ingresso del paese nell'UE. Invece, la produzione italiana, come quella greca, sembrano stabilizzate ormai da tempo intorno a valori, rispettivamente, di 600 e 350 mila tonnellate.

La crescita della produzione spagnola è avvenuta attraverso l'effetto combinato di investimenti in nuovi impianti e di profonde innovazioni nelle tecniche di coltivazione, che hanno abbreviato i tempi di entrata in produzione degli impianti stessi e consentito di ridurre i costi di produzione agricola con la meccanizzazione delle fasi di raccolta e potatura. Importanti innovazioni tecnologiche hanno riguardato anche gli stadi a valle della produzione agricola. A livello organizzativo nella filiera spagnola si è andato affermando il ruolo della cooperazione, che ha integrato anche le fasi di produzione a valle di quella agricola, con il supporto del sistema finanziario delle casse rurali.

L'aumento della produzione così come in altri comparti ha permesso ai produttori spagnoli di catturare quote importanti del sostegno comunitario che oggi sono cristallizzate nel pagamento unico aziendale. Nello stesso tempo importanti marchi storici italiani sono stati acquisiti da imprese oleicole spagnole, anche se fatti molto recenti potrebbero indicare che questo fenomeno sia in esaurimento (Pomarici, 2009).

Dal lato del consumo si sono avuti importanti cambiamenti sia nella composizione qualitativa della domanda, sia nelle modalità di approvvigionamento. La crescita dei consumi è stata relativamente vivace negli anni novanta, in cui si registra un aumento del 50% della domanda mondiale. La tendenza è poi proseguita fino al 2004/05, anno in cui si raggiunge il massimo con 2,92 milioni di tonnellate. Successivamente, la dinamica dei consumi evidenzia una certa pesantezza, flettendo fino a 2,77 milioni di tonnellate nel 2007/08 (fig. 2).

È utile osservare che la dinamica spaziale dei consumi mondiali di olio d'oliva non è uniforme, come è ovvio che sia per un prodotto che ha avuto per moltissimo tempo un mercato prevalentemente locale e solo recentemente, con l'affermarsi di modelli di consumo globalizzati, ha visto diffondere la sua introduzione nelle diete alimentari anche fuori dalle aree tradizionali si produzione. Se si disaggregano i consumi fra paesi produttori e non produttori, si osserva una crescita molto rapida in questi ultimi, anche negli anni più recenti, mentre, invece, nei paesi produttori il consumo di olio d'oliva cresce più lentamente o flette negli ultimi anni secondo un modello evolutivo tipico di un prodotto che ha raggiunto la fase di maturità nel ciclo di vita.

Per quanto riguarda i consumi nei principali paesi produttori dell'UE, che costituiscono la parte più rilevante della domanda mondiale, si osserva una crescita non trascurabile negli anni '90 (+49,1% in Spagna, 32,7% in Grecia e +25,1% in Italia) e una flessione abbastanza marcata negli anni più recenti in Spagna (-10,9% tra le medie biennali 2000/02 e 2006/08), mentre in Italia e Grecia la domanda rimane praticamente ferma (fig. 3).

La maggiore offerta di olio d'oliva della Spagna, non trovando sbocchi adeguati sul mercato interno, caratterizzato da consumi stagnanti se non addirittura flettenti, ha incrementato la pressione competitiva della filiera di questo paese sui mercati internazionali.

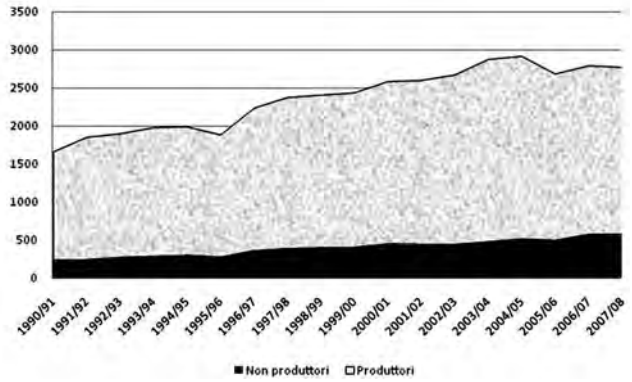


Fig. 2 - Consumi mondiali di olio d'oliva distinti per paesi produttori e non (000 t).
Fonte: Consiglio Oleicolo Internazionale
Fig. 2 - World consumption of olive oil (thousands of tons).

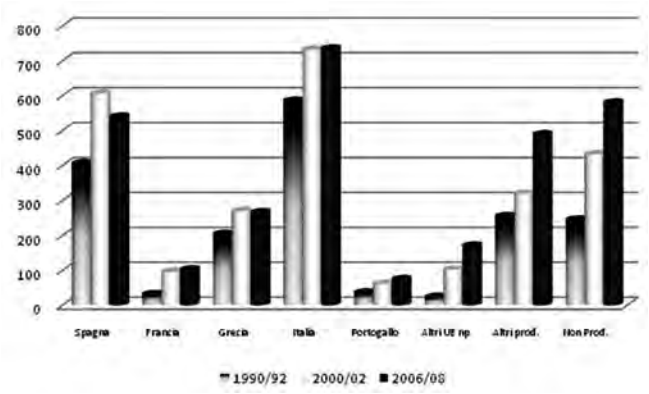


Fig. 3 - Consumi di olio d'oliva per paesi o gruppi di paesi (medie biennali 000 t.).
Fonte: Consiglio Oleicolo Internazionale
Fig. 3 - Consumption of olive oil in some countries (two year average thousands of tons).

Tale maggiore pressione competitiva si riflette nei flussi commerciali di olio d'oliva che negli ultimi anni vedono:

- l'incremento delle importazioni spagnole di lampanti dai paesi terzi;
- una diminuzione molto netta delle importazioni italiane di lampante sia dai paesi UE, che dai paesi extra UE, sia pure meno accentuata;
- incremento delle importazioni italiane di extravergini sia dall'area UE che dai paesi terzi, mentre restano stabili e limitate le importazioni spagnole;
- forte incremento delle importazioni italiane di oli raffinati, che in passato erano pressoché nulle, dai paesi UE, mentre da quelli non UE le importazioni restano stabili, con una tendenza alla diminuzione negli ultimi anni.

Per quanto concerne le vendite di prodotti oleicoli sui mercati esteri si osserva:

- diminuiscono le esportazioni di lampanti spagnoli sia verso l'UE che verso i paesi terzi;
- crescono le esportazioni spagnole di extravergini verso l'UE, che si stabilizzano negli ultimi sei anni, e verso i paesi terzi;
- crescono le esportazioni italiane verso i paesi terzi, ma meno di quanto non crescano le esportazioni spagnole, mentre quelle verso i paesi UE, dopo essere aumentate durante gli anni '90 e i primi anni di questo decennio, tendono a flettere negli anni più recenti;
- aumentano in maniera consistente le esportazioni spagnole di oli raffinati e delle loro miscele verso i paesi UE, mentre tendono a diminuire quelle italiane verso i paesi terzi.

L'andamento delle variabili illustrate sopra evidenzia che la filiera oleicola spagnola negli ultimi anni tende ad accrescere la sua presenza sia sul mercato comunitario che nei paesi terzi, sottraendo quote di mercato alla filiera italiana. Inoltre, essa va ad assumere o ad ampliare un numero crescente di funzioni, talvolta nuove, che in passato erano svolte da quella italiana. In questo modo, la filiera spagnola si afferma non soltanto nella fase di produzione agricola ma in tutta l'attività di trasformazione, che finisce per estendersi poi anche alla fase commerciale. È in questo quadro che va interpretato l'incremento delle importazioni spagnole di lampante dai paesi terzi, con la corrispondente riduzione di quelle italiane, sostituite da un maggiore flusso in entrata di oli raffinati. In pratica, anche le attività di raffinazione, che in passato erano un'importante attività svolta dalla filiera italiana, tendono a trasferirsi altrove e l'Italia diventa importatore del prodotto trasformato e non più della materia prima necessaria a realizzarlo. Ciò si riflette anche nella sostituzione che sta avvenendo fra la produzione italiana e quella di origine spagnola sui mercati internazionali.

Sebbene i consumi siano in calo o non crescano più, ci sono alcuni importanti cambiamenti e fatti che caratterizzano la struttura degli stessi e le modalità di approvvigionamento delle famiglie, almeno in Italia, che hanno un impatto rilevante sulla filera oleicola.

Tali cambiamenti sono:

- gli acquisti di olio d'oliva delle famiglie italiane vengono effettuati prevalentemente attraverso il canale della DO (distribuzione organizzata) che nel 2008 vendeva prodotto per 1.118 milioni di Euro e 360.000.000 (Unaprol, 2009); tuttavia resiste, soprattutto nelle regioni del Centro e del Mezzogiorno, la modalità di approvvigionamento diretto presso i produttori e i trasformatori, che rappresenta ancora oggi un importante canale commerciale della filiera oleicola (Aguglia, 2009);
- negli acquisti al dettaglio di olio d'oliva tende ad aumentare la quota degli extravergini mentre si riduce quella delle miscele e degli oli di sansa;
- rimane modesta la quota di mercato degli oli certificati DOP o IGP e del biologico, che sono venduti pressoché esclusivamente attraverso i canali della DO; per gli oli biologici è evidente il contrasto fra il livello delle vendite e il dato produttivo se si considera che oltre il 7% della produzione oleicola nazionale è certificato in quanto tale (London Economics, 2008);
- i consumatori attribuiscono una certa preferenza verso il prodotto che i marchi della DO garantiscono come italiano al 100%.

Le cause determinanti dei cambiamenti sopra

descritti sono molteplici. Tra queste vanno richiamati in primo luogo i profondi processi di ristrutturazione nel comparto della distribuzione commerciale al dettaglio che si stanno verificando in Italia, dove, sia pure con ritardo rispetto ai paesi dell'Europa Centro-Settentrionale, la DO sta acquisendo un ruolo crescente e sempre più decisivo nella formazione degli equilibri di mercato. Accanto a questi, vanno poi ricordati i cambiamenti negli stili di vita e di consumo di ampie fasce di popolazione, con la maggiore importanza che tende ad essere attribuita ad alimenti con una marcata connotazione di salubrità. Cambiamenti che si integrano in un quadro di riduzione continua dei tempi che le famiglie, e più in generale i consumatori, dedicano alla preparazione dei pasti a casa.

L'insieme di cambiamenti delineati sta avendo effetti molto importanti anche su una filiera relativamente semplice quale quella oleicola. Il primo e più rilevante cambiamento riguarda la distribuzione del potere contrattuale nella filiera che si sposta dalle imprese proprietarie dei tradizionali marchi del settore alle imprese che controllano le insegne della GDO (fig. 4).

La maggiore implicazione per la filiera è rappresentata dal fatto che il prodotto olio d'oliva diventa un elemento del portafoglio prodotti messi in vendita dalle insegne della distribuzione organizzata la cui composizione deve rispondere alle logiche organizzative e commerciali da queste adottate. Il risultato di queste logiche è rappresentato da:

- maggiore rilevanza delle *private labels* che si assumono il ruolo di assicurare al consumatore le caratteristiche dichiarate del prodotto, che non riguardano più soltanto la fascia del cosiddetto "primo prezzo", ma si estendono anche su DOP/IGP e biologico;
- i marchi privati sono spesso oggetto di campagne promozionali che secondo le indagini Nielsen riguardano quasi il 50% totale vendite di tali marchi;

L'esigenza della DO di limitare il numero di referenze presenti sugli scaffali ha un'altra rilevante implicazione per la filiera oleicola, in quanto impedisce l'affermarsi di spazi di vendita per prodotti con un più alto grado di differenziazione. Tutto ciò, insieme al potere di oligopsonio, contribuisce a erodere i margini operativi delle imprese oleicole, trasferendoli alla DO e solo in misura assai limitata ai consumatori.

La crescente domanda di pasti e consumazioni da effettuare fuori casa ha effetti importanti anche sulla filiera olearia, che tuttavia non sono stati identificati in tutta la loro portata. Intanto, va considerato che l'offerta di questa tipologia di pasti è estremamente differenziata. Ciò implica, a sua volta, una domanda di prodotto verso la filiera olearia anch'essa differenziata in cui, ad un estremo, può prevalere l'interesse verso beni a basso prezzo, dall'altro, possono affermarsi esigenze molto articolate rispetto alla qualità dello stesso. Se la ristorazione collettiva di massa certamente esprime una domanda attenta verso il prezzo, quella di alto livello può diventare anche un importante veicolo di comunicazione verso i consumatori delle produzioni oleicole di migliore qualità.

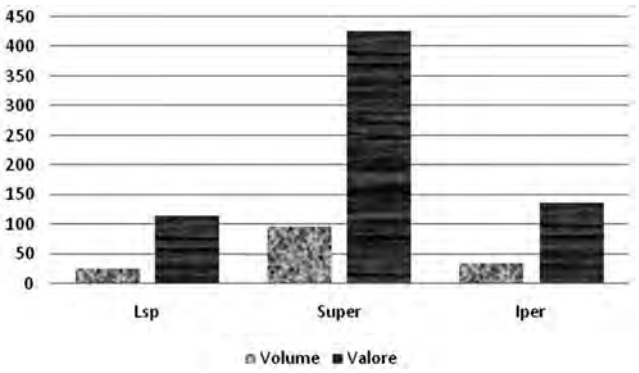


Fig. 4 - Vendite di olio nella GDO per tipologia di esercizio (000000 € , 000 t).
Fonte: Consiglio Oleicolo Internazionale
Fig. 4 - Sales of olive oil in the size of retailers (000000 € , 000 t).

Prospettive e linee di azione collettiva per la filiera oleicola

Tracciare le linee lungo le quali la filiera oleicola internazionale e italiana evolveranno nei prossimi anni è un esercizio complesso, tuttavia utile ai fini dell'individuazione delle azioni che gli operatori della filiera e i politici dovranno mettere in campo per aiutarne lo sviluppo.

In prospettiva, le principali criticità che si intravedono per la filiera riguardano il potere di mercato esercitato dalla DO, che continuerà a rimanere un fattore con cui sarà necessario confrontarsi. Anche la tendenza alla crescita del canale HoReCa potrà avere un impatto notevole sulla filiera, data l'esigenza di una parte rilevante di questo comparto di approvvigionarsi con prodotti a basso costo.

I consumi di olio d'oliva nei grandi paesi produttori, che rappresentano la componente preponderante della domanda mondiale, hanno poche possibilità di espandersi. Viceversa nei paesi non tradizionali consumatori le opportunità di crescita sono certamente maggiori, ma in questo periodo sono condizionate

dalla fase che sta attraversando il ciclo economico. Tuttavia, con la ripresa il quadro potrebbe modificarsi in senso più favorevole all'espansione dei consumi.

Il sistema di produzione e trasformazione in Italia è polverizzato, poco efficiente e scarsamente integrato. Se la vendita diretta per molti piccoli produttori rappresenta un'opportunità per continuare a stare sul mercato, nonostante la competizione crescente, non c'è dubbio che per la maggioranza delle imprese che deve confrontarsi con il mercato i margini operativi sono continuamente erosi.

In questo scenario si innesta la particolare reattività della produzione spagnola, che grazie a continue innovazioni e investimenti, risponde alle sfide lanciate dall'evoluzione del comparto. A questo proposito, è recente l'accordo del principale gruppo cooperativo spagnolo con la multinazionale Cargill, attiva nel commercio di granaglie e degli oli di semi, per realizzare un impianto di imbottigliamento completamente automatizzato in grado di lavorare oltre 100 milioni di litri all'anno, pari a circa il 10% della produzione del paese. Il prodotto che verrà lavorato sarà imbottigliato per le insegne della GDO spagnola e comunitaria in genere e distribuito attraverso la rete logistica integrata di Cargill (Lonati, 2009).

Le principali opportunità per la filiera olearia sono rappresentate dalle potenzialità di crescita della domanda nei paesi non produttori, con i limiti evidenziati sopra. In questo ambito la stessa diffusione della DO rappresenta un'opportunità, nella misura in cui essa diventa il veicolo per l'affermazione di modelli di consumo globali.

Un altro elemento rilevante è rappresentato dal fatto che il consumo nei paesi produttori tende a spostarsi verso gli extravergini. Questa tendenza, che dipende anche dai cambiamenti che si sono verificati dal lato dell'offerta per effetto delle innovazioni introdotte nelle tecniche di produzione in generale e di raccolta, in particolare, va considerato come un segnale dell' attenzione da parte dei consumatori verso la qualità del prodotto.

Per la filiera italiana l'indicazione obbligatoria di origine sembra poter rappresentare un'importante opportunità. In Italia l'olio d'oliva venduto dai marchi della DO, che garantiscono la provenienza del prodotto, incontra il favore della clientela che è disponibile a pagare un premio di prezzo per questa caratteristica. È evidente che il premio di prezzo si può tramutare in migliori condizioni di vendita alla produzione italiana.

Le iniziative che devono essere realizzate nell'ambito di una strategia nazionale volta se non altro ad alleviare la situazione di grave difficoltà dell'olivicoltura italiana, deve puntare su una serie di azioni combinate riguardanti l'offerta e la domanda. Le azioni sull'offerta devono puntare alla ristrutturazione e ammodernamento degli impianti per cercare di contenere i costi di produzione aziendale. Nello stesso tempo la filiera deve essere riorganizzata, potenziando gli strumenti associativi sull'esempio di comparti che hanno saputo ottenere buoni risultati in questo campo. A tale scopo, è quanto mai rilevante giungere a forme di aggregazione della produzione che siano in grado di confrontarsi con le dimensioni operative della DO.

Infine, a livello politico è necessario ed urgente dare attuazione al regolamento sull'etichettatura: non è possibile che non si riesca a trovare un accordo tra i diversi attori della filiera, vanificando il lavoro svolto in sede comunitaria per ottenere la disponibilità di uno strumento che, specie in considerazione di quanto detto prima, può migliorare la remunerazione ottenuta dal prodotto italiano.

Dal lato della domanda le azioni da svolgere devono puntare alla promozione dei consumi nei paesi non produttori, che rappresentano una potenzialità ancora ampiamente inespressa. Inoltre, è necessario svolgere azioni efficaci per la comunicazione degli oli DOP/IGP la cui istituzione non ha finora avuto effetti di traino per il settore. Infine, la peculiarità degli approvvigionamenti diretti che rappresentano ancora oggi un importante sbocco per la produzione italiana va salvaguardata e valorizzata con opportune azioni di sostegno.

Ringraziamenti

Un ringraziamento a Leonardo Feola per la preziosa collaborazione in fase di raccolta ed elaborazione dei dati presentati nella relazione.

Riassunto

Il lavoro analizza le cause che hanno portato alla grave situazione di crisi del settore oleicolo, mettendo in evidenza la posizione della filiera italiana nel contesto competitivo internazionale. Le ragioni della crisi sono da ricondurre essenzialmente agli squilibri fra produzione e consumo nei principali paesi produttori e al potere di mercato esercitato dalle imprese del canale distributivo. In questa situazione le azioni per la valorizzazione delle produzioni tipiche non hanno avuto il successo sperato, imponendo nuove strategie di intervento per il recupero della competitività della filiera italiana.

Parole chiave: Olio d'oliva, politica agricola comunitaria, commercio internazionale.

Bibliografia

Aguglia L., 2009. *La filiera corta: una opportunità per agricoltori e consumatori.* AgriregioniEuropa, 5(17).

Lonati F., 2009. *Cargill conquista l'olio spagnolo*. Agrisole 14(41).

London Economcis, 2008. *Evaluation of the CAP policy on protected designations of origin (PDO) and protected geographical indications (PGI).* http://ec.europa.eu/agriculture/eval/reports/pdopgi/report_en.pdf. Final report.

Pomarici E., 2009. *Quali strategie per il marketing dell'olio d'oliva?*. Atti del I Convegno dell'olivo e dell'olio, Portici, 1 e 2 ottobre.

Pupo d'Andrea MR., 2007. *Il mercato mondiale dell'olio d'oliva: attori, dinamiche, prospettive e bisogni di ricerca*. AgriregioniEuropa 3(10).

Unaprol, 2009. *Scenario economico del settore.*

Acta Italus Hortus 1: 219-223

Analisi tecnico-economica e scelte di gestione dell'olivicoltura in Toscana

Polidori R. [1], Omodei Zorini L. [1], Vieri M. [2] e Gucci R.[3]
[1] Dipartimento di Economia Agraria e delle Risorse Territoriali, Università di Firenze
[2] Dipartimento di Ingegneria Agraria e Forestale, Università di Firenze
[3] Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose "G. Scaramuzzi", Università di Pisa

Technical-economic analysis for decision making in olive-growing management in Tuscany

Abstract. After analysing market and structural features of olive-growing in Tuscany, this study reports management models, with particular reference to harvesting, and assesses their economic efficiency and sustainability. Key factors for profitable management are yield per tree and per hectare and the amount of labour needed for pruning and harvesting. A viable olive-growing industry can develop provided farms invest in new, highly-productive orchards or rejuvenate old ones, and introduce mechanization in the different cultural practices.

Key words: olive-growing, mechanization, sustainability, economic efficiency.

Introduzione

La filiera di produzione dell'olio di oliva è fortemente caratterizzata dal punto di vista geografico e rispecchia le varie condizioni naturali, sociali ed istituzionali del territorio regionale tanto che possiamo parlare di *olivicolture toscane*. Esse sono diverse dal punto di vista strutturale, tecnologico e per le funzioni svolte (produttiva, paesaggistica, ecc.), ma simili per il livello qualitativo dell'olio prodotto.

L'olivicoltura manifesta tuttavia alcune difficoltà di adattamento all'adozione di nuove tecnologie in grado di diminuire i costi unitari di produzione. La riduzione dei costi di produzione può essere realizzata sviluppando ricerche inter-disciplinari indirizzate alla definizione sia delle caratteristiche strutturali di moderni impianti di oliveto, sia di tecnologie produttive volte alla razionalizzazione meccanica delle principali operazioni colturali, quali la potatura e la raccolta, sia alla definizione dell'efficienza economica-organizzativa delle diverse soluzioni ipotizzate.

Lo studio ha l'obiettivo di proporre modelli organizzativi di gestione dell'oliveto con particolare riguardo alle operazioni di raccolta, introducendo un certo grado di meccanizzazione in aziende diverse per tipologia di impianto, territorio e capacità economica di investimento ed effettuando conseguenti analisi economiche per la compatibilità dei moduli e prototipi proposti.

Il mercato e i caratteri strutturali dell'olivicoltura Toscana

La produzione dell'olio di oliva è geograficamente localizzata, la distribuzione della coltura dell'olivo a livello mondiale risulta infatti concentrata intorno al bacino del Mediterraneo (oltre il 90% delle superfici). Consumo e produzione appaiono strettamente connessi dal punto di vista geografico: oltre il 90% delle produzioni viene consumata dagli stessi paesi produttori.

La dinamica della domanda a livello mondiale può essere approssimativamente spiegata distinguendo due tipologie principali di consumo. Da un lato quelli che si realizzano nelle aree di produzione, legati a tradizioni alimentari secolari, che costituiscono tuttora la parte più rilevante; dall'altro i consumi che negli ultimi decenni si sono sviluppati in aree non tradizionalmente produttrici ed in genere ad alto reddito procapite. Questo secondo segmento della domanda considera l'olio di oliva come un bene alimentare di lusso, con motivazioni di consumo strettamente legate all'immagine di qualità e salubrità che il prodotto ha acquistato nel tempo (Parras Rosa, 1996). Il trend della domanda a livello mondiale risulta essere nel complesso sostanzialmente stabile e crescente con un progressivo spostamento verso le produzioni di più alta qualità.

Caratteristica dell'offerta è la rigidità di breve periodo associata ad una fluttuazione piuttosto sensibile delle produzioni causata dalla reazione della coltura alle condizioni ambientali, spesso sfavorevoli, nelle quali essa si realizza. Nuove tecnologie nella coltivazione (forme di allevamento, tecniche di potatura, irrigazione localizzata) possono attenuare significativamente l'alternanza delle produzioni.

In Toscana, la produzione media di olio di oliva oscilla tra 150 e 220 mila quintali e costituisce l'offerta locale che si contrappone ad una domanda stimata che supera i 400 mila quintali. La Toscana gode fama di essere una delle regioni principali per la produzione di olio di oliva, fama legata più alla qualità del pro-

dotto che non alla sua quantità (una Igp-Olio extravergine di oliva *"Toscano"* e tre Dop). La struttura piramidale della qualità dovrebbe permettere una valorizzazione del prodotto sia sul mercato interno che su quello internazionale posizionando gli oli locali su fasce di mercato elevate (Belletti, 2001).

All'interno di questo sistema di mercato possiamo analizzare i caratteri distintivi della struttura produttiva dell'olivicoltura Toscana. Si può stimare nel 2000 una superficie in produzione di circa 102 mila ettari. Le unità produttive nelle quali si attua la produzione risultano circa 79.000 mila con una superficie media di olivo ad azienda di circa 1,29 ettari ed una produzione di olio a pianta di circa 1,1 chilo. La maggioranza della superficie olivata appartiene ad aziende diretto coltivatrici (circa il 60%), ma le tipologie di aziende produttrici di olive sono numerose e molto diverse tra loro. Nel periodo 1995-2001 sono state messe a dimora circa 2 milioni di piante con densità di impianto di circa 400 piante ad ettaro. Gli aspetti congiunturali riguardano le quotazioni dell'olio a livello nazionale degli ultimi anni. La quotazione alla produzione degli oli extravergini sul mercato nazionale evidenziano un significativo e crescente differenziale di prezzo tra l'olio extravergine nazionale di provenienza non specificata e gli oli extravergini di oliva Dop-Igp (Ismea, 2009).

Metodologia

L'indagine, dopo aver individuato le tipologie territoriali ed aziendali rappresentative delle diverse olivicolture toscane ne ha determinato la sostenibilità e l'efficienza economica.

Le tipologie olivicole sono state definiti utilizzando parametri territoriali, aziendali e di impianto degli oliveti. La sostenibilità economica è stata quindi determinata dall'analisi dei redditi degli *oliveti campione* rilevati nelle *tipologie aziendali olivicole* scelte. La raccolta dei dati è stata eseguita compilando "schede delle tecniche colturali" al fine di evidenziare:

- le caratteristiche tecniche delle aziende e dell'oliveto;
- l'impiego dei fattori produttivi;
- i risultati economici riferiti ad ettaro e a quintale di prodotto.

La metodologia seguita per pervenire agli ordinamenti di efficienza economica è stata articolata nelle seguenti fasi, definizione:

- della tipologia d'impianto;
- della tecnica agronomica e/o colturale applicata all'impianto;
- delle tecniche produttive;
- della funzione della scelta tecnologica con il parametro del minimo costo per unità di superficie o per unità di prodotto (Polidori e Romagnoli, 1987).

Le prime due fasi sono in realtà connesse tra di loro. In particolare la *tipologia d'impianto* definisce il numero delle piante ad ettaro, le forme di allevamento, il tipo di potatura, mentre la *tecnica agronomica* definisce: (*a*) l'elenco della sequenza di operazioni da svolgere, (*b*) la specificazione dei momenti (periodi utili) in cui le operazioni devono essere effettuate, e (*c*) l'individuazione di una serie di coefficienti di produzione *input/input* che si riferiscono ai fattori flusso, necessari per l'ottenimento della massima resa ad ettaro. Le modalità con cui vengono condotti gli esperimenti dagli agronomi consentono di definire la *tecnica agronomica* come "*output*-efficiente" (Polidori e Romagnoli, 1987). A partire dalla tecnica agronomica possono essere individuate una o più *tecniche produttive* con le quali vengono specificati i diversi *cantieri di lavoro* in grado di effettuare le operazioni previste dalla tecnica agronomica; è a questo livello che sono individuati i coefficienti tecnici di produzione relativi all'impiego delle macchine e del lavoro umano attraverso l'apporto dell'esperto di meccanica agraria (Polidori e Romagnoli, 1987). La scelta fra le varie tecniche produttive non può, però, essere effettuata sulla base di parametri meramente tecnici. Data la loro non comparabilità è necessario adottare una unità di misura comune che consenta di confrontare in maniera univoca i diversi vettori di coefficienti di produzione che descrivono le varie tecniche produttive. E' pertanto necessario fare ricorso ad un criterio di efficienza unificante per poter pervenire ad un ordinamento di efficienza sulla cui base effettuare la scelta di una data tecnica produttiva fra quelle possibili. E' a questo riguardo che si parla di "*funzione della scelta tecnologica*", sulla quale andrebbe operata una "*scelta razionale*" fra le diverse opzioni possibili. Questo passaggio sposta il problema da quello dell'efficienza tecnica a quello dell'efficienza economica che è anche l'unico veramente importante in un contesto di scelte imprenditoriali (Pasinetti, 1981).

Risultati

Le tipologie olivicole

Dall'incrocio dei parametri territoriali, aziendali e di impianto è emersa l'attuale configurazione della olivicoltura toscana che può essere sintetizzata in tre situazioni colturali principali: a) *olivicoltura marginale* dal punto di vista produttivo, ancora diffusa in vaste aree delle zone collinari più difficili. Il lento accrescimento delle piante, la loro longevità, le caratteristiche del suolo e delle sistemazioni agrarie che

limitano il sistema produttivo, ha fatto sì che gran parte di questi oliveti sia di scarsa produttività e privo di meccanizzazione. Questa olivicoltura non è stata oggetto di indagine; b) *olivicoltura tradizionale*; riguarda oliveti con bassa densità di impianto, seppure specializzati, sesti talvolta irregolari e senza irrigazione. Rispetto all'olivicoltura marginale la fertilità del terreno, la giacitura ed il tipo di impianti presentano condizioni migliori per la coltura anche se la collocazione, prevalentemente di collina, il tipo di impianto e le forme di allevamento stesse comportano alti costi di produzione per l'elevato impiego di mano d'opera necessario per la potatura e la raccolta. Questo tipo di impianti costituisce oggi il corpo più consistente del patrimonio olivicolo produttivo; c) *olivicoltura moderna*; comprende nuovi oliveti intensivi che, seppure limitati come superficie complessiva, consentono elevate produzioni unitarie e costi di produzione contenuti non solo in pianura, ma anche nella collina meno declive e più fertile.

La sostenibilità economica dell'olivicoltura Toscana

Negli impianti tradizionali, caratterizzati da una bassa produzione, il costo economico è sempre superiore al valore del ricavo. La perdita risulta più contenuta con la raccolta manuale (se viene effettuata con manodopera a cottimo) ed aumenta con l'incremento dei livelli di meccanizzazione. Mantenendo costante la produzione unitaria di olio, per azzerare la perdita economica, il prezzo a chilogrammo di olio dovrebbe oscillare dai 10,0 a 12,0 euro. Negli impianti tradizionali caratterizzati da una elevata produzione il costo economico ed il ricavo tendono ad uguagliarsi e le differenze nel profitto, positivo e/o negativo, nei diversi sistemi di raccolta risultano contenute. In questa tipologia produttiva, considerando costante il prezzo di mercato dell'olio extravergine Dop e Igp (€ 7,60 al Kg), la coltivazione risulta economicamente sostenibile fino al momento in cui la produttività degli impianti si mantiene tra 4 - 5 quintali di olio ad ettaro.

Nei nuovi impianti specializzati l'attivo è sempre superiore al costo economico, i profitti per quintale di olio si manifestano in tutte le modalità di meccanizzazione della raccolta analizzate. Considerando costante il prezzo di mercato dell'olio, la coltivazione risulta economicamente remunerativa fino a quando la produttività si mantiene tra 5,5 e 6,7 quintali di olio ad ettaro. Mantenendo invece costante la produzione unitaria di olio, l'azzeramento del profitto avviene quando il prezzo a chilogrammo di olio oscilla tra 5,0 / 6,5 euro. L'incidenza dei costi di raccolta sul passivo negli oliveti tradizionali è molto differenziata ed elevata e si aggira intorno al 30 - 48 %; risulta più bassa dove viene usata la raccolta meccanizzata (30%) mentre è più elevata dove viene usata la raccolta manuale (48%). Negli oliveti intensivi l'incidenza del costo della raccolta sul passivo è più bassa e si mantiene dal 25% al 30% in tutte le tipologie analizzate.

Da queste analisi possiamo dedurre che la redditività degli oliveti è molto legata ai loro livelli di produttività e che gli elementi discriminanti appaiono essere la produttività a pianta e ad ettaro, la quantità di lavoro impiegato, l'efficienza dei cantieri di lavoro specialmente per la potatura e la raccolta delle olive. In questo contesto i nuovi impianti risultano più competitivi degli impianti tradizionali, gli impianti moderni sono infatti in grado di rimanere sul mercato sopportando maggiori oscillazioni sia di prezzo che di produzione.

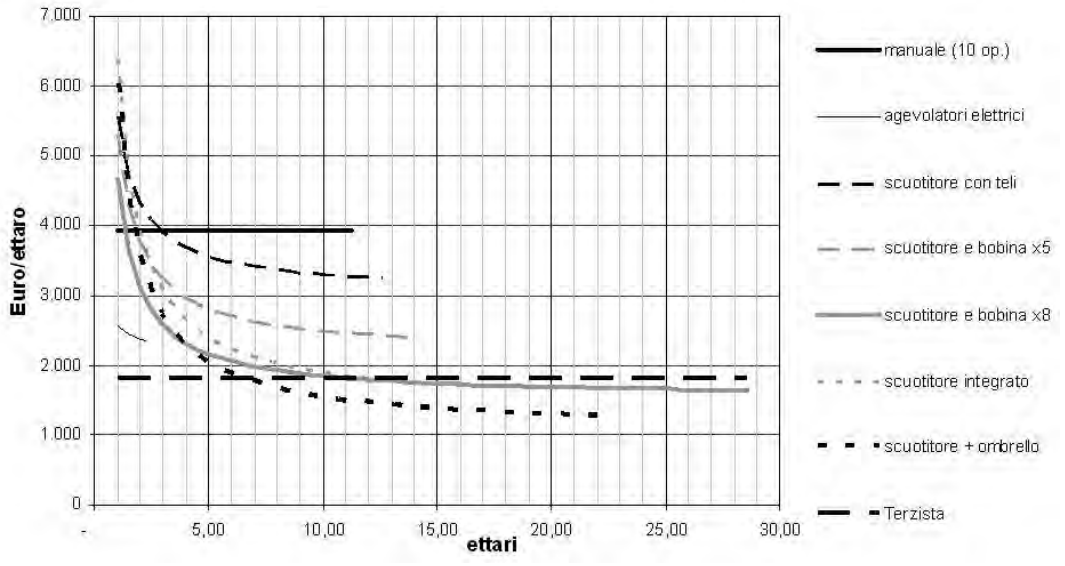


Fig. 1 - Costo di raccolta ad ettaro per la raccolta con differenti tipologie di cantiere.
Fig. 1 - Harvesting cost using alternative yard typologies.

Tab. 1 - Tecniche di raccolta a confronto in oliveti intensivi in Toscana.
Tab. 1 - A comparison among alternative harvesting techniques for intensive olive crops in Tuscany.

Tipologia di raccolta	Investimento (000 Euro)	Piante/ Giorno	Uomini	Q.li giorno / cantiere
Manuale	/	8 (10)	1	1
Agevolata	1	16 (20)	1	2
Scuotitore e teli	18	160	7	16
Scuotitore e bobina	25	180	5	18
		360	8	36
Modulo scuotitore integrato	40	200	2	20
Scuotitore + Ombrello rovescio	40	240	2	24

Ordinamento di efficienza economica nella raccolta meccanizzata

I risultati delle analisi precedenti suggeriscono che l'intervento di maggiore efficacia, perché in grado di incidere fortemente sulla riduzione del costo di produzione e sulle caratteristiche di qualità del prodotto, riguarda senza dubbio il rinnovo degli impianti di oliveto e la razionalizzazione delle operazioni colturali con particolare riferimento alla raccolta e alla potatura sia negli impianti tradizionali con produzioni più elevate che nei nuovi impianti.

Con riferimento alla nuova olivicoltura il punto di partenza è costituito dalla progettazione di "*nuovi impianti intensivi*" con forme di allevamento predisposte per un più elevato impiego della meccanizzazione. L'analisi riporta i risultati di un impianto localizzato in bassa collina-pianura con 400 piante ad ettaro, un volume di chioma di 35-50 m^3/pianta, età inferiore a 25 anni, forma di allevamento a fusto unico e quindi le olive possono essere raccolte con macchine scuotitrici del tronco; le condizioni del suolo non sono limitanti per sistemazioni o altro, la pendenza è inferiore al 10%, la gestione (concimazione, difesa, irrigazione) è adeguata come la professionalità dell'imprenditore; la produzione media 6 quintali di olio ad ettaro equivalente a 40 quintali ad ettaro di olive con una produzione a pianta di 10 chili. Per favorire la qualità dell'olio prodotto il tempo utile calcolato per eseguire questa operazione è stato di 45 giorni.

Le tecniche produttive utilizzabili per la raccolta sono diverse, tutte tecnicamente efficienti e specificate dai "cantieri di lavoro" (tab. 1). La determinazione dei costi unitari dei diversi cantieri di lavoro per la raccolta delle olive consente di definire la *funzione delle scelte tecnologiche* sulla quale gli imprenditori possono esercitare le decisioni in funzione delle dimensioni degli oliveti e dei caratteri strutturali delle aziende.

Il costo totale dell'unità (CTU) di lavoro specifico delle macchine in agricoltura (o costo del cantiere di lavoro) viene definito nel modo seguente: (CTU/h)/re. dove: CT = CF + CV; con: CT = costi totali annui; CF = costi fissi annui; CV = costi variabili annui; h = ore d'impiego annuo della macchina; re = rendimento operativo del cantiere (numero delle unità di lavoro specifico svolte dal cantiere) espresso in piante raccolte/giorno e/o quintali di olive raccolte giorno.

Nella figura 1 sono riportati i costi unitari ad ettaro e delle differenti soluzioni considerate, dalla loro analisi emergono le seguenti considerazioni: 1) i costi di raccolta per tipologia di cantiere riferiti ad ettaro hanno un andamento decrescente in funzione della superficie di oliveto; 2) il cantiere più efficiente risulta costituito dallo scuotitore più ombrello (decresce molto rapidamente e si mantiene a livelli più bassi di costo per tutte le dimensioni dell'oliveto); 3) il cantiere con scuotitore, bobina ed otto uomini ha il vantaggio di raccogliere una maggior superficie nello stesso tempo utile; 4) con dimensioni d'impianto comprese tra 4 e 8 ettari è possibile scegliere tra più cantieri alternativi; 5) ipotizzando un costo medio di 45,00 euro a quintale di olive vi è convenienza ad eseguire la raccolta con imprese di noleggio fino ad una superficie inferiore o uguale a sette ettari di oliveto.

Conclusioni

Le precedenti analisi indicano che i redditi derivanti dall'olivicoltura sono spesso negativi ma è possibile ottenere anche risultati positivi. Come già detto gli elementi discriminanti appaiono essere la produttività a pianta e ad ettaro e la quantità di lavoro impiegato specialmente per la potatura e la raccolta delle olive. Fermo restando i vincoli strutturali e le vicende congiunturali che possono alterare i risultati economici, si può affermare che l'olivicoltura può diventare vitale laddove le aziende investono e rinnovano gli impianti utilizzando soluzioni agronomiche adeguate ai diversi ambienti e strutture produttive aziendali. In questi contesti, e subordinatamente alla ristrutturazione e/o rinnovo degli impianti, è auspicabile che si pro-

ceda anche ad un adeguamento delle attrezzature meccaniche per la esecuzione delle operazioni più costose o emergenti (potatura, raccolta, trattamenti antiparassitari) al fine di diminuire i costi unitari delle operazioni stesse e aumentare le rese produttive. Dato le piccole dimensioni delle aziende olivicole e degli oliveti in esse coltivati, possono essere trovate soluzioni economicamente valide nell'utilizzazione dei nuovi mezzi meccanici sia attraverso l'acquisto delle macchine da parte delle singole aziende sia attraverso la utilizzazione di strutture associative o private che eseguono in conto-terzi le operazioni più onerose.

Riassunto

Lo studio, analizzate le caratteristiche di mercato e strutturali dell'olivicoltura Toscana, propone modelli organizzativi di gestione dell'oliveto con particolare riguardo alle operazioni di raccolta e ne valuta la sostenibilità e l'efficienza economica. Elementi discriminanti per la redditività dell'oliveto sono la produttività ad albero e per unità di superficie, la quantità di lavoro impiegato per la potatura e la raccolta delle olive. L'olivicoltura può diventare vitale laddove le aziende investono e rinnovano gli impianti e adeguano le attrezzature meccaniche al fine di diminuire i costi unitari delle principali operazioni stesse per aumentare le rese produttive.

Parole chiave: olivicoltura, meccanizzazione, sostenibilità, efficienza economica.

Lavoro svolto nell'ambito del progetto di ricerca *MATEO "Modelli tecnici ed economici per la riduzione dei costi di produzione nelle realtà olivicole della Toscana*" Bando di ricerca A.R.S.I.A. (2004) per lo sviluppo del settore olivo-oleicolo toscano, sottoprogetto 1

Bibliografia

BELLETTI G., 2001. *Le prospettive offerte da Dop e Igp per la valorizzazione degli oli extra-vergini d'oliva*, in *Olivo e olio: suolo polline, DOP*, ARSIA Regione Toscana, Firenze.

POLIDORI R., ROMAGNOLI A., 1987. Tecniche e processo produttivo: analisi a "fondi e flussi" della produzione del settore agricolo. *Rivista di economia agraria* a.XLII (3): 335-72.

PASINETTI L., 1981. *Lezioni di teoria della produzione*. 2° edizione. Il Mulino. Bologna.

PARRAS ROSA M., 1996. *World demand for olive oil*, "Olivae", n. 63: 24-33.

Meccanizzazione e costi della raccolta meccanica dell'oliveto superintensivo

Bellomo F.[1], D'Antonio P.[2] e Camposeo S.[3]
[1] *Dipartimento per la Progettazione e Gestione dei Sistemi Agricoli, Zootecnici e Forestali, Università di Bari*
[2] *Dipartimento Tecnico Economico per la Gestione del Territorio Agricolo e Forestale, Università della Basilicata*
[3] *Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali, Università di Bari*

Mechanization and mechanical harvesting costs of the super intensive oliveculture

Abstract. Super intensive olive harvest is a recent method in Mediterranean countries which is now taking the place of the traditional olive groves. In these last years the olive sector is going throught a difficult period because of the pressing competition by the productions of other emergent countries of the Mediterranean and the entry of poor quality olives in European market. So, the olive super intensive method may represents an interesting and innovative solution for the Italian olive growing, thanks to the employment of self moving machines which where born as grape harvesting machines and now are suitable to the harvest in an olive grove super intensive with a small changes. An example of these machines is Pellenc "Activ 4560" grape harvesting machine. A several tests, infact, demonstrated getting efficiency of very tall harvest, also 98%; besides such positive performances the machine.

Key words: super intensive, grape harvester, comparison, costs.

Introduzione

Il sistema di allevamento superintensivo sviluppatosi recentemente ha determinato un aumento della produzione specifica degli oliveti ed una diminuzione dei costi delle operazioni colturali. In particolare si è puntato a contenere i costi della raccolta, in quanto nel superintensivo è stato possibile impiegare la macchina per la raccolta dell'uva nei vigneti a controspalliera, largamente utilizzata anche in Italia. Il modello superintensivo, infatti, è caratterizzato da un disposizione a filari con intensificazione delle piante presenti sul filare. L'impianto è attualmente ancora in fase di sperimentazione sia in Italia (Arrivo *et al.,* 2001; Godini e Bellomo, 2004) che all'estero (Matheu, 2002) per valutare la sua convenienza economica, dopo averne accertato la validità nel tempo dal punto di vista agronomico. La presente ricerca ha avuto lo scopo di valutare ad oggi le caratteristiche tecniche ed economiche legate all'impiego di una vendemmiatrice (Arrivo *et al.,* 2006) per la raccolta di un oliveto superintensivo, combinando così due aspetti, uno legato alla possibilità di impiegare una macchina su più cicli colturali e l'altro legato all'introduzione di nuovi sistemi di allevamento. La ricerca rappresenta un filone dell'attività sperimentale condotta nell'ambito del progetto di ricerca "Raccolta meccanica per l'abbattimento dei costi di produzione per l'uva da tavola e l'olivo da olio" - Sottoprogetto "Olivicoltura superintensiva", finanziato dalla Provincia di Bari (Godini e Bellomo, 2004).

Materiale e metodi

Caratteristiche dell'oliveto

Le prove sono state svolte in un oliveto superintensivo sperimentale allestito presso il Centro didattico-sperimentale «P. Martucci» della Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Bari in agro di Valenzano (BA) nella primavera del 2006 (fig. 1). Sono state poste a confronto le cultivar spagnole Arbequina ed Arbosana e la greca Koroneiki con 12 cultivar italiane (Carolea, Coratina, Cima di Bitonto, Don Carlo®, Frantoio, Fs-17®, I/77®, Leccino,

Fig. 1 - Impianto sperimentale.
Fig. 1 - Experimental plantation.

Maurino, Nociara, Peranzana e Urano®) al fine di valutare la risposta vegeto-produttiva di ciascuna di esse al nuovo modello di allevamento, sia in termini di produttività che in termini di predisposizione all'utilizzo della macchina vendemmiatrice. E' stato adottato un sesto d'impianto di 4,0 m x 1,5 m (1.667 piante/ha) e la forma di allevamento ad asse centrale. L'oliveto è stato dotato di un sistema di irrigazione con distribuzione a goccia.

Caratteristiche tecniche della vendemmiatrice

La vendemmiatrice Pellenc "Activ 4560" (fig. 2) è una macchina caratterizzata da un sistema di raccolta a scuotimento automatico proporzionale all'avanzamento (SMART-Système) e da un sistema di trasporto a nastro (Arrivo *et al.*, 2006). Gli scuotitori della testata di raccolta sono costituiti da aste opportunamente sagomate, vincolate alle due estremità e realizzate in un materiale plastico dotato di grande flessibilità. Le aste sono dotate di movimento oscillatorio durante il quale le stesse si deformano mantenendo sempre la stessa distanza fra di loro. La pulizia del prodotto avviene ad opera dei due aspiratori situati sui due lati alla base del tunnel di raccolta e due aspiratori supplementari nella sezione superiore. Tutti gli aspiratori sono dotati di frantumatori. Le modifiche sostanziali effettuate sulla vendemmiatrice, originariamente predisposta per la raccolta dell'uva da vino, sono consistite solamente nell'aumento degli scuotitori dato che era la prima raccolta dell'impianto sperimentale con alberi che non superavano i due metri di altezza.

Prove di campo

Le prove di raccolta sono state effettuate nel novembre 2008, al terzo anno d'impianto, per valutare le prestazioni della vendemmiatrice in termini di capacità di lavoro ed efficienza di raccolta. È stata valutata, inoltre, la predisposizione delle diverse cultivar al distacco. Queste prestazioni sono state messe poi a confronto con quelle degli scuotitori ad asta portati a mano, gli unici attrezzi che possono essere utilizzati in tale tipo di impianto. Il confronto ha riguardato anche i costi di raccolta per stabilire quali possano essere i limiti di convenienza dell'uso della vendemmiatrice nel superintensivo rispetto alla raccolta manuale e a quella con le aste scuotitrici. Il confronto è stato poi esteso ad una macchina scuotitrice operante in un oliveto tradizionale per avere una valutazione più completa delle prestazioni e dei costi di raccolta. In questo caso si deve comunque sottolineare che per uno studio di convenienza economica completo bisognerebbe prendere in esame tutti i parametri che influenzano i costi di produzione in entrambi gli impianti.

Fig. 2 - Vendemmiatrice.
Fig. 2 - Grape-harvester.

Risultati e discussione

Le prove di raccolta hanno mostrato che non esiste differenza significativa fra le diverse cultivar ai fini del distacco del prodotto dalla pianta. L'efficienza di raccolta è stata mediamente del 98% (Camposeo *et al.*, 2009). I dati riportati in tabella 1 rappresentano i valori medi ottenuti dalle prove effettuate su ogni cultivar. La macchina ha potuto operare con facilità su tutte le cultivar. Qualche problema si potrebbe verificare in seguito con le cultivar Coratina, Frantoio e Leccino, che presentano un notevole sviluppo delle branche trasversali (Camposeo e Giorgio, 2006). I migliori risultati sono stati ottenuti con la cultivar Urano, che aveva al momento delle prove una produzione pendente di circa 9.100 kg/ha. La capacità di raccolta è stata in questo caso di 4.550 kg/h: ma è chiaro che essa può crescere notevolmente per impianti con più alta produzione specifica (Mateu, 2002). La manodopera impiegata per tutta l'operazione di raccolta fino allo scarico alla capezzagna è stata pari a solo due unità operative. La macchina ha una

Tab. 1 - Dati delle prove di raccolta delle olive con vendemmiatrice.
Tab. 1 - Operational data of olive harvesting with grape harvester.

Velocità di avanzamento (km/h)	1,7
Capacità di lavoro operativa (ha/h)	0,50
Numero operai (n)	2
Efficienza di raccolta (%)	98
Perdite sulla pianta (%)	2
Superficie dominabile (ha)	175

superficie dominabile molto elevata, ma per valutare meglio le sue prestazioni è stato opportuno determinare anche la superficie di minima convenienza (Camposeo e Giorgio, 2006). Allo scopo è stato necessario acquisire i dati relativi al costo orario delle macchine e della manodopera, oltre ai dati produttivi ed al prezzo di vendita del prodotto raccolto. Al fine di contestualizzare la nostra ricerca ci è parso giusto riferire i valori di questi parametri ad un'area specifica, che è stata individuata con la regione Puglia. E' stata calcolata la superficie di minima convenienza rispetto alla raccolta manuale per produzioni variabili da 3.000 a 15.000 kg/ha. Poiché nel modello superintensivo sono utilizzabili solo macchine costituite da aste motorizzate portate a mano, il confronto di convenienza è stato esteso anche ai cantieri che impiegano tali attrezzi. E' stata quindi determinata la superficie di minima convenienza rispetto alla raccolta manuale per cantieri che utilizzano le aste vibranti e per il confronto con la vendemmiatrice è stato ipotizzato l'uso di un numero di attrezzi tale da raggiungere la superficie dominabile della vendemmiatrice. Il numero di attrezzi varia da 7 per aste con motore a combustione interna, a 9 per aste a motore elettrico, mentre il numero di operai è variato da 15 a 30 in base alla produzione. Per la vendemmiatrice e i cantieri con aste vibranti sono poi stati determinati i costi della raccolta in funzione della superficie interessata a partire dalla superficie di minima convenienza fino alla superficie dominabile. Per ogni valore di produzione è stato possibile costruire un grafico in cui si riportano i costi della raccolta in percentuale rispetto alla raccolta manuale. Per le aste vibranti elettriche e pneumatiche è stata disegnata una sola curva.

Nella figura 3 vengono riportate le curve relative ad i costi di raccolta nel caso di oliveti con una produzione media di 9.000 kg/ha. I costi della raccolta si riducono notevolmente con l'impiego sia della vendemmiatrice che delle aste scuotitrici rispetto a quella manuale, inoltre per la vendemmiatrice tale riduzione è superiore a quella delle aste per superfici maggiori di 60 ettari. Per il confronto con macchine scuotitrici sia semoventi che portate da trattore è stato preso in considerazione un cantiere organizzato con stesura manuale delle reti, in un oliveto tradizionale con sesto 10 m x 10 m e con produzione di 9.000 kg/ha.

I dati di lavorazione dello scuotitore sono riportati in tabella 2. La capacità di lavoro e, quindi, la superficie dominabile della vendemmiatrice risultano doppie rispetto a quelle ottenibili con lo scuotitore, il che significa che per ottenere le stesse prestazioni della vendemmiatrice occorre organizzare un cantiere che prevede due scuotitori. Nella figura 4 vengono riportati i costi della raccolta in funzione della superficie sia con l'uso della vendemmiatrice, sia con l'uso di uno o due scuotitori. La vendemmiatrice, pur avendo

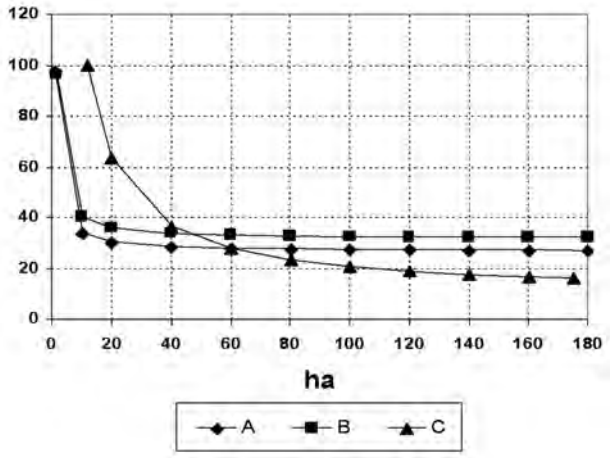


Fig. 3 - Costi della raccolta con le macchine, come percentuale del costo della raccolta manuale in funzione della superficie. A - Pettini vibranti portati a mano a motore elettrico o pneumatico; B - Scuotitori a gancio portati a mano a motore a combustione interna; C – Vendemmiatrice.
Fig. 3 - Cost of harvesting with grape-harvester and employable tools in superintensive, as a percentage of cost of manual harvesting, related to surface area. A- Electric or pneumatic motor hand-held vibrating comb shakers; B- Internal combustion motor hand-held vibrating hook shakers; C- Grape-harvester.

Tab. 2 - Dati di lavorazione di uno scuotitore semovente o portato da trattore.
Tab. 2 - Operational data of a self-propelled or mounted on tractor shaker.

Capacità di lavoro operativa (ha/h)	0,25
Numero operai (n)	13
Efficienza di raccolta (%)	95
Perdite sulla pianta (%)	5
Superficie dominabile (ha)	88

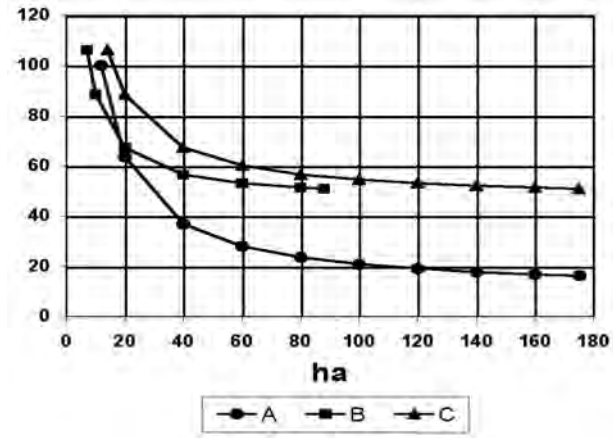


Fig. 4 - Costi di raccolta, come percentuale del costo della raccolta manuale, in funzione della superficie. A - Vendemmiatrice; B - Uno scuotitore; C - Due scuotitori.
Fig. 4 - Harvesting costs of grape harvester and shaker as a percentage of manual harvesting cost related to the surface area. A- Grape-harvester; B- One shaker; C- Two shakers.

una più elevata superficie di minima convenienza (12 ha contro 7 ha), fornisce costi di raccolta inferiori rispetto allo scuotitore, già a partire da superfici superiori ai 20 ettari.

Conclusioni

L'impianto superintensivo risponde bene all'azione della vendemmiatrice, garantisce ottime efficienza di raccolta (98 %) e capacità operativa (0,5 ha/h). Dal confronto con le altre macchine per la raccolta, si evidenzia come la vendemmiatrice consenta capacità di raccolta notevolmente superiore, anche con impiego di manodopera molto ridotto (2 operai). I costi della raccolta con la vendemmiatrice possono risultare inferiori sia a quelli della raccolta manuale che a quelli della raccolta con aste scuotitrici nello stesso impianto superintensivo, se si fa riferimento ad un numero di ettari superiore, nel caso di alte produzioni (superiori ai 9.000 kg/ha), ai 30 ettari (per scuotitori a gancio) e ai 60 ettari (per i pettini vibranti). I costi di raccolta da sostenere per superfici superiori ai 20 ettari risultano significativamente inferiori a quelli da sostenere nel caso di utilizzo di scuotitori agenti in impianti tradizionali, ma con uguale produzione specifica. In ogni caso si ha, con l'impiego della vendemmiatrice, il notevole vantaggio di un bassissimo impiego di manodopera, contratto al minimo, e che resta invariato al variare delle produzioni specifiche, al contrario delle altre macchine e attrezzature per le quali in genere l'impiego di manodopera cresce con il crescere delle produzioni specifiche.

Ringraziamenti

Gli Autori ringraziano la Provincia di Bari per il supporto finanziario accordato.

Riassunto

L'olivicoltura superintensiva è oramai una realtà olivicola mediterranea; tale forma di allevamento sta prendendo il posto dei classici oliveti, per secoli icone di un paesaggio tipico e di produzioni di qualità, ma che purtroppo in questi ultimi anni hanno risentito di una competizione forte e senza scrupoli esercitata dalle produzioni di altri Paesi emergenti del Bacino del Mediterraneo. In questa ottica l'olivicoltura superintensiva rappresenta una interessante ed innovativa soluzione per l'olivicoltura italiana; oggi è possibile contare sull'impiego di macchine semoventi che, nate come vendemmiatrici sono state adeguate alla raccolta in un oliveto superintensivo, intervenendo con piccole modifiche. E' questo il caso della vendemmiatrice Pellenc "Activ 4560". Con tale macchina si sono effettuate prove di raccolta in continuo nel superintensivo, ottenendo efficienza di raccolta molto alta, anche 98%; oltre a tali positive prestazioni la macchina nell'oliveto ha evidenziato anche confort di guida e facilità nella regolazione degli organi operatori. Si è proceduto inoltre a valutazioni di carattere economico relativamente all'impiego di questa macchina nel superintensivo: la macchina ha una superficie dominabile molto elevata, ma per valutare meglio le sue prestazioni è stato opportuno determinare anche la superficie di minima convenienza. Allo scopo è stato necessario acquisire i dati sui costi di altre macchine impiegate per la raccolta dell'olivo e della manodopera, oltre ai dati di produzione e di valore del prodotto. In tal modo si sono espressi i costi della raccolta con macchina vendemmiatrice come percentuale del costo della raccolta manuale in funzione della superficie, considerando come alternativa alla vendemmiatrice altri tipi di cantieri di raccolta. I costi della raccolta con la vendemmiatrice risultano inferiori sia rispetto alla raccolta manuale che rispetto alla raccolta con aste scuotitrici nello stesso impianto superintensivo se si fa riferimento ad un numero di ettari superiore, nel caso di alte produzioni, ai 30 ettari.

Parole chiave: superintensivo, vendemmiatrice, confronto, costi.

Bibliografia

ARRIVO A., BELLOMO F., D'ANTONIO P., 2001. *Limiti di convenienza per l'impiego delle macchine operatrici. Applicazione a macchine mono e polifunzionali per la viticoltura*. Ingegneria Agraria 3: 147-157

ARRIVO A., BELLOMO F., D'ANTONIO P., 2006. *Raccolta meccanica di un oliveto superintensivo*. L'Informatore Agrario, 62(1): 68-71.

CAMPOSEO S., BELLOMO F., P. D'ANTONIO, GODINI A., 2009. *Aspetti quantitativi e qualitativi della raccolta meccanica in continuo di un giovane oliveto superintensivo*. Atti del I Convegno Nazionale dell'Olivo e dell'Olio. 1-2 ottobre, Portici (NA): in stampa.

CAMPOSEO S., GIORGIO V., 2006. *Rese e danni da raccolta meccanica di un oliveto superintensivo*. Atti del Convegno Nazionale su Maturazione e Raccolta delle Olive: strategie e tecnologie per aumentare la competitività in olivicoltura. 1 aprile, Alanno (PE): 131-135.

GODINI A., BELLOMO F., 2004. *Cultivar spagnole d'olivo ed impianti superintensivi*. Terra e Vita, 50: 81-82.

GODINI A., PALASCIANO M., FERRARA G., CAMPOSEO S., 2006. *Prime osservazioni sul comportamento agronomico di cultivar di olivo allevate con il modello superintensivo*. Frutticoltura 3: 40-44.

MATEU J., 2002. *New high-density olive orchards in the World. The total mechanization*. Agromillora Catalana S.A.- Adelaide- October 12th.

Quali strategie per il marketing dell'olio d'oliva

Pomarici E.*
Dipartimento di Economia e Politica Agraria, Università di Napoli "Federico II"

Marketing strategies for olive oil

Abstract. The olive oil sector is experiencing a structural and conjunctural crisis. Nethertheless, extravirgin olive oil is a very modern product and appropriate large scale marketing strategies could balancing the market and allow the olive oil industry to take advantage from the improvement of the global economic situation expected in 2010. To balance the global olive oil market it is necessary an alliance among the main producing countries to develop an international communication campain. In Italy it is necessary a stricter cooperation among actors in the industry, to make effective the domestic promotional actions. To enlarge the high value olive oil market it is crucial to improve, inside selected segments, the sensory education needed to recognise and appeciate the peculiar characters of this product. It is also necessary to structure an adeguate retail system and develop specific capabilities inside the firms targeting the high value olive oil market.

Key words: marketing, communication, retail system, demand, extravirgin-oil.

Introduzione

Il mercato dell'olio d'oliva extravergine è certamente un mercato che presenta delle difficoltà per effetto della crisi economica internazionale e, soprattutto, per ragioni che sono interne al mercato del prodotto. Queste sono riconducibili ad una crisi del settore che presenta due facce. Una riguarda una crisi generale che ha una portata mondiale, anche se alcuni concorrenti nel mercato internazionale sembrano sostenere la competizione meglio di altri; l'altra riguarda il mercato degli oli di alto pregio sui quali in Italia - ma anche in altri paesi produttori - si sono concentrate molte speranze che hanno dato luogo all'istituzione di numerose produzioni con origine geografica tutelate dall'Unione Europea. I percorsi di differenziazione del prodotto sono stati visti come un'opportunità importante per le piccole imprese produttrici a filiera integrata ma il progresso delle vendite di questi oli di pregio segna il passo e gli investimenti realizzati dalle imprese tardano ad essere ripagati.

*pomarici@unina.it

In questo contributo si intende, in primo luogo, proporre alcune riflessioni sulle opportunità e sui percorsi che sembra possibile individuare per superare la crisi generale del mercato dell'olio d'oliva, crisi che in qualche misura condiziona anche quella degli oli di maggiore pregio. Successivamente, si presentano alcuni elementi utili a focalizzare il problema specifico degli oli di alto pregio, tentando di individuare quali elementi appaiono importanti per un'espansione di questo segmento e, in particolare, quali strategie e comportamenti dovrebbero mettere in atto le imprese di minore dimensione per trarre profitto dalle opportunità legate a questo mercato.

La crisi generale: natura e strategie per uscirne

Le difficoltà del mercato dell'olio visto nella sua dimensione internazionale sono documentate da numerose fonti (Ismea, 2009; Pomarici, 2009; Cioffi, 2010). Gli elementi più appariscenti sono la crescita delle scorte e la diminuzione dei prezzi all'origine in tutti i principali paesi produttori. In questa situazione, per definire delle strategie efficaci è necessario comprendere la natura di questa crisi: crisi congiunturale legata alla situazione economica mondiale oppure crisi che ha delle basi strutturali?

Il problema è complesso, ma alcuni elementi possono dare qualche indizio. Uno è l'instabilità della struttura imprenditoriale del settore. L'Unilever è uscita dal settore in anni nei quali non sussistevano crisi congiunturali; di questa uscita si è avvantaggiato il gruppo spagnolo SOS che però successivamente si è trovato nella necessità di cedere il marchio Dante e altri 11 marchi storici italiani al gruppo Mataluni di Benevento (Dell'Orefice, 2009). Tutto questo indica che la dinamica congiunta della domanda e dell'offerta determina una situazione nella quale non sembra possibile sviluppare un vantaggio competitivo difendibile a causa della forte instabilità e di tendenziale bassa redditività del mercato.

In effetti, la produzione mondiale di olio d'oliva in 50 anni è più che raddoppiata e nonostante ci sia stata anche un'importante crescita della domanda, permane una situazione di tendenziale sovrapproduzione che deprime il mercato. Questa situazione finisce per avere un risvolto negativo anche sul segmento specifico degli oli di maggiore pregio per i quali la domanda

mostra una dinamica abbastanza favorevole; le tendenze al ribasso dei prezzi dei prodotti ordinari, infatti, trascinano in basso anche i prezzi dei prodotti più pregiati e si possono verificare anche tentativi di collocare nei segmenti di maggiore pregio le produzioni che non trovano spazio nel mercato ordinario, creando confusione e disorientamento dei consumatori.

Il mercato soffre, quindi, una crisi con delle basi strutturali e ci si deve domandare se e come sia possibile riequilibrarlo e rivitalizzarlo. In particolare, ci si deve domandare se la domanda effettiva è inferiore a quella potenziale, dati tutti i possibili usi, e se, quindi, è possibile superare la crisi stimolando una crescita della domanda mondiale.

La valutazione delle caratteristiche del prodotto e della loro compatibilità con gli stili di vita contemporanei, nei paesi tradizionali produttori e consumatori ma anche in altri paesi, certamente indica che l'olio è un prodotto moderno che può godere dell'internazionalizzazione degli stili di consumo portati dalla globalizzazione. Infatti, l'olio d'oliva extravergine è un *functional food* naturale, per il suo contenuto di molecole con importanti funzioni metaboliche che gli conferiscono importanti proprietà. Inoltre consente numerose possibili vantaggiose utilizzazioni in cucina, non solo a crudo ma anche nelle cotture (fritture, preparazione dei dolci, etc.) e nella conservazione (Sacchi, 2009). Dal punto di vista cognitivo, infine, è percepito come un prodotto nobile, associato alla dieta mediterranea, e proveniente da una filiera a basso impatto ambientale, paesaggisticamente preziosa e con valori di *heritage* molto positivi. Le caratteristiche oggettive del prodotto sono tali, pertanto, che il riequilibrio del mercato potrebbe essere raggiunto con una significativa crescita della domanda in termini di volumi e di valore del prodotto. Lo sfruttamento di questi punti di forza del prodotto richiede, tuttavia, un'attività intensa e complessa, dato l'elevatissimo livello della competizione nel settore agroalimentare.

Si dovrà mettere in atto una strategia di comunicazione di settore di ampio respiro, sostenuta da risorse adeguate, accuratamente programmata e attuata in un'ottica di medio-lungo periodo, con una prospettiva internazionale. Inoltre, si dovrà migliorare la leggibilità dell'offerta da parte dei consumatori e coinvolgere la distribuzione. Infine, per trarre veramente profitto dallo sviluppo della domanda, l'offerta delle imprese dovrà crescere in termini qualitativi, per essere certi che la promessa di valore alla base dell'auspicata crescita della domanda sia poi rispettata nella realtà.

Comunicazione

L'entità delle risorse che è necessario investire perché la comunicazione possa essere veramente efficace richiama la necessità di un'alleanza che coinvolga almeno i tre grandi paesi produttori europei (Italia, Spagna, Grecia) con il concorso del Consiglio Oleicolo Internazionale (COI). Sarà necessario avvalersi delle migliori competenze nell'area della comunicazione internazionale, in modo da valorizzare tutti gli elementi positivi del prodotto, utilizzando in modo sinergico e integrato il più ampio ventaglio di strumenti e cogliere le nuove possibilità aperte dalla rete Internet, coniugando quindi le esperienze della comunicazione tradizionale (stampa, TV, radio, fiere specializzate) con le nuove tecnologie informatiche e le forme di aggregazione sociale che hanno generato (social network).

Si deve indirizzare la comunicazione in modo mirato verso i consumatori finali e tutti gli intermediari lungo la catena dell'offerta (distribuzione e ristorazione, sia tradizionale che moderna), modulando stili e contenuti in relazione ai diversi destinatari dei messaggi (area geografica/stile alimentare – segmento/stile di vita). Si dovranno raggiungere tutti i soggetti che possono orientare i gusti e le scelte di consumatori, cuochi, medici, giornalisti e *trend setter* vari. Sotto questo profilo i cuochi certamente possono svolgere un ruolo cruciale, diventando testimoni delle virtù dell'olio extravergine nelle diverse cotture, aiutando il pubblico dei consumatori a superare i pregiudizi in materia.

L'azione di comunicazione dovrà essere, come già ricordato, intensa e ben progettata perché l'obiettivo che ci si propone è impegnativo. Infatti, si deve incidere nelle prassi di preparazione dei pasti che sono fortemente condizionate dalla tradizione. Inoltre, la comunicazione a favore dell'olio extravergine non può essere assistita da alcuni elementi che, invece, funzionano per il vino: il riconoscimento del prodotto come un testimone di status e il suo valore come mediatore/facilitatore di rapporti sociali e personali. Di conseguenza, la comunicazione a vantaggio dell'olio extravergine d'oliva richiede l'utilizzazione di richiami di natura principalmente razionale che, comunque, non mancano.

Si deve ricordare, infatti, che la varietà delle vantaggiose utilizzazioni dell'olio extravergine non è ben nota neppure nelle aree di consumo tradizionale. Pertanto, una maggiore diffusione di questo tipo di informazione, insieme allo sviluppo di una solida consapevolezza delle proprietà salutistiche del prodotto, accompagnata da una accresciuta capacità di com-

prenderne le caratteristiche sensoriali, potranno realmente innescare una robusta crescita e qualificazione della domanda.

Leggibilità e distribuzione

La comunicazione per quanto efficace non potrebbe generare i benefici che ci si aspetta se non si determinano poi le condizioni per facilitare l'accesso al prodotto, o meglio alle diverse tipologie di prodotto che è possibile riconoscere nella pur non vastissima categoria degli oli extravergini.

Si deve quindi fare in modo che il pubblico possa leggere l'offerta determinando delle regole di etichettatura che gli facciano comprendere le differenze qualitative tra i diversi prodotti, in modo da dare senso ai differenziali di prezzo che possono remunerare il diversi costi di produzione. L'introduzione di una normativa sugli oli di alta qualità, simile a quella già in essere per il latte, può dunque essere utile e merita di essere sostenuta nel quadro di una strategia di comunicazione che dia al consumatore il modo di comprendere le differenze tra i diversi oli e in questo modo favorire l'ampliamento dei volumi di acquisto degli oli più pregiati conservando i ragionevoli differenziali di prezzo che si sono affermati sul mercato (Pomarici, 2009; Cioffi, 2010).

Si deve, inoltre, costruire su nuove basi e con nuove motivazioni la relazione con la grande distribuzione, che ormai è la protagonista dell'evoluzione dei canali commerciali, in modo da coinvolgerla in programmi di valorizzazione dell'offerta. Le imprese di maggiori dimensioni, dal canto loro, dovranno essere disposte a impegnarsi per rendere più efficiente ed efficace la relazione di fornitura, sviluppando approcci moderni alla gestione della catena dell'offerta, anche di tipo ECR (*Efficient Consumer Response*), e a realizzare programmi di *category management*. Un percorso di questo genere è certamente impegnativo ma oltre che a un miglioramento delle relazioni con la grande distribuzione, può portare a trasformare la fase distributiva da centro di costo a occasione di generazione di valore ed a una maggiore costanza del livello qualitativo dei prodotti sullo scaffale.

Il raggiungimento degli obiettivi relativi alla leggibilità dell'offerta e alla distribuzione richiedà un significativo miglioramento della collaborazione all'interno della filiera italiana dell'olio, caratterizzata attualmente da un forte dualismo (imprese industriali vs. imprese legate all'agricoltura) che sfocia spesso in antagonismi controproducenti. Le due anime della produzione dell'olio possono diventare sinergiche purché tutte convergano su una filosofia comune di qualità che mantenga adeguato il livello anche dei prodotti più economici, che tuttavia troppo economici non dovrebbero mai essere, da sorvegliare con un uso rigoroso dei panel test, eventualmente anche sui prodotti già immessi nel commercio.

Per dare forma ad una nuova alleanza tra i produttori italiani si potrebbe prendere ad esempio l'accordo interprofessionale spagnolo, che prevede un prelievo obbligatorio di 6 euro a tonnellata, destinato ad alimentare un fondo per la promozione e comunicazione dell'olio spagnolo e per la ricerca e la formazione. Questa iniziativa spagnola deve stimolare la filiera italiana dell'olio d'oliva a difendere il suo prezioso primato mondiale in termini di prestigio con azioni concrete e concertate (Pomarici, 2009).

La crisi degli oli di pregio: natura e strategie per uscirne

La misura della crisi degli oli di pregio si può riconoscere in un dato moto semplice: in Italia le 37 DOP e l'unica IGP esistenti per l'olio d'oliva portano sul mercato solo 10.000 tonnellate di olio, meno del 2% della produzione nazionale complessiva di olio d'oliva.

Anche in questo caso ci si deve chiedere se la domanda degli oli di alto pregio è inferiore a quella potenziale e potrebbe quindi crescere se fosse applicata una specifica pressione di marketing (Lambin, 2007) sui potenziali acquirenti di questo tipo di prodotto.

Certamente si può osservare che la tendenza all'interno di segmenti significativi di consumatori verso prodotti alimentari di alto pregio può riguardare anche l'olio d'oliva extravergine. Questo anche perché valori positivi dell'olio d'oliva extravergine si esprimono massimamente in quelli di alto pregio e l'esperienza diretta di questi prodotti tende a farli preferire, purché accompagnata da adeguata informazione (Ambrosino *et al*., 2004). La questione dell'informazione e dell'esperienza è quindi un elemento essenziale.

Anche nei paesi tradizionali consumatori, infatti, manca una diffusa capacità di riconoscere e apprezzare l'olio di pregio; addirittura, in molti casi alcuni difetti finiscono per essere apprezzati. Si deve, pertanto, mettere in atto un'azione articolata che affianchi alla comunicazione sui media la moltiplicazione di attività di esperienza guidata del prodotto, finalizzata a innalzare nel pubblico la conoscenza diretta delle diverse caratteristiche dei prodotti, sviluppando la capacità di riconoscere quelli di maggiore pregio, cui sono associate le migliori caratteristiche salutistiche. Si deve, comunque, essere consapevoli che queste azioni sono cruciali ma anche molto onerose in quan-

to implicano un'organizzazione complessa e l'impiego di personale competente.

L'azione di diffusione della conoscenza e dell'esperienza degli oli di maggiore pregio può essere vista come una condizione necessaria ma non sufficiente per far crescere in modo significativo la domanda per questi prodotti.

Certamente, nell'ambito della comunicazione generale che deve essere sviluppata a favore dell'olio extravergine d'oliva è necessario realizzare azioni specifiche a vantaggio degli oli di alto pregio che siano finalizzate allo stimolo dell'acquisto e che superino il problema della carenza di motivazioni all'acquisto di tipo sociale ed emozionale. Inoltre, si deve risolvere il problema dell'assenza di un sistema distributivo specifico per gli oli di alto pregio.

La grande distribuzione, così come avviene già nel campo del vino, potrà ampliare i propri assortimenti di oli di grande pregio, soprattutto di quelli prodotti da imprese di dimensione medio grande che in questo modo completano e qualificano la loro gamma; per le sue caratteristiche intrinseche non può, però, dare adeguato spazio e visibilità alle eccellenze dell'olio. Il sistema delle enoteche non sembra prestarsi facilmente ad estendere la sua attività (salvo eccezioni) all'olio e lo stesso si può dire dei negozi di specialità alimentari. Probabilmente la vendita diretta, eventualmente nell'ambito di attività agrituristiche, così come il commercio elettronico verso i consumatori finali potrebbero rappresentare dei canali di un certo interesse nei quali la vendita, peraltro, può consentire margini elevati. Non è presumibile, però, che questi canali possano veicolare quantitativi tali da valorizzare il potenziale di produzione che esiste in Italia. Risolvere il problema della distribuzione non è, dunque, semplice; ciò nonostante, è urgente applicare fantasia e creatività alla ricerca di soluzioni efficaci.

La questione delle imprese integrate

L'allargamento dell'interesse del pubblico per gli oli di alto pregio rappresenta un'occasione importante di valorizzazione delle competenze e della passione di tante imprese oleicole di dimensione medio-piccola che possono integrare tutte le fasi successive alla raccolta delle olive e presentarsi sul mercato con dei prodotti finiti la cui qualità potrebbe essere garantita dalla denominazione di origine o dall'indicazione geografica. Queste imprese medio-piccole, fortemente radicate sul territorio, appaiono come le testimoni ideali di molti dei valori positivi dell'olio extravergine d'oliva e risultano affini a segmenti importanti di pubblico.

In che misura sarà concretamente possibile cogliere le opportunità appena richiamate dipenderà, anche in questo caso, dalla dinamica generale del mercato dell'olio; maggiore sarà la rivitalizzazione del mercato nel suo complesso, maggiori saranno le opportunità anche per le nuove piccole imprese a filiera integrata. Questo non è però sufficiente a garantire il successo di tutti. L'accesso al mercato degli oli di alto pregio richiede la capacità di gestione impeccabile della qualità del prodotto in senso stretto e, sul fronte del mercato, è necessario sviluppare la capacità di muoversi in un ambiente competitivo complesso e dinamico. Per fare questo diventa necessario essere in grado di acquisire, analizzare e utilizzare informazioni di mercato per maturare una vera conoscenza del mercato stesso e di sostenere un sistema di relazioni complesso e multilivello (Gummesson, 2006). E' necessario, quindi, che queste aziende maturino delle capacità generali di marketing, perché questa è la condizione per essere efficaci nell'operatività, scegliendo tra le tante possibili opzioni di costruzione della propria offerta al mercato quella più affine alla singola impresa, e governando successivamente l'ampio insieme di fattori da cui dipende il successo dell'impresa. Si tratta di traguardi importanti non facili da raggiungere. Molto può essere fatto a livello territoriale attraverso adeguate azioni di animazione da realizzarsi all'interno delle politiche di sviluppo rurale. Molto potrà fare anche il confronto libero e la ricerca di comuni soluzioni tra gli operatori che perseguono obiettivi analoghi, seguendo l'esempio tracciato dall'associazione TREE (www.tre-e.org).

Considerazioni finali

La crisi del mercato dell'olio è una crisi complessa che ha una natura strutturale ma può essere superata mettendo in atto le adeguate strategie. E' essenziale un'azione intensa e di portata internazionale per ampliare il mercato, sviluppando tutte le potenzialità di un prodotto caratterizzato da notevolissimi valori positivi. Per fare questo è necessario realizzare un'alleanza internazionale tra tutti i principali paesi produttori. E' necessario inoltre facilitare il rapporto tra il pubblico e l'olio extravergine con regole chiare di presentazione e con un adeguato coinvolgimento della distribuzione. Una rivitalizzazione del mercato potrà ampliare anche la domanda di oli di alto pregio e questo potrà dare delle buone opportunità di reddito alle imprese olivicole medio-piccole che realizzeranno tutte le fasi della filiera e che saranno in grado, però, di sviluppare le necessarie capacità di gestione della produzione e di relazione con il mercato. Il mercato degli oli di alto pregio è tuttavia un mercato non ben

strutturato e sarà necessario sviluppare la conoscenza e la competenza del pubblico e adeguati canali commerciali.

Riassunto

Il settore dell'olio d'oliva sta vivendo una crisi che ha componenti congiunturali e strutturali. L'olio d'oliva, e quello extravergine in particolare, è però un prodotto con notevolissimi elementi di modernità; adeguate strategie di marketing su larga scala potrebbero riequilibrare il mercato e mettere il settore nelle condizioni di avvantaggiarsi della ripresa economica che ormai non dovrebbe essere troppo lontana. In questa prospettiva è necessaria un'alleanza tra i principali paesi produttori europei e, in Italia, tra le diverse componenti della filiera per dare unitarietà e coerenza alle azioni promozionali interne. Per gli oli di altissimo pregio è necessaria un'azione promozionale finalizzata a diffondere, almeno in segmenti selezionati, l'educazione sensoriale necessaria per fare apprezzare e riconoscere le peculiarità di questi prodotti. Si deve anche investire per creare un sistema distributivo che oggi ancora non esiste e per sviluppare nelle imprese le necessarie competenze.

Parole chiave: marketing, comunicazione, canali distributivi, domanda, olio extravergine.

Bibliografia

AMBROSINO M.L., VITOLO R., POMARICI E., SACCHI R., 2004. *Does consumer information change virgin olive oil preference?* Abstract book, Eur. Conf. of Sensory Science of Food and Beverages. Florence, 26-29 september.

CIOFFI A., 2010. *La filiera oleicola italiana nei nuovi scenari competitivi.* Atti del I° convegno dell'olivo e dell'olio, Portici, 1 e 2 ottobre, in stampa.

DELL'OREFICE G., 2009. *E' Mataluni il nuovo re dell'olio*. Agrisole, 1-7 maggio.

ISMEA, 2009. *Olio d'oliva, la congiuntura in sintesi*, collana Tendenza, n. 2/09.

GUMMESSON E., 2006. *Marketing Relazionale*, Hoeply, Milano

LAMBIN J.-J., 2007. *Market-driven management*, McGraw-Hill, Milano

POMARICI E., 2009. *E' tempo di strategie*. VQ, 7.

SACCHI R., 2009. *Sia crudo che cotto… purché extravergine*. Olivo e Olio, 4.

Acta Italus Hortus 1: 233-237

Il ruolo dell'olivo nel paesaggio agrario italiano del XXI Secolo

Cicia G.[1*], D'Amico M.[2] e Pappalardo G.[2]
[1] *Dipartimento di Economia e Politica Agraria, Università di Napoli "Federico II"*
[2] *Dipartimento di Scienze Economico-agrarie ed Estimative, Università di Catania*

The role of olive growers in the italin agricoltural landscape at the beginning of XXI century

Abstract. The olive plant markedly characterizes the agricultural landscape of many Italian rural areas, particularly in the southern regions. Since ancient times, the olive tree has been cultivated for its "multifunctionality" which included tangible element (firewood, fruits, animal fodder, etc.) and intangible ones (components in any rituals of monotheistic religions, etc.). In the last decades, the economic crisis of primary sector has also markedly affected the olive sector. The consequences have been so marked as to generate non-negligible phenomenon of disappearance of olive farms (especially in more marginal areas) or the substitution of olive cultivation with other more profitable crops. Nowadays in traditional olive-growing areas (Puglia, Calabria, Sicily, etc.) it exists the risk of jeopardizing the whole system of natural landscapes of rural regions. In the light of the new functions recognized to agriculture, government intervention plays a significant role in landscape protection, providing for the improvement and maintenance as the safeguard of age-old olive trees through new forms of support to olive growers in order to transfer a millenary heritage-landscape to future generations.

Key words: Olive tree, landscape, appraisal, regulations, PSR.

Premessa

L'olivo è una componente che caratterizza l'attività agricola dei paesi del Bacino del Mediterraneo ormai da millenni e insieme a poche altre colture (vite e grano duro) è storicamente presente negli ordinamenti colturali delle aziende agricole italiane.

Nel tempo l'olivo ha contribuito a creare l'identità socio-culturale di molte zone rurali delle regioni italiane risultando, ancora oggi, centrale per l'economia di questi territori. (Barbera *et al.*, 2005). Inoltre, lo sforzo di generazioni di agricoltori hanno consentito agli uliveti di assumere una forte valenza ambientale, grazie alla presenza di alberi secolari, divenuti nel tempo veri e propri monumenti vegetali (Pofi, 2006).

Purtroppo, negli ultimi tempi si assiste ad uno stato di generale crisi dell'olivicoltura che sta provocando un graduale abbandono degli uliveti o, in alternativa, la sostituzione con nuovi indirizzi colturali maggiormente redditizi. Tale fenomeno sta compromettendo l'integrità paesaggistica di molte aree olivicole italiane e ad aggravare la situazione, si registra il nuovo fenomeno legato al commercio illegale degli ulivi secolari sempre più richiesti per scopi ornamentali.

Il tema della tutela del paesaggio agrario degli uliveti secolari appare, quindi, di grande attualità. Purtroppo, l'impianto normativo attualmente in vigore in tema di tutela di paesaggio agrario non è adeguato alle nuove funzioni che la società riconosce oggi all'agricoltura e per questo motivo appare necessario avvalersi di strumenti normativi più adeguati per tutelare e valorizzare il nuovo ruolo che l'olivicoltura secolare può svolgere nel panorama agricolo nazionale.

Il paesaggio olivicolo nazionale: aspetti valutativi e normativi

Generalità

L'olivo, secondo i geografi è la coltura che definisce i confini dell'area mediterranea (Braudel, 1986). In Italia è presente in quasi tutte le regioni (ad eccezione della Val d'Aosta e del Piemonte) ed in ognuna di esse ha dato origine a sistemi colturali che possono ritenersi i più antichi d'Italia (Barbera *et al.*, 2005). Esempi significativi di olivicoltura secolare si possono rinvenire in Sicilia dove la coltura contrassegna il paesaggio agrario di ampi territori, specialmente quelli relativi ad aree con agricoltura marginale ed estensiva. In questa regione, l'olivicoltura si caratterizza per la presenza di impianti molto vecchi, con sesti irregolari, piante disetanee, ma che tuttavia svolge un importante funzione di difesa del suolo e di mantenimento dell'equilibrio ecologico (Fardella *et al.*, 2004). In altre regioni come l'Umbria e la Toscana, l'olivicoltura è conosciuta sin dai tempi degli Etruschi e nel corso dei secoli, oltre a svolgere un importante ruolo nella difesa contro i dissesti idrogeologici, ha caratte-

* cicia@unina.it; mario.damico@unict.it; gioacchino.pappalardo@unict.it

rizzato luoghi legati alla cristianità ed ha contribuisce a mantenere vitali insediamenti rurali sparsi nel territorio (Pampanini e Tombesi, 2004; Cimato *et al.*, 2004). In molti casi, l'olivo è storicamente consociato con altre colture presenti nel territorio come avviene, ad esempio, in Calabria dove gli impianti secolari si trovano spesso consociati con gli agrumi. Nella Piana di Gioia Tauro si possono, inoltre, ammirare piante ultra secolari, caratterizzate da uno sviluppo eccezionale della chioma che formano un paesaggio olivicolo di peculiare attrattività (Baldari*et al.*, 2004). In Puglia, la coltivazione dell'ulivo ha influenzato, nel corso dei secoli, l'organizzazione territoriale e sociale di ampie porzioni del territorio agrario, favorendo la nascita di masserie provviste di frantoi e lo svilupparsi di infrastrutture viarie e portuali collegate al commercio dell'olio (Pofi, 2006).

Grazie, quindi, alla sua capillare diffusione, l'olivo ha dato origine a svariati sistemi paesaggistici, ognuno dei quali può essere riconducibile a specifiche regioni o territori agrari che caratterizzano il territorio nazionale. Negli ultimi decenni, tuttavia, l'olivicoltura attraversa uno stato di generale crisi che sta conducendo ad un graduale abbandono della coltura, specialmente quella tradizionale praticata nelle aree marginali dove frequente è la presenza di impianti secolari di grande valore storico, ambientale e naturalistico. Secondi i dati ISTAT, negli ultimi 70 anni la superficie olivicola italiana è diminuita del 24% e tale andamento ha interessato in maniera più o meno marcata quasi tutte le regioni italiane (tab. 1).

I principali motivi della crisi dell'olivicoltura tradizionale possono ricondursi ai seguenti aspetti:

Tab. 1 - Evoluzione delle superfici olivicole nelle principali regioni italiane (1939-2008) (*).
Tab. 1 - Breakdown of area planted with olive tree in the main Italian regions (1939-2008) (*).

Regione	Var. %
Liguria	- 62 %
Toscana	- 37 %
Umbria	- 30 %
Lazio	- 29 %
Molise	- 56 %
Campania	- 37 %
Puglia	- 3 %
Basilicata	+ 10 %
Calabria	- 2 %
Sicilia	- 33 %
Sardegna	+ 20 %
Italia	**- 24 %**

(*) Fonte: ISTAT, varie annate.

- abbandono delle aree interne e collinari a causa dei crescenti costi di produzione non accompagnati da un eguale crescita della redditività della coltura;
- affermazione di un modello intensivo (600-650 piante/ha) e superintensivo (> 800 piante/ha) di olivicoltura nelle aree irrigue di pianura contro il modello estensivo tradizionale, presente nelle aree collinari;
- competizione con nuove colture agricole (es. serre) e/o attività extra-agricole (es. edilizia urbana e rurale, insediamenti industriali, ecc.);
- forte domanda di olivi plurisecolari per scopi ornamentali.

L'abbandono dell'olivicoltura tradizionale, spesso caratterizzata da impianti plurisecolari, sta conducendo, quindi, al depauperamento dell'integrità paesaggistica di molte aree olivicole italiane con pesanti ripercussioni anche in termini di equilibrio idrogeologico e di conservazione di biodiversità.

Aspetti valutativi

L'olivicoltura secolare presenta forti connotazioni di multifunzionalità. Ad essa, infatti, vengono associati non solo valori d'uso ma anche valori di non uso che insieme definiscono il Valore Economico Totale (VET). Tra i principali valori del VET, i più interessanti appaiono:

- il Valore di Opzione, che rappresenta la disponibilità a pagare adesso per potere avere l'opportunità di fruire in futuro di un certo bene.
- il Valore di Lascito, cioè la disponibilità a pagare per garantire l'opportunità alle future generazioni di godere di un certo bene.
- il Valore Vicario che rappresenta la disponibilità a pagare affinché altri individui in generale possano godere di un certo bene.
- il Valore di Esistenza che rappresenta, invece, la disponibilità a pagare per un valore intrinseco riconosciuto ad un certo bene anche se non ci sarà mai la possibilità di usufruirne.

I metodi che la letteratura economica suggerisce per la stima di questi valori sono molteplici ma quello maggiormente utilizzato è la Valutazione Contingente (Hanemann, 1984) con la quale sono stati condotti numerosi studi, alcuni dei quali con riferimento specifico alle funzioni paesaggistiche dell'olivicoltura secolare (Cicia e Scarpa, 1999, Cicia *et al.*, 2007). Il metodo si basa sull'idea di quantificare i valori economici di non uso, chiedendo direttamente agli utenti quanto essi siano disposti a pagare per usufruire di un certo bene ambientale per il quale non esiste un mercato esplicito di riferimento. In tal senso, un esempio di stima è quello condotto nel Parco Nazionale del

Cilento, nel quale ad un campione di turisti è stato chiesto se fossero disponibili a pagare un contributo giornaliero di soggiorno nel Parco, il cui ricavato sarebbe stato devoluto agli agricoltori quale compenso per il servizio "qualitativo" che essi offrivano conservando gli impianti di ulivi secolari. Un altro esempio, è rappresentato dalla stima condotta nell'area dell'Altopiano Ibleo (provincia di Ragusa) dove ad un campione provinciale di residenti è stato chiesto quanto fossero disponibili a donare volontariamente per contribuire alla realizzazione del "Parco paesaggistico dell'olivicoltura secolare", la cui funzione era quella di tutelare gli olivi plurisecolari presenti nell'area. Anche in questo caso, il ricavato ottenuto dalle donazioni, sarebbe stato devoluto agli agricoltori quale compenso per il mantenimento dell'integrità paesaggistica attraverso la conservazione degli impianti secolari di olivo.

In entrambi i casi, la disponibilità a pagare dei campioni intervistati è risultata positiva e ciò a conferma di un'elevata percezione da parte della collettività verso le problematiche relative alla conservazione del paesaggio agrario e, nel caso specifico, degli olivi secolari.

L'intervento pubblico per la conservazione dell'olivicoltura secolare

L'olivicoltura secolare, grazie alle sue intrinseche peculiarità, costituisce, in molte aree agricole italiane, uno degli elementi maggiormente caratterizzanti il paesaggio agrario storico, poiché frutto di antiche e secolari interrelazioni tra natura ed attività antropiche.

In materia di tutela dell'olivicoltura secolare, in Italia è ancora in vigore il vecchio Decreto Legislativo Luogotenenziale n. 475 del 27 luglio 1945 (Successivamente integrato e modificato dalla L. 144 del 14 febbraio 1951 e dal DPR 987 del 10 giugno 1955). Seppur concepito con finalità oggi non più attuali, ma legati alla particolare situazione post bellica in cui si trovava l'Italia, si tratta comunque di provvedimenti legislativi che di fatto stabiliscono il divieto di abbattimento di alberi di olivo, compresi gli esemplari danneggiati o in stato di deperimento per qualsiasi causa. Tuttavia, in considerazione delle tendenze che caratterizzano la moderna società, l'impianto normativo attualmente esistente a tutela degli ulivi secolari appare piuttosto inadeguato. Un moderno impianto normativo a tutela dell'olivicoltura tradizionale dovrebbe, invece, prevedere interventi che tutelano e valorizzano le funzioni culturali, ambientali e paesaggistiche degli uliveti secolari. In tal senso, degno di nota appare l'intervento normativo che la Regione Puglia ha messo in atto attraverso la Legge Regionale 14 del 2007 che prevede interventi per la tutela e valorizzazione del paesaggio degli ulivi secolari. Gli aspetti più interessanti di tale provvedimento legislativo sono l'istituzione dell'Elenco degli Uliveti Monumentali che una volta individuati saranno sottoposti a vincolo paesaggistico ed inseriti negli strumenti urbanistici comunali, nonché la creazione della Commissione tecnica per la tutela dei Monumenti Vegetazionali che avrà lo scopo, tra l'altro, di suggerire forme integrate di tutela e valorizzazione degli uliveti.

Attualmente un importante strumento di tutela e valorizzazione delle funzioni paesaggistiche legate all'olivicoltura secolare sono i Piani di Sviluppo Rurale (PSR) che ciascuna regione italiana ha redatto in applicazione del Regolamento CE 1698/2005. Nell'ambito dei PSR esistono, infatti, alcune Misure che possono prevedere interventi specifici riguardanti la conservazione del paesaggio agrario tradizionale. Da un'analisi condotta sui PSR attualmente in vigore in Italia, è emerso che solo quattro regioni hanno previsto interventi per la conservazione degli olivi secolari. Tali interventi si inseriscono nell'ambito delle Misure 121 e 323 dei rispettivi PSR; tuttavia, la dotazione finanziaria di tali misure non è mai riferita in maniera specifica alla tutela dell'olivicoltura secolare, bensì alla conservazione del patrimonio rurale nella sua generalità (tab. 2).

Conclusioni

L'olivo, insieme a poche altre colture (vite e grano), caratterizza sin dall'antichità il paesaggio agrario Mediterraneo. Accanto alle tradizionali funzioni produttive all'olivo viene oggi riconosciuta una valenza ambientale e paesaggistica, soprattutto per quanto concerne gli impianti secolari, ancora diffusamente presenti nel nostro Paese. Tuttavia, per una molteplicità di fattori (elevati costi di produzione, valori tendenzialmente costanti delle produzioni, ecc.), le superfici olivicole nazionali risultano in continua diminuzione. Compromettendo, così, l'integrità paesaggistica di vaste aree agricole da sempre caratterizzate dalla presenza dell'olivo. Per invertire o almeno contenere tale tendenza, appare sempre più necessario disporre di un quadro normativo moderno in grado di assicurare la conservazione degli uliveti attraverso un sostegno al reddito degli imprenditori, per i servizi ambientali resi alla collettività. A tale proposito, le nuove politiche comunitarie attivate in applicazione del Regolamento CE 1698/2005 (PSR), rivolgono una grande attenzione alla tutela del patrimonio rurale ed in particolare del paesaggio agrario. In particolare, nell'ambito dello stesso strumento è previsto il coinvolgimento attivo sia del territorio che

Tab. 2 - Interventi specifici per la tutela del paesaggio agrario dell'olivicoltura secolare nell'ambito dei PSR 2007-2013 (*).
Tab. 2 - Specific measures for the protection of the ancient olive groves in the framework of RDP 2007-2013 (*).

Regione	Misura	Cultivar	Importo finanziario indicativo (€) (**)
Puglia	323	Opere di manutenzione straordinaria degli olivi monumentali come disciplinati dalla normativa regionale, censiti e classificati	7.000.000,00
Sardegna	121	Opere di miglioramento fondiario e sistemazioni a salvaguardia del ruolo fortemente multifunzionale della coltivazione dell'olivo quale componente essenziale del paesaggio	----
Sicilia	323	Realizzazione di interventi di ripristino dei siti di elevato pregio naturalistico e paesaggistico (esemplari arborei monumentali rappresentativi del paesaggio agrario tradizionale)	8.000.000,00
Umbria	323	Manutenzione, restauro e riqualificazione del patrimonio culturale e del paesaggio rurale	5.320.000,00

(*) Fonte: Piani di Sviluppo Rurale delle Regioni e Province Autonome italiane per il periodo 2007-2013.
(**) Gli importi finanziari sono riferiti alla dotazione complessiva prevista dalla Misura 323 nei rispettivi PSR e non agli interventi specifici che possono riguardare l'olivicoltura secolare. Per la Sardegna, la Misura di riferimento è la 121 che riguarda, in generale, gli interventi di ammodernamento delle aziende agricole e per la quale è impossibile stimare, *ex ante*, gli importi finanziari destinati alla conservazione dell'olivicoltura secolare.

della popolazione, quali componenti insostituibili per il raggiungimento degli obiettivi di tutela dell'ambiente e conservazione del paesaggio agrario. Con riferimento specifico all'olivicoltura secolare, il livello di diffusione di questi nuovi strumenti appare ancora basso, ma sull'esempio di alcune regioni italiane (Puglia, Sardegna, Sicilia e Umbria), che hanno già avviato specifiche Misure, sarebbe auspicabile che altre possano seguire tale percorso. Tuttavia, in un'ottica di contenimento della spesa pubblica in agricoltura tale "percorso" passerebbe attraverso l'opportuna individuazione di aree produttive di particolare rilevanza ambientale sulle quali far convergere specifici interventi (comunitari, nazionali e/o regionali).

Riassunto

La pianta dell'olivo caratterizza in maniera marcata il paesaggio agrario di molte aree rurali italiane, in particolare del meridione. L'olivo, sin dall'antichità, è stato coltivato per la sua "multifunzionalità" che comprendeva aspetti materiali (legna da ardere, frutti, foraggio per gli animali, ecc.) e immateriali (componenti rituali per le grandi religioni monoteistiche, ecc.). Negli ultimi decenni la crisi del settore primario, ha interessato marcatamente anche il comparto olivicolo. Le conseguenze sono state talmente marcate da generare fenomeni non trascurabili d'abbandono delle aziende olivicole (specialmente nelle aree più marginali) o la sostituzione dell'olivo con altre colture più redditizie. Nelle aree olivicole tradizionali (Puglia, Calabria, Sicilia, ecc.) è oggi, quindi, elevato il rischio di compromettere interi sistemi paesaggistici che caratterizzano il territorio. Alla luce delle nuove funzioni riconosciute all'agricoltura, un ruolo non indifferente a tutela del paesaggio olivicolo può essere riservato da interventi legislativi che prevedano la valorizzazione, la conservazione e la tutela degli oliveti secolari attraverso nuove forme di sostegno agli olivicoltori, al fine di trasmettere alle generazioni future un patrimonio culturale-paesaggistico millenario.

Parole chiave: olivo, paesaggio, valutazione, normative, PSR.

Il lavoro è frutto di piena collaborazione ed è pertanto di responsabilità comune degli autori. La materiale stesura del paragrafo "Aspetti valutativi" è da attribuire a Gianni Cicia, quella del paragrafo "Generalità" a Mario D'Amico ed il paragrafo "L'intervento pubblico per la conservazione dell'olivicoltura secolare" a Gioacchino Pappalardo. La premessa e le conclusioni sono state redatte congiuntamente.

Lavoro eseguito con contributo P.R.A. 2005 – Università degli Studi di Catania: "La valutazione economica del paesaggio: aspetti metodologici ed evidenze empiriche"; responsabile prof. Mario D'Amico.

Bibliografia

BALDARI M., GULISANO G., NESCI F.S., 2004. *L'olivicoltura nelle aree marginali della Calabria: aspetti socio-economici*, in Atti del Convegno "*Il futuro dei sistemi olivicoli in aree marginali: aspetti socio-economici, gestione delle risorse naturali e produzioni di qualità"*, Matera 12-13 ottobre, L'Aquilone – La Bottega della Stampa, Potenza.

BARBERA G., INGLESE P., LA MANTIA T., 2005. *Paesaggio culturale dei sistemi tradizionali: l'ulivo in Italia*. Estimo e Territorio 2.

BRAUDEL F., 1986. *Civiltà e imperi del Mediterraneo nell'età di Filippo II*. Einaudi, Torino.

CICIA G., SCARPA R., 1999. *La disponibilità a pagare per il paesaggio rurale nel Cilento: paradigmi interpretativi del metodo della valutazione contingente*. Economia agraria 1.

CICIA G., D'AMICO M., PAPPALARDO G., 2007. *Valutazione economica del paesaggio agrario degli "Uliveti secolari" nel territorio di Chiaramonte Gulfi (RG)*, in Atti del XXXVI Incontro di Studio del Ce.S.E.T. "Il Paesaggio agrario tra conservazione e trasformazione: valutazioni economico-estimative, giuridiche ed urbanistiche", Catania 10 e 11 novembre, Firenze University Press.

CIMATO A., OMODEI ZORINI L., 2004. *Sistemi olivicoli marginali in Toscana: presente e futuro*, in Atti del Convegno "Il futuro dei sistemi olivicoli in aree marginali: aspetti socio-economici, gestione delle risorse naturali e produzioni di qualità", Matera 12-13 ottobre, L'Aquilone – La Bottega della Stampa, Potenza.

FARDELLA G.G., DI MARCO L., COLUMBA P., ALTAMORE L., 2004. *Il caso Sicilia.* Atti del Convegno "Il futuro dei sistemi olivicoli in aree marginali: aspetti socio-economici, gestione delle risorse naturali e produzioni di qualità", Matera 12-13 ottobre, L'Aquilone – La Bottega della Stampa, Potenza.

HANEMANN M., 1984. *Welfare evaluations in contingent valuation experiments with discrete response*. Am. J. Agricultural Economics 3.

PAMPANINI R., TOMBESI A., 2004. *I sistemi olivicoli in terreni collinari e montani. Il caso dell'Umbria*, in Atti del Convegno "Il futuro dei sistemi olivicoli in aree marginali: aspetti socio-economici, gestione delle risorse naturali e produzioni di qualità",Matera 12-13 ottobre, L'Aquilone – La Bottega della Stampa, Potenza.

POFI G., 2006. *Salvare gli ulivi antichi, perché?*, in Nigro R. (a cura di), "Puglia terra dell'ulivo", Mario Adda Editore, Bari.

Acta Italus Hortus 1: 238-242

Olivicoltura di qualità e varietà locali quali strumenti di presidio rurale e di valorizzazione di un'area DOP

Galluzzo N.*
Dottore di ricerca in Scienze degli Alimenti, Rieti

Quality olive cultivation of specific cultivars and rural protection and development in a DOP area

Abstract. The present study has analyzed in Lazio region the role of olive cultivation to reduce the marginalization of inner areas. The application of a multifunctionality linear model demonstrated that there is a positive relationship between olive farms, able to produce certified olive oil, and other kind of rural activities. The willingness to pay the premium price, refer to the Dop certification, is a weakness point, because the customer can not perceived different aspects and implications of a food quality production.

Key words: marginalization, willingness to pay, premium price, multifunctionality, farm holidays.

Introduzione

Il presidio dello spazio rurale richiede la presenza di un'azienda agricola multifunzionale capace di offrire una molteplicità di beni e servizi e il cui ruolo, riconosciuto, sia a livello europeo sia a livello internazionale, sta diventando sempre più importante. La distrettualizzazione dell'agricoltura e della ruralità, demandata alle regioni solo da pochi anni, conferma e attribuisce al settore primario una funzione strategica per l'economia e la salvaguardia ambientale dei territori. Inoltre, molteplici evidenze empiriche, anche se condotte nel medio periodo, hanno evidenziato come i prodotti tipici, attraverso iniziative pilota cofinanziate dall' Unione europea, hanno consentito la valorizzazione del territorio e la salvaguardia delle comunità rurali (Galluzzo, 2005).

L'area di studio della presente ricerca, è costituita da tre province contigue della regione Lazio, caratterizzate da una notevole presenza di aziende olivicole, capaci di produrre oli di qualità certificata, e strutture ricettive extra-alberghiere (agriturismo, bed & breakfast). Le produzioni olivicole certificate della regione Lazio, oggetto della presente analisi, sono state Sabina (comprendente le province di Rieti e Roma), Tuscia che comprende l'80% dei comuni della provincia di Viterbo e Canino per i restanti comuni viterbesi. Le iniziative di promozione di un territorio e delle sue potenzialità rurali (prodotti tipici, artigianato, ecc.) possono avvenire attraverso diversi strumenti operativi, alcuni dei quali sono già stati codificati e consolidati da marchi specifici (Dop, Igp, ecc.). L'olivicoltura ha avuto la capacità di garantire un sostegno economico e sociale alle comunità rurali che in essa risiedono e per le quali l'istituzionalizzazione del marchio di qualità certificata ha consentito di ottenere dei riscontri economici significativi.

Obiettivi

Per poter valutare come l'agriturismo e i prodotti di qualità certificata Dop possano esercitare un effetto positivo sul territorio e sulla redditività aziendale, è opportuno considerare una molteplicità di aspetti economici, sociali e ambientali ai quali attribuire dei valori finalizzati ad ottenere un dato necessario per valutare/confrontare l'importanza della filiera rurale di qualità, intesa nel suo complesso prodotto-azienda, la sua capacità di agire sia sul presidio sia sullo sviluppo dello spazio rurale, in una prospettiva tesa a rendere organico un distretto rurale.

La presente analisi, in considerazione delle indicazioni normative della Regione Lazio, inerenti l'istituzionalizzazione dei distretti rurali ed agro-alimentari di qualità (Legge Regionale 1/2006) e alla attivazione delle strade del gusto, si soffermerà su un comprensorio pluriterritoriale ed interprovinciale, al fine di verificare l'impatto dei prodotti agro-alimentari di qualità (olio extravergine Dop) e dell'agriturismo, su tre aree contigue trans-provinciali (Roma, Rieti e Viterbo). In queste aree si sono voluti verificare gli effetti delle filiere di qualità sul territorio, sul suo presidio e sull'economia delle comunità rurali, anche alla luce della zonizzazione proposta per il Piano di sviluppo rurale 2007-2013 e da altri studi sul turismo rurale condotti negli anni scorsi. Alcune ricerche condotte con la finalità di individuare le potenzialità del territorio e le aree di sviluppo dell'attività agrituristica hanno evidenziato, nell'area di studio, la presenza di zone caratterizzate da risorse naturali, paesaggistiche e storiche capaci di garantire un maggiore sviluppo dell'agriturismo, al fine di generare dei poli di attrazione localizzate in 10 aree vocate (Irspel 1991).

* nicoluzz@tin.it

Metodologia d'analisi

Per riuscire a valutare l'impatto e le relazioni esistenti tra il prodotto olivicolo DOP e lo sviluppo delle aziende pluriattive e multifunzionali (variabile sviluppo dell'agriturismo) è stata implementata la metodologia utilizzata dall'Irspel nel 1991, ampliando il *pool* delle variabili strutturali considerate. In questo lavoro è stato utilizzato, come metodologia generale, il calcolo degli indici per la valutazione degli aspetti ambientali significativi dell'*Environmental Impact* proposto per l'Emas (Arpa Lazio, 2003) in un modello lineare e in un modello non lineare. Il modello lineare presenta delle analogie con le ricerche condotte per valutare la multifunzionalità e lo sviluppo di aree montane ed è più semplice da applicare (Finco *et al.*, 2005).

Per avere una maggiore confrontabilità delle risultanze emerse nel presente lavoro si è proceduto al confronto con un precedente lavoro sul turismo rurale nella regione Lazio (Damiano, 2004), utilizzando altri parametri, indicatori e soglie di valutazione per ottenere un numero indice di facile confronto. In conclusione, nella presente trattazione, si è operato eseguendo un confronto tra i diversi comuni rurali, inseriti nelle rispettive aree di produzione dell'olio extravergine Dop, che è il comune denominatore agro-alimentare di tutte e tre le aree di studio, tra le diverse metodologie impiegate, mettendole in correlazione, infine, con la zonizzazione proposta dalla regione Lazio nel prossimo periodo programmatorio 2007-2013.

La metodologia dell'*Environmental Impact* (EI), applicata alla valutazione Emas, è costituita da una molteplicità di fattori di osservazione e di impatto ambientale, finalizzati a stimare la significatività dell'impatto. Per ogni parametro, ponderato in funzione della sua importanza con opportuni parametri di ponderazione, è stata calcolata la media e da questa lo scostamento relativo, creando 4 classi in funzione dello scostamento del ± 25% dal valore centrale e attribuendo dei punteggi crescenti da 1 a 4 in funzione di ogni classe di scostamento, attribuendo un punteggio inverso poiché ad una maggiore densità di popolazione è associabile un maggiore sfruttamento del territorio e sul paesaggio.

Nella presente analisi, ovviamente, alcuni di questi fattori sono stati modificati e riadattati al contesto agro-rurale, prendendo in osservazione una molteplicità di dati economici, demografici, ecologici e sociali in un periodo trentennale (1970-2000). In formula il modello quantitativo lineare utilizzato è stato il seguente:

$$EI = P + S + G$$

$$G = \sum_{i=1}^{n}(G_i + \ldots..G_n)/4$$

Il modello quantitativo non lineare, invece, in formula è stato il seguente:

$$EI = P \times S \times G$$

$$G = \sum_{i=1}^{n}(G_i + \ldots..G_n)/4$$

- P indice di probabilità ottenuto considerando le aziende olivicole dell'area di studio e la loro evoluzione nel tempo

- S sensibilità dell'area costituita dalla sommatoria non ponderata di alcuni fattori quali densità della popolazione (S_1), popolazione attiva in agricoltura (S_2) e Sau pro capite (S_3)

- G gravità dell'impatto costituito dalla sommatoria di alcuni parametri quali incidenza delle aziende agrituristiche sul totale dell'area (G_1), incidenza aziende olivicole sul totale dell'area (G_2), incidenza aziende olivicole sulle aziende con colture arboree dell'area (G_3) e l'incidenza delle aziende agricole sul totale dell'area (G_4)

Per verificare le relazioni esistenti tra sviluppo dell'attività agrituristica, presenza di aziende olivicole, si è ricorso all'analisi degli indici specifici di specializzazione produttiva (Isp), ottenuto dall'applicazione di un modello nel quale l'intervallo di valori unitari è compreso tra ± 1 (Bagarini *et al.*, 1995):

$$Isp_{=} [(aij-bi)]/ [(1-a_{ij})b_i + (1-b_i)a_{ij}]$$

$$a_{ij} = \frac{x_{ij}}{\sum_{ij} x_{ij}} \qquad b_i = \frac{\sum_j x_{ij}}{\sum_i x_{ij}}$$

X_{ij} rappresentano il numero delle aziende agrituristiche o olivicole attive nell'area di studio in ogni comune j-esimo

Risultati e discussione

L'analisi dell'EI, applicando entrambe le metodologie, ha consentito di fare dei confronti tra le tre aree di studio dalla quale è emerso come nella provincia di Viterbo si siano osservati i valor più alti, con forti intervalli di oscillazione, sia rispetto al valore medio sia come intervallo (tabb. 1 e 2). L'analisi dei punteggi, inoltre, ha consentito di osservare come il valore

Tab. 1 - Confronto tra i valori dell'EI delle diverse aree di osservazione ottenuto con il modello lineare.
Tab. 1 - Comparison among the value of EI index in different areas of study using a linear model.

Area considerata	Media	Deviazione standard	Minimo	Massimo	Intervallo	CV
Dop Tuscia	75,75	10,97	58	97	39	0,1448185
Dop Canino	71,16	9,75	63	100	37	0,1370152
Dop Sabina	74,06	8,52	59	95	36	0,1150419
Complessiva	*74,56*	*9,83*	*58*	*100*	*42*	*0,1318401*

Tab. 2 - Confronto tra i valori dell'EI delle diverse aree di osservazione ottenuto con il modello non lineare.
Tab. 2 - Comparison among the value of EI index in some areas of study using a non linear model.

Area considerata	Media	Deviazione standard	Minimo	Massimo	Intervallo	CV
Dop Tuscia	3.536,79	1.311.96	1.759,50	7.182,00	5.422,50	0,3709465
Dop Canino	3.051,96	1.155,02	2.025,00	6.300,00	4.275,00	0,3784519
Dop Sabina	3.203,23	1.033,83	1.806,25	6.069,00	4.262,75	0,3227461
Complessiva	*3.331,11*	*1.182,96*	*1.759,50*	*7.182,00*	*5.422,50*	*0,3551249*

più elevato si sia riscontrato nei comuni che sono stati e che sono capofila e *leader* nella produzioni olivicola di qualità certificata. Nell'area dove si produce l'olio Canino Dop si sono osservati i valori più alti e con comuni nei quali sono stati riscontrati valori ampi di oscillazione dal valore medio. Nell'area dove si produce l'olio Sabina Dop i valori rilevati sono stati abbastanza significativi e i valori minimi sono stati riscontrati in quei comuni satellite, che hanno fortemente risentito del fenomeno di controurbanizzazione dell'area romana, divenendo paesi cuscinetto della stessa, caratterizzati da limitate estensioni e nei quali l'attività agricola di qualità cerca di coniugarsi, in posizione interstiziale, con attività ben affermate nel settore terziario. In quest'area, tuttavia, si è potuto osservare come nei comuni con forte tradizione olivicola, agricola e agrituristica i valori si sono collocati ben al di sopra del valore medio. Nella provincia di Viterbo, l'analisi dei singoli comuni, dove si è proceduto in tempi recenti alla istituzionalizzazione della produzione olivicola Tuscia Dop, ha fatto rilevare, benché il valore dell'EI medio dell'area sia stato il più alto in assoluto, diversi comuni con valori bassi e non sufficienti.

L'analisi dei dati ottenuti con il metodo non lineare ha confermato un limitato impatto delle aree caratterizzate da produzioni olivicole certificate, consolidatesi nel tempo; tuttavia, il confronto tra le diverse aree, espresso in termini di coefficiente di variabilità (CV), ha confermato una maggiore variabilità del modello non lineare rispetto a quello lineare. Su 102 comuni considerati nell'area di studio, l'analisi dell'EI lineare ha evidenziato come 78 si siano collocati su valori positivi di classificazione, superiore al valore ritenuto sufficiente e pari a 68 e come molti comuni si collochino in comprensori di parchi naturali, riserve naturali e/o riserve regionali. I comuni capofila delle aree di produzione olivicola Dop (centri propulsori della qualità) si sono collocati in posizione più che eccellente raggiungendo dei valori di 100 o ad esso prossimi. I dati rilevati con l'EI non lineare hanno, parzialmente, confermato quanto sopra riportato, anche se solo 53 comuni si sono collocati al di sopra del valore di sufficienza pari a 3.000, riducendo il numero di comuni con punteggi d'eccellenza.

Per completare l'analisi si è proceduto all'analisi delle componenti principali sui diversi parametri considerati, in maniera tale da ordinare e avere un giudizio complessivo sulle varie componenti/parametri osservate. I primi 8 parametri del modello spiegano la variazione del punteggio ottenuto per oltre l'80% e, pertanto, qualora si intendesse riformulare e riponderare il modello sarebbe auspicabile assegnare dei coefficienti diversi alle prime 8 componenti. Tuttavia il fatto che l'80% della varianza sia spiegata dalle prime 8 componenti non è esaustiva; infatti, applicando il metodo di Kaiser (Righi, 2000), ossia considerare solo le componenti che hanno una percentuale di varianza spiegata non inferiore al valore unitario, il numero delle componenti e dei parametri da considerare passa da 8 a 15, in grado di comprendere il 93% della varianza spiegata. L'osservazione della correlazione esistente tra i fattori considerati e le prime due componenti principali ha evidenziato come ci sia stata una forte correlazione positiva con lo sviluppo delle aziende olivicole e con l'incremento delle aziende con colture arboree.

L'Indice di specializzazione territoriale (Isp) ha confermando come i comuni con forti tradizioni e specializzazioni produttive agro-alimentari nella produzione olivicola e ruralità, in senso ampio, hanno confermato la stretta relazione che esiste tra attività agri-

turistica e specializzazione produttiva olivicola. Nei comuni nei quali si è riscontrato un movimento turistico affermato, presenza di un centro turistico attrattore, si è avuto un notevole incremento delle aziende agrituristiche; in particolar modo ciò si è osservato nei comuni caratterizzati da un'olivicoltura ben radicata con il tessuto storico e sociale, coesa al territorio, a seguito del riconoscimento della certificazione Dop della produzione olivicola. L'analisi della correlazione tra gli Indici di specializzazione inerenti alla coltivazione dell'olivo in area Dop e le aziende agrituristiche ha fatto rilevare come, tra queste variabili, esista una relazione negativa e che tale valore si è ridotto nel corso degli anni di osservazione. Per effettuare il confronto dei dati inerenti al punteggio ricavato con le diverse metodologie (modello lineare, non lineare e analisi condotta dall'Insor) si è utilizzato il coefficiente di variabilità, dal quale è emerso una maggiore variabilità nelle aree Dop Tuscia e Dop Canino (tab. 3); la spiegazione di ciò è imputabile a una diversa numerosità dei comuni presenti in ciascuna area e alla presenza di tipologie di turismo diversificate; nelle aree dove la coltivazione dell'olivo è più antica e radicata l'oscillazione rilevata è stata meno sensibile. Dall'analisi è emerso come nelle aree olivicole affermate, la variabilità è stata inferiore.

Conclusioni

L'analisi compiuta ha confermato in alcuni comuni, caratterizzati dalla presenza di prodotti agro-alimentari di qualità, di un rischio connesso con la mancata integrazione tra attività agricola-prodotti agroalimentari di qualità-attività agrituristica. L'analisi ha confermato l'interpretazione che vede l'agriturismo elemento capace di integrarsi con le produzioni agroalimentari di qualità certificata. La ricerca ha confermato l'esistenza di una fitta rete di relazioni aziendali ed interaziendali, che possano rafforzare il distretto olivicolo, il quale deve essere capace di comprendere le tre aree e generare un unico distretto agro-rurale di qualità, caratterizzato da un identico elemento di centralità produttiva e consentendo di coordinare e promuovere il territorio e le sue potenzialità. In questa analisi, infatti, è emerso come lo sviluppo integrato agricoltura-turismo-cultura è avvenuto in quelle realtà nelle quali il turismo e l'innovazione sono legate tra loro, sulle quali sarà opportuno intervenire con pacchetti di intervento e soluzioni specifiche, tra cui possiamo annoverare quelle previste nell'Iniziativa comunitaria Leader capace, per le aree rurali, di garantire un turismo diffuso e integrato alle tradizioni e al territorio.

Nel corso dell'indagine è emersa una disponibilità a pagare un plusvalore per acquistare un olio di qualità certificata; tuttavia, i risultati appaiono non discostarsi di molto da quelli ottenuti in altre ricerche su prodotti olivicoli biologici in areali dell'Italia meridionale, nei quali la reattività era apparsa abbastanza bassa, poichè solo il 65% del campione si era dimostrato disponibile a pagare un *premium price* entro una percentuale del 20% in più e meno del 5% del campione intervistato oltre il 50% (Cicia e Perla, 2000). Nella presente indagine l'importo, sia in termini percentuali sia in termini di euro, ha confermato come il *premium price* non riesce a sopperire ai costi necessari per la certificazione e l'appartenenza al consorzio, sopratutto per le aziende olivicole di media dimensione tipiche dell'area di studio.

Tab. 3 - Confronto tra i coefficienti di variabilità delle analisi condotte.
Tab. 3 - Comparison among the coefficients of variability in the areas of study.

Area	Modello lineare	Modello non lineare	Analisi Insor*	Analisi Insor**
Dop Tuscia	0,141	0,370	0,346	0,307
Dop Canino	0,130	0,378	0,317	0,317
Dop Sabina	0,115	0,322	0,389	0,268

* Analisi eseguita considerando i comuni urbani e attribuendo ad essi il valore 0
** Analisi senza considerare i comuni urbani

Riassunto

Il presente studio ha analizzato nella regione Lazio il ruolo socio-economico che la coltivazione dell'olio di qualità certificata ha avuto nel poter salvaguardare le aree interne a rischio marginalizzazione, mediante l'applicazione di un modello lineare di studio della multifunzionalità, dal quale è emerso come il riconoscimento di un olio di qualità certificata ha consentito un significativo sviluppo di aziende olivicole pluriattive e in grado di essere multifunzionali. La disponibilità a remunerare il premium price necessario per la certificazione è, tuttavia, un elemento di forte criticità, non completamente percepito nei suoi diversi aspetti ed implicazioni, dal consumatore e che rappresenta un fattore che limita la crescita e lo sviluppo di produzioni olivicole di qualità certificata.

Parole chiave: marginalizzazione, disponibilità a pagare, premium price, multifunzionalità, agriturismo.

Bibliografia

ARPA LAZIO, 2003. *Manuale operativo Emas- Metodo per l'individuazione degli aspetti ambientali significativi e check list di autovalutazione.* www.arpalazio.i/pubblicazioni/pubblicazioni: 1-33.

BAGARINI M., BELLIGGIANO A., FIORILLI G., PISTACCHIO G., 1995. *La specializzazione produttiva dell'agricoltura molisana.* (a cura di Cannata G) in Lo sviluppo del mondo rurale: problemi e politiche istituzioni e strumenti, Atti XXXI Convegno Sidea Campobasso, Il Mulino, Bologna: 907-915.

CICIA G., PERLA C., 2000. *La percezione della qualità nei consumatori di prodotti biologici: uno studio sull'olio extravergine di oliva tramite conjoint analysis.* a cura di F. De Stefano Qualità e valorizzazione nel mercato dei prodotti agroalimentari tipici, Edizioni scientifiche italiane, Napoli: 237-252.

DAMIANO L., 2004. Quaderno di informazione socio-economica n°9- Il turismo rurale del Lazio. a cura di Assessorato all'agricoltura della Regione Lazio, disponibile sul sito www.agricoltura.regione.lazio.it link quaderni di informazione.

FINCO A. DI PRONIO G. POLLONARA M., 2005. *Multifunzionalità e sviluppo rurale delle zone montane.* Economia Agraria, 60(2): 449-468.

GALLUZZO N., 2005. *Analisi geostatistica e di impatto socio-economico-ambientale dell'agriturismo sulle comunità rurali della regione Lazio.* Pre atti su cd-rom del X Convegno nazionale interdisciplinare "Il mosaico paesistico-culturale come volano per il turismo e risorsa per le comunità e l'agroambiente", Ipsapa/Ipsalem-Università di Udine.

IRSPEL, 1991. *Studio sulle potenzialità del territorio laziale ai fini dello sviluppo agrituristico*. Roma.

RIGHI P., 2000. *Elementi di analisi statistica multivariata applicata alle analisi territoriali.* (a cura di Del Colle E., Esposito G.F.), Economia e statistica per il territorio, Francoangeli, Milano:199-249.

Acta Italus Hortus 1: 243-246

L'olivo: elemento del paesaggio culturale

Calandrelli M.M.[1], Calandrelli R.[2], Acampora G.[1] e Cirillo C.[1]
[1]CNR Istituto di Biologia Agro-ambientale e Forestale, Napoli
[2]CNR Istituto di Studi Giuridici Internazionali, Napoli

Olive: element of cultural landscape

Abstract. The Mediterranean area is an area characterized by a high biodiversity. In it concentrates 16% of plant species existing significant percentage when you consider that only 2.25% of the land are regions having a Mediterranean climate, where the territory of the Mediterranean basin presents greater extent. The olive tree is a fundamental element of the natural vegetation of the Mediterranean environment and characterizes the natural landscape and, starting from the fourth millennium BC (Zohary and Hopf, 1993), anthropic. Olive farming has often involved modifications geomorphology (terrace) in specific parts of the territory, which have not only allowed the preservation of the delicate water balance of the slopes but are an element of historical and cultural heritage of the Mediterranean populations. The terraces are the fundamental elements of the cultural landscape. Farina (2000) defines this landscape "a geographical area where human activities and environmental trends have been integrated so as to create ecological models and control mechanisms that determine the presence, distribution and abundance of species" and therefore strongly influenced by human activity and employee. Cultural landscapes are areas where their impact is significant due to anthropogenic changes of land use, for replacement of the biological communities and the remarkable input of energy subsidiary made (Massa et al., 2004).

Key words: cultural landscape, terrace, preservation.

Nell'antichità classica nessun albero fu tanto utile, pregiato e venerato dai popoli mediterranei come l'olivo. Lucius Junius Moderatus Columella, agronomo romano del I secolo d.C., attribuiva all'olivo una posizione predominante tra gli alberi: "*olea prima arborum est*".

L'olivo era considerato dai greci e dai romani come la principale coltura del Mediterraneo e pertanto esso ha avuto un ruolo fondamentale nella storia dell'umanità; la protezione e difesa di tale pianta contribuisce a preservare i valori della civiltà e della cultura (Schäfer-Schuchardt, 1996).

Per la sua facile adattabilità a condizioni di scarsa disponibilità idrica e nutrizionale, per il valore ecologico di conservazione dei terreni fortemente declivi e per il valore paesaggistico non trascurabile, l'olivo rappresenta un elemento di rilievo dei paesaggi culturali. Sono definite tali quelle aree rurali in cui l'assetto strutturale e tipologico delle coltivazioni, le modalità di utilizzo dei prodotti, l'architettura dei manufatti rendono questi paesaggi unici e riconoscibili.

Un paesaggio culturale può essere definito un'area in cui i processi naturali (capitale naturale) e quelli umani (capitale culturale e capitale economico) da lungo tempo sono tra loro in un rapporto simbiotico (*sensu latu*) (Farina 2001).

I paesaggi culturali sono quindi il riflesso tra le interazioni tra l'uomo e il suo ambiente naturale attraverso lo spazio ed il tempo. Tuttavia affinché si sviluppi un paesaggio culturale necessita che le azioni dell'uomo e le forzanti naturali interagiscano tra di loro attraverso una sorte di meccanismi a feedback, ma soprattutto necessitano di un elemento discriminante, il tempo, che permette all'uomo ed alla natura prima di interagire e poi di accomodarsi e di strutturarsi.

In questo contesto quindi appare chiaro che l'impronta della cultura umana è determinante nella nascita e sviluppo del paesaggio culturale, e la pianta di olivo è stata la prima ad essere selezionata dall'uomo: la sua storia e quella delle civiltà mediterranee si intrecciano da oltre settemila anni. L'olivo ha costituito un contributo ed un elemento indispensabile al benessere quotidiano e ad un raffinato modo di vita. Luce, medicamenti, unguenti e profumi, lubrificanti, alimento, condimento, calore e legno sono i preziosi doni dell'olivo all'uomo. Lo sviluppo della coltura dell'olivo ha quindi accompagnato le condizioni socio-economiche, politiche ed ambientali, delle diverse popolazioni che ne sono venute in contatto, caratterizzandone anche la qualità della vita e ispirandone versi e poemi.

Non è un caso, quindi che tanto la produzione quanto il consumo di olio di oliva si concentrano in grande misura nella Comunità Europea, particolarmente in Italia, Spagna, Grecia, Portogallo e in parte anche in Francia, in quelle aree cioè che sono state la culla delle civiltà Mediterranee. Ma l'oliveto e l'olio

Fig. 1 - Distribuzione dell'olivo nel Mediterraneo.
Fig. 1 - Olive groves' landscape in Mediterranean Basin.

d'oliva sono fondamentali nell'agricoltura di tutto il bacino del Mediterraneo, così che anche la Tunisia, la Turchia, la Siria e il Marocco sono produttori e consumatori di notevole importanza.

Esiste un rapporto diretto tra sviluppo civile ed olivicoltura in tutta le civiltà dell'area del mediterraneo: la distribuzione dell'olivo ha subito nei secoli vicende alterne seguendo la variazione delle condizioni politiche, sociali ed economiche.

La localizzazione geografica degli oliveti conferisce a questa produzione agricola alcune caratteristiche economiche e sociali molto peculiari. In primo luogo, il suo carattere di monocoltura su grandi zone, come conseguenza di un perfetto adattamento all'ambiente mediterraneo, in zone molto caratterizzate dall'orografia alpina e, pertanto, con una topografia molto accidentata. Questo fatto condiziona la possibilità di intensificare nelle regioni mediterranee la coltura dell'olivo di collina o di montagna. In dette zone, l'olivo rappresenta una delle poche alternative produttive per l'agricoltura e la conservazione dell'ambiente (Tiò, 1996).

In Italia i pendii e le colline hanno resistito nel tempo all'erosione, agli incendi, alla desertificazione e assumono le forme tramandate dai vedutisti e apprezzate dai viaggiatori grazie all'azione continua esercitata da parte dell'uomo che ha nel tempo modellato il quadro naturale dei declivi realizzando habitat complessi e paesaggi culturali peculiari: il sistema dei terrazzamenti.

Uno dei principali problemi legati all'agricoltura dell'olivo è l'erosione, sia di origine meteorica che eolica, che colpisce più di un terzo delle zone agricole del mediterraneo, causando, negli appezzamenti in pendenza, una perdita annua di terreno compresa tra le 60 e 150 tonnellate per ettaro (Laguna, 1989).

Il terrazzamento non è quindi solo la muratura di sostegno, il terreno da essa contenuto, le coltivazioni, le opere idriche, ma una tecnica tradizionale complessa frutto di conoscenze costruttive, idrauliche e agrarie applicate in perfetta comprensione delle caratteristiche idrogeologiche e climatiche, capace di utilizzare in modo appropriato le risorse ambientali e prevenirne i rischi creando un sistema che si auto regola, dotato di elevata qualità estetica e di integrazione con il paesaggio (Laureano, 2004).

Questi permettono di utilizzare terre rimaste marginali rispetto ai precedenti spazi di coltivazione come i terreni impervi, le sommità elevate, i declivi scoscesi delle coste e dei valloni specifici del paesaggio mediterraneo. L'uso dei sistemi di terrazzamento in pietra a secco e malta ha reso possibile la creazione di appezzamenti coltivabili in pendii altrimenti inutilizzabili e ha svolto la funzione di contenere il suolo evitando scivolamenti a valle e frane. Su queste strutture, e grazie alle conoscenze perpetuate attraverso queste tecniche, si sono costruiti i percorsi e le abitazioni tanto che il sistema dei campi terrazzati può essere definito la dinamica che ha permesso l'edificazione dell'ambiente appenninico ed europeo montano come paesaggio culturale creato in armoniosa organizzazione dell'ambiente.

Le aree collinari e di pendio montano e costiero sono una componente fondamentale dell'ambiente tradizionale italiano ed europeo. Lungo tutto l'Appennino, con i livelli straordinari dei versanti terrazzati delle

Fig. 2 - Terrazzamenti a oliveti.
Fig. 2 - Olive groves' terraced.

Fig. 3 - Paesaggio con oliveti in Toscana.
Fig. 3 - Olive groves' landscape in Tuscany (Italy).

Cinque Terre e di Amalfi, danno luogo ad ecosistemi rurali e urbani di grande fascino e tradizione.

La Campania può vantare una storia olivicola molto antica e una struttura produttiva dalle grandi potenzialità. Nel Cilento, nella Penisola Sorrentina, a Paestum, ma anche in numerose altre aree della regione, la presenza dell'olivo è ampiamente documentata. La tradizione vuole che le prime piante fossero introdotte dai Focesi, nel IV sec. a.C. I differenti tipi di coltivazione e di varietà riflettono una diversità paesaggistica; si passa dagli oliveti impiantati sui terreni scoscesi delle coste soleggiate della provincia salernitana e della Penisola Sorrentina agli olivi allevati in alta collina dell'Irpinia fino a quelli in filari regolari delle colline interne del casertano e del Sannio.

L'olivo domina il paesaggio nelle aree interne e svolge una funzione insostituibile nella protezione del suolo e nella conservazione dell'ambiente. In Campania il 90% dell'olivicoltura interessa territori collinari, quelli cioè a più alto rischio di frane e smottamenti; in tal caso la coltura dell'olivo diventa anche presidio del territorio, che esso stesso impreziosisce da secoli.

Inoltre l'olivo non blocca la crescita di altre specie botaniche, anzi cresce bene anche in consociazione arborea e lascia crescere ai suoi piedi ogni tipo d'erba, contribuendo quindi al mantenimento della diversità biologica nelle aree di coltivazione.

L'ulivo richiede cure adeguate per produrre di più ma, anche se abbandonato, offre comunque i suoi frutti e migliora la qualità dell'aria. Solo il gelo intenso può stroncarlo, ma col tempo, dal ceppo, torna a germogliare. Attraverso la cura delle coltivazioni viene così garantita la fertilità dei suoli che altrimenti lasciati a se stessi sarebbero soggetti ad impoverimento ed erosione.

L'apporto dei nutrienti provenienti dagli animali allevati dagli stessi olivicoltori e dai cascami delle produzioni agricole accresce la varietà delle coltivazioni e quindi man mano la complessità ecologica del paesaggio culturale aumentando la resilienza di questi territori.

Inoltre gli oliveti presenti in tutto il bacino del Mediterraneo costituiscono degli ambienti molto importanti per tutte le specie di uccelli frugivori svernanti.

I paesaggi culturali poiché nascono dall'azione dell'uomo non possono fare a meno per il loro mantenimento e la loro conservazione della continua azione dell'uomo, di conseguenza una conservazione passiva non è possibile. Un paesaggio culturale se abbandonato in poco tempo scompare e viene sostituito da coperture forestali, in cui però non ritroviamo la stessa complessità biologica, e quindi si ha una diminuzione della diversità di specie.

L'azione di mantenimento dei paesaggi culturali passa attraverso una moltitudine di azioni che interessano diverse categorie di professionisti e che spesso sono il risultato di una mediazione tra interessi conflittuali.

Non a caso l'Unesco ha riconosciuto certi paesaggi importanti come espressione della cultura di un popolo e ne ha raccomandato la conservazione e la loro valorizzazione.

Tra questi sicuramente il paesaggio culturale dell'olivo si inserisce a pieno titolo tra quei paesaggi culturali ancora in grado di garantire all'uomo tutte quelle specificità proprie dei paesaggi culturali e di favorirne nel contempo la sintesi tra l'identità culturale delle popolazioni che da sempre lo hanno coltivato e il loro benessere economico.

Riassunto

L'area mediterranea è un'area caratterizzata da una elevatissima biodiversità. In essa si concentra il 16% delle specie vegetali esistenti; percentuale rilevante se si pensa che solo il 2,25% delle terre emerse sono regioni a clima mediterraneo, in cui il territorio del bacino mediterraneo presenta la maggiore estensione.

L'olivo rappresenta un elemento fondamentale della vegetazione naturale dell'ambiente mediterraneo e ne caratterizza il paesaggio naturale e, a partire dal IV millennio A.C. (Zohary e Hopf, 1993), antropico. La coltivazione dell'olivo ha spesso comportato delle modifiche geomorfologiche (terrazzamenti) in specifiche parti del territorio, che non solo hanno permesso la conservazione del delicato equilibrio idrogeologico dei versanti ma costituiscono un elemento di eredità storica e culturale delle popolazioni mediterranee. I terrazzamenti rappresentano dei fondamentali elementi del paesaggio culturale. Farina (2000) definisce tale paesaggio "*un'area geografica nella quale le attività umane e le dinamiche ambientali si sono integrate a tal punto da creare modelli ecologici e meccanismi di controllo che determinano la presenza, la distribuzione e l'abbondanza delle specie*"; è, pertanto, strettamente influenzato e dipendente dall'attività umana.

I paesaggi culturali sono aree in cui l'influenza antropica è rilevante a causa delle alterazioni dell'uso del suolo, per la sostituzione delle comunità biologiche e per il notevole input di energia sussidiaria apportata (Massa *et al*.,2004).

Il paesaggio agrario ad uliveti della costiera amalfitana ripropone il terrazzamento quale modalità di sistemazione dei versanti più adatta alla frammentarietà e alla acclività dei rilievi. Sui ripidi pendii calcarei la coltivazione dell'olivo è stata possibile attraverso l'ausilio di questa forma d'ingegnerizzazione del territorio che ha ridotto l'erosione mediante la creazione di piccole superfici piane nelle quali l'acqua non è in grado di asportare la parte superficiale biologicamente più ricca, e quindi tale tecnica ha reso possibile l'agricoltura in zone di difficile accessibilità dove, però, non è nemmeno consentito l'intervento delle macchine agricole e quindi nel tempo, al variare delle condizioni socio economiche, sono state abbandonate con la conseguenza che sono state riguadagnate dalla vegetazione, in parte spontanea e in parte esotica, con un notevole incremento del rischio di incendio e della successiva erosione.

La Comunità Europea ha invitato tutte le nazioni a proteggere i terrazzamenti come sistema fondamentale per la salvaguardia del paesaggio e la lotta alla desertificazione e al degrado dei suoli.

Solo se riconosciute ed esaltate nelle loro valenze, gli uliveti costieri possono proporsi quali innovativi fattori di sviluppo socio-economico e nello stesso tempo garantire le funzioni ecosistemiche.

Parole chiave: paesaggio culturale, terrazzamento, conservazione.

Bibliografia

FARINA A., 2001. *Ecologia del paesaggio*, UTET, Torino (Italia)

LAGUNA A., 1989. *Estudio quantitativo de la erosión del suelo*, Tesi di dottorato, Dipartimento di Agronomia, Università di Cordova, Spagna.

LAUREANO P., 2004. *Il sistema dei terrazzamenti nel paesaggio euromediterraneo*, in La Cultura dei terrazzamenti per la Salvaguardia del Paesaggio, (Atti del Convegno 2004), Ed. Menabò, Salerno.

MASSA R., INGEGNOLI V., 1999. *Biodiversità estinzione e conservazione*, UTET, Torino (Italia)

REGIONE CAMPANIA, 2009, Oli della Campania, Tipicità e qualità, Imago Media srl, Dragoni (CE).

SCHÄFER-SCHUCHARDT H., 1996. *Espansione culturale ed artistica* in Enciclopedia mondiale dell'olivo, cap. I, EGEDSA, Sabadell (Spagna).

TIÒ C., 1996. *Aspetti economici e politica commerciale* in Enciclopedia mondiale dell'olivo, cap. X, EGEDSA, Sabadell (Spagna).

Acta Italus Hortus 1: 247-248

L'ulivo nella rappresentazione pittorica del paesaggio

Iannuzzi F.[1], Patrizio S.[1] e Naimoli M.[2]
[1]CNR IBAF, via Pietro Castellino 111, 80131 Napoli
[2]Dottore di Ricerca in Storia del Paesaggio

The olive tree in the landscape pictorial representation

Abstract. This work try to start a stage of consideration about the millenarian presence of olive trees in the Mediterranean landscape. The highly symbolic component of olive trees strongly conditioned the development and has been perceived and exalted over the time by poets, painters and artists from any walks of social, cultural and national.

Key words: art, mediterranean landscape, olive tree.

Nella civiltà contadina del Mediterraneo una delle piante che più ne ha rappresentato, attraverso il plurimillenario sviluppo socio-economico, l'essenza stessa è certamente l'albero di ulivo. Esso è stato, volta a volta, circondato da aloni di magie, di sacralità, di divinità che travalicando i confini stessi della umana sapienza si è ammantato di poteri anche soprannaturali, convalidati dalle sue assunzioni a pianta simbolo di miti e di storia pagana e cristiana.

La sua trascendentale bellezza, il magico colore delle sue chiome, la straordinaria sensazione di forza e di vitalità che scaturisce dai tronchi (spesso) millenari, contorti ed attorcigliati in forme assolutamente esclusive e particolarissime in natura hanno infinite volte stimolato la fantasia di artisti, letterati, scienziati ed umanisti che ne hanno fatto oggetto di studi e riflessioni di grande fascino.

Fare l'elenco delle citazioni letterarie e delle rappresentazioni pittoriche di cui questa pianta è stata oggetto sarebbe pressoché impossibile. Vale però senz'altro la pena di aprire una finestra di riflessione sull'argomento per tutti coloro che, partecipando a questa manifestazione, incuriositi dal nostro lavoro, vorranno approfondire personalmente la ricerca.

Nelle immagini presentate, partendo da una ripresa diretta ed attuale di un uliveto in Cilento, si lascia libera la fantasia del visitatore di scorrere magicamente ricostruendo il *patos* creativo di un Van Gogh o di un Renoir, massimi interpreti, a nostro avviso, della espressività artistica dell'ulivo. A questi artisti, inoltre, ci piace accostare le immagini di due opere di Paraskèvaidis e di Guerrazzi nella cui composizione, alle bellezze paesaggistiche-ambientali delle scene riprodotte, è accostato il duro, silente, infinito lavoro dei contadini, uomini e donne in campagna.

Fig. 1 - Alberi di olivo (foto di F. Jannuzzi e S. Patrizio).
Fig. 1 - Olive trees (F. Jannuzzi and S. Patrizio Photo).

Fig. 2 - "Oliveto con nuvola bianca", Vincent Willem Van Gogh (1853-1890).
Fig. 2 - Olive with white cloud Vincent Willem Van Gogh (1853-1890).

Fig. 3 - “Alberi di olivo”, Pierre-Auguste Renoir (1841-1919).
Fig. 3 - Olive trees Pierre-Auguste Renoir (1841-1919).

Fig. 4 - “Alberi olivo”, Vincent Willem Van Gogh (1853-1890).
Fig. 4 - Olive trees, Vincent Willem Van Gogh (1853-1890).

Riassunto

Questo lavoro tenta di avviare una fase di riflessione circa la presenza millenaria di alberi di olivo nel paesaggio mediterraneo. La componente altamente simbolica di alberi di olivo ha fortemente condizionato lo sviluppo socio-economico del Mediterraneo e gli olivi sono stati percepiti ed esaltati nel tempo da poeti, pittori e artisti provenienti da ogni ceto sociale, culturale e nazionale.

Parole chiave: Arte, Paesaggio Mediterraneo, Ulivo.

Fig. 5 - “La raccolta delle olive”, Francesco Domenico Guerrazzi (1804-1873).
Fig. 5 - The olive harvest, Francesco Domenico Guerrazzi (1804-1873).

Migliorare le propietà salutistiche e sensoriali dell'olio extravergine di oliva: nuovi approcci tecnologici

Servili M., Esposto S., Taticchi A., Urbani S., Selvaggini R., Di Maio I. e Veneziani G.
D.S.E.E.A., Sezione di Tecnologie e Biotecnologie degli Alimenti, Università di Perugia

Improvement of health and sensory proprieties of extravirgin olive oil: new approach in oil processing

Abstract. The oil mechanical extraction process affects sensory and health parameters of virgin olive oil (VOO) quality. The genesis of volatile compounds and the release of phenolic antioxidants in the oil, greatly affecting VOO quality, are directly related to the extraction process. Biological activities of these hydrophilic phenols influence not only the shelf-life but also its health and sensory proprieties. Prevalent classes of VOO hydrophilic phenols are phenolic alcohols, lignans and secoiridoids. Secoiridoids can be also found in high amounts in the by-products of oil mechanical extraction process such as vegetation waters and pomaces. The volatile compounds responsible for VOO flavour are produced by the lipoxygenase pathway (LPO) catalysing the genesis of C5 and C6 saturated and unsaturated aldehydes, alcohols and esters. These compounds are correlated to the VOO "cut grass" and "floral" sensory notes. The concentrations of hydrophilic phenols in VOO and in its by-products and VOO volatile compounds, are strongly affected by the operative conditions of oil mechanical extraction process. In this context the new approach to the VOO extraction technologies have the following targets: optimization of the processing condition for improving the VOO health and sensory characteristics; by-products valorisation (stoned olive pomaces and vegetation waters).

Key words: Mechanical extraction process, phenols, volatile compounds, by-products

Un nuovo approccio alla qualità degli oli extravergini di oliva

L'innovazione di processo nel settore degli oli vergini di oliva dovrebbe avere come filo conduttore un profondo rinnovamento del concetto di qualità; i parametri merceologici, che determinano l'attuale classificazione in "extravergine", "vergine" e "lampante" risultano di fatto inappropriati ad esprimere i molteplici aspetti della qualità degli oli extravergini di oliva, che includono anche parametri relativi al valore salutistico ed alle specificità sensoriali dell'olio. In base al Reg.to 1989/2003 i parametri analitici che classificano le tre categorie merceologiche suddette tendono a caratterizzare gli oli puntando sulla determinazione di un, relativamente basso, livello di alterazione ossidativa ed idrolitica (acidità libera, numero di perossidi e costanti spettrofotometriche). A quanto sopra si aggiungono un cospicuo numero di ulteriori parametri analitici (composizione sterolica, alcoli alifatici e triterpenici cere composizione acidica e gliceridica ecc…), atti a validare la genuinità dell'olio; aspetto quello della genuinità sicuramente basilare ma certamente non esaustivo nei riguardi della tutela di un prodotto che vede, nelle caratteristiche salutistiche e sensoriali, i principali punti di forza per la sua affermazione sui mercati mondiali (Reg. UE, 2003).

In questo contesto va osservato che sulla base delle attuali conoscenze scientifiche, si sarebbe in grado di definire analiticamente per questo prodotto, le sostanze più direttamente implicate nel conferire benefici alla salute umana come gli antiossidanti naturali, l'alto contenuto in acido oleico e squalene. A tale riguardo, l'attuale classe degli oli extravergini di oliva non fa alcuna menzione in etichetta dei suddetti componenti e quindi non è in grado di informare il consumatore circa le qualità salutistiche del prodotto.

Nella tabella 1 si riportano dei valori relativi al contenuto in antiossidanti naturali degli oli extravergini di oliva, in particolare, quello in α-tocoferolo e quello in composti fenolici totali (tab. 1). I dati, relativi a più di 400 campioni, mostrano in modo eclatante come non ci sia alcuna rispondenza tra la categoria merceologica dell'olio extravergine di oliva ed il contenuto in antiossidanti naturali in esso presenti. Si può infatti osservare un intervallo di variabilità relativo ai valori minimi e massimi riscontrati a dir poco imba-

Tab. 1 - Valori medi di α-tocoferolo e polifenoli totali (mg/kg) valutati su 433 campioni di oli extravergini di oliva italiani. (Servili *et al*., 2010 dati non pubblicati).
Tab. 1 - Mean values of α-tocopherol and total phenols (mg/kg) contained in 433 voo samples.

Parametri	Media	Massimo	Minimo
α- Tocoferolo	250,6	751,1	23,0
Polifenoli totali	408,6	873,0	105,5

razzante per un prodotto che appartiene alla stessa categoria commerciale. Si dovrebbe quindi provvedere ad una profonda modifica della normativa al fine di suddividere la classe merceologica "olio extravergine di oliva" in due segmenti che includano l'"olio extravergine di oliva di alta qualità". Rispetto a tale prodotto, fatti salvi gli indici di genuinità ed abbassati gli attuali parametri di alterazione idrolitica ed ossidativa, si potrebbero inserire ulteriori parametri analitici strettamente legati alle proprietà salutistiche ed alle specificità sensoriali del prodotto. Per queste ultime si dovrebbe superare il mero concetto dell'assenza del difetto per evidenziare aspetti di pregio, sia olfattivi che gustativi. Il nuovo approccio alla classificazione di questo prodotto, potrebbe permettere al consumatore di orientarsi meglio nell'attuale "giungla" dell'extravergine.

Per quanto riguarda gli antiossidanti naturali, gli oli extravergini di oliva contengono sia tocoferoli che composti fenolici idrofili. Tra i composti fenolici idrofili le forme più esclusive contenute negli oli extravergini sono rappresentate dai derivati dei secoiridoidi. Tra questi ultimi, vanno annoverate le forme dialdeidiche dell'acido decarbossimetil-elenoico legate al 3,4-DHPEA (3,4-diidrossifeniletanolo) o al *p*-HPEA (*p*-idrossifeniletanolo) conosciute con le sigle 3,4-DHPEA-EDA e p-HPEA-EDA; è presente inoltre un isomero dell'oleuropeina aglicone (3,4-DHPEA-EA) e uno del ligustriside (p-HPEA-EA). Oltre ai secoiridoidi sono i lignani pinoresinolo e acetossipinoresinolo, i composti fenolici idrofili maggiormente concentrati negli oli extravergini di oliva. I composti fenolici idrofili sono stati oggetto di numerosi studi atti a valutarne il loro effetto antiossidante. Tali ricerche hanno riguardato soprattutto le proprietà antiossidanti e salutistiche dei derivati dell'oleuropeina (3,4-DHPEA e 3,4-DHPEA-EDA), e del 3,4-DHPEA-EA, del ligustroside, (*p*-HPEA e *p*-HPEA-EDA) e i lignani. Dai suddetti lavori scientifici è emerso che la resistenza all'ossidazione dell'olio extravergine di oliva è legata soprattutto a 3,4-DHPEA, 3,4-DHPEA-EDA e a i derivati del 3,4-DHPEA-EA, mentre i lignani sembrano avere un ruolo secondario (Servili *et al.*, 2004). Per quel che riguarda le loro proprietà nel campo della salute umana, esse possono essere riassunte come segue: a) inibizione dell'aggregazione delle piastrine del sangue e implicazione nella sintesi del trombossano nelle cellule umane; b) inibizione dell'ossidazione dei fosfolipidi e delle LDL colesterolo; c) induzione dell'apoptosi e differenziazione cellulare sulle cellule tumorali (Servili *et al.*, 2004). Oltre agli aspetti strettamente connessi alle attività antitossidanti e salutistiche dei derivati dei secoiridoidi, altre numerose indagini hanno riguardato la sfera sensoriale di tali sostanze dimostrando che essi sono i composti d'impatto delle tipiche note di "amaro" e "pungente" dell'olio extravergine di oliva. In particolare si è visto che il *p*-HPEA-EDA, ad anello aperto, ha carattere fortemente "pungente", mentre 3,4-DHPEA-EA, *p*-HPEA-EA, ad anello chiuso, rappresenterebbero i componenti di impatto per la nota "amara". Il 3,4-DHPEA-EDA, invece, avrebbe un ruolo marginale per la nota di "pungente" mentre contribuisce alla sensazione di "amaro" (Servili *et al.*, 2009a). Negli oli extravergini di oliva con una concentrazione fenolica medio-alta, cioè superiore ai 300 mg/kg, questi due gruppi di composti sono generalmente presenti in forma combinata; le due sensazioni organolettiche, di piccante ed amaro quindi, si riscontrano normalmente mescolate ma, in genere, la prima prevale sulla seconda.

L'altro importante gruppo di sostanze per l'olio extravergine di alta qualità, responsabile del caratteristico falvour, è rappresentato dai composti volatili. Sullo spazio di testa di questo prodotto ne sono stati identificati più di 180 ma la loro correlazione con l'aroma non è ancora ben conosciuta. In generale si può affermare che il flavour di un olio extravergine evidenzia note molto diverse tra loro come il "fruttato erbaceo", il "floreale", la "mela verde", il "pomodoro", la "mandorla" ecc.

Allo stato attuale delle conoscenze scientifiche è stata documentata solo la correlazione tra l'aroma di "fruttato erbaceo" e le aldeidi e gli alcoli saturi e insaturi a C5 e C6, che si originano dall'attività della lipossigenasi (LPO) durante l'estrazione meccanica dell'olio (Aparicio *et al.*, 1996; Angerosa *et al.*, 2004).

L'innovazione di processo per la produzione di olio extravergine di oliva di alta qualità

L'innovazione di processo nel settore degli oli extravergini di oliva si dovrebbe basare sulla nuova visione del concetto stesso di qualità strettamente connesso alla presenza di quei composti che, più degli altri, sono influenzati dalla tecnologia quali le sostanze fenoliche ed i composti volatili responsabili dell'aroma. Ciò premesso due sono le linee generale lungo le quali si muove l'innovazione: produrre oli extravergini di oliva con elevato impatto sensoriale e salutistico; applicare tecnologie innovative capaci di valorizzare i prodotti secondari dell'estrazione meccanica (sanse vergini ed acque di vegetazione).

Riguardo il primo punto, esso muove da alcune conoscenze di base su composizione e distribuzione degli enzimi endogeni nel frutto, che hanno evidenzia-

to come la mandorla sia particolarmente ricca di attività perossidasica (POD) atta a degradare polifenoli idrofili nel corso del processo estrattivo, ed allo stesso tempo, ininfluente nei riguardi della composizione aromatica dell'olio e delle rese all'estrazione. La lipossigenasi della mandorla infatti non produce se non in quantità marginale, composti volatili, i quali provengono principalmente dallo stesso enzima contento nella polpa. Gli studi sulla diversa distribuzione degli enzimi costitutivi del frutto nelle sue parti costitutive, hanno rappresentato la base tecnologica per l'introduzione di sistemi di frangitura, come frangitori ad effetto differenziato su polpa e nocciolo (frangitori a martelli a doppia griglia, frangitori a coltelli, frangitori a denti e frangitori a basso numero di giri)o denocciolatura delle olive (Servili *et al.*, 2002; 2007a). Entrambe le tecnologie, permetteno di ridurre la degradazione dei tessuti della mandorla, minimizzando così, l'apporto di POD in gramolatura. La denocciolatura delle olive ad esempio, permette di ottenere un notevole incremento della composizione fenolica (secoiridoidi soprattutto), e della composizione volatile (aldeidi ed alcoli a C 6, in particolare). Sempre in riferimento alle sostanze fenoliche e volatili, i frangitori ad effetto differenziato di nuova generazione consentono di produrre oli extravergini di oliva con caratteristiche intermedie tra quelli estratti da paste integrali prodotte con frangitore a martelli e da olive denocciolate (Servili *et al.*, 2002; Lavelli *et al.*, 2005, Amirante *et al.*, 2006; Servili *et al.*, 2007a).

Altro punto critico del processo estrattivo per gli oli extravergini di alta qualità è la fase di gramolatura ed il controllo selettivo delle ossidoreduttasi polifenolossidasi (PPO), POD e LPO. Dopo la frangitura, l'intero patrimonio enzimatico del frutto dell'oliva rimane attivo. In particolare, mentre l'attività lipossigenasica, che è alla base della produzione aromatica dell'olio, andrebbe favorita in fase di gramolatura, quelle degradative a carico dei polifenoli di cui sono responsabili PPO e POD, dovrebbero essere certamente inibite.

In questo contesto l'uso di gramolatrici a scambio gassoso controllato o confinate è un'innovazione tecnologica che permette di limitare i fenomeni di ossidazione enzimatica dei polifenoli, in quanto consente di ridurre la concentrazione di O_2 a contatto con la pasta in gramolatura. Come riportato in precedenti lavori, con il controllo del contenuto in O_2 all'interno della gramolatrice si può regolare il contenuto in antiossidanti degli oli finali, aspetto questo che potrebbe essere indispensabile quando si vuole ridurre/aumentare la concentrazione di tali sostanze nelle cultivar che ne sono particolarmente ricche geneticamente (o perché lavorate molto in anticipo di maturazione) e viceversa. Questo aspetto è particolarmente importate in quanto le variazioni relative all'O_2 non producono modificazioni significative del quadro aromatico dell'olio (Servili *et al.*, 2003; 2008).

Questa selettività nel contenuto in composti fenolici e sostanze volatili, ottenibile attraverso l'impiego di adeguate quantità di O_2 nel corso della gramolatura, è molto interessante, come lo è l'effetto di un altro parametro da controllare in fase di gramolatura, la temperatura (Servili *et al.*, 2003). A tale proposito è bene chiarire che in gramolatrici chiuse, in assenza di processi ossidativi a carico dei polifenoli, la distribuzione di questi tra olio e pasta, è legata alla loro solubilità nella fase lipidica che è ovviamente favorita dalle temperature elevate. L'uso di temperature superiori ai 30 °C si traduce, però, per buona parte delle cultivar nazionali, in un peggioramento delle proprietà sensoriali degli oli dovuto alla ridotta produzione aromatica delle paste in fase di gramolatura. Gli enzimi deputati alla formazione delle sostanze volatili ad impatto sensoriale hanno, infatti, temperature ottimali di attivazione, di molto al di sotto dei 30 °C. In conclusione si può quindi affermare che, mentre il controllo dell'ossigeno in fase di gramolatura delle paste permette di ottimizzare la frazione fenolica dell'olio mantenendo inalterata la frazione volatile, l'aumento della temperature in fase di gramolatura sopra i 30 °C, non ha effetto selettivo in quanto aumenta i composti fenolici a discapito della carica aromatica dell'olio (Servili *et al.*, 2008).

Innovazione nella valorizzazione dei prodotti secondari dell'estrazione meccanica degli oli vergini di oliva

Sanse vergini e acque di vegetazione sono prodotti secondari del processo di estrazione meccanica dell'olio vergine di oliva, caratterizzati da una elevata concentrazione degli stessi polifenoli bioattivi contenuti negli oli. Tra le innovazioni tecnologiche in merito è bene sottolineare il prodotto "sansa vergine" che una volta denocciolata ed essiccata, può essere impiegata nell'alimentazione zootecnica. Tale prodotto, aggiunto alla razione dietetica di animali monogastrici o poligastrici rappresenta una fonte di sostanze grasse di elevato valore biologico, in quanto caratterizzate da un olio residuo ricco in acidi grassi monoinsaturi e come già accennato, da un'elevata quantità antiossidanti naturali. I primi risultati ottenuti sul latte ovino evidenziano un effetto positivo sia sulla composizione acidica (aumento dell'acido oleico e riduzione degli acidi grassi saturi) che sulla stabilità ossidativa del latte (Pauselli *et al.*, 2007; Servili *et al.*, 2007b).

Le tecnologie applicate alle acque di vegetazione, basate su processi di filtrazione su membrana, vedono quale fine ultimo il recupero dei composti fenolici bioattivi. Le acque di vegetazione sono, infatti, particolarmente ricche dei derivati dei secoiridoidi: nel corso del processo di estrazione meccanica circa il 50% dell'intera concentrazione fenolica del frutto si trasferisce nelle acque di vegetazione. I processi di filtrazione su membrana rappresentano la combinazione di tecniche di microfiltrazione, ultrafiltrazione ed osmosi inversa, essi permettono di ottenere dei concentrati fenolici parzialmente purificati che contengono elevate quantità di derivati dei secoiridoidi, mentre l'acqua ottenuta quale permeato delle membrane, caratterizzata da un bassissimo carico organico, può essere riciclata nel processo estrattivo. I composti fenolici del concentrato purificato possono essere recuperati ed utilizzati, come nuova fonte di antiossidanti naturali ad levato valore biologico, per la produzione di alimenti funzionali e/o di integratori alimentari.

Riassunto

Il processo di estrazione meccanica degli oli extravergini di oliva influenza i parametri ad impatto sensoriale e salutistico del prodotto. La genesi dei composti volatili ed il trasferimento dei composti fenolici nell'olio sono direttamente influenzati dal processo di estrazione. La qualità degli oli extravergini di oliva è fortemente correlata al contenuto in sostanze fenoliche che influenzano oltre allo *shelf-life* le proprietà sensoriali e salutistiche dell'olio. Le classi di sostanze prevalenti sono i fenil-alcoli, i secoiridoidi ed i lignani; i secoiridoidi sono fortemente presenti anche nei sottoprodotti dell'estrazione meccanica dell'olio quali le acque di vegetazione e le sanse vergini. Tra i composti volatili responsabili dell'aroma dell'olio le aldeidi e gli alcoli a C5 e C6 ed i relativi esteri, legati all'attività delle lipossigenasi, sono più importanti e la loro presenza è stata correlata con le note di "erbaceo" e "floreale". Il contenuto in sostanze fenoliche nell'olio e nei prodotti secondari dell'estrazione meccanica così come la composizione in sostanze volatili è strettamente legata alle variabili del processo di estrazione meccanica. In questo contesto l'innovazione di processo nel settore degli oli extravergini di oliva ha due principali obiettivi: a) l'ottimizzazione delle variabili di processo, al fine di migliorare le proprietà salutistiche e sensoriali dell'olio; b) la valorizzazione dei prodotti secondari (acque di vegetazione, sanse vergini denocciolate).

Parole chiave: estrazione meccanica, polifenoli, composti volatili, sottoprodotti.

Bibliografia

AMIRANTE P., CLODOVEO M.L., DUGO G., LEONE A., TAMBORRINO A., 2006. *Advance technology in virgin olive oil production from traditional and de-stoned pastes: Influence of the introduction of a heat exchanger on oil quality*. Food Chem. 98: 797-805.

ANGEROSA F., SERVILI M., SELVAGGINI R., TATICCHI A., ESPOSTO S., MONTEDORO G.F., 2004. *Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality*. J. Chromatogr A. 1054: 17-31.

APARICIO R., MORALES M.T., ALONSO M.V. 1996. *Relationship between volatile compounds and sensory attributes by statistical sensory wheel*. J. Am. Oil Chem. Soc. 73: 1253-1264

LAVELLI V., BONDESAN L., 2005. *Secoiridoids, tocopherols, and antioxidant activity of monovarietal extra virgin olive oils extracted from destoned fruits*. J. Agric. Food Chem. 53:1102-1107.

PAUSELLI M., SERVILI M., ESPOSTO S., GERVASI G., MOURVAKI E., TATICCHI A., URBANI S., SELVAGGINI R., CONCEZZI L., MONTEDORO G.F. 2007. *Effect of destoned olive cake as animal feed on ewe milk quality*. Proc. Int. Conf. "New technologies for the treatment and valorization of agro by-products", ISRIM, Terni-Italy 3-5 October.

REG. EU 1929/03; EU Official Gazette, November 13th 2003

SERVILI M., PIACQUADIO P., DE STEFANO G., TATICCHI A., SCIANCALEPORE V., 2002. *Influence of a new crushing technique on the composition of the volatile compounds and related sensory quality of virgin olive oil*. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 104: 483-489

SERVILI M., SELVAGGINI R., TATICCHI A., ESPOSTO S., MONTEDORO G.F. 2003. *Volatile compounds and phenolic composition of virgin olive oil: optimization of temperature and time of exposure of olive pastes to air contact during the mechanical extraction process*. J. Agr. Food Chem. 51: 7980-7988.

SERVILI M., SELVAGGINI R., ESPOSTO S., TATICCHI A., MONTEDORO G.F., MOROZZI G., 2004. *Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspect of production that affect their occurence in the oil*. J. Chromator. 1054: 113-127.

SERVILI M., TATICCHI A., ESPOSTO S., URBANI S., SELVAGGINI R., MONTEDORO G.F., 2007a. *Effect of olive stoning on the volatile and phenolic composition of virgin olive oil*. J. Agr. Food Chem. 55: 7028-7035

SERVILI M., PAUSELLI M., ESPOSTO S., TATICCHI A., URBANI S., SELVAGGINI R., MONTEDORO G.F., CONCEZZI L., 2007b. *New approach to the use of stoned olive pomaces for animal feeding*. Proc. Int. Conf. "New technologies for the treatment and valorization of agro by-products", ISRIM, Terni-Italy 3-5 October.

SERVILI M., TATICCHI A., ESPOSTO S., URBANI S., SELVAGGINI R., MONTEDORO G.F., 2008. *Influence of the decrease in oxygen during malaxation of olive paste on the composition of volatiles and phenolic compounds in virgin olive oil*. J. Agr. Food Chem. 56: 10048-10055.

SERVILI M., ESPOSTO S., FABIANI R., URBANI S., TATICCHI A., MARIUCCI F., SELVAGGINI R., MONTEDORO G.F., 2009. *Phenolic compounds in olive oil: antioxidant, health and organoleptic activities according to their chemical structure*. Inflammopharmacol. 17:1-9.

Innovazioni tecnologiche nella filiera olivicola-olearia per la produzione di oli funzionali di alta gamma ad elevato impatto bionutrizionale e salutistico

Ranalli A.*, Contento S., Girardi F. e Micozzi A.
CRA Centro di Ricerca per l'Olivicoltura e l'Industria Olearia, Città S. Angelo (PE)

Olive processing innovations to produce functional extravirgin olive oils having highly health impact

Abstract. Some results concerning the compositional traits of destoned and organic-destoned extravirgin olive oils are referred to in this research paper. An innovative destoning-based olive processing technology has been studied. The purpose of this scientific investigation was to obtain new products with enhanced quality level and increased contents of nutraceuticals and bioactive phytomolecules. The drawn oil samples were fully characterised by using different instrumental analytical techniques. The above new oil kinds (the organic-destoned ones noticeably) stood out for their marked hedonicity, due to the optimal composition of their aroma and flavour, and for their contents of bioactives and bionutritional factors. They are thus high-added value products and therefore can contribute to enhance the competitiveness of the olive oil sector.

Key words: Destoned and organic-destoned extra virgin olive oil; phenolic and aromatic matabolomics; chemometrics.

Introduzione

L'endocarpo delle olive (*Olea europaea* L) è uno dei legni più duri che si conoscano. La frangitura meccanica del nocciolo causa dunque uno stress termico della pasta (Ranalli *et al.*, 2007; 2008; 2009), con conseguente *termochinonizzazione* dei biofenoli e termodegradazione ossidativa di altri *bioactives* (caroteni, xantofille, tocoferoli, tocotrienoli ed altri biomarker dell'olio). Inoltre, tale fenomeno induce una ridotta biogenerazione di metaboliti volatili (*green aromas*) dai 13-idroperossidi (composti caratterizzati da un *cis-cis*-1,4 sistema pentadienico), aventi l'acido linoleico $C_{18:2}\omega6$ (LA) e l'acido α-linolenico $C_{18:3}\omega3$ (α-LnA) come precursori. Trattasi della *LOX pathway* in cui una serie di enzimi sono invero coinvolti. Uno di questi, la *idroperossidoliasi* (FAHL), responsabile del cleavage di detti idroperossidi, viene parzialmente inattivato già ad una temperatura di 15 °C (Salas e Sànchez, 1999). Un'altra negatività, quando si lavorano le olive intere, è rappresentata dall'elevato contenuto di ossidoreduttasi endogene (*perossidasi* e *polifenolossidasi* in particolare) occorrenti nel kernel. Le prime fissano l'ossigeno ai gliceridi e agli acidi grassi, trasferendolo anche sugli antiossidanti naturali; le seconde lo trasferiscono sui biofenoli, ossidandoli ulteriormente (Patumi *et al.*, 2003; Luaces *et al.*, 2004; Lavelli e Bondesan, 2005; Servili *et al.*, 2007). I Progetti strategici VALOROLIO e DISOSSOLIO, approvati rispettivamente dal MiPAAF e dal CRA, hanno affrontato questo problema suggerendo il *destoning* (tecnologia innovativa/emergente), vale a dire la preventiva rimozione del nocciolo (denocciolatura) prima della gramolatura, sostituendo il violento cruscher col blando destoner. In tal modo l'estrazione viene operata sulla sola polpa. Tuttavia, durante l'estrazione, l'olio di mandorla non inquina l'olio di polpa sia perché il kernel rappresenta in percentuale appena l'1-2% dell'oliva sia perché esso non viene estratto alle condizioni adottate in frantoio (Ranalli *et al.*, 2009). Peraltro, certi Autori hanno trovato per alcune cultivar fino al 50-60% di noccioli vuoti (Ranalli *et al.*, 2008). Disponiamo di un vasto database analitico ottenuto prelevando campioni di oli destoned e biodestoned da tutte le Regioni italiane e in particolare da quelle dell'obiettivo 1 e della convergenza. In più abbiamo condotto prove di destoning nell'oleificio sperimentale, nell'ottica di accrescere la naturalità e il livello di fattori e phytochemicals bioattivi nel micrometaboloma nutraceutico degli oli, ottenendo prodotti marcatamente funzionali, con spiccate proprietà edonistiche e salutistiche e ad alto valore aggiunto. Idonei dunque per accrescere la qualità dell'alimentazione e impattare persino sulla salute pubblica. Alcuni dati analitici tra i più significativi vengono riportati in questa nota.

* alfonso.ranalli@entecra.it

Materiali e metodi

I volatili sono stati strippati dagli oli in corrente di azoto (1,2 l min^{-1}; 37 °C; 2h), intrappolati su carbone attivo ed eluiti con etere dietilico. Successivamente sono stati analizzati mediante DHS-HRGC, usando un gascromatografo equipaggiato con colonna carbovax 20 M (50 m, 0,32 mm i.d., 0,5 µm), un sistema di iniezione on-column, un sistema criogenico a CO_2, ed un rivelatore FID. L'1-nonanolo (purezza > 99%) è stato usato come standard interno. I derivati naturali e ossidati dell'oleuropeina e del ligstroside, i lignani, i flavonoidi, gli acidi fenolici e gli alcoli fenolici sono stati estratti dagli oli con una miscela metanolo/acqua (80/20, v/v). La loro determinazione è stata effettuata con un sistema HPLC equipaggiato con una colonna C_{18} a fase inversa (4,6 mm ø 25 cm, spherisorb ODS-2,5 µm, 100 Å), un rivelatore spettrofotometrico UV a 280 nm e un integratore. Per l'eluizione è stata usata una miscela ternaria (gradiente lineare) costituita da una soluzione acquosa di acido *o*-fosforico (0,2%), metanolo e acetonitrile. L'acido siringico è stato usato come standard interno. Le concentrazioni sono state espresse in mg kg^{-1} tirosolo. Le altre analisi relative ad oltre 100 variabili analitiche sono state effettuate usando le procedure outlined in precedenti lavori (Ranalli *et al.*, 2007; 2008; 2009).

Risultati e discussione

L'olio di mandorla è apparso significativamente più ricco di PUFA, fitosteroli, metilsteroli ed alcoli alifatici, evidenziando anche valori più alti dell'indice alcolico, mentre le concentrazioni in MUFA, SFA, trioleina, 1,2-dioleoil-3-palmitoil-glicerolo, dialcoli triterpenici e fitolo sono risultate più alte nell'olio di

Tab. 1 - Contenuto di derivati naturali e ossidati dell'oleuropeina e del ligstroside, di lignani, flavonoidi e acidi fenolici in due oli *Leccino* (denocciolato *vs.* testimone) prelevati da un areale del nord-Italia.

Tab. 1 - Contents of natural and oxidized oleuropein and ligstroside derivatives as well as of lignans, flavonoids and phenol acids in two Leccino oils (destoned vs. control) tacken from an olive orchard of North- Italy

Polifenoli (mg kg^{-1} tirosolo)	*Leccino*	
	Denocciolato	Intero
Idrossitirosolo	4,8[a]	3,7[b]
Tirosolo	4,4[a]	3,7[b]
Acido vanillico + acido caffeico	3,3[a]	Tr
Vanillina	0,7[a]	0,6[a]
Acido p-cumarico	1,4[a]	0,5[b]
Idrossitirosilacetato	0,8[a]	0,5[a]
Acido ferulico	8,8[a]	1,4[b]
Acido o-cumarico	1,1[a]	1,1[a]
Aglicone decarbossimetioleuropeina forma dialdeidica ossidata	13,4[a]	6,8[b]
Aglicone decarbossimetioleuropeina forma dialdeidica	57,6[a]	94,1[b]
Oleuropeina + aglicone oleuropeina forma ossidata	9,2[a]	4,3[b]
Tirosilacetato	6,4[a]	6,1[a]
Aglicone decarbossimetilligstroside forma dialdeidica ossidata	3,4[a]	Tr
Aglicone decarbossimetilligstroside forma dialdeidica ossidata + aglicone decarbossimetilligstroside forma dialdeidica + pinoresinolo	33,1[a]	30,8[a]
Acido cinnamico	3,2[a]	Tr
Aglicone ligstroside forma dialdeidica	24,1[a]	10,0[b]
Aglicone oleuropeina forma aldeidica e idrossilica ossidata	7,5[a]	3,9[b]
Luteolina	12,4[a]	2,6[b]
Aglicone oleuropeina forma aldeidica e idrossilica ossidata + aglicone oleuropeina forma aldeidica e idrossilica	71,4[a]	26,4[b]
Aglicone ligstroside forma aldeidica e idrossilica ossidata	8,2[a]	7,7[a]
Apigenina	2,6[a]	5,0[b]
Metil-luteolina	5,8[a]	5,5[b]
Aglicone ligstroside forma aldeidica e idrossilica	6,8[a]	2,7[b]

I dati sono medie di tre campioni indipendenti ($CV_s \leq 6,5\%$). I valori in una riga con lettere non comuni ([a-b]) differiscono statisticamente (*Tukey's* HSD range test, $p \leq 0,05$).

polpa. Il contenuto % di olio era di poco più alto nella polpa (28% vs 25%). La tabella contenente i suddetti dati e le altre tabelle di dati analitici, per ragioni di spazio, sono state omesse. Gli oli destoned e in special modo i biodestoned hanno evidenziato più alti contenuti di nutraceutici (biofenoli, tocoferoli, tocotrienoli, ed altri). Sono risultati più armonici e fragranti, facendo registrare una maggiore preferenza e accettabilità da parte dei panelist. I valori della mediana dei descrittori positivi, incluso il fruttato, sono risultati più alti. Quelli dell'amaro, del piccante e dell'astringente sono apparsi più bassi poiché il destoner, dovuto alla sua azione soft, estrae una minore quantità di fitomolecole responsabili di queste sensazioni (Ranalli *et al.*, 2008; 2009). I loro contenuti di volatili green (aldeidi, alcoli, esteri C_6 e C_5) erano più alti. Due nuovi volatili, quali α-*copaene* e α-*muurolene* erano talvolta presenti nel loro spazio di testa. La composizione del loro flavour e aroma era ottimale. Essi erano più stabili e resistenti all'autossidazione e si caratterizzavano per la prolungata shelf-life. Il loro contenuto di clorofille, caroteni e xantofille (luteina, violaxantina, neoxantina), come confermato dai valori degli indici cromatici (σ% e h%), era più basso poiché il destoner agisce meno efficacemente sull'ipoderma del frutto dove sono concentrati i cloroplasti e i cromoplasti (Ranalli *et al.*, 2007; 2008). Questo fenomeno prevaleva su quello opposto connesso al minore riscaldamento della pasta durante il destonig e alla conseguente minore termodegradazione dei lipocromi. Tuttavia, i valori dell'indice di colore integrale suggerivano come le loro caratteristiche cromatiche erano assai equilibrate. Da evidenziare i loro più alti contenuti di oleocantale (*p*-HPEA-EDA), l'antinfiammatorio naturale con azioni aspirino-simili contro la COX1 e la COX2 (Ranalli *et al.*, 2007; 2008).

Tab. 2 - Composizione della frazione volatile aromatica di 2 oli biologici (denocciolato vs. testimone) della varietà Nocellara del Belice prelevato da un areale siculo.
Tab. 2 - Composition of the volatile fraction in two organic virgin olive oil (destoned vs. control) of Nocellara del Belice variety tacken from Sicily Region.

Volatili (mg kg^{-1} 1-nonanolo)	Nocellara del Belice	
	Denocciolato	Intero
n-Ottano	1,5^{a}	2,6^{b}
Etil acetato	0,1^{a}	0,2^{a}
Metanolo	0,7^{b}	1,0^{a}
2-Metil butanale + 3-metil butanale	1,2^{a}	1,8^{a}
Etanolo	1,8^{a}	2,0^{b}
Penteni dimeri	1,2^{a}	1,0^{a}
Pentan-3-one	10,7^{b}	7,4^{a}
Penteni dimeri	6,5^{a}	5,8^{b}
1-Penten-3-one	1,8^{a}	0,8^{b}
Penteni dimeri	5,2^{a}	4,8^{a}
Esanale	41,3^{a}	30,0^{b}
Isobutanolo	0,3^{a}	0,5^{b}
2-Pentenale	0,3^{a}	0,3^{a}
1-Penten-3-olo	4,0^{a}	2,9^{b}
cis-3-Esenale	1,3^{b}	0,6^{a}
3-Metil butanolo	0,8^{a}	1,4^{b}
trans-2-Esenale	425,1^{a}	331,2^{a}
Pentanolo (n-amilico)	0,5^{a}	0,5^{a}
Esile acetato	0,2^{a}	0,1^{b}
trans-2-Penten-1-olo	tr	tr
cis-3-Esenile acetato	2,1^{a}	1,4^{b}
cis-2-Penten-1-olo	2,9^{a}	2,2^{b}
Esanolo	2,7^{b}	2,4^{a}
cis-3-Esen-1-olo	31,0^{a}	19,4^{b}
2,4-Esadienale	0,1^{a}	0,1^{a}
trans-2-Esen-1-olo	2,1^{a}	1,6^{b}
Acido acetico	0,1^{a}	0,1^{a}
Acido proprionico	0,2^{a}	0,2^{a}
Ottanolo	0,1^{a}	0,06^{a}
Acido butirrico	0,1^{a}	0,2^{a}

I dati sono medie di tre campioni indipendenti ($CV_s \leq 7,5\%$). I valori in una riga con lettere non comuni ($^{a-b}$) differiscono statisticamente (*Tukey's* HSD range test, $p \leq 0,05$).

Dalla tabella 1 si evince come gli oli destoned e biodestoned siano più ricchi di acidi fenolici, alcoli fenolici, lignani, flavonoidi e derivati naturali e ossidati dell'oleuropeina e del ligstroside. Mentre dall'esame della tabella 2 si conferma come durante il destoning la biogenerazione della *LOX cascade* assuma proporzioni assai più significative in confronto al crushing. I plot visualizzati nelle figure 1-4 mostrano come applicando l'analisi chemiometrica ai dataset analitici sia possibile l'agevole rintracciabilità dei nuovi prodotti, a conferma del loro diverso assetto analitico e compositivo. Tuttavia, nessun effetto il destoning esercitava sul macrolipidoma bioattivo. Essi, attesa la loro naturalità, salubrità, tipicità e nutraceuticità, nonché la loro funzionalità, bionutrozionalità, edonicità e sicurezza alimentare sono da considerare ottimi aids contro i rischi inerenti lo stress ossidativo, la sindrome dismetabolica, l'invecchiamento precoce, l'ossidazione delle LDL, l'aggregazione piastrinica, la resistenza insulinica, diversi tipi di cancerogenesi ed altre patologie e forme morbose dell'era moderna. Essi, anche più dei prodotti DOP, IGP e BIO, rappresentano l'eccellenza olearia dei Paesi produttori (Ranalli *et al.*, 2009). D'altra parte trattasi di prodotti caratterizzati da elevato valore aggiunto e competitività e pertanto rappresentano senz'altro un fattore di rilancio della sostenibilità e della competitività della filiera olivicola-olearia e altresì un fattore di

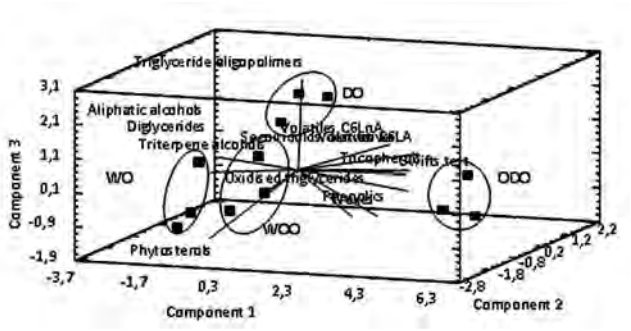


Fig. 1 - Score plot PCA (3D) generato processando, col software STATGRAPHICS®, un set di dati analitici.
Fig. 1 - PCA (3D) score plot obtained by processing a set of analytical data by the STATGRAPHICS® software package.

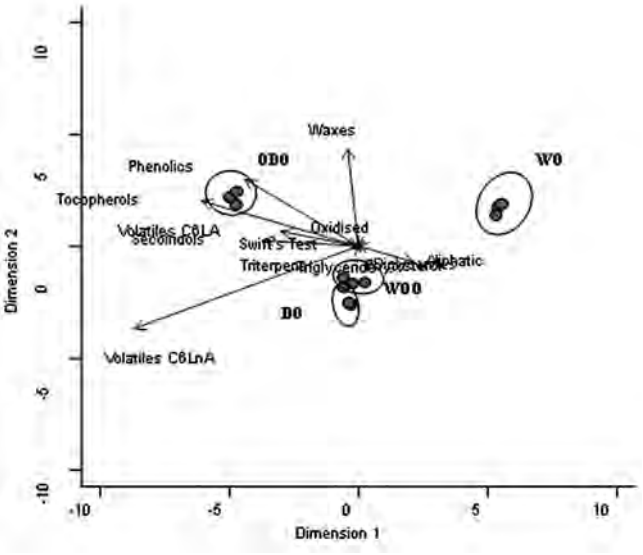


Fig. 2 - Biplot PCA generato processando, col software STATA®, un set di dati dell'insaponificabile.
Fig. 2 - PCA Biplot obtained by processing a set of analytical data of the unsaponifiable fraction.

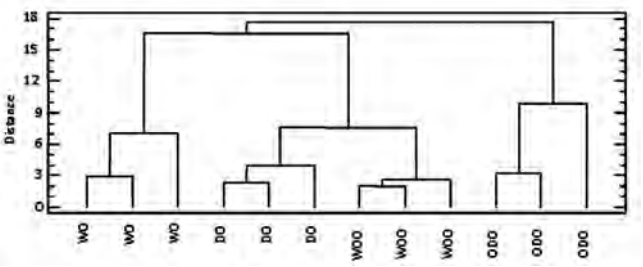


Fig. 3 - Dendrogramma generato processando, col software STATGRAPHICS®, un set di dati delle frazioni non gliceridiche.
Fig. 3 - Dendrogram obtained by proccesing a set of analytical data by the STATGRAPHICS® software package.

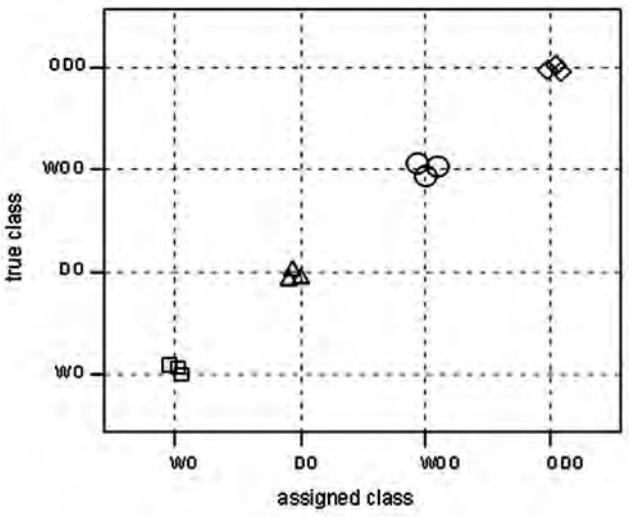


Fig. 4 - Plot SIMCA generato processando, col software SCAN®, i dati dei pigmenti naturali e delle variabili cromatiche.
Fig. 4 - SIMCA plot obtained by processing data related to natural pigments and chromatic variables by the software package SCAN®.

riposizionamento competitivo e strategico del *made in Italy* sui mercati europei ed internazionali (Ranalli *et al.*, 2008). Il destoning ha fatto ottenere una minore resa produttiva, che comunque assume minore significato se paragonato alla notevole valorizzazione della qualità e della tipicità dei prodotti. Il rendimento di oleificazione è cresciuto considerevolmente impiegando durante l'estrazione delle pasta disossata il talco per uso alimentare, un drenante capace di simulare almeno in parte il ruolo fondamentale del nocciolino (rimosso), e/o gli enzimi pectolitici esogeni ad azione depolimerizzante (Ranalli *et al.*, 2007; 2008; 2009). Questi ultimi per giunta hanno determinato un maggiore rilascio di componenti minori dal tessuto vegetale (Ranalli *et al.*, 2007), esaltando ulteriormente lo standard qualitativo e il livello di tipizzazione, innovazione e funzionalizzazione dei prodotti. Il talco invece ha avuto effetto solo sugli outputs di oleificazione. Gli oli bio non-destoned erano caratterizzati da un livello qualitativo non dissimile da quello degli oli destoned-non bio. Gli oli di più alto pregio e valore salutistico erano i biodestoned. E' da porre l'enfasi anche su un altro punto di forza del destoning, che si identifica nella possibilità del totale riciclo industriale dei coprodotti, ottenuti già separati in oleificio, consentendo il *ciclo chiuso* in frantoio, che tradotto vuol dire *zero residui*, e annullamento dell'elevato impatto ambientale dei processi estrattivi.

Conclusioni

Il 2013 segnerà la fine della nuova OCM. Gli aiuti

comunitari al settore verranno drasticamente tagliati e molto probabilmente soppressi. Nel 2010, con l'attuazione del libero scambio nell'area mediterranea, l'Europa aprirà i mercati agli oli dei Paesi nordafricani (Tunisia, Algeria, Marocco). Questi prodotti sono altamente competitivi in relazione ai bassi costi della manodopera in quei Paesi. Possiamo affrontare il problema solo vincendo la sfida riguardante il miglioramento progressivo della qualità. Ebbene, come abbiamo visto, il destoning (una tecnica innovativa) può rappresentare una spinta importante in questa direzione

Ringraziamento

Il lavoro è stato svolto all'interno dei Progetti Disossolio e Valorolio finanziati rispettivamente dal CRA e dal MiPAAF. Quest'ultimo viene ringraziato anche per aver conferito un assegno di ricerca al Dr. Benzi M. e al Dr. Girardi F., nonché una borsa di studio al Coll. Marchegiani D.

Riassunto

Vengono qui riportati alcuni dei risultati scaturiti da un quinquennio di ricerche sulle caratteristiche composizionali degli oli ottenuti applicando una innovativa tecnica estrattiva basata sul *destoning*. Lo scopo della ricerca era di contribuire al rilancio della qualità e della tipicità dei prodotti, una sfida che abbiamo di fronte tenendo conto della concorrenza degli altri Paesi e in particolare di quelli del nord-Africa. Gli oli destoned e biodestoned sono stati caratterizzati applicando differenti tecniche analitiche strumentali. Essi, in particolare quelli biodestoned, si sono contraddistinti soprattutto per la loro marcata edonicità, connessa all'ottimale composizione del loro flavour ed aroma, ma anche per la loro marcata naturalità, nutraceuticità e funzionalità, in relazione ai loro contenuti di bioactives e fattori bionutrizionali. Essi sono dunque prodotti ad elevato valore aggiunto e possono contribuire a rilanciare la competitività della filiera olivicola-olearia.

Parole chiave: Oli di oliva extravergini denocciolato e biodenocciolato, metabolismo fenolico ed aromatico.

Bibliografia

LAVELLI V., BONDESAN L., 2005. *Secoiridoids, tocopherols, and antioxidant activity of monovarietal virgin olive oils extracted from destoned fruits*. J. Agr. Food Chem., 53: 1102-1107.

LUACES P., PÉREZ A.G., SANZ C., 2004. *Efecto del deshuesado de la aceituna sobre el aroma del aceite de oliva virgen*. Grasas y Aceites, 55(2): 174-179.

PATUMI M., TERENZIANI S., RIDOLFI M., FONTANAZZA G., 2003. *Effect of fruit stoning on olive oil quality*. JAOCS, 80(3): 249-255.

RANALLI A., BENZI M., GOMES T., DELCURATOLO D., MARCHEGIANI D., LUCERA L., 2007. *Concentration of pigments and other bioactive components in pulp oils from destoned olives*. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 8: 437-442.

RANALLI A., GOMES T., DELCURATOLO D., MARCHEGIANI D., PARDI D., PARDI DI., 2008. *Producing nutraceutical virgin olive oil with innovative processing technologies.* Italian Food & Beverage Technology, 53: 9-17.

RANALLI A., MARCHEGIANI D., PARDI DI., CONTENTO S., PARDI D., GIRARDI F., KOTTI F., 2009. *Evaluation of functional phytochemicals in destoned virgin olive oil.* Food Bioprocess and Technology, 2(3): 27-33.

SALAS J.J., SÀNCHEZ J., 1999. *The decrease of virgin olive oil flavour produced by high malaxation temperature is due to inactivation of hydroperoxide lyase*. J. Agr. Food Chem., 47: 809-812.

SERVILI M., TATICCHI A., ESPOSTO S., URBANI S., SELVAGGINI R., MONTEDORO G.F., 2007. *Effect of stoning on the volatile and phenolic composition of virgin olive oil*. J. Agr. Food Chem., 55: 7028-7035.

Attuali tendenze, in Italia, nella lavorazione delle olive in oleifici di grandi dimensioni: effetti sulla resa e sulla qualità dell'olio

Preziuso S.M.[1], Di Serio M.G.[1], Di Loreto G.[1], Mucciarella M.R.[1] e Di Giovacchino L.[2]
[1]*CRA OLI, Centro di Ricerca per l'Olivicoltura e l'Industria Olearia, Sede di Città S. Angelo (PE)*
[2]*Ex-Researcher of CRA-Oli*

Present trend, in Italy, for olive processing in large-sized oil mills: effects on olive oil quality and yield

Abstract. The results obtained, in olive processing in a big-sizes oil mill operating by the cycle of the double extraction and by the recovery of the stone fragments, shoved a total oil yield variable between 86% and 88%, a very good performance that makes economically convenient the process. The quality of the oil of first extraction was very good in agreement with the quality of the sound and right ripe olives. The oil of the second extraction ("dark green" oil) was also of good quality, but it presented a percentage of the triterpene di-alcohols higher than the limit value established by the law (4.5%). The recovery of the stone fragments was about 11 kg/100 kg of olives, and it represented a further income for the oil mill.

Key words: olive processing, double oil extraction, stone fragments.

Introduzione

In tempi recenti anche in Italia, nelle regioni ad elevata produzione olivicola, alcuni frantoi di grandi dimensioni hanno completato l'opera di ristrutturazione con l'installazione di impianti continui di centrifugazione, operanti a 2 uscite (2 fasi) ed aventi elevata capacità oraria, anche superiore a 5 t/h. Questa scelta tecnologica, che gli oleifici spagnoli hanno adottato da alcuni anni (Alba *et al.*, 1996), ha comportato, come principale conseguenza, l'ottenimento di una notevole quantità di sansa vergine (80-85% della massa di olive posta in lavorazione) contenente tutto l'olio non estratto meccanicamente ma anche talmente umida da non poter essere convenientemente utilizzata dai sansifici. Da ciò l'esigenza, particolarmente sentita nel caso di oleifici di grosse dimensioni, di valorizzare al meglio, all'interno dello stesso frantoio, il residuo solido ottenuto dalla prima centrifugazione della pasta di olive mediante un successivo recupero, sempre con mezzi meccanici, sia di una parte dell'olio che ancora contiene sia con la separazione della parte legnosa da quella fibrosa. In questi frantoi, pertanto, si ripropone la tecnica della doppia estrazione, di cui è stato riferito in alcuni lavori (Di Giovacchino, 1991; Di Giovacchino e Costantini, 1991; Di Giovacchino *et al.*, 2002), ed è stato introdotto l'apparecchio per la separazione del nocciolino.

Lo scopo del presente lavoro è quello di fornire un contributo alla conoscenza delle tecniche operative adottate dagli oleifici di grosse dimensioni per ridurre i costi di produzione e per valorizzare il sottoprodotto solido della lavorazione delle olive, e, nel contempo, di evidenziare gli effetti che il complesso ciclo di lavorazione adottato determina sulla qualità e sulla composizione dei due tipi di oli che si ottengono.

Materiale e metodi

Le prove sperimentali sono state effettuate in un oleificio industriale, ubicato in Puglia, dotato di decanter centrifughi della capacità di lavorazione teorica pari a 5 t/h di olive. L'oleificio lavorava separatamente le varie partite di olive, della varietà Coratina, e disponeva di 2 linee indipendenti (linea A e linea B), differenti solo per le modalità di preparazione della pasta di olive, che prevedevano le seguenti operazioni: peso delle olive e successiva defogliazione; frangitura delle olive mediante frangitore metallico a martelli fissi (linea A); molitura delle olive mediante frantoio a macine, per 3-5 minuti, ed avvio della pasta grossolana ottenuta in un frangitore metallico a martelli fissi (finitore) (linea B); gramolazione della pasta, per 60 minuti ed a 27 °C; separazione dell'olio dalla pasta di olive mediante decanter a 2 fasi; separazione dell'olio mediante centrifuga verticale (olio di 1ª estrazione); avvio della pasta centrifugata, proveniente dalle due linee, ad una sola macchina idonea a separare la parte legnosa (nocciolino) dalla parte fibrosa (pasta denocciolata); gramolazione della pasta denocciolata per 20 min. alla temperatura di 40-50 °C; separazione dell'olio mediante decanter centrifugo a 3 fasi, previa aggiunta di acqua a 25 °C (20-30% in volume); separazione dell'olio mediante centrifuga verticale (olio "verdone" di 2ª estrazione).

Nel corso delle prove, che hanno riguardato 4 diverse partite di olive della varietà Coratina, due delle quali sono state lavorate secondo il diagramma della linea A, mentre le altre due sono state lavorate secondo quello

della linea B, sono stati prelevati campioni di olive, di pasta centrifugata, di olio di1ª estrazione, di pasta denocciolata, di nocciolino, di olio di 2ª estrazione e di sansa e di acqua di vegetazione in uscita dal decanter a 3 fasi. Sulle olive, dopo molitura con micro-frangitore, sulla pasta denocciolata e sulla sansa sono stati determinati: il contenuto di acqua, in stufa a 105 °C; il contenuto di olio, estraendo il campione essiccato con l'apparecchio Soxhlet, per 6 ore, con etere di petrolio 40-60 °C. Sui campioni di acqua di vegetazione sono stati determinati: il residuo secco, in stufa a 105 °C; il contenuto di olio, secondo la metodica riportata in altro lavoro (Di Giovacchino, 1986). Sui campioni di olio sono stati determinati: i valori dei parametri della qualità merceologica (Reg. CEE, 1991); il contenuto di pigmenti clorofillici (Wolff, 1968); il contenuto di fenoli totali (Ragazzi e Veronese, 1973) e di quelli singoli mediante HPLC (Cortesi, 2006); la composizione delle sostanze volatili dello spazio di testa (Solinas *et al.*, 1985); la composizione della frazione sterolica e dei dialcoli triterpenici (Reg. CEE, 1991); la composizione della frazione alcolica, alifatica e triterpenica (Reg. CEE, 1991); la composizione delle cere (Reg. CEE, 1991).

Risultati e discussione

Nella tabella 1, dove sono riportati i risultati quantitativi e le caratteristiche delle 4 differenti partite di olive (cv Coratina) e della pasta centrifugata con il decanter a 2 fasi, si mostra che il rendimento medio in olio di prima estrazione è risultato pari a 86.1%, quando si è impiegato il frantoio a macine e, successivamente, il frangitore metallico a martelli fissi (finitore), e pari a 84,4% nel caso di impiego del solo frangitore metallico a martelli fissi. Tali risultati quantitativi sono da ritenere molto soddisfacenti, come confermato dal ridotto contenuto di olio accertato sulla pasta residua dopo centrifugazione.

La pasta centrifugata e denocciolata, dopo l'operazione di gramolazione, è stata centrifugata mediante decanter a 3 fasi ed ha fornito i risultati riportati nella tabella 2.

I dati della tabella indicano che la resa in olio, nella seconda estrazione (olio "verdone"), è stata pari a 0,3 kg/100 kg di olive, valore non eccessivo ma sufficiente per far conseguire un rendimento medio totale di estrazione pari a 85,9%, nel caso delle olive lavorate secondo il diagramma della linea A, e pari a 87,5%, quando le olive sono state lavorate secondo il diagramma della linea B.

Le caratteristiche qualitative degli oli di prima estrazione, ottenuti con il decanter a 2 fasi, sono riportate nella tabella 3 e mostrano che tutti gli oli erano extra vergini con valori molto bassi dell' acidità libera, del numero dei perossidi e degli assorbimenti spettrofotometrici nell'UV. Gli oli, inoltre, avevano un fruttato di medio-alta intensità, un evidente colore verde (tipico della cv Coratina) ed un contenuto di fenoli totali relativamente elevato (tipico della cv Coratina) i cui valori differivano in dipendenza delle diverse caratteristiche delle olive e non per ragioni legate alle diverse tecniche operative adottate.

Sugli oli è stata determinata la frazione delle sostanze fenoliche mediante HPLC, i cui risultati, non riportati, hanno mostrato un contenuto relativamente elevato di agliconi fenolici derivati, nelle varie forme, sia dall'oleuropeina sia dal ligstroside.

Nella tabella 4, si riportano i risultati ottenuti nella determinazione analitica di alcune sostanze volatili dello spazio di testa degli oli.

I dati mostrano che il diverso metodo adottato per frangitura delle olive ha influenzato significativamente il contenuto di alcune sostanze volatili degli oli, pur in considerazione delle differenti caratteristiche delle olive della stessa cv Coratina. Gli oli ottenuti da paste di olive preparate con la doppia frangitura delle olive (frantoio a macine + frangitore metallico), infatti, hanno mostrato un più alto contenuto di *trans*-2-Esenale, di *trans*-2-Esenolo ed anche di 1-Esanolo, mentre gli oli ottenuti da paste di olive preparate con il solo frangitore metallico hanno presentato un più elevato contenuto di Penten dimeri (Angerosa e Di Giacinto, 1995) e di Esanale. Tali risultati sono da

Tab. 1 – Risultati tecnologici ottenuti nella centrifugazione, mediante decanter a 2 uscite, delle paste di olive preparate con differenti metodi di frangitura. (Mac.= macine; Fr. e Frang.= Frangitore metallico a martelli fissi.)
Tab. 1 – Technological results obtained by the centrifugatioin at 2-phases of olive pastes prepared by different crushing methods. (Mac.= millstones; Fr. and Frang.= metallic crusher at fixed hammers).

Olive cv Coratina		Molitura con	Resa (%)	Pasta dopo centrifugazione			
H_2O (%)	Olio (%)			H_2O (%)	Olio (%)	Olio *	Fenoli tot. (mg/kg)
51,6	22,5	Frang.	18,9	59,6	4,20	3,41	8.384
49,0	21,6	Mac.+Fr.	18,9	63,1	3,01	2,46	6.892
50,2	19,8	Frang.	16,8	59,7	3,56	2,82	7.332
51,1	21,0	Mac.+Fr.	17,8	59,8	3,60	2,96	6.604

* Olio (kg/100 kg olive) presente nella pasta dopo centrifugazione.

Tab. 2 – Risultati ottenuti nella centrifugazione, mediante decanter a 3 uscite, della pasta di olive ottenuta dalla prima centrifugazione e sottoposta a denocciolatura.

Tab. 2 – Results obtained by the centrifugation at 3-phases of olive paste yet centrifuged and destoned.

Pasta denocciolata		Resa in olio (kg / 100 kg olive)	SANSA		Acqua di vegetazione		Olio perduto (kg / 100 kg olive)
H_2O (%)	Olio (%)		H_2O (%)	Olio (%)	Res. Secco (%)	Olio (g/l)	
63,4	4,9	0,30	49,5	2,8	15,4	17,5	2,20
66,3	4,7	0,30	49,3	2,7	13,6	15,6	2,15

* Valore espresso in kg/100 kg di olive.

Tab. 3 – Caratteristiche qualitative degli oli ottenuti dalla centrifugazione, mediante decanter a 2 fasi, di paste di olive (cv Coratina) preparate con differenti metodi.

Tab. 3 – Qualitative characteristics of oils obtained by the centrifugation of olive pastes (cv Coratina) prepared by different crushing methods.

Determinazioni	Coratina 1	Coratina 2	Coratina 3	Coratina 4
	Frang.	Mac.+ Fr.	Frang.	Mac.+ Fr.
Acidità libera (%)	0,28	0,14	0,22	0,16
Numero di perossidi (meq/kg)	5,4	4,5	5,4	6,3
K_{232}	1,62	1,57	1,59	1,62
K_{270}	0,15	0,12	0,14	0,14
Valutazione organolettica				
- Fruttato (mediana)	4,7	5,4	4,1	3,6
- Difetti (mediana)	0	0	0	0
Fenoli totali (mg/kg, ac. gallico)	400	252	290	284
Pigmenti clorofillici (mg/kg)	39	35	42	40

Tab. 4 – Contenuto di alcune sostanze volatili nello spazio di testa degli oli ottenuti dal decanter centrifugo a 2 fasi da paste di olive (cv Coratina) preparate con differenti metodi.

Tab. 4 – Content of some volatile substances of head-space of oils obtained by centrifugation at 2-pahase of olive pastes prepared by different crushing methods.

Determinazioni	Coratina 1	Coratina 2	Coratina 3	Coratina 4
	Frangitore	Mac.+ Frang.	Frangitore	Mac.+ Frang.
Penten dimeri	68,5	23,4	112,1	17,0
Esanale	12,7	4,1	15,2	2,6
Trans-2-Esenale	267,8	337,9	231,7	524,3
1-Esanolo	59,7	92,5	65,3	86,2
Trans-2-Esenolo	48,8	124,4	70,3	106,9

ritenere legati, da una parte, alla diversa violenza con cui i due metodi di frangitura considerati agiscono sulle olive (Angerosa *et al.*, 1998), e, dall'altra, all'azione della lipossigenasi sul 13-idroperossido dell'acido linolenico che è favorita dall'impiego del frantoio a macine, come evidenziato in altro lavoro (Angerosa e Di Giacinto, 1995)

Tutti gli oli ottenuti dalla prima estrazione, inoltre, avevano una composizione regolare sia relativamente alle percentuali dei singoli steroli e dei dialcoli triterpenici sia per quanto riguarda il contenuto (mg/kg) di alcoli alifatici e triterpenici e delle cere.

Gli oli di seconda estrazione (oli "verdoni") presentavano valori normali dei parametri della qualità merceologica ma anche valori elevati di clorofille e della percentuale dei dialcoli triterpenici, come si mostra nella tabella 5.

Il frantoio, inoltre, effettuava il recupero della parte legnosa (nocciolino), presente nella pasta centrifugata (1ª centrifugazione), prima di operare la seconda centrifugazione, anche al fine di evitare, o di ridurre, il rischio di squilibrio del decanter dovuto all'abrasione della superficie di acciaio del tamburo rotante ad alta velocità da parte del nocciolino, qualora presente in quantità eccessiva. I risultati ottenuti sono riportati nella tabella 6.

I dati indicano che l'oleificio recuperava una quantità media di nocciolino pari a 11,3 kg/100 kg olive, che rappresenta un ulteriore reddito in considerazione della sua quotazione commerciale come combustibile per l'elevato potere calorifico e per la proprietà di non produrre ceneri. Tuttavia, una quantità non trascurabile di nocciolino (11,7 kg/100 kg olive) restava nella pasta denocciolata che veniva avviata alla seconda

Tab. 5 – Risultati analitici di alcuni parametri determinati sugli oli ("verdoni") estratti, con decanter centrifugo a 3 fasi, dalle paste di olive già centrifugate e denocciolate.
Tab. 5 – Analytical results of some parameters of oils ("dark green") obtained by the centrifugation at 3-phases of olive pastes yet centrifuged and destoned.

Determinazioni	Campione 1	Campione 2
Fenoli totali (mg/kg, come ac. gallico)	392	340
Fenoli totali (HPLC)	194	220
Pigmenti clorofillici (mg/kg)	220	214
trans-2-Esenale	234,6	181,5
Dialcoli triterpenici (%)	8,4	8,7

Tab. 6 – Quantità media (kg/100 kg olive) di parte legnosa presente nelle paste centrifugate e quantità media (kg/100 kg) recuperata con il denocciolatore.
Tab. 6 – Average quantity (kg/100 kg olives) of stones present in the centrifuged paste and average quantity (kg/100 kg olives) of the recovered stones by the destoning machine.

Nocciolino presente nella sansa tal quale	Nocciolino che residua nella fibra	Nocciolino recuperato
23,0	11,7	11,3

centrifugazione. Questa perdita, che appare eccessiva era una scelta tecnologica dettata dalla necessità di lasciare una parte di materiale legnoso nella pasta al fine di assicurare un minimo effetto drenante nella massa da centrifugare.

Conclusioni

I risultati conseguiti nelle prove effettuate presso un oleificio di grosse dimensioni, che adotta il ciclo della doppia estrazione dell'olio ed il recupero del nocciolino, consentono di stabilire che:

- il rendimento in olio della prima centrifugazione, con decanter a 2 fasi, è risultato, in media, pari ad 85% circa e la sua qualità, correlata alle caratteristiche delle olive, è stata molto buona;
- il rendimento di seconda estrazione, con decanter a 3 fasi, è stato, in media, pari a 1,5% circa, ma la qualità di questa frazione di olio era penalizzata dall'anomalia relativa all'alta percentuale dei dialcoli triterpenici;
- il recupero del nocciolino, risultato, in media, pari a 11,3 kg/100 kg olive, ha rappresentato, in relazione alle sua buone proprietà come combustibile, un'interessante fonte di reddito a compensazione del ridotto valore commerciale della sansa prodotta con il sistema della centrifugazione, specie di quella ottenuta con il decanter a 2 fasi.

Riassunto

I risultati ottenuti, in prove sperimentali di lavorazione delle olive in un oleificio di grosse dimensioni che adottava il ciclo della doppia estrazione dell'olio ed il recupero del nocciolino, hanno indicato che il rendimento totale di estrazione, variato tra 86 e 88%, è da ritenere elevato e tale da rendere conveniente la tecnica della doppia estrazione. La qualità dell'olio di prima estrazione è risultata molto buona, in relazione alle caratteristiche delle olive, sane e giustamente mature. L'olio ottenuto dalla pasta di olive già centrifugata (olio "verdone", di seconda estrazione), pur risultando di buona qualità, presentava una anomalia di composizione nel contenuto dei dialcoli triterpenici (eritrodiolo e uvaolo), la cui percentuale superava il valore limite previsto dalla normativa (4,5%). Il recupero del nocciolino, risultato pari a circa 11 kg/100 kg di olive, ha rappresentato un reddito aggiuntivo a compensazione della riduzione del valore commerciale della sansa prodotta con i decanter centrifughi.

Parole chiave: lavorazione olive, doppia estrazione, nocciolino.

Bibliografia

ALBA MENDOZA J., HIDALGO CASADO F., RUIZ GOMEZ A., MARTINEZ ROMAN F., MOYANO PEREZ J., CERT VENTULÀ A., PEREZ CAMINO C., RUIZ MENDEZ V., 1996. *Caracteristicas de los aceites de oliva de primera y segunda centrifugacion*. Grasas y Aceites, 47: 163-181.

ANGEROSA F., DI GIACINTO L., 1995. *Caratteristiche di qualità dell'olio vergine di oliva in relazione ai metodi di frangitura*. Riv. Ital. Sost. Grasse, 72: 1-4.

ANGEROSA F., CAMERA L., D'ALESSANDRO N., MELLERIO G., 1998. *Characterization of seven new hydrocarbons compounds present in the aroma of virgin olive oils*. J. Agric. Food Chem., 46: 648-653.

CORTESI N., 2006. *NGD-C 89*.

DI GIOVACCHINO L., 1986. *La determinazione del'olio contenuto nelle acque di vegetazione delle olive*. Riv. Ital. Sost. Grasse, 63: 203-207.

DI GIOVACCHINO L., 1991. *L'estrazione dell'olio dalle olive mediante doppia lavorazione. Nota I: risultati ottenuti con l'abbinamento pressione-centrifugazione*. Riv. Ital. Sost. Grasse, 68: 83-90.

DI GIOVACCHINO L., COSTANTINI N., 1991. *L'estrazione dell'olio dalle olive mediante doppia lavorazione. Nota II: risultati ottenuti con la doppia centrifugazione*. Riv. Ital. Sost. Grasse, 68: 519-527.

DI GIOVACCHINO L., MUCCIARELLA M.R., COSTANTINI N., SURRICCHIO G., 2002. *Double oil extraction from olive paste and olive pomace by centrifugal decanter at 2-phases, type integral*. Riv. Ital. Sost. Grasse, 79: 351-55.

RAGAZZI E., VERONESE V., 1973. *Indagine sui componenti fenolici degli oli di oliva*. Riv. Ital. Sost. Grasse, 50: 443-452.

REGOLAMENTO CEE n. 2568/91 della Commissione, dell'11 luglio 1991. Gazz. Uff. delle Comunità europee, L 248 del 5 settembre 1991, e successive modificazioni..

SOLINAS M., ANGEROSA F., CUCURACHI A., 1985. *Connessione tra prodotti di neoformazione ossidativi delle sostanze grasse e insorgenza del difetto di rancidità all'esame organolettico*. Riv. Soc. Ital. Scienza Alimentazione, 14: 361-368.

WOLFF J.P., 1968. *Manuel d'analyse des Corps Gras*. Paris.

Gli olii monovarietali della Sardegna: orientamenti e prospettive

Bandino G.[1], Sedda P.[1], Moro C.[1] e Mulas M.[1*]
[1]Dipartimento per la Ricerca nella Arboricoltura di AGRIS - Sardegna, Cagliari
[2]Dipartimento di Economia e Sistemi Arborei, Università di Sassari

Monovarietal oils of Sardinia: trends and prospects

Abstract. Many olive cultivars, autochthonous or introduced in historical times, are the basis of the traditional olive industry in Sardinia, which is an economical and environmental relevant activity. This germplasm was studied by the AGRIS-Sardegna research agency on the whole regional land and about thirty local denomination were assessed and verified. Cultivar characters were carefully described and also monovarietal oil were analysed for the chemical composition and organoleptic value. Oil acidity, polyphenol content, fatty acid composition resulted as the main discriminants to characterize the studied monovarietal oils. The research contributed to a better definition of the olive cultivar selection goals in order to improve the oil production, as well as to test the adaptability of traditional cultivar to intensive olive growing.

Key words: germplasm, autochthonous cultivar, organoleptic analysis, chemical analysis, qualitative improvement, selection.

Introduzione

L'origine della coltura dell'olivo in Sardegna viene fatta risalire alla dominazione fenicio-punica, durante la quale si suppone che siano iniziate le introduzioni di cultivar (Bandino *et al.*, 2001).

La consistenza del germoplasma di olivo della Sardegna è pertanto relativamente elevata, potendosi riconoscere circa una trentina di accessioni riconducibili a cultivar o denominazioni diverse (Mulas *et al.*, 1994). Le ricerche condotte sulla variabilità fenologica e successive indagini sull'effettiva caratterizzazione genetica delle accessioni hanno sostanzialmente ristretto il gruppo delle cultivar di olivo di diversa importanza a cinque gruppi riferibili alle seguenti: 'Bosana', 'Nera di Villacidro', 'Tonda di Cagliari', 'Pizz'e carroga' e 'Semidana' (Baldoni *et al.*, 2006).

I circa 42.000 ha su cui si estende la coltura dell'olivo in Sardegna sono in gran parte ancora riconducibili ai modelli dell'olivicoltura tradizionale e solo fino a pochi decenni fa gli olii prodotti nell'Isola godevano di pessima fama per quanto riguarda la loro qualità. I notevoli progressi ottenuti dal punto di vista delle applicazioni tecnologiche in fase di estrazione e il miglioramento della pratiche agronomiche hanno consentito di portare le produzioni isolane a livelli qualitativi di punta (Bandino *et al.*, 2003), testimoniati nell'annata in corso dal riconoscimento del 50% dei premi di livello nazionale agli olii della Sardegna che rappresentano appena il 3% della produzione nazionale.

In questo contesto di positivi riconoscimenti e possibilità di mercato, anche gli olii monovarietali stanno trovando discreti spazi. In questa nota si riferisce sulle caratteristiche dei cinque olii monovarietali più importanti della Sardegna, rilevati con una ampia indagine svolta sul territorio.

Materiali e metodi

L'indagine sulla qualità degli olii monovarietali della Sardegna si è svolta negli anni dal 1999 al 2004, ed ha interessato 476 campioni raccolti su tutto il territorio regionale e sottoposti ad analisi chimiche standard, nonchè saggi di degustazione tramite panel test ufficialmente riconosciuto. In particolare la determinazione dell'acidità è stata effettuata mediante titolazione con soda, quella dei polifenoli mediante estrazione con metanolo e lettura spettrofotometrica, mentre gli acidi grassi sono stati determinati dopo trasmetilazione ed analisi al Gas Cromatografo.

Tutte le analisi sono state adeguatamente replicate e i dati sono stati sottoposti ad analisi della varianza per mezzo del software MSTAT-C. Gli indicatori di variabilità associati alle medie corrispondono in genere alla deviazione standard riscontrata.

Risultati e discussione

La tabella 1 riassume i riferimenti varietali e le caratteristiche sensoriali alla degustazione dei cinque olii monovarietali. Tra gli altri risalta la produzione di punta dell'Isola, riferibile alla cultivar 'Bosana' e alle sue peculiari caratteristiche. I sentori intensi di piccante e amaro dell'olio di 'Bosana' sono infatti attribuibili principalmente alla sua buona dotazione di

* mmulas@uniss.it

Tab. 1 - Caratteristiche principali degli olii monovarietali della Sardegna.
Tab. 1 - Main characteristics of monovarietal oils of Sardinia.

Cultivar	Sinomini	Caratteristiche dell'olio
Bosana	Tondo sassarese, Palma, Aligaresa, De ozzu, Pibireddu, Olieddu	Fruttato intenso, generalmente associato a marcata sensazione di amaro e piccante
Tonda di Cagliari	Nera di Gonnos, Manna, Majorca, Confetto, ivigliana da mensa, Olia de nuxi	Fruttato medio con buon amaro e piccante
Semidana	Terza, Olieddu Terzu, Olia de Riola Tonda di Villacidro, Paschixedda, Terza,	Fruttato, amaro e piccante mediamente percepiti, armonico e gradevole
Nera di Villacidro	Olianedda, Nera di Oliena	Fruttato medio leggero, tendente al dolce
Pizz'e carroga	Bianca, Puntuda, Olia druci	Dolce, con leggera nota di fruttato

polifenoli che rendono questa materia prima forse ancora più preziosa in miscela. L'olio di 'Bosana', oltre ad avere caratteristiche di fruttato intenso molto spiccate è anche notoriamente serbevole.

La tabella 2 mostra come la maggior parte dei campioni reperiti sul territorio, nonostante la complessità della realtà produttiva, sono olii di qualità buona o eccellente, come testimoniato anche dai bassi livelli di acidità (tab. 3) e dalla discreta dotazione di polifenoli, soprattutto della cultivar 'Bosana' (tab. 4).

Anche i profili degli acidi grassi sono risultati discretamente informativi sulle caratteristiche e peculiarità degli olii monovarietali (figg. 1 e 2). Nonostante la numerosità dei campioni analizzati e

Tab. 2 - Classificazione merceologica degli olii analizzati.
Tab. 2 - Quality evaluation of the studied oils.

Cultivar	Extra	Vergine	Lampante	Totale
Bosana	196	63	52	309
Tonda di Cagliari	24	3	-	27
Semidana	40	17	9	66
Nera di Villacidro	31	14	6	51
Pizz'e carroga	16	5	2	23

Tab. 3 - Distribuzione dei campioni per cultivar e contenuto di acidità totale.
Tab. 3 - Oil sample distribution per cultivar and total acidity content.

Acidità (%)	Bosana	Tonda di CA	Tonda (Nera) di Villacidro	Semidana	Pizz'e carroga
0,1-0,2	21	8	11	4	8
0,2-0,3	75	21	15	5	7
0,3-0,4	64	11	6	5	2
0,4-0,5	44	9	4	6	0
0,5-0,6	29	7	1	1	1
0,6-0,7	26	6	0	2	3
0,7-0,8	6	0	0	3	2
>0,8	75	18	6	1	0

Tab. 4 - Distribuzione dei campioni per cultivar e contenuto di acidità totale.
Tab 4 - Sample distribution per cultivar and total phenol content.

Polifenoli (mg/l)	Bosana	Tonda di CA	Tonda (Nera) di Villacidro	Semidana	Pizz'e carroga
0-100	47	28	8	5	11
100-200	129	41	31	17	11
200-300	99	10	10	4	0
300-400	49	2	1	1	1
400-500	6	0	1	0	0

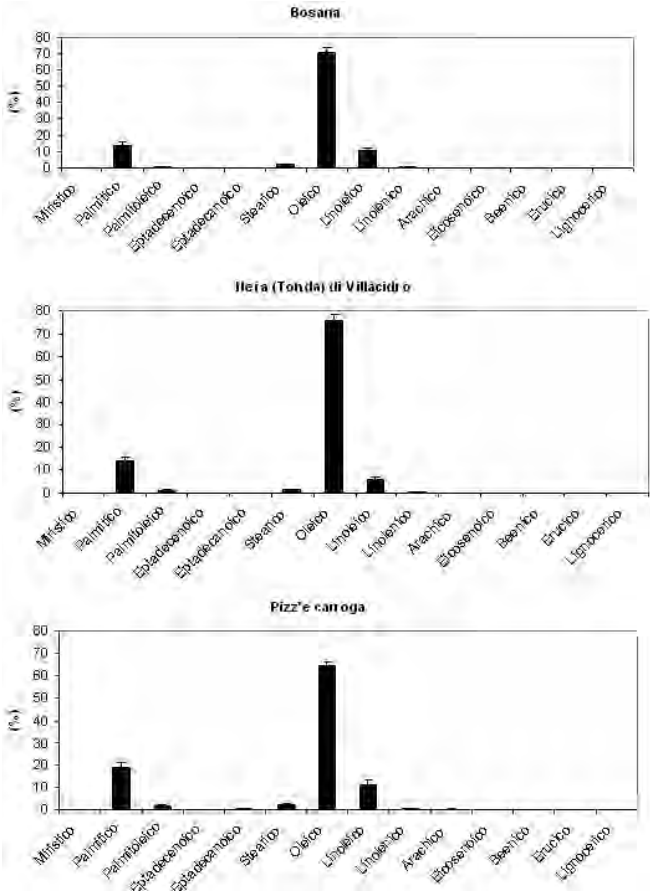


Fig. 1 - Profilo degli acidi grassi costitutivi degli olii di 'Bosana', 'Nera di Villacidro' e 'Pizz'e carroga'.
Fig. 1 - Fatty acid composition of 'Bosana', 'Nera di Villacidro', and 'Pizz'e carroga' monovarietal oils.

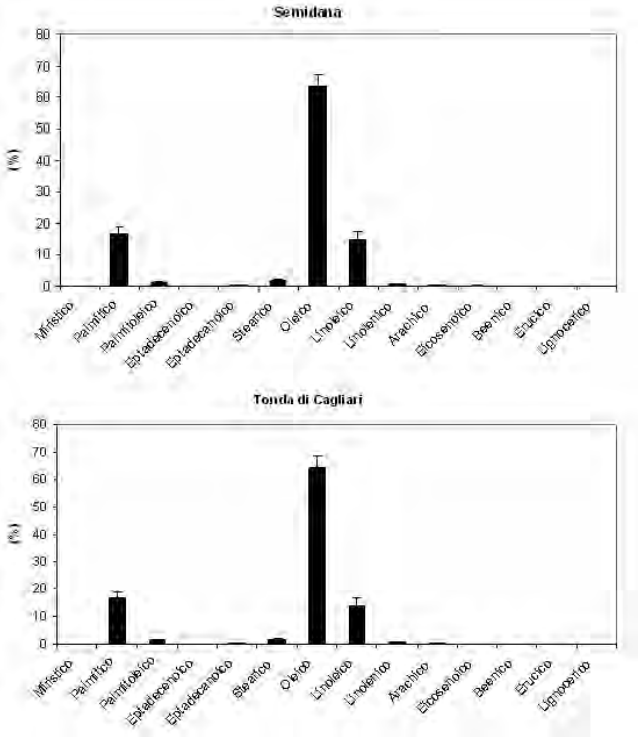


Fig. 2 - Profilo degli acidi grassi costitutivi degli olii di 'Semidana' e 'Tonda di Cagliari'.
Fig. 2 - Fatty acid composition of 'Semidana' and 'Tonda di Cagliari' monovarietal oils.

delle situazioni aziendali molto diversificate, gli indicatori di variabilità dei dati medi sono piuttosto contenuti, manifestando ciascuna cultivar una impronta del profilo di acidi grassi abbastanza definita. Può essere segnalato, infatti, il livello piuttosto elevato di acido oleico riscontrato in 'Bosana' e 'Tonda di Cagliari', superiore al 70%, mentre le altre cultivar erano su livelli decisamente inferiori.

In conclusione possiamo affermare che il contributo del genotipo alla tipicizzazione degli olii della Sardegna è notevole e viene ancor più esaltato nelle preparazioni monovarietali.

Riassunto

Numerose sono le cultivar di olivo presenti in Sardegna, riconosciute come appartenenti al germoplasma autoctono, ovvero ascrivibili a presumibili azioni di introduzione storica. Queste costituiscono la base dell'olivicoltura tradizionale nei diversi areali dell'Isola, in cui hanno dato origine a importanti realtà economiche e ambientali.

L'attività dell'Agenzia AGRIS Sardegna, grazie alle pluriennali indagini svolte sull'intero territorio regionale, ha consentito di mettere ordine tra le circa trenta denominazioni locali con cui sono note le cultivar di olivo, avviando uno specifico programma di indagine per approfondire le conoscenze bio-agronomiche delle stesse e verificando, inoltre, le peculiarità chimiche ed organolettiche degli oli ottenuti da lavorazioni monovarietali.

Con gli specifici studi degli olii monovarietali sono state definite ulteriori discriminanti qualitative che possono caratterizzare le diverse denominazioni (acidità; polifenoli; composizione in acidi grassi). Il monitoraggio ha consentito di meglio definire aspetti finalizzati anche alla selezione delle cultivar ai fini dell'incremento produttivo della coltura. Tali azioni sono state affiancate, sia ad interventi tesi a recuperare e testare l'adattabilità delle cultivar tradizionali sia ad un più ampio utilizzo di quelle cultivar giudicate positivamente idonee per la costituzione di nuovi oliveti, moderni ed intensivi.

Parole chiave: germoplasma, varietà autoctone, analisi organolettiche, analisi chimiche, miglioramento qualitativo, selezione.

Bibliografia

BALDONI L., TOSTI N., RICCIOLINI C., BELAJ A., ARCIONI S., PANNELLI G., GERMANÀ M.A., MULAS M., PORCEDDU A., 2006. *Genetic structure of wild and cultivated olives in the Central Mediterranean basin.* Annals of Botany, 98: 935-942.

BANDINO G., MULAS M., SEDDA P., MORO C., 2001. *Le varietà di olivo della Sardegna*. Consorzio interprovinciale per la frutticoltura Cagliari, Oristano e Nuoro: 253.

BANDINO G., CAMERA L., DI GIOVACCHINO L., MUGELLI M., SEDDA P., 2003. *Olio da olive: percorso qualità.* Consorzio Interprovinciale per la Frutticoltura, Cagliari: pp. 156.

MULAS M., AGABBIO M., CHESSA I., 1994. *L'Olivo*. In: "Patrimonio genetico di specie arboree da frutto. Le vecchie varietà della Sardegna". Ed. Delfino, Sassari: 309-338.

Tecniche di trasformazione e caratteri peculiari degli oli extravergine del Veneto

D'Amico M., Tagliapietra M., Berini N., Lante A., Ferasin M. e Giulivo C.
Dipartimento Agronomia Ambientale e Produzioni Vegetali, Università di Padova

Extraction procedures and quality of virgin olive oil in Veneto Region (North-East Italy)

Abstract. The parameters that characterize an extra virgin olive oil are mainly influenced by genotype, environment agronomic practices but also by technologies which must be correctly handled to obtain a high quality olive oil. Characteristics and quality of two monovarietal extra virgin oil were considered in relation to the territory (two sites in Veneto Region), to extraction process and to the use or not of nitrogen during the grinding of olives harvested in different maturation stages. Oils were obtained with different procedures: disc or hammer cylinder oil mill; decanter with two or three phases; nitrogen use or no use in each phase of processing. Oils were analysed for composition and evaluated in terms of sensory properties. Effects of disc or hammer cylinder oil mill were the same if used on late harvested fruits, but different if applied on early harvested fruits. The effect of the two-phase decanter was better for oil quality than that of the three-phase decanter. From a chemical point of view, it has been noted that the use of nitrogen does not lead to significant differences compared to standard extraction process

Key words: olive, milling systems, nitrogen, monovarietal oil.

Introduzione

L'olivicoltura del Veneto ha una dimensione relativamente contenuta, stimata intorno a 5000 ettari, ed interessa la fascia geografica pedemontana della regione dal lago di Garda fino ad oltre Vittorio Veneto e le due isole collinari dei Colli Euganei e Colli Berici (Lante *et al.* 2006). Trovandosi ai confini settentrionali dell'areale di coltivazione essa è praticata in ambiti ristretti per vincoli cimatici e pedologici. Per queste ragioni l'olivicoltura ha mantenuto nel passato una posizione marginale nello scenario produttivo agricolo regionale, ma trova oggi un ruolo rilevante per i suoi caratteri di redditività e di qualità. La produzione di olive è interamente destinata alla produzione di oli vergini ottenuti in strutture di contenuta capacità lavorativa ma ben distribuite nel territorio; mediamente un impianto ogni 100 ettari coltivati.

Le tipologie dei frantoi prevalenti sono di tipo continuo (76%) comunemente con separatore a due fasi e frangitore a martelli (56%), ma sono presenti anche impianti di tipo tradizionale (18%).

La qualità dell'olio dipende dalla composizione del frutto (Panelli *et al.*, 1990) e, in misura determinante, dal suo grado di maturazione (Cimato *et al.*, 1990; Ryan *et al.*, 1999; Pedò *et al.*, 2003; Baccouri *et al.*, 2008), variabili fortemente condizionate dalla cultivar, dalle condizioni climatiche e dal modello culturale (Inglese *et al.*, 2009); le potenziali caratteristiche qualitative dei frutti sono poi più o meno espresse a seconda delle modalità di trasformazione.

Con l'obiettivo di definire alcuni dei fattori che possono condizionare l'espressione qualitativa degli oli locali (Montedoro *et al.*, 2007), in particolare di quelli ottenuti da varietà diffuse negli ambienti del padovano (*Rasara*) e del veronese (*Grignano*), sono stati considerati (in due esperienze distinte) i ruoli giocati nella definizione dei profili qualitativi caratteristici dalle modalità di frangitura e di separazione e dall'uso di azoto durante il processo di trasformazione.

Materiali e metodi

Le olive di *Rasara* sono state raccolte in tre momenti di maturazione (18 Ottobre, 5 e 22 Novembre) e sono state lavorate con due modalità di frangitura: dischi o martelli abbinati a un separatore a due fasi e, come testimone, frangitore a dischi e separatore a tre fasi.

Le olive di Grignano, raccolte in quattro stadi di maturazione (3, 10, 17, 25 novembre), sono state lavorate utilizzando un minifrantoio aziendale della capacità di 0,2 t/ora; sono stati, quindi, confrontati gli oli ottenuti con utilizzo di azoto in tutto il ciclo di lavorazione e nelle singole fasi di frangitura a martelli, gramolatura; separazione a due fasi oppure in totale assenza di azoto.

In entrambe le esperienze le olive sono state lavorate entro 12 ore dalla raccolta. Sugli oli ottenuti sono stati analizzati i parametri analitici acidità, numero di perossidi, composizione acidica, polifenoli totali, stabilità ossidativa, squalene; sono state, inoltre, caratterizzate la frazione fenolica e le proprietà sensoriali (Panel Test). Le determinazioni analitiche e sensoriali sono state eseguite secondo le procedure del Reg. CE 2568/91 e successive modificazioni. Per la determinazione dei polifenoli totali si è utilizzato il metodo Folin Ciocalteau (Montedoro *et al.*, 1992 a,b). Il panel d'assaggio è stato composto da 9 giudici qualificati.

Risultati

La tipologia del frangitore ha giocato un ruolo determinante nel definire i valori dei parametri considerati con espressioni maggiormente significative nella percentuale di acido oleico, nella composizione acidica (fig. 1), nel numero di perossidi (fig. 2) e nella concentrazione di polifenoli totali (fig. 3). Rispetto al frangitore a dischi il frangitore a martelli, pur in misura contenuta, ha influito positivamente sulla stabilità ossidativa degli oli (fig. 4) e spiccatamente sull'espressione dei caratteri sensoriali di fruttato, amaro e piccante.

Un ruolo importante del sistema di frangitura è stato a carico degli attributi sensoriali dell'olio (fig. 5). Ciò vale in particolar modo nella trasformazione di olive raccolte precocemente (18 ottobre) ed a un livello di maturazione medio mentre appaiono attenuate a maturazione avanzata (22 novembre).

Tuttavia ancor più della tipologia di frangitura ha influito sulla qualità degli oli lo stadio di maturazione del frutto. Il dendrogramma (fig. 6) ricavato dall'elaborazione dei dati dei parametri esaminati mette in evidenza che l'effetto dei sistemi di frangitura si è attenuato con il progredire della maturazione del frutto al punto di rendere del tutto irrilevante il sistema di frangitura nella lavorazione più tardiva.

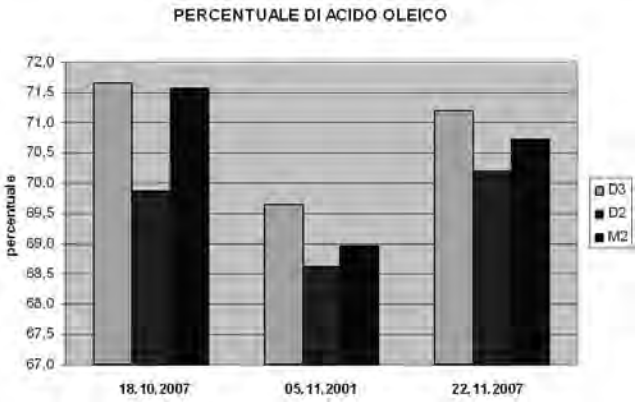


Fig. 1 - Percentuale di acido oleico. D3= testimone; D2= Frangitore a dischi, separazione a due fasi; M2= frangitore a martelli, separatore a due fasi.

Fig. 1 - Percent of oleic acid. D3= Control; D2= Disc oil mill, 2 phase decanter; M2= hammer oil mill, 2 phase decanter.

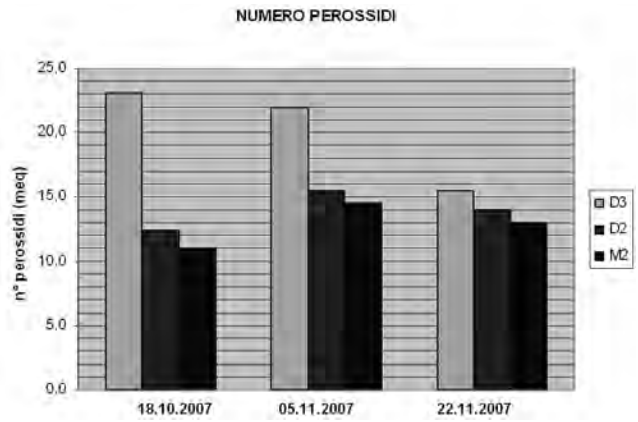


Fig. 2 - Numero di perossidi. D3= testimone; D2= Frangitore a dischi, separazione a due fasi; M2= frangitore a martelli, separatore a due fasi.

Fig. 2 - Peroxide value. D3= Control; D2= Disc oil mill, 2 phase decanter; M2= hammer oil mill, 2 phase decanter.

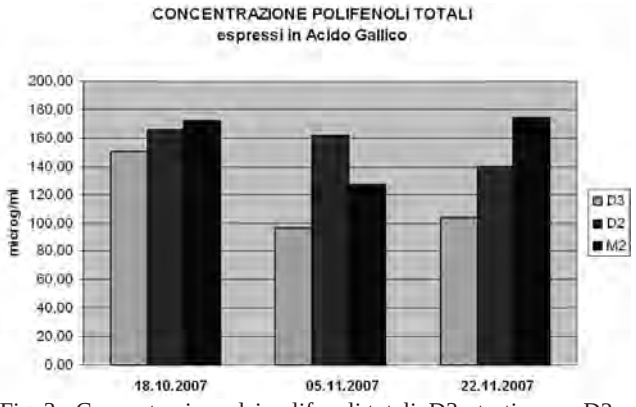


Fig. 3 - Concentrazione dei polifenoli totali. D3= testimone; D2= Frangitore a dischi, separazione a due fasi; M2= frangitore a martelli, separatore a due fasi.

Fig. 3 - Total polyphenol concentration. D3= Control; D2= Disc oil mill, 2 phase decanter; M2= hammer oil mill, 2 phase decanter.

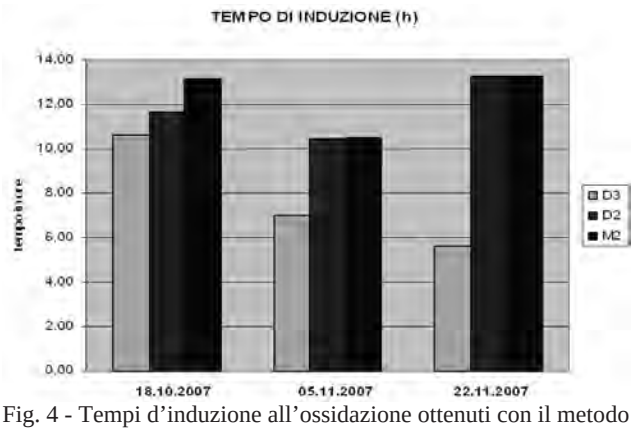


Fig. 4 - Tempi d'induzione all'ossidazione ottenuti con il metodo rancida (Mateos et al., 2006). D3= testimone; D2= Frangitore a dischi, separazione a due fasi; M2= frangitore a martelli, separatore a due fasi.

Fig. 4 - Oxidation induction times with Rancimat method (Mateos et al., 2006). D3= Control; D2= Disc oil mill, 2 phase decanter; M2= hammer oil mill, 2 phase decanter.

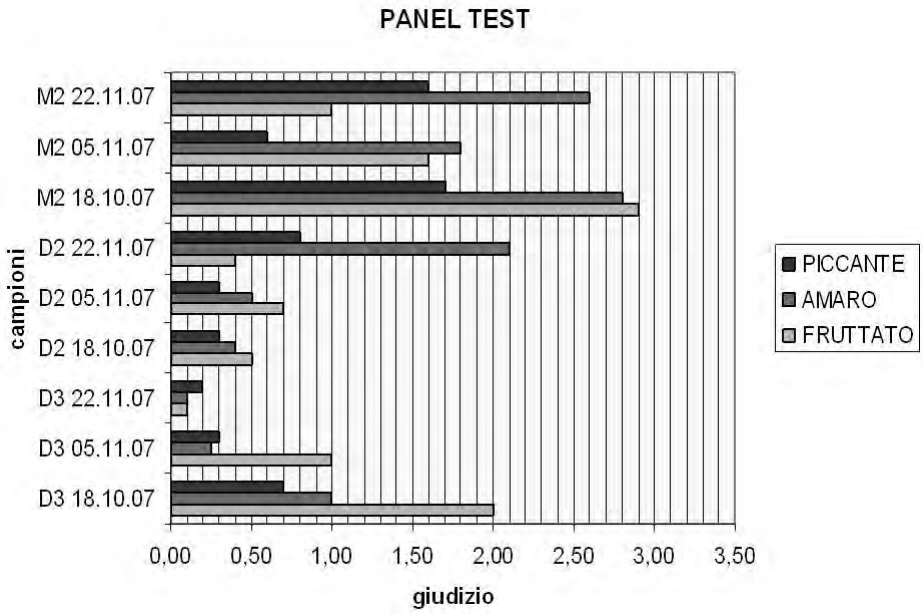


Fig. 5 - Espressione degli attributi positivi riscontrati dal panel test. D3= testimone; D2= Frangitore a dischi, separazione a due fasi; M2=frangitore a martelli, separatore a due fasi.

Fig. 5 - Oil positive property expression indicated by the panel test. D3= Control; D2= Disc oil mill, 2 phase decanter; M2= hammer oil mill, 2 phase decanter.

Da ciò si può dedurre che negli ambienti veneti il periodo utile per la lavorazione delle olive, per ottenere la massima espressione qualitativa, è compreso in un breve intervallo di circa quindici giorni.

L'utilizzo dell'azoto nelle diverse fasi del processo di trasformazione delle olive di *Grignano* non ha fornito risultati incoraggianti poiché non ha avuto effetti sull'allungamento della shelf-life dell'olio e sulla protezione di alcune sostanze aromatiche che sono state invece depresse. Il profilo aromatico è apparso con intensità e qualità del fruttato meno pregiate rispetto a quello dell'olio ottenuto senza l'uso dell'azoto (dati non riportati). Anche in questo caso nell'olio delle olive raccolte alla fine di Novembre sono comparsi attributi non desiderabili associati alla produzione di sostanze aromatiche negative, in particolare di acetato e all'attenuazione delle note positive caratteristiche di fruttato agrumato.

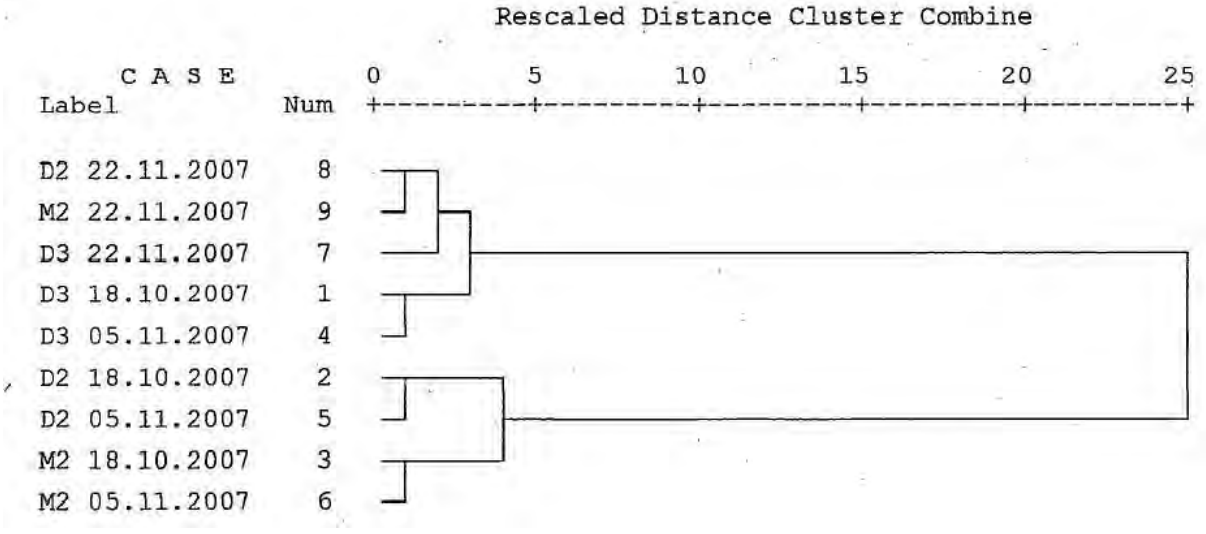


Fig. 6 - Dendrogramma. Rappresentazione grafica del processo di raggruppamento dei campioni. Nell'asse verticale di sinistra sono indicati i casi analizzati, l'asse orizzontale mostra la distanza tra i cluster quando sono uniti.

Fig. 6 - Cluster analysis of the oil samples obtained with the different processing methods. On vertical axis: picking dates and processes (D3= Control; D2= Disc oil mill; 2 phase decanter; M2= hammer oil mill, 2 phase decanter).

Conclusioni

In base ai risultati ottenuti si possono trarre alcune considerazioni che riguardano in primo luogo il fatto che, rispetto ad altre aree di produzione italiane, il contenuto di alcune sostanze caratterizzanti gli oli (polifenoli, oleuropeina) riscontrato nella zona in esame è mediamente più basso.

In secondo luogo l'epoca di maturazione e di raccolta del frutto influisce in modo determinante sulla qualità dell'olio, pertanto è consigliabile un attento monitoraggio della maturazione cercando di non ritardare la raccolta; il sistema di frangitura (martelli o dischi) incide, infatti, sul profilo chimico e sensoriale solo nelle raccolte anticipate, mentre nelle raccolte tardive il sistema è apparso praticamente ininfluente;

Nel caso specifico di questa prova l'uso dell'azoto nelle diverse fasi di lavorazione delle olive non ha migliorato le caratteristiche qualitative dell'olio. Ai fini dei polifenoli totali e della stabilità ossidativa la lavorazione delle olive completamente sotto azoto sembra risultare controproducente in particolar modo ad inizio ed alla fine del periodo di maturazione del frutto.

Riassunto

I parametri che caratterizzano un olio extra vergine di oliva sono fortemente influenzati dalle condizioni agronomiche e tecnologiche di produzione che vanno gestite in maniera corretta al fine di ottenere un olio di elevata qualità. È stato ritenuto opportuno valutare le caratteristiche e le qualità dell'olio extra vergine di oliva monovarietale prodotto in due aree di produzione del Veneto. Per la molitura sono stati applicati diversi metodi: frangitore a martelli e a dischi, estrazione a due o tre fasi impiego di azoto nelle singole operazioni della trasformazione e stadio di maturazione del frutto. Gli oli ottenuti sono stati valutati in termini di composizione e di attributi sensoriali.

I risultati hanno messo in evidenza che gli effetti dei frangitori a martelli e a dischi sono pressoché uguali se la lavorazione avviene a livelli di maturazione avanzata, viceversa, sono diversi se la lavorazione avviene precocemente. La separazione a due fasi risulta migliore di quella a tre fasi nella caratterizzazione dell'olio. Dal punto di vista chimico si è potuto osservare che l'utilizzo dell'azoto non determina miglioramenti significativi rispetto al testimone.

Parole chiave: olivo, sistemi di frangitura, azoto, oli monovarietali.

Bibliografia

BACCOURI O., GUERFEL M., BACCOURI B., CERRETANI L., BENDINI A., LERCKER G., ZARROUK M., MILED D.D.B., 2008. *Chemical composition and oxidative stability of Tunisina monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening*. Food Chemistry 109: 743-754.

CIMATO A., MATTEI A., OSTI M., 1990. *Variation of polyphenol composition with harvesting period*. Acta Hort. 286: 453–456.

GIULIVO C., LANTE A., GAMBIN E., FERASIN M., 2006. *L'olivicoltura del Nord Est: attualità e prospettive*. Accademia dei Georgofili, Sez. Nord-Est, Padova, 17 Maggio.

INGLESE P., FAMIANI F., SERVILI M., 2009. *I fattori di variabilità genetica, ambientali e colturali della composizione dell'olio di oliva*. Italus Hortus, 16 (4): 67-81.

MATEOS R., UCEDA M., AGUILERA M.P., ESCUDEROS M.E., MAZA G.B., 2006. *Relationship of Rancimat method values at varying temperatures for virgin olive oils.* Eur Food Res Technol. 2006, 223: 246–252.

MONTEDORO GF., SERVILI M., BALDIOLI M., MINIATI E., 1992a. *Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil 1., their extraction, separation, and quantitative and semi-quantitative evaluation by HPLC*. J. Agric. Food Chem. 1992, 40: 1571-1576.

MONTEDORO GF., SERVILI M., BALDIOLI M., MINIATI E., 1992b. *Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 2., initial characterization of the hydrolyzable fraction*. J. Agr. Food Chem. 1992, 40: 1577-1580.

MONTEDORO GF., ESPOSTO S., SELVAGGINI R., SERVILI M., TATICCHI A., URBANI S., 2007. *I parametri qualitativi degli oli vergini di oliva*. Atti Conv. Interregionale L'olivicoltura nelle Venezie. Consorzio Agrario Lombardo Veneto, Verona, 12 Ottobre.

PANELLI G., SERVILI M., FAMIANI F., MONTEDORO GF., 1990. *Agro-climatic factors and characteristics of the composition of virgin olive oil*. Acta Hort. 286: 477-480.

PEDÒ S., TURA D., FAILLA O., BASSI D., 2003. *Stadio di maturazione e indici qualitativi e compositivi di oli monovarietali.* L'Informatore Agrario, 14: 69-73.

REGOLAMENTO CEE 2568/91 e successive modificazioni relativo alle caratteristiche degli oli d'oliva e degli oli di sansa d'oliva nonché ai metodi ad essi attinenti, allegato II (Determinazione dell'acidità), allegato III (Determinazione del numero di perossidi), allegato XII (Valutazione organolettica degli oli di oliva vergini).

RYAN D., ROBARDS K., LAVEE S., 1999. *Changes in phenolic content of olive during maturation*. Int. J. Food. Sci. Tech., 34: 265–274.

Acta Italus Hortus 1: 270-274

Effetti del processo di estrazione in atmosfera inerte (N_2) sulla qualità dell'olio vergine d'oliva

Romano R.[1], Giordano A. [1], Formato A. [2], Sacchi R. [1] e Spagna Musso S[1].
[1]Dipartimento di Scienza degli Alimenti, Università di Napoli "Federico II";
[2]Dipartimento di ingegneria agraria e agronomia del territorio, Università di Napoli "Federico II"

Effects of extraction process under N_2 flow on the virgin olive oil quality

Abstract. Legal, sensory and nutritional parameters of virgin olive oil depend on many factors such as ripeness, health and olive cultivar, pedoclimatic conditions, oxidative and enzymatic reactions that can occurred during extraction. Many studies showed that, during malaxation, oxygen had an effect both on phenolic compounds and fatty acids, mainly favouring enzyme phenomena that affect the virgin olive oil quality. The aim of this work was to investigate the effect of low oxygen level, by N_2 flow, during muller and malaxation on virgin olive oil quality. Results showed that the oil obtained from malaxation and muller equipment under N_2 flow showed a minor concentration of hydroperoxides (reduction from 6% for Frantoio to 44% for Coratina) and a major concentration of phenolic compounds and C6 compounds. Oil obtained under N_2 flow was shown to be richer in both aldehydes such as trans-2-hexenal and phenolic compounds than oil obtained from traditional processing.

Key words: virgin olive oil; muller; malaxation; inert gas; oxidation

Introduzione

Diversi studi in letteratura (Di Giovacchino et al., 2002; Servili e Montedoro, 2002; Sanchez e Salas, 2003; Morales e Tsimidou, 2003) hanno dimostrato che il processo di produzione dell'olio vergine d'oliva è un sistema fisico-meccanico di separazione dell'olio dalla pasta di olive che porta inevitabilmente a modificazione della composizione dell'olio. Le caratteristiche qualitative dell'olio vergine dipendono da diverse trasformazioni chimico-fisiche che avvengono proprio durante la produzione. Queste includono, principalmente, reazioni enzimatiche di tipo idrolitiche e redox (Servili *et al.,* 1999) che iniziano già nella fase di molitura e gramolatura della pasta d'oliva. La cascata delle lipossigenasi rappresenta una serie di reazioni enzimatiche che possono ossidare gli acidi grassi polinsaturi liberi a composti volatili a 5-6 atomi di carbonio responsabili degli attributi sensoriali di "verde" e di "fruttato"(Morales *et al.,* 1995; Ridolfi *et al.,* 2002). Le polifenolossidasi (PPO) e le perossidasi (POD), in presenza di ossigeno, possono ossidare rispettivamente i composti fenolici (secoridoidi, riducendone la concentrazione nell'olio) e gli acidi grassi insaturi favorendo la formazione dei prodotti primari di ossidazione (idroperossidi). Le β-glucosidasi possono idrolizzare oleuropeina e ligstroside verso i relativi agliconi più solubili nell'olio e quindi più facilmente separabili dalla pasta di olive rispetto alle forme glucosidiche (Servili e Montedoro, 2002, Rovellini e Cortesi, 2002). I potenziali effetti sulle caratteristiche qualitative del prodotto includono una riduzione della stabilità ossidativa e del valore nutrizionale dell'olio nonché degli attributi sensoriali positivi (Georgalaki *et al.,* 1998; Servili *et al.,* 2000; Ranalli *et al.,* 2001; Vierhuis *et al.,* 2001). Il ruolo delle condizioni tempo-temperatura attuate in fase di gramolazione è stato a lungo investigato e spesso si è arrivati a risultati discordanti. Basse temperature e tempi brevi ($T \leq 30$ °C, $t \leq 35$-40 min) sembrano costituire un criterio generale per ridurre la cascata delle lipossigenasi e abbattere l'attività delle PPO e delle POD e, al contempo, ottenere buone rese di estrazione (Morales *et al.,* 1995; Ranalli *et al.,* 2001; Angerosa *et al.,* 2001).

Alcuni studi hanno valutato l'effetto dell'O_2 sull'attività enzimatica. La gramolatura sotto flusso d'azoto sembra inibire l'attività di PPO e POD con conseguente incremento della concentrazione fenolica, sebbene non intacchi la cascata delle lipossigenasi o i composti volatili dell'olio (Servili *et al.,* 2000; Vierhuis *et al.,* 2001; Romano *et al.,* 2003).

E'possibile ipotizzare come una riduzione della pressione parziale di ossigeno in fase di molitura e/o gramolatura può salvaguardare la qualità sensoriale, nutrizionale e legislativa dell'olio vergine d'oliva, modificando l'attività degli enzimi di cui sopra.

Il tempo di esposizione della pasta di oliva a contatto con l'aria, costituisce un parametro fondamentale che può essere utilizzato per controllare l'effetto del processo di ossidazione. In tale contesto l'obiettivo

della presente ricerca è stato quello di valutare l'azione dell'N_2 durante le fasi di molitura e gramolatura sulle principali caratteristiche qualitative dell'olio vergine d'oliva.

Materiali e metodi

La sperimentazione è stata condotta su tre materie prime monovarietali: Coratina, Nocellara e Frantoio e una materia prima mista (Frantoio/Leccino 1/1).

Le olive sono state raccolte in Campania nel periodo novembre-dicembre 2006 in condizioni igieniche conformi e ne è stato valutato il grado di maturazione secondo l'indice di pigmentazione (Servili *et al.*, 1994).

Le partite omogenee sono state suddivise in quattro lotti da 7 kg ciascuno per ogni varietà. I lotti sono stati sottoposti alle seguenti estrazioni:

- molazza e gramola in aria (ARIA);
- molazza sotto flusso di azoto (MN_2);
- gramola sotto flusso di azoto (GN_2);
- molazza e gramola sotto flusso di azoto (N_2)

Per tutti i lotti sono state mantenute le stesse condizioni di lavorazione: molitura per 30 minuti a temperatura di 22 °C, gramolatura per 40 minuti a 26 °C. (Servili *et al.*, 2003)

Ciascuna lavorazione è stata effettuata entro le 24 ore dalla raccolta. La preparazione delle macchine (molazza a due macine, capacità pari a 15 kg, e gramola della stessa capacità a temperatura controllata) è stata ottenuta mediante evacuazione dell'aria (prima di ogni lavorazione, esclusa quella in aria) con una pompa da vuoto e successivi "lavaggi" con N_2 sia della molazza sia della gramola per un tempo di 10 minuti rispettivamente.

Durante la stessa lavorazione si manteneva costantemente una sovrapressione di azoto di 0.2 bar. La concentrazione di ossigeno (ppm) nelle paste durante la molitura e la gramolatura è stata misurata con un ossimetro mod. Ox 22 Acqualitic (Langen, Germania).

Dopo la gramolatura la separazione dell'olio era ottenuta con un sistema di centrifugazione ad asse verticale previa fluidificazione della pasta gramolata con il 20% di acqua. La fase liquida estratta veniva sottoposta a successiva chiarificazione in centrifuga a 3.500 giri/min per allontanare tracce di acqua e impurezze. Ogni varietà di olive è stata sottoposta per tre volte allo stesso ciclo di estrazione.

Sui campioni di olio prelevati sono state condotte in triplicato le seguenti determinazioni: concentrazione dell'ossigeno disciolto; N.P. e acidità (Regolamento CEE, 1991); composizione in acidi grassi (Regolamento CEE, 2002); concentrazione in fenoli totali (Rovellini e Cortesi, 2002); composti organici volatili (via SHS-HRGC-MS); composizione in trigliceridi (via HRGC-FID).

I campioni di olio estratto sono stati conservati al buio e a temperatura ambiente per 180 giorni. Le principali determinazioni sono state eseguite ogni trenta giorni fino a sei mesi.

Risultati e discussione

In tabella 1 viene riportata la concentrazione di ossigeno rilevata al tempo zero nell'olio delle quattro varietà e nelle diverse modalità di estrazione. Secondo le previsioni, la concentrazione di O_2, nell'olio estratto completamente in aria, mostra valori più alti (da 4,70 a 6,00 mg/L) rispetto all'olio ottenuto in MN_2, e all'olio ottenuto in GN_2, mentre per l'olio ottenuto totalmente sotto azoto si evidenziano concentrazioni più basse.

In figura 1 viene mostrata la concentrazione degli idroperossidi nel tempo. Il numero di perossidi (NP) dell'olio incrementa nel tempo per le quattro le varietà e nelle diverse modalità di estrazione. Nel caso delle varietà *Coratina* e *Nocellara* il NP dell'olio ottenuto in GN_2 mostra un andamento, in termini quantitativi, paragonabile al NP dell'olio ottenuto totalmente sotto flusso di azoto. Al contrario, per le varietà *Frantoio* e *Mista* è stato riscontrato che l'olio ottenuto in MN_2 mostra un NP paragonabile a quello dell'olio ottenuto completamente in azoto. Da ciò è possibile affermare, per i casi analizzati, che avere un impianto funzionante completamente sotto gas inerte è sicuramente la situazione ottimale ma, nel caso in cui ciò non fosse realizzabile, per alcune varietà è risultato equivalentemente più efficace avere la gramola funzionante in azoto mentre per altre la molazza sotto flusso d'azoto.

Nel caso dei polifenoli totali (fig. 2), è stata evidenziata una concentrazione più elevata nell'olio estratto in AZOTO e nella condizione MN_2, mentre non sembra sia efficace un impianto nella condizione

Tab. 1 - Concentrazione di ossigeno (ppm) nell'olio delle quattro varietà ottenuto nelle diverse modalità di estrazione.
Tab. 1 - Oxygen concentration (ppm) in oil of four varieties obtained in different extraction ways.

Modalità di estrazione	Coratina	Nocellara	Frantoio	Mista
[O_2] mg/L nell'olio a t=0				
Aria	6,00	4,70	5,60	5,80
Azoto	3,45	3,45	4,16	3,84
MN_2	5,24	4,40	4,58	5,19
GN_2	3,45	4,00	4,30	5,08

GN_2. Ciò è dovuto, molto probabilmente, all'effetto negativo che ha la molazza in aria precedentemente alla stessa gramola in azoto.

Sebbene la letteratura riporti (Romano *et al.*, 2003) solo l'uso della gramola in azoto come strumento per poter arricchire e potenziare le qualità antiossidanti di un olio, in realtà anche la molazza in azoto gioca un ruolo fondamentale e, per alcune varietà, un ruolo più incisivo e determinante nella concentrazione in polifenoli rispetto ad un impianto con sola gramola in azoto.

Gli effetti delle caratteristiche estrattive degli oli sono stati valutati, inoltre, per due importanti composti organici volatili (COV) per le tre varietà pure.

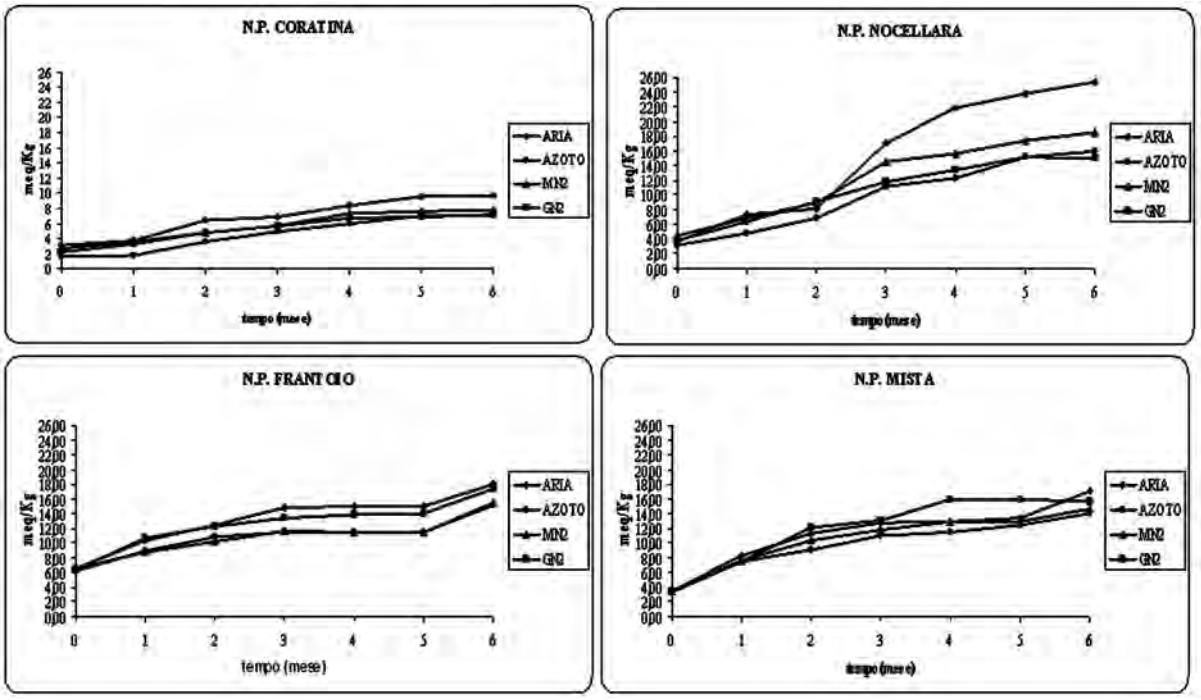


Fig. 1 - Andamento del NP dell'olio ottenuto in diverse modalità di estrazione durante la conservazione.
Fig. 1 - NP trend of oil obtained in different extraction ways during storage.

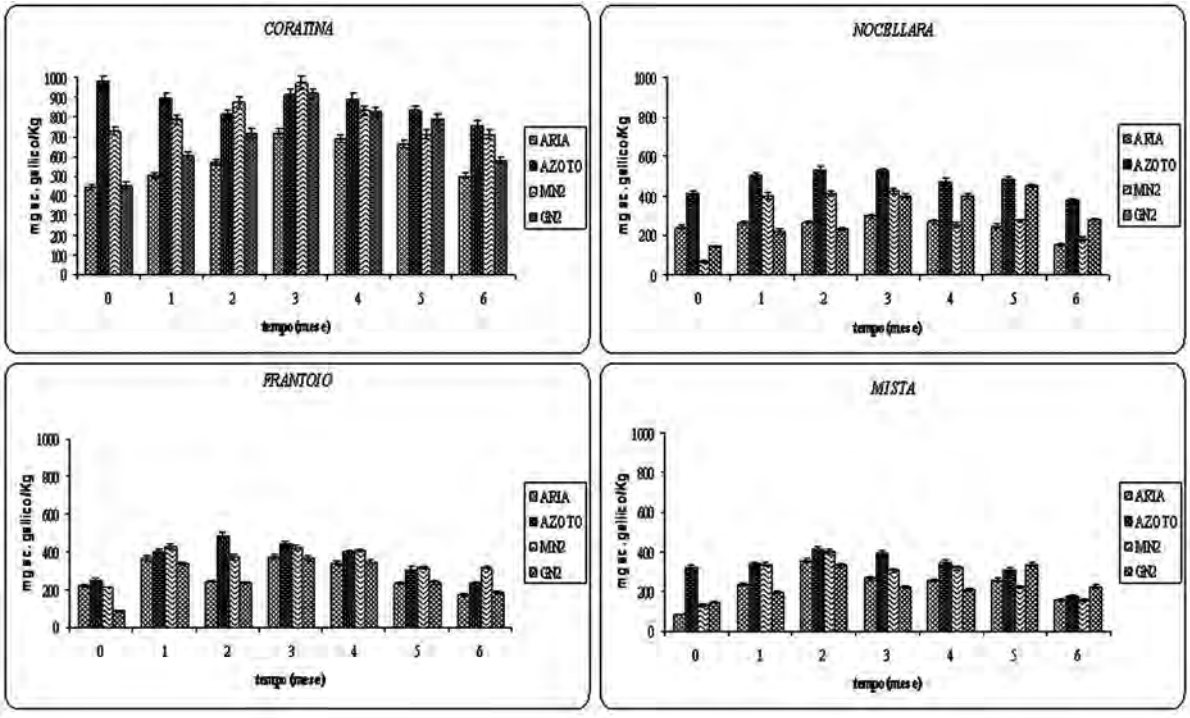


Fig. 2 - Polifenoli (mg ac.gallico/Kg) dell'olio ottenuto in diverse modalità di estrazione durante la conservazione.
Fig. 2 - Polyphenols (gallic acid mg / kg) of oil obtained in different extraction ways during storage.

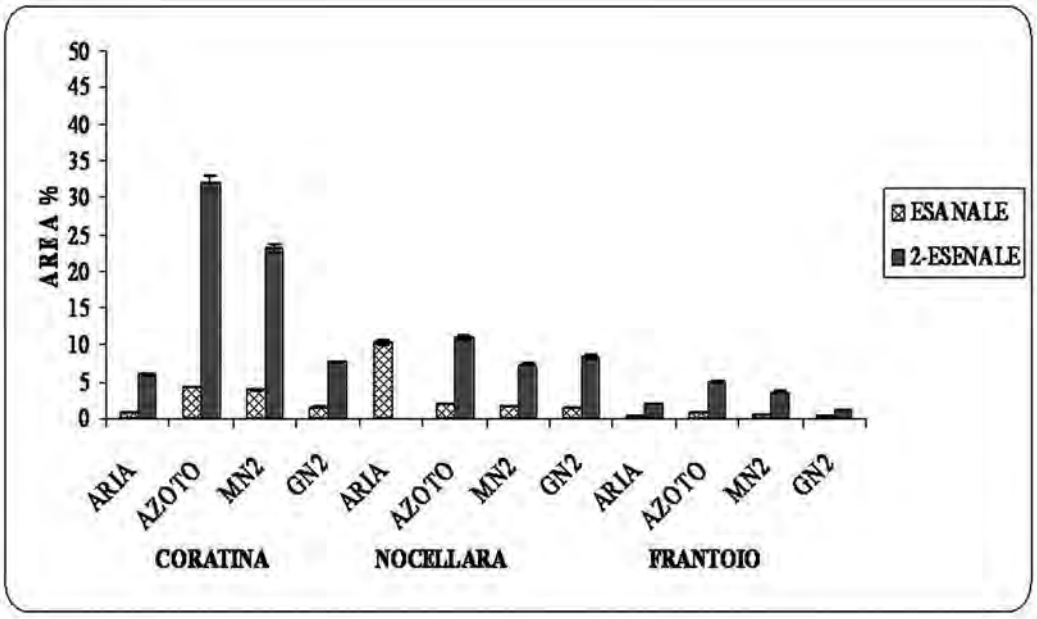


Fig. 3 - Concentrazione (%) di esanale e trans-2-esenale nell'olio delle tre varietà estratto in diverse condizioni.
Fig. 3 - Concentration (%) of hexanal and trans-2-hexenal in three varieties of oil extracted in different conditions.

Dalla figura 3 si può notare come l'olio ottenuto in azoto presenti una più alta concentrazione di trans-2-esenale, l'aldeide che meglio caratterizza il bouquet di un olio con le sue note di verde, erba tagliata e mandorla fresca.

Non sono state riscontrate variazioni rilevanti per acidità, composizione in acidi grassi e trigliceridi.

Conclusioni

I dati ottenuti dalla sperimentazione hanno evidenziato che un effetto positivo sulle principali caratteristiche dell'olio si possono ottenere, in ordine decrescente, con un impianto funzionante in modalità azoto, in MN_2 e in GN_2. Sebbene attualmente alcuni impianti di estrazione prevedono solo la gramola in azoto, c'è da sottolineare che la presenza della molazza a monte del sistema di estrazione funzionante in aria riduce gli effetti positivi della gramola stessa in atmosfera inerte. I dati hanno evidenziato, inoltre, un diverso comportamento delle varietà di olive utilizzate per l'estrazione dell'olio sotto flusso di azoto.

Per concludere si può affermare che bisogna comunque modulare materia prima e tecnologia di estrazione in modo da ottenere oli che conservano alti livelli di antiossidanti e buone proprietà sensoriali.

Riassunto

I parametri sensoriali, nutrizionali e legislativi dell'olio vergine d'oliva risultano essere influenzati, oltre che dal grado di maturazione e stato sanitario delle olive, tipo di cultivar e condizioni pedo-climatiche, anche da fenomeni ossidativi di origine chimico-fisici ed enzimatici che possono avere inizio in fase di estrazione. Diverse ricerche hanno dimostrato che, durante la gramolatura, la presenza dell'ossigeno ha un effetto prevalente sia sui composti fenolici che sugli acidi grassi, favorendo l'innesco di reazioni a catena che compromettono inevitabilmente le caratteristiche a lungo termine dell'olio vergine d'oliva. L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di valutare l'effetto della riduzione della pressione parziale d'ossigeno, mediante flusso di azoto, in fase di molitura e gramolazione sulla qualità dell'olio vergine d'oliva. I risultati ottenuti indicano che il sistema con molazza e gramola sotto azoto porta ad una riduzione della formazione degli idroperossidi (dal 6% circa per la varietà *Frantoio* al 44% circa per la varietà *Coratina*) e, conseguentemente, determina una maggiore concentrazione di composti fenolici e composti C6 nell'olio estratto. Il prodotto ottenuto sotto flusso di azoto si è mostrato più ricco in aldeidi come la trans-2-esenale e in composti fenolici rispetto all'olio ottenuto secondo il sistema tradizionale.

Parole chiave: olio vergine d'oliva, molitura, gramolatura, atmosfera inerte, ossidazione.

Bibliografia

ANGEROSA F., MOSTALLINO R., BASTI C., VITO R., 2001. *Influence*

of malaxation temperature and time on the quality of virgin olive oils. Food Chem 72: 19-28.

DI GIOVACCHINO L., SESTILI S., DI VINCENZO D., 2002. *Influence of olive processing on virgin olive oil quality*. Eur J Lipid Sci Technol 104: 587-601.

GEORGALAKI M.D., SOTIROUDIS T.G., XENEKIS A., 1998. *The presence of oxidising enzyme activities in virgin olive oil*. J Am Oil Chem Soc 75: 155-159.

MORALES M.T., ALONSO M.V., RIOS J.J., APARICIO R.,1995. *Virgin olive oil aroma: relationship between volatile compounds and sensory attributes by chemometrics.* J Agric Food Chem 43: 2925-2931.

MORALES M.T., TSIMIDOU M.,2003. *El papel de los compuestos volatiles y los polifenoles en la calidad sensorial del aceite de oliva*. Manual del aceite de oliva 12: 381-441.

RANALLI A., CONTENTO S., SCHIAVONE C., SIMONE N., 2001. *Malaxing temperature affects volatile and phenol composition as well as others analytical features of virgin olive oil*. Eur J Lipid Sci Technol 103: 228-238.

REGOLAMENTO CEE (EC) no. 2568/1991. Offic J EC L248:6-35.

REGOLAMENTO CEE (EC) no. 796/2002. Offic J EC L128:1-28.

RIDOLFI M., TERENZIANI S., PATUMI M., FONTANAZZA G., 2002. *Characterization of the lipoxygenase in some olive cultivars and determination of their role in volatile compounds formation*. J Agric Food Chem 50: 835-839.

ROMANO R., FORMATO A., ROMANO F., BATTAGLIA A., SACCHI R., SPAGNA MUSSO S., MAGRI M., 2003. *La qualità dell'olio extyravergine di oliva estratto sotto flusso di azoto*. In "Ricerche e Innovazioni dell'Industria alimentare", Vol. VI, a cura di S. Porretta, Chiriotti Editori, Pinerolo (TO): 506-512.

ROVELLINI P., CORTESI N., 2002. *Liquid chromatography–mass spectrometry in the study of oleuropein and ligstroside aglycons in virgin olive oil: aldehydic, dialdehydic forms and their oxidized products.* Riv Ital Sost Grasse 79: 1-14.

SANCHEZ J. SALAS J.J.,2003. *Biogenesis del aroma del aceite de oliva*. Manual del aceite de oliva 4: 89-107.

SERVILI M., PANNELLI G., SELVAGGINI R., BALDIOLI M., MONTEDORO G.F., 1994. *Effect of agronomic and seasonal factors olive (*Olea europea *L.) production on the qualitative characteristics of the oil*. Acta Hort. 1: 239-244.

SERVILI M., BALDIOLI M., FEDERICI E., MONTEDORO G.F., 1999. *Effetto dei fenomeni ossidativi in fase di gramolatura sulle caratteristiche qualitative dell'olio vergine d'oliva* in "Ricerche e Innovazioni dell'Industria alimentare", Vol. IV, a cura di S. Porretta Chiriotti Editori, Pinerolo (TO): 294-303.

SERVILI M., BALDIOLI M., BEGLIOMINI A.L., SELVAGGINI R., MONTEDORO F., 2000. *The phenolic and volatile compounds of virgin olive oil: relationship with the endogenous oxidoreductases during the mechanical oil extraction process*. Flavour Frag Chem 17:163-173.

SERVILLI M., MONTEDORO GF., 2002. *Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality*. Eur J Lipid Sci Technol 104: 602-613.

SERVILI M., SELVAGGINI R., TATICCHI A., ESPOSITO S., MONTEDORO G., 2003. *Ottimizzazione delle condizioni di gramolatura in funzione della qualità dell'olio extra-vergine di oliva*. In "Ricerche e Innovazioni dell'Industria alimentare", Vol. VI, a cura di S. Porretta, Chiriotti Editori, Pinerolo (TO): 793-800.

VIERHUIS E., SERVILI M., BALDIOLI M., SCHOLS HA., VORANGEN A.C.J., MONTEDORO G., 2001. *Effect of enzyme treatment during mechanical extraction of olive oil on phenolic compounds and polysaccharides*. J Agric Food Chem 49: 1218-1223.

Acta Italus Hortus 1: 275-277

Le innovazioni tecnologiche in frantoio per una filiera olivicola-olearia più competitiva

Venturi E. e Laterza G.
Gruppo Pieralisi, 60035 Jesi (AN)

The technological innovations in the olive mill for an olive oil production chain more competitive

Abstract. The olive oil production chain becomes competitive when it answers to the requirements of extraction yield, quality, low costs of production and environment respect in a suitable way. This important aim can be reached only through a renewal of the whole olive sector, from the olive orchard to the olive oil extraction plant, up to the management of the secondary products of the process. Today exist many different solutions for the renewal of the olive mill: between them, the 2 phases continuous extraction method represents the only really effective solution that permits to make that qualitative improvement that is necessary in an olive oil market always more difficult.

Key words: competitiveness, yield, quality, consumptions, environment.

Il risultato economico che deriva dall'attività produttiva di olio da olive, oggi, in molte realtà è ancora insoddisfacente: i costi di produzione sono elevati e la capacità di produzione ridotta, limitata da una gestione del processo ancora ferma a caratteri di tradizionalità; questi, se da una parte mantengono una forte connotazione di tipicità, dall'altra limitano la possibilità di implementare la tecnologia e migliorare il risultato economico.

Sebbene tutti gli operatori della filiera olivo-oleicola sono perfettamente consapevoli di quali siano i punti di debolezza del loro settore e della necessità di rinnovare a tutti i livelli, la situazione rimane cementata ad uno stadio in cui, per diffidenza o incapacità gestionale, ciascun soggetto agisce per conto proprio senza collaborazione.

Risulta per questo importante diffondere il messaggio che occorre definire una nuova strategia di filiera caratterizzata da un reale clima di collaborazione tra gli operatori del settore.

Al frantoio deve essere riconosciuto un ruolo ben preciso all'interno ed all'esterno della filiera, capace di qualificarlo come azienda che, se da una parte è pronta ad affrontare i cambiamenti del mercato, dall'altro conserva un ruolo di trasformatore che rispetta le tradizioni e gli usi al fine di rendere l'olio da olive un prodotto inimitabile.

La filiera olivo-oleicola può quindi diventare redditizia laddove le aziende rinnovano gli oliveti, le attrezzature meccaniche per l'esecuzione delle operazioni agronomiche più costose e investono nell'adeguamento degli impianti di estrazione.

In particolare, l'attività di trasformazione in frantoio, nonostante nel corso degli ultimi trent'anni abbia subito un grande ammodernamento, ancora oggi risulta in molti casi poco redditizia. Questo per gli alti costi di gestione legati ai consumi idrici ed elettrici, i vincoli tecnici e normativi nello smaltimento dei prodotti secondari e la difficoltà nel gestire l'eterno compromesso tra qualità e quantità.

Oggi le aziende costruttrici di macchine olearie offrono un'ampia gamma di prodotti tecnologici in grado di soddisfare le esigenze sia del singolo frantoiano che del conto-terzista e sperimentano continue soluzioni con i seguenti obiettivi:

- automatizzare il processo per semplificare la gestione dell'impianto,
- monitorare e controllare tutti i parametri di processo,
- realizzare una trasformazione rapida delle olive,
- risparmiare sulla manodopera,
- abbattere i costi di produzione legati ai materiali di consumo (acqua ed energia),
- aumentare le rese di estrazione,
- rispettare la qualità del prodotto,
- valorizzare i prodotti secondari del processo.

Quindi offrono metodi innovativi che determinano quel salto qualitativo necessario in un mercato come quello dell'olio da oliva in cui è sempre più difficile collocare il prodotto a prezzi redditizi.

L'innovazione tecnologica diventa quindi indispensabile per una filiera olivicolo-olearia sempre più competitiva.

Ma come si è evoluto nei secoli il processo di estrazione di olio di oliva?

Il sistema tradizionale di estrazione di olio di oliva per pressione è tutt'oggi ancora molto diffuso, soprattutto nei Paesi del bacino del Mediterraneo.

Fig. 1 - Oleificio OLMA, Grosseto.
Fig. 1 - Cooperative OL.MA., Grosseto.

L'idea di ricorrere alla centrifugazione per separare l'olio dalla pasta di olive risale alla fine del XIX secolo.

Le caratteristiche del sistema tradizionale a pressione che durante gli anni hanno motivato il passaggio al sistema continuo per centrifugazione sono stati gli alti costi di produzione, la grande richiesta di manodopera, la discontinuità nel processo di lavorazione, la bassa capacità di lavoro, la perdita di tempi considerevoli durante le operazioni, la peggiore qualità dell'olio di oliva prodotto, in termini di acidità e di valutazione organolettica (difficoltà nel pulire le macchine, conseguente presenza di residui che danneggiano il prodotto, lentezza nel processo di separazione dell'olio dalla pasta di olive con il maggior rischio di ossidazione).

Intorno agli anni '50 la ditta Veraci di Firenze realizza ed introduce sul mercato "PRIMOLIA", una centrifuga cilindrica a paniere di tipo discontinuo con separazione tra olio, acqua e solidi.

Alla fine degli anni '60 il Gruppo Pieralisi ha trasformato il metodo "Primolia" nel primo moderno sistema di estrazione centrifuga introducendo il decanter ed il ciclo continuo.

Il sistema continuo Pieralisi, che opera da circa mezzo secolo con pieno successo sul mercato nazionale ed internazionale, è un insieme di macchine coordinate in una linea di produzione omogenea, razionale e tecnologicamente avanzata.

Il cuore del sistema di estrazione continuo è il decanter, dove la pasta di olive adeguatamente gramolata e fluidificata con acqua incontra la forza centrifuga che, sulla base dei diversi pesi specifici, separa le 3 fasi (olio, acqua e solido).

Il problema più sentito del sistema di estrazione centrifugo a 3 fasi è rappresentato dalla produzione di grandi quantità di acque reflue e dalle difficoltà riscontrate nel loro smaltimento. L'acqua di vegetazione, infatti, è fortemente acida e fitotossica, a causa

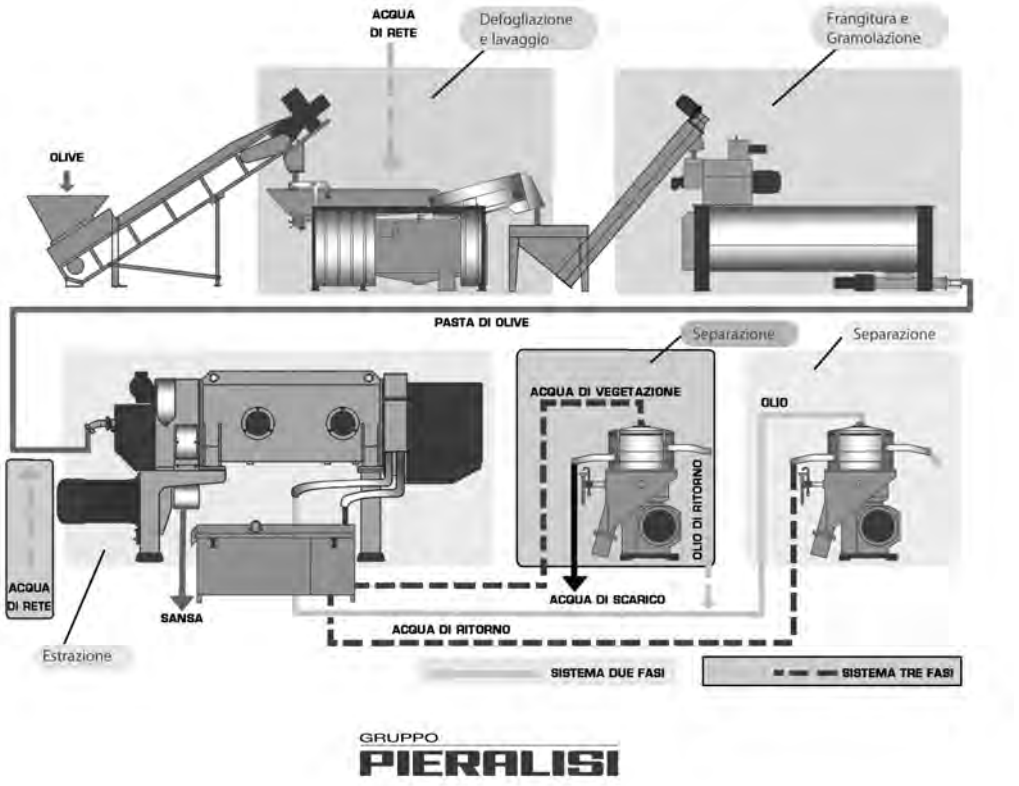


Fig. 2 - Schema del sistema ad estrazione continuo.
Fig. 2 - Scheme of continuos extraction method.

della composizione chimica: il suo utilizzo nella fertirrigazione e nello spargimento in campo richiede pertanto accortezze di tipo sia agronomico che legislativo.

Necessità di tipo ambientali ed economiche hanno portato, durante i primi anni '90, alla messa a punto di un sistema di estrazione centrifugo di nuova generazione che poteva eliminare le problematiche legate alle acque di vegetazione.

Questo tipo di estrazione, denominato "a due fasi" o "metodo integrale" consente di eliminare l'utilizzo dell'acqua di processo, indispensabile invece nel sistema a tre fasi, con il duplice vantaggio di limitare l'impiego di risorse naturali (acqua) e di eliminare la produzione di refluo, il cui smaltimento incide in modo sensibile sui costi di gestione dell'oleificio.

Nel sistema di estrazione a 2 fasi, l'acqua vegetale fuoriesce dal decanter con la parte solida (sansa), mentre l'olio viene espulso dall'altra estremità dove viene inviato all'unico separatore centrifugo verticale.

La caratteristica principale del sistema a 2 fasi è che l'estrazione di olio dalla pasta di olive viene ottenuta senza l'aggiunta di acqua: solo nel caso in cui le olive siano troppo asciutte, viene aggiunto un 5% di acqua per ripristinarne il giusto contenuto idrico. L'unico sottoprodotto che si ottiene è la sansa umida (65% di contenuto di acqua).

La tabella riporta gli aspetti positivi e negativi dei due sistemi messi a confronto.

	VANTAGGI	SVANTAGGI
3 FASI	- umidità nella sansa (+ valore per i sansifici)	- qualità dell'olio + acqua di vegetazione - olio (maggiore perdita) - costoso (investimenti e gestione)
2 FASI	+ qualità dell'olio no acqua di vegetazione - impatto ambientale + olio (minore perdita) - costoso (investimenti e gestione)	+ umidità nella sansa (- valore per i sansifici)

L'aggiunta di acqua al processo nel sistema a 3 fasi comporta una maggiore perdita di olio nella sansa quindi una minore resa di estrazione, la produzione di grandi volumi di acqua di vegetazione da smaltire con la nascita di problematiche sia di tipo economico che ambientale ed una produzione di minore qualità, soprattutto legata al minor contenuto in polifenoli dell'olio ottenuto.

Senza aggiunta di acqua al processo si ottiene invece una maggiore quantità di olio con una migliore qualità, minori effetti ambientali per l'assenza di acqua di vegetazione prodotta e minori costi sia di investimento che di operatività (minor consumo idrico ed energetico).

L'ultima innovazione nella fase di estrazione di olio dalle paste di olive è rappresentata da una centrifuga di ultima generazione denominata DMF, progettata e brevettata da Pieralisi.

Il DMF è ancora in fase di studio ma finora ha dato ottimi risultati per rispondere a esigenze sia di produzione, che di qualità, di risparmio idrico ed energetico e di valorizzazione dei prodotti secondari che si ottengono.

Il rinnovamento della filiera deve coinvolgere quindi anche il settore della trasformazione poiché solo attraverso l'adozione delle innovazioni tecnologiche e l'attenta razionalizzazione del processo di estrazione è possibile abbattere i costi di produzione e fare un prodotto di qualità.

In conclusione si può affermare che oggi esistono molte soluzioni diverse per il frantoio, ma se si vuole adottare il sistema più competitivo, ovvero quello che permette contemporaneamente di avere alte rese di estrazione, nel rispetto della qualità del prodotto, con bassi consumi idrici ed energetici e nel rispetto dell'ambiente, l'unica soluzione realmente valida è il metodo di estrazione a 2 fasi.

Riassunto

La filiera olivicolo-olearia diventa competitiva quando risponde in maniera adeguata alle esigenze di resa estrattiva, qualità del prodotto, bassi costi di produzione e rispetto dell'ambiente. E questo traguardo può essere raggiunto solo attraverso un rinnovamento, dall'oliveto all'impianto di estrazione, fino alla gestione dei prodotti secondari del processo. Oggi esistono molte soluzioni diverse per il frantoio, ed oggi l'unica realmente valida che può realmente determinare quel salto qualitativo necessario in un mercato difficile come quello dell'olio da olive è il metodo continuo a 2 fasi.

Parole chiave: competitività, resa, qualità, consumi, ambiente.

Studio delle correlazioni tra le intensità degli attributi organolettici di amaro e piccante e le concentrazioni dei composti che ne sono responsabili

Preziuso S.M., Di Loreto G. e Biasone A.
CRA-OLI, Centro di Ricerca per l'Olivicoltura e l'industria olearia, Città S. Angelo (PE)

Phenolic compounds related to bitter and pungent organoleptic virgin olive oil attributes

Abstract. The current methodology to evaluate the sensory properties of virgin olive oil, known as panel test, although necessary according to the current regulations, presents some problems as well as high number of assay sitting, high costs to form and maintain the tasters' performance, need of continuous availability of the assessors. It is well-known that phenolic substances are responsible to the bitter and pungent attributes of virgin olive oils, whose determination is not included among the official norms. However, there is the demand, by olive oil companies, of a quickly and cheap evaluation of bitterness and pungency notes in order to choose the right market areas according to the different taste requirements. Several different extra-virgin olive oil samples were taken into account to put in correlation the intensity of the cited attributes, obtained by the panel test, with the quantitative HPLC analysis. Data shown good correlations between bitter median (panel score) and the following phenolic substances: oxidized form of 3,4-dihydroxyphenyl-ethanol linked to dialdehydic form of elenolic acid (3,4-DHPEA-EDAox), 3,4-DHPEA-EDA, oleuropein (O), 3,4-DHPEA-EA, tyrosyl acetate (TyA). Regarding pungent median (panel score), it resulted correlated with p-hydroxyphenyl-ethanol linked to dialdehydic form of elenolic acid (p-HPEA-EDA). The parallelism between the quantitative analysis by HPLC, regarding phenolic compounds, and the sensory evaluation of bitter and pungent attributes could, in some cases, overcome the panel test analysis.

Key words: virgin olive oil, phenolic compounds, bitterness, pungency, HPLC.

Introduzione

È noto che gli attributi di amaro e piccante dell'olio di oliva vergine sono da imputare alla presenza delle sostanze fenoliche, la cui determinazione, al momento, non è prevista dalla legislazione vigente. Tuttavia c'è grande attenzione, da parte delle aziende olearie, alla possibilità di una valutazione a basso costo e veloce degli attributi di amaro e piccante al fine di commercializzare i diversi oli indirizzandoli, in base ai loro più o meno spiccati attributi sensoriali, ai mercati che più li sappiano apprezzare, od eventualmente alla preparazione di blend.

Pertanto si è ritenuto di grande utilità avviare uno studio che mettesse in evidenza le correlazioni tra le intensità di percezione, al panel test, delle note di amaro e piccante e le concentrazioni delle diverse sostanze fenoliche, determinate mediante HPLC.

Materiali e metodi

Sono stati presi in considerazione 62 campioni di olio extra vergine di oliva durante le campagne olearia 2006/2007-2007/08. Si tratta di 34 campioni monovarietali forniti dalla Società De Cecco di Filippo Fara San Martino S.p.A. (Fara San Martino - CH) e dalle regioni Toscana, Abruzzo, Sicilia, Calabria e Puglia e 28 commerciali, reperiti presso punti di vendita alimentari nazionali ed internazionali (Italia, Spagna e Germania).

Su tali campioni si è proceduto all'estrazione e all'analisi delle sostanze fenoliche mediante HPLC (Cortesi, 2006) e all'esame organolettico in accordo con il Reg. (CEE) 2568/91 e successive modifiche.

Risultati e discussione

Nelle tabelle 1 e 2 sono riportati i punteggi organolettici degli attributi di amaro e piccante e le sostanze fenoliche risultate principalmente correlate.

Questo studio, relativamente all'attributo di amaro, ha permesso di evidenziare che le sostanze fenoliche principalmente correlate ($r = 0,837$) sono: aglicone decarbossimetiloleuropeina forma dialdeidica, aglicone oleuropeina forma aldeidica e idrossilica, oleuropeina, tirosilacetato (picchi 11-15) (fig. 1).

In figura 2 è possibile osservare la regressione lineare tra la mediana dell'attributo di amaro (ottenuto dalla valutazione organolettica) e la somma dei suddetti composti espressi in mg/kg di tirosolo. La correlazione è positiva ($R^2 = 0,6909$, $p < 0,05$); lo scosta-

Tab. 1 - Campioni monovarietali di olio extra vergine di oliva. Mediana degli attributi di amaro e piccante (punteggio panel) e sostanze fenoliche correlate (mg/kg di tirosolo).
Tab. 1 - Median of bitterness and pungency notes of monocultivar extra-virgin olive oils (panel score) and the following phenolic substances (mg/kg of tyrosol).

Campione	Cultivar	Picchi 11-15 [mg/kg tirosolo]	Amaro [Punteggio panel]	*p*-HPEA-EDA [mg/kg tirosolo]	Piccante [Punteggio panel]
M1	Gentile di Chieti	103,0	4,0	61,2	3,3
M2	Leccino	26,4	1,3	47,3	4
M3	Peranzana	18,1	2,1	33,7	2,8
M4	Coratina	103,8	4,0	139,0	3,2
M5	Intosso	36,8	2,0	67,8	2,9
M8	Gentile di Chieti	48,2	4,7	72,6	3,9
M9	Coratina	188,4	5,8	180,5	6
M10	Coratina	118,6	5,5	155,5	6
M11	Dritta	108,5	3,6	45,4	2,2
M13	Leccino	28,7	1,9	59,7	2,5
M15	Gentile	42,6	2,0	65,7	3,5
M16	Coratina	133,7	5,5	103,0	4,3
M17	Peranzana	95,3	6,0	82,6	2,7
M18	Moraiolo	83,1	4,9	66,3	5,4
M19	Moraiolo	120,5	5,9	51,6	4,6
M20	Leccino	39,1	2,8	30,0	2,6
M21	Moraiolo	128,2	4,0	90,3	4,7
M22	Minucciola	61,3	3,9	43,6	3
M23	Bosana	78,0	3,8	63,2	3,7
M24	Tonda Iblea	44,1	3,9	63,2	4,4
M25	Moraiolo	144,5	5,4	66,6	4,5
M26	Frantoio	139,2	6,2	71,7	4,9
M27	Coratina	44,2	4,3	102,6	5,6
M28	Nocellara	81,5	3,3	64,9	4,7
M29	Bianchera	25,3	1,5	45,5	2,3
M30	Carolea	5,9	1,7	35,6	1,5
M31	Carolea	5,6	0,0	27,4	1,2
M32	Cellina	27,3	1,4	82,9	4,1
M33	Maiatica F.	4,2	1,4	22,6	1,1
M34	Cima di Melfi	32,6	1,7	23,3	1,3
M35	Peranzana	53,1	4,5	25,9	1,8
M36	Conservolia	189,4	6,1	127,3	6,2
M37	Coratina	145,7	6,8	134,4	7,0
M38	Coratina	39,0	2,0	117,2	6,0

mento medio del dato y dal valore calcolato sulla retta di regressione è di 20,6 mg/kg.

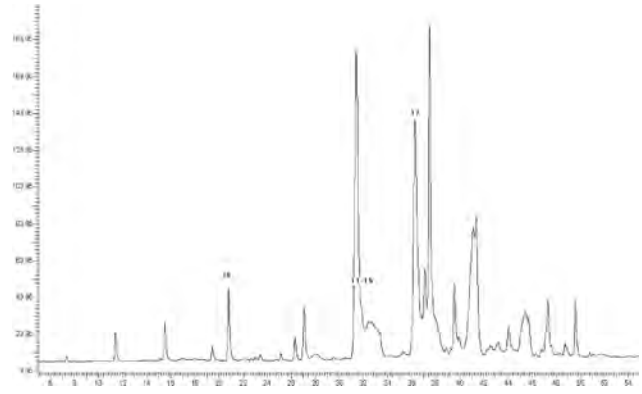
L'attributo di piccante risulta avere una maggiore correlazione (r = 0,800) con il seguente fenolo: aglicone decarbossimetilligstroside forma dialdeidica (*p*-HPEA-EDA) (picco 17) (fig. 1). Anche in questo caso la quantità di tale composto, espresso in mg/kg di tirosolo, e la mediana dell'attributo di piccante, ottenuto dal giudizio del panel, hanno dato una correlazione positiva (R^2 = 0,6316, $p < 0,05$). Lo scostamento medio del dato y dal valore calcolato sulla retta di regressione è di 17,5 mg/kg (fig. 3).

Conclusioni

I valori ottenuti dalle rette di regressione hanno evidenziato come sia possibile valutare gli attributi amaro e piccante, in campioni di olio extra vergine di oliva, mediante la determinazione analitica delle sostanze fenoliche via HPLC, senza l'ausilio del panel test. L'approfondimento dello studio degli attributi di amaro e piccante sugli oli di oliva monovarietali, mediante tale metodica, potrebbe essere di notevole interesse al fine di valorizzarne le peculiarità. Tale studio potrebbe gettare le basi per un rapido screening

Tab. 2 - Campioni commerciali di olio extra vergine di oliva. Mediana degli attributi di amaro e piccante (punteggio panel) e sostanze fenoliche correlate (mg/kg di tirosolo).
Tab. 2 - Median of bitterness and pungency notes of commercial extra-virgin olive oils (panel score) and the following phenolic substances (mg/kg of tyrosol).

Campione	Picchi 11-15 [mg/Kg tirosolo]§	Amaro [Punteggio panel]#	*p*-HPEA-EDA [mg/Kg tirosolo]§	Piccante [Punteggio panel]#
C1	79,8	6,2	58,3	3,5
C2	104,7	5,3	90,2	4,4
C3	46,9	2,3	41,0	4
C4	51,8	1,7	43,5	2,5
C5	58,5	1,5	52,9	2,6
C6	64,9	1,5	54,9	2,5
C7	181,1	5,5	91,3	4
C8	91,1	4,1	49,8	4
C9	95,6	3,9	62,0	4,4
C10	56,7	2,7	67,1	2,5
C11	37,3	2,1	96,4	4,2
C12	26,9	1,5	100,9	4,2
C13	29,5	2,5	95,0	4,6
C14	16,3	0,9	71,7	4,1
C15	122,1	4,8	127,0	5,2
C16	108,2	5,2	103,5	5,5
C17	134,5	4,5	118,5	5,6
C18	50,2	2,5	39,8	2,2
C19	53,1	3,9	134,3	4,4
C20	63,2	3,3	54,4	3,1
C21	60,1	4,6	87,1	4,1
C22	16,3	1,7	31,8	1,6
C23	81,2	4	82,7	4,1
C24	14,1	1,8	26,4	2,3
C25	47,3	4,7	48,7	4,4
C27	125,6	5,1	139,0	6,3
C28	133,0	6,2	167,6	6,2
C29	189,4	6,6	210,8	6,4



IS = standard interno (acido siringico)
11-15 = 3,4-DHPEA-EDAox, 3,4-DHPEA-EDA, O, 3,4-DHPEA-EA, TyA
17 = *p*-HPEA-EDA

Fig. 1 - Cromatogramma HPLC dell'estratto fenolico (campione C 17).
Fig. 1 - Chromatogram of the quantitative analysis by HPLC, regarding phenolic compounds (samples C 17).

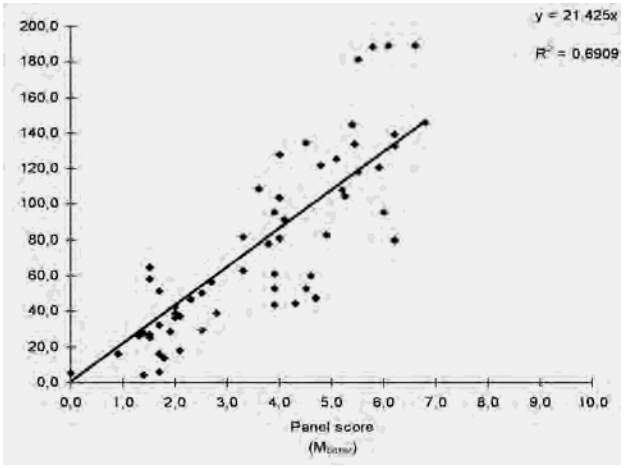


Fig. 2 - Regressione lineare tra l'attributo di amaro e la concentrazione delle sostanze fenoliche correlate.
Fig. 2 - Linear regression between bitterness and the following phenolic substances.

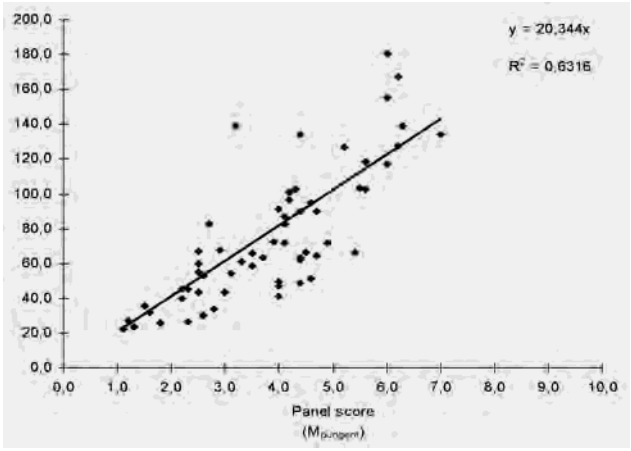


Fig. 3 - Regressione lineare tra l'attributo di piccante e la concentrazione della sostanza fenolica correlata.
Fig. 3 - Linear regression between pungency notes and the following phenolic substances.

degli oli, riducendo così il numero di campioni da sottoporre all'assaggio e scartando a priori quelli che, a causa dell'elevato contenuto fenolico, risultassero disarmonici tal quali. Questi ultimi, in blend, aggiungerebbero fragranza e un patrimonio antiossidante ad oli troppo delicati.

Riassunto

L'attuale metodologia di assaggio dell'olio d'oliva vergine prevede l'impiego di personale addestrato al riconoscimento olfattivo e gustativo dei suoi attributi. Tuttavia, pur riconoscendo un ruolo di estrema rilevanza all'analisi sensoriale (panel test) nella classificazione merceologica degli oli, l'impiego di tale test presenta dei problemi legati agli alti costi per la formazione e il mantenimento della performance degli assaggiatori , alla necessità di un elevato numero di sedute di assaggio nonché di una continua disponibilità dei membri del panel. È noto che gli attributi di amaro e piccante dell'olio sono da imputare alla presenza delle sostanze fenoliche, la cui determinazione, al momento, non è prevista dalla legislazione vigente. Ciò nonostante c'è grande interesse, da parte delle aziende olearie, ad una valutazione a basso costo e veloce degli attributi di amaro e piccante al fine di indirizzare gli oli, in base ai loro più o meno spiccati attributi sensoriali, ai mercati che più li sappiano apprezzare, o eventualmente alla preparazione di blend. Il presente studio ha avuto lo scopo di evidenziare le correlazioni tra le intensità di percezione, al panel test, delle note di amaro e piccante e le concentrazioni delle sostanze fenoliche responsabili di tali attributi, mediante HPLC. A tal fine sono stati analizzati 62 campioni di olio di oliva vergine di diversa provenienza commerciale. I dati ottenuti hanno rilevato una buona corrispondenza tra la maggiore percezione degli attributi sensoriali determinati tramite panel test ed il contenuto delle sostanze fenoliche con l'intensità di amaro (3,4-DHPEA-EDAox, 3,4-DHPEA-EDA, O, 3,4-DHPEA-EA, TyA) e di piccante (*p*-HPEA-EDA).Tale studio potrebbe gettare le basi per un rapido screening degli oli; riducendo così il numero di campioni da sottoporre all'assaggio e scartando a priori quelli che, a causa dell'elevato contenuto fenolico, risultassero disarmonici.

Parole chiave: olio di oliva vergine, composti fenolici, amaro, piccante, HPLC.

Ricerca finanziata da F.lli De Cecco S.p.A., Fara San Martino (CH), e dal Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali

Effetti dei differenti metodi di frangitura delle olive sulla resa e sulle caratteristiche qualitative dell'olio vergine di oliva

Preziuso S.M.[1], Di Serio M.G.[1], Biasone A.[1], Vito R.[1], Mucciarella M.R.[1] e Di Giovacchino L.[2]
[1] CRA-OLI, Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia, Città Sant'Angelo (PE)
[2] Ex- Researcher of CRA-OLI

Different methods of olive crushing affect the yields and qualitative characteristics of virgin olive oil

Abstract. Experimental tests were carried out at an oil mill operating at centrifugal decanter in order to compare different methods of crushing: mobile-knives equipped with a hole grid, stone mill and with the combination of the two olive crushing methods. The results show how the composition of the oils were influenced by the variety and only partially by different methods of preparation of the olives.

Key words: metallic crushers, pomace, olive mill wastewater, volatile compounds.

Introduzione

La continua diffusione degli impianti continui di centrifugazione, nel settore della trasformazione olivicola finalizzata all'estrazione meccanica dell'olio, ha comportato la sostituzione del frantoio a macine di granito, utilizzato nel passato per la preparazione della pasta di olive, con i frangitori metallici. Tale trasformazione, legata al progresso tecnologico ed alla necessità di incrementare la capacità di lavoro del frantoio e di ridurre i costi di manodopera, ha determinato, non solo un cambiamento di immagine del frantoio, ma anche la variazione di alcune caratteristiche dell'olio, in particolare quelle organolettiche, non sempre ritenute accettabili e gradite dai produttori e dai consumatori.

La modalità di preparazione della pasta di olive, soprattutto la frangitura delle drupe e, in minor misura, la gramolazione, influiscono in maniera importante e significativa sulla resa e sulla qualità dell'olio, come hanno evidenziato numerosi lavori sulla tematica (Angerosa e Solinas, 1975; Ranalli, 1989; Angerosa e Di Giacinto, 1995; Sacchi *et al.*, 1996; Alloggio *et al.*, 1996; Caponio *et al.*, 1999) i cui risultati, sebbene in qualche caso contrastanti, consentono di affermare che: i) la violenza con cui si effettua la frangitura delle olive incide sul contenuto di sostanze fenoliche e sulle caratteristiche organolettiche dell'olio; ii) i diversi metodi di frangitura non influiscono sulla qualità merceologica dell'olio. Il problema delle caratteristiche organolettiche dell'olio, e le preferenze dei produttori e dei consumatori, ha spinto, tuttavia, i costruttori di macchine a proporre soluzioni tese a ridurre l'impatto dell'operazione di frangitura ma anche a salvaguardare i rendimenti di estrazione in olio. Con la finalità di accertare l'utilità di impiego di un particolare frangitore metallico recentemente immesso sul mercato, quello a coltelli mobili con griglia forata, sono state effettuate prove sperimentali presso un oleificio industriale dotato di un decanter centrifugo per l'estrazione dell'olio da paste di olive preparate con il predetto frangitore metallico o con il frantoio a macine o, ancora, con l'abbinamento dei due metodi di molitura delle olive.

Materiali e metodi

Le prove sperimentali sono state effettuate in un oleificio industriale, operante mediante un decanter centrifugo a 3 uscite con poca acqua aggiunta ed a recupero di olio. L'oleificio dispone di un frangitore metallico a coltelli mobili, con griglia dotata di fori da 8 mm, e di un frantoio con 2 macine di granito, di grandi dimensioni. Per ciò che riguarda la separazione dell'olio mediante decanter centrifugo (a recupero di olio), viene effettuata con 900 kg/h di pasta e l'aggiunta di acqua di rete ad una portata di 200 l/h. Il decanter consente di ottenere un flusso di acqua di vegetazione e 2 flussi di olio, differenti per quantità e qualità, che confluiscono nella stessa vasca di raccolta delle fasi liquide, a valle del decanter, divisa in due settori (uno per l'acqua e l'altro per gli oli). L'olio di recupero (o di seconda estrazione) è stato campionato direttamente all'uscita dal decanter e inviato al separatore centrifugo verticale insieme a quello di prima estrazione.

Il campione di olio, prelevato dal separatore centrifugo verticale, rappresenta l'olio di fine processo ottenuto dall'oleificio ed è costituito dalla miscela dell'olio di prima estrazione (circa 95%) e da quello di recupero o di seconda estrazione (circa 5%). Al fine di verificare l'influenza del metodo di frangitura sulla

resa e sulla qualità dell'olio, le prove tecnologiche sono state realizzate secondo le seguenti tesi:

- frangitura delle olive con frangitore metallico a coltelli e successiva molitura della pasta ottenuta in frantoio a macine per 20 minuti; gramolazione della pasta per 45 minuti alla temperatura di 27 °C;
- frangitura delle olive con frangitore metallico a coltelli e successiva gramolazione della pasta per 60 minuti alla temperatura di 27 °C;
- molitura delle olive con il solo frantoio a macine per 30 minuti; gramolazione della pasta di olive per 40 minuti alla temperatura di 27 °C.

Le prove sono state realizzate impiegando 2 partite di olive, la prima costituita da una miscela delle varietà Ogliarola di Bitonto (30%) e Leccino (70%) e la seconda da una miscela delle varietà Peranzana (80%) e Leccino (20%). Le analisi condotte sulle olive, sulla sansa e sull'acqua di vegetazione sono state le seguenti: il contenuto di acqua, in stufa a 105 °C; e il contenuto di olio (Ragazzi e Veronese, 1973). Sui campioni di olio, di fine processo e di 2ª estrazione, sono stati determinati: i valori dei parametri della qualità merceologica (Solinas *et al.*, 1985); pigmenti clorofillici (Reg. CEE, 1991); fenoli totali (Reg. CEE, 1991) e singoli; composizione delle sostanze volatili dello spazio di testa (Di Giovacchino *et al.*, 1994); composizione della frazione sterolica e dei dialcoli triterpenici (Di Giovacchino *et al.*, 2002); della frazione alcolica, alifatica e triterpenica (Di Giovacchino *et al.*, 1997) e delle cere. Al fine di poter verificare il rendimento di estrazione in olio, sono stati determinati i pesi delle singole partite di olive, poste in lavorazione, ed anche della sansa e dell'olio prodotti da ciascuna partita. Il volume dell'acqua di vegetazione è stato determinato mediante le relazioni che descrivono il bilancio di massa relativamente alle quantità di olio e di residuo secco disoleato accertate nelle olive, nella sansa e nell'acqua di vegetazione.

Risultati e discussione

Nella tabella 1 sono riportati i risultati quantitativi, conseguiti nelle prove sperimentali effettuate in oleificio, e le caratteristiche delle olive utilizzate e delle sanse e dell'acqua di vegetazione ottenute nelle differenti condizioni adottate. I dati indicano che i differenti metodi di preparazione della pasta di olive hanno consentito di ottenere soddisfacenti rendimenti in olio, compresi tra 80,1% e 82,2%, nel caso delle partite di olive costituite dalle varietà Ogliarola di Bitonto e Leccino, e tra 83,6% e 85,2%, nel caso delle partite di olive costituite dalle varietà Peranzana e Leccino. Le differenze tra i rendimenti in olio, ottenuti per le due distinte partite di olive, sono da imputare alle diverse caratteristiche reologiche delle paste di olive che sono risultate più "difficili" da lavorare nel caso della partita di olive costituita per il 70% dalla varietà Leccino.

I diversi metodi di preparazione della pasta, con i diversi sistemi di frangitura e/o molitura, hanno determinato rendimenti in olio non significativamente differenti, anche se la doppia operazione, frangitura delle olive seguita dalla molitura della pasta, ha consentito di ottenere il rendimento in olio più elevato. La preparazione della pasta di olive è stata completata con la successiva operazione di gramolazione che, nelle prove tecnologiche effettuate, è stata condotta in condizioni razionali e per tempi sufficienti, ma non eccessivi, per assicurare, nelle diverse condizioni adottate,

Tab. 1 – Rendimento in olio e caratteristiche delle sanse e delle acque di vegetazione. Le quantità di sansa (kg) e di acqua di vegetazione (l) sono riferite a 100 kg di olive.

Tab. 1 – Oil yields and characteristics of olive pomace and vegetable waters. The quantities of olive pomace (kg) and vegetable waters (l) are referred to 100 kg of olives.

OLIVE			Metodo di Frangitura	Rendimento (%)	SANSA			ACQUA DI VEGETAZIONE		
Varietà	Acqua (%)	Olio (%)			Quantità (kg)	Acqua (%)	Olio (%)	Quantità (l)	R. s. (%)	Olio (g/l)
Ogliarola di Bitonto + Leccino	52.6	17.5	Frangitore + Macine	82.2	64.1	61.1	3.7	55	12.8	13.3
			Frangitore	80.4	62.1	57.9	4.1	58	11.6	14.6
			Frantoio a macine	80.1	62.8	57.0	4.4	56	10.4	13.0
Peranzana + Leccino	50.5	20.9	Frangitore + Macine	85.2	62.5	60.2	3.6	42	15.2	16.7
			Frangitore	84.2	59.3	58.8	3.8	40	18.0	18.3
			Frantoio a macine	83.6	59.9	57.7	4.0	41	14.9	17.0

la formazione di una quantità soddisfacente di olio "libero". La stessa tabella 1 mostra che il contenuto di olio delle sanse è risultato più elevato (4,4% e 4,0%) quando la preparazione della pasta di olive è stata effettuata con il solo frantoio a macine che determina la formazione di una pasta di olive non molto omogenea, costituita da frammenti grossolani di parte fibrosa e da nocciolino di dimensioni più variabili rispetto a quanto è possibile ottenere con i frangitori metallici, dotati di griglia forata o di altri dispositivi di regolazione. La doppia operazione, frangitura e molitura delle olive, che ha determinato i più alti rendimenti di estrazione, ha fatto ottenere sanse con il più basso contenuto di olio, risultato, rispettivamente, pari a 3,7% e 3,6%. In considerazione della quantità di sansa, il contenuto di olio perduto nel sottoprodotto è risultato variabile tra 2,4 e 2,8 kg/100 kg di olive, nel caso della partita di olive in cui era prevalente la varietà Leccino, e tra 2,2 e 2,4 kg/100 kg di olive, nel caso dell'altra partita di olive. Relativamente alle acque di vegetazione, i dati della tabella indicano che la quantità di acqua è risultata ridotta, da 55 a 58 l/100 kg di olive, nel caso della prima partita di olive, da considerare più "difficile" da lavorare, e tra 40 e 42 l/100 kg di olive, nel secondo caso. Tali quantità sono da ritenere molto ridotte e corrispondenti a quelle prodotte dai decanter di nuova generazione, operanti a 3 uscite con poca acqua aggiunta, chiamati anche a recupero di acqua o a "due fasi e mezzo".

Tutti i campioni sono risultati appartenere alla categoria extra vergine e i differenti metodi impiegati per la preparazione della pasta non determinano differenze significative nei valori analitici dei parametri della qualità merceologica degli oli stessi (tab. 2). Il contenuto di fenoli totali degli oli, tuttavia, è risultato sempre più basso nei campioni di olio ottenuti da paste di olive preparate con il solo frantoio a macine, come, del resto, indicato in altri lavori (Caponio *et al.*, 1999; Di Giovacchino, 1986). Tale constatazione è una ulteriore conferma del fatto che le operazioni tecnologiche che si effettuano nell'oleificio, se condotte in modo razionale e nel rispetto delle norme igieniche e sanitarie, non possono far variare la qualità dell'olio di risulta che dipende, a meno di fortuiti inquinamenti, solo dalla qualità delle olive o per l'influenza di altre operazioni tecnologiche. I dati riportati in tabella 3 mostrano come il contenuto degli agliconi dell'oleuropeina e del ligstroside, nelle loro diverse forme strutturali, risulta leggermente più alto negli oli ottenuti da paste di olive preparate con la doppia operazione di frangitura e molitura. Tali differenze, tuttavia, non hanno significativamente influenzato l'intensità di amaro e di piccante degli oli stessi che sono risultati, sotto l'aspetto organolettico, molto simili proprio per il fatto che i diversi metodi impiegati, per la frangitura della olive, operano con una violenza simile, non eccessiva.

Il contenuto delle sostanze volatili ha subito una variazione non significativa in relazione ai diversi metodi di frangitura. Tuttavia, le diverse tecniche adottate sembrano avere una qualche influenza sul contenuto di Penten dimeri e su quello dei composti a C_5 derivati dall'acido linolenico. Il contenuto di tali composti, infatti, è risultato sempre più basso quando gli oli sono stati ottenuti da paste di olive preparate con il solo frantoio a macine, verosimilmente per la blanda azione meccanica esercitata dalle mole di granito che, tra l'altro, non determina variazioni termiche nell'impasto ottenuto. La qualità merceologica dell'olio di recupero (tab. 4), pur restando sempre nella categoria degli oli extra vergini, è risultata inferiore, rispetto a quella degli oli ottenuti alla fine del processo. Relativamente alle sostanze costituenti l'aroma, invece, gli oli di seconda estrazione hanno presentato, rispetto a quelli ottenuti alla fine del processo, un più basso contenuto di sostanze volatili. In particolare, il contenuto di *trans*-2-Esenale è risultato del 40% circa inferiore, come già evidenziato in altro lavoro. Ciò è

Tab. 2 – Caratteristiche qualitative degli oli di fine processo.
Tab. 2 – Qualitative characteristics of oils obtained at the end of the process.

Determinazioni	Ogliarola di Bitonto + Leccino			Peranzana + Leccino		
	Frangitore + Macine	Frangitore	Frantoio a Macine	Frangitore + Macine	Frangitore	Frantoio a macine
Acidità libera (%)	0.14	0.17	0.17	0.17	0.16	0.16
N. di perossidi (meq/kg)	5.9	6.0	6.2	5.3	4.9	5.7
K_{232}	1.56	1.61	1.59	1.47	1.48	1.48
K_{270}	0.11	0.11	0.12	0.12	0.12	0.12
Val. Organol. (punteggio)	6.8	6.8	6.8	7.0	7.1	6.9
Fenoli totali (mg/l)	92	86	72	224	212	160
Pigmenti clorofillici (mg/kg)	10.6	9.2	8.3	6.4	6.7	6.8

Tab. 3 - Contenuto (mg/kg) delle singole sostanze fenoliche degli oli di fine processo.
Tab. 3 - Content (mg/kg) of some phenolic substances of oils obtained at the end of the process.

Determinazioni	Ogliarola di Bitonto + Leccino			Peranzana + Leccino		
	Frangitore + Macine	Frangitore	Frantoio a Macine	Frangitore + Macine	Frangitore	Frantoio a macine
Idrossitirosolo	1.1	1.8	1.1	2.8	3.4	4.4
Tirosolo	11.6	12.7	10.0	7.9	6.7	9.9
Agl. DCMOleur. diald. Ox.*	4.7	2.6	3.2	1.6	15.3	21.7
Agl. DCMOleur. dialdeid.	18.0	21.0	15.8	85.8	70.5	63.5
Agl. Oleuropeina aldeidica	2.1	3.6	6.3	26.7	18.4	20.1
Agl. DCMLig. diald. Ox. **	57.1	47.2	62.3	92.2	77.7	72.4
Agl. DCMLig. dialdeidica	108.1	107.5	80.2	140.5	114.4	106.5
Lignani	37.4	33.3	34.5	75.9	66.7	60.9
Agl. Oleur. aldeidica Ox.	6.2	4.3	1.7	2.1	1.9	2.1
Agl. Oleur. Ald. e idross.	17.5	24.5	15.7	39.2	33.2	29.5
Agl. Lig. ald. E idross. Ox.	14.9	14.1	18.3	25.3	38.8	39.1
Agl. Lig. aldeid. e idross.	28.5	24.9	36.2	38.4	32.5	40.5
Fenoli totali	307.2	297.5	285.3	538.4	479.5	470.6

* Aglicone decarbossi-metil-oleuropeina forma dialdeidica ossidata.
** Aglicone decarbossi-metil-ligstroside forma dialdeidica ossidata

Tab. 4 – Caratteristiche qualitative degli oli di recupero (oli di 2ª estrazione).
Tab. 4 – Qualitative characteristics of the second extraction oils.

Determinazioni	Ogliarola di Bitonto + Leccino			Peranzana + Leccino		
	Frangitore + Macine	Frangitore	Frantoio a Macine	Frangitore + Macine	Frangitore	Frantoio a macine
Acidità libera (%)	0.27	0.25	0.24	-	0.25	0.24
N. di perossidi (meq/kg)	13.2	12.5	13.0	-	6.8	5.6
K_{232}	1.81	1.83	1.82	-	1.62	1.70
K_{270}	0.19	0.20	0.18	-	0.15	0.17
Val. Organol. (punteggio)	6.5	6.6	6.5	-	6.7	6.7
Fenoli totali (mg/l)	244	247	220	-	282	256
Pigmenti clorofillici (mg/kg)	35.9	39.1	37.0	-	32.8	30.9

dovuto alla perdita di sostanze volatili che si determina per effetto del più lungo soggiorno degli oli di seconda estrazione all'interno del decanter ed anche, probabilmente, a causa dell'incremento di temperatura, seppur ridotto, che gli stessi oli subiscono. I due tipi di olio, tuttavia, hanno mostrato una stessa composizione della frazione sterolica.

Si conferma, invece, che gli oli di seconda estrazione, rispetto a quelli ottenuti alla fine del processo, hanno un contenuto più elevato di alcoli alifatici, cere, Eritrodiolo + Uvaolo e alcoli triterpenici.

Conclusioni

I risultati delle prove tecnologiche effettuate in oleificio industriale al fine di verificare l'influenza dei diversi metodi di frangitura o molitura delle olive, hanno messo in evidenza che:

- la preparazione della pasta di olive, mediante l'impiego del frangitore metallico a coltelli e/o del frantoio a macine di granito non ha determinato differenze significative nella resa in olio;
- le caratteristiche qualitative dell'olio ottenuto alla fine del processo (miscela dei due tipi di olio che il decanter è in grado di estrarre) sono risultate molto simili e non influenzate dai differenti metodi di preparazione della pasta di olive;
- dal punto di vista organolettico, tutti i campioni di olio sono risultati poco differenziati, relativamente all'intensità delle sensazioni di amaro e di piccante, a conferma del fatto che il frangitore metallico utilizzato è idoneo a sostituire, in tutto o in parte, il frantoio a macine quando si vuol ottenere un olio meno amaro e piccante;
- gli oli ottenuti dal frantoio a macine hanno mostrato di possedere un contenuto di sostanze fenoliche

leggermente inferiore a quello degli oli ottenuti da altri metodi;
- gli oli di recupero hanno mostrato caratteristiche qualitative diverse rispetto a quelle degli oli ottenuti alla fine del processo.

Riassunto

Sono state effettuate prove sperimentali presso un oleificio industriale operante con decanter centrifugo al fine di confrontare diversi metodi di molitura: frangitore metallico a coltelli mobili e griglia forata, frantoio a macine e frangitore metallico a coltelli mobili e griglia forata più frantoio a macine. I risultati mostrano come la composizione degli oli sono influenzati dalla varietà e solo parzialmente dai diversi metodi di preparazione delle olive.

Parole chiave: frangitori metallici, sansa, acqua di vegetazione, sostanze volatili.

Bibliografia

ALLOGGIO V., CAPONIO F., DE LEONARDIS T., 1996. *Influenza delle tecniche di preparazione della pasta di olive sulla qualità dell'olio. Nota I. Profilo quali-quantitativo delle sostanze fenoliche, mediante HPLC, in olio di oliva vergine della cv. Ogliarola Salentina*. Riv. Ital. Sost. Grasse, 73, 355-360.

ANGEROSA F., SOLINAS M., 1975. *Influenza della frangitura sulle caratteristiche di qualità dell'olio d'oliva*. Atti del Seminario Internazionale"Olio di oliva e olive da tavola: tecnologia e qualità".Ed. Ist. Sper. Elaiotec., pp.135-146. Città S. Angelo (PE).

ANGEROSA F., DI GIACINTO L., 1995. *Caratteristiche di qualità dell'olio di oliva vergine in relazione ai metodi di frangitura*. Nota II. Riv. Ital. Sost. Grasse, 72, 1-4.

CAPONIO F., ALLOGGIO V., GOMES T., 1999. *Phenolic compounds of virgin olive oil: influence of paste preparation techniques*. Food Chem., 64, 203-209.

DI GIOVACCHINO L., 1986. *La determinazione dell'olio contenuto nelle acque di vegetazione delle olive*. Riv. Ital. Sost. Grasse, 63, 203-207.

DI GIOVACCHINO L., COSTANTINI N., DI FEBO M., 1994. La centrifugazione delle paste di olive senza acqua di diluizione. Riv. Ital. Sost. Grasse, 71, 555-559.

DI GIOVACCHINO L., MUCCIARELLA M.R., COSTANTINI N., SURRICCHIO G., 1997. *La centrifugazione delle paste di olive con un decanter a 2 fasi a recupero di olio.* Atti del Workshop "L'olio di oliva nelle formulazioni alimentari: aspetti tecnologici ed analitici", pp. 203-214. Foggia (Italia), 30 Ottobre.

DI GIOVACCHINO L., COSTANTINI N., FERRANTE M.L., SERRAIOCCO A., 2002. *Influence of malaxation time of olive paste on oil extraction yields and chemical and organoleptic characteristics of virgin olive oil obtained by a centrifugal decanter at water saving.* Grasas y Aceites, 53, 179-186.

RAGAZZI E., VERONESE V., 1973. *Indagine sui componenti fenolici degli oli di oliva*. Riv. Ital. Sost. Grasse, 50, 443-452.

RANALLI A., 1989. *Confronto fra frangitore a martelli e frantoio tradizionale: incidenza sulla qualità dell'olio.* L'Informatore Agrario, 22: 43-49.

REG. CEE 2568/91 dell'11 Luglio 1991. G. U. CEE, L 248 del 5 Settembre 1991. All. II, All. III, All. IX.

REG. CEE 183/93 del 29 Gennaio 1993.

SACCHI R., DELLA MEDAGLIA D., SPAGNA RUSSO S., 1996. *Tecnologia di estrazione e componenti amari dell'olio extra vergine di oliva*. Programma DIT per la Diffusione dell'Innovazione Tecnologica. Portici (NA).

SOLINAS M., ANGEROSA F., CUCURACHI A., 1985. *Connessione tra prodotti di neoformazione ossidativi delle sostanze grasse e insorgenza del difetto di rancidità all'esame organolettico*. Riv. Soc. Ital. Scienza Alimentazione, 14, 361-368.

WOLFF J.P., 1968 *Manuel d'Analyse des Corps Gras*. Paris.

Acta Italus Hortus 1: 287-290

Valutazione dei composti organici volatili dell'olio extravergine di oliva da cv 'Grignano'

Vezzaro A.[1], Boschetti A.[2], Dimauro M.[2], Ramina A.[1], Giulivo C.[1], Ferasin M. e Ruperti B.[1*]
[1] *Dipartimento di Agronomia Ambientale e Produzioni Vegetali, Università di Padova*
[2] *Centro di Fisica degli Stati Aggregati, Fondazione Bruno Kessler e CNR Povo (TN)*

Evaluation of VOCS of extra-virgin olive oil from Grignano cultivar

Abstract. The analysis of volatile organic compounds is a powerful tool to characterize food products and to improve food technology. In this study, an analysis of volatile compounds has been applied to the characterization of oils obtained from a single cultivar, i.e. cultivar Grignano from the province of Verona, which has peculiar aromatic notes. The final aim of this work is to identify volatile organic compounds that can characterize the olive oils obtained from drupes harvested at different ripening stages and extracted with different procedures. The olives (Mezzane di Sotto, VR) have been harvested and then processed in a modified plant, in different controlled atmospheres obtained by performing every step of oil extraction subsequently in nitrogen, used as inert gas. The oils obtained have then been submitted to an expert panel for sensory analyses. The statistical evaluation of data clearly enabled us to draw a dendrogram that split the samples into two groups, whereas a Principal Component Analysis (PCA) grouped the samples into families and identified two outliers. The statistical analysis showed that the ripening stage has a predominant effect on the aromatic and sensory profile of oils obtained, not significantly affected by the use of modified atmospheres during olive oil extraction.

Key words: volatile organic compounds, olive oil, Grignano, PTR-MS.

Introduzione

L'olio extravergine di oliva è un alimento dalle note proprietà salutistiche, molto diffuso nei paesi mediterranei e specialmente in Italia, Grecia e Spagna (Grigg, 2001). L'olio di oliva è molto apprezzato, oltre che per queste proprietà, anche per il suo gusto gradevole e il suo aroma caratteristico, attributi che sono forniti da componenti minori quali molecole volatili e composti fenolici (Morales *et al.*, 1995; Kalua *et al.*, 2007).

Le molecole volatili presenti nell'olio d'oliva vengono sintetizzate principalmente attraverso la via della lipossigenasi, un enzima che ha come substrato gli acidi linoleico e linolenico e come co-substrato l'ossigeno e che dà come prodotti finali molecole a 5 o 6 atomi di carbonio come aldeidi ed alcoli (Angerosa *et al.*, 2004).

Dato che l'ossigeno è fondamentale per le reazioni della via della lipossigenasi, sono stati condotti molti studi volti a comprendere l'effetto del controllo dei livelli di ossigeno durante l'estrazione dell'olio d'oliva e il suo impatto sullo sviluppo delle caratteristiche aromatiche (es. Servili *et al.*, 2003). La teoria più diffusa è che le molecole volatili siano sintetizzate in concomitanza con la distruzione dei tessuti della drupa durante la frangitura (Sànchez-Ortiz *et al.*, 2008).

Tuttavia, anche se questi studi hanno gettato luce sul ruolo dell'ossigeno in queste reazioni di sintesi, si avverte la mancanza di studi sistematici sulla rimozione dell'ossigeno durante ogni singolo passaggio dell'estrazione dell'olio d'oliva, soprattutto in relazione a diversi stadi di maturazione delle drupe. In questo studio è stato adottato un approccio che tenga conto dell'influenza dello stadio di maturazione delle olive e di diversi trattamenti in anossia durante l'estrazione dell'olio sulla qualità dell'olio d'oliva, per osservare le eventuali differenze a livello di molecole volatili emesse. Gli oli d'oliva utilizzati in questo studio sono stati ottenuti da una cultivar locale della provincia di Verona, la cultivar Grignano, che mostra caratteristiche interessanti di resistenza al freddo e ai patogeni e dà un olio con tipiche note aromatiche di buccia di limone (Peretti, 2007).

Nonostante siano disponibili diversi approcci per la caratterizzazione delle molecole volatili, in questo studio è stata utilizzata la tecnica PTR-MS (Proton Transfer Reaction – Mass Spectrometry). Questa tecnica, ampiamente descritta in lavori precedenti (es. Lindinger *et al.*, 1998), permette analisi sensibili, veloci e non distruttive di ogni tipologia di campione, con il limite però di non riuscire a dare una identificazione univoca alle molecole presenti nello spazio di testa. La tecnica è stata utilizzata con successo in studi riguardanti la caratterizzazione di oli d'oliva europei

* benedetto.ruperti@unipd.it

(Araghipour *et al.*, 2008) e l'alterazione ossidativa dell'olio d'oliva (Aprea *et al.*, 2006).

In questo studio è stato poi condotto un panel test secondo gli standard definiti in modo da individuare caratteristiche sensoriali particolari negli oli studiati.

Materiali e metodi

Le olive sono state raccolte a Mezzane di Sotto (Verona), durante la stagione 2008. Per osservare le differenze tra diversi stadi di maturazione, sono state stabilite quattro date di raccolta: 3 novembre, 10 novembre, 17 novembre, 25 novembre.

L'estrazione dell'olio è stata condotta in un impianto (OLIOMIO 200, Toscana Enologica Mori, Firenze) modificato per poter condurre l'estrazione in azoto ad una pressione di 0,6 atmosfere. Sono state condotte le seguenti condizioni di estrazione: interamente in azoto (campione denominato "AAA"), frangitura in azoto ("ASS"), gramolatura in azoto ("SAS"), separazione in azoto ("SSA"), e campione di controllo estratto normalmente in aria ("SSS").

Gli oli ottenuti sono stati poi imbottigliati senza spazio di testa per evitare ossidazioni e quindi analizzati entro due mesi dall'estrazione.

L'analisi delle molecole volatili è stata condotta presso la Fondazione Bruno Kessler di Povo (TN), utilizzando la tecnica PTR-MS (in condizioni standard: flusso d'aria 15 sscm/min, temperatura di 20 °C, condizione del drift tube di 120 Td, tempo di scansione per massa di 0,5 s). Per l'analisi sono stati utilizzati 20 ml di olio ad una temperatura di 20 °C.

Quindi, è stata condotta una analisi statistica degli spettri ottenuti tramite un *clustering* gerarchico e una analisi delle componenti principali (PCA) utilizzando il software *open source* R (Lucent Technologies).

Infine, gli oli sono stati sottoposti ad un panel di sette assaggiatori esperti in conformità allo standard stabilito dall'International Olive Oil Council (IOOC, 2007), in cui sono stati assegnati punteggi compresi tra 0 (minimo) e 5 (massimo) ai seguenti attributi: fruttato, amaro, piccante, riscaldo, muffa, morchia, avvinato, metallico, rancido.

Risultati e discussione

L'analisi delle molecole volatili con la tecnica PTR-MS ha permesso di individuare circa 60 masse distinte comprese in un intervallo tra 20 e 200 amu (unità di massa atomica), corrispondenti ad altrettanti ioni e che possono essere associati con buona probabilità a specifiche molecole con l'aiuto della letteratura (es. Buhr *et al.* 2000).

In questo studio, comunque, non è stata tentata una caratterizzazione qualitativa dei singoli volatili emessi dall'olio d'oliva, ma sono stati considerati gli spettri ottenuti nel loro complesso. Gli spettri sono stati sottoposti ad analisi statistica, in modo da individuare eventuali raggruppamenti interessanti nei dati. In particolare, sono state effettuate l'analisi delle componenti principali e il *clustering* gerarchico con lo scopo di identificare gruppi/famiglie di dati.

Come si vede in figura 1, l'analisi delle componenti principali ha permesso di raggruppare i campioni in famiglie a seconda della data di raccolta, con una varianza spiegata pari al 65,1%.

I campioni AAA_03 e AAA_25 hanno mostrato invece un comportamento differente in quanto non sono ricaduti in nessuno dei raggruppamenti ottenuti.

Per valutare ulteriormente la presenza di eventuali raggruppamenti tra i dati, i campioni sono stati sottoposti ad un *clustering* gerarchico per evidenziare la presenza di famiglie con le relative distanze. In figura 2 è riportato il dendrogramma risultante.

Il dendrogramma ha permesso una visualizzazione immediata delle famiglie in cui i dati sono stati raggruppati, grazie anche ad un'indicazione delle distanze che separano i campioni. Dal *clustering* gerarchico i campioni di olio provenienti da olive raccolte il 3 novembre sono risultati più simili a quelli provenienti da olive raccolte il 17 novembre, mentre i campioni 10/25 novembre sono risultati appartenere alla stessa famiglia. In questo tipo di rappresentazione, il campione AAA_03 ricade nella famiglia dei campioni ottenuti da olive raccolte il 25 novembre.

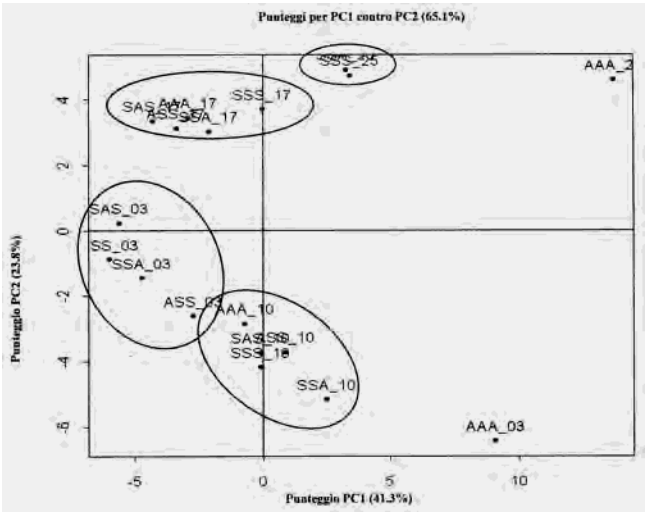


Fig. 1 - Analisi delle componenti principali dei campioni di olio. I campioni tendono a raggrupparsi a seconda della data di raccolta delle olive.

Fig. 1 - Principal component analysis of the oil samples. Samples group together according to the date of harvest.

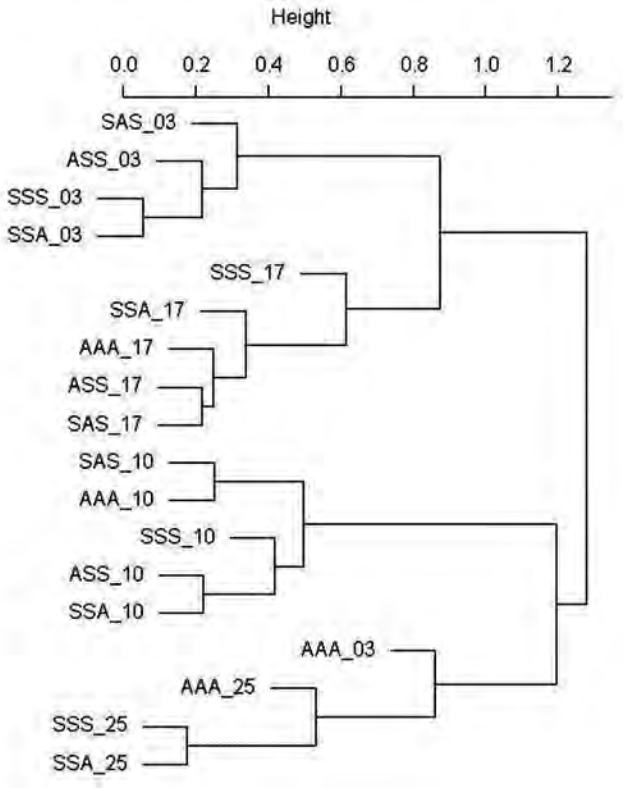


Fig. 2 - Dendrogramma risultante da appaiamenti successivi.
Fig. 2 - Dendrogram obtained by repeatedly merging data into larger groups.

Inoltre, il panel test ha permesso di evidenziare le caratteristiche sensoriali dei campioni di olio come mostrato in tabella 1, dove è possibile leggere anche le note aggiuntive che i panelist hanno ritenuto di una certa rilevanza nei diversi campioni.

Come evidenziato in tabella, è evidente che gli oli hanno mostrato frequentemente attributi tipici di "erba tagliata", "limone" e "buccia di limone", che sono definiti come caratteristici della cultivar Grignano. Gli oli ottenuti da olive raccolte il 25 novembre mostrano alcuni difetti sensoriali evidenziati dai panelist come note aggiuntive, come ad esempio "cappero", "inacetito", "colla vinilica", "acqua di vegetazione", nonché punteggi diversi superiori a 0 nel descrittore "avvinato".

Conclusioni

Lo studio dei profili volatili dell'olio extravergine d'oliva da cultivar Grignano e la successiva elaborazione statistica dei dati ottenuti hanno permesso di evidenziare come l'effetto prevalente sulla definizione del profilo aromatico e sensoriale complessivo degli oli studiati sia esercitato dallo stadio di maturazione delle olive, piuttosto che dalle diverse tipologie di estrazione dell'olio in assenza di ossigeno.

Tab. 1 - In tabella sono riportati i valori assegnati ai vari descrittori e anche alcune note aggiuntive segnalate dai panelist.
Tab. 1 - In the table the scores given for the different attributes are shown, together with some other features detected by the panelists.

Data	Tattamento	Fruttato	Amaro	Piccante	Riscaldo	Muffa	Morchia	Avvinato	Metallico	Rancido	Altre note
03-nov	SSS	1,7	2,5	2	0	0	0	0	0	0	Erba tagliata
	ASS	3,8	4,05	3,55	0	0	0	0	0	0	Verde
	SAS	1,8	2	2,2	0	0	0	0	0	0	Frutta matura
	SSA	3,8	3,8	2,9	0	0	0	0	0	0	Erba tagliata
	AAA	2,4	2,2	1	0	0	0	0	0	0	Limone
10-nov	SSS	2	1	1	0	0	0	0	0	0	Buccia di limone
	ASS	3,1	3,35	3,2	0	0	0	0	0	0	Limone, pomodoro
	SAS	2,25	1,95	1,4	0	0	0	0	0	0	Frutta matura
	SSA	2,7	1,7	1,7	0	0	0	0	0	0	Frutta matura
	AAA	2,85	2,4	2,65	0	0	0	0	0	0	Pomodoro, erba tagliata
17-nov	SSS	2,55	3,75	3	0	0	0	0	0	0	Buccia di limone
	ASS	2	3	1	0	0	0	0	0	0	Limone, pomodoro, basilico
	SAS	3,55	3,25	2,75	0	0	0	0	0	0	Foglia di pomodoro
	SSA	3,2	3,2	2,5	0	0	0	0	0	0	Buccia di limone
	AAA	2,25	3	3,55	0	0	0	0	0	0	Frutta matura
25-nov	SSS	3	2,5	1,85	0	0	0	0,65	0	0	Cappero
	ASS	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	SAS	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	SSA	1,75	2,05	2,05	0	0	0	0,5	0	0	Inacetito, colla vinilica
	AAA	1	1	1,3	0	0	0	0	0	0	Acqua di vegetazione

Riassunto

L'analisi dei composti organici volatili è uno strumento utile per la caratterizzazione degli alimenti e per il miglioramento delle relative tecnologie produttive. In questo studio, l'analisi dei volatili è stata applicata alla caratterizzazione di oli monovarietali della cultivar Grignano (provincia di Verona) dalle caratteristiche aromatiche peculiari.

L'obiettivo di questo studio è l'identificazione di composti organici volatili che caratterizzino gli oli ottenuti da drupe a diversi stadi di maturazione e con differenti tipologie di estrazione. Le olive (Mezzane di Sotto, VR) sono state raccolte a quattro stadi di maturazione a cavallo dell'invaiatura nella stagione 2008. Le olive sono state lavorate in un impianto modificato, in diverse atmosfere controllate e cioè conducendo ogni fase del processo di estrazione in azoto, utilizzato come gas inerte. Gli oli ottenuti sono stati sottoposti ad analisi sensoriale da un panel addestrato.

L'elaborazione statistica dei dati ha permesso di ottenere un *clustering* gerarchico dei campioni in due famiglie, mentre l'analisi delle componenti principali ha suddiviso i dati in gruppi indipendentemente dal processo di estrazione, evidenziando dati *outlier*.

L'analisi statistica ha permesso di evidenziare un effetto preponderante dello stadio di maturazione, piuttosto che delle diverse tipologie di estrazione in assenza di ossigeno, sul profilo aromatico e sensoriale degli oli studiati.

Parole chiave: composti organici volatili, olio oliva, Grignano, PTR-MS.

Bibliografia

ANGEROSA F., SERVILI M., SELVAGGINI R., TATICCHI A., ESPOSTO S., MONTEDORO G.F., 2004. *Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with quality.* J. Chromatogr. 1054: 17-31.

APREA E., BIASIOLI F., SANI G., CANTINI C., MÄRK T.D., GASPERI F., 2006. *Proton Transfer Reaction-Mass Spectrometry (PTR-MS) Headspace Analysis for Rapid Detection of Oxidative Alteration of Olive Oil*. J. Agric. Food Chem. 54: 7635-7640.

ARAGHIPOUR N., COLINEAU J., KOOT A., AKKERMANS W., ROJAS J.M.M., BEAUCHAMP J., WISTHALER A., MÄRK T.D., DOWNEY G., GUILLOU C., MANNINA L., VAN RUTH S., 2008. *Geographical origin classification of olive oils by PTR-MS.* Food Chem. 108: 374-383.

BUHR K., VAN RUTH S., DELAHUNTY C., 2002. *Analysis of volatile flavour compounds by Proton Transfer Reaction-Mass Spectrometry: fragmentation patterns and discrimination between isobaric and isomeric compounds*. Int. J. Mass Spectrom., 221: 1-7.

GRIGG D., 2001. *Olive oil, the Mediterranean and the world*. GeoJournal, 53: 163-172.

IOOC, 2007. *Sensory analysis of virgin olive oil*. In COI/T.15/NC no. 3/Rev 2. Madrid, Spain.

KALUA C.M., ALLEN M.S., BEDGOOD JR D.R., BISHOP A.G., PRENZLER P.D., ROBARDS K., 2007. *Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review*. Food Chem., 100: 273-286.

LINDINGER W., HANSEL A., JORDAN A., 1998. *On-line monitoring of volatile organic compounds at pptv levels by means of Proton-Transfer-Reaction Mass Spectrometry (PTR-MS). Medical applications, food control and environmental research*. Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes, 173: 191-241.

MORALES M.T., ALONSO M.V., RIOS J.J., APARICIO R., 1995. *Virgin olive oil aroma: relationship between volatile compounds and sensory attributes by chemometrics*. J. Agric. Food Chem., 43: 2925-2931.

PERETTI A., 2007. *Olio dop: dal Garda al Grappa la carica delle eccellenze*. Origine, 6: 46-49 (in italiano).

SÁNCHEZ-ORTIZ A., ROMERO C., PÉREZ A.G., SANZ C., 2008. *Oxygen Concentration Affects Volatile Compound Biosynthesis during Virgin Olive Oil Production*. J. Agric. Food Chem. 56: 4681-4685.

SERVILI M., SELVAGGINI R., TATICCHI A., ESPOSTO S., MONTEDORO G.F., 2003. *Air Exposure Time of Olive Pastes during the Extraction Process and Phenolic and Volatile Composition of Virgin Olive Oil*. J. Am. Oil Chem. Soc., 80: 685-695.

Evoluzione di acidità libera e numero di perossidi in oli ottenuti da olive con diversi livelli di infestazione da *Bactrocera oleae*

Caruso G., Loni A., Raspi A., Canale A. e Gucci R.
Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose "G. Scaramuzzi", Università di Pisa

Evolution of free acidity and peroxide value in olive oils obtained from fruit with different levels of damage by Bactrocera oleae

Abstract. A field study was conducted on the effects of damage due to the infestation of the Bactrocera oleae (Rossi) on free acidity and peroxides value of olive oil. Olive fruits were harvested from field-grown, irrigated trees (Olea europaea L. cv. Frantoio) at three sampling dates. Samples were prepared so to obtain four or five treatments of olive fruits, differing in percentage of olive fly exit holes (between 0 and 100%). The fruits were either crushed using a miniature press or a laboratory-type mill and the oil was separated by centrifugation. The free acidity of the oil was generally low regardless of treatment at both dates, with values well below the limits for the extra-virgin oil category. Increases in free acidity and peroxides value of oils were apparent as the percentage of damaged fruits increased, although it was impossible to identify a threshold value for the degree of infestation. Free acidity of oils obtained at the third sampling date was 0.16, 0.24, 0.27 e 0.35% oleic acid for the 0, 30, 60 e 100% exit holes treatments, respectively, immediately after oil extraction and increased to 0.27, 0.4, 0.59 e 0.63% after 17 months of storage at 4°C in the dark. Peroxide values increased exponentially for all treatments, from 4-6 after oil extraction to 20-29 meq O_2/kg after 17 months of storage. Exit holes of B. oleae mature larvae determine a decrease in oil quality, which is further aggravated by exposure to light or ambient temperature.

Key words: oil storage, oil quality, olive fruit fly.

Introduzione

Bactrocera oleae (Rossi) (Raspi e Viggiani, 2008) è il fitofago chiave negli oliveti del bacino del Mediterraneo. I danni causati da *B. oleae* consistono in perdite produttive e in un decremento qualitativo a seconda del tipo di infestazione, della percentuale di frutti colpiti, dello stadio di sviluppo e cultivar (Pucci *et al.*, 1979; Evangelisti *et al.*, 1994; Zunin *et al.*, 1991). Per quanto riguarda il tipo di infestazione, gioca un ruolo importante la presenza di fori di uscita prodotti dalle larve mature, che espone i tessuti interni del frutto all'azione dell'ossigeno atmosferico inducendo un'accelerazione nei processi idrolitici e ossidativi (Angerosa *et al.*, 1992; Caravaca *et al.*, 2008).

Di seguito si riportano i risultati di uno studio mirato a determinare l'effetto di diversi livelli di danno al frutto sull'acidità libera e numero di perossidi dell'olio extra-vergine di oliva. Per ridurre effetti potenzialmente negativi sulla qualità dell'olio dovuti a fattori diversi dalla mosca delle olive, gli esperimenti sono stati effettuati in condizioni pressoché ottimali durante lo stoccaggio, la trasformazione in olio delle olive e la conservazione dell'olio. Inoltre, è stato valutato l'effetto di diverse condizioni di conservazione (luce e temperatura) sull'acidità libera e il numero di perossidi in campioni di olio ottenuti da olive con un diverso livello di infestazione da *B. oleae*.

Materiali e metodi

La prova fu condotta nel biennio 2007-08 utilizzando frutti prelevati in un oliveto (cv Frantoio) sperimentale del Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose a Venturina (LI). Gli alberi con sesto di impianto 3,9 x 5 m, furono irrigati 3-4 volte a settimana durante il periodo compreso tra il 3 luglio e il 5 ottobre 2007. Il suolo era permanentemente inerbito con prato polifita spontaneo. Gli alberi ricevettero circa 100 g di N, P_2O_5 e K_2O cadauno mediante fertirrigazione durante la stagione di crescita. Per contenere l'infestazione di mosca olearia, particolarmente elevata nel 2007, furono effettuati due trattamenti con Dimetoato. La produzione media di olive fu di 6.545 g ad albero.

I frutti furono prelevati il 16 e il 29 ottobre, e il 5 novembre 2007. Nella prima e terza data di campionamento del 2007 (16/10/07 e 5/11/07) circa 3 kg di olive furono raccolte casualmente da due alberi adiacenti, mentre il 29 ottobre le olive furono prelevate casualmente da 22 alberi in tutto l'oliveto. Preliminarmente al campionamento, al fine di ridurre la variabilità dovuta alla diversa età dei fori d'uscita, le branche furono scosse per facilitare la caduta a terra dei frutti con vecchi fori d'uscita, quindi i campioni successivamente

raccolti direttamente dall'albero avevano presumibilmente solo fori di uscita di recente formazione. Portati in laboratorio, i frutti furono esaminati mediante microscopio binoculare per determinare il grado di infestazione, quindi suddivisi in modo da costituire tesi con diversa percentuale di olive con foro d'uscita (F.U.).

Le tesi a confronto per i prelievi del 16 e 29 ottobre furono 0, 20, 40, 60, 100% F.U. con campioni costituiti da 10 olive ciascuna replicati 5 o 4 volte. Nel campionamento del 5 novembre i frutti furono assemblati in modo da ottenere 4 tesi, costituite da campioni di circa 500 g di olive, corrispondenti a 0, 30, 60 e 100% F.U. Per ogni campione di olive è stato misurato il peso medio del frutto e l'indice colorimetrico di maturazione (IM), calcolato in base alla pigmentazione della buccia e della polpa secondo una scala di colore da 0 a 7.

L'olio fu estratto frantumando, mediante torchio manuale da laboratorio, il solo mesocarpo (16 ottobre) o frutti interi (29 ottobre) e separato per centrifugazione a 4.500 rpm per 5 min utilizzando una centrifuga da laboratorio (C-60 Hospitex Diagnostics S.r.l., Sesto Fiorentino), e subito analizzato per acidità libera e numero di perossidi. L'olio fu estratto dalle olive campionate il 5 novembre mediante un sistema Abencor (MC2 Ingenieria y Sistemas, S.L., Siviglia). Ogni campione di olive fu lavato, quindi macinato con un frangitore a martelli da tavolo NM-100 e successivamente posto in una gramola da laboratorio TB-100 per 30 min ad una temperatura di 28 °C. La separazione dell'olio fu ottenuta mediante una centrifuga CF-100 e successiva decantazione della parte affiorante entro 8 min avendo cura di escludere lo strato di olio (almeno 1 cm) a contatto con la fase acquosa sottostante. Gli oli ottenuti furono posti in frigo al buio a 4 °C ed analizzati periodicamente (4, 8, 11 e 17 mesi dopo la prima analisi del 13 novembre) per l'acidità libera e il numero di perossidi. Dopo 8 mesi di conservazione a 4 °C in assenza di luce, furono prelevate 2 aliquote di olio da 1 ml ciascuna da ciascun campione, e conservate per 3 mesi a temperatura ambiente (T media di 26,5 °C, con un intervallo tra 19,.2 e 44,2 °C) alla luce o al buio, oppure a 4 °C al buio.

Risultati

I frutti prelevati il 16 ottobre presentarono un peso fresco compreso tra 1,58 e 1,72 g e un IM compreso tra 2,2 e 3,3. Il peso fresco e l'IM alla data del 29 ottobre erano compresi tra 1,90 e 2,50 g e 3,95 e 4,83, rispettivamente. In entrambi i casi frutti più grandi e leggermente più maturi erano presenti nelle tesi con maggiore percentuale di fori d'uscita.

I valori di acidità libera dell'olio prodotto in entrambe le date di campionamento risultarono essere bassi per tutte le tesi, ed ampiamente al di sotto dei limiti per la categoria extra-vergine. Una tendenza all'aumento dell'acidità libera fu riscontrato all'aumentare della presenza di fori d'uscita. Alla seconda data di campionamento l'acidità libera era uguale, indipendentemente dal grado di infestazione. Un aumento del numero di perossidi fu riscontrato in entrambe le date di campionamento e particolarmente a partire dalla tesi 40% F.U. (dati non riportati).

Gli andamenti di acidità libera e del numero di perossidi degli oli prodotti con olive raccolte il 5 novembre e conservati a 4 °C per un periodo di 17 mesi, sono riportati in figura 1. Subito dopo la frangitura, sia l'acidità libera che il numero di perossidi aumentarono con il grado di infestazione. Durante il periodo di conservazione l'incremento maggiore di acidità libera fu registrato nelle tesi 60 e 100% F.U. (fig.1a). Da notare che anche dopo 17 mesi di conservazione i valori di acidità libera, misurati in tutte le

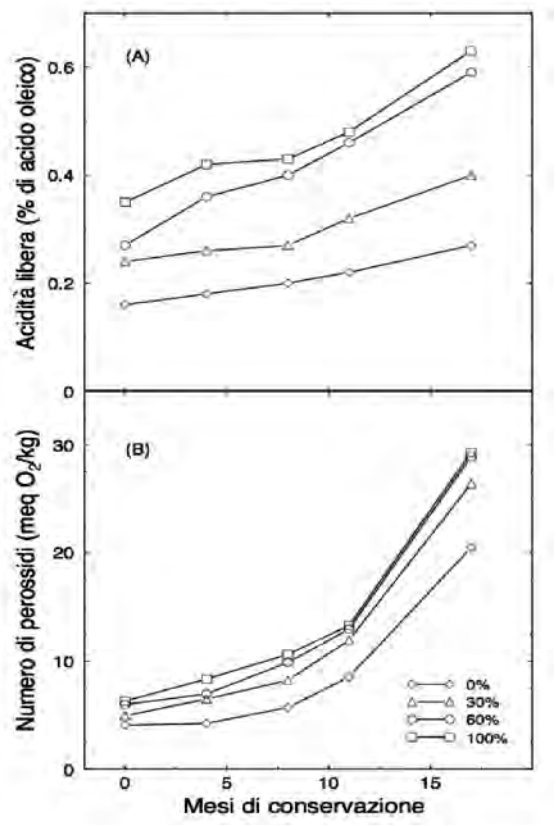


Fig. 1 - Evoluzione di acidità libera (A) e numero di perossidi (B) in oli ottenuti da olive con un diverso grado di infestazione da *B. oleae* (% di fori d'uscita) e mantenuti a 4 °C al buio per 17 mesi. Ogni punto rappresenta la media di misure effettuate in triplo.
Fig. 1 - Evolution of free acidity (A) and peroxide value (B) in oils obtained from fruits with a different level of B. oleae infestation (% exit holes) and kept in the dark at 4 °C for 17 months. Each symbol is the mean of triplicate measurements.

tesi, rientrarono nei limiti di legge per la categoria extra-vergine. L'incremento del numero di perossidi, riportato in figura 1b, seguì un andamento di tipo esponenziale, indipendentemente dal livello di infestazione. In questo caso, i valori misurati dopo 11 mesi di conservazione risultarono superiori a 12 meq O_2 kg^{-1}, ad eccezione degli oli appartenenti alla tesi 0 % F.U. Dopo 17 mesi di conservazione i valori relativi a questo parametro superarono in tutte le tesi i limiti per la categoria extra-vergine.

Per quanto riguarda i campioni da 1 ml, estratti dopo 8 mesi e posti alla condizione di temperatura ambiente, sia alla luce che al buio e a 4 °C al buio, i valori più bassi di acidità e numero di perossidi misurati dopo 3 mesi di conservazione, furono registrati negli oli mantenuti al buio ad una temperatura di 4 °C (fig. 2). Gli incrementi di acidità libera e numero di perossidi tra la tesi 0% e 60% F.U. furono compresi tra il 109 e 42% e tra il 52 e 12%, rispettivamente. Gli incrementi più bassi, riscontrati negli oli mantenuti a temperatura ambiente ed esposti a luce naturale, indicano un effetto degradativo di quest'ultima che, soprattutto per quanto riguarda i perossidi, maschera quello legato al grado di infestazione (fig. 2b).

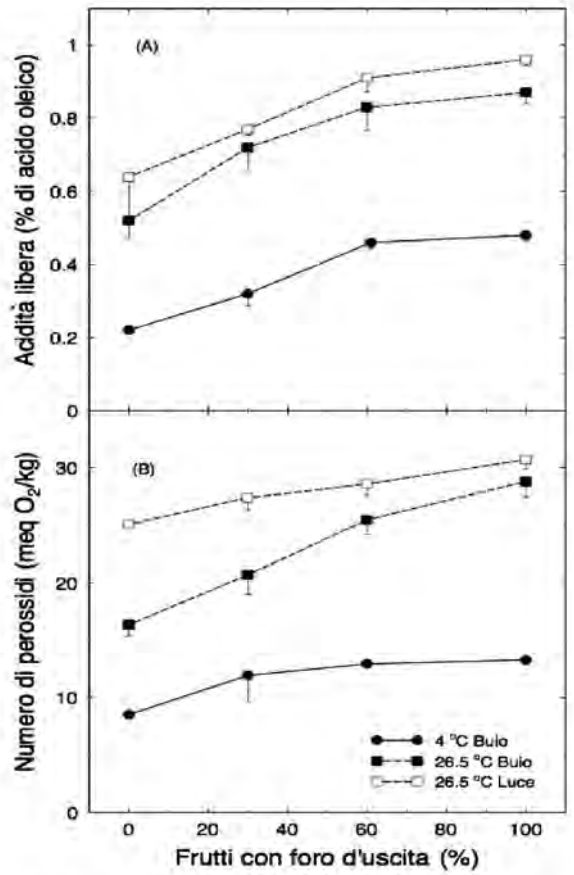


Fig. 2 - Valori di acidità libera (A) e numero di perossidi in oli ottenuti da olive con un diverso grado di infestazione di B. oleae (% di fori d'uscita) e mantenuti per 3 mesi in diverse condizioni di conservazione. Ogni punto rappresenta la media di 3 repliche. La barra verticale rappresenta la deviazione standard.
Fig. 2 - Free acidity (A) and peroxide value (B) in oils obtained from fruits with a different level of B. oleae infestation (% exit holes) and kept under different storage conditions for 3 months. Each symbol is the mean of three replicates. Vertical bars indicate standard deviations.

Discussione e conclusioni

L'infestazione da *B. oleae* è considerata una delle principali cause del deterioramento della qualità dell'olio. L'acidità libera e il numero di perossidi nell'olio extra-vergine di oliva devono essere inferiori a 0,8% di acido oleico e 20 meq O_2 kg^{-1} di olio, rispettivamente. I nostri risultati evidenziarono che anche in oli ottenuti da olive con un livello di infestazione pari al 100% F.U. i valori di acidità libera e numero di perossidi risultarono relativamente bassi ed entro i limiti per la categoria extra-vergine. I valori di acidità libera e numero di perossidi riscontrabili in letteratura per gli oli ottenuti da frutti con un livello di infestazione del 100% sono generalmente più alti rispetto a quelli del presente studio e compresi tra 0.49 e 1.15% di acido oleico kg^{-1} (Angerosa *et al.*, 1992; Caravaca *et al.*, 2008; Evangelisti *et al.*, 1994). Ciò è probabilmente dovuto al protocollo seguito nei nostri esperimenti volto a minimizzare i fattori di rischio per la qualità durante tutta la preparazione dei campioni, in particolare la tempestività della lavorazione e l'aver utilizzato olive con fori di uscita di recente formazione. Ciò ha fortemente contenuto in partenza l'evoluzione dei processi degenerativi di ossidazione enzimatica a carico delle olive, che risultano particolarmente accelerati dal periodo di stoccaggio delle stesse dopo la raccolta (Pereira *et al.*, 2002). L'evoluzione nel tempo dei valori di perossidi e acidità libera ben si configura con i dati riscontrabili in letteratura (Vekiari *et al.*, 2002; Kiritsakis e Dugan, 1984). Infatti, dai nostri risultati emerse una evoluzione esponenziale dei perossidi per quanto riguarda gli oli conservati a 4 °C al buio, con valori finali oltre i limiti di legge per l'extra vergine. Ciò in parte conferma i dati pubblicati da Caponio *et al.* (2005) e da Vekiari *et al.* (2002), anche se nella nostra sperimentazione la crescita esponenziale si protrae per un periodo decisamente più lungo. Queste differenze potrebbero essere dovute alle differenti varietà utilizzate e alle differenti temperature di conservazione. I valori di acidità libera ebbero un incremento ridotto anche dopo 17 mesi di conservazione, e ciò appare legato alla bassa temperatura di conservazione. Le condizioni di conservazione influenzarono in maniera evidente i parametri analitici dell'olio. In particolare, il marcato incremento del numero di perossidi in oli otte-

nuti da olive con un livello di infestazione inferiore al 30 % F.U., dovuto all'effetto degradativo della luce, concorda con quanto riportato in letteratura (Kiritsakis, 1984; Vekiari *et al.*, 2002). Restano da chiarire alcuni aspetti riguardo le dinamiche dei parametri analitici dell'olio nel breve periodo e sul ruolo dei composti antiossidanti nella conservabilità del prodotto.

Riassunto

L'effetto dei danni causati dalla mosca delle olive sull'acidità libera e sul numero di perossidi nell'olio extra-vergine di oliva è stato valutato in un biennio utilizzando olive della cv. Frantoio prelevate alla raccolta da olivi irrigati. Le diverse tesi furono preparate in laboratorio in modo da ottenere percentuali, comprese tra 0 e 100%, di olive con foro d'uscita (F.U.). L'estrazione dell'olio fu effettuata mediante un torchio manuale oppure un mini-frantoio e gli oli ottenuti conservati a diverse condizioni di temperatura e luce. L'acidità libera e il numero di perossidi, misurati sull'olio estratto dalle olive con torchio manuale, tendevano ad aumentare nelle tesi con maggior percentuale di F.U., sebbene non fu possibile individuare un valore soglia del grado di infestazione. L'acidità libera degli oli, ottenuti alla terza data di campionamento, misurata subito dopo la frangitura risultò 0.16, 0.24, 0.27 e 0.35% acido oleico rispettivamente per le tesi 0, 30, 60 e 100% F.U. ed aumentò a 0.27, 0.4, 0.59 e 0.63% dopo 17 mesi di conservazione a 4°C in assenza di luce. Il numero di perossidi mostrò un andamento di tipo esponenziale in tutte le tesi, passando da 4-6 subito dopo la frangitura a 20-29 meq O_2/kg dopo 17 mesi di conservazione. Il danno causato dai fori di uscita della mosca determina un progressivo deterioramento della qualità dell'olio, che viene accentuato da esposizione alla luce o a temperatura ambiente.

Parole chiave: conservazione dell'olio, mosca delle olive, qualità dell'olio.

Ricerca finanziata da ARSIA – Regione Toscana – Progetto SIDIO 2007

Bibliografia

ANGEROSA F., DI GIACINTO L., SOLINAS M., 1992. *Influence of* Dacus oleae *infestation on flavor of oils, extracted from attacked olive fruits, by HPLC and HRCG analyses of volatile compounds*. Grasa y Aceites, 43 (3): 134 – 142.

CAPONIO F., BILANCIA M.T., PASQUALONE A., SIKORSKA E., GOMES T., 2005. *Influence of the exposure to light on extra virgin olive oil quality during storage*. Eur. Food Res. Technol., 221: 92-98.

CARAVACA A.M.C., CERRETANI L., BENDINI A., CARRETERO A.S., GUTIÉRREZ A.R., DEL CARLO M., COMPAGNONE D., CICHELLI A. 2008. *Effects of fly attack (*Bactrocera Oleae*) on the phenolic profile and selected chemical parameters of olive oil*. J. Agric. Food Chem., 56: 4577-4583.

EVANGELISTI F., ZUNIN P., CALCAGNO C., TISCORNIA E., PETACCHI R. 1994. Dacus oleae *infestation and its consequences on the phenolic compounds of virgin olive oil*. Riv. It. Sost. Grasse, 71: 507-511.

KIRITSAKIS A.K., DUGAN L.R., 1984. *Effect of Selected Storage Conditions and Packaging Materials on Olive Oil Quality*. J. Am. Oil Chem. Soc., 61 (12): 1868-1870.

PEREIRA A.J., CASAL S., BENTO A., OLIVEIRA P.P., 2002. *Influence of olive storage period on oil quality of three Portuguese cultivars of* Olea europea*, Combrançosa, Madural, and Verdeal Trasmontana*. J. Agric. Food. Chem., 50: 6335-6340.

PUCCI C., RICCI C., BOZZA P., TIRIMBELI P., FORCINA A., AMBROSI G., QUAGLIA F., RASPI A., BELCARI A., PAPARATTI B., BAGNOLI B., NICCOLI A. 1979. *Effetto dell'infestazione dacica sulla resa e sulle caratteristiche qualitative dell'olio. Ricerche condotte nel 1979 nella Toscana centro-meridionale*. Frustula Entomologica (n.s.), II: 183-195.

RASPI A., VIGGIANI G., 2008. *On the senior authorship of* Musca oleae *(Diptera:* Tephritidae*)*. Zootaxa, 1714: 67-68.

VEKIARI S.A., PAPADOPOULOU P., KOUTSAFTAKIS A. 2002. *Comparison of different olive oil extraction systems and the effect of storage conditions on the quality of the virgin oil*. Grasas y Aceites, 53 (3): 324-329.

ZUNIN P., EVANGELISTI F., TISCORNIA E., QUAGLIA F., PETACCHI R., 1991. *Influenza del tipo di infestazione da* Dacus *sulla composizione dell'olio ottenuta da* Olea europaea. *Nota 1*. Riv. It. Sost. Grasse, 68: 609-614.

Acta Italus Hortus 1: 295-298

Valutazione chimica e sensoriale degli oli di alcune varietà di olivo allevate in Puglia con il modello superintensivo

Camposeo S.[1*], Vivaldi G.A.[1], Gallotta A.[1], Barbieri N.[2] e Godini A.[1]
[1] *Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali, Università di Bari*
[2] *Samer - Camera di Commercio di Bari*

Chemical and organoleptic evaluation of the oil of different olive varieties grown in Apulia according to the super high density model

Abstract. Till yesterday the super high density olive growing model was based upon three varieties, all having foreign origin: Arbequina, Arbosana and Koroneiki. We first started testing a new Italian variety, Urano®, judged possessing vegetative and productive characteristics suitable for the above cultural model. In the present work the results of chemical and sensorial analysis of the oil of the four varieties, grown in Apulia, and harvested mechanically at the third year of growth are reported. The oils presented a medium polyphenols content, ranging from 123 mg/kg (Arbequina) to 187 mg/kg (Arbosana), and they presented good levels of oleic acid (about 70.0%) and linoleic acid (about 11.5%). The Panel test showed good values concerning fruity, bitter and spicy median, indicating definitely characteristics of high quality extra virgin olive oils.

Key words: Olea europaea L., fatty acids, polyphenols content, Arbequina, Arbosana, Koroneiki, Urano®.

Introduzione

La composizione chimica di un olio d'oliva è caratteristica varietale (Pantanelli e Brandonisio, 1948), che può essere influenzata dalle condizioni pedoclimatiche, in particolare dalla latitudine (Romero e Dìaz, 2002; Vinha *et al.*, 2005), dalla tecnica colturale (Patumi *et al.*, 2002), dal grado di maturazione delle olive alla raccolta, dalle modalità di raccolta, dai tempi intercorrenti tra raccolta e lavorazione e dalle tecnologie di estrazione (Vichi *et al.*, 2009). Altra fonte di variazione della composizione è data dalla miscelazione tra oli da olive di diversa varietà, come avviene per tutti o quasi tutti gli oli DOP e IGP italiani (Mipaf, 2009). Gli oli extravergini d'oliva posseggono proprietà salutistiche che possono variare in funzione della maggiore o minore presenza di acidi grassi monoinsaturi, come l'acido oleico, e polinsaturi, quali quelli della serie ω_3, come l'acido α-linolenico, ed ω_6, come l'acido linoleico (Visioli *et al.*, 2006). I composti fenolici, insieme ai composti volatili, sono i principali responsabili del *flavour* degli oli extravergini di oliva e possono costituire elementi di preferenza nelle scelte dei consumatori (Gòmez-Rico *et al.*, 2008). Inoltre, è ormai noto che i polifenoli, oltre ad assicurare serbevolezza al prodotto, costituiscono una ricca fonte di antiossidanti naturali (Morellò *et al.*, 2004).

Fino a ieri, il modello di olivicoltura superintensivo si è basato sull'impiego di sole tre varietà, tutte estranee all'olivicoltura nazionale: le spagnole Arbequina e Arbosana e la greca Koroneiki (Camposeo *et al.*, 2008), alle quali si è aggiunta di recente Urano®, nuova proposta varietale del miglioramento genetico italiano e da noi ritenuta meritevole d'essere presa in considerazione per tale modello d'olivicoltura a partire dal 2002 (Godini *et al.*, 2006; Camposeo e Godini, 2009; Godini, 2009). Per quanto sopra scritto, è opportuno che l'introduzione di nuove varietà di olivo in nuovi ambienti sia accompagnata dallo studio delle caratteristiche chimiche e sensoriali degli oli da esse prodotti. Tale valutazione è stata ad esempio effettuata in Spagna da Tous e Romero (1997) per gli oli di Arbequina e di Arbosana; le caratteristiche dell'olio di Urano®, coltivata in Toscana, sono state già analizzate (Sonnoli, 2001), così come l'analisi dell'olio di Arbequina, Arbosana e Koroneiki introdotte in Toscana è stata di recente pubblicata (Marone *et al.*, 2009); alcune caratteristiche degli oli di Arbequina e Arbosana coltivate in Puglia erano state da noi già descritte (Camposeo *et al.*, 2006). Nel presente lavoro riportiamo i risultati delle analisi chimiche e delle valutazioni sensoriali degli oli di Arbequina, Arbosana, Koroneiki e Urano®, allevate tutte nello stesso sito, in un nuovo oliveto sperimentale superintensivo realizzato in provincia di Bari, e dunque a parità di condizioni ambientali e colturali.

Materiale e metodi

La sperimentazione è stata condotta in un oliveto localizzato in agro di Valenzano (Ba) presso il Centro

* camposeo@agr.uniba.it

Didattico Sperimentale "P. Martucci" della Facoltà di Agraria dell'Università di Bari. L'oliveto è stato messo a dimora nel 2006 con sesto d'impianto di 4,0 m x 1,5 m (1.667 piante/ha), secondo il modello superintensivo spagnolo. Le piante, da talea, sono state allevate ad asse centrale. L'oliveto è stato dotato di un sistema di irrigazione a goccia, col quale sono stati distribuiti nel triennio, volumi stagionali crescenti da 800 a 1.500 m^3 ha^{-1}. La raccolta è stata effettuata il 20 novembre 2008, al terzo anno dall'impianto, con macchina vendemmiatrice-scavallatrice a scuotimento orizzontale. Le olive delle varietà Arbequina, Arbosana, Koroneiki e Urano® sono state molite entro 24 ore dalla raccolta presso l'Oleificio Cooperativo di Valenzano (Ba) che ha operato con impianto a 3 fasi. Le determinazioni analitiche e le valutazioni organolettiche sono state effettuate secondo il Regolamento (CEE) n. 2568/91 e successive modifiche ed integrazioni: le determinazioni analitiche presso i laboratori Chemiservice di Monopoli (Ba), le valutazioni organolettiche presso la S.A.MER. della C.C.I.A.A. di Bari.

Risultati e discussione

Valutazione chimica (tab. 1)

Il contenuto di acido oleico è risultato pari a 68,6%, 70,6%, 72,2% e 76,8% per Arbequina, Urano®, Arbosana e Koroneiki, rispettivamente. Sempre in impianti superintensivi, ma in altri areali di coltivazione, sono riportati valori di acido oleico più

Tab. 1 - Caratteristiche chimiche degli oli.
Tab. 1 - Oils chemical characteristics.

Parametro	Unità di misura	Arbequina	Arbosana	Koroneiki	Urano®
Acidi grassi					
C12:0 - A. Laurico	%	0,0	0,0	0,0	0,0
C14:0 - A. Miristico	%	0,0	0,0	0,0	0,0
C16:0 - A. Palmitico	%	14,0	13,2	11,5	12,8
C16:1 - A. Palmitoleico	%	2,4	1,6	1,1	1,0
C17:0 - A. Eptadecanoico	%	0,1	0,1	0,1	0,1
C17:1 - A. Eptadecenoico	%	0,2	0,3	0,1	0,1
C18:0 - A. Stearico	%	1,8	2,0	2,2	2,0
C18:1 - A. Oleico	%	68,6	72,2	76,8	70,6
C18:2 - A. Linoleico	%	11,4	8,8	6,5	11,5
C18:3 - A. Linolenico	%	0,6	0,8	0,7	1,0
C20:0 - A. Arachico	%	0,4	0,4	0,4	0,4
C20:1 - A. Eicosenoico	%	0,3	0,3	0,3	0,3
C20:4 - A. Eicosatetraenoico	%	0,0	0,0	0,0	0,0
C20:5 - A. Eicosapentenoico	%	0,0	0,0	0,0	0,0
C22:0 - A. Beenico	%	0,1	0,2	0,2	0,1
C22:1 - A. Erucico	%	0,0	0,0	0,0	0,0
C22:5 - A. Decosapentenoico	%	0,0	0,0	0,0	0,0
C22:6 - A. Docosaesenoico	%	0,0	0,0	0,0	0,0
C24:0 - A. Lignocerico	%	0,1	0,1	0,1	0,1
Rapporto tra acidi grassi					
Insaturi/Saturi		5,05	5,25	5,90	5,45
Monoinsaturi/Polinsaturi		5,96	7,75	10,87	5,76
ω_3/ω_6		0,05	0,09	0,11	0,09
Polifenoli					
Idrossi-tirosolo	mg/kg	12,0	23,0	3,0	6,0
Tirosolo	mg/kg	2,0	3,0	4,0	4,0
Decarbossimetil-oleuropeina aglicone	mg/kg	12,0	36,0	37,0	21,0
Decarbossimetil-ligustroside aglicone	mg/kg	10,0	16,0	28,0	15,0
Lignani	mg/kg	23,0	34,0	20,0	26,0
Aglicone oleuropeina	mg/kg	6,0	7,0	10,0	12,0
Aglicone ligustroside	mg/kg	6,0	3,0	4,0	14,0
Polifenoli totali	mg/kg	123	187	139	149

elevati, come nel Lazio (Marone *et al.*, 2009), oppure più bassi, come in Tunisia, almeno per Arbequina e Arbosana, ma non per Koroneiki (Allout *et al.*, 2009). Ciò vale a confermare quanto noto circa l'effetto determinante dell'ambiente pedoclimatico (nello specifico la latitudine) sulla composizione acidica degli oli di oliva (Romero e Dìaz, 2002; Vinha *et al.*, 2005).

Per il più basso contenuto soprattutto in acido oleico, il rapporto tra acidi grassi insaturi e saturi per le varietà in studio è stato compreso tra 5,05 e 5,90. Il rapporto tra gli acidi grassi monoinsaturi e quelli polinsaturi è risultato compreso tra 5,76 e 10,87. Infine il rapporto ω_3/ω_6 ha riportato i seguenti valori: per Urano® e Arbosana 0,09, per Arbequina 0,05 e per Koroneiki 0,11.

Il contenuto in polifenoli di Arbequina (123 mg/kg) è risultato inferiore a quello medio registrato per la stessa varietà in areali di coltivazione catalani (170-200 mg/kg) (Tous *et al.*, 1997). L'olio di Arbosana con 187 mg/kg si è distinto per il più alto contenuto in polifenoli rispetto alle altre varietà oggetto di studio, mentre Koroneiki e Urano® sono risultate contenerne 139 mg/kg e 149 mg/kg, rispettivamente. Altri areali di coltivazione riportano per le stesse varietà valori differenti, ricalcando lo stesso comportamento del contenuto in acido oleico precedentemente discusso (Allalout *et al.*, 2009; Marone *et al.*, 2009). Tali differenze sono comprensibili in considerazione anche dell'influenza che il grado di maturazione dei frutti ha sul contenuto in polifenoli (Oliveras-López *et al.*, 2007). Infatti, nel caso oggetto di studio, la raccolta contemporanea per tutte le varietà può avere verosimilmente determinato un abbassamento del contenuto totale di polifenoli soprattutto in Arbequina e Urano®, perché più precoci e perciò raccolte in stadio più avanzato di maturazione (Camposeo *et al.*, 2006).

Valutazione sensoriale (fig. 1)

Il Panel test ha attribuito agli oli di queste quattro varietà una mediana del fruttato, dell'amaro e del piccante che ne accertano per tutte le indubbie caratteristiche di pregio. In generale, gli oli sono risultati equilibrati e dotati di buon fruttato. L'olio di Urano®, in particolare, ha fornito i migliori risultati della valutazione sensoriale, seguito, in ordine decrescente, da quello di Koroneiki, di Arbosana e di Arbequina. Le migliori caratteristiche sensoriali della varietà greca rispetto a quelle spagnole sono state recentemente evidenziate anche da altri test (Marone *et al.*, 2009), mentre la migliore qualità organolettica di Arbosana rispetto ad Arbequina era stata già osservata dal nostro precedente studio (Camposeo *et al.*, 2006).

Conclusioni

Gli oli di Arbequina, Arbosana, Koroneiki e Urano® possono essere inclusi nella categoria degli oli decisamente equilibrati. Tuttavia, le osservazioni dei prossimi anni saranno estese allo studio delle curve di maturazione e contribuiranno ad approfondire questi aspetti. In ogni caso, il crescente interesse

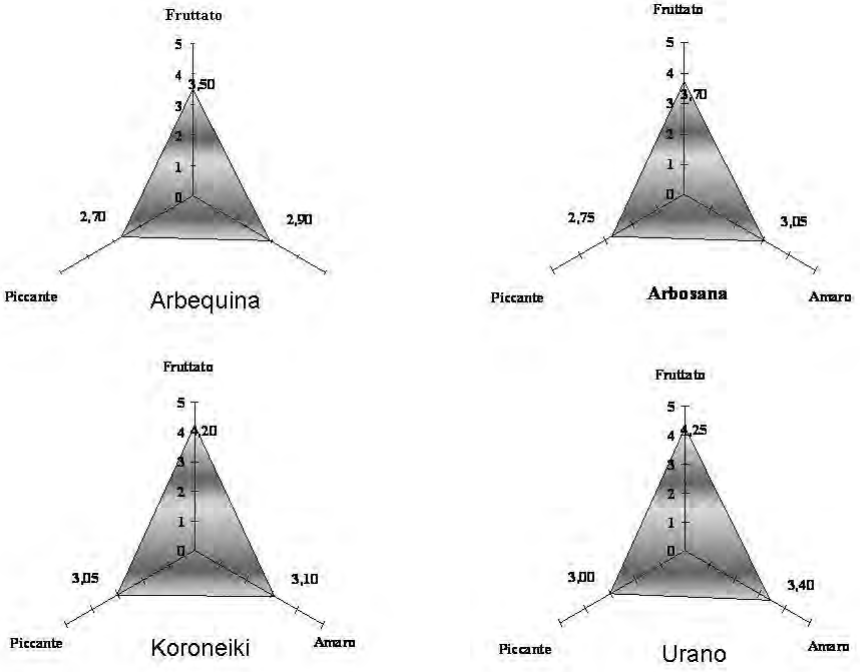


Fig. 1 - Profili sensoriali degli oli.
Fig. 1 - Oils organoleptic evaluation.

per le proprietà nutraceutiche e l'espansione dei potenziali mercati anche dei paesi non tradizionalmente consumatori di olio extravergine d'oliva, impongono la necessità di operare verso una differenziazione e segmentazione del prodotto. A tale scopo una possibilità potrebbe essere quella di studiare e mettere a punto appositi *blend* che consentano di ottenere un prodotto qualitativamente apprezzabile, costante e riconoscibile nel tempo, nel quale le caratteristiche positive delle varietà tradizionali siano, ad esempio, utilizzate per correggere/completare/armonizzare l'olio extravergine ottenuto delle varietà idonee per il sistema superintensivo, qualora questo dovesse risultare carente in qualche componente essenziale. In altre parole, alla stessa stregua di come è stata concepita la potenziale composizione degli extravergini DOP e IGP italiani.

Ringraziamenti

Gli Autori ringraziano la Provincia di Bari per il supporto finanziario accordato.

Riassunto

Fino a ieri, il modello di olivicoltura superintensivo prevedeva l'impiego esclusivo di tre varietà, tutte estranee all'olivicoltura nazionale: Arbequina, Arbosana e Koroneiki. Noi ci attribuiamo il merito d'avere per primi introdotto e saggiato il comportamento di una quarta varietà, Urano®, frutto del miglioramento genetico italiano. Nel presente lavoro riportiamo i risultati della valutazione chimica e sensoriale degli oli di queste quattro varietà, allevate in un oliveto sperimentale superintensivo realizzato in provincia di Bari e raccolte con vendemmiatrice al terzo anno di impianto. Sebbene gli oli monovarietali estratti da queste varietà siano risultati possedere un tenore di polifenoli non elevato (tra 123 mg/kg di Arbequina e 187 mg/kg di Arbosana), essi hanno presentato un buon contenuto di acido oleico (intorno al 70%) e linoleico (intorno all'11%). Il Panel test ha attribuito agli oli di queste quattro varietà una mediana del fruttato, dell'amaro e del piccante che ne accertano le indubbie caratteristiche di olio extravergine di pregio.

Parole chiave: *Olea europaea* L., acidi grassi, polifenoli, Arbequina, Arbosana, Koroneiki, Urano®.

Bibliografia

ALLALOUT A., KRICHENE D., METHENNI K., TAAMALLI A., OUESLATI I., DAOUD D., ZARROUK M., 2009. *Characterization of virgin olive oil from Super Intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia.* Sci. Hort. 120: 77-83.

CAMPOSEO S., CANTORE A., BARBIERI N., GODINI A., 2006. *Arbequina e Arbosana alla prova della qualità*. Olivo&Olio 11-12: 12-14.

CAMPOSEO S., FERRARA G., PALASCIANO M., GODINI A., 2008. *Varietal behaviour according to the superintensive oliveculture training system*. Acta Hort. 795: 191-198.

CAMPOSEO S., GODINI A., 2009. *Le varietà di olivo per impianti superintensivi*. Inf. Agr. 65(26): 40-44.

GODINI A., CAMPOSEO S., FERRARA V., GIORGIO M., PALASCIANO M., 2006. *L'olivicoltura superintensiva come ultima innovazione: gli aspetti agronomici*. Atti Convegno Nazionale 'Maturazione e raccolta delle olive: strategie e tecnologie per aumentare la competitività in olivicoltura'. Alanno (PE). 1 Aprile 2006: 119-123.

GODINI A., 2009. *L'olivicoltura italiana deve innovarsi*. Inf. Agr. 7: 66-70.

GÒMEZ-RICO A., FREGAPANE G., SALVADOR D.S., 2008. *Effect of variety and ripening on minor components in Spanish olive fruits and their corresponding virgin olive oils*. Food Research International 41: 433-440.

MARONE E., MERSI A., OTTANELLI A., FIORINO P., 2009. *Productivity and oil characteristics in a superintensive olive planting system in Central Italy*. XXXIII Ciosta-Cigr V Conference 'Tecnology and management to ensure sustainable agriculture, agro-system, forestry and safety'. Reggio Calabria, 17-19 Giugno.

MIPAF, 2009. www.politicheagricole.it

MORELLÒ J.R., MOTILVA M J., TOVAR M.J., ROMERO M.P., 2004. *Changes in commercial virgin olive oil (cv Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction*. Food Chemistry 84: 357-364.

OLIVERAS-LÒPEZ M.J., INNOCENTI M., GIACCHERINI C., IERI F., ROMANI A., MULINACCI N., 2007. *Study of the phenolic composition of spanish and italian monovarietal extra virgin olive oils: distribution of lignans, secoiridoidic, simple phenols and flavonoids*. Talanta 73: 726-732.

PANTANELLI E., BRANDONISIO V. 1948. *Caratteri degli olii dell'Italia meridionale*. Olearia 7(2): 467-473.

PATUMI M., D'ANDRIA M., MARSILIO R., 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 Chemistry 77: 27-34.

ROMERO A., DÌAZ I., 2002. *Optimal harvesting period for "Arbequina" olive cultivar in Catalonia (Spain)*. Acta Hort. 586: 393-396.

SONNOLI A., 2001. *Una nuova varietà d'olivo a dimensioni ridotte*. OLIVAE 88: 46-49.

TOUS J., ROMERO A., PLANA J., GUERRERO L., DÍAZ I., HERMOSO J.F., 1997. *Características químico-sensoriales de los aceites de oliva "Arbequina" obtenidos en distintas zonas de España*. Grasas y Aceite 48(6): 415-424.

VICHI S., ROMERO A., GALLARDO-CHAÒN J., TOUS J., LÒPEZ-TAMAMES E., BUXADERAS S., 2009. *Volatile phenols in virgin olive oils: Influence of olive variety on their formation during fruits storage*. Food Chemistry 116: 651-656.

VINHA A.F., FERRERES F., SILVA B.M., VALENTÃO P., GONÇALVES A., PEREIRA J.A., OLIVEIRA M.B., SEABRA R.M., ANDRADE P.B., 2005. *Phenolic profiles of Portuguese olive fruits* (Olea europaea *L.*)*: Influences of cultivar and geographical origin*. Food chemistry 89: 561-568.

VISIOLI F., GALLI C., BOGANI P., 2006. *Is olive oil good for you?*. Olivebioteq 2006. Second International Seminar 'Recent advances in olive industry'. Marsala-Mazara del Vallo (TP), 5-10 novembre 2006: 255-263.

Influenza del tempo di gramolazione in atmosfera a ridotto contenuto di ossigeno sulle caratteristiche qualitative ed aromatiche dell'olio di oliva

Ridolfi M., Scamosci M. e Patumi M.
CNR - ISAFoM, UOS Olivicoltura, Perugia

Influence of malaxation time under a controlled nitrogen atmosphere on olive oil quality

Abstract. To study the influence of operative conditions adopted during the malaxation of pastes on the quality of resulting oils, we compared qualitative and sensory characteristics of oils extracted from homogeneous batches of olive fruits from Moraiolo, San Felice e Leccino cultivars by using different malaxation times (15, 45, 75 e 105 minuti) under a controlled nitrogen atmosphere and using traditional system. Routine analyses, such as the acidity, the peroxide value and the acidic composition, in accordance with EC regulation no. 2568/91, were carried out. The total phenols and the aromatic profiles are determined, too. The two systems of malaxation and the time of malaxation did not induce significant variations of the principal qualitative parameters. In the oil extracted under a controlled nitrogen atmosphere the content of the total phenols and o-diphenols was greater than the samples obtained using a traditional system and the amount of this antioxidant substances is increased with the malaxation time adopted. Instead the concentration of total C_6 volatiles in the oil extracted using nitrogen was smaller than the others for every malaxation time considered. Moreover a different distribution of the aldehydes and alcohols was registered in relation to time variable. In particular the amounts of E-2-hexenal and hexanal are increased in both extraction systems, but in the traditional conditions the concentrations of the 1-esanol e the E-2-esen-1-olo are increased for times above 45 minutes. So the presence of oxygen in the olive past and the malaxation time are able to influence the activity of the principal enzymes implicated in the transformation/degradation of the phenolic and volatile compounds and determine the qualitative characteristic and the sensory quality organoleptic of the virgin olive oils.

Key words: olive oil, malaxation time, controlled nitrogen atmosphere, oil mill plant, quality, sensory characteristics.

Introduzione

Con il presente lavoro si è proposto di valutare l'influenza di diverse condizioni operative adottate durante la gramolazione delle paste sulla qualità degli oli di oliva. Si è cercato di verificare gli effetti del condizionamento sotto azoto della vasca di gramolazione di un microfrantoio sperimentale e dell'utilizzo di quattro tempi di gramolazione (15, 45, 75 e 105 minuti) sulle caratteristiche qualitative ed aromatiche del prodotto, al fine di evidenziare variazioni nella componente fenolica ed organolettica-sensoriale.

Materiali e metodi

Estrazione dei campioni di olio

Una partita di olive, costituita da una miscela omogenea delle cultivar Moraiolo, Frantoio e San Felice è stata scelta per lo svolgimento della sperimentazione. I frutti sono stati raccolti a mano agli inizi di novembre 2009 presso l'oliveto dell'Azienda "Tini e Del Sero" di Giano dell'Umbria (PG) approssimativamente nelle seguenti proporzioni: 30% Frantoio, 30% San Felice e 40% Moraiolo. Le olive sono state molite con il micromolino sperimentale dell' ISAFoM-CNR UOS di Perugia con due tipologie di gramolazione, tradizionale e a ridotto contenuto di ossigeno condizionando la gramola con azoto. Le paste sono state lavorate alla temperatura ottimale di 28 °C per 15, 45, 75 e 105 minuti e gli oli estratti sono stati sottoposti alle analisi chimico-fisiche.

Analisi chimico-fisiche

Nelle otto tipologie dei campioni di olio sono stati determinati l'acidità libera, il numero di perossidi e la composizione in acidi grassi secondo i metodi ufficiali di analisi (Reg. CE 2568/91). L'estrazione delle sostanze fenoliche è stata effettuata da 10 g di olio con 10 ml di una soluzione metanolo-acqua (80:20 v/v). Dopo agitazione e centrifugazione una aliquota filtrata del sovranatante è stata dosata tramite saggi colorimetrici (Singleton *et al.*, 1965; Mateos *et al.*, 2001). La determinazione dei composti volatili è avvenuta effettuando il campionamento nello spazio di testa statico (Static Headspace) con la microestrazione in fase solida accoppiata a gas cromatografo con spettrometro di massa (HS-SPME-GC-MS). 8 g di olio, posti in una vial da 20 ml, sono stati termostati per 30 minuti a 80 °C e successivamente esposti alla fibra SPME per 15 minuti; la fibra è stata poi termica-

mente desorbita nell'iniettore del GC. La separazione dei volatili è stata effettuata utilizzando una colonna capillare CP-SIL 8 CB low bleed/MS 60m x 0,25 mm ID 0,25 um; la temperatura dell'iniettore era di 220 °C, il gas carrier era l'elio e il gradiente di temperatura impostato era di 40 °C (10 min), 55 °C (1°C/min), 80 °C (5 °C/min), raggiungendo i 220 °C per 18 min. I composti volatili sono stati identificati tramite la libreria del software e il loro quantitativo, espresso in mg kg^{-1} di E-2-esenale.

Risultati e discussione

Analizzando i dati dell'acidità libera e del numero di perossidi (tab. 1) è possibile notare come tutti gli oli rientrino nella categoria merceologica dell'extravergine.

Per quanto riguarda il valore dei perossidi si è registrato un lieve ma continuo incremento in funzione del tempo di gramolazione probabilmente legato ad un aumento del tasso di ossidazione del materiale lipidico. Ciò nonostante non ci sono differenze statisticamente significative nei valori di questi parametri nelle due sperimentazioni, (gramola tradizionale e gramola condizionata con azoto), facendo supporre che i fenomeni degradativi, sia ossidativi che enzimatici, della componente gliceridica degli oli, non sono risultati influenzati dalla presenza o assenza di ossigeno durante la gramolazione. Anche la composizione acidica dei trigliceridi (tab. 2) non è risultata influenzata né dalla disponibilità di ossigeno durante la gramolazione, né dai tempi adottati nelle sperimentazioni.

Il contenuto di polifenoli totali e o-difenoli (fig. 1) è risultato influenzato dalle condizioni operative di gramolazione.

Gli oli ottenuti in atmosfera modificata hanno mostrato concentrazioni superiori rispetto ai campioni lavorati tradizionalmente ed un incremento di entrambi i composti in funzione del tempo di gramolazione. Negli oli tradizionali si è registrato un incremento nel contenuto di fenoli totali ed o-difenoli dopo 45 minuti di gramolazione che ha poi subito una significativa riduzione nei tempi successivi. Questi risultati fanno supporre che l'uso di gramole a ridotto contenuto di ossigeno abbia inibito l'attività di enzimi, quali perossidasi e polifenolossidasi, responsabili della degradazione ossidativa dei fenoli.

L'olio ottenuto dalla gramolazione a ridotto contenuto di ossigeno ha mostrato un quantitativo in composti volatili significativamente più basso rispetto agli oli ottenuti dalla gramolazione tradizionale, per ciascun tempo di lavorazione considerato (fig. 2).

Questo fenomeno può essere spiegato con una minore attività della lipossigenasi causata dal ridotto contenuto di ossigeno nelle paste. In entrambe le sperimentazione con l'aumentare del tempo di gramolazione sono aumentate la E-2-esenale e l'esanale. Nel sistema tradizionale si è inoltre registrato un incremento marcato per l'1-esanolo e il E-2-esen-1-olo per tempi superiori a 45 minuti (fig. 3).

Tab. 1 - Parametri qualitativi dei campioni di olio.
Tab. 1 - Qualitative parameters of oil samples.

Modalità operativa	Tempi di gramolazione (minuti)							
	15		45		75		105	
	acidità (g%)	perossidi (meq‰)	acidità (g%)	perossidi (meq‰)	acidità (g%)	perossidi (meq‰)	acidità (g%)	perossidi (meq‰)
Tradizionale	0,54±0,03	6,3±0,6	0,57±0,02	6,5±0,4	0,54±0,02	6,9±0,1	0,50±0,04	7,4±0,3
Azoto	0,57±0,03	6,2±0,6	0,55±0,02	6,3±0,5	0,58±0,02	6,6±0,3	0,54±0,04	7,2±0,3

Tab. 2 - Composizione acidica degli oli estratti a differenti tempi di gramolazione e in condizioni tradizionali e in presenza di azoto.
Tab. 2 - Acid composition of oil extracted at different malation times and using traditional system and controlled nitrogen atmosphere.

Campioni	Tempi gramolazione (min)	C16 %	C16:1 %	C17 %	C17:1 %	C18 %	C18:1 %	C18:2 %	C18:3 %	C20 %	C20:1 %	Rapporto INS/SAT	Rapporto MON/POLI	Rapporto C18'/C18' ,
azoto	15	12,43	0,84	0,04	0,10	1,72	76,43	7,12	0,73	0,31	0,28	5,90	9,89	10,74
tradizionale		12,32	0,81	0,05	0,10	1,81	76,29	7,25	0,72	0,34	0,32	5,89	9,73	10,52
azoto	45	13,52	0,91	0,05	0,11	1,65	75,30	7,22	0,74	0,26	0,25	5,46	9,61	10,43
tradizionale		12,05	0,82	0,04	0,10	1,79	75,96	7,82	0,75	0,34	0,32	6,03	9,01	9,72
azoto	75	12,15	0,82	0,04	0,10	1,73	76,41	7,39	0,73	0,33	0,30	6,02	9,56	10,34
tradizionale		12,26	0,83	0,05	0,10	1,85	75,85	7,71	0,74	0,33	0,30	5,91	9,12	9,84
azoto	105	13,08	0,89	0,04	0,11	1,72	75,63	7,27	0,75	0,27	0,25	5,62	9,59	10,40
tradizionale		11,58	0,75	0,04	0,10	1,87	76,64	7,57	0,73	0,38	0,34	6,20	9,38	10,13

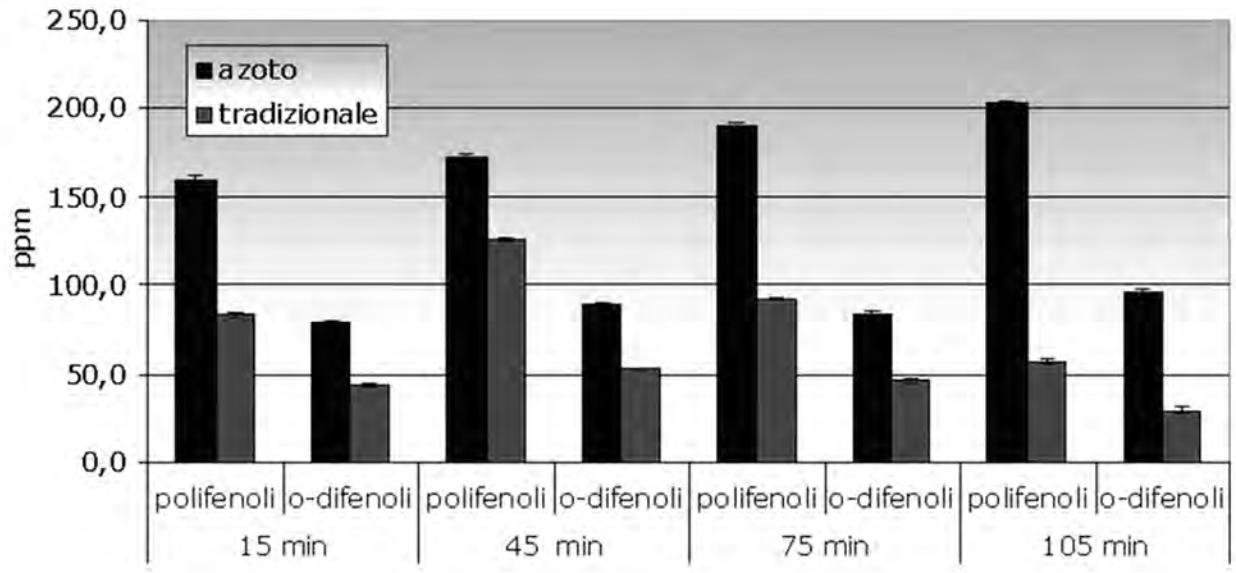


Fig. 1 - Contenuto di polifenoli totali e o-difenoli nei campioni di olio.
Fig. 1 - Content of total phenols and o-diphenols in oil samples.

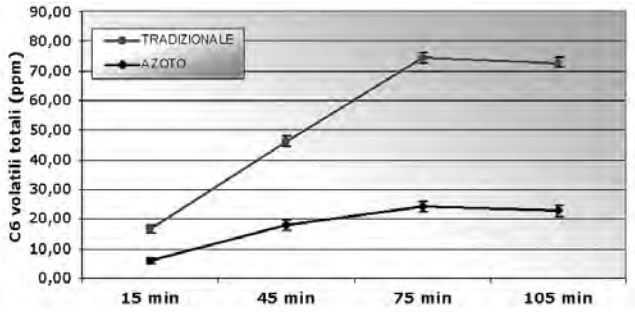


Fig. 2 - Concentrazione dei C_6 volatili totali negli oli ottenuti nelle due sperimentazioni.
Fig. 2 - Total C_6 volatiles in oil o stained in experiment.

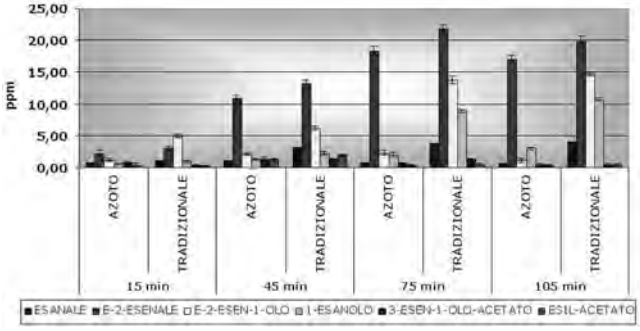


Fig. 3 - Contenuto in C_6 composti volatili negli oli ottenuti usando diversi tempi e condizioni di gramolazione.
Fig. 3 - Content in C6 volatiles in oil obtained using different malaxation times.

Conclusioni

L'utilizzo di gramole a ridotto contenuto di ossigeno ha prodotto oli con un maggior quantitativo di fenoli che hanno subito un incremento con il tempo di gramolazione. I composti volatili C_6 totali sono diminuiti in presenza di azoto, specialmente per tempi di lavorazione superiori a 45 minuti. In entrambe le sperimentazione con l'aumentare del tempo di gramolazione sono aumentate la E-2-esenale e l'esanale. Nel sistema tradizionale, a 75 min. e 105 min. si è registrato un incremento per l'1-esanolo e il E-2-esen-1-olo, alcoli associati a sensazioni organolettiche sgradevoli.

Riassunto

Nella campagna olearia 2008-09 è stata condotta una sperimentazione per valutare l'influenza di diversi tempi di gramolazione delle paste di olive sulle caratteristiche qualitative ed aromatiche dell'olio di oliva operando in condizioni tradizionali e in atmosfera a ridotto contenuto di ossigeno. Una medesima partita di olive, costituita da una miscela omogenea di "Moraiolo", "Frantoio" e "San Felice", è stata lavorata presso il frantoio sperimentale del CNR-ISAFoM UOS di Perugia variando i tempi di gramolazione (15, 45, 75 e 105 minuti) in condizioni di normale ossigenazione delle paste e saturando la camera di gramolazione con gas inerte (Azoto - N_2). Sulle otto tipologie di oli ottenuti sono stati determinati, secondo i metodi ufficiali di analisi, l'acidità libera, il numero di perossidi e la composizione in acidi grassi. Inoltre è stato misurato il contenuto in sostanze antiossidanti, quali polifenoli ed *orto*-difenoli, e in composti aromatici. Dall'analisi complessiva dei dati è emerso che i due differenti metodi di gramolazione non hanno indotto variazioni significative nei valori di acidità, perossidi e acidi grassi, mostrando sostanzialmente l'assenza di fenomeni degradativi a carico della componente gliceridica degli oli. Nell'ambito delle due tesi (azoto-

tradizionale) l'andamento di questi parametri non è risultato influenzato neanche dalla variazione del tempo di gramolazione. Per quanto riguarda la componente antiossidante, il contenuto in polifenoli ed o-difenoli è risultato maggiore negli oli ottenuti in presenza di azoto, incrementando in funzione del tempo di gramolazione adottato. L' olio ottenuto dalla gramolazione a ridotto contenuto di ossigeno ha mostrato un quantitativo in composti volatili significativamente più basso rispetto agli oli ottenuti dalla gramolazione tradizionale, per ciascun tempo di lavorazione considerato e ciò potrebbe essere spiegato con una minore attività della lipossigenasi causata dal ridotto contenuto di ossigeno nelle paste. La determinazione del quantitativo delle sostanze volatili negli oli sperimentali ottenuti ha evidenziato una diversa distribuzione delle aldeidi e degli alcol in relazione alla variabile tempo In entrambe le sperimentazione con l'aumentare del tempo di gramolazione sono aumentate la E-2-esenale e l'esanale. Nel sistema tradizionale si è inoltre registrato un incremento marcato per l'1-esanolo e il E-2-esen-1-olo per tempi superiori a 45 minuti. Sembrerebbe quindi che la disponibilità di ossigeno nelle paste ed il tempo di gramolazione siano in grado di influenzare sia l'attività di enzimi implicati nella trasformazione/degradazione dei composti fenolici ed aromatici che il verificarsi di fenomeni ossidativi di natura chimica, determinando l'ottenimento di oli con caratteristiche qualitative ed organolettiche differenti a secondo delle condizioni operative adottate.

Parole chiave: olio di oliva, tempo di gramolazione, gramolazione in atmosfera modificata con azoto, qualità, caratteristiche sensoriali.

Bibliografia

SINGLETON V.L., RAUNDOPOULO A., KRAMER S., KRAMER C., 1972. *An analisis of wine to indicate aging in wood or treatment with wood chip or tannic acid.* Am.J.Enol:vatic., 22, 161-166.

MATEOS R., ESPARTERO J.L., TRUJILLO M., RIOS J.J., LEÒN-CAMACHO M., ALCUDIA F., CERT A., 2001. *Destination of phenols,flovone, and lignans in virgin olive oil by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array ultraviolet detection.* J.Agric. Food Chem., 49, 2185-2192.

Variabilità della composizione acidica in oli di oliva di diverse cultivar

Madeo A., Alessandrino M., Ciliberti A., Perri E. e Romano E.
CRA-OLI Centro di Ricerca per l'Olivicoltura e l'Industria Olearia, Rende (CS)

Variability of the acidic composition in olive oils of several cultivars

Abstract. The olive oil, among the alimentary fats, has the acidic composition most balanced concerning salutistic aspect; compared to other qualitative characters, such composition results on average more stable and less affected by the environmental factors; however, being under strict genetic control, it shows a remarkable variability among the different cultivars. In the present work data relating to a large number of varieties, which are present in the CRA-OLI Olive Gene Bank Collection Field of Rende (CS), are reported; the study has regarded the amount of each single fatty acid, the related ratio and, thanks to repeated sampling, their modifications during drupe maturation. The tests were carried out using gas chromatographic analysis (HRGC) and were repeated for a minimum of three years. The results highlight the high oleic acid content found in the cultivars Simona and Ogliarola messinese compared with the very low value found in the cv Corniola; the evolution of the single fatty acids during the maturation has not shown, for the different cultivars, an univocal trend.

Key words: olive oil, fatty acids, quality.

Introduzione

La superiorità qualitativa dell'olio vergine di oliva, rispetto alle altre sostanze grasse alimentari di origine vegetale od animale, ha come elemento fondamentale, seppur non unico, la sua peculiare composizione acidica; questa risulta equilibrata, in particolare sotto l'aspetto salutistico e nutrizionale, grazie alle seguenti caratteristiche: prevalenza degli acidi grassi monoinsaturi, in particolare dell'oleico, resistente all'innesco perossidativo; scarso contenuto in acidi grassi saturi, che possono indurre colesterolemia; limitato ma sufficiente tenore dei poliinsaturi linoleico (ω6) e linolenico (ω3), acidi che, pur essendo essenziali nella dieta in quanto non biosintetizzabili, sono soggetti ai processi di perossidazione lipidica con formazione di radicali liberi (Pannelli e Alfei, 2008).

Anche nell'ambito degli oli di oliva esiste tuttavia una discreta variabilità per la quale i suddetti valori e/o i rapporti tra gruppi di acidi possono discostarsi dai livelli considerati ottimali; la composizione acidica risulta infatti influenzata dalla cultivar, dallo stato di maturazione del frutto alla raccolta e, pur se in misura minore rispetto ad altri caratteri, dalle situazioni pedoclimatiche e colturali e dalla tecnologia di trasformazione (Montedoro *et al.*, 1989; Ripa *et al.*, 2008).

Operando a partire da piante coltivate nello stesso ambiente ed utilizzando identiche tecniche agronomiche e di processo è possibile quindi, avendo ridotto le suddette variabili, attribuire le differenze riscontrate negli oli al genotipo delle cultivar; è quanto si è fatto con la presente indagine per un cospicuo numero di varietà presenti nei Campi Collezione del germoplasma olivicolo del CRA-OLI siti a Mirto (CS); si è cercato inoltre, attraverso campionamenti ripetuti, di valutare l'evoluzione del contenuto dei singoli acidi grassi nelle drupe nel corso della maturazione.

Materiali e metodi

L'ambiente di coltivazione cui questo studio fa riferimento è ubicato sul litorale ionico calabrese (latitudine 39°37' N, longitudine 16°45' E, 6 m slm). Il clima è tipicamente mediterraneo; il terreno, di origine alluvionale, ha giacitura pianeggiante con tessitura franco-sabbiosa; esso risulta alcalino e moderatamente calcareo. Le piante sono allevate a vaso con distanze 6x4. Il campo è dotato di impianto irriguo a microportata. (Madeo *et al.*, 2008).

La ricerca è stata svolta tra il 2005 ed il 2008, nell'ambito delle attività del progetto RIOM, finanziato dal MiPAF. Nel presente lavoro vengono prese in considerazioni 33 cultivar di diversa origine, per le quali è stato possibile un doppio campionamento annuale ripetuto per almeno 3 anni; ciò al fine di mediare la possibile influenza dei differenti andamenti stagionali. Il primo campione di drupe è stato prelevato ogni anno, per ciascuna cultivar, ad uno stadio di parziale pigmentazione superficiale (indice di Jaen tra 2,5 e 3), epoca consigliata da molti autori ai fini della qualità (Pannelli e Montedoro, 1988); il secondo prelievo è stato effettuato ad una distanza di 4-5 settimane dal primo. Ogni campione, del peso di 20 kg, è stato raccolto dalle 4-5 piante di ciascuna cultivar presenti in campo, trasportato in cassetta e lavorato entro 24 h; l'olio è stato estratto tramite un piccolo impianto da laboratorio (Oliomio 50 della Toscana E. Mori di

Tab. 1 - Dati medi delle due epoche di raccolta per i principali acidi grassi.
Tab. 1 - Average values of the two collection period for the masor fatty acids.

Cultivar		Palmitico (C16:0)	Palmitoleico (C16:1)	Stearico (C18:0)	Oleico (C18:1)	Linoleico (C18:2)	Linolenico (C18:3)	*oleico/linoleico*	*polinsaturi/saturi*	*ω6/ω3*
Arbequina	media I ep.	16,62	1,86	1,87	67,24	10,86	0,44	*6,2*	*0,6*	*24,7*
	dev. st. I ep.	1,00	0,04	0,13	2,12	2,13	0,15			
	media II ep.	13,23	1,01	3,10	72,60	8,24	0,68	*8,8*	*0,5*	*12,1*
	dev. st. II ep.	2,18	0,61	1,13	6,04	4,33	0,28			
Borgese	media I ep.	8,55	0,44	2,38	79,82	7,24	0,70	*11,0*	*0,7*	*10,3*
	dev. st. I ep.	0,13	0,04	0,20	1,28	1,37	0,32			
	media II ep.	12,02	0,87	2,34	76,86	6,45	0,62	*11,9*	*0,5*	*10,4*
	dev. st. II ep.	3,18	0,32	0,55	3,13	0,59	0,17			
Canino	media I ep.	15,02	1,51	2,02	71,05	9,03	0,62	*7,9*	*0,6*	*14,5*
	dev. st. I ep.	2,19	0,68	0,39	3,99	2,25	0,19			
	media II ep.	15,13	1,27	2,25	71,72	7,91	0,49	*9,1*	*0,5*	*16,2*
	dev. st. II ep.	1,27	0,23	0,10	2,11	0,86	0,02			
Carolea	media I ep.	15,52	2,00	2,48	72,09	6,32	0,43	*11,4*	*0,4*	*14,6*
	dev. st. I ep.	0,79	0,19	0,22	1,52	1,00	0,24			
	media II ep.	13,32	1,06	2,62	72,99	8,27	0,79	*8,8*	*0,6*	*10,5*
	dev. st. II ep.	1,33	0,63	0,85	0,21	2,74	0,56			
Cassanese	media I ep.	12,92	0,60	2,32	71,89	10,76	0,81	*6,7*	*0,8*	*13,3*
	dev. st. I ep.	0,12	0,07	0,54	1,07	1,32	0,41			
	media II ep.	12,25	0,70	2,09	74,59	8,75	0,96	*8,5*	*0,7*	*9,1*
	dev. st. II ep.	0,86	0,23	0,53	0,47	0,92	0,33			
Cellina di Nardò	media I ep.	14,71	1,55	1,89	69,59	10,80	0,67	*6,4*	*0,7*	*16,2*
	dev. st. I ep.	0,70	0,19	0,10	2,11	1,45	0,15			
	media II ep.	14,44	1,56	2,13	68,64	11,92	0,48	*5,8*	*0,7*	*24,9*
	dev. st. II ep.	1,32	0,27	0,32	3,52	2,59	0,10			
Ciciarello	media I ep.	13,42	1,04	2,45	74,87	6,83	0,46	*11,0*	*0,5*	*14,8*
	dev. st. I ep.	0,42	0,13	0,16	2,11	2,30	0,15			
	media II ep.	13,69	1,19	2,63	72,89	8,23	0,49	*8,9*	*0,5*	*16,6*
	dev. st. II ep.	1,20	0,17	0,21	4,65	3,40	0,21			
Cima di Melfi	media I ep.	14,12	0,93	1,95	70,97	10,48	0,66	*6,8*	*0,7*	*15,9*
	dev. st. I ep.	1,44	0,47	0,20	3,89	2,25	0,20			
	media II ep.	12,61	0,65	2,10	74,41	8,68	0,60	*8,6*	*0,6*	*14,5*
	dev. st. II ep.	1,82	0,29	0,37	3,89	1,52	0,13			
Coratina	media I ep.	12,00	0,67	1,81	76,08	7,97	0,74	*9,5*	*0,6*	*10,8*
	dev. st. I ep.	1,24	0,40	0,30	1,72	1,35	0,14			
	media II ep.	11,74	0,56	2,43	74,63	9,10	0,64	*8,2*	*0,7*	*14,3*
	dev. st. II ep.	2,87	0,27	0,08	4,45	1,36	0,27			
Corniola	media I ep.	21,33	2,97	2,05	53,94	17,93	0,83	*3,0*	*0,8*	*21,7*
	dev. st. I ep.	1,20	0,51	0,20	4,08	2,79	0,12			
	media II ep.	21,61	3,76	2,04	49,21	21,73	0,69	*2,3*	*0,9*	*31,5*
	dev. st. II ep.	0,40	0,90	0,18	4,07	3,14	0,09			
Frantoio	media I ep.	15,11	1,23	1,93	73,41	7,02	0,57	*10,5*	*0,4*	*12,4*
	dev. st. I ep.	0,86	0,34	0,18	2,74	2,27	0,25			
	media II ep.	14,07	1,23	2,09	72,16	8,87	0,50	*8,1*	*0,6*	*17,8*
	dev. st. II ep.	1,12	0,25	0,31	2,28	0,79	0,14			

Cultivar		Palmitico (C16:0)	Palmitoleico (C16:1)	Stearico (C18:0)	Oleico (C18:1)	Linoleico (C18:2)	Linolenico (C18:3)	*oleico/linoleico*	*polinsaturi/saturi*	*ω6/ω3*
Leccino	media I ep.	15,24	1,60	1,81	74,21	5,60	0,64	*13,3*	*0,4*	*8,7*
	dev. st. I ep.	0,62	0,23	0,21	2,28	1,11	0,26			
	media II ep.	15,14	1,62	2,04	73,86	6,09	0,59	*12,1*	*0,4*	*10,3*
	dev. st. II ep.	2,31	0,71	0,10	4,01	0,98	0,34			
Nociara	media I ep.	13,40	1,06	2,48	72,64	8,89	0,65	*8,2*	*0,6*	*13,6*
	dev. st. I ep.	0,30	0,34	0,15	2,15	2,02	0,17			
	media II ep.	12,68	1,10	2,84	72,73	9,03	0,68	*8,1*	*0,6*	*13,2*
	dev. st. II ep.	0,57	0,15	0,17	2,37	2,06	0,21			
Ogliarola barese	media I ep.	15,40	1,79	2,21	70,26	8,82	0,54	*8,0*	*0,5*	*16,2*
	dev. st. I ep.	0,51	0,15	0,17	0,66	0,82	0,14			
	media II ep.	14,40	1,23	2,16	72,28	8,24	0,54	*8,8*	*0,5*	*15,3*
	dev. st. II ep.	0,65	0,17	0,08	1,28	1,68	0,13			
Ogliarola del Vulture	media I ep.	14,99	1,05	3,26	68,20	10,89	0,54	*6,3*	*0,6*	*20,1*
	dev. st. I ep.	0,48	0,09	0,13	2,80	2,03	0,16			
	media II ep.	14,71	1,13	2,76	68,33	11,55	0,59	*5,9*	*0,7*	*19,6*
	dev. st. II ep.	0,65	0,07	0,71	2,10	2,28	0,16			
Ogliarola messinese	media I ep.	11,94	1,00	2,33	79,68	6,14	0,65	*13,0*	*0,5*	*9,5*
	dev. st. I ep.	1,83	0,86	0,49	1,22	3,92	0,22			
	media II ep.	10,17	0,51	2,63	79,76	4,84	0,57	*16,5*	*0,4*	*8,5*
	dev. st. II ep.	0,12	0,02	0,38	0,51	0,02	0,04			
Ogliarola salentina	media I ep.	16,70	2,32	1,78	66,97	10,90	0,52	*6,1*	*0,6*	*20,8*
	dev. st. I ep.	0,87	0,62	0,17	2,44	1,17	0,22			
	media II ep.	14,74	1,82	1,98	68,28	11,82	0,65	*5,8*	*0,7*	*18,3*
	dev. st. II ep.	2,74	1,21	0,41	3,60	1,61	0,13			
Ortice	media I ep.	14,54	0,77	2,94	71,77	8,38	0,51	*8,6*	*0,5*	*16,5*
	dev. st. I ep.	0,11	0,01	0,04	0,66	0,49	0,03			
	media II ep.	12,73	0,60	2,92	71,72	10,45	0,50	*6,9*	*0,7*	*20,8*
	dev. st. II ep.	0,16	0,03	0,14	0,44	0,40	0,07			
Ottobratica	media I ep.	17,46	1,89	2,19	63,43	13,35	0,48	*4,8*	*0,7*	*27,7*
	dev. st. I ep.	0,31	0,19	0,55	0,69	0,71	0,22			
	media II ep.	15,39	1,33	2,64	67,83	11,19	0,44	*6,1*	*0,6*	*25,2*
	dev. st. II ep.	0,36	0,07	0,17	0,13	0,48	0,12			
Peranzana	media I ep.	12,15	0,69	1,75	74,95	8,90	1,04	*8,4*	*0,7*	*8,6*
	dev. st. I ep.	1,44	0,25	0,14	2,77	4,64	0,11			
	media II ep.	11,06	0,53	2,14	79,38	5,31	0,99	*14,9*	*0,5*	*5,4*
	dev. st. II ep.	0,81	0,28	0,05	0,35	0,58	0,15			
Pidicuddara	media I ep.	13,60	1,21	1,98	72,35	8,81	0,55	*8,2*	*0,6*	*16,1*
	dev. st. I ep.	2,14	0,83	0,31	4,07	2,22	0,16			
	media II ep.	11,42	0,65	1,94	75,61	8,53	0,80	*8,9*	*0,7*	*10,6*
	dev. st. II ep.	0,52	0,07	0,31	1,41	0,50	0,17			
Pizz'e carroga	media I ep.	16,90	1,73	2,18	66,19	10,93	0,65	*6,1*	*0,6*	*16,8*
	dev. st. I ep.	0,10	0,15	0,16	0,85	0,58	0,16			
	media II ep.	15,97	1,54	2,39	67,21	11,31	0,78	*5,9*	*0,7*	*14,6*
	dev. st. II ep.	1,08	0,45	0,88	3,76	1,93	0,27			

Cultivar		Palmitico (C16:0)	Palmitoleico (C16:1)	Stearico (C18:0)	Oleico (C18:1)	Linoleico (C18:2)	Linolenico (C18:3)	*oleico/linoleico*	*polinsaturi/saturi*	*ω6/ω3*
Rossanese	media I ep.	16,09	1,77	1,94	68,58	10,15	0,57	*6,8*	*0,6*	*17,8*
	dev. st. I ep.	0,54	0,04	0,25	2,68	1,73	0,16			
	media II ep.	14,18	1,33	2,29	70,97	9,66	0,77	*7,3*	*0,6*	*12,5*
	dev. st. II ep.	2,76	0,82	0,45	4,71	1,24	0,24			
Simona	media I ep.	12,15	1,10	2,89	78,41	3,55	0,59	*22,1*	*0,3*	*6,1*
	dev. st. I ep.	0,39	0,23	0,13	1,38	0,71	0,15			
	media II ep.	11,02	0,95	2,96	80,21	3,36	0,58	*23,9*	*0,3*	*5,8*
	dev. st. II ep.	1,04	0,24	0,24	2,38	0,54	0,13			
Sinopolese	media I ep.	13,70	0,96	2,90	74,67	5,98	0,63	*12,5*	*0,4*	*9,5*
	dev. st. I ep.	1,78	0,30	0,91	1,87	2,31	0,20			
	media II ep.	14,61	1,25	2,53	74,54	5,68	0,52	*13,1*	*0,4*	*10,9*
	dev. st. II ep.	2,16	0,22	0,86	2,03	1,56	0,27			
Taggiasca	media I ep.	15,29	1,32	2,03	69,92	9,96	0,65	*7,0*	*0,6*	*15,3*
	dev. st. I ep.	0,59	0,31	0,56	0,65	0,57	0,41			
	media II ep.	14,19	1,28	2,31	71,72	8,92	0,50	*8,0*	*0,6*	*17,7*
	dev. st. II ep.	0,10	0,18	0,07	2,08	1,68	0,11			
Tonda di Cagliari	media I ep.	16,15	1,59	2,01	62,33	16,18	0,72	*3,9*	*0,9*	*22,6*
	dev. st. I ep.	2,01	0,38	0,25	6,09	3,76	0,12			
	media II ep.	15,06	1,38	2,28	64,00	15,60	0,66	*4,1*	*0,9*	*23,6*
	dev. st. II ep.	1,77	0,24	0,12	6,81	4,51	0,19			
Tonda di Filadelfia	media I ep.	12,06	0,84	1,98	74,86	8,67	0,56	*8,6*	*0,7*	*15,4*
	dev. st. I ep.	0,76	0,05	0,21	1,08	0,54	0,22			
	media II ep.	13,37	1,57	2,13	73,47	7,86	0,55	*9,3*	*0,5*	*14,4*
	dev. st. II ep.	1,31	0,25	0,18	2,64	1,10	0,22			
Tonda di Filogaso	media I ep.	13,46	1,33	2,20	73,88	7,70	0,57	*9,6*	*0,5*	*13,5*
	dev. st. I ep.	1,56	0,41	0,18	4,30	2,39	0,20			
	media II ep.	13,15	1,34	1,94	74,37	7,96	0,56	*9,3*	*0,6*	*14,2*
	dev. st. II ep.	1,56	0,41	0,26	6,08	4,20	0,22			
Tonda di Strongoli	media I ep.	15,11	1,49	1,86	71,54	8,44	0,74	*8,5*	*0,5*	*11,5*
	dev. st. I ep.	1,23	0,41	0,07	6,28	4,96	0,18			
	media II ep.	13,83	1,05	1,91	74,41	7,14	0,81	*10,4*	*0,5*	*8,8*
	dev. st. II ep.	0,67	0,13	0,00	2,31	1,99	0,09			
Tondina	media I ep.	13,56	1,31	1,78	76,45	5,18	0,75	*14,8*	*0,4*	*6,9*
	dev. st. I ep.	0,72	0,33	0,30	3,15	3,65	0,44			
	media II ep.	13,81	1,18	1,65	76,33	5,45	0,82	*14,0*	*0,4*	*6,7*
	dev. st. II ep.	1,41	0,12	0,19	4,69	3,67	0,31			
Toscanina	media I ep.	13,09	0,91	1,75	76,65	6,19	0,66	*12,4*	*0,5*	*9,4*
	dev. st. I ep.	0,65	0,34	0,45	4,97	4,67	0,21			
	media II ep.	12,14	0,91	2,17	78,08	5,33	0,68	*14,7*	*0,4*	*7,8*
	dev. st. II ep.	1,02	0,14	0,56	4,76	3,46	0,11			
Verdello	media I ep.	14,09	0,92	1,88	68,62	12,85	0,74	*5,3*	*0,9*	*17,3*
	dev. st. I ep.	0,32	0,19	0,32	1,15	1,28	0,25			
	media II ep.	13,53	0,91	1,62	69,15	13,38	0,69	*5,2*	*0,9*	*19,5*
	dev. st. II ep.	0,76	0,12	0,14	2,24	1,16	0,18			

Firenze) che utilizza frangitore a martelli, gramolatura di 20 minuti e sistema continuo di centrifugazione a freddo. I campioni di olio ottenuti, prima delle analisi, sono stati conservati al buio in cella a 10°C. La composizione acidica (% dei singoli acidi grassi) è stata ottenuta tramite gascromatografia (HRGC) in accordo con il metodo ufficiale europeo di analisi (Reg. EC 1989/2003).

Risultati e discussione

Nella tabella 1 vengono riportati i dati medi delle due epoche di raccolta per i principali acidi grassi (quelli degli acidi meno importanti sono omessi per brevità).

Riportando come termine di paragone quanto alcuni autori sostengono, risulta che il miglior livello di qualità per un olio di oliva è assicurato da un contenuto in oleico superiore al 73%, un tenore di linoleico inferiore al 10%, un rapporto oleico/linoleico comunque superiore a 7, un rapporto poliinsaturi/saturi non superiore a 1, un rapporto ω6/ω3 inferiore a 10 (Montedoro e Baldioli, 2005).

Dall'analisi dei nostri dati si evidenzia che le migliori performances si sono avute per la Simona e l'Ogliarola messinese con valori eccellenti per tutti i parametri; ben equilibrata risulta anche la composizione acidica di Peranzana, Tondina e Toscanina; un buon tenore di oleico si riscontra nella Borgese e nella Coratina; nettamente squilibrati invece i dati relativi alla Corniola ed alla Tonda di Cagliari.

Per quanto concerne l'evoluzione dei singoli acidi grassi nel corso della maturazione delle drupe, dal confronto dei dati tra la prima e la seconda epoca di raccolta emerge un andamento spesso non univoco tra le cultivar ed in alcuni casi anche per la stessa cultivar tra i diversi anni (dati non riportati). In generale si intravede comunque una tendenza all'aumento dell'oleico ed alla diminuzione del palmitico, anche se gli scarti tra le epoche per molte cultivar non sono così netti da risultare significativi; per questo motivo l'argomento necessita di ulteriore approfondimento.

Conclusioni

Sebbene alcune cultivar manifestino nella composizione acidica degli oli una certa "sensibilità ambientale" per effetto della quale l'espressione fenotipica di questo carattere può essere differente da situazione a situazione (Madeo *et al.*, 2008), per la maggior parte di esse, sotto questo aspetto, la componente genetica è prevalente (Ripa *et al.*, 2008); indagini come questa rappresentano quindi un elemento discriminante utile per la valorizzazione delle cultivar migliori.

Riassunto

L'olio di oliva, tra i grassi alimentari, è quello che presenta la composizione acidica più equilibrata sotto l'aspetto salutistico; tale composizione, rispetto ad altri caratteri qualitativi, risulta mediamente più stabile nei confronti dei fattori ambientali; essa comunque, essendo sotto stretto controllo genetico, mostra una discreta variabilità tra le diverse cultivar. Nel presente lavoro si riportano i dati relativi ad un cospicuo numero di varietà presenti nei Campi Collezione del germoplasma olivicolo del CRA-OLI di Rende (CS); lo studio ha riguardato il tenore dei singoli acidi grassi con i relativi rapporti e, grazie a campionamenti ripetuti, l'evoluzione del loro contenuto nelle drupe nel corso della maturazione. Le analisi sono state effettuate tramite gascromatografia (HRGC) e ripetute per un minimo di tre anni. Nei risultati spiccano l'elevato tenore in acido oleico riscontrato per le cv Simona ed Ogliarola messinese ed il valore alquanto basso della cv Corniola; l'evoluzione dei singoli acidi grassi nel corso della maturazione non ha mostrato, per le diverse cultivar, un andamento univoco.

Parole chiave: olio d'oliva, acidi grassi, qualità.

Bibliografia

MADEO A., PERRI E., ALESSANDRINO M., CILIBERTI A., PARISE A., ROMANO E. 2008. *Comparative Study on the Behavior of Olive Cultivars from Different Origins Cultivated in the same Environment, with Regard to some Important Characteristics of the Olive Oil Produced.* VI° Int. Symp. on Olive Growing, Evora (Portugal).

MONTEDORO G.F., GAROFOLO L., BERTUCCIOLI M., PANNELLI G. 1989. *Influence of the cultivar and pedoclimatic conditions on the virgin olive oil quality*. Flavors and off-flavors '89. Charalambous ed.: 881-891.

MONTEDORO G.F., BALDIOLI M. 2005. *I parametri analitici, strumentali e sensoriali dell'olio vergine di oliva in relazione ai Regg.2568/91 e seguenti, 2081/92 ed alle norme ISO 8402 e 9001.* Atti Corso di aggiornamento "L'estrazione dell'olio d'oliva, etc." Accademia Nazionale dell'Olivo e dell'Olio. Spoleto, Italy 28-31 Oct. p. 3-15.

PANNELLI G., MONTEDORO G.F. 1988. *Scelte varietali, condizioni pedoclimatiche, maturazione del frutto e caratteristiche qualitative dell'olio di oliva.* Atti Convegno "Aspetti fisiologici della cascola, della maturazione, della conservazione e della trasformazione post-raccolta dei frutti". Torino, Italy 3-4 Oct: 99-105.

PANNELLI G., ALFEI B. 2008. *Valore alimentare, identità e peculiarità sensoriali.* Olivo & olio 4: 38-46.

RIPA V., DE ROSE F., CARAVITA M.A., PARISE M.R., PERRI E., ROSATI A., PANDOLFI S., PAOLETTI A., PANNELLI G., PADULA G., GIORDANI E., BELLINI E., BUCCOLIERO A., MENNONE C., 2008. *Qualitative evaluation of olive oil from new olive selections and effects of genotype and environment on oil quality*. Adv. Hort. Sci. 22(2): 95-103.

Caratteristiche qualitative di oli di oliva provenienti da oliveti sottoposti a differenti dosi di acqua salmastra

Benincasa C., Basta P., Ciliberti A., Pellegrini A., Pellegrino M., Romano E. e Perri E.*
CRA-OLI Centro di ricerca per l'Olivicoltura e l'Industria Olearia, Rende (CS)

Quality of olive oils from olive groves subjected to different doses of salt water

Abstract. When the amount of soluble salts present in the soil becomes excessive to the point that the crops are adversely affected, the land is classified as saline. Salinity prevents the growth of plants as it limits their ability to obtain supplies of water, causing nutrient imbalances and inducing toxicity. Olive tree is resistant to salinity, thanks to its ability to adapt by osmosis in saline soil; however, that occurs at the expense of its growth. The present study aimed to test the tolerance to salinity of irrigated olive trees. Moreover, oils produced by plants under observation were analyzed in order to point out possible influences of salinity on their quality.

Key words: salinity, olive oil quality parameters, production efficiency, osmosis.

Introduzione

Tutti i suoli contengono sali la cui quantità dipende dalle condizioni climatiche, morfologiche, pedologiche ed idrologiche del territorio. Quando la quantità di sali solubili (solfati, cloruri e bicarbonati di sodio, potassio, calcio e magnesio) diviene eccessiva, al punto tale che le colture ne risentono negativamente, il terreno viene classificato come salino. L'accumulo di sali nel suolo è un processo tipico degli ambienti dove le precipitazioni non sono sufficienti ad eluirli. In genere il fenomeno si accentua in presenza di falde acquifere poco profonde dalle quali l'acqua, con movimento ascendente, trasporta i sali verso la superficie. Una certa quantità di sali si può accumulare anche in climi moderatamente umidi, nelle depressioni con fondo impermeabile, dove confluiscono le acque provenienti dalle aree circostanti i cui terreni o sedimenti contengono sali. Un tipo di salinità, detta secondaria, è frequente anche nei terreni irrigui. La salinità impedisce la crescita delle piante in quanto limita la loro capacità di rifornirsi di acqua, provoca squilibri nutrizionali e induce fenomeni di tossicità (Lo Cascio, 1993). L'olivo è una delle specie arboree più resistenti alla salinità (Rugini, Fedele 1990), essendo in grado di adeguarsi osmoticamente al terreno salino, anche se ciò avviene a danno del suo sviluppo vegetativo, vista la richiesta addizionale di energia necessaria al processo (Andriani 1993).

Il presente studio ha avuto lo scopo di testare in pieno campo le soglie di tolleranza dell'olivo alla salinità dell'acqua irrigua. Inoltre, sugli oli prodotti dalle piante sotto osservazione nel triennio 2005-2008, sono stati analizzati i maggiori parametri merceologici al fine di segnalare possibili influenze del fenomeno della salinità sulla qualità degli stessi.

Schema Sperimentale

La prova, iniziata il 1992, ha interessato diverse varietà, ma, nella presente ricerca, si concentrerà l'attenzione sulle cultivar Carolea e Coratina. Le tesi messe a confronto sono state: asciutto, irriguo dolce e irriguo con 2% di residuo secco salino (RSS). La sperimentazione si è svolta presso l'azienda De Rosis (Rossano Calabro - CS), a circa 2 km dal mare in una zona tipicamente olivicola su un terreno franco sabbioso con un'alta percentuale di scheletro, con un'ottima capacità di sgrondo di acqua in eccesso e con una capacità idrica di campo intorno al 20%. Data la mancanza di un impianto di irrigazione, la distribuzione dell'acqua irrigua è stata effettuata adottando il sistema "a conca" con turni decadali, da luglio fino alle prime piogge utili autunnali. La quantità media di acqua a pianta è stata di 70 litri nel 1992, di 180 litri nel 2006. Sulle piante sono stati rilevati, mediante cartellinamento dei rametti fruttiferi, i parametri vegeto-produttivi (accrescimenti vegetativi, percentuali di differenziazione a fiori, aborto ovarico, allegagione, cascola e produzione). Al fine di verificare lo stato nutrizionale della piante e per effettuare la diagnostica dei contenuti in azoto, fosforo, potassio, calcio, magnesio e sodio, sono stati effettuati, all'inizio e alla fine di ogni stagione irrigua, prelievi di foglie (IV-V palco) delle tesi condotte in asciutto, in irriguo "dolce" e irriguo con 2% di residuo secco salino.

* enzo.perri@entecra.it

Risultati e discussione

Parte Agronomica

La cv Coratina (di foglia stretta e usata prevalentemente per la produzione di olio) ha reagito molto bene al disegno sperimentale. Infatti, nonostante si fosse osservato un minore sviluppo della pianta sotto l'effetto della salinità crescente testata mediante l'allungamento dei rametti (Basta *et al.*, 1994), ha avuto una alta efficienza produttiva (gr/m^3) (Pannelli, 2004) (tab. 1). La cv Carolea (varietà rigogliosa a foglia larga, a duplice attitudine tipica delle zone collinari), si è dimostrata molto produttiva. Si è osservato che questa varietà, in vaso, è molto sensibile al trattamento con acqua avente un RSS dello 0,9% (Briccoli Bati *et al.*, 1994). Questo, è stato confermato da prove effettuate in pieno campo (Basta *et al.*, 2002). Per quanto riguarda lo stress registrato negli anni 2002-2004 si è osservato la morte di alcune piante irrigate con acque aventi RSS del 2%. In particolare 6 piante appartenenti alla cv Carolea sono morte nella tesi RSS del 2%. Inoltre, nel triennio 2003-2005, si sono verificati dei fortissimi attacchi di *Spilocea oleagium* (occhio di pavone) che ne hanno compromesso seriamente la produzione. Dal confronto dei dati prodotti negli anni 1996-2001 e nel triennio 2002-2004 si è riscontrato un aumento delle produzioni medie per pianta, in conseguenza alla crescita delle piantine, ed un attenuarsi degli effetti della salinità.

Parte Chimico-Analitica

Composizione percentuale in esteri metilici degli acidi grassi. Sugli oli è stata determinata la composizione percentuale degli esteri metilici degli acidi grassi secondo la metodica ufficiale riportata nel Reg. CE 1989/2003. Il profilo degli acidi grassi non ha mostrato una particolare influenza del processo di salinità sul contenuto degli stessi negli oli analizzati. Molte delle caratteristiche nutrizionali dell'olio d'oliva sono dovute all'acido oleico, che svolge un'azione preventiva nei confronti delle patologie cardiovascolari. Per gli oli delle cv Carolea e Coratina coltivati in asciutto, il contenuto percentuale in acido oleico è risultato più elevato nell'annata 2006/2007 mentre è più basso nell'annata 2007/2008. Nella cv Carolea in coltura irrigua "dolce", il contenuto percentuale in acido oleico nel triennio non varia, mentre nella cv Coratina il più alto contenuto percentuale in acido oleico è stato osservato nell'annata 2005/2006. Nel caso del trattamento irriguo con acque aventi RSS del 2%, nel biennio 2005/2007 la cv Carolea presenta il maggior contenuto percentuale in acido oleico, il minore nell'annata 2007/2008 (figg. 1, 2 e 3)

Tab. 1 - Valori medi a pianta triennale (2002-2004).
Tab. 1 - Mean values per plant observed during three years of experimentation (2002-2004).

Cultivar	Tesi	Produzioni (kg)	Volumi (m^3)	Efficienza produttiva
Carolea	Asciutto	12,5	11,0	890
	Irriguo	15,9	10,5	670
	RSS 2%	6,4	7,6	1.180
Coratina	Asciutto	12,0	18,0	1.500
	Irriguo	14,5	23,0	1.580
	RSS 2%	5,4	10,6	1.960

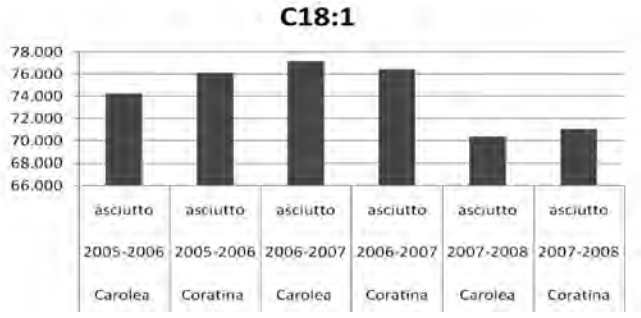


Fig. 1 - Contenuto percentuale in acido oleico nelle cv Carolea e Coratina nel triennio 2005/2008 nella tesi asciutto.
Fig. 1 - Percentage content of oleic acid in Carolea and Coratina cultivars observed in the years 2005/2008. The oils belong to trees not irrigated.

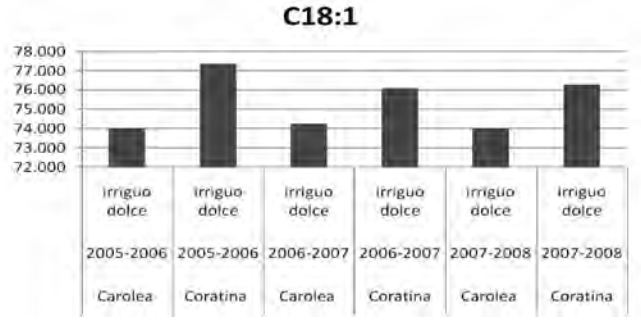


Fig. 2 - Contenuto percentuale in acido oleico nelle cv Carolea e Coratina nel triennio 2005/2008 nella tesi irriguo dolce.
Fig. 2 - Percentage content of oleic acid in Carolea and Coratina cultivars observed in the years 2005/2008. The oils belong to trees irrigated with normal water.

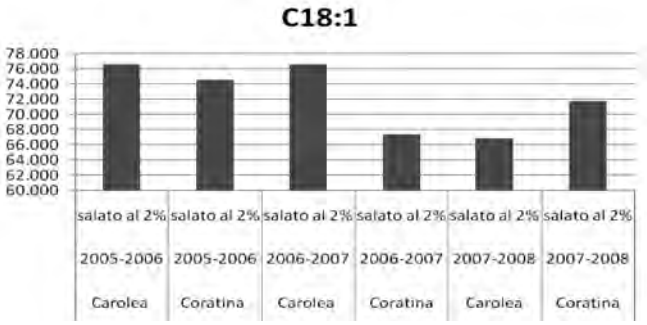


Fig. 3 - Contenuto percentuale in acido oleico nelle cv Carolea e Coratina nel triennio 2005/2008 nella tesi salato al 2% di residuo secco salino.
Fig. 3 - Percentage content of oleic acid in Carolea and Coratina cultivars observed in the years 2005/2008. The oils belong to trees irrigated with salty water.

Gli acidi polinsaturi linoleico e linolenico hanno un significato di più difficile interpretazione nella valutazione del valore nutrizionale degli oli d'oliva, in quanto, se da un lato sono due acidi grassi essenziali per l'organismo umano e sono capaci di abbassare il colesterolo nel sangue, dall'altro rendono l'olio di oliva più vulnerabile alle reazioni di ossidazione, soprattutto nel corso della cottura. Il rapporto acido linolenico/acido linoleico (ω3/ω6) è un altro indice di qualità degli oli di oliva. Il suo valore può essere correlato direttamente alla qualità. Negli oli delle cv Carolea e Coratina ottenuti in "asciutto", il valore maggiore del rapporto ω3/ω6 è stato osservato nell'annata 2007/2008. Nel caso del trattamento per irriguo "dolce", a differenza della cv Carolea dove non si osservano variazioni nel triennio, la cv Coratina presenta un ottimale rapporto ω3/ω6 nell'annata 2005/2006. Nel caso del trattamento per irrigazione con acque aventi RSS del 2%, a differenza della cv Carolea dove non si osservano variazioni nel triennio, la cv Coratina presenta un ottimale rapporto ω3/ω6 nell'annata 2006/2007. Per il biennio 2005/2007, il miglior rapporto ω3/ω6 è stato osservato nella cv Carolea sottoposta ad irrigazione con acque aventi RSS del 2%. Nell'annata 2007/2008 (fig. 4), invece, il miglior rapporto ω3/ω6 è stato osservato per la cv Carolea sottoposta ad irrigazione con acqua di buona qualità (tesi irriguo "dolce").

Un indice di qualità molto importante è considerato il rapporto oleico/linoleico che dovrebbe essere maggiore o uguale a 7. Per i campioni sottoposti a trattamento asciutto il più basso rapporto oleico/linoleico è stato riscontrato nell'annata 2007/2008 pari a 6,6 e 6,8 per la cv Carolea e Coratina rispettivamente. Per i campioni sottoposti a trattamento irriguo "dolce", il più alto rapporto oleico/linoleico è stato riscontrato per la cv Coratina negli anni di carica 2005/2006 e 2007/2008, per la cv Carolea nell'annata 2006/2007. Per i campioni sottoposti a trattamento irriguo salato, la cv Coratina presenta un rapporto

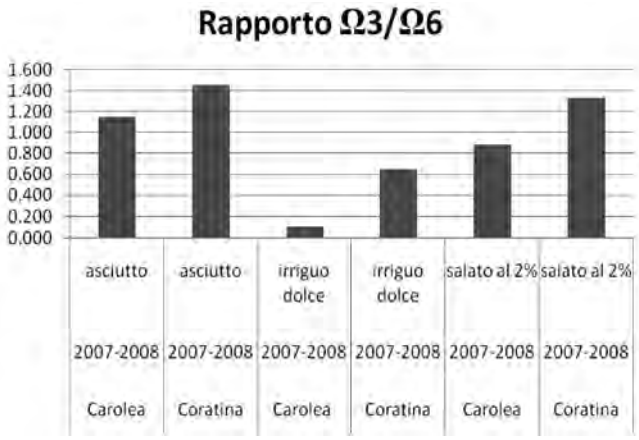


Fig. 4 - Rapporti omega 3/omega6 osservati nelle cv Carolea e Coratina nell'annata 2007/2008.

Fig. 4 - Omega 3/omega6 ratios observed in the oils of Carolea and Coratina cultivars in the year crop 2007/2008.

oleico/linoleico minore di 7 nell'annata 2006/2007, e la cv Carolea nell'annata 2007/2008. Nella tabella 2 sono elencati i valori di qualità dei più importanti parametri merceologici degli oli di oliva. I valori di acidità, di numero di perossidi, delle estinzioni specifiche nell'UV e il risultato dell'analisi sensoriale, non sembrano essere influenzati dal tipo di irrigazione in entrambe le cultivar. Il valore di rancimat sembra essere più elevato nella cv Carolea nella tesi asciutto. Al contrario, questo valore è più elevato nella cv Coratina nella tesi irriguo al 2% di salinità. Per quanto riguarda invece il contenuto in fenoli totali, questi ultimi sono più elevati nella tesi asciutto ed irriguo al 2% di salinità mentre risulta basso nella tesi irriguo dolce in entrambe le cultivar.

Conclusioni

Le somministrazioni di acqua a bassa concentrazione salina non hanno evidenziato particolari influenze negative sui parametri vegeto-produttivi dell'oliveto nei primi anni di impianto (Basta *et al.*, 1994), anche nel prosieguo del lavoro la somministrazione di

Tab. 2 - Valori di acidità, perossidi, rancimat, costanti spettrofotometriche, fenoli totali e panel test degli oli della cv Carolea e Coratina nell'annata 2007/2008 sottoposti alle tre differenti tesi.

Tab. 2 – Acidity, peroxide values, rancimat, spectrophotometric constants, total phenols and panel test relative to the oils of Carolea and Coratina cultivars produced during the year crop 2007/2008. The oils belong to trees treated whit different percentage of salty water.

Cultivar	Tesi	Acidità	Perossidi	Rancimat	K 232	K270	DK	Fenoli Totali	Media Panel Test
Carolea	asciutto	0,25	3,60	17,30	1,85	0,17	-0,01	173,00	7,00
	irriguo dolce	0,28	4,60	9,50	1,86	0,18	-0,01	119,88	7,20
	2%	0,25	3,50	14,80	1,47	0,10	0,00	212,40	6,80
Coratina	asciutto	0,42	4,96	7,90	2,02	0,27	-0,02	385,34	7,00
	irriguo dolce	0,48	3,73	9,90	2,04	0,25	-0,01	280,02	6,95
	2%	0,28	4,21	10,15	1,90	0,24	-0,01	314,04	7,10

acqua irrigua con RSS dell'1% non ha penalizzato in maniera significativa la produttività delle piante. Alla dose del 2% di RSS invece, tutte le cv tranne la Carolea, hanno dato produzioni inferiori con differenze significative rispetto alle altre tesi. L'impiego di acque salmastre con oltre l'1% di RSS non è consigliabile, nemmeno come irrigazione di soccorso, perchè non apporta alcun beneficio produttivo e deprime il normale svolgimento dei processi fisiologici delle piante (Basta *et al.*, 2002). La Carolea risente del trattamento salino al 2% presentando un minore sviluppo vegetativo e una marcata alternanza produttiva. La Coratina, irrigata con acqua dolce, presenta produzioni ottime, produzioni normali con la tesi Asciutto e con la tesi RSS all'1%, mentre con la tesi RSS al 2% mostra anch'essa una elevata alternanza di produzione. Comunque, questa cv è risultata la più resistente alla salinità, presumibilmente per il suo alto contenuto di Ca, K, e Mg nelle foglie (Briccoli Bati *et al.*, 1994; Basta *et al.*, 1994; 2002).

Riassunto

L'elevata concentrazione salina dei suoli impedisce la crescita delle piante in quanto limita la loro capacità di rifornirsi di acqua, provoca squilibri nutrizionali e induce fenomeni di tossicità. L'olivo è una delle specie arboree più resistenti alla salinità essendo in grado di adeguarsi osmoticamente al suolo in cui vive, anche se ciò avviene a danno della crescita, vista la richiesta addizionale di energia necessaria al processo. Il presente studio ha avuto lo scopo di testare in pieno campo le soglie di tolleranza dell'olivo alla salinità dell'acqua irrigua. Sugli oli prodotti dalle piante sotto osservazione nel triennio 2005-2008, sono stati analizzati i maggiori parametri merceologici al fine di segnalare possibili influenze del fenomeno della salinizzazione sulla qualità degli stessi.

Parole chiave: salinità, parametri qualitativi degli oli di olive, efficienza di produzione, osmosi.

Bibliografia

ANDRIANI M.G., MIALI G., BERTOZZO R., 1993. *Risposta all'irrigazione con acque salmastre su olivo cv. Picual, resistente alla salinità*. L' Informatore Agrario, 19: 69-72.

BASTA P., CILIBERTI A., TURCO D., 1994. *Un biennio di osservazioni in un giovane oliveto irrigato con acqua salmastra*. Atti II Giorn. Scient. S.O.I. - S. Benedetto del Tronto: 349-350.

BASTA P., TOSCANO P., CILIBERTI A., TURCO D., 2002. *Osservazioni pluriennali sulla risposta vegeto-produttiva di cinque cv di olivo irrigate con acqua salmastra a differenti concentrazioni*. Atti Convegno internazionale di olivicoltura – Spoleto L'ulivo e l'olio: 235-240.

BRICCOLI-BATI C., BASTA P., TOCCI C., TURCO D., 1994. *Influenza dell'irrigazione con acqua salmastra su giovani piante di olivo*. Olivae, 53: 35-38.

LO CASCIO B, 1993. *La salinità delle acque di irrigazione*. Agricoltura e Innovazione, 26/27: 94-103.

PANNELLI G., 2004. *Stress salino l'olivo risponde*. Olivo e Olio, 1: 19-22.

RUGINI A, FEDELE E., 1990. *Olive (*Olea europea *L.) as an oilseed crop.* In Biotechnology in agriculture and forestry. Legumes and oilseed cropos. Ed. Y.P.S. Bajaj. Springer Verlag. (Berlin), 10: 593-641.

Evoluzione del processo di molitura dall'antichità ad oggi

Soprano M.[1*], Patrizio S.[2], Russo M.[2], Zambardino S.[2] e Cattaneo A.[3]
[1]CNR - ISAFOM, Ercolano (NA)
[2]CNR - IBAF, Napoli
[3]Agronomo/Libero professionista

Evolution of the grinding process from the past

Abstract. The technique of pressing of the olives is very old, dating from the Neolithic period in which the hunter-gatherer humans had discovered its therapeutic food and managed to extract the oil by rubbing stones. The first evidence on the extraction of olive oil are of the first millennium before Christ and be found on amphorae of the museums of Haifa (Israel) and Heraklion (Crete) where scenes of beating and pressing presses rudimentary. In later centuries the wooden presses is passed to the presses in stone that had spread in the Mediterranean region and used until a few centuries ago. Today, oil extraction systems are extremely industry.

Key words: olive tree, techniques, extraction, antiquity; modernity.

La molitura nell'antichità

L'arte di molire le olive è antica come l'uso dell'olio che da esse si ricava. L'uomo, sia esso palestinese o cirenaico, fenicio o greco, latino o sabino, ha dovuto nell'antichità fare i conti con le tecnologie primitive che gli permettevano di estrarre nel modo migliore il liquido dorato che avrebbe fatto la felicità dei consumatori e la ricchezza dei popoli grandi produttori di olio.

Contemporaneamente alla diffusione dell'ulivo si sviluppò la tecnica per estrarre l'olio. Testimonianze e resti archeologici si trovano un po' dovunque nei paesi che si affacciano sul mediterraneo.

Particolare menzione merita il ritrovamento fatto in Isralele, a Tel Mique Akron, non lontano da Tel Aviv (1000 a.C.circa) di un enorme impianto per la lavorazione delle olive con quasi 100 presse e macine progettate dai Filistei, esso risulta essere uno dei più eccezionali complessi industriali dell'antichità.

In questa centrale venivano macerate le olive mediante pietre tondeggianti, mentre sulle due pietre laterali, venivano accatastati fiscoli riempiti di pasta oleosa e, susseguentemente pressati da travi-torchio incastrate nella parete.

Ma anche a Creta, sono stati trovati mortai in pietra e piccole primitive presse, frammenti vari e i resti di un torchio. Presse sono state scoperte a Cnosso ed altri centri archeologici che hanno dimostrato l'esistenza di due metodi diversi per l'estrazione dell'olio: il primo mediante lo schiacciamento delle olive su pietra piana e quindi lo sgocciolamento in vasi rotondi di pietra; il secondo mediante il pestaggio in vaso, quindi la torchiatura su lastra in pietra donde l'olio scivolava in una cunetta di scarico e da qui, in un vaso di raccolta. Sin dall'età classica, (V secolo a.C.) vi erano due procedimenti: macinare e pressare le olive. Le olive venivano macinate a mano in piccoli mortai e vasi fittili come quelli rinvenuti nel deposito del palazzo di Phaitos a Creta. Schiacciate con pietre rotonde, le olive venivano poi torchiate da massi colonniformi che rotolavano sulla pasta.

In seguito, venne utilizzato il mulino. Il mitico Aristeo, figlio di Cirene e Apollo, venne ritenuto il leggendario inventore di questo strumento. Plinio, distingue diversi tipi di macine e dà la preferenza alla mola, rispetto al trapetum ed al canalis et solea.

La mola olearia è composta da una base rotonda e fissa, nel centro è incastrato il braccio di una macina a ruota che gira intorno al suo asse. La macina è fissata all'asse in modo che la sommità sia mobile; ciò era molto importante affinché i noccioli delle olive non venissero schiacciati e non danneggiassero l'olio. A Boscoreale nel Comune Vesuviano sono trovati resti di un antico mulino di olio d'oliva chiamato trapetum.

Il trapetum è composto da una grossa pila in pietra o mortaio in cui, attorno ad un piccolo asse verticale, girano due macine semisferiche. Anche nel trapetum vi era un dispositivo per evitare di schiacciare i noccioli delle olive, esso veniva azionato, come nel caso della mola olearia, dall'uomo. Il canalis et solea è costituita da un macigno o una grande base perimetrata da solchi circolari.

Lavorazione moderna

Esistono al giorno d'oggi, diverse tecniche di molitura effettuate con macchine sempre più comples-

* m.soprano@isafom.cnr.it

Fig. 1 - Asino che gira una *mola.*
Fig. 1 - Donkey moving e rubbing stone.

Fig. 2 - Trapeta Boscoreale: macina catoniana (trapetum) integrata nelle sue parti lignee, che consiste in un grosso mortarium in lava vesuviana in cui girano due orbes a calotta sferica mobili e sospese su un'asta in legno (cupa), bloccata in un perno in ferro (columella ferrea) nel mezzo del miliarium. (Per gentile concessione della Soprintendenza Archeologica di Pompei).
Fig. 2 - Ancient millston found in Pompei area.

Fig. 3 - *Molazza* a 1 ruota della Domus Laeta, Giungano.
Fig. 3 - "Molazza" found in Domus Laeta.

Fig. 4 - *Molazza* a 4 ruote della Coop. Nuovo Cilento, San Mauro Cilento.
Fig. 4 - Modern "Molazza" with four weels.

se e rispondenti alle esigenze del prodotto che deve mantenere, quanto più possibile, le caratteristiche organolettiche potenziali del prodotto di base.

I sistemi di lavorazione oggi più comuni negli oleifici , messi a confronto tra di loro, presentano pregi e difetti, e i risultati più che dalle macchine, dipendono dal modo in cui essi vengono usati.

Frangitura e *gramolazione* sono le operazioni che portano ad ottenere la pasta di oliva che sarà sottoposta alla spremitura vera e propria. Frangere vuol dire rompere: in questa fase infatti la polpa e i noccioli delle olive vengono lacerati attraverso un energico trattamento, eseguito con la *molazza* o con i più moderni e rapidi *frangitori* a martelli o a dischi.

Da questa prima fase si ottiene una massa ancora grossolana composta di polpa sminuzzata e di frammenti di nocciolo, che svolgono funzione drenante, facilitando la separazione della parte liquida della pasta da quella solida. La pasta così ottenuta viene sottoposta ad un lento rimescolamento nelle *gramole*, in modo da rompere le emulsioni acqua-olio formatesi durante la frangitura, riunendo le goccioline di olio in gocce sempre più grandi e più facilmente separabili.

Si procede quindi alla fase dell'estrazione, che porta alla separazione delle tre componenti della pasta, ossia *sansa, acqua* ed *olio*.

Esistono tre metodi diversi:

- l'estrazione *per pressione meccanica*, il sistema tradizionale, dove la pasta viene posta su dischi, i fiscoli, che vengono impilati sotto la pressa che fa fuoriuscire la componente liquida oleosa. La parte solida che resta è la sansa;
- 2) il metodo *continuo per centrifugazione*, permette la separazione dell'olio dalla parte solida in un decanter, con l'uscita di sansa e di una o due parti liquide; successivamente nella centrifuga verticale si separa l'olio dall'acqua;
- il metodo *per percolazione*, sfrutta la diversa ten-

Fig. 5 - Frangitore a martelli dell'Az. Agr. Olivicola Severini, Casal Velino.
Fig. 5 - Olive press of Az. Agr. Severini

Fig. 6 - Gramola della Coop. Agr. Olivicoltori, Campagna.
Fig. 6 - Malaxation of Olivicolture Cooperative.

sione superficiale dell'olio rispetto all'acqua grazie al meccanismo della coalescenza mediante l'immersione continua di lamine di metallo nella pasta di olive, viene raccolto il liquido che aderisce al metallo. Con questo sistema si estrae circa due terzi dell'olio contenuto nella pasta; la parte residua viene separata in un decanter. Successivamente si opera la *separazione* tra olio,

Fig. 7 - Decanter della Coop. Agr. Olivicoltori, Campagna.
Fig. 7 - Decanter of Olivicolture Cooperative.

Fig. 8 - Centrifuga della Coop. Nuovo Cilento, San Mauro Cilento.
Fig. 8 - Centrifuge of Nuovo Cilento Cooperative.

residui di acqua e solidi in una centrifuga. verticale. L'olio viene quindi *filtrato e conservato* in opportuni serbatoi di acciaio, per mantenerne più a lungo le proprietà.

Il nemico dell'olio è il calore, se si osservano però scrupolosamente alcune regole base della lavorazione tradizionale si può ottenere un olio di qualità superiore.

L'olio *chiarificato* si ritiene tale quando è completamente privo di residui di morchia e di acque di vegetazione. Non sempre esso risulta limpido, trasparente o brillante, può avere un aspetto opaco, leggermente velato o comunque di colorazione ambrata ed essere ugualmente un olio "finito" e di grande valore organolettico e commerciale.

Gli oli freschi, fruttati, ottenuti da olive sane e nel rispetto delle temperature di lavorazione, sono generalmente ambrati e velati e con un grado di acidità molto basso (0,3/0,5°) mentre oli di elevata acidità

oleica e di qualità inferiore si possono presentare limpidi, brillanti e trasparenti. Essa, deve essere eseguita alla perfezione per ottenere un olio privo di residui dannosi (morchia e acqua di vegetazione) che potrebbero deteriorare le caratteristiche organolettiche dell'olio.

La filtrazione finale sottrae all'olio alcune caratteristiche di pregio attenuandone l'aroma, la fragranza e il gusto, restituendo un olio delicato, trasparente e lucente.

Riassunto

La tecnica della molitura delle olive è molto antica e risale al neolitico in cui l'uomo raccoglitore-cacciatore aveva scoperto le virtù terapeutiche ed alimentari dell'olio che riusciva ad estrarre mediante lo sfregamento di pietre. Le prime testimonianze sull'estrazione dell'olio di oliva sono del primo millennio avanti cristo e sono riportate su anfore dei musei di Haifa (Israele) ed Heraclion (Creta) dove sono rappresentate scene di bacchiatura e molitura con presse rudimentali. Nei secoli successivi dalle presse in legno si è passati alle presse in pietra che erano diffuse nella regione mediterranea ed utilizzate fino a pochi secoli fa. Oggi i sistemi di estrazione dell'olio sono estremamente industriali.

Parole chiave: olivo, tecniche, estrazione, antichità, modernità.

Sitografia:

WWW.ARCIASINO.ORG
WWW.OLEIFICIOCOOPMONOPOLI.IT/STORIA/STORIA_2.HTM
WWW.ANAPOO.IT/HTML/STORIA_DELL_OLIVO.HTM
WWW.TERRADIOLIVI.IT/
HTTP://LEONARDODAVINCI.CSA.FI.IT/OSSERVATORIO/OLIO/PAGINE/PAGINA3/LAVORAZIONI.HTM
WWW.OLIVEOIL.ORG/ITA/CONOSCERE3.ASP
WWW.RIETI2000.IT/R2K/DOVE/OLIVO/DOC/5.HTM

Qualità e tipicità dell'olio vergine d'oliva monovarietale della cultivar locale "Nociara"

D'Andrea L.[1] e Liuzzi V.[2]
[1] *CRA - SCA Unità di ricerca per i sistemi colturali degli ambienti caldo-aridi, Bari*
[2] *Dipartimento PRO.GE.S.A., Sezione di Tecnologia dei Prodotti Agro-Alimentari, Università di Bari*

Quality and typicality of olive virgin monocultivar oil of "Nociara" local cultivar

Abstract. In this research work, the qualitative characteristics of olive oil on the cultivar "Nociara" were evaluated, to know more this local cultivar, that is present in a narrow geographic area of the Apulia. In recent years, several studies have demostrated that geographic origin of olive oil can be revealed from chemical components. The drupes of the cultivar were picked up in three farms of Bari Province and were processed by an extraction continuous system by three-phase centrifugation. The oils obtained were analysed for the indices of quality (acidity, peroxide index, K_{232} and K_{270}) and for the parameters of typicality (composition of fatty acids, sterols, and triglycerides). The results showed that the indices of quality of the oils were lower after 3 months from the extraction compared to values after 15 months, whereas the parameters of typicality did not show differences among farms. In conclusion, the absence of trans-fatty acids and the low content of tri-olein, can be useful to the characterization of olive oil of the cultivar local "Nociara", that shows a good composition.

Key words: local cultivar, indices of quality, parameters of typicality.

Introduzione

Valutare la qualità di un olio extra vergine di oliva è cosa complessa poichè è determinata da diversi aspetti: merceologici, nutrizionali, organolettici (Montedoro e Servili, 1992). Gli aspetti merceologici dell'olio di oliva sono definiti dal Regolamento CEE N. 2568/91 e successive modifiche apportate con il decreto N. 1513/2001 del 23 luglio 2001. Gli aspetti nutrizionali dipendono da acidi grassi cis (monoinsaturi, polinsaturi, rapporto insaturi/saturi), acidi grassi trans, posizione monoinsaturo nel gliceride, vitamine liposolubili A, E, D, K, antiossidanti (vitamina E ed A, carotenoidi, composizione orto-di-fenolici), stabilità all'ossidazione. Gli aspetti organolettici sono principalmente rappresentati da aldeidi C5-C6 insature, alcoli C6 insaturi e C5 saturi, esteri (acetati), terpenoli, derivati dei secoiridoidi (oleouropeina), distribuzione acidi grassi, rapporti acido oleico/saturi, analisi sensoriali. Inoltre ci sono altri fattori che condizionano le caratteristiche qualitative di un olio di oliva come per esempio la varietà (30%), grado di maturazione (20%), sistemi di molitura (15%), tecniche di estrazione e conservazione dell'olio (15%), modi e tempi di conservazione delle drupe (10%), metodi di raccolta (5%), mezzi di trasporto (5%). È usuale definire la qualità di un olio di oliva con quattro parametri: acidità, numero di perossidi, spettrofotometria U.V., caratteristiche organolettiche.

Per l'olio extra vergine di oliva, oltre al soddisfacimento dei suddetti parametri, è fondamentale definire la tipicità, che è il risultato dell'interazione dei fattori naturali, quali le caratteristiche pedo-climatiche e le tecniche agronomiche (irrigazione, concimazione, ecc.), con i sistemi tecnologici di un'area geografica ben delimitata. Essa è riportata nei disciplinari di produzione degli oli a "Denominazione di Origine Protetta" (D.O.P.) (Legge n. 169 del 05/02/1992; D.M. n. 573 del 04/11/1993; Regolamento CEE N. 356/92). La tipicità potrebbe essere uno strumento molto importante per la salvaguardia delle produzioni di particolare pregio, in quanto consente la rintracciabilità oggettiva della provenienza dell'olio extra vergine di oliva.

Gli indici di qualità e tipicità degli oli monovarietali sono regolamentati nei limiti, per il massimo o il minimo di ciascun parametro, dalla CEE come riportato in tabella 1.

Al fine di studiare la qualità e la tipicità di una cultivar circoscritta in una piccola area limitata, si è eseguita la ricerca qui riportata, per ampliare la conoscenza della composizione dell'olio monovarietale.

Lo studio si è basato sulla cultivar locale "Nociara", il cui nome deriva da un paese, 'Noci', che si trova a sud-est, in provincia di Bari (Godini *et al.*, 2002). Essa è poco coltivata in Puglia, la si trova principalmente nel comune di Noci e nelle province di Bari, Brindisi e Taranto. Ultimamente sta riscuotendo interesse per la buona produzione e perché produce un olio dal sapore dolce con aroma di fruttato.

Tab. 1 - Limiti, massimo o minimo, degli indici di qualità e tipicità degli oli monovarietali, secondo il Regolamento CEE.
Tab. 1 - Maximum or minimum limits of quality and typically indices of monovarietal oils, according the CEE Regulation.

Indici Analitici	Limite CEE
Parametri di qualità	
Acidità libera (acido oleico g/100g)	max 1%
Numero di perossidi (meq O_2/kg)	max 20
Estinzione specifica	K_{232} max 2.40
	K_{270} max 0.20
Parametri di tipicità	
Acidi grassi (%)	C18:1 min 65.0
	C18:2 max 12.0
	C18:3 max 0.9
Trigliceridi (%)	LLL max 0.5
Steroli (%)	Campesterolo max 4.00

Materiali e metodi

Campionamento

Le olive della cultivar "Nociara", sono state raccolte a mano durante la campagna agraria 2003-2004, presso tre aziende (A-B-C) nell'agro di Monopoli (BA), nella prima decade di dicembre, al momento della piena maturazione.

Le olive sono state poste in casse di plastica e conferite allo stesso frantoio, sito nella zona, dove la trasformazione è stata eseguita entro 48 ore utilizzando un sistema continuo con centrifugazione a tre fasi.

Dall'olio prodotto, posto in contenitori di acciaio, sono stati prelevati quattro campioni di olio per azienda, stoccati in bottiglia di vetro scuro da un litro e conservati al riparo dalla luce in ambiente non termostatato.

Analisi degli olii

Su tutti i campioni sono stati definiti i seguenti indici di qualità:

- l'acidità organica libera, è stata determinata secondo il metodo NGD C-10-76;
- il numero di perossidi, è stato determinato secondo il metodo NGD C-35-76;
- l'assorbimento nell'U.V., specifico a 232 nm (K_{232}) e a 270 nm (K_{270}), è stato determinato secondo il metodo NGD C-40-76;

Le analisi sono state eseguite dopo tre e quindici mesi dall'estrazione dell'olio.

Per la tipicità, sono state eseguite le seguenti determinazioni analitiche:

- la composizione dei trigliceridi, è stata determinata mediante HPLC nelle condizioni analitiche previste dal Reg. CEE 2568/91;
- la composizione degli acidi grassi, è stata determinata secondo il metodo NGD C-84-76;
- la composizione degli steroli e del contenuto assoluto in steroli, è stata determinata secondo il metodo NGD C-74-76 e C-71-1986.

Le analisi sono state eseguite solo dopo tre mesi dall'estrazione dell'olio.

Risultati e discussione

Gli indici di qualità (l'acidità, il numero di perossidi e la spettrofotometria U.V.), (tab. 2), mostrano a 3 mesi, valori inferiori ai limiti massimi del regolamento CEE, mentre dopo 15 mesi dall'estrazione dell'olio, i valori sono più alti rispetto ai valori a 3 mesi.

La composizione dei trigliceridi (tab. 3) degli oli analizzati, non evidenzia differenze significative tra le aziende, ad eccezione della trioleina (OOO), che varia da 36,3% a 39,5%. Inoltre, la percentuale di trilinoleina (LLL) pari a 0,1%, è risultata inferiore al limite massimo stabilito dal regolamento CEE pari a 0,5 % per gli oli extra.

La composizione degli acidi grassi (tab. 4) non mostra differenze significative tra le aziende. L'acido oleico (C18:1) è presente con un contenuto medio pari a 73,2%, superiore rispetto al minimo di legge (min 65%). L'acido linoleico (C18:2) ha fatto registrare un valore medio pari al 9,1% rientrando nei limiti della CEE (max 12 %). L'acido linolenico (C18:3) è mediamente pari allo 0,7%, inferiore a quello stabilito dal regolamento CEE (max 0,9 %).

Tab. 2 - Caratteristiche analitiche dell'olio.
Tab. 2 - Analitycal characteristics of oil.

Aziende	Acidità (%)		Numero di perossidi (meq 0_2/kg)		K_{232}		K_{270}	
	a 3 mesi	a 15 mesi	a 3 mesi	a 15 mesi	a 3 mesi	a 15 mesi	a 3 mesi	a 15 mesi
A	0.23	0.40	12.80	21.10	1.44	1.85	0.09	0.11
B	0.27	0.41	10.50	18.60	1.59	1.94	0.11	0.13
C	0.24	0.39	12.30	19.70	1.65	1.98	0.13	0.17
media	0.25	0.40	11.87	19.80	1.56	1.92	0.11	0.17

Tab. 3 - Composizione dei trigliceridi.
Tab. 3 - Composition of triglycerids.

Trigliceridi (%)	Aziende			Medie
	A	B	C	
LLL	0.1	0.1	0.1	0.1
OLLn	0.4	0.3	0.3	0.3
PLLn	0.1	0.1	0.1	0.1
PPOLn	0.2	0.2	0.1	0.1
OLLn	2.1	2.0	2.1	2.1
OLLL+POOL	1.5	1.2	1.6	1.4
PLLn	0.6	0.6	0.7	0.6
POLn	0.7	0.5	0.6	0.6
EeOL	tr	tr	tr	tr
OOL	13.4	13.2	13.4	13.3
PoOO	1.9	1.5	1.7	1.7
POLn	6.2	6.3	6.8	6.4
PoPO	0.7	0.7	0.8	0.8
PPL	0.5	0.4	0.5	0.5
OOO	38.1	39.5	36.3	38.0
PPO+SOL	25.2	25.5	26.9	25.9
PPO	3.3	2.9	3.0	3.1
GaOO	0.4	0.4	0.4	0.4
GaOP	0.0	0.0	0.0	0.0
SOO	3.0	3.2	3.2	3.1
PSO	0.9	0.8	0.8	0.8
AOO	0.5	0.4	0.5	0.4
SSO	0.2	0.2	0.2	0.2

La composizione degli steroli (tab. 5), non evidenzia differenze significative tra le aziende. Essa rientra nei limiti previsti dal regolamento CEE per gli oli extra e prevede per il campesterolo il limite max 4,00 %, infatti i campioni osservati hanno fatto registrare i valori al di sotto di tale limite, con una media pari a 3,1%. Gli steroli totali sono risultati in media pari a 160,5 mg/100g. Il contenuto di eritrodiolo è oscillato da 0,8 % a 1,2 mg/100g, mentre il contenuto di uvaolo è rimasto invariato con una media pari a 0,2 mg/100g.

Conclusioni

Le caratteristiche composizionali del prodotto di pregio finito dipendono da quelle della materia prima in maniera decisiva e inoltre gioca un ruolo importante il grado di maturazione delle drupe. Esse devono essere raccolte con l'invaiatura al 50% massimo, per ottenere oli di qualità superiore con un buon contenuto in polifenoli totali ed in particolare con un numero di perossidi relativamente basso.

In conclusione, la ricerca ha evidenziato che alcuni indici analitici come l'assenza di acidi grassi trans e il basso contenuto di trioleina, possono essere ritenuti utili per caratterizzare l'olio vergine d'oliva monovarietale della cultivar locale "Nociara", che complessivamente è costituito da una buona composizione.

Tab. 4 - Composizione degli acidi grassi.
Tab. 4 - Fatty acid composition.

Acidi grassi (%)	Aziende			Medie
	A	B	C	
C 16:0 acido palmitico	12.8	12.6	12.7	12.7
C 16:1 acido palmitoleico	1.3	1.6	1.4	1.4
C 17:0 acido margarico	tr	tr	tr	tr
C 17:1 acido eptadecenoico	0.1	0.1	0.1	0.1
C 18:0 acido stearico	2.2	1.9	2.1	2.1
C 18:1 acido oleico	73.1	72.9	73.7	73.2
C 18:2 acido linoleico	9.4	9.2	8.7	9.1
C 18:3 acido linolenico	0.7	0.7	0.8	0.7
C 20:0 acido arachico	0.3	0.3	0.3	0.3
C 20:1 acido eicosenoico	tr	tr	tr	tr
C 22:0 acido behenico	0.1	0.1	0.1	0.1
C 24:0 acido lignocerico	tr	tr	tr	tr
somma saturi	15.4	14.9	15.2	15.2
somma insaturi	84.6	84.5	84.7	84.6
rapporto: insaturi / saturi	5.5	5.7	5.6	5.6
somma monoinsaturi	74.5	74.6	75.2	74.8
somma polinsaturi	10.1	9.9	9.5	9.8
rapporto: monoinsaturi / polinsaturi	7.4	7.5	7.9	7.6
rapporto: C18:1/C18:2	7.8	7.9	8.5	8.1

Tab. 5 - Composizione degli steroli.
Tab. 5 - Sterol composition.

Steroli (%)	Aziende			Medie
	A	B	C	
Colesterolo	0.1	0.1	0.1	0.1
Brassicasterolo	0.4	0.2	0.1	0.2
2,4-metilencolesterolo	0.1	0.1	0.1	0.1
Campeterolo	3.3	3.2	2.9	3.1
Campestanolo	0.4	0.3	0.3	0.3
Stigmasterolo	0.9	0.8	0.8	0.8
Clerosterolo (1)	0.9	0.6	0.8	0.8
b-sitosterolo (2)	81.8	82.3	83.0	82.4
sitosterolo (3)	1.0	1.0	1.1	1.0
D 5-avenasterolo (4)	10.5	10.8	10.3	10.5
D 5,24-stigmadienolo (5)	0.2	0.2	0.2	0.2
D 7-stigmastenolo	0.1	0.1	0.1	0.1
D 7-avenasterolo	0.3	0.3	0.2	0.3
b-sitosterolo totale [somma di (1)+(2)+(3)+(4)+(5)]	94.4	94.9	95.4	94.9
Steroli totali (mg/100g)	162.6	158.3	160.7	160.5
Eritrodiolo (mg/100g)	0.9	1.2	0.8	1.0
Uvaolo (mg/100g)	0.1	0.2	0.2	0.2
Eritrodiolo + uvaolo (%)	0.6	0.5	0.5	0.5

Riassunto

In questa ricerca, le caratteristiche qualitative dell'olio di oliva della cultivar "Nociara" sono state valutate al fine di conoscere meglio questa cultivar locale, che è presente in una piccola area geografica della Puglia. Negli anni recenti, alcuni studi hanno dimostrato che l'origine geografica dell'olio di oliva può essere rilevata dai componenti chimici. Le drupe della cultivar sono state raccolte in tre aziende della Provincia di Bari e sono state sottoposte al sistema di estrazione continuo con centrifugazione a tre fasi. I campioni di olio ottenuti sono stati analizzati per gli indici di qualità (acidità, numero di perossidi, K_{232}, K_{270}), e per i parametri di tipicità (composizione degli acidi grassi, dei trigliceridi e degli steroli). I risultati mostrarono che gli indici di qualità degli olii erano più bassi dopo 3 mesi dalle estrazione confrontati con i valori dopo 15 mesi, mentre i parametri di tipicità non mostrarono differenze tra le aziende. In conclusione, l'assenza degli acidi grassi trans e il basso contenuto di trioleina, possono esssere utilizzati per caratterizzare l'olio di oliva della cultivar locale "Nociara", che mostra una buona composizione.

Parole chiave: cultivar locale, indici di qualità, parametri di tipicità.

Bibliografia

D.M. del 29 settembre 1998 – GURI n. 250 del 26 ottobre 1998 – Iscrizione nel "Registro delle denominazioni di origine protette e delle indicazioni geografiche protette" ai sensi del Reg. CE n. 1263/96.

D.M. n. 573 del 04/11/1993, "Riconoscimento della Denominazione di Origine Controllata degli oli di oliva vergini ed extra vergini". G.U. n. 3 del 05/01/1994.

Godini A., Mariani R., Pacifico A., Palasciano M., 2002. *Repeatedly reported but hitherto undescribed olive cultivars native to Southern Italy*. Acta Horticulturae, n. 586: 201-204.

Legge n. 169 del 05/02/1992, "Disciplina per il riconoscimento della Denominazione di Origine Controllata degli oli di oliva vergini ed extravergini". G.U. n. 49 del 28/02/1992.

Montedoro G.F., Servili M., 1992. *I parametri di qualità dell'olio di oliva ed i fattori agronomici e tecnologici che li condizionano*. Riv. Ital. Sostanze Grasse, 69: 563-573.

Norme Grassi e Derivati, Metodo NGD C10-1976, Ed. Stazione Sperimentale per le Industrie degli Oli e dei Grassi, Milano.

Norme Grassi e Derivati, Metodo NGD C35-1976, Ed. Stazione Sperimentale per le Industrie degli Oli e dei Grassi, Milano.

Norme Grassi e Derivati, Metodo NGD C40-1976, Ed. Stazione Sperimentale per le Industrie degli Oli e dei Grassi, Milano.

Norme Grassi e Derivati, Metodo NGD C71-1986, Ed. Stazione Sperimentale per le Industrie degli Oli e dei Grassi, Milano.

Norme Grassi e Derivati, Metodo NGD C74-76, Ed. Stazione Sperimentale per le Industrie degli Oli e dei Grassi, Milano.

Norme Grassi e Derivati, Metodo NGD C84-76, Ed. Stazione Sperimentale per le Industrie degli Oli e dei Grassi, Milano.

Regolamento CEE N. 1513/2001 del Consiglio dell'Unione Europea del 23 luglio 2001.

Regolamento CEE N. 2568/91. Gazzetta Ufficiale della comunità Europea, N. L. 248 del 5 settembre 1991.

Regolamento CEE N. 356/92. Gazzetta Ufficiale della comunità Europea, N. L. 39 del 15 febbraio 1992.

Influenza del sistema di estrazione sulle caratteristiche qualitative dell'olio di oliva DOP "Collina di Brindisi"

D'Andrea L.[1*], Liuzzi V.[2] e Russo G.[3]
[1] *CRA - SCA Unità di ricerca per i sistemi colturali degli ambienti caldo-aridi, Bari*
[2] *Dipartimento PRO.GE.S.A., Sezione di Tecnologia dei Prodotti Agro-Alimentari, Università di Bari*
[3] *Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali, Sezione Coltivazioni Arboree, Università di Bari*

Effect of extraction system on qualitative characteristics of olive oil DOP "Collina di Brindisi"

Abstract. In the present study, the indices of quality (acidity, peroxide index, K_{232}, K_{270}) and the parameters of typicality (composition of fatty acids, sterols, phenols, triglycerides) were determined on olive oil of four cultivars (Coratina, Cima di Melfi, Ogliarola Salentina e Leccino), belong to olive oil DOP "Collina di Brindisi". The drupes of cultivars were processed by two extraction systems (percolation traditional system by pressing and continuous system by three-phase centrifugation) to evaluate the effect of extraction system on olive oil qualitative characteristics. The results showed that the analytical parameter values were better in the oils obtained by the centrifugal system, whereas the parameters of oil composition did not show differences between processing systems, but only among cultivars.

Key words: cultivar, extraction system, qualitative characteristics.

Introduzione

Il riconoscimento delle denominazione di origine controllata degli oli vergini (Legge n. 169 del 05/02/1992; D.M. n. 573 del 04/11/1993; Regolamento CEE N. 356/92) è di fondamentale importanza sul piano merceologico e per la protezione degli oli di alta qualità, perché attraverso la definizione di parametri chimici composizionali caratterizzanti vi è maggiore tutela delle produzioni di qualità e del consumatore.

Tra gli oli a denominazione di origine controllata, vi è l'olio DOP "Collina di Brindisi", il cui disciplinare di produzione stabilisce che concorrono alla realizzazione per il 70% la varietà "Ogliarola Salentina" e per il 30% altre varietà tra le quali: Cellina di Nardò, Coratina, Frantoio, Leccino, Cima di Melfi e Picholine, tutte ricadenti nell'area di coltivazione tra l'alto-piano delle Murge e la pianura Messapica, interessando le province di Brindisi e di Lecce (D.M. del 29 settembre 1998). Inoltre, le caratteristiche organolettiche dell'olio DOP "Collina di Brindisi" all'atto dell'immissione al consumo devono corrispondere a quelle definite dal disciplinare e precisamente: colore: dal verde al giallo; odore: di fruttato medio; sapore: di fruttato con leggera percezione di piccante e amaro.

L'olio monovarietale di oliva di alcune cultivar appartenenti al DOP "Collina di Brindisi", è stato lo studio della ricerca riportato in questo lavoro allo scopo di: a) ampliare le conoscenze sulle caratteristiche di qualità e tipicità dell'olio ottenuto dalle principali cultivar della DOP "Collina di Brindisi"; b) confrontare due sistemi di estrazione (tradizionale a pressione e centrifugo a tre fasi) per valutare l'influenza sulla qualità dell'olio; c) verificare il livello tecnologico attuale della filiera se sia compatibile per la produzione di oli vergini con le caratteristiche simili a quelle stabilite dai disciplinari di produzione; d) valutare l'influenza dei polifenoli sul preservare le proprietà organolettiche e nutrizionali.

Materiali e metodi

Le olive di quattro cultivar (Coratina, Cima di Melfi, Ogliarola Salentina e Leccino), sono state raccolte a mano nell'ultima decade di dicembre, al momento della maturazione. Tutte le cultivar erano coltivate in aziende della provincia di Brindisi, ricadenti nella zona di produzione dell'olio DOP "Collina di Brindisi.

Le olive sono state poste in casse di plastica e conferite al frantoio, dove la trasformazione è stata eseguita entro le 48 ore e sono state molite con 2 sistemi di estrazione:

- sistema continuo con centrifugazione a tre fasi (S-C3F);
- sistema tradizionale per percolamento a pressione (S-PER).

Dall'olio prodotto, posto in contenitori di acciaio, sono stati prelevati sei campioni di olio per azienda, stoccati in bottiglia di vetro scuro da un litro e conser-

* laura.dandrea@libero.it; vitoa.liuzzi@agr.uniba.it; girolamo.russo@agr.uniba.it

vati al riparo dalla luce in ambiente non termostatato.

Le analisi degli oli sono state determinate secondo i metodi ufficiali ed in particolare: l'acidità (NGD C-10-76), il numero di perossidi (NGD C-35-76), l'assorbimento nell'U.V. specifico a 232 nm (K_{232}) e a 270 nm (K_{270}) (NGD C-40-76), la composizione degli acidi grassi (NGD C-84-76), la composizione degli steroli e del contenuto assoluto in steroli (NGD C-74-76 e C-71-1986), mentre la composizione dei polifenoli, è stata determinata per HPLC, secondo la metodica che prevede l'estrazione e la separazione della fase metanolica arricchita di polifenoli e la successiva analisi alla HPLC utilizzando una colonna Waters Nova-Pak, fase mobile A e B con un opportuno gradiente di diluizione.

Le determinazioni degli indici di qualità (acidità, numero dei perossidi e spettrofotomentria UV) sono state eseguite nel tempo, dopo tre e quindici mesi dall'estrazione dell'olio, mentre i parametri di tipicità (composizione degli acidi grassi, dei trigliceridi, degli steroli e dei polifenoli) solo dopo tre mesi.

Risultati e discussione

In tabella 1 sono riportate le principali caratteristiche qualitative dell'olio, i cui valori sono risultati inferiori ai limiti massimi sia del regolamento CEE sia del Disciplinare DOP. Gli indici di qualità (l'acidità, il numero di perossidi e la spettrofotometria U.V.), determinati nel tempo, dopo 15 mesi dall'estrazione dell'olio, hanno fatto registrare valori più sostenuti rispetto ai valori a 3 mesi. Inoltre i dati numerici sono risultati più elevati nel S-PER rispetto al S-C3F.

La composizione degli acidi grassi (tab. 2) non ha mostrato differenze significative tra i sistemi di estrazione, ma solo tra le cultivar. L'acido oleico (C18:1) ha fatto registrare un contenuto medio pari a 72,8 % superiore sia rispetto al minimo di legge (min 65%), sia del disciplinare DOP (min 70%). L'acido linoleico (C18:2) ha fatto registrare un valore medio pari al 10,2 % rientrando nei limiti sia della CEE (max 12%) sia del disciplinare DOP (max 12%). L'acido linolenico (C18:3) è mediamente pari allo 0,75 %, inferiore sia a quello stabilito dal regolamento CEE (max 0,9%) sia del disciplinare DOP (max 0,8%).

La composizione degli steroli (tab. 3), non evidenzia differenze significative tra i sistemi di estrazione, e per tutte le cultivar studiate. Essa rientra nei limiti previsti dal regolamento CEE per gli oli extra e prevede per il campesterolo il limite max 4%; infatti i campioni osservati hanno fatto registrare i valori al di sotto di tale limite, con una media pari a 2,8%. Gli steroli totali sono risultati in media pari a 151,8 mg/100g. La somma di eritrodiolo e di uvaolo è oscillata da 0,5 % a 1,4 %.

La composizione dei trigliceridi (tab. 4) degli oli analizzati, non evidenzia differenze significative tra i sistemi di estrazione, e i valori sono molto simili tra le cultivar, ad eccezione della trioleina (OOO), che è oscillata da 38% della Ogliarola Salentina a 45% della

Tab. 1 - Caratteristiche analitiche dell'olio.
Tab. 1 - Analitycal characteristics of oil.

Sistema di estrazione	Varietà	Acidità (%)		N. di Perossidi (meq O_2/kg)		K_{232}		K_{270}	
		3 mesi	15 mesi	3 mesi	15 mesi	3 mesi	15 mesi	3 mesi	15 mesi
S-C3F	Coratina	0.25	0.40	10.10	23.20	1.74	1.91	0.12	0.17
S-C3F	Cima di Melfi	0.10	0.44	6.30	8.40	1.45	1.54	0.12	0.14
S-C3F	Ogliarola Salentina	0.42	'.50	15.00	24.10	1.75	1.78	0.15	0.18
S-C3F	Leccino	0.27	0.41	12.10	18.40	1.77	2.00	0.09	0.13
S-PER	Coratina	0.27	0.42	10.30	24.00	1.86	1.97	0.16	0.18
S-PER	Cima di Melfi	0.16	0.34	12.30	14.80	1.53	1.63	0.17	0.19
S-PER	Ogliarola Salentina	0.51	0.55	18.20	24.70	1.85	2.00	0.16	0.19
S-PER	Leccino	0.33	0.44	14.50	20.40	1.92	2.00	0.12	0.16
media delle varietà									
	Coratina	0.26	0.41	10.20	23.60	1.80	1.94	0.14	0.18
	Cima di Melfi	0.13	0.39	9.30	11.60	1.49	1.59	0.15	0.17
	Ogliarola Salentina	0.47	0.53	16.60	24.40	1.80	1.89	0.16	0.19
	Leccino	0.30	0.43	13.30	19.40	1.85	2.00	0.11	0.15
media del sistema di estrazione									
	S-C3F	0.26	0.44	10.88	18.53	1.68	1.81	0.12	0.16
	S-PER	0.32	0.44	13.83	20.98	1.79	1.90	0.15	0.18
media complessiva		0.29	0.44	12.35	19.75	1.73	1.85	0.14	0.17

Tab. 2 - Composizione degli acidi grassi.
Tab. 2 - Fatty acid composition.

Acidi grassi (%)	Varietà			
	Coratina	Cima di Melfi	Ogliarola Salentina	Leccino
C 16:0 acido palmitico	11.8	10.7	14.9	13.1
C 16:1 acido palmitoleico	1.0	0.5	2.0	1.5
C 17:0 acido margarico	tr	tr	tr	tr
C 17:1 acido eptadecenoico	0.1	0.1	0.1	0.1
C 18:0 acido stearico	2.1	1.8	2.0	1.9
C 18:1 acido oleico	74.2	76.8	69.0	71.3
C 18:2 acido linoleico	9.9	8.9	10.9	10.9
C 18:3 acido linolenico	0.7	0.7	0.8	0.8
C 20:0 acido arachico	0.3	0.4	0.3	0.3
C 20:1 acido eicosenoico	tr	tr	tr	0.1
C 22:0 acido behenico	0.1	0.1	tr	tr
C 24:0 acido lignocerico	tr	tr	tr	tr
somma saturi	14.3	13.0	17.2	15.3
somma insaturi	85.9	87.0	82.8	84.7
rapporto: insaturi / saturi	6.0	6.7	4.8	5.5
somma monoinsaturi	75.3	77.4	71.1	73.0
somma polinsaturi	10.6	9.6	11.7	11.t
rapporto: monoinsaturi / polinsaturi	7.1	8.1	6.1	6.2
rapporto: C18:1/C18:2	7.5	8.6	6.3	6.5

Tab. 3 - Composizione degli steroli.
Tab. 3 - Sterol composition.

Steroli (%)	Varietà			
	Coratina	Cima di Melfi	Ogliarola Salentina	Leccino
Colesterolo	0.2	tr	0.1	0.2
Brassicasterolo	0.2	0.2	0.1	0.2
2,4-metilencolesterolo	0.1	0.1	0.1	0.1
Campeterolo	3.2	2.4	3.0	2.5
Campestanolo	0.2	0.4	0.3	0.4
Stigmasterolo	1.1	0.7	0.7	1.2
Clerosterolo (1)	0.8	0.8	0.t	0.9
b-sitosterolo (2)	86.3	89.3	86.3	84.8
sitosterolo (3)	0.9	1.2	0.6	0,7
D 5-avenasterolo (4)	6.3	4.4	7.3	7.9
D 5,24-stigmadienolo (5)	0.2	0.1	0.3	0.3
D 7-stigmastenolo	0.1	0.2	0.3	0.3
D 7-avenasterolo	0.4	0.2	0.3	0.5
b-sitosterolo totale [somma di (1)+(2)+(3)+(4)+(5)]	95,5	95.8	95.2	94.6
Steroli totali (mg/100g)	173	126.0	159.2	149.1
Eritrodiolo (mg/100g)	1.9	1.6	1.1	0.9
Uvaolo (mg/100g)	0.2	0.8	0.1	0.0
Eritrodiolo + uvaolo (%)	1.2	1.4	0.7	0.5

Tab. 4 - Composizione dei trigliceridi.
Tab. 4 - Composition of triglycerides.

Varietà	Trigliceridi (%)																					
	LLL	OLLn	PLLn	PPOLn	OLL	OOLn+POOL	PLL	POLn	EeOL	OOL	PoOO	POL	PoPO	PPL	OOO	PPO+SOL	PPO	GaOO	GaOP	SOO	PSO	AOO	SSO
Coratina	0,1	0,3	0.1	0.1	2.5	1.4	0.6	0.6	tr	15.6	0.0	6.6	0.5	0.6	40.4	22.5	2.8	0.4	0.0	3.6	0.8	0.5	0.2
Cima di Melfi	0.1	0,3	0.1	0.2	2.1	1.2	0.5	0.5	tr	14.9	0.0	6.0	0.6	0.0	45.2	20.8	2.2	0.6	0.0	3.5	0.7	0.5	0.2
Ogliarola Salentina	0.1	0.3	0.1	0.1	2.7	1.2	0.7	0.6	0.1	14.5	1.9	7.0	0.8	0.6	38.0	23.3	2.9	0.3	0.0	3.3	0.8	0.5	0.2
Leccino	0.0	0.3	0.1	0.1	1.8	1.3	0.6	0.7	0.1	13.1	1.8	6.4	0.8	0.6	39.4	24.2	3.3	0.4	0.0	3.7	0.9	0.4	0.2
media	0,1	0.3	0.1	0.1	2.2	1.3	0.6	0.6	0.1	14.5	0.9	6.5	0.7	0.5	40.7	22.7	2.8	0.4	0.0	3.5	0.8	0.5	0.2

Nota: P=Palmitico; Po=Palmitoleico; S=Stearico; L=Linoleico; Ln=Linolenico; O=Oleico; Ec=Eicosenoico

Cima di Melfi. Inoltre la percentuale di trilinoleina (LLL), ha fatto registrare valori inferiori al limite massimo stabilito dal regolamento CEE pari a 0,5% per gli oli extra, con una media pari a 0,1%.

Il contemuto dei polifenoli (fig. 1), mostra differenze sia tra le varietà, in cui la Coratina mostra i valori più alti (128,5 ppm di acido gallico) rispetto alle altre (in media 67,8 ppm di acido gallico), sia tra i sitemi di estrazione, in cui il S-PER (92,8 ppm di acido gallico) ha valori più elevati rispetto al S-C3F (73,3 ppm di acido gallico).

La composizione dei polifenoli (fig. 2), evidenzia un contenuto medio di idrossitirosolo (0,5 ppm) minore di quello in tirosolo (1,3 ppm).

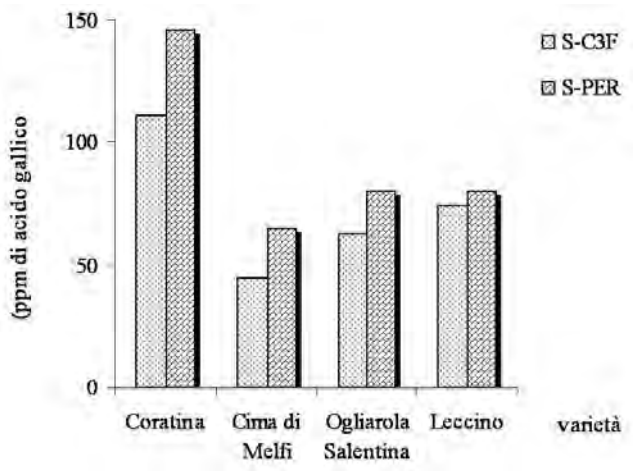


Fig. 1 - Contenuto dei polifenoli totali.
Fig. 1 - Total polyphenoli content.

Conclusioni

In conclusione, l'olio ottenuto dalle quattro cultivar, prodotto in Puglia nella zona di Brindisi, risulta essere di equilibrata composizione chimica, i cui limiti rientrano in quelli dell'olio extra vergine di oliva definiti dal regolamento CEE N. 356/92 e dal disciplinare di produzione dell'olio DOP "Collina di Brindisi". Inoltre, l'assenza di acidi grassi trans e il basso contenuto di trioleina potrebbero essere utilizzati per la tracciabilità chimica di un olio d'oliva vergine monovarietale di una cultivar.

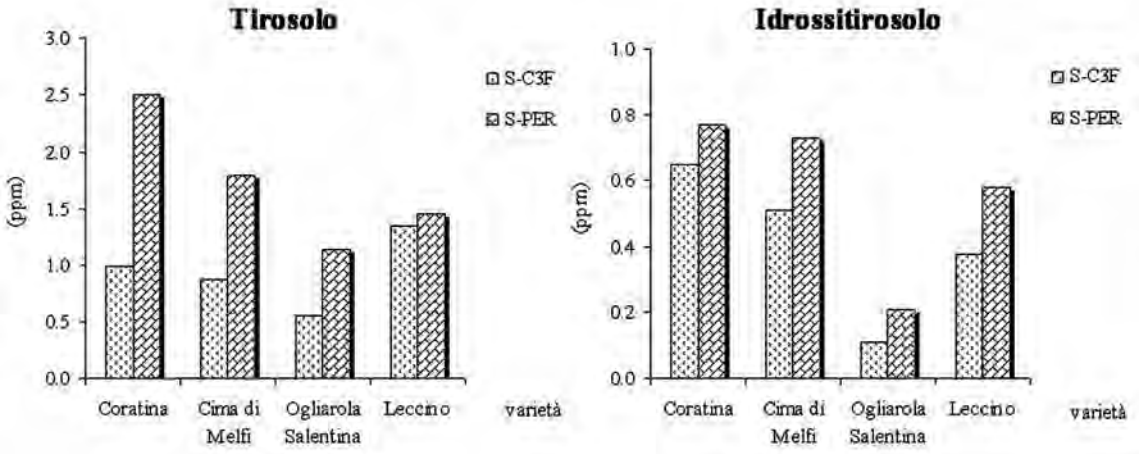


Fig. 2 - Composizione polifenolica.
Fig. 2 - Polyphenolic composition.

Questa ricerca ha evidenziato differenze composizionali fra le varietà, che portano ad un sapore dell'olio complessivamente pregevole e armonico e ad equilibrate sensazioni gustative.

Il confronto dei due sistemi di estrazione (S-PER e S-C3F) ha evidenziato valori più bassi nel sistema centrifugo a tre fasi, ciò lo indica come il sistema estrattivo più appropriato per ottenere un prodotto di pregio al livello organolettico e avere una conservabilità commerciale più lunga nel tempo.

Riassunto

In questo studio, sono stati determinati gli indici di qualità (acidità, numero di perossidi, K_{232}, K_{270}), e i parametri di tipicità (composizione degli acidi grassi, dei trigliceridi, degli steroli e dei polifenoli) dell'olio monovarietale di oliva di 4 varietà (Coratina, Cima di Melfi, Ogliarola Salentina e Leccino) appartenenti all'olio DOP "Collina di Brindisi". Le drupe delle cultivar sono state sottoposte a due sistemi di estrazione (sistema tradizionale per percolamento a pressione e sistema continuo con centrifugazione a tre fasi), al fine di valutare l'influenza tecnologica sulle caratteristiche qualitative dell'olio. I dati ottenuti mostrano che i valori degli indici di qualità sono migliori nell'olio ottenuto con il sistema centrifugo, mentre i parametri della composizione dell'olio non hanno mostrato differenze tra i sistemi di estrazione, ma solo tra le cultivar.

Parole chiave: cultivar, sistema di estrazione, caratteristiche chimiche.

Bibliografia

D.M. del 29/09/1998. Iscrizione nel "Registro delle Denominazioni di Origine Protetta e delle indicazioni geografiche protette" ai sensi del Reg. CE 1263/96, GURI, 250 del 26 ottobre 1998.

D.M. n. 573 del 04/11/1993, "Riconoscimento della Denominazione di Origine Controllata degli oli di oliva vergini ed extra vergini". G.U. n. 3 del 05/01/1994.

Legge n. 169 del 05/02/1992, "Disciplina per il riconoscimento della Denominazione di Origine Controllata degli oli di oliva vergini ed extravergini". G.U. n. 49 del 28/02/1992.

Norme Grassi e Derivati, Metodo NGD, 1976 - C10, C35, C40, C74, C84, Ed. Stazione Sperimentale per le Industrie degli Oli e dei Grassi, Milano.

Norme Grassi e Derivati, Metodo NGD, 1986 - C71, Ed. Stazione Sperimentale per le Industrie degli Oli e dei Grassi, Milano.

Regolamento CEE N. 356/92. Gazzetta Ufficiale della comunità Europea, N. L. 39 del 15 febbraio 1992.

Acta Italus Hortus 1: 325-328

Spettroscopia NMR e qualità-tipicità degli oli extravergini di oliva

Paduano A.[1], Ambrosino M.L.[2], Randazzo A.[3] e Sacchi R.[1*]
[1]*Dipartimento di Scienza degli Alimenti, Università di Napoli "Federico II"*
[2] *ASA Analisti Sensoriali Associati, Napoli*
[3] *Dipartimento di Chimica delle Sostanze Naturali, Università di Napoli "Federico II"*

NMR spectroscopy and extra virgin olive oil quality/ typical

Abstract. The olive oil quality is the result of many factors: environmental, agronomic, crop and technology. Consequently, there are many variables that must be taken into account in a careful statistical evaluation of the quality and typicality of the oils based on their chemical composition and / or sensory descriptors. Starting from research conducted in recent years with the use of high field nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR), ultra high resolution NMR analysis was performed on some oil samples using a spectrometer with a triple resonance cold-probe. The study, developed directly on the oil as such, had as its purpose the development of a rapid method for comprehensive analysis of minor compounds (phenolic substances and volatile compounds) by optimizing the mixture of deuterated solvents for simultaneous solubilization and detection of minor compounds with different polarity (aldehydes and phenolic compounds) in the oil. On these oils the sensory profile, the analysis of the volatile fraction and phenolic was also determined. The data obtained were subjected to multivariate statistical analysis (PCA, PLS). By NMR aldehydes and phenolic compounds, related to the fruit and the bitter-spicy taste, can be detected and quantified. Also by a first statistical evaluation performed on NMR data, phenolic composition and volatile compounds (alcohols, terpenes, aldehydes, ketones, esters, aromatic hydrocarbons, saturated and unsaturated), is possible to observe how the NMR signals are well correlated with phenolic and volatile compounds

Key words: NMR, olive oil, volatile compounds, phenolic compounds.

Introduzione

La qualità di un olio di oliva è il risultato di molti fattori che si possono raggruppare in quattro gruppi principali: ambientale (terreno, clima), agronomico (irrigazione, fertilizzazione), coltivazione (epoca di raccolta, maturazione) e fattori tecnologici (post raccolta, stoccaggio e sistema di estrazione). Di conseguenza, molte sono le variabili che devono essere prese in considerazione per una attenta valutazione statistica della qualità e tipicità degli oli basata sulla loro composizione chimica e/o descrittori sensoriali. Negli ultimi anni una crescente attenzione è stata rivolta alle metodiche di analisi capaci di verificare in modo oggettivo la qualità e l'origine geografica e varietale dell'olio extra vergine di oliva.

Le tecniche spettroscopiche di risonanza magnetica nucleare (NMR) sono state ampiamente utilizzate nello studio dei prodotti alimentari, e l'NMR protonico ad alto campo è risultato essere una tecnica efficace nell'analisi di composti a basso peso molecolare presenti in prodotti alimentari liquidi. Lo sviluppo di cryo-probes combinati a magneti ad alto campo (700-800 MHz) apre nuove possibilità di rilevare e quantificare composti minori di oli e grassi direttamente sul campione senza alcun trattamento preliminare o concentrazione (Alberti *et al.,* 2002; Aursand e Alexon, 2001; Mannina *et al.,* 2003; Sobolev *et al.,* 2003; Lachenmeier *et al.,* 2005). Dalle sue prime applicazioni nell'analisi degli oli di oliva (Sacchi *et al.,* 1989) la spettroscopia NMR ha trovato negli ultimi anni una crescente applicazione sia per la definizione della genuinità degli oli vergini di oliva che per l'accertamento della loro qualità (Sacchi *et al.,* 1997). Partendo da studi svolti negli ultimi anni, è stata effettuata un'analisi NMR ultra high resolution sull'olio tal quale, nel tentativo di mettere a punto di un metodo rapido di analisi comprensiva dei composti minori (sostanze fenoliche e volatili) ottimizzando la miscela di solventi deuterati in modo da consentire la solubilizzazione e la rilevazione simultanea di componenti minori a diversa polarità (aldeidi correlate al sentore "fruttato", livello di componenti fenolici secoridoidi e lignani correlati alla qualità sensoriale ed alle proprietà antiossidanti) presenti nell'olio. Dall'analisi NMR le aldeidi ed i composti fenolici, correlati al fruttato ed al gusto amaro-piccante, possono essere rilevati e quantificati direttamente nell'olio. Inoltre dalla valutazione statistica effettuata sui dati NMR, composizione fenolica e principali famiglie dei composti volatili (alcoli, terpeni, aldeidi, chetoni, esteri,

* sacchi@unina.it

idrocarburi aromatici, saturi ed insaturi), è stato possibile osservare come i segnali NMR presentino una buona correlazione con i composti fenolici e volatili.

Materiali e metodi

La ricerca è stato condotta utilizzando oli biologici campani campionati nell'ambito del Premio EXTRA-BIO 2008. L'analisi NMR protonica è stata effettuata utilizzando uno spettrometro Varian Unity INOVA 700 MHz (Facoltà di Farmacia, Università di Napoli Federico II) con *cold-probe* a tripla risonanza. Su tali oli è stato, inoltre, definito il profilo sensoriale a cura degli Analisti Sensoriali Associati (ASA), ed effettuata l'analisi SPME-GC/MS della frazione volatile e HLPC-DAD della frazione fenolica. I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistiche multivariate (PCA, PLS) utilizzando il software XlSTAT (version 2007.1, Addinsoft, France).

Risultati e discussione

In figura 1 si riporta un esempio della zona a basso campo degli spettri NMR dei campioni di olio extravergine. La figura mostra la regione a basso campo di spettri ottenuti su 8 oli extra vergini di oliva con differente profilo sensoriale, in cui direttamente dall'analisi NMR le aldeidi ed i composti fenolici, correlati al fruttato ed al gusto amaro-piccante, possono essere detectati ed assegnati (tab. 1).

Dalla Analisi delle Componenti Principali (PCA) effettuata sui dati NMR, composizione fenolica e principali famiglie dei composti volatili (alcoli, terpeni, aldeidi, chetoni, esteri, idrocarburi aromatici, saturi ed insaturi), è possibile osservare come i segnali NMR presentino una buona correlazione con i composti fenolici e volatili (fig. 2). In particolare i segnali 1, 3, 6, A, 9 e 10 risultano positivamente correlati con i composti fenolici.

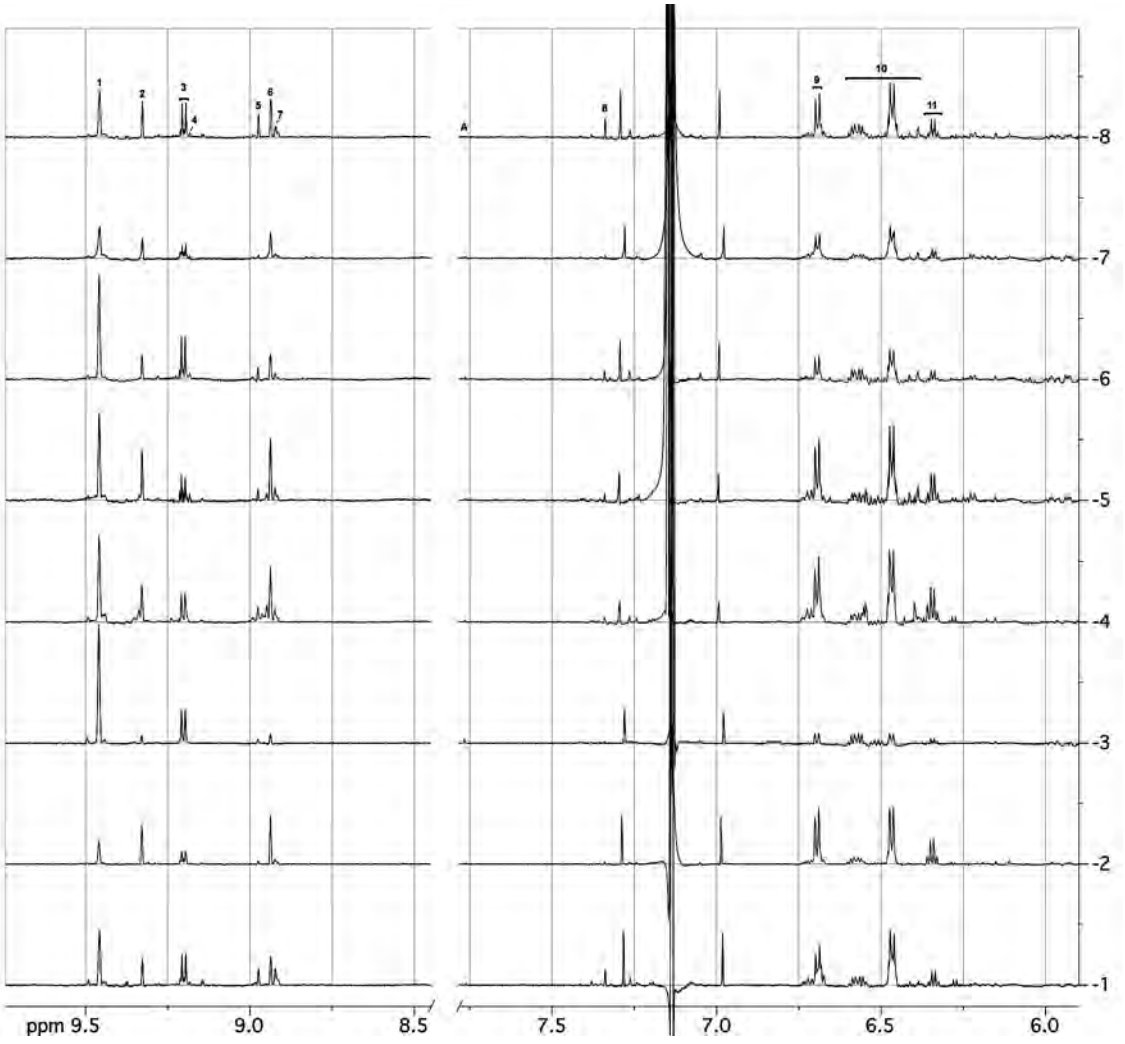


Fig. 1 - Regione a basso campo degli spettri HR (700 MHz) di alcuni campioni di olio con differente profilo sensoriale.
Fig. 1 - HR-NMR low field region spectra (700 MHz) of some oil samples with different sensory profile.

Tab. 1 - *Chemical shifts* dei composti minori identificati negli oli extravergini di oliva mediante spettroscopia HR ^{1}H NMR (700 MHz).
Tab. 1 - Chemical shifts of minor compounds identified in extra virgin olive oils by 1H HR-NMR spectroscopy (700 MHz).

Peak	Chemical shifts (ppm)	Identification	References
1	9.54	*n*-alkanals	Sacchi *et al.*, 1996, 1998
2	9.49	Dialdehydic form of oleuropein and ligstroside	Dais and Christophoridou, 2008
3	9.33-9.32	*n*-2-alkenals	Sacchi *et al.*, 1996, 1998
4	9.30	n.i.	-
5	9.10	*cis*-3 esenale	simulation
6	9.06	Dialdehydic form of oleuropein and ligstroside	Dais and Christophoridou, 2008
7	9.04	Dialdehydic form (?)	-
8	7.46	Aldehydic form of oleuropein / ligstroside	Dais and Christophoridou, 2008
A	9.95	n.i.	-
9	6.82-6.81	total tyrosol	Dais and Christophoridou, 2008
10	6.70-6.58	Piroresinol - 1 - Acetoxypiroresinol	Dais and Christophoridou, 2008
11	6.47-6.46	total hydroxytyrosol	Dais and Christophoridou, 2008

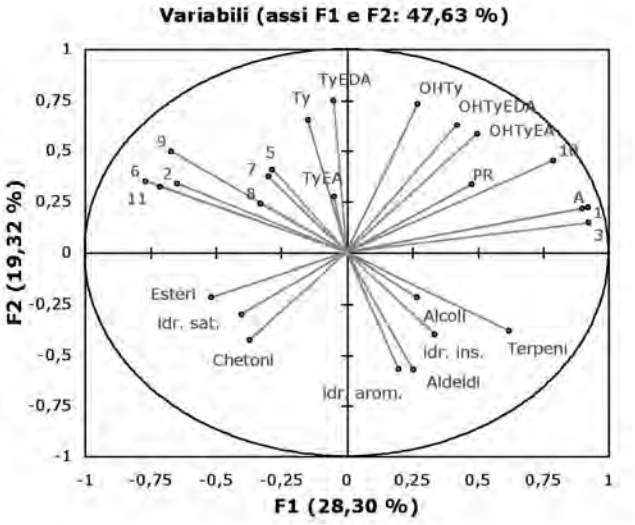


Fig. 2 - *Loading plot* relativo alla Analisi delle Componenti Principali (PCA) effettuata sui dati NMR (1-11), composizione fenolica HPLC e composti volatili SPME (alcoli, terpeni, aldeidi, chetoni, esteri, idrocarburi aromatici, saturi ed insaturi).
Fig. 2 - PCA (Loading Plot) performed on NMR (1-11), HPLC (phenolic compounds) and SPME (alcohols, terpenes, aldehydes, ketones, esters, saturated and unsaturated aromatic hydrocarbons) data

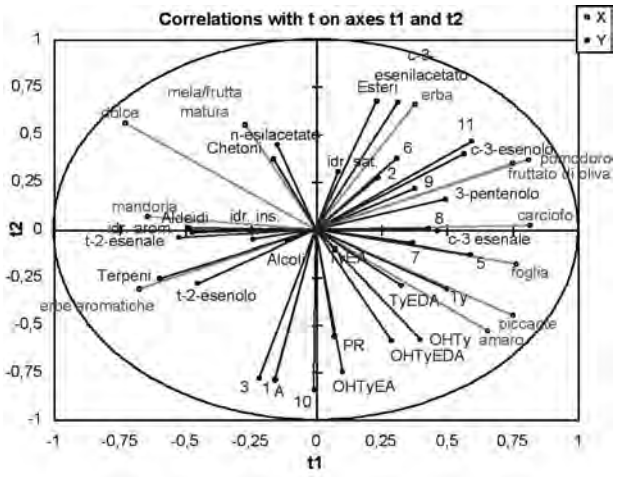


Fig. 3 - PLS relativa ai composti fenolici, volatili e dati NMR in relazione agli attributi organolettici.
Fig. 3 - PLS carried out for phenolic compounds, volatile compounds and NMR data in relation to the organoleptic attributes.

Dall'analisi PLS effettuata sui dati NMR, della composizione fenolica e dei composti volatili, in relazione agli attributi organolettici riscontrati dal panel di assaggiatori, (fig. 3) è possibile osservare come l'attributo sensoriale di erbe aromatiche (rosmarino, ecc.) correli con il contenuto di Terpeni, determinata tramite GC/MS, mentre la percezione di amaro e piccante correli con i composti fenolici, determinati tramite HPLC.

Oltre alla correlazione tra erbe aromatiche e terpeni/t-2-esenolo, si possono osservare quelle tra: i) amaro-piccante con i componenti fenolici, ii) foglia-carciofo con fenoli e c-3-esenale, iii) fruttato e pomodoro con c-3 esenolo, iv) erbaceo con gli esteri, v) mandorla con le aldeidi.

Conclusioni

I risultati ottenuti indicano come, oltre alla misura strumentale delle sostanze fenoliche e volatili effettuata mediante HPLC e SPME-GC/MS, l'applicazione di nuove tecniche analitiche avanzate quali la spettroscopia NMR ultra-high resolution potrebbe in futuro contribuire alla definizione oggettiva della tipicità

sensoriale di alcune produzioni italiane. L'applicazione di nuove tecniche analitiche avanzate quali la spettroscopia NMR ultra-high resolution, oltre alla misura strumentale delle sostanze fenoliche e volatili, potrebbe in futuro contribuire alla definizione oggettiva della qualità e tipicità sensoriale di alcune produzioni italiane. La "tipicità", tuttavia, andrà accertata principalmente sulla base delle caratteristiche sensoriali ed aromatiche del prodotto, che sono i fattori-chiave della riconoscibilità delle diverse produzioni di pregio.

Riassunto

Molte sono le variabili che devono essere prese in considerazione per un'attenta valutazione statistica della qualità e tipicità degli oli basata sulla loro composizione chimica e descrittori sensoriali. Partendo da studi svolti negli ultimi anni con l'utilizzo di tecniche spettroscopiche di risonanza magnetica nucleare (NMR) ad alto campo, è stata effettuata un'analisi NMR ultra high resolution su alcuni campioni di olio utilizzando uno spettrometro con *cold-probe* a tripla risonanza. Lo studio, sviluppato direttamente sull'olio tal quale, ha mirato alla messa a punto di un metodo rapido di analisi comprensiva dei composti minori (sostanze fenoliche e volatili). Sugli oli è stato, inoltre, definito il profilo sensoriale, l'analisi della frazione volatile e della frazione fenolica. I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistiche multivariate (PCA, PLS). Dall'analisi NMR le aldeidi ed i composti fenolici, correlati al fruttato ed al gusto amaro-piccante, possono essere rilevati e quantificati. La valutazione statistica effettuata sui dati NMR, composizione fenolica e principali famiglie dei composti volatili (alcoli, terpeni, aldeidi, chetoni, esteri, idrocarburi aromatici, saturi ed insaturi), ha confermato la correlazione tra i segnali NMR ed i composti fenolici e volatili.

Parole chiave: NMR, olio di oliva, composti volatili, composti fenolici.

Bibliografia

ALBERTI E., BELTON P.S., GIL A.M. 2002. Annual Reports on NMR spectroscopy vol. 47: 109-148.

AURSAND M. AND ALEXON D.E. 2001. Magnetic resonance in food science. A view to the future, Edited by Webb, Belton, Gil and Delgadillo I. pp. 227-231, Royal Society of Chemistry, Cambridge (UK).

DAIS P. CHRISTOPHORIDOU S. 2008. Detection and Quantification of Phenolic Compounds in Olive Oil by Employing 1H High Resolution Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. A proposal for on-line screening. 6th Euro Fed Lipid Congress, 07-11 September, Athens, Greece. Book of Abstracts, p. 129

LACHENMEIER D.W., FRANK W, HUMPFER E, SCHAFER H, KELLER S, MORTER M, SPRAUL M 2005. Eur. Food Res. Technol. 220: 215–221.

MANNINA L, CALCAGNI C, ROSSI E, SEGRE A. 2003. Annali di Chimica by Società Chimica Italiana 93: 97-103.

SACCHI R, ADDEO F, PAOLILLO L. 1997. Magnetic Resonance in Chemistry 35: 133-145

SACCHI R., ADDEO F., GIUDICIANNI I., PAOLILLO L. 1989. Rivista Italiana delle Sostanze Grasse 56: 171-178.

SACCHI R., PATUMI M., FONTANAZZA G., BARONE P., FIORDIPONTI P., MANNINA L., ROSSI E., SEGRE A.L. 1996. J. American Oil Chemist's Society, 73: 747-758.

SACCHI R., MANNINA L., FIORDIPONTI P., BARONE P., PAOLILLO L., PATUMI M., SEGRE A.L. 1998. J. Agric. Food Chem., 46: 3947-3951.

SOBOLEV A.P., SEGRE A., LAMANNA R. 2003. Magn. Reson. Chem. 41: 237–245

Trattamento dei reflui oleari: recupero della frazione biologicamente attiva e di acqua purificata

De Marco E.[1*], Savarese M.[1], Parisini C.[1], Vitagliano M.[1], Pizzichini D.[2*], Falco S.[1] e Sacchi R.[3*]
[1] CRIOL, Centro Ricerche per l'Industria Olearia, Industria Olearia Biagio Mataluni srl, Montesarchio (BN)
[2] Genelab srl, Palazzolo Acreide (SR)
[3] Dipartimento di Scienza degli Alimenti, Università di Napoli "Federico II"

Treatment of olive mill wastes: recovery of the biologically active fraction and of purified water

Abstract. The olive industry generates great quantities of effluents with a great environmental impact, for which treatment and disposal feasible solutions have not been proposed yet. The process proposed in this work for olive mill wastewater treatment is based on the coupling of membrane filtration, anaerobic digestion and chromatographic techniques for the purification of matrices containing bio-active polyphenols, in order to recover, from the initial effluent, purified water to re-use in the productive process, phenolic extracts with antioxidant activity, to be employed in the cosmetic, phytoterapic or food industry, and biogas to be used for energy production. The process was developed and tested at pilot scale during a three-year research project funded by Italian Ministry of University and Research. The results obtained will be validated on a prototype plant which will be installed at Industria Olearia Biagio Mataluni in Montesarchio (BN, Italy) and will be object of dissemination activities within the RE-WASTE project, co-funded by EU within the LIFE+ program.

Key words: Olive mill wastes, polyphenols, membrane filtration, biogas.

Introduzione

L'industria olearia, uno dei principali settori agro-industriali del bacino del Mediterraneo, genera consistenti quantità di reflui con un significativo impatto ambientale, per il cui trattamento e smaltimento non sono state ancora proposte soluzioni sostenibili (Roig *et al.*, 2006). Esiste, dunque, una necessità impellente di soluzioni per la gestione di tale refluo, attraverso tecnologie che minimizzino il suo impatto ambientale e garantiscano un uso sostenibile delle risorse.

L'acqua di vegetazione presenta una concentrazione fenolica variabile tra 3 e 10 g l^{-1}, che la rende recalcitrante alla degradazione microbica. D'altra parte, i composti fenolici, oltre ad essere responsabili dell'elevato carico inquinante delle acque di vegetazione, sono anche risorse preziose dal momento che possiedono una marcata attività antiossidante e numerose altre proprietà biologiche.

Un processo di trattamento delle acque di vegetazione che risulti efficace ed economico e che consenta, allo stesso tempo, di depurare il refluo e di recuperare composti ad alto valore aggiunto, risulterebbe di importanza strategica per l'industria olearia.

Materiali e metodi

Un processo per il frazionamento e la valorizzazione delle acque di vegetazione olearie è stato messo a punto, a partire dai risultati ottenuti dall'ENEA che hanno portato al deposito di un brevetto internazionale (Brevetto ENEA-Verdiana ITRM20040292 "Process for recovering the components of olive mill wastewater with membrane technologies"), nel corso del progetto di ricerca triennale "Controllo Qualità e Innovazione Tecnologica nell'Industria Olearia" finanziato dal Ministero dell'Università e della Ricerca (D.Lgs. 297/99 - protocollo MIUR 10535).

Il processo è stato testato a scala pilota su un impianto di filtrazione tangenziale a membrana installato presso il frantoio continuo a tre fasi della Industria Olearia Biagio Mataluni srl di Montesarchio (BN).

L'impianto, realizzato dalla società Torchiani Impianti srl (Brescia), è costituito da una sezione di microfiltrazione ceramica e una sezione di ultrafiltrazione, nanofiltrazione e osmosi inversa su membrane polimeriche.

L'unità di Microfiltrazione (MF) è equipaggiata con un modulo costituito da 7 elementi ceramici a geometria multicanale, con superficie attiva pari a 2,45 m^2 e porosità pari a 1,4 µm di tipo ISOFLUX (per ottenere l'uniformità della pressione di transmembrana lungo tutta la superficie filtrante).

[1] criol@mataluni.com; [*] genelab_1@libero.it; [*] sacchi@unina.it

L'unità di ultrafiltrazione/nanofiltrazione/osmosi inversa è equipaggiata con 3 membrane polimeriche a spirale avvolta utilizzabili alternativamente:

- 1 membrana da Ultrafiltrazione (UF) di tipo 3838, cut-off 10 kDa, superficie attiva 6,13 m^2;
- 1 membrana da Nanofiltrazione (NF) di tipo 3840, cut-off 150-300 Da, superficie attiva 7,43 m^2;
- 1 membrana da Osmosi Inversa (OI) di tipo 3840, superficie attiva 7,62 m^2, reiezione media 99,5 % (NaCl 2.000 ppm).

L'acqua di vegetazione in uscita dal frantoio viene stoccata in un serbatoio di equalizzazione e sottoposta ad un pre-trattamento consistente in una chiarificazione centrifuga, volta a ridurre il contenuto in solidi sospesi nel refluo e quindi aumentare la permeabilità delle membrane e ridurre i fenomeni di fouling.

Il refluo chiarificato viene quindi sottoposto a passaggi successivi di filtrazione tangenziale a membrana, con un cut-off progressivamente più basso, allo scopo di separare le frazioni organiche con diverso peso molecolare e differenti proprietà biologiche.

Il primo step consiste in una microfiltrazione su membrane ceramiche con cut-off di 1,4 µm. Il permeato di microfiltrazione viene sottoposto ad una ultrafiltrazione su membrane polimeriche a spirale avvolta con cut-off di 10 kDa.

I concentrati di microfiltrazione e di ultrafiltrazione contengono i composti organici a più alto peso molecolare. Povere in composti fenolici, queste frazioni possono essere destinate ad un trattamento di digestione anaerobica per la produzione di biogas. Prove preliminari hanno mostrato che tali frazioni risultano adatte a fungere da substrato per batteri anaerobi, con produzione di biogas ad elevata percentuale di metano.

Il permeato di ultrafiltrazione viene sottoposto a nanofiltrazione su membrana polimerica a spirale avvolta con cut-off di 150-300 Da. Il concentrato di nanofiltrazione contiene i composti fenolici complessi, a più alto peso molecolare. Questa frazione è stata sottoposta ad essiccazione mediante spray drier, utilizzando destrano al 2,5% come addensante. Si ottiene, in tal modo, un estratto fenolico in polvere, che potrebbe essere impiegato nell'industria cosmetica o alimentare.

Il permeato di nanofiltrazione è stato sottoposto a osmosi inversa su membrana polimerica, ottenendo acqua purificata, che può essere re-impiegata per diversi usi industriali (es. lavaggio delle olive), e un concentrato contenente i composti fenolici semplici, a più basso peso molecolare. Questa frazione è stata purificata mediante passaggio su resina adsorbente e successivo desorbimento con etanolo. È stata utilizzata a tale scopo una resina adsorbente polistirenica ad elevata area superficiale interna (Macronet MN-202, Purolite International Ltd., UK). Tale resina ha mostrato elevata affinità per tutti i composti fenolici delle acque di vegetazione, consentendo di ottenere un estratto fenolico dal profilo molto simile a quello della matrice di partenza (De Marco *et al.*, 2010). Utilizzando un polimero simile, Lin e Wang (2002), combinando coagulazione chimica e adsorbimento su resina, hanno ottenuto una riduzione della concentrazione fenolica di una soluzione acquosa da oltre 10 g l^{-1} ad un valore inferiore al limite previsto per lo scarico in fognatura (1 mg l^{-1}). La resina è stata impaccata in colonna, sulla quale è stato caricato il concentrato di osmosi inversa, ad una velocità di flusso di 3 BV (Bed Volume) all'ora (1 BV corrisponde ad 1 dm^3 di soluzione per dm^3 di resina). I composti fenolici adsorbiti sono stati eluiti con etanolo, caricato in testa alla colonna ad una velocità di flusso di 1,5 BV/h. Il polimero adsorbente, rigenerato con passaggio di una soluzione acquosa di NaOH al 2%, può essere utilizzato per cicli successivi di adsorbimento, desorbimento e rigenerazione.

In figura 1 è riportato uno schema del processo di trattamento applicato.

Risultati e discussione

Il processo di trattamento proposto consente di operare un frazionamento dell'acqua di vegetazione, separando le componenti organiche a diverso peso molecolare.

Il processo, applicato senza la fase di nanofiltrazione, ha consentito di recuperare dall'acqua di vegetazione una elevata percentuale (74%) (fig. 2) di acqua purificata (permeato di osmosi inversa), che può essere re-impiegata per diversi usi industriali (ad esempio, per il lavaggio delle olive), consentendo di ridurre i consumi idrici legati all'attività di molitura.

Il processo ha, inoltre, consentito di recuperare dal refluo l'87% del contenuto in polifenoli (fig. 3) in un volume pari al 13% di quello iniziale (concentrato di osmosi inversa). Il concentrato acquoso ricco in polifenoli, costituito dal concentrato di osmosi inversa, può essere purificato mediante passaggio su resina adsorbente e recupero in etanolo. Il polimero utilizzato (Macronet MN-202) si è mostrato in grado di adsorbire tutta la frazione fenolica presente nel concentrato di osmosi inversa, che è stata poi desorbita con etanolo (fig. 4). Si ottiene, in tal modo, un estratto alcolico contenente tutto il pool di polifenoli originariamente presenti nell'acqua di vegetazione, ad una

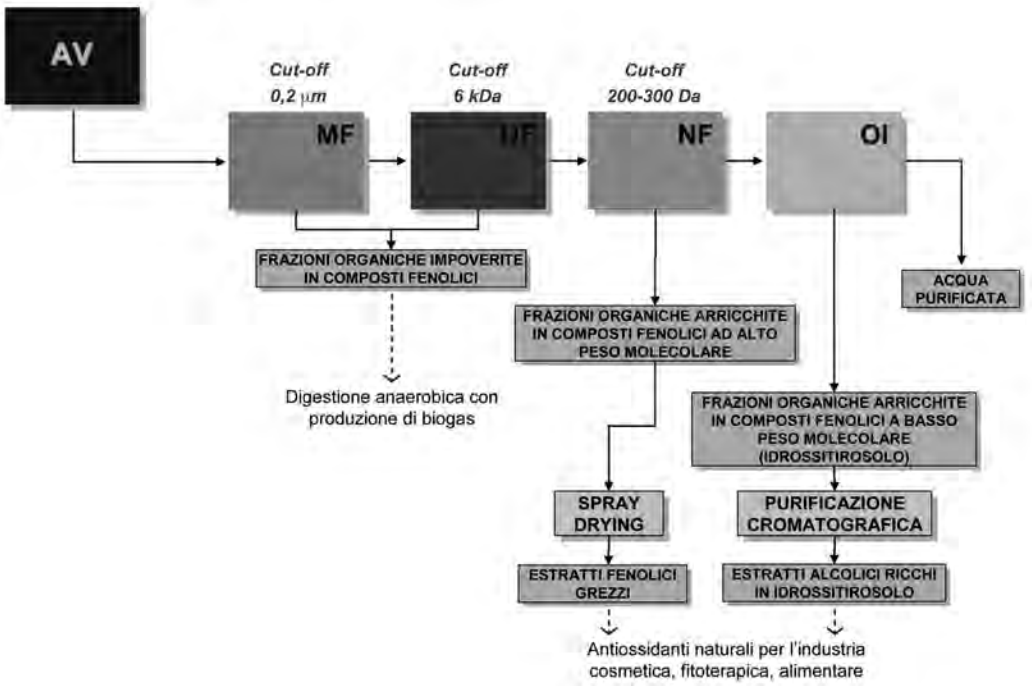


Fig. 1 - Processo di trattamento dell'acqua di vegetazione olearia testato a scala pilota presso il frantoio della Industria Olearia Biagio Mataluni.

Fig. 1 - Scheme of the process for the treatment and valorisation of Olive Mill Wastewater (OMWW) tested at pilot scale at Industria Olearia Biagio Mataluni.

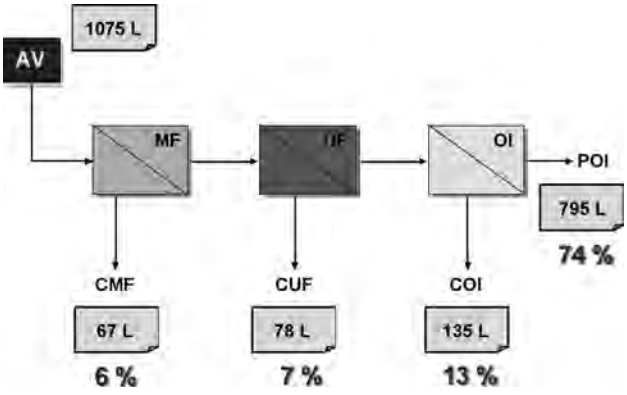


Fig. 2 - Bilancio di massa del processo di trattamento (applicato senza la fase di nanofiltrazione), relativo ai volumi di acqua.

Fig. 2 - Mass balance of the treatment process (applied without the nanofiltration phase), relative to the volumes of water.

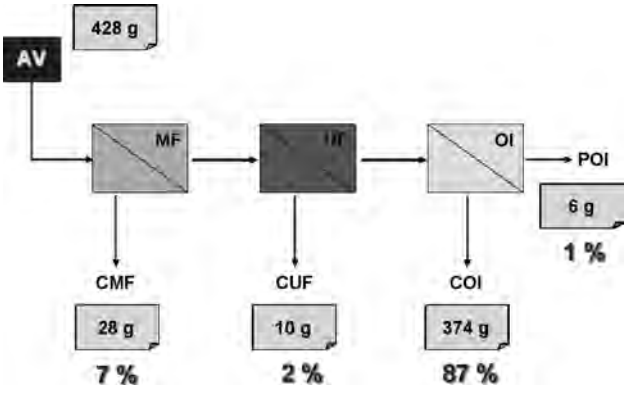


Fig. 3 - Bilancio di massa del processo di trattamento (applicato senza la fase di nanofiltrazione), relativo al contenuto in fenoli totali.

Fig. 3 - Mass balance of the treatment process (applied without the nanofiltration phase), relative to the total phenol content.

concentrazione molto più elevata, e purificati dagli altri componenti organici presenti nel refluo.

Conclusioni

Il processo proposto per il trattamento delle acque di vegetazione olearie, testato a scala pilota, rappresenta una valida soluzione per lo smaltimento e la valorizzazione dei reflui oleari, consentendo il recupero di una elevata percentuale di acqua purificata (60-70%) e della frazione fenolica ad attività antiossidante, da impiegare nell'industria cosmetica, fitoterapica o alimentare.

Il processo messo a punto sarà oggetto di attività dimostrative nell'ambito del progetto RE-WASTE (*Recovery, recycling, resource. Valorisation of olive mill effluents by recovering high added value bio-products*), finanziato dalla Commissione Europea nell'ambito del programma LIFE, lo strumento finanziario per l'ambiente dell'Unione Europea (www.re-wasteproject.it). Il progetto RE-WASTE prevede la realizzazione di un impianto pilota dimostrativo per la valorizzazione delle acque di vegetazione olearie. L'impianto, che è in corso di installazione presso il

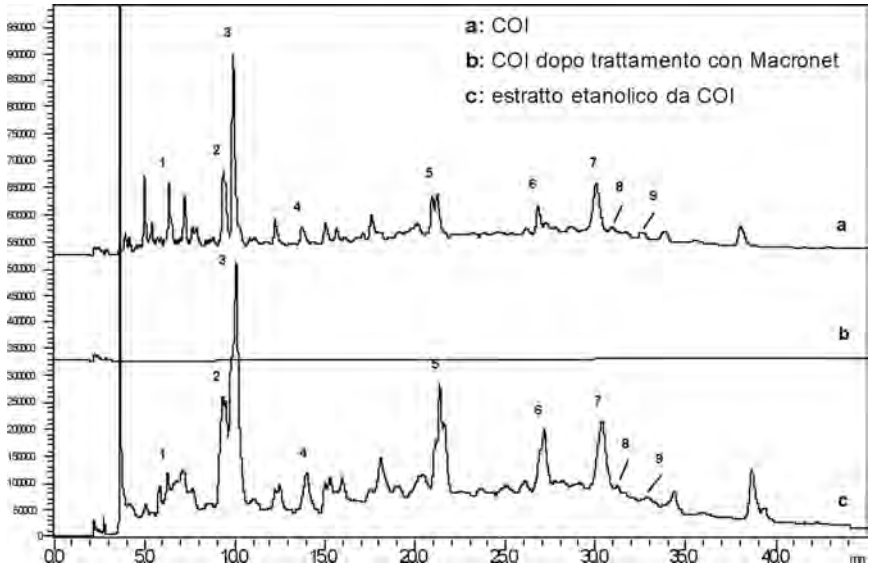


Fig. 4 - Cromatogrammi HPLC-UV (279 nm) che mostrano il profilo fenolico del concentrato di osmosi inversa (a), dello stesso dopo passaggio sulla resina adsorbente (b) e dell'estratto etanolico ottenuto dal desorbimento dei composti fenolici dalla resina (c). Identificazione dei picchi: 1-idrossitirosolo glucoside; 2-idrossitirosolo glucoside; 3-idrossitirosolo; 4-tirosolo; 5-β-idrossiacteoside; 6-verbascoside; 7-forma dialdeidica della decarbossimetil oleuropeina aglicone; 8-rutina; 9-oleuropeina

Fig. 4 - HPLC-UV chromatograms (279 nm) showing the phenolic profile of the reverse osmosis concentrate (a), of the same concentrate after treatment on adsorbent resin (b) and of the ethanolic extract obtained from the desorption of the phenolic compounds from the resin (c). Peak identification: 1=hydroxytyrosol-glucoside; 2=hydroxytyrosol-glucoside; 3=hydroxytyrosol; 4=tyrosol; 5=β-idrossiacteoside; 6=verbascoside; 7=dialdehydic form of decarboxymethyl oleuropein aglycon; 8=rutin; 9=oleuropein.

frantoio oleario della Industria Olearia Bigio Mataluni srl di Montesarchio (BN), ha lo scopo di mostrare agli operatori del settore oleario, ai tecnici e agli amministratori, la fattibilità tecnica ed economica del processo messo a punto per il trattamento e la valorizzazione dei reflui oleari.

Riassunto

L'industria olearia genera consistenti quantità di reflui con un significativo impatto ambientale, per il cui trattamento e smaltimento non sono state ancora proposte soluzioni fattibili. Il processo di trattamento delle acque di vegetazione proposto nel presente lavoro prevede l'accoppiamento di processi separativi a membrana, processi di digestione anaerobica e tecniche di cromatografia per la purificazione delle matrici a base di polifenoli bioattivi, consentendo di recuperare, dal refluo di partenza, acqua pura da riutilizzare nel processo produttivo, estratti fenolici ad attività antiossidante, da impiegare nell'industria cosmetica, fitoterapica o alimentare, e biogas da impiegare per la produzione di energia.

Il processo è stato messo a punto nel corso di un progetto di ricerca triennale finanziato dal Ministero dell'Università e della Ricerca (D.Lgs. 297/99 - protocollo MIUR 10535) ed è stato testato a scala pilota. I risultati ottenuti saranno validati su un impianto prototipo di cui è in corso la realizzazione presso il frantoio dell'Industria Olearia Biagio Mataluni di Montesarchio (BN) e saranno oggetto di attività di divulgazione nell'ambito del progetto RE-WASTE, co-finanziato dall'Unione Europea nell'ambito del programma LIFE+.

Parole chiave: reflui oleari, polifenoli, filtrazione a membrana, biogas.

Lavoro realizzato con il supporto finanziario del MIUR, progetto "Controllo Qualità e Innovazione Tecnologica nell'Industria Olearia" (D. Lgs. 297/99 - protocollo MIUR 10535), e della Commissione Europea progetto "*Recovery, recycling, resource. Valorisation of olive mill effluents by recovering high added value bio-products*" (progetto n. LIFE07 ENV/IT/421).

Bibliografia

De Marco E. Savarese M., Parisini C., Falco S., Paduano A., Sacchi R., 2010. *Ingredienti fenolici da sottoprodotti dell'industria olearia.* Ingredienti Alimentari, IX (2010), 1-7.

Lin S.H., Wang, C.S., 2002. *Treatment of high-strength phenolic wastewater by a new two-step method*. J. Hazardous Mater. B90, 205-216.

Roig A., Cayuela M.L., Sánchez-Monedero M.A., 2006. *An overview on olive mill wastes and their valorisation methods*. Waste Management 26, 960-969.

Feofitine e digliceridi: indici di qualità degli oli extravergini di oliva imbottigliati?

Savarese M.[1*], De Marco E.[1], Parisini C.[1], Falco S[1]. e Sacchi R.[2]
[1]CRIOL, Centro Ricerche per l'Industria Olearia, c/o Industria Olearia Biagio Mataluni; via Badia, Montesarchio (BN)
[2] Dipartimento di Scienza degli Alimenti, Università di Napoli "Federico II"

Pheophytins and diglycerides: quality indices of bottled extra virgin olive oil?

Abstract. The present work aims to investigate the evolution of diglycerides and pheophytins in packaged extra virgin olive oil during a prolonged storage at room temperature. The results showed that the 1,2-DGs isomerize to 1,3-DGs in all storage/packaging conditions. Pyropheophytin-A increases, reaching levels reported in the literature for virgin oils not genuine (deodorised). This trend was noticed particularly in oils exposed to light and unfiltered. For 1,2 DGs and pheophytin A parameters, the storage conditions play a crucial role and should be carefully considered if these indices are used to establish the authenticity of bottled extra virgin olive oils.

Key words: Pheophytin, diglycerides, shelf-life, extra virgin olive oil.

Introduzione

L'olio extra vergine di oliva si distingue da tutti gli altri oli vegetali per le sue caratteristiche organolettiche e per il grande valore nutrizionale legato alla sua composizione chimica. Risulta, dunque, estremamente importante per le aziende olearie riuscire a preservare le caratteristiche qualitative di questo prodotto, limitando la perdita dei suoi peculiari attributi positivi nel corso dei processi industriali e della conservazione.

Negli ultimi anni, obiettivo primario sia degli ambienti industriali che di quelli scientifici operanti nell'ambito del settore oleario è stato da un lato il miglioramento della qualità sensoriale, nutrizionale e merceologica dell'olio extra vergine, dall'altro la garanzia della sua genuinità, alla luce della sempre maggiore attenzione posta dai consumatori agli aspetti qualitativi dei prodotti alimentari. Così, uno degli attuali filoni di ricerca riguarda la messa a punto di metodi analitici per l'individuazione della presenza di oli rettificati all'interno di oli vergini. È stato dimostrato che i trattamenti termici che occorrono durante i processi di rettificazione determinano modifiche nella composizione dei pigmenti clorofilliani e dei digliceridi (Serani *et al.* 2001; Gertz e Fiebig, 2006; Perez-Camino *et al.*, 2001; Sacchi *et al.*, 1991).

La conoscenza della composizione in pigmenti clorofilliani e in digliceridi è, dunque, estremamente importante allo scopo di formulare un giudizio sulla qualità e sulla genuinità degli oli extra vergini.

Il presente lavoro è volto ad approfondire l'evoluzione del profilo di digliceridi e feofitine in oli extra vergini di oliva imbottigliati, nel corso di un prolungato stoccaggio a temperatura ambiente in diverse tipologie di imballaggio.

Materiali e metodi

Per le prove sono stati utilizzati oli di oliva extravergini di diversa provenienza, forniti dall'Industria Olearia Biagio Mataluni, che sono stati imbottigliati e conservati in diverse condizioni come riportato nella tabella 1.

Le bottiglie sono state disposte su un piano tutte alla stessa distanza tra loro in modo da essere esposte alla stessa intensità luminosa (300 - 450 LUX) misurata con un luxometro digitale ISO-TECH (Taiwan). Le prove di conservazione sono state svolte a temperatura ambiente 25 ± 5°C.

Per la caratterizzazione iniziale ed in corrispondenza di ogni prelievo, sugli oli imbottigliati sono state effettuate analisi chimico-fisiche relative agli indici di qualità previsti dalla normativa vigente per gli oli extravergini di oliva (Reg. CEE 2568/91; Reg. CE 1989/03) (Dati non riportati). Il profilo dei digliceridi e dei pigmenti clorofilliani è stato determinato seguendo le metodiche riportate da Serani e Piacenti (2001) con le opportune modifiche (tab. 2).

Risultati e discussione

L'importanza del valore del contenuto percentuale degli 1,2 digliceridi sul totale dei digliceridi e del con-

* criol@mataluni.com

Tab. 1 - Descrizione dei campioni e delle condizioni di conservazione utilizzate per le diverse prove di *shelf-life*.
Tab. 1 - Description of the samples and of the storage conditions used for the shelf-life tests.

Prova a	Prova b	Prova c	Prova d
OEV imbottigliato in PET trasparente da 0,5 litri conservato alla luce ed al buio. Durata: 12 mesi	OEV imbottigliato in PET trasparente ed in PET colorato rosso da 1 litro e conservato alla luce. Durata: 12 mesi	OEV filtrato e non filtrato imbottigliato in vetro scuro ed in PET (0,75 litri) e conservato alla luce ed al buio Durata: 8 mesi	OEV in PET convenzionale ed in PET con aggiunta di additivi anti UV-Vis (0,5 litri) conservato alla luce. Durata: 10 mesi

Tab. 2 - Descrizione dei metodi utilizzati per la determinazione del contenuto di digliceridi e feofitine.
Tab. 2 - Description of the methods used for diglycerides and pheophytins analyses.

Digliceridi	Feofitine
Analisi HPLC-Vis dei pigmenti clorofilliani estratti mediante SPE - Solid Phase Extraction (Serani *et al.*, 2001). • Colonna HPLC: LC-18-Discovery®, Supelco 250 mm x 4.6 mm x 3 μm • Gradiente isocratico: acqua/alcol metilico/acetone 4/36/60 v/v/v • Lunghezza d'onda di rivelazione: 410 nm • Flusso: 1 ml/min • Volume iniezione: 20 μl	Gascromatografia su colonna capillare, dinonadecanoina standard interno (Serani *et al*., 2001) • Iniettore: PTV (Vaporizzazione a Temperatura Programmata); • Temperatura PTV: 85°C (1')→ 20°C/min →225°C →5°C/min →345° (13') • colonna: MDN 55 Supelco, 15m 0,25 mm ID, 0.1 thickness; • Temperatura colonna: 80°C (1')→ 20°C/min →220°C →5°C/min →340° (13') • Temperatura rivelatore FID: 350°C

tenuto di pirofeofitina A per le aziende produttrici ed imbottigliatrici di olio extravergine di oliva è stata illustrata nell'introduzione. Nella figura 1 sono riportati i dati relativi ai digliceridi riscontrati nei campioni di olio delle diverse prove di shelf-life.

Sia la pirofeofitina A che gli 1,2 digliceridi sono stati proposti come indici di genuinità per la messa in evidenza di aggiunte fraudolente di oli deodorati ad oli extravergini di oliva; tali composti tendono infatti ad isomerizzare nelle forme 1,3 termodinamicamente più stabili per effetto di trattamenti termici.

Tale reazione di isomerizzazione è legata allo stato e al tempo di conservazione degli oli vergini di oliva (Serani *et al*. 2001; Spyros *et al.*, 2004; Gertz e Fiebig, 2006; Perez-Camino *et al.*, 2001; Sacchi *et al.*, 1991). Le forme 1,2 DG, presenti in elevate quantità negli oli "freschi" appena prodotti, isomerizzano con il trascorrere del tempo nelle forme 1,3 DG. Pertanto, come ci si attendeva, il contenuto percentuale di 1,2 DG decresce nel corso dei mesi di conservazione in tutti gli oli, indipendentemente dal contenitore, dall'esposizione alla luce e dal processo di filtrazione. Non sono state, infatti, evidenziate differenze significative ($p < 0,05$) tra la percentuale di 1,2 DG negli oli imbottigliati nelle diverse condizioni (fig. 1). I risultati ottenuti hanno evidenziato che pur mantenendo l'olio in condizioni ottimali di conservazione, e cioè senza ossigeno nello spazio di testa ed in assenza di luce (vedi campione PET CELESTE), si è assistito ad un decremento considerevole del contenuto percentuale di 1,2 digliceridi (% 1,2 DG) in 10 mesi di conservazione a temperatura ambiente (25±4 °C).

In tutti gli oli il contenuto è passato dal 80-70% al 35% circa, è risultato quindi evidente che il contenuto di 1,2 DG negli oli vergini di oliva dipende ed è influenzato significativamente soprattutto dal tempo di conservazione e che quindi il suo utilizzo come indicatore per la presenza di oli trattati termicamente o neutralizzati appare discutibile.

L'isomerizzazione degli 1,2 DG ad 1,3 DG è un processo spontaneo che fa parte della normale evoluzione dell'olio, tale processo è influenzato da diversi fattori (acidità iniziale, temperatura e tempo di conservazione, presenza di ossigeno). Una bassa percentuale di 1,2 DG in un olio, pertanto, può essere dovuta sia ad un processo termico subito in fase di neutralizzazione e/o deodorazione che ad un naturale processo di invecchiamento.

I pigmenti clorofilliani, subiscono profondi cambiamenti nel corso della conservazione, soprattutto per effetto della luce.

Nella figura 2 è riportato il contenuto di pirofeofitina A (espresso in % secondo il metodo Serani e Piacenti, 2001) nel corso delle diverse prove di conservazione.

In tutti gli oli analizzati si è assistito ad un incremento nel corso del tempo del contenuto di pirofeofitina A, derivante dalle modificazioni a carico dell'anello pirrolico della feofitina A e A'.

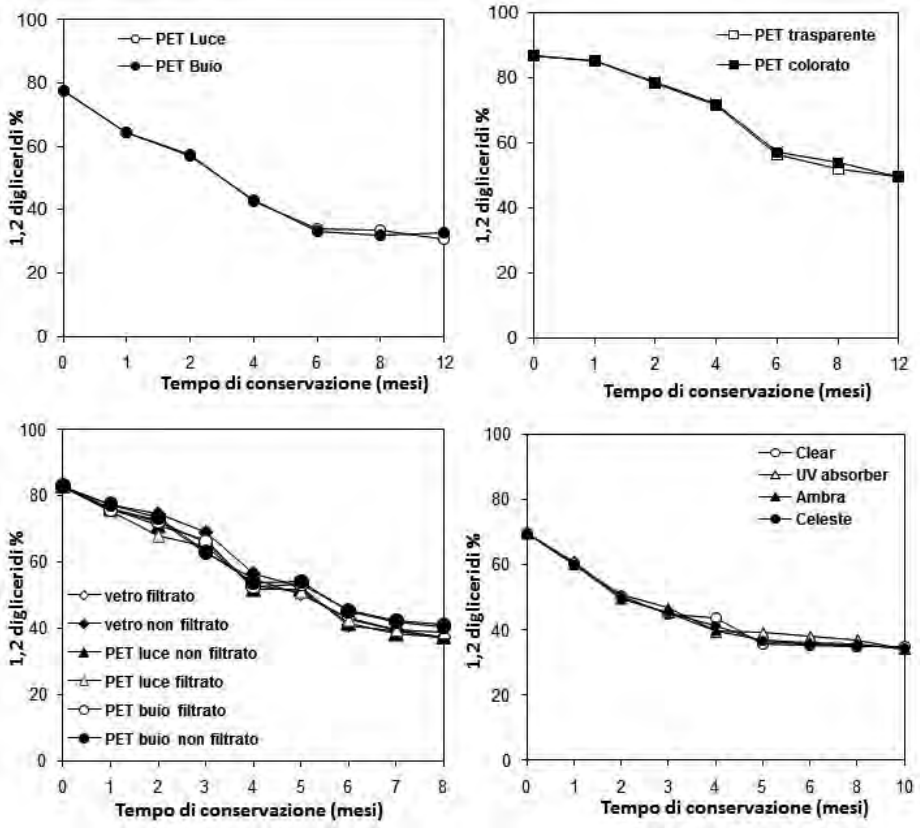


Fig. 1 - Evoluzione del contenuto percentuale degli 1,2 digliceridi nel corso della conservazione.
Fig. 1 - Evolution of 1,2 diglycerides (%) in oils during storage.

Dopo i primi tre mesi di conservazione, si osservano differenze significative ($p<0,05$) negli oli conservati in diversi contenitori dovute essenzialmente alle loro differenti proprietà barriera nei confronti della radiazione.

Gli oli, infatti, imbottigliati nei contenitori che più li preservavano dal contatto con la luce (PET BUIO, PET COLORATO; PET AMBRA e PET CELESTE), hanno mostrato un incremento di pireofeotitina A più lento e contenuto rispetto agli altri. Nei campioni esposti alla luce ed imbottigliati in contenitori senza nessun effetto schermante nei confronti della luce la reazione di pirofeofitizzazione è risultata molto intensa, tanto da far raggiungere dopo solo 4 mesi di conservazione valori di pirofeofitina A superiori al 10% (valore riportato come indice di possibile non genuinità).

L'analisi degli andamenti mostrati in figura 2 evidenzia anche un effetto dell'operazione di filtrazione sul contenuto di pirofeofitina A nel corso della conservazione, già dopo i primi due mesi. L'influenza di tale operazione sul profilo dei pigmenti clorofilliani non è mai stata oggetto di studio. I dati ottenuti sui campioni oggetto di questa prova sperimentale, pur riferendosi ad un solo olio, hanno mostrato un'influenza significativa del processo di filtrazione, che ha determinato una più lenta e ridotta formazione di pirofeofitina. Tale effetto può essere correlato ad una diminuzione dell'acqua residua nell'olio in seguito alla filtrazione, la perdita del gruppo $-CO_2CH_3$ dalla feofitina potrebbe essere infatti favorita dalla presenza di acqua.

I risultati ottenuti hanno quindi ulteriormente evidenziato ed avvalorato che il contenuto di pirofeofitina A di oli imbottigliati sia influenzato significativamente dalle condizioni di conservazione e dal contenitore e che l'esposizione dell'olio alla luce anche per pochi mesi determini una forte degradazione delle feofitine.

La pirofeofitina-A tende ad aumentare, fino a raggiungere i livelli riportati in letteratura per oli vergini non genuini (deodorati), in particolare negli oli esposti alla luce e non filtrati.

Conclusioni

Per entrambi i parametri, il tempo e le condizioni di stoccaggio giocano un ruolo fondamentale e dovrebbero essere oggetto di particolare attenzione, nel caso si voglia utilizzare tali indici per stabilire la genuinità di oli extra vergini imbottigliati.

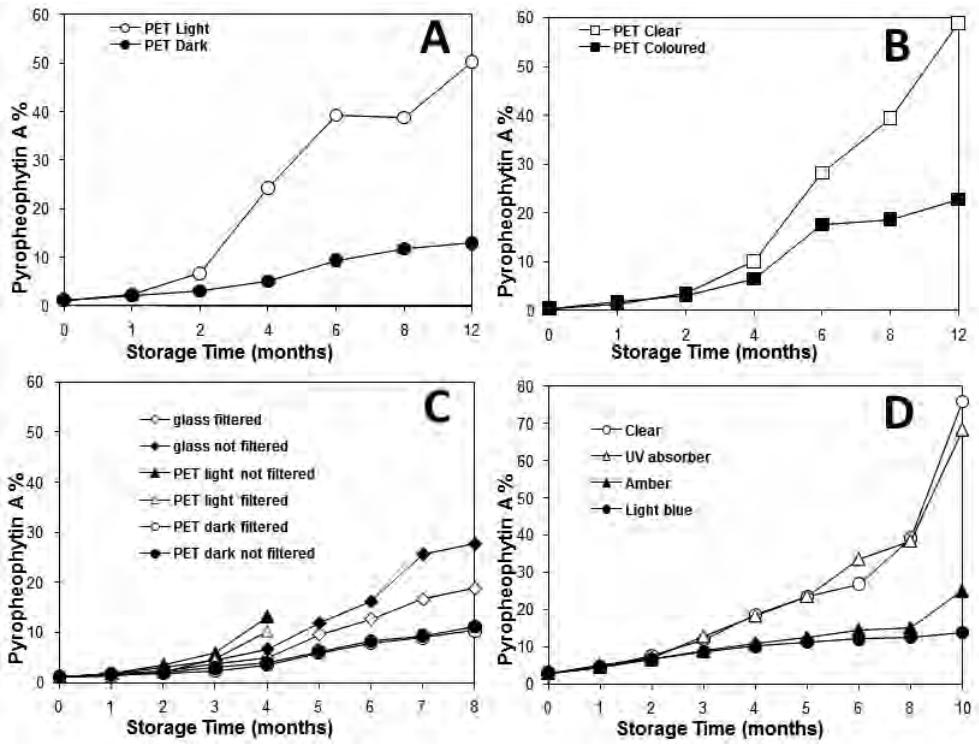


Fig. 2 - Evoluzione del contenuto di pirofeofitina A (%) nel corso della conservazione.
Fig. 2 - Evolution of pyropheophytin A (%) in oils during storage.

Riassunto

Il presente lavoro è volto ad approfondire l'evoluzione del profilo di digliceridi e feofitine in oli extra vergini di oliva imbottigliati, nel corso di un prolungato stoccaggio a temperatura ambiente in diverse tipologie di imballaggio. I risultati ottenuti hanno mostrato che gli 1,2-DG isomerizzano a 1,3-DG in tutte le condizioni di stoccaggio, indipendentemente dal tipo di imballaggio o dai trattamenti tecnologici effettuati. La pirofeofitina-A tende ad aumentare, fino a raggiungere i livelli riportati in letteratura per oli vergini non genuini (deodorati), in particolare negli oli esposti alla luce e non filtrati. Per entrambi i parametri, le condizioni di stoccaggio giocano un ruolo fondamentale e dovrebbero essere oggetto di particolare attenzione, nel caso si voglia utilizzare tali indici per stabilire la genuinità di oli extra vergini imbottigliati.

Parole chiave: Feofitine, digliceridi, *shelf-life*, olio extra vergine di oliva.

Lavoro realizzato con il contributo dell'Industria Olearia Biagio Mataluni s.r.l. e dei fondi MIUR (Progetto "Controllo Qualità ed Innovazione Tecnologica nell'industria Olearia"; DM 593 del 8/08/2000, Prot. MIUR 1866 del 18/02/2002).

Bibliografia

GERTZ C., FIEBIG H.J., 2006. *Pyropheophytin a – Determination of thermal degradation products of chlorophyll a in virgin olive oil*. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 108: 1062-1065.

PEREZ CAMINO M.C., MOREDA W., CERT A., 2001. *Effects of olive fruit quality and oil storage practices on the diacylglycerol content of virgin olive oil*. J. Agric. Food Chem. 49: 699-704.

REGOLAMENTO CEE n. 2568/91 del 11 Luglio 1991, relativo alle caratteristiche degli oli di oliva e degli oli di sansa d'oliva, nonché ai metodi ad essi attinenti, Gazz. Uff. Com. Europea 5/9/91 NL 248

SACCHI R., PAOLILLO L., GIUDICIANNI I., ADDEO F., 1991. *Rapid 1H-NMR determination of 1,2 and 1,3 diglycerides in virgin olive oils*. Ital. J. Food Sci. 4: 253-262.

SERANI A., PIACENTI D., 2001. *Sistema analitico per l'identificazione di oli deodorati in oli vergini di oliva. Nota 1- Analisi dei pigmenti clorofilliani in oli vergini di oliva.* Riv. Ital. Sost. Grasse 78: 459-463.

SERANI A., PIACENTI D., STAIANO G., 2001. *Sistema analitico per l'identificazione di oli deodorati in oli vergini di oliva. Nota 2 - Cinetica di isomerizzazione dei di gliceridi in oli vergini di oliva.* Riv. Ital. Sost.Grasse, 78: 525-528.

SPYROS A., PHILIPPIDIS A., DAIS P., 2004. *Kinetics of diglyceride formation and isomerization in virgin olive oils by employing 31P NMR spectroscopy. Formulation of a quantitative measure to assess olive oil storage history.* J. Agric. Food Chem. 52: 157-164.

Acta Italus Hortus 1: 337-340

Gramolazione controllata e profilo qualitativo degli oli extravergini di oliva

Paduano A., Ferrara L. e Sacchi R.
Dipartimento di Scienza degli Alimenti, Università di Napoli Federico II

Monitored malaxing and virgin olive oils quality

Abstract. The malaxing is a fundamental operation in the production of the virgin olive oil that has effect on the organoleptic quality and oxidative stability of the product. The effects of malaxing on the oil quality depend from the time/temperature ratio and air exposure of the olives paste. In this study a closed malaxing has been used in order to estimate the effect of different malaxing parameters (time, air volume) on analytical indices of quality, on volatile and phenolic compounds, on sensorial characteristics of oils obtained from Leccino and Salella olive cultivars. A meaningful increase of peroxide values and a reduction of total phenolic compounds for the greater times of malaxing and elevated air volumes has been observed. Moreover the analysis of volatile compounds has shown a reduction of the trans-2-esenale and the alcoli and a clear increment of cis-3-hexenil acetate and the hexenilacetato. The combined effect of malaxing time and headspace volume (air) not always determine significant changes in the oil quality. Varietal characteristics and agronomic variables may indeed play a role in defining more clearly the quality of the product.

Key word: olive oil, malaxing, oxigen, quality.

Introduzione

Nel diagramma di produzione dell'olio vergine di oliva, la gramolazione è un'operazione fondamentale ai fini della qualità organolettica e della stabilità all'ossidazione del prodotto. Essa consiste in un lento rimescolamento della pasta di olive all'interno di gramole metalliche fornite di un'intercapedine in cui circola acqua riscaldata. Questa operazione ha lo scopo di rompere l'emulsione olio/acqua e favorire l'aggregazione delle goccioline di olio in gocce di diametro superiore a 30 micron, dimensione limite che permette la separazione dell'olio dalla pasta di olive in fase di estrazione continua (Di Giovacchino *et al.*, 2002a).

Durante la gramolatura, che richiede un certo tempo e una certa temperatura in appropriate condizione di mescolamento, i costituenti della pasta di oliva sono soggetti a fenomeni di natura fisica, chimica e biochimica dovuti sia ai microrganismi che agli enzimi dell'oliva stessa. Tra i fenomeni fisici principali, oltre alla coalescenza in gocce di maggiori dimensioni va ricordata la ripartizione olio/acqua dei componenti presenti nel citoplasma cellulare. I fenomeni chimici, che, in determinate condizioni, possono interessare i costituenti della pasta di oliva, sono per lo più reazioni di idrolisi e di ossidazione degli acidi grassi. Per quel che riguarda i fenomeni di natura biochimica, questi dipendono sia dall'azione degli enzimi endogeni dell'oliva (lipossigenasi, lipasi, perossidasi, alcol deidrogenasi, transferasi, esterasi, ecc.) sia da quella della microflora epifitica (lieviti, batteri e muffe) che provocano reazioni di tipo ossidativo e fermentativo con produzione di metaboliti liposolubili negativi per la qualità sensoriale (difetti) e per quella nutrizionale (Aparicio e Morales, 1999; Di Giovacchino *et al.*, 2002b).

L'impostazione delle variabili di processo è un'importante fonte di diversificazione del prodotto finale per cui è necessario definire in modo chiaro non solo le caratteristiche intrinseche di ciascuna varietà ma anche le condizioni operative da predisporre per esaltarne la qualità. Gli effetti della gramolazione sulla resa di estrazione e sulla qualità dell'olio dipendono dal diagramma tempo/temperatura e dall'esposizione all'aria della pasta. In particolare, durante la gramolazione i composti fenolici, fondamentali per la definizione delle caratteristiche organolettiche e nutrizionali dell'olio oltre che della sua conservabilità, sono soggetti a modificazioni biochimiche ed a fenomeni di ripartizione fisica tra la fase acquosa e quella oleosa dipendenti dalla durata del processo e dall'eventuale aggiunta di acqua (Solinas, 1990; Montedoro *et al.*, 1994).

In questo studio è stata utilizzata una gramola chiusa per valutare l'effetto di diverse condizioni di gramolazione (tempo, volume di aria) sugli indici analitici di qualità, sulle componenti volatili, fenoliche e caratteristiche organolettiche di campioni di olio ottenuti in condizioni controllate a partire da olive delle cultivar *Leccino* e *Salella*.

Materiali e metodi

Gli oli sono stati ottenuti utilizzando l'impianto industriale di tipo continuo della ditta Alfa Laval con frangitore a dischi e sei gramole in parallelo, completamente chiuse, dalla capacità di 700 l.

Per studiare l'effetto del volume di aria in gramola chiusa, sono stati prodotti campioni dalla cultivar *Leccino* a differente volume di aria lasciato durante la gramolazione, rispettivamente 17% (600 kg di olive) e 90% (145 kg di olive), per un tempo di gramolazione di 60 minuti ed una temperatura di 28 °C.

Per studiare l'effetto del tempo di gramolazione, i campioni, provenienti dalla cultivar *Palella*, sono stati ottenuti da una partita di olive di 1.200 kg. L'olio è stato ottenuto dividendo le olive in due aliquote da 600 kg e gramolando a 28 °C una parte per 28 minuti e la restante per 46 minuti, lasciando, in entrambe le lavorazioni, uno spazio di testa del 13% nella gramola.

Per verificare l'effetto combinato volume d'aria/tempo di gramolazione, i campioni di olio presi in esame sono stati ottenuti dalla cultivar *Salella* gramolando la pasta di olive per 28 min, con un volume di aria in gramola del 13%, e per 43 min, con il 62% di aria

Su ciascun campione di olio sono stati determinati i parametri di qualità secondo i metodi ufficiali di analisi (Reg. CEE 2568/91), la determinazione della clorofilla misurando l'assorbimento a 670 nm della soluzione di olio in esano (1:1 v/v) (Minguez-Mosquera *et al.*, 1991), la determinazione delle sostanze fenoliche mediante analisi HPLC - DAD della frazione idrometanolica estratta dall'olio (Sacchi *et al.*, 2002) e l'analisi delle principali sostanze volatili mediante SPME-GC/MS (Vichi *et al.*, 2003).

Risultati e discussione

Effetto del volume d'aria

Non si riscontrano differenze sostanziali nel valore dell'acidità; invece, per quel che riguarda gli indici di ossidazione, si osserva un lieve ma significativo aumento del valore del numero di perossidi nel campione gramolato con un volume d'aria maggiore in gramola. La maggiore ossigenazione in gramola si riflette principalmente su una netta riduzione dei composti fenolici totali, sia dei composti contenenti l'idrossitirosolo che contenenti il tirosolo (figg. 1, 2).

Per la componente fenolica si osserva una lieve diminuzione nella pasta di olive gramolata per tempi più lunghi (46 min) dei fenoli semplici (OHTy e TY) e di alcuni fenoli complessi (Ty-EDA e OHTy-EA) (fig. 3a). Anche per i pigmenti si osserva una diminuzione sia della clorofilla che dei carotenoidi negli oli ottenuti gramolando per tempi lunghi (fig. 3b).

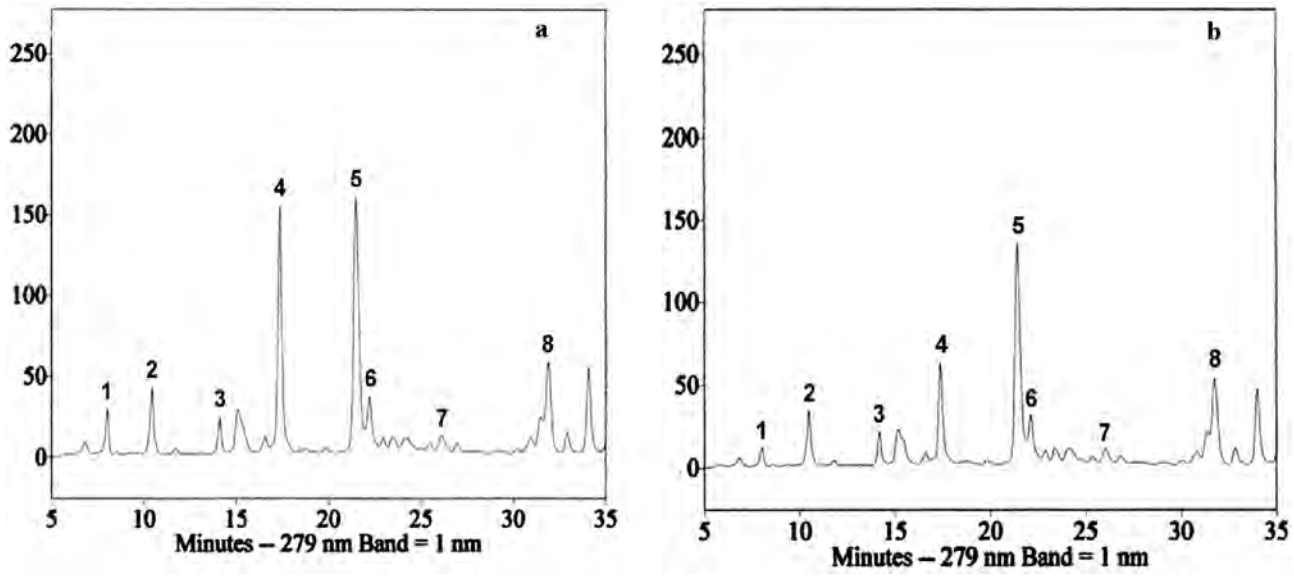


Fig. 1 - Profili HPLC-DAD dei composti fenolici degli oli ottenuti dalla cultivar Leccino gramolando per 60 minuti a diversi volumi dello spazio di testa: V17% (a) e V90% (b). Identificazione dei picchi: 1 Idrossitirosolo, 2 Tirosolo, 3 composto non identificato, 4 forma dialdeidica della decarbossimetiloleuropeina aglicone, 5 forma dialdeidica del decarbossimetilligstroside aglicone, 6 pinoresinolo, 7 oleuropeina aglicone, 8 forma aldeidica del ligstroside aglicone.

Fig. 1 - HPLC-DAD chromatograms of oil phenolic compounds obtained from Leccino cultivar malaxed for 60 minutes at different volumes of headspace: V17% (a) and V90% (b). Peak identification: 1 hydroxytyrosol, 2 tyrosol, 3 unidentified compounds, 4 dialdehydic form of decarboxymethyloleuropein aglycone, 5 dialdehydic form of decarboxymethylligstroside aglycone, 6 pinoresinol, 7 oleuropein aglycone, 8 8 aldehydic form of ligstroside aglycone.

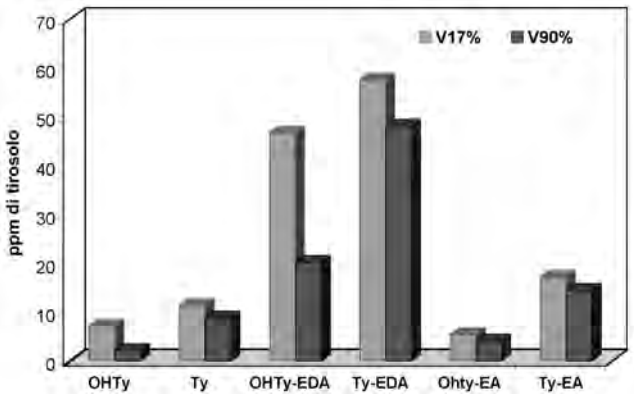


Fig. 2 - Contenuto fenolico riscontrato nei campioni di olio ottenuti da olive della cultivar *Leccino* gramolate per 55-60 minuti a diversi volumi dello spazio di testa nella gramola chiusa (V17%, V90%).

Fig. 2 - Phenolic content in oil samples obtained from Leccino olives malaxed for 55-60 minutes at different volumes of headspace in closed malaxing (V17%, V90%).

Effetto del tempo di gramolazione

Si riscontrano differenze, significative, sia nel valore dell'acidità che negli indici di ossidazione con l'aumento del tempo di gramolatura (tab. 1).

Effetto combinato volume d'aria/del tempo di gramolazione

Su campioni risultati significativamente diversi nella percezione del fruttato di oliva dall'analisi del panel test è stata effettuata, mediante SPME-GC/MS, l'analisi delle sostanze volatili (fig. 4). Gramolando per tempi più lunghi e con un maggior volume di aria in gramola (pur rimanendo sempre in condizioni accettabili di processo) si è osservato una riduzione della *trans*-2-esenale e degli alcoli, con un netto incremento della *cis*-3-esenil acetato e dell'esenilacetato.

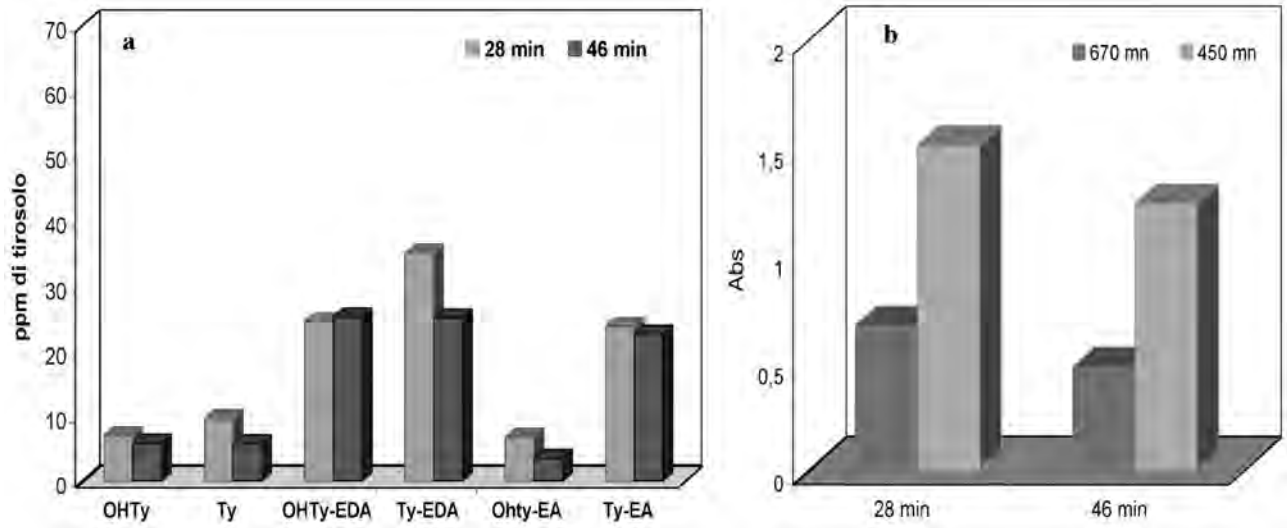


Fig. 3 - Contenuto fenolico (a) e della clorofilla (Abs 670) e carotenoidi (Abs 450) (b) riscontrato nei campioni di olio ottenuti da olive della cultivar *Salella* gramolate con uguali volumi dello spazio di testa nella gramola chiusa (V137%) per tempi differenti (28 min e 46 min).

Fig. 3 - Phenolic (a), chlorophyll (Abs 670) and carotenoid (Abs 450) (b) contents in oil samples obtained from Salella cultivar olives malaxed with same headspace volumes in closed malaxing (V137%) for different times (28 min and 46 min).

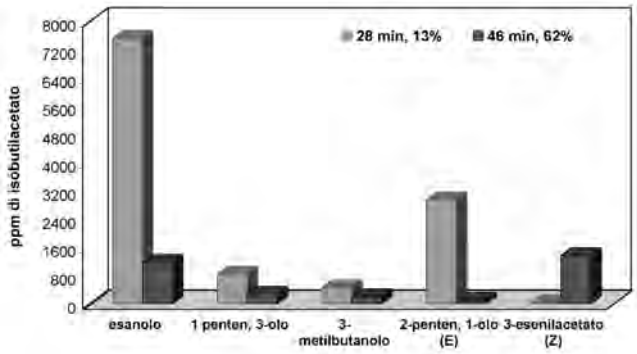


Fig. 4 - Variazione dei principali composti volatili in due campioni di olio della cultivar *Salella* prodotti a differente volume d'aria e tempi diversi di gramolazione (28 min, V13%; 43 min, V62%).

Fig. 4 - Variation of major volatile compounds in two Salella cultivar oil samples obtained with different air volume and different times of malaxing (28 min, V13%, 43 min, V62%).

Tab. 1 - Indici di qualità riscontrati nei campioni di olio della varietà *Salella* ottenuti a tempi di gramolazione crescenti ed uguale valore dello spazio di testa in gramola.

Tab. 1 - Quality indexes in oil samples of Salella varieties obtained with same headspace value and by increased malaxing time

Indici di qualità	28 min	46 min
	media ± dev. st.	media ± dev. st.
Acidità % ac. Oleico	$0,71^{a}$±0,02	$0,90^{b}$±0,02
NP meq O_2/kg	$8,20^{a}$±0.05	$9,40^{b}$±0,05
K_{232}	$2,094^{a}$±0,040	$2,280^{b}$±0,040
K_{270}	0.194^{a}±0.003	$0,209^{b}$±0,003
DK	$-0,002^{a}$±0,000	$0,000^{b}$±0,000

In tali condizioni si registra quindi una maggiore attività delle acetiltrasferasi nella via delle lipossigenasi insieme ad una probabile perdita per ossidazione dei componenti volatili aldeidici.

Conclusioni

L'effetto combinato del tempo di gramolazione e del volume dello spazio di testa (aria) in gramola chiusa giocano un ruolo che non sempre incide in maniera significativa sul profilo qualitativo finale dell'olio, sempre che tali parametri di processo rientrino in intervalli di valori accettabili. Il contributo della varietà e le variabili agronomiche (corredo enzimatico, dotazione fenolica dell'oliva, maturazione, postraccolta, etc) possono infatti giocare un ruolo ben più netto nel definire la qualità del prodotto.

Riassunto

La fase della gramolazione è un'operazione fondamentale nel diagramma di produzione dell'olio vergine di oliva ai fini della qualità organolettica e della stabilità all'ossidazione del prodotto. Gli effetti della gramolazione sulla qualità dell'olio dipendono dal diagramma tempo/temperatura e dall'esposizione all'aria della pasta. In questo studio è stata utilizzata una gramola chiusa per valutare l'effetto di diverse condizioni di gramolazione (tempo, volume di aria) sugli indici analitici di qualità, sulle componenti volatili, fenoliche e sulle caratteristiche organolettiche di campioni di olio ottenuti a partire da olive delle cultivar *Leccino* e *Salella*. Si è osservato un significativo aumento dei valori del numero di perossidi ed una riduzione delle sostanze fenoliche totali per tempi di gramolazione e volumi d'aria più elevati. Inoltre l'analisi delle sostanze volatili ha mostrato una riduzione della *trans*-2-esenale e degli alcoli ed un netto incremento del *cis*-3-esenil acetato e dell'esenilacetato. L'effetto combinato del tempo di gramolazione e del volume dello spazio di testa (aria) non sempre determina modificazioni significative sulla qualità dell'olio. Le caratteristiche varietali e le variabili agronomiche possono avere un ruolo ben più netto nel definire la qualità del prodotto.

Parole chiave: olio di oliva, gramolazione, ossigeno, qualità.

Bibliografia

APARICIO R., MORALES M.T., 1999. *Effect of Extraction Conditions on Sensory Quality of Virgin olive Oil*. JAOCS, 76: 295-301.

DI GIOVACCHINO L., SESTILI S., DI VINCENZO D., 2002a. *Influence of olive processing on virgin olive oil quality.* Eur. J. Lipid Sci. Technol. 104: 587-60.

DI GIOVACCHINO L., COSTANTINI N., FERRANTE M.L., SERRAIOCCO A., 2002b. *Influence of malaxation time of olive paste on oil extraction yields and chemical and organoleptic characteristics of virgin olive oil obtained by a centrifugal decanter at water saving*. Grasas y Aceites 53: 179-186.

MINGUEZ-MOSQUERA M.I., REJANO-NAVARRO L., GANDUL-ROJAS B., SANCHEZ-GOMEZ A. H., GARRIDO-FERRANDEZ J., 1991. *Color pigment correlation in virgin olive oil*. JAOCS. 68: 332-336.

MONTEDORO G.F., SERVILI M., BALDIOLI M., 1994. *Stato di dispersione colloidale delle paste di oliva e le implicazioni sulle caratteristiche compositive dell'olio*. Proc. Symp. "Le centrifughe a due fasi nell'estrazione dell'olio di oliva: problematiche, prospettive qualitative e implicazioni della utilizzazione dei sottoprodotti". Accademia Nazionale dell'olivo, Spoleto: 21-41.

REGOLAMANTO CEE n. 2568/91 del 11 luglio 1991 relativo alle caratteristiche degli oli di oliva e degli oli di sansa d'oliva nonché ai metodi ad essi attinenti. Gazz. Uff. Com. Europ. 5/9/91 NL 248/1.

SACCHI R., PADUANO A., FIORE F., DELLA MEDAGLIA D., AMBROSINO ML, MEDINA I., 20002. *Partition Behavior of virgin olive oil phenolic compounds in in Oil-Brine mixtures during thermal processing for fish canning*. J. Agric. Food Chem. 50: 2830-2835.

SOLINAS M., 1990. *Principio di estrazione dell'olio dalle olive*. In: Problematiche qualitative dell'olio di oliva: 75-81.

VICHI S., CASTELLOTE A. I., PIZZALE L, CONTE L. S., BUXADERAS S., LÒPEZ-TAMAMES E., 2003. *Analysis of virgin olive oil volatile compounds by headspace solid-phaseMicroExtraction coupled to gas chromatography with mass spectrometric and flame ionization detection.* J. Chromatography A. 983: 19-33.

Effetto della denocciolazione sulla qualità degli oli extravergini di oliva in relazione a varietà e grado di maturazione

Paduano A.[1], Ambrosino M.L.[2], Della Medaglia D.A.[1], Monteleone E.[3] e Sacchi R.[1]
[1] Dipartimento di Scienza degli Alimenti, Università di Napoli Federico II
[2] ASA Analisti Sensoriali Associati, Napoli
[3] Dipartimento di Biotecnologie Agrarie, Università di Firenze

Destoning effect on virgin olive oils quality related to variety and ripening

Abstract. The practice of destoning is a phase with high potential impact on the quality of the finished product. This experimental work had the objective to study the effect of destoning on quality of virgin olive oil, using lots of different varieties of olives at different ripening. The extra virgin olive oil produced with the destoning showed, compared to traditional oil mill, a lower primary oxidation and an increase of phenolic compounds and volatile strongly related to varietal factor. These results confirmed the data obtained from the panel test, because in the sensory profiles of the destoned samples were observed, more evident, some notes of the flavor. Improving the quality of extra virgin olive oil produced with the destoning appeared, however, influenced by the ripeness of the olives. If the latter is advanced, oils showed no significant differences in composition and sensory evaluation.

Key words: virgin olive oil, destoning, ripening, quality.

Introduzione

Negli ultimi anni, il mercato dell'olio extra vergine di oliva richiede sempre più prodotti di elevata qualità, in cui siano esaltate le caratteristiche nutrizionali ed organolettiche. L'olio extra vergine di oliva è ormai riconosciuto sia come prodotto salutare contenente apprezzabili quantità di componenti minori aventi un importante ruolo biologico sia per le sue proprietà edonistiche che lo rendono unico tra gli oli alimentari. La tendenza a migliorare il livello qualitativo per soddisfare consumatori sempre più esigenti ha riportato, da qualche anno, alla pratica di estrarre olio da paste d'oliva denocciolate per ottenere "olio di sola polpa" (AA.VV., 2002; Frega, 1997).

Le caratteristiche peculiari di un olio d'oliva vergine vengono condizionate da diversi fattori: la varietà e il grado di maturazione delle olive, le condizioni pedoclimatiche, le tecniche agronomiche e le modalità di raccolta. Inoltre, a parità di materia prima, durante il processo di lavorazione le olive subiscono modificazioni di tipo enzimatico ed ossidativo nonché la ripartizione dei composti aromatici e antiossidanti tra la fase oleosa e l'acqua di vegetazione, che condizionano quelle che sono le proprietà del prodotto finito.

La pratica della denocciolazione, che si inserisce nel processo produttivo nel momento della frangitura delle olive, è, indubbiamente, una fase a forte impatto sulla potenziale qualità del prodotto finito (Frega *et al.*, 1999; Angerosa *et al.*, 1999; Mattei *et al.*, 2001).

Il panorama degli studi effettuati sulla qualità degli oli da olive denocciolate risulta abbastanza eterogeneo e mancano studi sperimentali effettuati sul presupposto di una probabile correlazione tra stadio di maturazione delle drupe e incidenza della denocciolazione sulla qualità dell'olio prodotto.

Il presente lavoro sperimentale ha avuto l'obiettivo di studiare l'effetto della denocciolazione delle olive e della tradizionale frangitura, sulla qualità dell'olio di oliva extravergine, impiegando partite di olive di diversa varietà e grado di maturazione.

Materiali e metodi

I campioni di olio sono stati ottenuti da olive monovarietali (*Coratina, Ogliarola del Bradano, Maiatica, Rotondella*) in due diverse epoche di raccolta (I e III decade di novembre).

Le olive sono state trasformate, nelle stesse condizioni operative, in impianti industriali continui costituiti da due linee parallele, una con denocciolatore e l'altra con frangitore tradizionale.

Sui campioni di olio sono stati determinati i parametri di qualità ed il panel test secondo i metodi ufficiali di analisi (Reg. CEE 2568/91), la frazione fenolica mediante analisi HPLC-DAD (Sacchi *et al.*, 2002) e l'analisi delle principali sostanze volatili mediante DHS-GC (Morales *et al.*, 1994).

L'elaborazione statistica dei dati è stata effettuata mediante analisi delle componenti principali (PCA) e l'analisi della varianza (ANOVA), con l'utilizzo del software Excel STAT Addinsoft version 6.1.

Risultati e discussione

Dall'analisi dei dati, gli indici analitici (Acidità, Numero di Perossidi, Indici Spettrofotometrici) non sempre sono risultati discriminanti al fine di differenziare il campione tradizionale e quello ottenuto da olive denocciolate. Tuttavia, negli oli da olive denocciolate, allo stadio di maturazione più precoce, il Numero di Perossidi è risultato sempre lievemente ma significativamente ($p<0,05$) minore rispetto a quelli tradizionali, indipendentemente dalla varietà delle olive.

I profili sensoriali degli oli, in tutte le varietà studiate, sono risultati caratterizzati, al primo prelievo, da un fruttato medio-alto e dalla chiara percezione degli attributi di amaro e piccante accompagnata da note di erba/foglia, mela, carciofo e pomodoro. Si è potuto constatare che quasi sempre l'intensità di tali attributi risulti più spiccata nei campioni denocciolati, se confrontati con i corrispondenti campioni tradizionali. I profili sensoriali degli oli prodotti dalla varietà *Maiatica* non sembrano, invece, risentire dell'effetto della denocciolazione. Alla seconda epoca di raccolta, con l'avanzare della maturazione, anche per le altre varietà, i profili non sono apparsi differenziati in funzione del trattamento tecnologico.

In figura 1 sono riportati i profili sensoriali relativi alla varietà *Coratina* sottoposta a sperimentazione. Si può osservare come le differenze nel profilo sensoriale riconducibili alla denocciolazione sono evidenti nei campioni ottenuti alla prima epoca di raccolta (a).

La componente biofenolica degli oli ha evidenziato una dotazione in composti fenolici, sia semplici che complessi, diversificata in funzione delle varietà considerate: in particolare, i campioni prodotti da *Ogliarola*, *Coratina* e *Rotondella* sono caratterizzati da un maggiore contenuto in composti fenolici rispetto a quelli ottenuti dalla varietà Maiatica. Per quest'ultima varietà non sono state riscontrate differenze significative ($p>0,05$) attribuibili al trattamento tecnologico di denocciolazione, né allo stadio di maturazione.

In generale, i campioni denocciolati hanno mostrato un maggiore contenuto di composti biofenolici, soprattutto complessi (OHTy-EDA, Ty-EDA, OHTy-EA, Ty-EA) nei confronti dei corrispettivi campioni tradizionali ($p<0,05$). Allo stadio di maturazione più avanzato, si osserva negli oli da olive denocciolate un complessivo decremento dei fenoli totali, senza mostrare più significative differenze ($p>0,05$) in funzione della tecnologia di processo, risultando simili ai campioni tradizionali.

I campioni di *Ogliarola* e di *Coratina* ottenuti con il frangitore tradizionale alla seconda epoca di raccolta sono, inoltre, risultati più ricchi in composti fenolici rispetto ai corrispondenti campioni alla prima epoca (fig. 2). Tutto questo indicherebbe che, per tali varietà, l'operazione di denocciolazione delle olive produrrebbe un reale arricchimento degli oli in composti fenolici, solo allo stadio più anticipato di maturazione delle olive.

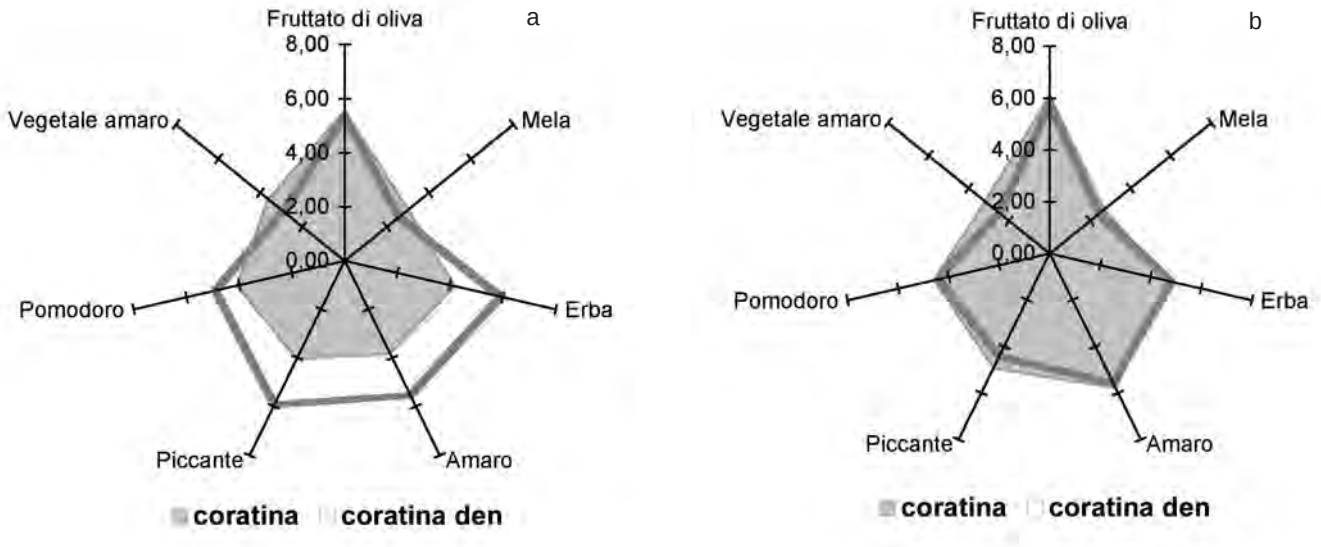


Fig. 1 - Profili sensoriali degli oli prodotti dalla varietà Coratina alla I (a) ed alla III (b) decade di novembre.
Fig. 1 - Sensory profiles of Coratina variety oils obtained to I (a) and III (b) decade of November.

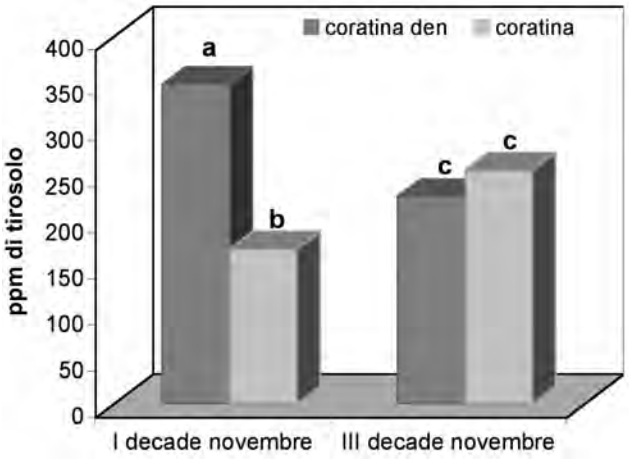


Fig. 2 - Fenoli totali degli oli prodotti dalla varietà Coratina alla I ed alla III decade di novembre.
Fig. 2 - Total phenols Coratina variety oil obtained to I and III decade of November.

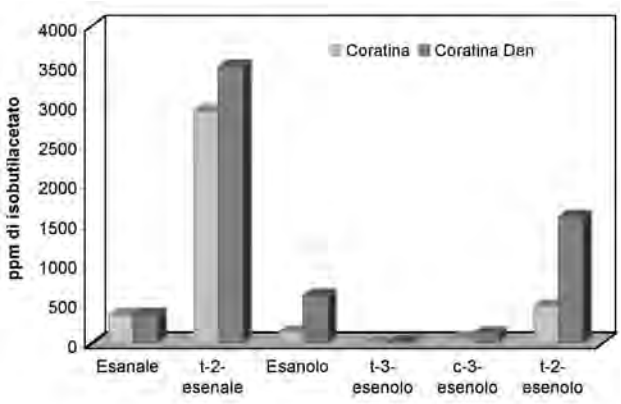


Fig. 3 - Principali composti volatili C6 rilevati negli oli prodotti dalla varietà Coratina alla I decade di novembre.
Fig. 3 - Major C6 volatile compounds found in Coratina variety oil obtained to I decade of November.

L'analisi DHS-GC dei composti volatili degli oli ha evidenziato oltre 50 differenti composti. Sono stati presi in considerazione i principali composti volatili C6 derivanti dalla via della lipossigenasi, responsabili dei sentori di foglie, frutti e vegetali non completamente maturi e, con diverse sfumature, dell'erba appena tagliata (note verdi e fruttate) (Angerosa *et al.*, 1999).

È stato possibile osservare delle differenze, soprattutto al primo prelievo, tra i campioni sottoposti al processo di denocciolazione e quelli ottenuti in maniera tradizionale. In particolare, tra i composti C6, gli alcoli sono risultati maggiori negli oli denocciolati contribuendo alla loro complessità aromatica. Ciò si evince dalla figura 3 dove sono riportati i principali composti volatili C6 rilevati negli oli prodotti dalla varietà *Coratina* alla I decade di novembre.

In figura 4 si riportano il *loading plot* e lo *score plot* risultanti dalla PCA effettuata per gli attributi sensoriali, la composizione fenolica ed i principali composti volatili C6 identificati nei campioni di olio ottenuti mediante le due diverse tecnologie (denocciolazione e frangitura tradizionale). Lo *score plot* mette in evidenza nette differenze per le coppie di campioni di *Coratina* e *Ogliarola* ottenuti da olive alla prima epoca di raccolta: i campioni di olio da paste denocciolate (1 cor de e 1 ogl de), risultano correlati sia ai composti fenolici che alla maggior parte dei composti

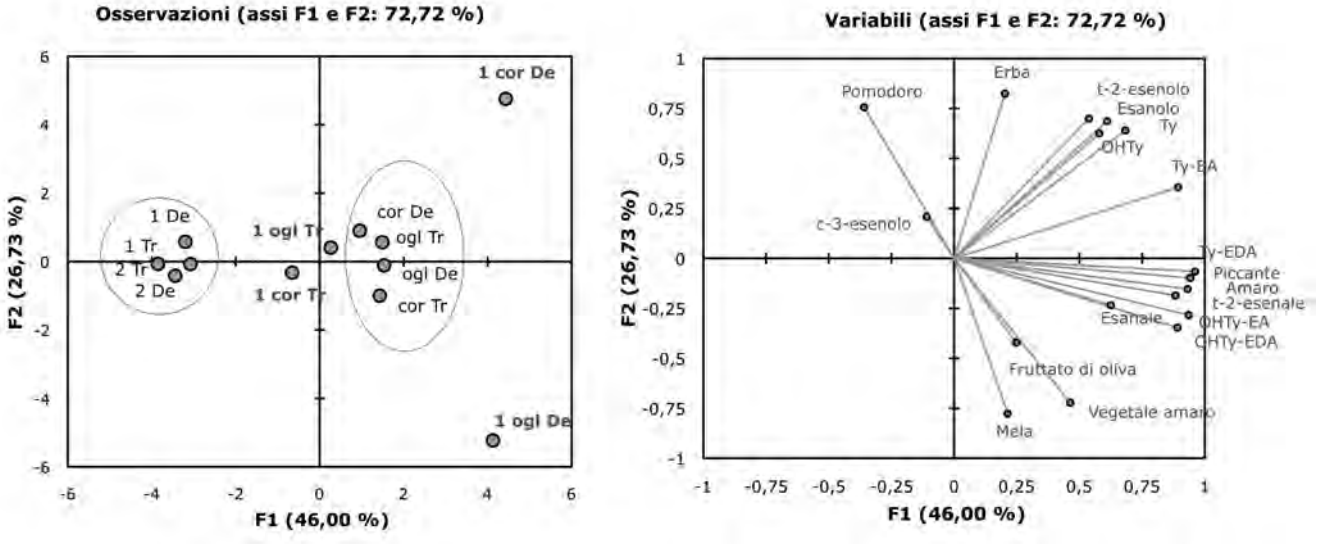


Fig. 4 - *Loading plot* (a) e *score plot* (b) risultante dalla PCA (totale varianza spiegata: 73%) effettuata per gli attributi sensoriali, la composizione fenolica ed i principali composti volatili C6 rilevati mediante DHS-GC.
Fig. 4 - Loading plot (a) and score plot (b) resulting from PCA (total variance explained: 73%) carried out for the sensory attributes, the phenolic composition and major C6 volatile compounds identified by DHS-GC.

volatili considerati oltre che agli attributi sensoriali riconducibili alle note verdi. Nella successiva epoca di raccolta, i campioni denocciolati e non denocciolati, non presentano differenze significative, ed appaiono raggruppati in funzione dell'epoca di raccolta. Gli oli appartenenti alla varietà *Maiatica*, invece, non presentano significative differenze sia alla prima epoca di raccolta che alla seconda.

Conclusioni

L'olio extra vergine d'oliva prodotto con il sistema della denocciolazione mostra, rispetto alla frangitura tradizionale, un minore stato di ossidazione primaria e un incremento di composti fenolici e volatili fortemente legato al fattore varietale. L'impatto maggiore è stato riscontrato sul profilo sensoriale, in quanto gli oli denocciolati sono apparsi differenziati soprattutto sulla base dell'intensità di percezione del fruttato di oliva, dell'amaro, del piccante e delle note olfattive caratteristiche, risultate più evidenti rispetto ai campioni tradizionali. Inoltre, è possibile affermare che il miglioramento della qualità dell'olio extra vergine d'oliva prodotto con il sistema della denocciolazione delle paste appare fortemente legato allo stadio di maturazione all'atto della raccolta e trasformazione. Se quest'ultimo risulta avanzato (oltre invaiatura) gli oli non hanno mostrato significative differenze compositive e sensoriali. È coerente presupporre che i cambiamenti chimico-compositivi e strutturali cui il frutto è sottoposto con l'avanzamento dell'invaiatura, possano riflettersi nell'olio prodotto, e non differenziare il profilo qualitativo di un olio tradizionale da uno denocciolato.

Riassunto

La pratica della denocciolazione delle olive è una fase a forte impatto sulla potenziale qualità dell'olio prodotto. Il presente lavoro sperimentale ha avuto l'obiettivo di studiare l'effetto della denocciolazione sulla qualità dell'olio di oliva vergine, impiegando partite di olive di diversa varietà e diverso grado di maturazione. L'olio extra vergine d'oliva prodotto con il sistema della denocciolazione ha mostrato, rispetto alla frangitura tradizionale, un minore stato di ossidazione primaria e un incremento di composti fenolici e volatili fortemente legato al fattore varietale. Tali risultati hanno confermato i dati ottenuti mediante panel test, in quanto nei profili sensoriali dei campioni denocciolati si sono osservate, più evidenti, alcune note responsabili del *flavour*. Il miglioramento della qualità dell'olio extra vergine d'oliva prodotto con il sistema della denocciolazione è apparso, però, influenzato dallo stadio di maturazione delle olive. Se quest'ultimo risulta avanzato, gli oli non hanno mostrato significative differenze compositive e sensoriali.

Parole chiave: olio extravergine di oliva, denocciolazione, maturazione, qualità.

Bibliografia

AA.VV. 2002. *Innovazione tecnologica per l'estrazione di olio extravergine da paste di olive snocciolate*. I Georgofili Quaderni 2001-IV. Società Editrice Fiorentina, Firenze.

ANGEROSA F., BASTI C., VITO R., 1999. *Virgin olive oil volatile compounds from lipoxygenase pathway and characterization of some Italian cultivars*. J. Agric. Food Chem., 47: 836-839.

FREGA N., CAGLIOTI L., MOZZON M. 1997. *Composizione chimica e parametri di qualità degli oli estratti da paste snocciolate*. Riv. It.Sost.Grasse, 74: 241-245.

FREGA N., CAGLIOTI L., MOZZON M., 1999. *Oli estratti da olive denocciolate: composizione chimica e parametri di qualità*. Olivo & olio, 1/2: 40-44.

MATTEI A., MAROTTA F., GIACCHERINI C., MULINACCI N., ROMANI A., INNOCENTI M., VINCERI F., BACCIONI L., FAZIO D., 2001. *Caratteristiche degli extravergini da olive snocciolate*. Olivo & Olio, 1/2: 44-47.

MORALES M.T., APARICIO R., RIOS J.J., 1994. *Dynamic headspace gas chromatographic method for determining volatiles in virgin olive oil*. J. Chromatog. A. 668: 455-462.

REGOLAMANTO CEE n. 2568/91 del 11 luglio 1991 relativo alle caratteristiche degli oli di oliva e degli oli di sansa d'oliva nonché ai metodi ad essi attinenti. Gazz. Uff. Com. Europ. 5/9/91 NL 248/1.

SACCHI R., PADUANO A., FIORE F., DELLA MEDAGLIA D., AMBROSINO M.L., MEDINA I., 2002 *Partition Behavior of virgin olive oil phenolic compounds in in Oil-Brine mixtures during thermal processing for fish canning*. J. Agric. Food Chem., 50: 2830-2835.

Acta Italus Hortus 1: 345-348

Innovazioni per la certificazione delle produzioni vivaistiche di olivo: il contributo del progetto OLVIVA

Savino V. [1], Baldoni L.[2], Faggioli F.[3], Loconsole G.[1] e Saponari M.[4]
[1] Dipartimento di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata, Università di Bari
[2] CNR, Istituto di Genetica Vegetale, Perugia
[3] CRA, PAV Centro di Ricerca per la Patologia Vegetale, Roma
[4] CNR, Istituto di Virologia Vegetale, Bari

New tools for the certification of olive nursery productions: the contribution of the research project "OLVIVA"

Abstract. The project "OLVIVA", supported by the Italian law 499/99, involves 25 different Scientific Institutions placed in 12 Italian regions. The aim of the project is to develop tools to improve protocols for clonal and phytosanitary certification of olive propagation material. Specific actions are (i) the assessment of cultivar genetic identity based on SSR markers for 200 main cultivars; (ii) the production of nuclear stocks (Primary Sources) for 70 olive cultivars and application for their registration in the certification system. The goal of the project is the definition of advanced, common and harmonized methodologies to perform reliable controls in all steps of the certification system.

Key words: olive, characterization, certification, common methodologies, Primary Sources.

Normative per la certificazione

L'esigenza di certificare le produzioni vivaistiche olivicole è stata recepita sin dagli anni '90 sia a livello locale e nazionale che comunitario, attraverso un pacchetto di normative e disciplinari a carattere volontario (DM 16/06/1993 recentemente sostituito dal DM 20/11/2006) ed obbligatorio (DM 14/04/1997). Le suddette normative forniscono le indicazioni generali relativamente ai protocolli per i controlli di certificazione varietale e sanitaria e alle modalità di gestione e conservazione dei materiali di propagazione nelle diverse fasi della filiera di certificazione.

Obiettivi e traguardi del progetto

Nell'ampio panorama di iniziative di promozione e valorizzazione delle produzioni oleicole che interessano diverse realtà regionali, il progetto di ricerca OLVIVA (2006-2009) si contraddistingue per: 1) l'interregionalità dell'iniziativa; 2) il programma di ricerca scientifica finalizzato allo sviluppo di innovazioni tecnologiche per la qualificazione della filiera olivicola sin dal suo primo stadio: la pianta di olivo.

Il Progetto finanziato nell'ambito della L. 499/99 - Programmi Interregionali-Programma "Sviluppo Rurale" Sottoprogramma"Innovazione e Ricerca" D.M. n.25279 del 23/12/03, vede coinvolte 25 Istituzioni di Ricerca (Università, centri di ricerca del CNR e del CRA) che operano in dodici regioni italiane (Liguria, Toscana, Umbria, Marche, Lazio, Campania, Molise, Basilicata, Puglia, Calabria, Sicilia, Sardegna).

Obiettivi del progetto sono il riordino del patrimonio varietale olivicolo nazionale ed il miglioramento degli standard qualitativi del vivaismo nazionale, attraverso l'applicazione e il trasferimento di innovazioni tecnologiche e metodologie comuni, al fine di valorizzare e qualificare l'intera filiera.

In particolare il progetto ha quattro linee di intervento: a) caratterizzazione delle principali cultivar mediante la definizione e validazione di un set di marcatori molecolari e di descrittori morfologici comuni, con particolare riferimento alla messa a punto di sistemi validati ed univoci per la certificazione varietale dei materiali di propagazione; b) la verifica dello stato sanitario del materiale oggetto degli studi attraverso l'applicazione di tecniche innovative e standardizzate di diagnosi fitopatologica; c) la costituzione di 70 Fonti Primarie (anche attraverso l'applicazione di tecniche di risanamento da agenti virali) da immettere nel sistema nazionale di certificazione (D.M. 20/11/2006); d) il miglioramento degli schemi di produzione e di difesa fitosanitaria in vivaio mediante la sperimentazione e validazione di sistemi innovativi di propagazione (utilizzo della micorrizzazione, della micropropagazione e dell'innesto in verde) e di sistemi eco-compatibili di gestione della produzione vivaistica.

Tra i traguardi che il progetto si propone di raggiungere, assume fondamentale importanza la definizione di metodologie innovative, univoche e comuni per la caratterizzazione varietale e sanitaria dei mate-

riali di propagazione in ogni fase della filiera di certificazione delle produzioni vivaistiche di olivo (fig. 1).

Infatti un sistema di certificazione non può prescindere dall'impiego di protocolli aggiornati, uniformi e validati, in grado di assicurare lo stesso livello di garanzia fitosanitaria e di corrispondenza varietale indipendentemente dalla realtà in cui si va ad operare. Le normative prima citate definiscono le tecniche diagnostiche, i periodi ottimali per il campionamento, gli organi della pianta da ispezionare e da utilizzare per i rilievi biometrici, le tecniche per la caratterizzazione genetica ecc. In base a questo ogni laboratorio esegue i saggi utilizzando reagenti, concentrazioni, cicli termici, etc. standardizzati sulla base delle proprie esperienze. Il progetto OLVIVA coinvolgendo i principali centri di ricerca impegnati su questi due fronti (certificazione varietale e sanitaria), rappresenta un'opportunità unica per definire ed utilizzare approcci di ricerca comuni nell'ambito di ciascuna tematica affrontata e per verificare la ripetibilità dei risultati nelle diverse situazioni operative. Pertanto la prima fase del progetto ha riguardato lo svolgimento di due ringtest specifici, rispettivamente per la selezione e l'impiego di marcatori SSR e per la selezione di primer virus-specifici e relativi protocolli di impiego ai fini della diagnostica virologica.

Caratterizzazione molecolare

È stato usato un pool comune di 18 marcatori microsatelliti (detti anche SSR, *Simple Sequence Repeats*) (Sefc *et al*., 2000; Carriero *et al*., 2002; Cipriani *et al*., 2002; de la Rosa *et al*., 2002) preventivamente selezionati sulla base della loro capacità di discriminazione, chiarezza del segnale, a singolo locus, senza alleli nulli e non co-segreganti tra loro (Sarri *et al*., 2006). Per la validazione dei risultati è stato eseguito un Ring-Test che consisteva nell'analisi di campioni sconosciuti da parte di tutti i laboratori e nella comparazione dei risultati ottenuti.

Una volta concordati i diversi profili molecolari, l'attività del Progetto prevede l'assemblaggio dei dati di tutte le varietà, per valutare il grado di similarità genetica fra tutte le cultivar in esame.

Questa iniziativa rappresenta il primo tentativo di comparazione complessiva dei dati prodotti da diversi laboratori su varietà delle diverse regioni e lo scopo è quello di poter finalmente disporre di informazioni

Fig. 1 - Esempio di cartellino-certificato per piante di olivo con stato sanitario virus-esente.
Fig. 1 - Virus-free certified plants identified by the specific plant tags.

univoche sull'identità delle varietà e sugli eventuali casi di sinonimia ed omonimia.

Caratterizzazione morfologica

I rilievi bio-morfologici e pomologici sono stati eseguiti secondo una scheda di rilevazione dati che include i principali descrittori di pianta, foglia, infiorescenza, frutto ed endocarpo. L'insieme dei profili molecolari e dei parametri morfologici consentirà la definizione di una 'carta d'identità' per descrivere ciascuna cultivar sul piano genetico e fenotipico.

Verifica dello stato sanitario

Nella prima fase del progetto, per la diagnosi dei patogeni virali si è proceduto alla scelta e validazione di un protocollo diagnostico mediante ring test tra diversi laboratori. Sulla base di quanto emerso dai risultati, il protocollo di amplificazione genica in singolo tubo riportato in Faggioli *et al*., 2005 è risultato quello più facilmente applicabile nei diversi laboratori e con un grado più elevato di efficacia e sensibilità nonché in grado di rilevare il maggior numero di isolati per ciascuno dei virus contemplati dalla normativa (tab. 1). Inoltre sono state definite e validate le coppie di oligonucleotidi sintetici (Sabanadzovic *et al*., 1999; Grieco *et al*., 2000; Cardoso *et al*., 2004; Faggioli *et a*l., 2005) in grado individuare il maggior numero di isolati per ciascun virus riportato in tabella 1. Anche per quanto riguarda la diagnosi di *Verticillium dahlie* e *Phytophtora* spp il progetto prevede lo sviluppo di nuove tecnologie diagnostiche e di metodi di controllo a basso impatto ambientale e, in particolare per il *Verticillium*, l'identificazione di germoplasma resistente o tollerante al patogeno. Infine, con la tecnica del risanamento, il progetto prevede di ottenere materiale sanitariamente valido ed idoneo all'immissione nei canali della certificazione, anche per quelle cultivar il cui stato sanitario risulta essere particolarmente compromesso dalla presenza di agenti virali invalidanti. E' questo il caso di diverse cultivar dell'Italia meridionale che risultano essere totalmente affette in particolare dal virus associato ingiallimento fogliare dell'olivo (OLYaV).

Conclusioni

Il Progetto OLVIVA ha non solo come principale obiettivo la costituzione di almeno 70 nuove accessioni di cultivar di olivo, appartenenti a tutte le Regioni facenti parte del progetto, da immettere nei canali

Tab. 1 - Indicazioni contenute nel DM 20/11/2006 relativamente agli agenti virali e ai protocolli di diagnosi da impiegare per la certificazione fitosanitaria dei materiali propagazione di olivo.

Tab. 1 - Guidelines reported in the DM 20/11/2006 about the viral agents and the relative detection protocol to certify the sanitary status of olive propagation material.

Malattia/Organismo nocivo	Virus controllato (VT)		Indicazioni per la diagnosi stabilite nel DM 20/11/06	Parametri oggetto di standardizzazione nell'ambito del ringtest OLVIVA
	Virus esente (VF)	Virus controllato (VT)		
Mosaico dell'Arabis (ArMV)	X	X	RT-PCR* o I.M.** utilizzando tessuto floematico ricavato da rami ben lignificati	- periodo di campionamento - numero di rami/campione - numero di campioni/pianta -protocollo per la preparazione dell'estratto vegetale - oligonucleotidi per le reazioni di RT-PCR - concentrazioni dei reagenti e cicli termici per le reazioni di RT-PCR - ribosonde per le reazioni di I.M. Reagenti e condizioni operative per le reazioni di I.M. - comparazione del livello di sensibilita' e ripetibilita' dei risultati ottenuti impiegando le diverse condizioni operative
Accartocciamento fogliare del ciliegio (CLRV)	X	X		
Maculatura anulare latente della fragola (SLRV)	X	X		
Mosaico del cetriolo (CMV)	X			
Latente 1 dell'olivo (OLV1)	X	X		
Latente 2 dell'olivo (OLV2)	X			
Associato all'ingiallimento fogliare dell'olivo (OLYaV)	X	X		
Necrosi del tabacco (TNV)	X			

* Reazioni di trascrizione inversa seguita da amplificazione genica; **Ibridazione molecolare

della certificazione, ma per la prima volta è previsto anche che l'accertamento dei requisiti genetici e sanitari sia ottenuto attraverso l'utilizzazione di protocolli comuni validati ed univoci. Ultimato il progetto, in tutti i laboratori nazionali si potrà ricorrere ad un identico sistema per ottenere: (i) un 'impronta genetica delle diverse varietà, passo indispensabile per risolvere casi di sinonimia e fornire strumenti analitici per la certificazione genetica del materiale di propagazione e per la tracciabilità varietale degli oli; (ii) una scheda varietale elaborata utilizzando descrittori bio-morfologici univoci e comuni; (iii) la definizione dello stato fitosanitario di una pianta di olivo utilizzando tecniche di campionamento e di diagnosi comuni.

Riassunto

Il progetto OLVIVA, finanziato nell'ambito della L. 499/99, rappresenta un'iniziativa interregionale che vede coinvolte 25 diverse Istituzioni scientifiche dislocate in 12 regioni italiane e che ha l'obiettivo di fornire gli strumenti operativi necessari per l'immediata applicazione dei nuovi protocolli di certificazione fitosanitaria e di corrispondenza varietale per le cultivar di olivo. Obiettivi specifici del progetto sono il riordino del patrimonio varietale nazionale mediante caratterizzazione molecolare e morfologica di 200 cultivar, la produzione di 70 Fonti Primarie da immettere nel sistema di certificazione ed il miglioramento degli standard qualitativi del vivaismo olivicolo nazionale. Uno dei traguardi che il progetto si propone di raggiungere è la definizione di metodologie innovative, univoche e comuni da applicare in tutta la filiera di certificazione nazionale per assicurare standard qualitativi elevati e garanzie fitosanitarie uniformi.

Parole chiave: olivo, caratterizzazione, certificazione, metodologie univoche, Fonti Primarie.

Bibliografia

CARDOSO J.M.S., FELIX M.R., OLIVEIRA S., CLARA M.I.E., 2004. *A Tobacco necrosis virus D isolate from* Olea europaea *L.: viral characterization and coat protein sequence analysis.* Archives of Virology, 149: 1129-1138.

CARRIERO F., FONTANAZZA G., CELLINI F., GIORIO G., 2002. *Identification of simple sequence repeats (SSRs) in olive (*Olea europaea *L.)*. Theor. App. Gen., 104: 301-307.

CIPRIANI G., MARRAZZO M.T., MARCONI R., CIMATO A., TESTOLIN R., 2002. *Microsatellite markers isolated in olive (*Olea europaea *L.) are suitable for individual fingerprinting and reveal polymorphism within ancient cultivars*. Theor. App. Gen., 104: 223-228.

DE LA ROSA R., JAMES C.M., TOBUTT K.R., 2002. *Isolation and characterization of polymorphic microsatellites in olive (*Olea europaea *L.) and their transferability to other genera in the Oleaceae*. Molecular Ecology Notes, 2: 265-267.

FAGGIOLI F., FERETTI L., ALBANESE G., SCIARRONTI R., PASQUINI G., LUMIA V., BARBA M., 2005. *Distribution of olive tree viruses in Italy as revealed by one-step RT-PCR*. J. Plant Pathology, 87 (1): 49-55.

GRIECO F., ALKOWNI R., SAPONARI M., SAVINO V., MARTELLI G.P., 2000. *Molecular detection of olive viruses*. Bullettin OEPP/EPPO Bullettin, 30: 469-473.

SABANADZOVIC S., ABOU-GHANEM N., LA NOTTE P., SAVINO V., SCARITO G., MARTELLI G.P., 1999. *Partial molecular characterization and RT-PCR detection of a putative closterovirus associated with olive leaf yellowing.* J. of Plant Pathology, 81: 37-45.

SARRI V., BALDONI L., PORCEDDU A., CULTRERA N.G.M., CONTENTO A., FREDIANI M., BELAJ A., TRUJILLO I., CIONINI P.G., 2006. *Microsatellite markers are powerful tools for discriminating among olive cultivars and assigning them to geographically defined populations.* Genome, 49(12): 1606-1615.

SEFC K.M., LOPES M.S., MENDONÇA D., RODRIGUES DOS SANTOS M., LAIMER DA CAMARA MACHADO M., DA CAMARA MACHADO A., 2000. *Identification of microsatellite loci in olive (*Olea europaea*) and their characterization in Italian and Iberian olive trees*. Molecular Ecology, 9: 1171-1173.

Acta Italus Hortus 1: 349-352

Controllo eco-sostenibile della mosca dell'olivo: recenti acquisizioni

Bernardo U. e Guerrieri E.*
CNR Istituto per la Protezione delle Piante, Portici (NA)

The sustainable control of the olive fruit fly: new perspectives

Abstract. Bactrocera oleae is still considered the key pest of olive cultivation, mainly in costal and insular areas, and in the organic farming. In the last 20 years, there have been many attempts of biological control of this pest by mass introduction of insect parasitoids (e. g. Pyittalia (=Opius) concolor) but the results are far from being considered satisfactory. However, these "failures" did not stop the collection and the characterization of the numerous antagonists of the olive fruit fly. At the moment the best perspectives of sustainable control are represented by the use of attractive baits associated to bio-insecticides. Recently, one of these compounds, derived from a bacterium, has been registered against B. oleae and its use is allowed by the regional protocols of organic farming. The main positive feature of this compound is the selectivity of application, with reduced effects on natural antagonists. Preliminary results about the use of symbiotic bacteria of the fly are promising but still in their infancy. The correct monitoring and the time/method of olive harvesting still deeply affect the successful control of the olive fruit-fly.

Key words: Bactrocera oleae, biological control, parasitoids, Pnigalio mediterraneus, spinosad.

Nelle aree costiere ed insulari del Bacino del Mediterraneo la mosca delle olive (*Bactrocera oleae*) (Rossi) (Raspi e Viggiani 2008) è da considerarsi ancora l'insetto chiave dell'olivo, soprattutto negli impianti a carattere "biologico" (Daane e Johnson 2010). Nelle aree in cui si è insidiata, la mosca può determinare perdite fino all'80 % negli oliveti da olio e fino al 100 % in quelli da tavola (Daane e Johnson 2010).

La riduzione dei principi attivi disponibili per il controllo degli insetti a seguito della revisione comunitaria (Direttiva 91/414/CEE) ha reso ancora più difficoltoso il controllo di taluni parassiti delle colture agrarie e ha determinato un sostanziale "ritorno al passato" attraverso l'uso di tecniche "tradizionali" di controllo, rese "moderne" attraverso l'uso di composti ed applicazioni di nuova generazione.

* guerrieri@ipp-cnr.it

In questo quadro, l'uso dei nemici naturali assume, un'importanza ancora maggiore, collegandosi alla lunga tradizione del controllo biologico della mosca delle olive cominciata proprio in Italia dal Prof. Silvestri (Silvestri 1910, 1913a, 1913b, 1914a, 1914b, 1915).

I parassitoidi che riescono a svilupparsi a spese della mosca delle olive sono numerosi, anche se quelli tradizionalmente più utilizzati, appartengono ad una piccola sottofamiglia dei Braconidae (Oopiinae) e sono considerati, ancora adesso, tra i principali antagonisti capaci di controllare il fitofago nel suo areale originario (Daane e Johnson, 2010). Nondimeno, se il complesso di parassitoidi della *B. oleae* è estremamente ampio e differenziato (Viggiani, 1994).

Nel corso degli ultimi 50 anni, sia in Italia che in diversi paesi del Mediterraneo, sono stati numerosi i tentativi di controllo biologico della mosca effettuati soprattutto mediante il lancio in campo di ingenti quantitativi di *Psyttalia (=Opius) concolor* (Kapatos *et al.,* 1977; Miranda *et al.,* 2008). Questi lanci sono stati eseguiti anche nell'ambito di strategie integrate di controllo (Hepdurgun *et al.,* 2009) ma i risultati, nonostante le ingenti quantità d'insetti lanciati, non sono stati incoraggianti soprattutto nelle aree dove maggiore è la presenza del fitofago e dove le condizioni ambientali risultano perfette per il suo sviluppo esponenziale. Tentativi più recenti di lotta biologica sono stati compiuti anche con altri parassitoidi quali ad esempio l'*Eupelmus urozonus* (Delrio *et al.,* 2007) ma anche questo parassitoide si è mostrato inidoneo, come immaginabile trattandosi di una specie altamente polifaga, ed ha confermato la sua attitudine a comportarsi da iperparassitoide, anche a spese di individui della stessa specie (auto parassitismo).

Le recenti tecniche di caratterizzazione hanno però evidenziato che anche il più famoso ed utilizzato parassitoide per il controllo della mosca è in realtà un complesso di specie criptiche con caratteristiche biologiche e potenzialità di controllo molto diverse e questo apre nuove e più ampie prospettive per un efficace controllo biologico di *B. oleae* (Rugman-Jones *et al*.. 2009).

I ripetuti insuccessi soprattutto nelle nostre zone non hanno però fermato la raccolta e la caratterizzazione del complesso degli antagonisti della mosca delle olive che, grazie alle nuove tecniche di caratte-

Fig. 1 - Adulto di *Bactrocera oleae.*
Fig. 1 - Adult of Bactrocera oleae.

Fig. 2 - Maschio di *Baryscapus silvestrii.*
Fig. 2 - Male of Baryscapus silvestrii.

rizzazione molecolare, è in continua evoluzione sia per l'importazione di nuove specie (Moretti *et al*., 2007) sia per il ritrovamento di entità nuove per la scienza (Viggiani *et al*., 2006). Il *Fopius arisanus* di recente introduzione ha, infatti, manifestato difficoltà di ambientamento legate alle particolari condizioni climatiche dell'Italia centrale dove sono risultate limitanti le alte temperature estive e la bassa umidità; questa specie si è comunque acclimatata (Moretti *et al*., 2007).

La lenta, inarrestabile avanzata del *Baryscapus silvestrii* a partire dalla piccola zona del suo primo ritrovamento (Salerno) (Viggiani *et al.*, 2006; Bernardo osservazioni personali), potrebbe rappresentare un ulteriore elemento di controllo da non sottovalutare. Ulteriori ricerche condotte presso l'IPP (CNR) hanno evidenziato che anche uno degli antagonisti più diffusi nella nostra penisola, il *Pnigalio agraules* (Boccaccio e Petacchi, 2009), è in realtà costituito da due specie ben separate geneticamente, ma quasi indistinguibili morfologicamente cui corrispondono caratteristiche biologiche differenti. *P. mediterraneus*, è specie altamente polifaga ma tra i suoi ospiti c'è anche *B. oleae* da cui è stata descritta. Viceversa, *P. agraules* presenta una polifagia più ristretta prevalentemente caratterizzata dai fillominatori delle querce (Gebiola *et al.*, 2009). Questa recentissima scoperta pone dubbi sull'effettiva importanza della presenza di querce nelle vicinanze dell'oliveto come fonte di ospiti alternativi del *P. mediterraneus* considerato uno dei capisaldi del controllo biologico della *B. oleae* (Silvestri, 1933; Tremblay, 1993)

La mosca delle olive è, però, un insetto a strategia riproduttiva "*r*", ossia in grado di vere e proprie esplosioni qualora si realizzino le condizioni climatiche ottimali, ed è quindi difficilmente controllabile esclusivamente con metodi biologici. E' per tale motivo che "tradizionali" tecniche di controllo vivono una seconda giovinezza attraverso nuove tecniche di formulazione e composizione. Ad esempio, prodotti "classici" come il caolino e l'idrossido di rame sono impiegati con migliori prospettive di successo in virtù di nuove formulazioni. I buoni risultati ottenuti con nuove formulazioni di caolino (ad esempio BPLK della Goonvean) sono però ancora fortemente legati alle condizioni climatiche ed ai mezzi di distribuzione. Il caolino, infatti, agisce come una barriera fisica che impedisce il riconoscimento della drupa da parte della mosca e/o ostacola la deposizione; perché agisca è richiesta la totale copertura della drupa che non sempre si ottiene con i distributori disponibili. Inoltre, i risultati sono soddisfacenti solo in annate poco piovose, poiché la pioggia, oltre ad alterare la omogenea distribuzione del prodotto sulla drupa, in alcuni casi lo dilava completamente richiedendo così numerose applicazioni con costi che diventano eccessivamente onerosi (Caleca *et al.*, 2005; Caleca e Rizzo, 2007).

L'utilizzo delle sostanze attrattive come metodo di monitoraggio e di lotta alla mosca delle olive ha radici antiche (Viggiani, 1994). Negli ultimi anni si è molto ampliata la gamma di insetticidi associabili alle esche realizzando un tipo di lotta rappresentato dalle trappole greche (Attract & kill, Ecotrap). In queste trappole, l'attrazione del fitofago è esercitata da un attrattivo alimentare (il bicarbonato di ammonio) e dal feromone sessuale, mentre l'uccisione dell'insetto è realizzata da una miscela di insetticidi (Deltametrina o Lambdacialotrina) di cui sono imbevute le trappole. Queste trappole hanno un costo molto elevato e forniscono dei risultati non uniformi (Viggiani e Bernardo, 2001).

Fig. 3 - Femmina di *Prigalio Mediterraneus.*
Fig. 3 - Female of Prigalio Mediterraneus.

Recentemente è stato immesso sul mercato un prodotto a base di una tossina estratta da un batterio, il cui uso è ammesso nei disciplinari di lotta biologica, associato proprio alle esche avvelenate. I primi risultati sono alquanto incoraggianti sia per l'efficacia che per la selettività di applicazione che consentirebbe di ridurre gli effetti negativi sulla fauna utile. Si tratta un esca proteica a base di spinosad (0,24 g/l) per il controllo sia di *B. oleae* che di *Ceratitis capitata*. Il principio attivo è prodotto dal batterio *Saccharopolyspora spinosa* ed è una miscela di spinosina A e spinosina D, l'attrattivo è invece una miscela di 6 ingredienti diversi: proteine vegetali, sostanze stabilizzanti, zuccheri, umettanti e sostanze che mantengono la soluzione applicata viscosa ed emettono sostanze attrattive volatili.

La possibilità di utilizzarlo in oliveti biologici si basa sulle dosi e sulla distribuzione spaziale del prodotto. In dettaglio, le esche contengono una quantità molto bassa di principio attivo insetticida e sono distribuite solo su parte delle chioma e non su tutte le piante. La scoperta che le spinosine sono molto attive per ingestione nei confronti della mosca ha quindi "ringiovanito" quella che era da considerare una vecchia tecnica di controllo. Vale però la pena di ricordare che l'ammissione all'uso di questo prodotto in olivicoltura biologica non evita che esso abbia un'azione tossica nei confronti degli antagonisti naturali della mosca (Bernardo e Viggiani, 2000; Van de Veire *et al.* 2004; Torres e Bueno, 2007). Come già evidenziato, il ridotto impatto sull'artropodofauna utile è determinato dalla selettività di posizione (il prodotto non è applicato su tutta la superficie) e dalla bassa quantità di p.a. distribuito per /ha (Vergoulas *et al.*, 2007). Come per il caolino, anche per le esche a base di spinosad la piovosità stagionale ha una grossa influenza sui risultati.

Tra i nuovi insetticidi di cui si è parlato negli ultimi anni come possibile mezzo di controllo della mosca c'è da segnalare, infine, l'azadiractina che dopo le prime segnalazioni che indicavano possibili buoni risultati, ha evidenziato tutti i suoi limiti legati sia al mancato controllo del fitofago sia alla totale mancanza di selettività (Viggiani e Bernardo, 2001).

Le recenti scoperte sull'importanza dei batteri per lo sviluppo della *B. oleae* sembrano aprire interessanti prospettive future che dovrebbero permettere il miglioramento delle sostanze attrattive utilizzate aumentandone sia il potere attrattivo che la selettività verso altri ditteri. Esistono già alcuni prodotti in commercio per altre mosche della frutta (Robacker, 2007).

La recente scoperta di batteri epifiti con simbiosi obbligata (candidatus *Erwinia dacicola*) con la *B. oleae* nonché i risultati ottenuti con estratti di questi batteri usati come attrattivi confermano le buone potenzialità di questi nuovi prodotti (Sacchetti *et al.* 2008).

Conclusioni

Allo stato attuale, le migliori prospettive di controllo eco-sostenibile sembrano concentrarsi ancora sull'uso di esche attrattive associate ad insetticidi di derivazione naturale.

L'uso di un prodotto recentemente immesso sul mercato sembra, infatti, fornire risultati alquanto incoraggianti sia per l'efficacia e sia per la selettività di applicazione e ciò consentirebbe di ridurre gli effetti negativi sulla fauna utile.

Restano da valutare le possibili applicazioni delle recenti scoperte su batteri simbionti che hanno fornito risultati molto interessanti.

L'efficacia del controllo della mosca non può però prescindere da un suo corretto monitoraggio associato ad adeguate tecniche di raccolta delle olive.

Riassunto

Nelle aree costiere ed insulari del Bacino del Mediterraneo *Bactrocera oleae* è ancora da considerarsi l'insetto chiave dell'olivo, soprattutto negli impianti a carattere "biologico". Nel corso degli ultimi 20 anni sono stati numerosi i tentativi di controllo biologico della mosca effettuati mediante il lancio in campo di ingenti quantitativi di limitatori naturali specifici della mosca (come ad esempio il parassitoide *Pyittalia (=Opius) concolor*). I risultati non sono stati incoraggianti soprattutto nelle aree dove maggiore è la presenza del fitofago ma tali insuccessi non hanno fermato la raccolta e la caratterizzazione del complesso

degli antagonisti della mosca delle olive. Allo stato attuale, le migliori prospettive di controllo eco-sostenibile sembrano concentrarsi ancora sull'uso di esche attrattive associate ad insetticidi di derivazione naturale. Recentemente è stato immesso sul mercato un prodotto a base di una tossina estratta da un batterio il cui uso è ammesso nei disciplinari di lotta biologica. I primi risultati sono alquanto incoraggianti per l'efficacia e per la selettività di applicazione, che consentirebbe di ridurre gli effetti negativi sulla fauna utile.

Restano da valutare le possibili applicazioni delle recenti scoperte su batteri simbionti che hanno fornito risultati molto interessanti.

Si conferma che il controllo della mosca non può però prescindere da un corretto monitoraggio e da adeguate tecniche di raccolta.

Parole chiave: *Bactrocera oleae*, controllo biologico, parassitoidi, *Pnigalio mediterraneus*, spinosad.

Bibliografia

BERNARDO U., VIGGIANI G. 2000. *Effects of Spinosad, a new insect control agent naturally derived, on the mealybug parasitoid* Leptomastix dactylopii *Howard (Hymenoptera: Encyrtidae)*. IOBC Bulletin 23(9): 81-84.

BOCCACCIO L., PETACCHI R., 2009. *Landscape effects on the complex of Bactrocera oleae parasitoids and implications for conservation biological control*. Biocontrol 54: 607-616.

CALECA V., RIZZO R., CORCELLA M., BATTAGLIA I. 2005. *Prove sull'efficacia del caolino e dell'idrossido di rame nel controllo di* Bactrocera oleae *(Gmelin)*. Atti congresso Italiano di Entomologia 13 – 18 Giugno 2005 Assisi, Perugia.

CALECA V., RIZZO R. 2007. *Tests on the effectiveness of kaolin and copper hydroxide in th econtrol of* Bactrocera oleae *(Gmelin)*. IOBC/wprs Bulletin 30(9): 111-117.

DAANE K., JOHNSON M. 2010. *Olive Fruit Fly: Managing an Ancient Pest in Modern Times*. Ann. Rev. Entomology 55: 155-169.

DELRIO G., LENTINI A., SATTA A. 2007. *Augmentative releases of* Eupelmus urozonus *Dalm. against the olive fruit fly and observations on its facultative hyperparasitism*. IOBC/wprs Bulletin 30(9): 47.

GEBIOLA M., BERNARDO U., MONTI M.M., NAVONE P., VIGGIANI G. 2009. Pnigalio agraules *(Walker) and* P. mediterraneus *Ferrière & Delucchi (Hymenoptera: Eulophidae): two closely related valid species*. J. Nat. Hist. 43: 2465-2480.

HEPDURGUN B., TURANLI T., ZUMREOGLU A. 2009. *Control of the olive fruit fly,* Bactrocera oleae, *(Diptera: Tephritide) trough mass trapping and mass releases of the parasitoid* Psyttalia concolor *(Hymenoptera: Braconidae) reared on irradiated Mediterranean fruit fly*. Biocontrol science and Technology 19: 211-224.

KAPATOS E., FLETCHER B.S., PAPPAS S., LAUDEHO Y. 1977. *Release of* Opius concolor *and* Opius concolor varsiculus *(Hym.: Braconidae) against spring generation of* Dacus oleae *(Dipt.: Trypetidae) on Corfu*. Entomophaga 22: 265–70.

MIRANDA M., MIQUEL M., TERRASSA J., MELIS N., MONERRIS M. 2008. *Parasitism of* Bactrocera oleae *(Diptera; Tephritidae) by* Psyttalia concolor *(Hymenoptera; Braconidae) in the Balearic Islands (Spain)*. J. Applied Entomology 132: 798-805.

MORETTI R., LAMPAZZI E., REINA P., CALVITTI M. 2007. *On the use response of the exotic oo-pupal parasitoid* Fopius arisanus *for the biological control of* Bactrocera oleae *in Italy*. IOBC/wprs Bulletin 30(9): 49-606.

RASPI A., VIGGIANI G. 2008. *On the senior authorship of* Musca oleae *(Diptera: Tephritidae)*. Zootaxa 1714: 67-68.

ROBACKER D.C. 2007. *Chemical ecology of bacterial relationships with fruit flies*. IOBC/wprs Bulletin 30(9): 9-22.

RUGMAN-JONES P., WHARTON R., NOORT T., STOUTHAMER R. 2009. *Molecular differentiation of the* Psyttalia concolor *(Szépligeti) species complex (Hymenoptera: Braconidae) associated with olive fly,* Bactrocera oleae *(Rossi) (Diptera: Tephritidae), in Africa*. Biological Control 49: 17-26.

SACCHETTI P., GRANCHIETTI A., LANDINI S., VITI C., GIOVANNETTI L., BELCARI A. 2008. *Relationships between the olive fly and bacteria*. J. Appl. Ent. 132: 682-689.

SILVESTRI F. 1910. *Introduzione in Italia d'un imenottero indiano per combattere la mosca delle arance*. Boll. La. Zool. Gen. Agr. Portici 4: 228-245.

SILVESTRI F. 1913a. *Notizie preliminari di un* Tetrastichus *(Imenottero Calcide) parassita di* Ceratitis *e* Dacus *nell'Africa occidentale*. R. Accademia dei Lincei 22: 205-245.

SILVESTRI F. 1913b. *Viaggio in Africa per cercare parassiti di mosche dei frutti*. Boll. Lab. Zool. Agr. Portici 8: 1-164.

SILVESTRI F. 1914a. *Report on an expedition to Africa in search of natural enemies of fruitflies (Trupaneidae) with descriptions, observations and biological notes*. Hawaii Board Agric. For. Div. Entomol. Bull. 3: 1–146.

SILVESTRI F. 1914b. *Viaggio in Eritrea per cercare parassiti della mosca delle olive*. Boll. Lab. Zool. Gen. Agrar. Portici 9: 186–226.

SILVESTRI F. 1933. *Rapporto tra insetti di piante spontanee e piante coltivate. Lotta biologica contro piante dannose*. L'Italia Agricola. 70: 96-119.

TORRES M.R., BUENO M. 2007. *Efecto de los tratamientos-cebo aéreos con spinosad contra Mosca del Olivo (*Bactrocera oleae, *Gmel.; Diptera: Tephritidae) sobre la entomofauna del olivar en la provincia de Jaén*. Bol. San. Veg. Plagas 33: 267-284.

TREMBLAY E. 1993. *Entomologia applicata*. Volume secondo, Parte seconda. Napoli: Liguori Editore.

VAN DE VEIRE M., VIÑUELA E., BERNARDO U., TIRRY L., ADÀN A., VIGGIANI G. 2004. *Duration of the toxicity of abamectin and spinosad on the parasitic wasp* Encarsia formosa*, in the Northern and Southern Europe*. IOBC/wprs Bulletin 27(6): 21-30.

VERGOULAS P.V., PROPHETOU-ATHANASSIADOU D., ALIMI E., BEN SALAH H., MAVROTAS C., JOSSEAUME C., MILES M. 2007. *Bait application effect of Spinosad success tm 0.24CB (GF-120) formulation, on* Bactrocera oleae *Gmel. (Dacuol), and impact on other non target organisms in olive trees*. IOBC/wprs Bulletin 30(9): 131.

VIGGIANI G. 1994. *Lotta biologica e integrata nella difesa fitosanitaria*. Volume primo, Lotta biologica. Napoli: Liguori Editore.

VIGGIANI G., BERNARDO U. 2001. *La lotta alla mosca delle olive,* Bactrocera oleae *(Gmelin), in agricoltura biologica*. Atti Convegno su "La difesa delle colture in agricoltura biologica. Grugliasco 5-6-9/2001: 199-203.

VIGGIANI G., BERNARDO U., SASSO R. 2006. *Description of* Baryscapus silvestrii*, n. sp. (Hymenoptera: Eulophidae), a new gregarious parasitoid of the olive fly* Bactrocera oleae *(Gmelin) (Diptera: Tephritidae) in southern Italy*. Boll. Lab. Ent. agr. Filippo Silvestri 61 (2005): 63-70.

Acta Italus Hortus 1: 353-355

Principali malattie e parassiti dell'olivo in Calabria e Sicilia

Di Franco F.[1*], Magnano di San Lio R.[1], Palmeri V. [2], Magnano di San Lio G.[2], Benfatto D.[1]
[1]CRA - ACM, Centro di ricerca per l'agromicoltura e le colture mediterranee, Acireale (CT)
[2]Dipartimento GESAF, Università "Mediterranea" di Reggio Calabria

Major diseases and phytophagous insects in olive groves in Calabria and Sicily

Abstract. This paper is a brief updated report of the phytosanitary status of oliveculture in Calabria and Sicily regions (southern Italy) based on both the literature and authors'observations. The most dangerous disease in both regions is peacock spot caused by Spilocea oleagina. Olive knot caused by Pseudomonas syringae subsp. savastanoi is widespread. Cercosporiosis, caused by Pseudocercospora cladosporioides (syn. Mycocentrospora cladosporioides), occurs especially in humid microclimates but the damages caused by this disease are not easily quantifiable. Verticillium wilt caused by Verticillium dahliae is an emergent disease especially in young plantings. In the Gioia Tauro olive growing area, anthracnose, caused by a new species of Colletotrichum that can be referred to the C. acutatum complex, is the most serious disease while root rot caused by Armillaria mellea is endemic. A new problem in olive groves of Southern Italy is root and foot rot caused by soil-borne species of Phytophthora. Among the phytophagous the most dangerous are olive-fruit fly, Bactrocera oleae (Gmelin), leopard moth Zeuzera pyrina L. and olive moth, Prays oleae (Bern.), less important are black weevil Otiorrhynchus cribricollis Gyll., olive Psyllid Euphyllura olivina Costa. Rare are the damage caused by European olive bark beetle, Phloeotribus scarabaeoides Berl. and Metcalfa pruinosa (Sey) in Calabria. Pest and disease control is essentially based on agrochemicals, but products with low environmental impact are increasingly used.

Key words: olive groves, pathogens, phytophagous, control.

La coltura dell'olivo in Calabria e Sicilia continua a svolgere un ruolo di rilevante importanza economica e ambientale pertanto anche la difesa fitosanitaria è determinante per il conseguimento degli standard qualitativi richiesti da mercati sempre più competitivi ed esigenti. La nota riporta sinteticamente l'attuale quadro fitosanitario dell'olivicoltura in queste due regioni desunto dall'analisi di quanto riportato nella letteratura recente, integrata dalle osservazioni degli autori.

Tra le malattie la più dannosa in entrambe le regioni è l'occhio di pavone, causata dal fungo subcuticolare *Spilocea oleagina* (Castagne) Hughes. Questa malattia provoca gravi defogliazioni degli alberi ed è particolarmente dannosa nei comprensori di pianura e sulle varietà più suscettibili, quali ad esempio "Carolea" e "Nocellara del Belice". In questi ultimi anni è stata riscontrata una recrudescenza delle infezioni di occhio di pavone in seguito all'aumento della piovosità. Per la lotta si utilizzano prodotti a base di rame (poltiglia bordolese e ossicloruri) e dodina. Nei comprensori di pianura, dove a causa della nebbia e della rugiada si verificano periodi di bagnatura delle foglie molto prolungati anche in assenza di piogge, la lotta chimica è inefficace e la scelta di varietà molto suscettibili è sconsigliata. La rogna, causata dal batterio *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* (Smith) Janse, è una malattia molto comune ma raramente negli impianti produttivi i danni sono tali da richiedere interventi di lotta specifici. Lo spettro di attività dei prodotti a base di rame utilizzati contro l'occhio di pavone comprende anche questo batterio. Una malattia diffusa soprattutto negli ambienti umidi e poco arieggiati è la cercosporiosi causata da *Pseudocercospora cladosporioides* (Sacc.) U. Braun [Syn. *Mycocentrospora cladosporioides* (Sacc.) P. Costa]. Il danno più frequente conseguente alle infezioni di *P. cladosporioides*, la defogliazione, è difficilmente quantificabile perché può essere causato anche da altri fattori biotici o abiotici. Le infezioni sui frutti, riscontrate in microclimi particolarmente favorevoli alla malattia, sono rare. Un patogeno emergente, soprattutto nei nuovi impianti, è *Verticillium dahliae* Kleb., agente della malattia vascolare nota come tracheoverticilliosi. Nel comprensorio dell'Etna, in terreni in cui precedentemente era coltivata la vite, sono stati notati gravi attacchi in giovani oliveti irrigui di "Nocellara Etnea". Altre cultivar di olivo molto suscettibili sono la "Nocellara del Belice" e la "Tonda Iblea"; nei nuovi impianti pertanto dovrebbero essere utilizzate piantine certificate, *V. dahliae* è, infatti, nell'elenco degli organismi nocivi e delle malattie che

[1] francesca.difranco@entecra.it; gmagnano@unirc.it; vpalmeri@unirc.it

Tab. 1 - Sostanze attive autorizzate per l'impiego in olivicoltura in Sicilia.
Tab. 1 - Authorized active ingredients in Sicilian olive groves.

Sostanza attiva	Impiego	IdS	LMR
BD a seme vestito			
1,7-dioxaspiro(5,5)undecano *bio*	feromone	0	*
Azadiractina	insetticida	3	0,5
Bacillus t.- sub Aizawai bio	insetticida	0	*
Bacillus t.- sub Kurstaki bio	insetticida	3	*
Bauveria bassiana bio	insetticida	0	*
Buprofezin (2)	insetticida	28	2
Clorpirifos	insetticida	90	0,05 *
Deltametrina	insetticida	3	1
Dimetoato	insetticida	28/35	2
Fenoxicarb	insetticida	60	1
Fosfato ferrico bio	limacida		*
Fosmet	insetticida	30	10
Imidacloprid	insetticida	28	0,5
Olio minerale *bio*	insetticida	20	*
Piperonil butossido	vario	2	3 n
Piretrine *bio*	insetticida	2	1
Polisolfuro di calcio	fung/insett	30	59 n
Spinosad *bio*	insetticida	7	0.02
Olivo da mensa			
Paecilomyces lilacinus bio	nematocida	0	*
Olivo da mensa e da olio			
Dodina	fungicida	10	0,2**
Rame	fungicida	20	30
Zolfo	fungicida	5	50
Olivo da mensa			
Coniothyrium ninitans bio	fungicida	0	*

compromettono la qualità commerciale del materiale di propagazione (DM 14/4/1997). Nel comprensorio olivicolo della Piana di Gioia Tauro (Reggio Calabria) la malattia più grave è l'antracnosi o lebbra, i cui danni possono superare anche quelli causati dall'occhio di pavone. L'agente causale di questa malattia è stato recentemente identificato come una nuova specie di *Colletotrichum*, geneticamente affine a *C. acutatum* (J. H. Simmonds ex J. H. Simmonds) ma distinta da essa e con una cerchia di ospiti leggermente diversa. I danni causati dalla lebbra possono essere contenuti mediante trattamenti con prodotti a base di rame, effettuati tempestivamente. Il periodo più critico per le infezioni è quello compreso tra l'inizio dell'invaiatura e la raccolta. Sono risultati efficaci anche prodotti appartenenti alle famiglie chimiche degli inibitori della sintesi degli steroli e delle strobilurine, il cui uso in olivicoltura, tuttavia, non è autorizzato. Nei vecchi oliveti dello stesso comprensorio è endemico il marciume radicale causato dal basidiomicete *Armillaria mellea* (Vahl.) Kummel. Le infezioni di questo patogeno, che sulle piante adulte non causano danni rilevanti, possono avere esito letale sugli alberi giovani reimpiantati in terreni infestati. Gravi infezioni di *A. mellea* sono state riscontrate anche nella zona pedemontana dell'Aspromonte in oliveti impiantati su suoli disboscati. Un problema nuovo per l'olivicoltura dell'Italia meridionale è il marciume radicale e del colletto causato da specie terricole di *Phytophthora*. Questa malattia causa danni sporadici nei giovani impianti ed è spesso conseguente a difetti di gestione o progettazione degli impianti irrigui. L'olivo, infatti, è particolarmente sensibile all'asfissia radicale, che lo predispone alle infezioni di questi patogeni.

Il fitofago chiave degli areali olivicoli calabresi e siciliani è la mosca dell'olivo, *Bactrocera oleae* (Gmelin), la cui lotta è essenzialmente effettuata con esche proteiche attivate con insetticidi. Nei casi in cui si ricorre a interventi chimici si può avere l'insorgenza di gravi infestazioni della cocciniglia mezzo grano di pepe, *Saissetia oleae* Bern. in quanto essendo colpiti i suoi nemici naturali questi non riescono a contenere la popolazione del fitofago al di sotto della soglia di danno economico. Il rodilegno giallo, *Zeuzera pyrina* L. può essere particolarmente dannoso negli impianti giovani o in quelli secolari nei quali provoca schianti; per la lotta si ricorre ad interventi biotecnici, cattura massale e confusione sessuale. Le infestazioni della tignola dell'olivo, *Prays oleae* (Bern.), si manifestano in modo discontinuo nel tempo e nell'areale della coltura. Raramente è necessario ricorrere ad interventi di lotta; quando necessario si può utilizzare *Bacillus thuringiensis*, fosmet o dimetoato. D'importanza minore sono la bombacella dell'olivo, *Euphyllura olivina* Costa e l'oziorrinco, *Otiorrhynchus cribricollis* Gyll. i cui attacchi sono nocivi particolarmente per le piante giovani e i vivai; occasionali i danni del fleotribo, *Phloeotribus scarabaeoides* Berl. e della Metcalfa, *Metcalfa pruinosa* (Say) che saltuariamente in Calabria, nella piana di Gioia Tauro ha dato luogo a pullulazioni di rilievo.

La lotta è basata sull'utilizzazione di agrofarmaci, nella tabella 1 vengono riportati quelli attualmente ammessi per la coltura in Sicilia; crescente interesse è rivolto però verso i prodotti a ridotto impatto ambientale, alcuni di origine vegetale, ad azione antibatterica e sistemi alternativi quali i metodi di lotta integrata e gli interventi biotecnici.

Lo stato fitosanitario degli oliveti può ritenersi comunque soddisfacente, infatti recenti indagini hanno accertato che la percentuale di superficie coltivata, trattata con agrofarmaci, è inferiore ad un terzo di quella totale (ISTAT 2006).

Riassunto

La nota riporta sinteticamente l'attuale quadro fitosanitario dell'olivicoltura in Calabria e Sicilia desunto dall'analisi della letteratura recente, integrata dalle osservazioni degli autori. La malattia più dannosa in entrambe le regioni è l'occhio di pavone, *Spilocea oleagina*. Molto comune è la rogna, causata dal batterio *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi*. Una malattia diffusa soprattutto negli ambienti umidi e poco arieggiati ma i cui danni sono difficilmente quantificabili è la cercosporiosi causata da *Pseudocercospora cladosporioides* (Syn. *Mycocentrospora cladosporioides*). Un patogeno emergente, soprattutto nei nuovi impianti, è *Verticillium dahliae*, agente della tracheoverticilliosi. Nel comprensorio olivicolo della Piana di Gioia Tauro (Reggio Calabria) la malattia più grave è l'antracnosi o lebbra, causata da una nuova specie di *Colletotrichum* riconducibile al complesso *C. acutatum*; mentre endemico è il marciume radicale da basidiomicete *Armillaria mellea*. Un problema nuovo per l'olivicoltura dell'Italia meridionale è il marciume radicale e del colletto causato da specie terricole di *Phytophthora*. Tra i principali fitofagi degli areali olivicoli calabresi e siciliani dominano *Bactrocera oleae* (Gmelin), *Zeuzera pyrina* L. e *Prays oleae* (Bern.), d'importanza minore sono *Otiorrhynchus cribricollis* Gyll. e *Euphyllura olivina* Costa, occasionali sono i danni del fleotribo, *Phloeotribus scarabaeoides* Berl. e di *Metcalfa pruinosa* (Say) in Calabria. La lotta è basata essenzialmente sull'utilizzazione di agrofarmaci; crescente interesse è rivolto però verso i prodotti a ridotto impatto ambientale. Lo stato fitosanitario degli oliveti può ritenersi comunque soddisfacente.

Parole chiave: olivicoltura, patogeni, fitofagi, difesa fitosanitaria.

Crescita vegetativa ed aspetti ecofisiologici in giovani piante di olivo inoculate con il virus associato all'ingiallimento fogliare (OLYaV)

Cutuli M., Campisi G., Marra F.P. e Caruso T.
Dipartimento di Colture Arboree, Università di Palermo

Vegetative growth and ecophysiological aspects in young olive plants inoculated with olive leaf yellowing associated virus (OLYaV)

Abstract. Recent studies on sanitary status of olive plants in south of Italy relived the high percentage of plants affected by Olive Leaf Yellowing associated Virus (OLYaV), showing also the absolute lack of symptoms on all the plants from which samples were collected. The aim of this work was the examination of possible biometric and physiological disorder in young olive plants caused by OLYaV. The trial was leaded using two years old virus free plants of cv. Frantoio on seedling, grown in pots and compared with the same plants previously inoculated with OLYaV. Vegetative growth was studied on the two thesis, virus free and virus affected. Data were also collected to examine partitioning of dry matter, gas exchange and water potential. Significant difference ($P \leq 0,05$) came out in order to total twig length of virus free plants. No difference were observed in plant height, while the total number of twigs resulted significantly higher in virus free plants. Trunk diameter and leaf area showed significantly upper values in healthy plants. Dry matter production showed significant differences only for the stem, which had bigger size in virus free plants. Observing dry matter partitioning among different organs we realized thesis affected by OLYaV stocked a higher percentage of assimilates in roots, while virus free thesis stocked more dry matter in the stem. This different distribution of assimilates evidences the higher canopy root ratio and the bigger vegetative mass which characterizes healthy plants. Gas exchange and stem water potential didn't exhibit any relevant difference between the two thesis.

Key words: OLYaV, virus, vegetative growth, dry matter partitioning, stem water potential, gas exchange

Introduzione

Malgrado nell'olivo (*Olea europaea sativa*) siano stati identificati e caratterizzati 13 virus, soltanto per due di essi il quadro sintomatologico è ben definito: la *Maculatura anulare latente della fragola* (SLRSV) che comporta gravi malformazioni ai frutti e *l'Ingiallimento fogliare dell'olivo* (OLYaV) che è causa di estesi ingiallimenti del lembo fogliare (Martelli *et al.*, 1999, Saponari *et al.*, 2003). Gli altri virus risultano invece, ancora oggi asintomatici.

Il *virus associato all'ingiallimento fogliare dell'olivo.* segnalato per la prima volta su piante della cultivar siciliana Biancolilla coltivate nell'agrigentino (Savino *et al.*, 1996), appartiene al genere dei *Closterovirus* e si manifesta con alterazioni cromatiche della foglia, consistenti in una colorazione giallo pallido che si estende dalla zona apicale ai margini del lembo fogliare, fino ad interessare l'intera lamina.

Scarse sono ancora le notizie sulla modalità di diffusione dell'agente virale, anche se la elevata presenza riscontrata negli oliveti della Sicilia e della Calabria su piante asintomatiche (Albanese *et al.*, 2004), da adito ad ipotizzare che la sua trasmissione è probabilmente favorita da un vettore alato; tuttavia la diffusione è in gran parte determinata dall'uomo attraverso l'utilizzo di materiale di propagazione infetto.

Al fine di evidenziare l'importanza dell'utilizzo di materiale vegetale virus esente, soprattutto a livello vivaistico, si è ritenuto interessante studiare l'effetto del virus sui processi di assimilazione, di crescita vegetativa e di ripartizione della sostanza secca in piante di olivo allevate in vivaio. Nella presente nota si riferisce dei risultati scaturiti da un biennio di osservazioni.

Materiali e metodi

Le indagini sono state effettuate su 32 piante di 2 anni della cultivar Frantoio innestate su semenzali, allevate in contenitori della capacità di 32 l riempiti con substrato costituito da una miscela di torba e pomice (1:1 v/v). Metà delle piante sono state inoculate con OLYaV, utilizzando marze virosate fornite dal C.R.S.A. "Basile Caramia" di Locorotondo (BA). L'inoculo è stato praticato nell'autunno del 2007 prelevando due tasselli di corteccia dalla marza contaminata e praticando due innesti alla maiorchina (*chip budding*) sul portinnesto delle piante virus esenti. La medesima operazione è stata eseguita sulle piante controllo, utilizzando questa volta marze prelevate da piante virus esenti. Tutte le 32 piante sono state trasferite in una serra mantenuta alla temperatura prossima

a 24 °C, fino al marzo del 2008, per favorire la replicazione e la diffusione del virus all'interno dei tessuti floematici delle piante inoculate. Successivamente, per verificare l'effettiva presenza del virus, le piante inoculate sono state sottoposte ai saggi virologici, presso il laboratorio di diagnosi del C.R.S.A. "Basile Caramia". Le piante sono state quindi trasferite nuovamente in pien'aria, dove sono state disposte seguendo uno schema a blocchi randomizzati con 4 piante/blocco.

Su tutte le piante in studio è stato determinato numero e lunghezza delle diverse tipologie di ramo così classificati: ramo principale (inserito sul fusto), ramo di I ordine (inserito sul ramo principale) e ramo di II ordine (inserito sul ramo di I ordine). E' stato inoltre rilevato numero dei nodi/ramo, altezza e diametro del fusto (10 cm dal colletto) e superficie media della foglia. Tali rilievi sono stati eseguiti 6, 12 e 24 mesi dopo l'inoculo del virus. La superficie media della foglia è stata determinata prelevando da ciascuna pianta un campione di 50 foglie, di ciascuna delle quali è stata ricavata l'immagine attraverso scansione; dette immagini sono state sottoposte ad analisi mediante specifico software.

Sempre sulle medesime piante è stato rilevato il potenziale idrico xilematico, mediante l'utilizzo della camera di Sholander (Sholander, 1965), intervenendo 24 ore dopo l'irrigazione, dalle ore 12,00 alle ore 13,00, in giornate caratterizzate da cielo sereno e da condizioni meteorologiche stabili. In concomitanza con i rilievi di potenziale, sulle stesse piante sono state eseguite le misure degli scambi gassosi (fotosintesi netta e conduttanza stomatica) con apparecchiatura CIRAS 1.

Alla fine del programma di rilevamenti, su 8 piante per trattamento, sono stati rilevati i dati necessari per determinare la ripartizione della sostanza secca. In dettaglio, le piante sono state estirpate dal contenitore e l'apparato radicale è stato separato dalla parte area della pianta. Nell'ambito delle due frazione così ottenute (ipogea ed epigea) si è proceduto alla suddivisione dei diversi organi della pianta: foglie, rami, tronco, radici superiori e inferiori a 2 mm. Della biomassa di tali organi sono stati determinati i pesi secchi dopo essicazione in stufa ventilata a 60 °C di temperatura, fino a peso costante.

I dati sono stati sottoposti ad analisi della varianza e le medie separate mediante test di Tukey per i livelli di significatività $P \leq 0,05$.

Risultati e discussioni

Nessuna differenza statisticamente apprezzabile è emersa rispetto alla lunghezza dell'asse principale (fusto) tra piante virus esenti e piante virosate (fig. 1); nell'ultimo rilevamento differenze significative a favore delle piante virus esenti sono state invece riscontrate nel diametro di base del fusto (fig. 2).

La lunghezza complessiva dei rami/pianta è risultata costantemente superiore nelle piante virus esenti rispetto a quelle virosate; l'effetto del virus sulla crescita complessiva dei rami si palesa già 6 mesi dopo l'inoculo, ma diviene particolarmente evidente dopo 12 e 24 mesi, quando agisce soprattutto sulla crescita

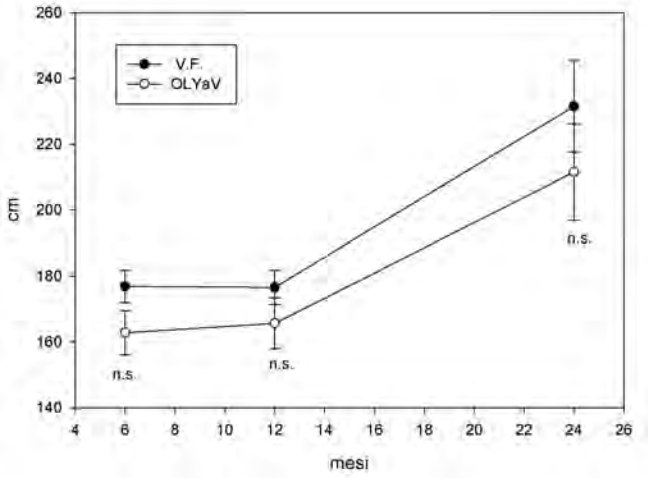


Fig. 1 - Altezza del fusto.
Fig. 1 - Stem height in olive plants with different sanitary status

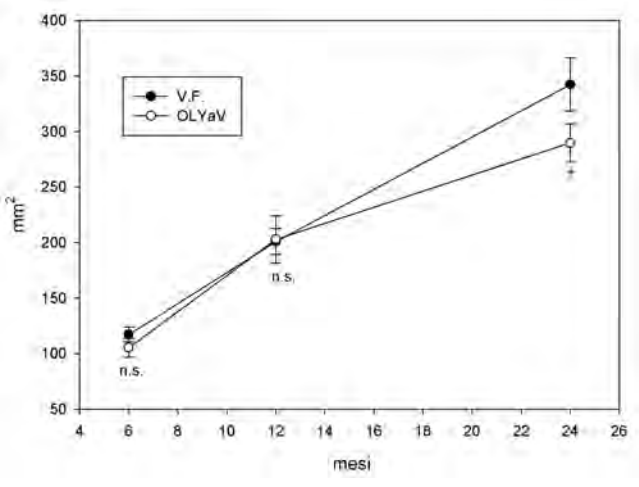


Fig. 2 - Diametro del fusto.
Fig. 2 - Stem diameter in olive plants with different sanitary status.

I valori medi seguiti da * indicano differenze statisticamente significative in base al test di Tukey ($P \leq 0,05$); se seguiti da ** le differenze sono altamente significative ($P \leq 0,01$); n.s. = differenze non significative.

dei rami di I ordine (fig. 3).

Differenze significative tra le piante con diverso stato sanitario si sono avute anche in riferimento al numero complessivo dei rami per pianta, che è risultato superiore per la tesi virus esente 12 e 24 mesi dopo l'inoculo, in particolare nei rami di I ordine (fig. 4).

Anche la superficie media della foglia ha raggiunto valori decisamente più elevati nelle piante sane, tanto che, nonostante non sia stata rilevata una notevole differenza nel numero di foglie/pianta, la superficie fogliare complessiva è risultata significativamente più elevata nelle piante v. e. (fig. 5).

Per quanto concerne la sostanza secca sintetizzata dalle piante, differenze significative, a favore di quelle virus esenti, sono state osservate solamente a carico del fusto (tab. 1). Le piante virus esenti hanno infatti destinato una maggiore quota di sostanza secca (40 vs 33%) nel fusto (tab. 2); nelle radici quelle virosate (31,6 vs 25). Tale diverso comportamento spiega il differente rapporto chioma/radici, osservato nelle piante v.e. (3) rispetto a quelle virosate (2,2) e determinato dalla maggiore massa vegetativa accumulata dalla chioma prodotta dalle piante v.e. (tab. 3).

L'OLYaV non ha sortito alcun effetto sullo stato idrico delle piante (*stem water potential*) e sugli scambi gassosi (A max; gs).

Conclusioni

Comprendere l'effetto di fitopatie di difficile diagnosi, spesso asintomatiche, come i virus, sulla crescita vegetativa complessiva della pianta, sulla ripartizione della sostanza secca tra gli organi epigei e quelli ipogei e sulla dinamica assimilazione/traspirazione in rapporto allo stato idrico della pianta assume fondamentale importanza ai fini della corretta gestione delle

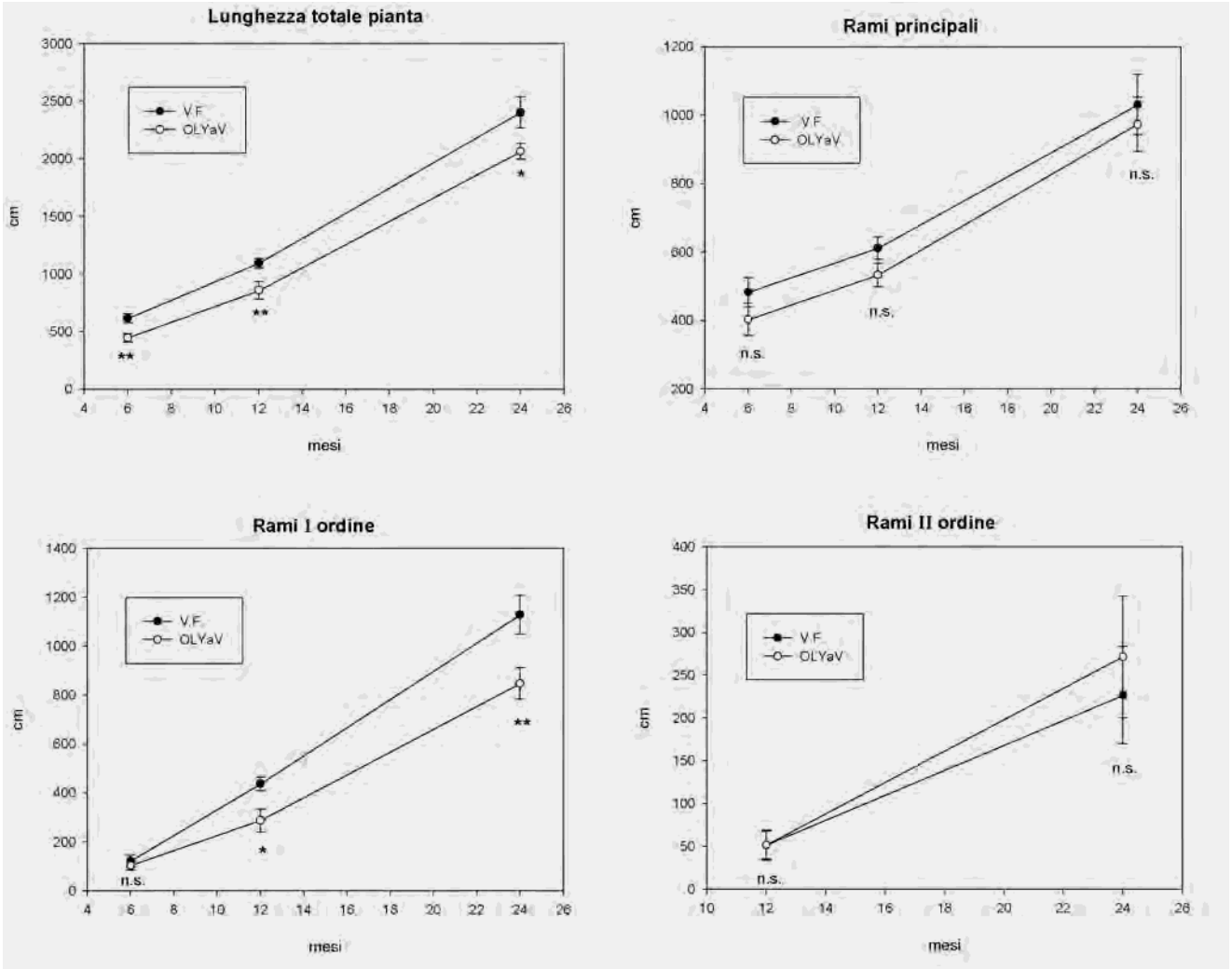


Fig. 3 - Lunghezza complessiva e delle diverse tipologie di rami in piante sane e affette da OLYaV.
Fig. 3 - Total length and length of different typology of twigs in v.f. and OLYaV affected plants.

I valori medi seguiti da * indicano differenze statisticamente significative in base al test di Tukey ($P \leq 0,05$); se seguiti da ** le differenze sono altamente significative ($P \leq 0,01$); n.s. = differenze non significative

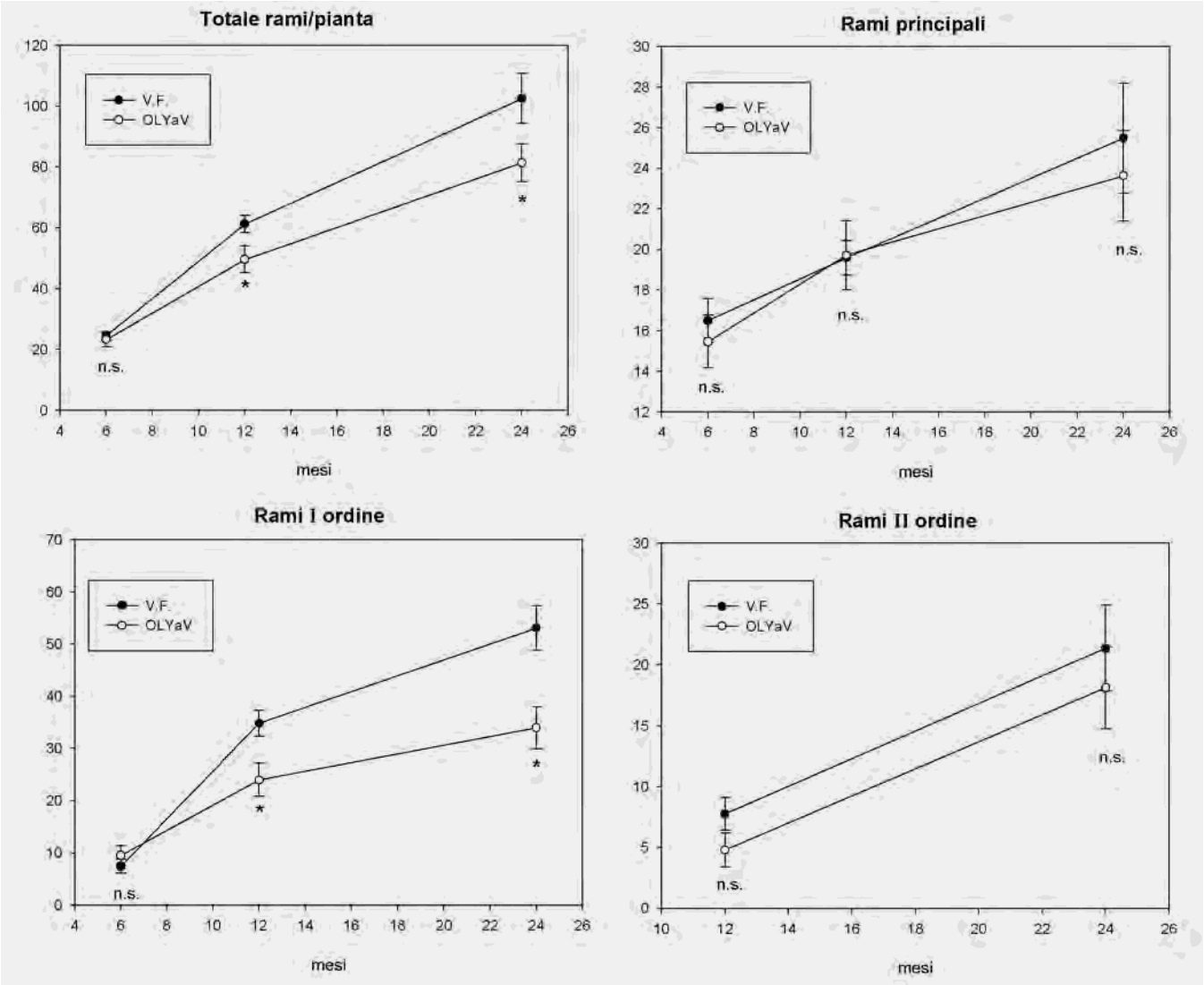


Fig. 4 - Numero complessivo dei rami/pianta e delle diverse tipologie di ramo.
Fig. 4 - Total number of twigs/plant and number of different typology of twig per plant.

I valori medi seguiti da * indicano differenze statisticamente significative in base al test di Tukey ($P \leq 0,05$); se seguiti da ** le differenze sono altamente significative ($P \leq 0,01$); n.s. = differenze non significative

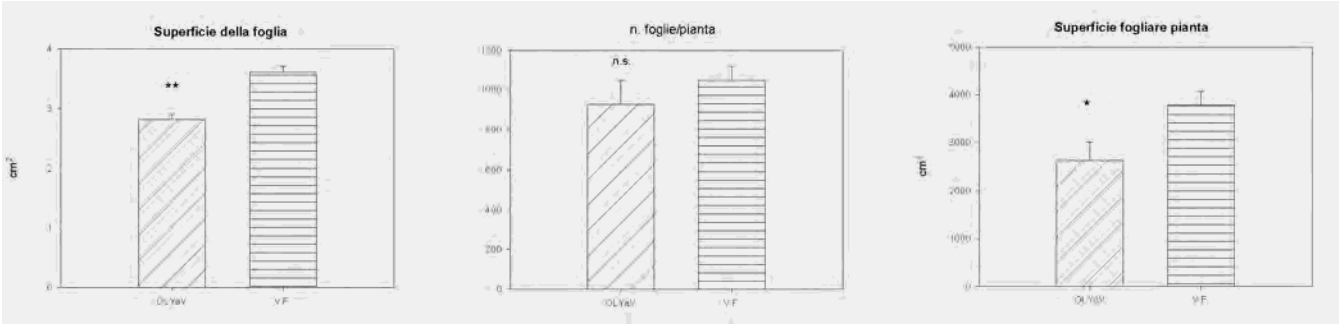


Fig. 5 - Superficie media della foglia e complessiva in piante di olivo sane e affette da OLYaV.
Fig. 5 - Mean leaf area and total leaf area in v.f. and OLYaV affected plants.

I valori medi seguiti da * indicano differenze statisticamente significative in base al test di Tukey ($P \leq 0,05$); se seguiti da ** le differenze sono altamente significative ($P \leq 0,01$); n.s. = differenze non significative

Tab. 1 - Sostanza secca accumulata nei diversi organi (g).
Tab. 1 - Dry matter production (g.) in different organs of plants

Organo	VE	OLYaV	
fusto	168,5	113,4	**
foglie	80,9	67,6	n.s.
radici	105,5	108,8	n.s.
rami	67,1	54,7	n.s.
TOT.	422,0	344,5	n.s.

I valori medi seguiti da * indicano differenze statisticamente significative in base al test di Tukey ($P \leq 0,05$); se seguiti da ** le differenze sono altamente significative ($P \leq 0,01$); n.s. = differenze non significative

piante in vivaio e, successivamente, in campo.

Lo studio condotto ha consentito di mettere in evidenza che OLYaV, il *virus associato all'ingiallimento fogliare dell'olivo*, agisce sin dalle prime fasi della sua replicazione.

L'azione del virus si è manifestata soprattutto sui rami di I ordine, ovvero quegli assi vegetativi che sono stati emessi successivamente all'inoculo; tale attività si mantiene a lungo sulla pianta visto che ancora 24 mesi dopo l'inoculo la vegetazione emessa presenta peculiarità che non possono essere riscontrate nelle piante virus esenti. Nessun effetto OLYaV ha invece esercitato sui rami principali, in gran parte già formati al momento dell'inoculo. Il virus ha alterato la crescita vegetativa della pianta sia dal punto di vista quantitativo (maggior numero di rami emessi), che qualitativo (lunghezza degli assi vegetativi). L'attività del virus, in particolare, sembra interferire sul regolare andamento dei processi fisiologici che presiedono ai fenomeni di dominanza apicale e di inibizione correlata che contribuiscono, nel complesso, a determinare l'architettura della chioma della pianta. Nel caso oggetto di studio, le piante di Frantoio inoculate hanno mostrato una chioma meno densa rispetto a quelle virus esenti. Le spiccate differenze emerse nel numero complessivo di rami per pianta sono da attribuire al maggior numero di assi di I ordine emessi 12 e 24 mesi dopo l'inoculo. I rami principali e di II ordine non hanno invece mostrato variazioni quantitative e qualitative di rilievo, probabilmente anche a causa della presenza dei rami principali prima dell'inoculo e della limitata emissione di quelli di II ordine durante i rilievi.

Il maggiore vigore delle giovani piante virus esenti si manifesta anche nel diametro basale del fusto e nel differente rapporto chioma/radici, a favore, nelle piante sane, della frazione epigea.

I dati relativi agli scambi gassosi e al potenziale idrico, da soli, non consentono di giustificare la maggior produzione di fotosintetati nelle piante virus esenti rispetto a quelle virosate per cui si ritengono necessari ulteriori indagini per comprendere i processi fisiologici coinvolti più direttamente nei fenomeni studiati.

Tab. 2 - Ripartizione (%) della sostanza secca nei diversi organi della pianta.
Tab. 2 - Dry matter partitioning (%) in different organs of plants.

Organo	VE	OLYaV
fusto	39,9	32,9
foglie	19,2	19,6
radici	25,0	31,6
rami	15,9	15,9

Tab. 3 - Rapporto chioma/radici.
Tab. 3 - Canopy/root ratio in olive plants with different sanitary status.

	VE	OLYaV	
C/R	3	2,2	*

In definitiva, il *virus associato all'ingiallimento fogliare dell'olivo*, pur risultando asintomatico negli impianti olivicoli, in condizioni di vivaio deprime il vigore delle giovani piante influendo su numero e lunghezza dei rami anticipati, area della sezione del tronco, superficie fogliare ed in definitiva sul rapporto tra chioma e radici. Resta quindi di fondamentale importanza l'utilizzo di materiale vegetale ottenuto mediante i processi di certificazione genetico-sanitaria per la costituzione di nuovi impianti.

Riassunto

Recenti indagini sullo stato sanitario di varietà di olivo coltivato in Sicilia e Calabria hanno rivelato l'elevata incidenza del *virus associato all'ingiallimento fogliare dell'olivo* (OLYaV) in piante asintomatiche. Scopo del presente lavoro è stato verificare, simulando un contesto vivaistico, le possibili alterazioni biometriche e le disfunzioni di tipo fisiologico in giovani piante di olivo, causate dalla presenza di OLYaV.

Le indagini sono state effettuate utilizzando piante della cultivar Frantoio virus esenti, di due anni di innesto, allevate in contenitore, parte delle quali sono state inoculate con OLYaV. Sia sulle piante sane che su quelle virosate sono stati effettuati i rilevamenti per determinarne crescita vegetativa, ripartizione della sostanza secca nei vari organi, scambi gassosi e potenziale idrico.

Differenze a favore della piante virus esenti sono state rilevate nell'altezza e nel diametro al colletto dell'asse centrale della pianta, nel numero e nella lunghezza dei rami, nella superficie fogliare e nella

sostanza secca complessivamente accumulata dalla pianta. Il diverso rapporto chioma/radici tra le piante virus esenti (3/1) e quelle inoculate con OLYaV, (2,2/1), evidenzia la marcata tendenza delle piante sane ad accumulare biomassa nella chioma rispetto alle radici. Nessuna differenza è invece emersa nel potenziale xilematico dell'asse vegetativo e negli scambi gassosi.

Parole chiave: virus, OLYaV, crescita vegetativa, sostanza secca, scambi gassosi, stato idrico della pianta.

Ricerca effettuata nell'ambito del progetto "OLVIVA Qualificazione del vivaismo. Caratterizzazione varietale, sanitaria e innovazione nella tecnica vivaistica".

Bibliografia

ALBANESE G., FAGGIOLI F. , SCIARRONI R., FERRETTI L., LA ROSA R. , BARBA M., 2004. *Virus dell'olivo in Calabria e Sicilia.* L'Informatore Agrario, 51: 73-74.

FAGGIOLI F., FERETTI L., ALBANESE G., SCIARRONTI R., PASQUINI G., LUMIA V., BARBA M., 2005. *Distribution of olive tree viruses in Italy as revealed by one-step RT-PCR*. J. Plant Pathology, 87 (1): 49-55.

GRIECO F., ALKOWNI R., SAPONARI M., SAVINO V., MARTELLI G.P., 2000. *Molecular detection of olive viruses*. Bullettin OEPP/EPPO Bullettin, 30: 469-473.

KRAMER P.J., 1983. *Water Relations of Plants.* Academic Press, NY, London.

MARTELLI G.P., 1999. *Infectious diseases and certification of olive: an overview*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 29: 127-133.

MEPSTED R., 1991. *Plant water relation and vascular disease*. In. Vascular pathogens, p. 2. British Society for Plant Pathology. University of Wales, Swansea, U.K.

NAOR A., 1998. *Relationships between leaf and stem water potentials and stomatal conductance in three field-grown woody species*. J. Hort. Sci. Bioch. 73: 431-436

PENNAZIO S, ROGGERO P., 1997. *Tra fisiologia e virologia delle piante: una breve storia della fisiopatologia delle virosi*. Petria, 7(2): 63-86

SAPONARI M., ALKOWNI R., GRIECO F., PANTALEO V., SAVINO V., MARTELLI G. P., DRIOUECH N., HASSAN M., DI TERLIZZI B., DIGIARO M., 2002a. *Detection of olive-infecting viruses in the Mediterranean Basin*. Acta Hort. 586: 787-790.

SAPONARI M., MONDELLI G., SAVINO V., MARTELLI G.P., 2002b. *Nuove acquisizioni sui virus dell'olivo*. Proc. Convegno Internazionale Olivicoltura, Spoleto 2002, 472-476.

SAPONARI M., SAVINO V., 2003. *Virus e agenti virus-simili dell'olivo*. Informatore Fitopatologico, 53: 25-29.

SAPONARI M., FAGIOLI F. BALDONI L.,LO CONSOLE G., SAVINO V., 2009. *Innovazioni per la certificazione varietale e sanitaria delle produzioni vivaistiche di olivo*. Frutticoltura, 4: 64-69.

SAVINO V., SABANADZOVIC S., SCARITO G., LAVIOLA C., MARTELLI G.P., 1996. *Due giallumi di possibile origine virale in Sicilia*. Informatore Fitopatologico 46 (5): 55-59.

SYVERTSEN JP, BAUSHER MG, ALBRIGO LG. 1980. *Water relations and related characteristics of healthy and blight affected citrus trees*. J. Am. Soc. Hort. Sci. 105: 431-434.

Sensibilità di 4 cultivar di olivo alla *Spilocaea oleagina* (Cast.) Hugh.

Cristinzio G., Testa A., Bosso L., Mastroianni G.
Dipartimento di Arboricoltura, Botanica e Patologia Vegetale, Università di Napoli "Federico II"

Sensitivity of 4 olive tree cultivar to Spilocea oleagira (Cast.) Hugh.

Abstract. We valued susceptibility of 4 olive cultivars, "Caiazzana", "Leccino", "Coratina" and "Itrana", to the "Peacock Leaf Spot", caused by the Spilocaea oleagina (Cast.) Hugh. The survey was performed on olive tree grove locate in the province of Caserta. Using the method of the early diagnosis for the symptoms, after 12 months, we verified that the first two cvs showed to be resistant, while the two remainders appeared very susceptible.

Key words: resistance, cultivars, peacock leaf spot.

Introduzione

L'occhio di pavone, il cui agente è la *Spilocaea oleagina* (Cast.) Hugh (ex *Cycloconium oleaginum* Cast.), è la più pericolosa malattia crittogamica dell'olivo. Nota da oltre un secolo e mezzo, ancora oggi è largamente presente in tutti i principali areali olivicoli italiani. La sintomatologia più caratteristica e diagnostica si osserva sulle foglie nei periodi estivi, con macchie circolari brune con una zona più chiara al centro, circondate da una alone giallastro (fig. 1). Il parassita è in grado di causare, in annate umide e piovose, filloptosi anche molto spinte e risulta particolarmente pericoloso per i nuovi oliveti con sesti d'impianto più fitti (Graniti, 1993). I danni maggiori sono a carico soprattutto delle piante più giovani e si traducono in una diminuzione quali-quantitativa del frutto prodotto ed una complessiva minore vigoria della pianta, che appare più suscettibile anche ad attacchi di altri parassiti. Il fungo è presente in forma attiva sulla pianta per tutto l'anno con una localizzazione prevalentemente cuticolare e una diffusione idrofila dei conidi (Petri, 1913). La germinazione dei conidi può avvenire con temperature che vanno da 2-3 fino a 28-30 °C, ma solo in presenza di acqua (Saad e Masri, 1978). La penetrazione nell'ospite avviene per perforazione della cuticola fogliare con l'ausilio di enzimi pectolitici, cellulosolitici e lipolitici (Graniti *et al.*, 1962). La malattia ha un periodo d'incubazione estremamente variabile: dall'infezione alla comparsa dei primi sintomi possono infatti trascorrere da 15-20 giorni, in situazioni molto favorevoli (Salerno, 1966), fino a diversi mesi o un anno e più (Andreucci, 1960; Viruega e Trapero, 1999). Per agevolarne la diagnosi, Loprieno e Tenerini (1959) misero a punto un metodo grazie al quale si può evidenziare precocemente la presenza del fungo fin dai primi stadi del suo insediamento. Con l'ausilio di tale metodo è stato possibile individuare i periodi di massima infezione in alcune aree olivicole nelle province di Campobasso, Salerno e Reggio Calabria e così consigliare protocolli d'intervento per trattamenti antiparassitari mirati a una maggiore efficacia con il minore impatto sull'ambiente (Cristinzio e Viggiani, 1990).

Fig. 1 - L'occhio di pavone [*Spilocaea oleagina* (Cast.) Hugh].
Fig. 1 - Disease typical symptoms.

Scopo del presente lavoro è quello di valutare, utilizzando il metodo della diagnosi precoce, la sensibilità all'occhio di pavone, di 4 cv con diversa provenienza e sensibilità "Caiazzana", "Itrana", "Coratina", "Leccino". La prima, autoctona della Campania (monti Caiatini). La "Itrana" o "Gaetana", come più comunemente viene chiamata per la sua origine Laziale (Gaeta) e la "Coratina", diffusa soprattutto in Puglia e Basilicata, sono considerate generalmente sensibili. La "Leccino", originaria della Toscana e diffusa in molte aree olivicole su tutto il territorio nazionale, è considerata resistente alla *S. oleagina* (Iannotta *et al*., 1999).

Materiali e metodi

Dal mese di gennaio a dicembre 2006, con cadenza mensile, sono stati prelevati campioni di foglie asintomatiche da oliveti siti nel comune di Piana di Monte Verna in provincia di Caserta, delle varietà "Caiazzana", "Coratina", "Itrana" e "Leccino". I campioni sono stati prelevati da cinque piante in zone diverse dell'oliveto per ciascuna varietà. Durante tutti i campionamenti, per ogni pianta, sono state raccolte 20 foglie su tutta la chioma per un totale di 100 foglie per cv e conservate a 4°C fino al momento dell'uso. Il giorno successivo alla raccolta, le foglie sono state sottoposte ai saggi di diagnosi precoce. In particolare, le stesse venivano immerse in una soluzione al 5% di NaOH, per circa 4 minuti, quindi lavate con acqua corrente. La soluzione è stata utilizzata a temperatura ambiente per le foglie giovani e a 50 °C per quelle meno giovani. Si procedeva quindi al conteggio e misurazione dei diametri delle singole macchie. Queste sono state considerate "grandi" o "piccole" in relazione al diametro superiore o inferiore a 3 mm. Tutte le foglie su cui sono comparsi i sintomi dell'attacco della *S. oleagina* sono state suddivise in 3 classi d'infezione: I = foglie con 1-10 macchie (fig. 2a); II = foglie con 11-20 macchie (fig. 2b); III = foglie con più di 20 macchie (fig. 2c).

Risultati e conclusioni

Dai saggi effettuati nell'arco di 12 mesi, si è evidenziata chiaramente una differente sensibilità delle 4 varietà all'attacco della *Spilocaea oleagina*, con la "Caiazzana" al primo posto e la "Itrana" all'ultimo, in una scala crescente di sensibilità (tab. 1).

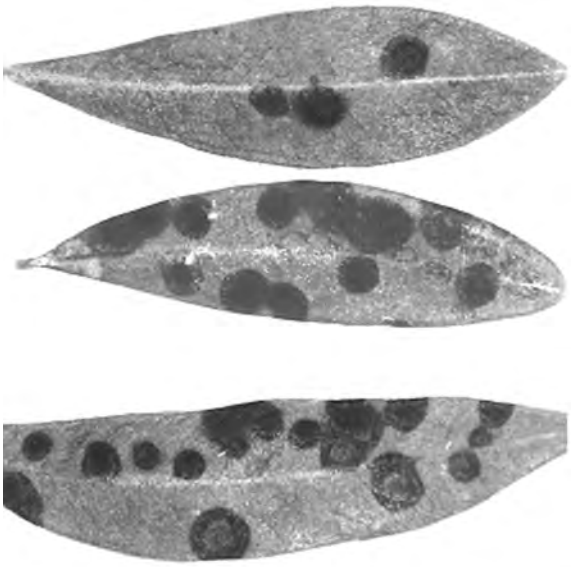


Fig. 2 - Esempio delle tre classi di infezione.
Fig. 2 - a = leaves with 1-10 spots, b = leaves with 11-20 spots; c = leaves with more than 20 spots.

La differente sensibilità delle 4 cv si può apprezzare dall'osservazione della figura 3, in cui sono riportate le classi d'infezione delle singole cv per ciascun mese. Per la "Caiazzana" (fig. 3a), nel mese di agosto non si è evidenziata alcuna infezione e in tutti gli altri mesi non si è mai registrata la presenza della terza classe d'infezione, anzi per ben 5 mesi è stata presente solo la prima classe e spesso con appena due o tre infezioni per foglia. Per la "Leccino" (fig. 3b), la terza classe è comparsa, in proporzioni molto ridotte, solo nel mese di maggio, e per tutti gli altri mesi si è sempre avuto una prevalenza della prima classe con assenza della seconda nei mesi di gennaio e marzo. Per la "Coratina" (fig. 3c), la terza classe d'infezione è risultata presente in 8 mesi, anche se in 5 di questi la percentuale nei confronti delle altre due è stata inferiore al 10%; la seconda classe è comunque sempre presente in tutti i saggi. Nella "Itrana" (fig. 3d), la terza classe è stata evidenziata in 10 mesi su 12 e solo in 2 la percentuale è stata inferiore al 10%; molto alta è apparsa sempre la presenza della seconda classe, tranne che nel mese di febbraio. Per la "Caiazzana" (fig. 4a) si può notare che i picchi più alti di infezione fogliare sono stati riscontrati nei mesi di maggio e dicembre, sempre nettamente inferiori al 20%. In concomitanza di questi, la percentuale di presenza di macchie grandi è stata nulla nel mese di maggio, e inferiore al 20% in dicembre, mentre i livelli più alti si sono registrati in giugno e in luglio, come conseguenza delle infezioni avvenute a maggio. Anche per la "Leccino" (fig. 4b) i picchi delle infezioni fogliari si sono avuti in maggio e dicembre con percentuali di poco più alte del 20%; da notare per questa cv che la percentuale di macchie grandi è stata sempre superiore al 20% da giugno a dicembre. Per la "Coratina", non si sono registrati dei veri e propri picchi di massima infezione, ma si è avuta una media compresa tra il 30 e il 50% in tutti i mesi con la sola eccezione di feb-

Tab. 1 - Percentuale media di attacchi di *Spilocaea oleagina* su foglie asintomatiche, di 4 cv di olivo evidenziata dopo 12 mesi di saggi con il metodo della diagnosi precoce.
Tab. 1 - Attacks average percentage on asymptomatic leaves caused by Spilocaea oleagina on 4 olive CVs, after 12 months of assays by the early detection method.

Cultivar	% di attacchi
Caiazzana	7,7
Leccino	15,4
Coratina	39,5
Itrana	47,0

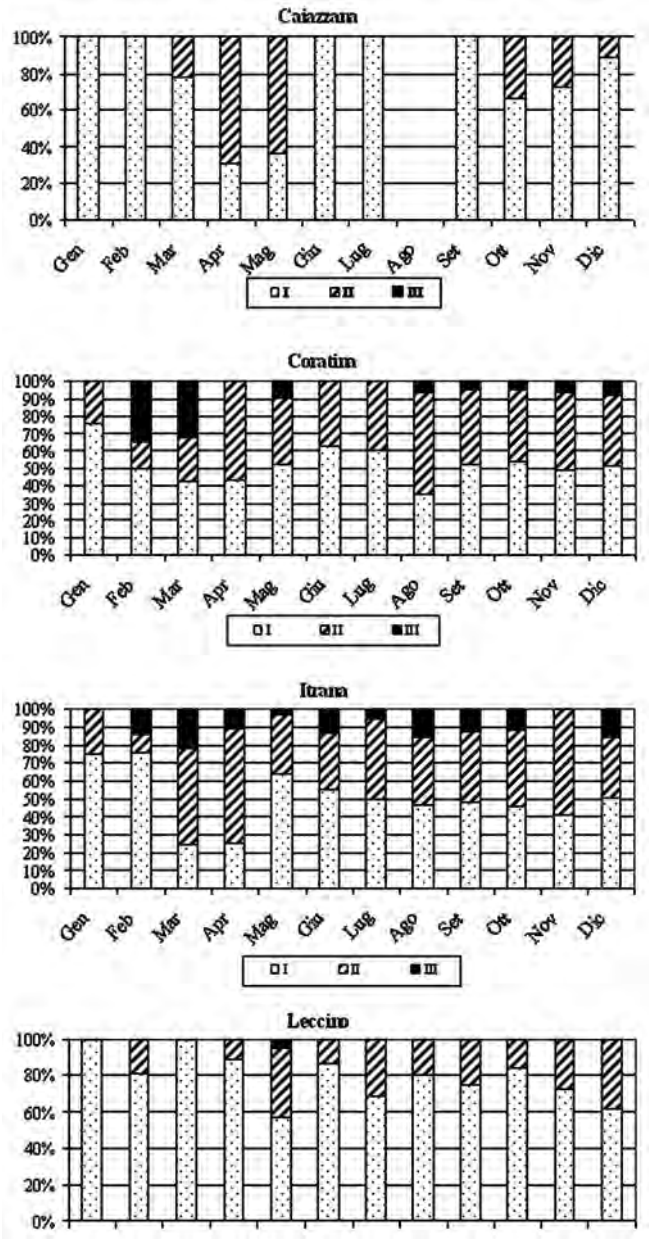


Fig. 3 - Percentuali delle 3 classi di infezioni da *Spilocaea oleagina* su foglie asintomatiche di 4 cv di olivo (Caiazzana, Leccino, Coratina, Itrana) in 12 mesi di saggi.
Fig. 3 - Percentage of 3 classes of Spilocaea oleagina *infections on asymptomatic leaves in 4 olive CVs (Caiazzana, Leccino Coratina, Itrana) during 12 months assays.*

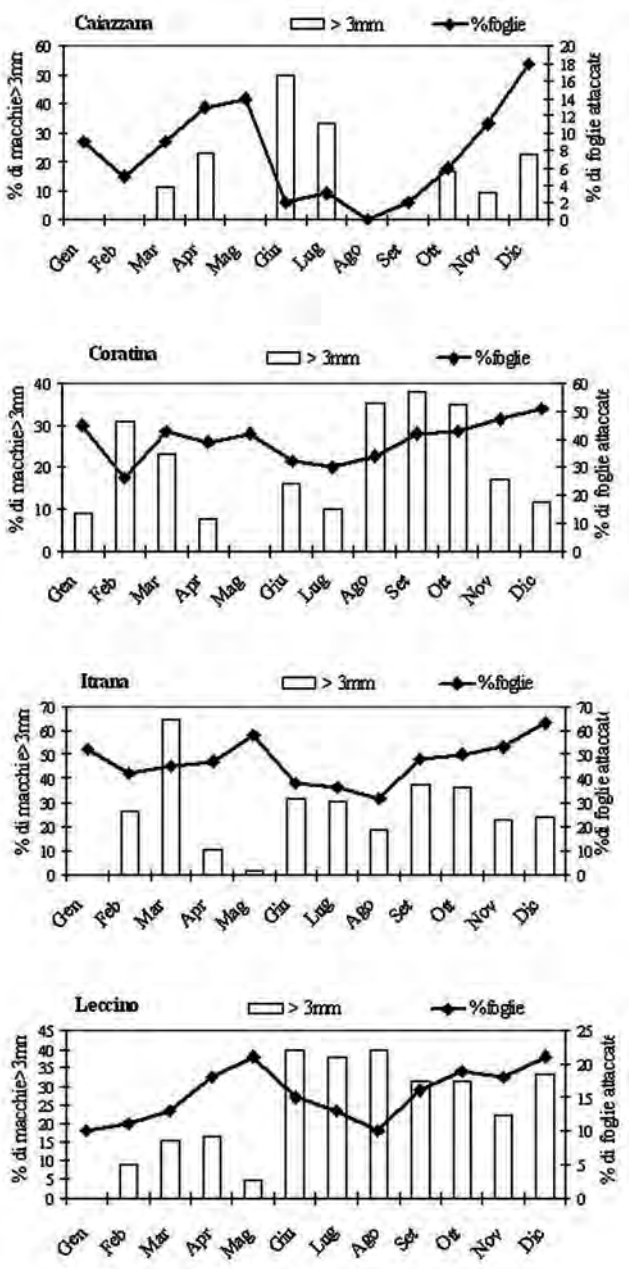


Fig. 4 - Percentuale di macchie con diametro superiore a 3 mm e percentuali di foglie attaccate da *Spilocaea oleagina* su foglie asintomatiche di 4 cv di olivo (Caiazzana, Leccino, Coratina, Itrana) in 12 mesi di saggi.
Fig. 4 - Percentage of spots with a diameter larger than 3 mm and percentage of leaves attacked by Spilocaea oleagina *in asymptomatic leaves of 4 olive CVs (Caiazzana, Leccino Coratina, Itrana) in 12 months assays.*

braio. In questo mese alla più bassa percentuale d'infezione si è contrapposta un'alta percentuale di macchie grandi, di poco inferiore a quelle registrate successivamente nei mesi di agosto, settembre e ottobre. Per la "Itrana" (fig. 4d), come per le prime due cv, le infezione maggiori si sono verificate a maggio e a dicembre, ma con valori molto più alti; per questa cv spicca l'alta percentuale di macchie grandi registrata nel mese di marzo.

I dati riportati nel figura 4 possono contribuire ad una razionale e mirata programmazione degli interventi anticrittogamici, soprattutto nei confronti delle cultivar più sensibili. Si confrontano, infatti, i valori percentuali mensili di foglie attaccate per le singole cultivar e le percentuali di macchie presenti con diametro superiore a 3 mm (grandi). Queste sono le manifestazioni, non ancora visibili ad occhio nudo, delle infezioni avvenute da almeno 20-30gg., catalogabili nel IV e V stadio del ciclo biologico del parassita e corrispondono alla formazione dei rami coni-

diofori e all'inizio della sporificazione (Loprieno e Tenerini, 1959).

In conclusione i risultati ottenuti ci confermano che le cultivar "Coratina" e "Itrana" sono molto sensibili all'attacco della *S. oleagina*, mentre la cv autoctona "Caiazzana" è apparsa resistente, anche più del "Leccino", al parassita. Per quanto concerne le soglie d'intervento per il controllo dell'occhio di pavone tramite i trattamenti anticrittogamici, riteniamo che con percentuali d'infezione inferiori al 30% si possa non intervenire, ma superata questa soglia, sia opportuno effettuare interventi "mirati". I prodotti consigliabili sono soprattutto quelli a base di rame, da sostituire eventualmente con ditiocarbammati se si è in prossimità della raccolta; in questi casi, infatti, i sali di rame potrebbero alterare, nelle varietà da olio, la qualità del prodotto. Per interventi "mirati" intendiamo riferirci a trattamenti da effettuare nei periodi di massima attività del parassita, rilevabile dal monitoraggio mensile. Poiché i prodotti cuprici tra i loro effetti hanno anche quello di favorire la caduta delle foglie fortemente attaccate dalla *S. oleagina*, è bene usarli nei periodi di massima infezione in modo da abbattere notevolmente il potenziale d'inoculo del parassita. In base ai nostri risultati i momenti migliori per tali interventi sono due, il primo da effettuare all'inizio della primavera, tra marzo e aprile, e il secondo in autunno, tra settembre e ottobre. Una breve riflessione può essere fatta sulla comparsa di macchie grandi, rilevata per le due cv resistenti dal mese di agosto in poi. Per la cv autoctona "Caiazzana" nel periodo estivo le infezioni si sono quasi azzerate e le macchie grandi, che di norma compaiono dopo 1 o 2 mesi dall'inizio dell'infezione, non sono state più osservate nei mesi di agosto e settembre. Per la "Leccino", invece, le infezioni, anche se a livelli bassi, sono continuate per tutta l'estate con una costante comparsa di macchie grandi fino a dicembre. Bisogna considerare che lo stadio di "macchie grandi" è quello che precede di poco la sporificazione del parassita. Inoltre la cv "Leccino" viene frequentemente utilizzata come impollinatrice dell'Itrana, pertanto si consiglia di effettuare un trattamento anticrittogamico nel periodo autunnale anche su questa cv nonostante che i livelli d'infezione siano al di sotto della soglia di intervento del 30%.

Riassunto

E' stata valutata la sensibilità all'occhio di pavone, causato dalla *Spilocaea oleagina*, di 4 cultivar di olivo: "Caiazzana", "Leccino", "Coratina" e "Itrana", presenti in oliveti siti in provincia di Caserta. Utilizzando il metodo della diagnosi precoce per la valutazione dei sintomi, dopo 12 mesi di saggi, si è accertato che le prime due cv sono da considerare resistenti, mentre le due rimanenti si sono mostrate molto suscettibili alla malattia.

Parole chiave: resistenza, cultivar, occhio di pavone.

Bibliografia

ANDREUCCI E., 1960. *Infezioni primaverili, con tardiva manifestazione dei sintomi, larvata minaccia del* Cycloconium oleaginum *Cast., in oliveti della Valdinievole (Toscana)*. L'agricoltura Italiana, 60: 100-114.

CRISTINZIO G., VIGGIANI G. 1990. *La fitopatologia dell'Olivo e le più moderne forme di lotta*. In: Olivicoltura innovazioni tecnologiche e valutazione dei risultati economici in alcune realtà aziendali: FORMEZ, Napoli 1989; 99-139.

GRANITI A., DE LEO P., BAGORDO, 1962. *Osservazioni sulla* Spilocaea oleagina *(Cast.) Hugh. II: attività enzimatiche del fungo in relazione al suo insediamento nelle foglie di olivo.* Phytopath. Med., 2, 20-36.

GRANITI A., 1993. *Olive scab, a review*. EPPO Bull., 23: 377-384.

IANNOTTA N., FODALE A.S., MULÈ R., TOCCI C., TUCCI A.,ZAFFINA F. 1999. *Valutazione della suscettibilità di diverse cultivar di olivo dei confronti di* Spilocaea oleagina *(Cast.) Hugh.* 5° Conv. Naz. Biodiversità. Caserta 9-10 sett.: 781-788.

LOPRIENO N., E CENERINI I.. 1959. *Metodo per la diagnosi precoce dell'occhio di pavone dell'olivo (*Cycloconium oleaginum *Cast.)*. Phytopath. Z. 34, 4, 385-392.

SAAD A.T., MASRI S., 1978. *Epidemiological studies on Olive leaf spot incited by* Spilocaea oleagina *(Cast.) Hugh*. Phytopath. Med., 17: 170-173.

SALERNO M., 1966. *Il "Cicloconio" dell'Olivo (*Spilocaea oleagina *(Cast.) Hugh.). Notizie di biologia e lotta*. Compt. R. Premières Journées Phytoiatr. Phytopharm. Circum-Méditeranéennes, Marseille: 260-267.

PETRI L. 1913. *Studi sulle malattie dell'olivo, III – Alcune ricerche sulla biologia del* Cycloconium oleaginum *(Cast.)*. Bertero, Roma.

VIRUEGA J.R., TRAPERO A., 1999. *Epidemiology of leaf spot of olive tree caused by* Spilocaea oleagina *in southern Spain*. Acta Hort. 474: 531-534.

Uso di prodotti naturali contro *Saissetia oleae* e fumaggini

Rongai D.[1], Basti C.[1], Di Marco C.[1] e Cerato C.[2]
[1] CRA - OLI, Centro di Ricerca per l'olivicoltura, Città S. Angelo (PE)
[2] CRA - CIN, Centro di Ricerca per le Colture Industriali, Bologna

Preliminary results on the use of natural products against Saissetia oleae and sooty mold

Abstract. Chemicals in crop protection may cause some ecological problems. A new formulation of vegetable oil in water emulsion, containing Brassica carinata seed meal showed a good insecticidal activity against some pests. The preliminary results of treatments against Saissetia oleae on olive trees, showed a significant decrease of offspring number on the trees treated by formulation. In the cultivar Gentile di Chieti the value observed in September and October were 0,65 and 0,09 offspring/leave respectively, against 1,8 and 0,74 of mineral oil and 3,6 and 0,9 of untreated control. On the contrary sooty mold was not affected by treatments. No symptoms of phytotoxicity were observed on plants.

Key words: bioinsecticide, glucosinolates, environmental-friendly products, biological control.

Introduzione

Negli ultimi anni le anomali condizioni climatiche caratterizzate da inverni miti ed estati caldo-umide hanno favorito una recrudescenza degli attacchi da parte della cocciniglia dell'olivo *Sassetia oleae* (Oliv). Negli areali del Centro Italia l'insetto ha una sola generazione l'anno e sverna come neanidi di 2° e 3° età o come femmine giovani. Nel mese di aprile esse divengono adulte ed iniziano l'ovideposizione che si protrae per oltre tre mesi. Temperature invernali inferiori allo 0°C ed estive superiori ai 35 °C limitano lo sviluppo del fitofago. Le forme giovanili che fuoriescono dallo scudetto della femmina ovigera si diffondono su tutta la chioma provocando un danno diretto dovuto alla sottrazione della linfa e indiretto favorendo l'insediamento di funghi saprofiti sulla melata prodotta con sviluppo di fumaggine. L'insediamento dei funghi saprofiti appartenenti ai generi *Capnodium, Alternaria* e *Cladosporium* è collegato all'attacco più o meno intenso della cocciniglia (Rosselli, 1978). Il fitomizo, a seguito della sua attività trofica, svolge una sorta di filtrazione dei succhi vegetali, liberando sostanze zuccherine che andranno a formare la melata. Si ritiene che oltre a quella prodotta dalla cocciniglia vi sia anche la "melata fisiologica" emessa direttamente dalle foglie e dai rametti di olivo. La melata prodotta viene poi diluita e diffusa dall'acqua di condensazione (o da piogge leggere), creando così un substrato alimentare sul quale i suddetti funghi formano colonie epifitiche e la caratteristica copertura nerastra (Prota, 1993). La sintomatologia che si manifesta a seguito di forti attacchi consiste nella perdita del vigore, filloptosi anticipata e scarsa o nulla fruttificazione. Spesso i prodotti anticrittogamici o miscele di fungicidi e scrostanti non sono sufficientemente efficaci senza razionali pratiche agronomiche e interventi mirati per la lotta alle infestazioni coccidiche. Il momento propizio per i trattamenti si ha nel mese di luglio-agosto quando la popolazione di cocciniglia è più vulnerabile essendo formata da neanidi appena fuoriuscite e in spostamento sulle foglie. I trattamenti invernali-primaverili hanno scarso effetto e quelli eseguiti nella tarda primavera possono ridurre l'entomofauna utile presente nell'uliveto (*Ichneumonoidea, Coccinellidae, Neuroptera* e *Syrphidae*). Nei programmi di lotta integrata contro la cocciniglia i prodotti più usati sono il regolatore di crescita Buprofezin, il Fosmet e gli oli minerali leggeri. L'interesse per gli oli è aumentato per il buon profilo tossicologico che li caratterizza, compatibile con i programmi di lotta biologica e integrata (Benfatto *et al*., 2000). Recenti studi dimostrano che in taluni casi è possibile sostituire gli oli minerali con quelli di origine vegetale meno fitotossici (Martin *et al*., 2005).

Scopo di questo studio è quello di verificare gli effetti su *S. oleae* e fumaggini di un formulato (Rongai *et al*., 2006) composto da olio vegetale di semi di brassicacee, farina di *Brassica carinata* e alcuni additivi minori. Come noto, l'olio vegetale, parte essenziale del formulato, interferisce sulle attività respiratorie delle cocciniglie infestanti gli agrumi occludendo gli spiracoli, riducendo così gli scambi gassosi dei processi metabolici, oltre che ad ostacolare gli spostamenti delle neanidi. Accanto a queste proprietà generali dell'olio, la presenza di farina contenente glucosinolati ne aumenta l'attività insetticida; infatti, l'isotiocianato (il principale prodotto di degradazione dei glucosinolati), essendo liposolubile passa nell'olio, conferendo al formulato un'azione fumigan-

te nei confronti degli insetti presenti sulla superficie vegetale.

Tale formulato si è dimostrato efficace verso le forme svernanti della cocciniglia rosso forte degli agrumi (Rongai *et al*., 2008). Con questo lavoro si vuole saggiarne l'efficacia su *S. oleae*, non solo sulle forme svernanti, ma anche sulle neanidi.

Materiali e metodi

La ricerca è stata effettuata nel 2009 sulla collina litoranea abruzzese. Trattasi di un oliveto di 15 anni sito nel comune di Città Sant Angelo (PE) a circa 50 m s.l.m. e dell'estensione di 1,8 ha. L'impianto è formato dalle cultivar Nocellara del Belice e Gentile Chieti allevate a monocono (sesto 6x3). Il terreno è di medio impasto tendente all'argilloso, in leggera pendenza con esposizione S-E.

Prove sperimentali

Sono state condotte due prove distinte, una per ogni cultivar, adottando uno schema sperimentale a blocchi randomizzati con 8 piante per tesi, 2 per ciascuna delle 4 ripetizioni. L'entità della popolazione viva di cocciniglia, sia per il rilievo preliminare sia per i rilievi in post-trattamento, è stata valutata, osservando allo stereomicroscopio per ogni tesi, 200 foglie (50 per ripetizione) o 2 m di rametti (4 porzioni di rametti di circa 12,5 cm, per un totale di 50 cm per ripetizione).

Parallelamente alle prove sulla cocciniglia sono stati fatti i rilievi di efficacia dei trattamenti sulla fumaggine. Per ogni tesi sono state prelevate 200 foglie (50 per ripetizione) prima del trattamento e successivamente ad intervalli di trenta giorni. L'intensità dell'attacco di fumaggine è stata valutata come percentuale di superficie colpita su una scala da 0 a 5 (0 = foglia pulita; 1 = 20% di superficie fogliare coperta; 5 = 100% di superficie fogliare con fumaggine).

Trattamenti e prodotti utilizzati

Sono stati fatti 4 trattamenti con formulato e 4 con olio vegetale, 2 in primavera (8/04 e 6/05), contro le forme svernanti di *S. oleae* e 2 in estate (24/07 e 20/08) per combattere le neanidi. Il prodotto commerciale di riferimento (olio minerale) è stato impiegato in un unico trattamento (24/07). I prodotti impiegati sono stati: formulato (DUOLIF- Cerealtoscana spa) alla dose di 2kg/hl, olio vegetale (di semi di *Brassica carinata*) 2kg/hl e olio minerale (Biancolio-Siapa) 3kg/hl. I trattamenti sono stati effettuati con una pompa a volume normale, regolata a 20 atm, distribuendo circa 3-4 litri di prodotto per pianta, a seconda delle dimensioni della chioma, bagnandola fino a gocciolamento.

Analisi statistica

I risultati delle prove sono stati trasformati in valori angolari e sottoposte all'analisi della varianza (ANOVA) a due vie (Fisher LSD method) per testare la significatività della variabile "cultivar" e dell'interazione "cultivar/trattamenti". Per la realizzazione dei grafici è stato utilizzato il programma SigmaPlot versione SPW10, per la statistica Sigma Stat versione SStat3_5.

Risultati e discussione

Forme svernanti di Saissetia oleae

I risultati ottenuti in campo mostrano, a partire dal 18 giugno, un livello di infestazione sui rametti statisticamente più alto nelle tesi trattate con olio vegetale e non trattato rispetto alla tesi trattata col formulato (tab. 1). Nell'ultimo rilievo del 3 agosto, le femmine adulte presenti su 50 cm di rametto nel testimone non trattato erano 60,5 e 75,5 rispettivamente per Gentile di Chieti e Nocellara del Belice, mentre nella tesi trattata con olio vegetale erano 54,3 e 59. Tali valori sono risultati statisticamente superiori rispetto a quelli della tesi con formulato dove i dati sono stati 25,9 (Gentile di Chieti) e 12,7 (Nocellara del Belice).

Tab. 1 - Neanidi e femmine di *S. oleae* osservate su 100 foglie e 50 cm di rametto, cv Gentile di Chieti (G.C.) e Nocellara del Belice (N.B.). Nella stessa colonna, i valori con lettere differenti sono statisticamente diversi (LSD test, P<0,05).

Tab. 1 - Offsprings and female of S. oleae observed on 100 leaves and 50 cm of branch, cv Gentile di Chieti (G.C.) and Nocellara del Belice (N.B.). Values with different letters are statistically different. (LSD test, P≤0,05).

Tesi	Pre-trattamento (Neanidi/foglie)		Post-trattamento (Femmine adulte/rametto)					
	18/03/2009		*18/05/2009*		*18/06/2009*		*03/08/2009*	
	G.C.	N.B.	G.C.	N.B.	G.C.	N.B.	G.C.	N.B.
Testimone non trattato	94a	97a	34a	56a	68a	81a	60,5a	75,5a
Olio vegetale	128a	133a	34a	49a	54b	50b	54,3a	59,0a
Formulato	228b	239b	16b	56a	19c	27c	25,9b	12,7b

L'aumento delle cocciniglie adulte a partire dal 18 maggio in entrambe le cultivar probabilmente è dovuto al fatto che le neanidi di terza età, prima di compiere l'ultima muta, migrano dalle foglie ai rametti. Tale aumento risulta molto evidente nel testimone e in olio vegetale per entrambe le cultivar. Nella tesi trattata col formulato la presenza aumenta di poco o addirittura diminuisce come nella cv Nocellara del Belice, passando da 56 individui del 18 maggio a 27 del 18 giugno e 12,7 del 3 agosto (tab. 1). Questa diminuzione potrebbe essere dovuta sia alla caduta delle cocciniglie adulte morte a seguito del trattamento, sia ad un numero inferiore di neanidi di 2ª e 3ª età in grado di migrare dalle foglie ai rami per l'azione tossica provocata dal formulato.

Neanidi di Saissetia oleae

Le osservazioni di settembre ed ottobre mostrano che il formulato combatte bene il fitomizio. Nella cv Gentile di Chieti si sono contate rispettivamente 3,6 e 0,9 neanidi vive/foglia per il testimone non trattato; 2,4 e 0,77 per l'olio vegetale e 1,8 e 0,74 per l'olio minerale (fig. 1a). Questi dati sono statisticamente differenti da quelli della tesi trattata col formulato (0,6 e 0,09 neanidi vive/foglia).

Risultati simili si sono ottenuti nella cv Nocellara del Belice dove in complesso la presenza delle neanidi è stata più alta. Nei due rilievi di settembre ed ottobre sono state conteggiate rispettivamente 15,2 e 0,81 neanidi vive/foglia per il testimone non trattato; 13 e 0,75 per l'olio vegetale e 10,45 e 0,6 per l'olio minerale. Valori statisticamente più elevati rispetto alla tesi trattata col formulato dove sono stati conteggiate 4,9 e 0,09 neanidi vive/foglia (fig. 1b). Nel rilievo di settembre, anche l'olio minerale ha fatto registrare un numero di neanidi vive/foglia significativamente più basso rispetto al testimone non trattato, ma superiore al formulato.

Fumaggine

A partire dal rilievo del 18 maggio la presenza di fumaggine sulle foglie della cv Gentile di Chieti ha avuto una graduale diminuzione fino al rilievo del 22 settembre per poi di nuovo aumentare, ad esclusione della tesi con il formulato (fig. 2). Tuttavia, data la grande variabilità dei valori rilevati nella tesi con il formulato, il dato medio non è statisticamente differente rispetto alla tesi olio vegetale.

Stessi risultati sono emersi in Nocellara del Belice. Da una copertura di fumaggine di circa il 90% della superficie fogliare il 18 maggio, si arriva a poco più della metà nei rilievi successivi, per poi risalire a oltre il 60% il 22 settembre (fig. 3). Il formulato non si discosta in modo significativo rispetto alle altre tesi.

La progressiva diminuzione delle fumaggini osservata durante i mesi estivi è dovuta probabilmente ad un aumento, nel campione esaminato, della percentua-

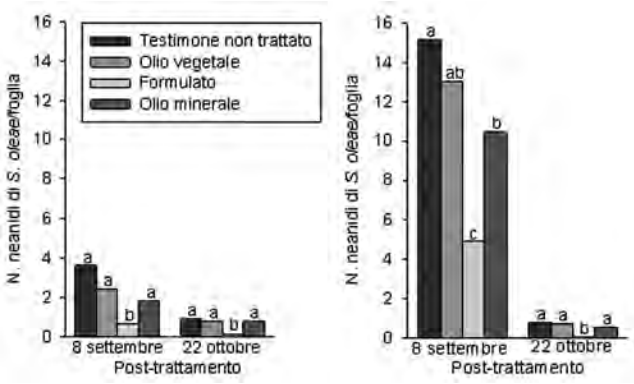


Fig. 1 - Numero di neanidi vive osservate su foglia in Gentile di Chieti (a) e Nocellara del Belce (b).
Fig. 1 - Number of offsprings observed on leaf of Gentile di Chieti (a) and Nocellara del Belice (b).

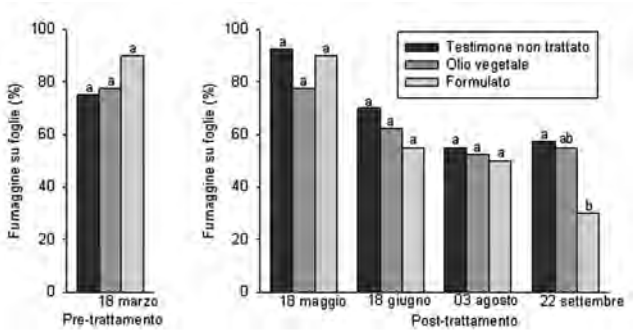


Fig. 2 - Percentuale di copertura della fumaggine su foglie della cv Gentile di Chieti. A sinistra la situazione prima dei trattamenti.
Fig. 2 - Percentage of leaves surface covered by sooty mold in cv Gentile di Chieti. Before treatments (sn) and after treatments (dx).

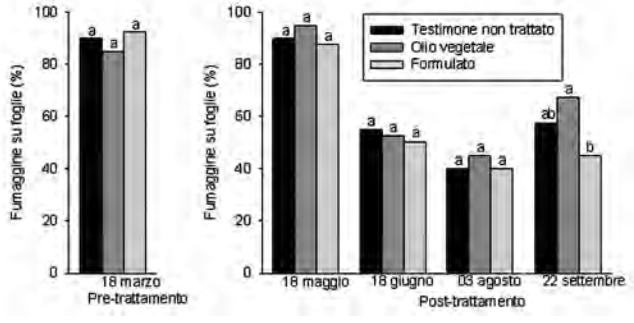


Fig. 3 - Percentuale di copertura della fumaggine su foglie della cv Nocellara del Belice. A sinistra la situazione prima dei trattamenti.
Fig. 3 - Percentage of leaves surface covered by sooty mold in cv Nocellara del Belice. Before treatments (sn) and after treatments (dx).

le di foglie dell'annata non ancora coperte dai funghi saprofiti. Il successivo incremento osservato nel rilievo del 22 settembre è invece dovuto all'imbrattamento delle giovani foglie conseguente alla produzione di melata da parte delle neanidi progressivamente migrate dai rametti alle foglie neo formate.

In tutte le prove effettuate non sono emersi sintomi connessi ad una eventuale fitotossicità dei prodotti utilizzati.

Conclusioni

Da queste prime osservazioni emerge che il formulato sembra in grado di combattere la cocciniglia mezzo grano di pepe, ma non di ridurre significativamente l'incidenza delle fumaggini. Il formulato ha confermato la sua attività insetticida non solo nei confronti delle neanidi, ma anche nei riguardi degli adulti del coccide. Nelle piante della cultivar Nocellara del Belice trattate col formulato, dove l'infestazione è stata molto alta, il numero di cocciniglie adulte osservate sui rametti è diminuito in modo progressivo da maggio in poi, fino a ridursi drasticamente nel rilievo compiuto nei primi giorni di agosto. Questa diminuzione, potrebbe essere dovuta non solo ad una minore presenza di neanidi migranti ma anche al fatto che il coccide, pur protetto da uno scudetto, non è stato in grado di evitare l'azione insetticida del formulato. Ciò ha prodotto una morte prematura degli adulti presenti sui rametti dell'anno e, presumibilmente, il loro conseguente distacco da esso.

Gli effetti sulle fumaggini, invece, non sono stati quelli attesi. Nonostante nell'ultimo campionamento le piante trattate col formulato mostrassero visivamente una minore copertura di fumaggini, i dati presentavano una variabilità troppo alta per poter essere discriminanti. In ogni caso, la fumaggine è da considerare un problema secondario la cui soluzione dipende, oltre che dalla lotta alle infestazioni coccidiche, anche dalle pratiche agronomiche adottate per limitare le condizioni favorevoli allo sviluppo di tali funghi. Nella prova in oggetto il formulato non ha eliminato completamente l'insetto poiché i trattamenti sono stati eseguiti su piante con una elevata copertura di fumaggini e senza le necessarie potature. In queste condizioni, appare ovvio che il formulato anche se è riuscito a limitare l'infestazione della cocciniglia non è stato in grado di eradicarla completamente e la presenza anche di poche neanidi sulle foglie è stata sufficiente allo sviluppo dei funghi saprofiti.

Per concludere, tali primi risultati, mostrano che il formulato sembra essere in grado di combattere efficacemente la cocciniglia mezzo grano di pepe. Inoltre, dato che esso è costituito da sostanze naturali e che nelle prove non sono emersi fenomeni di fitotossicità, è ipotizzabile che possa essere utilizzato in programmi di lotta biologica e integrata, favorendo così strategie a basso impatto ambientale.

Riassunto

Recenti studi sull'uso di sostanze biocide ecocompatibili, come quelle derivate da farine di Brassicaceae, hanno portato alla creazione di un formulato composto da olio vegetale, farina di *Brassica carinata* e alcuni additivi minori. Un oliveto di 15 anni è stato trattato con olio minerale, olio vegetale e formulato. I risultati ottenuti evidenziano nelle tesi trattate con il formulato, a partire dal mese di aprile, una diminuzione statisticamente significativa delle femmine adulte presenti sui rametti. Nella cv Gentile di Chieti, nei rilievi di settembre ed ottobre, si sono contate 0,65 e 0,09 cocciniglie/foglia, contro 1,8 e 0,74 dell'olio minerale e 3,6 e 0,9 del testimone non trattato. Analoghi risultati sono stati rilevati sulla cv Nocellara del Belice. A riguardo della fumaggine, si è riscontrata una generale riduzione, anche se non sono emersi valori statisticamente significativi tra le tesi. Nelle prove eseguite non sono emersi fenomeni di fitotossicità.

Parole chiave: bioinsetticida, glucosinolati, basso impatto ambientale, lotta biologica, olivo.

Bibliografia

BENFATTO D., V. LO GIUDICE, F. CONTI, R. LUMINELLI, 2000. *Spray oil evolution in Italian citrus groves.* Spray oils beyond 2000. Sidney Australia 23-29 October 1999.

MARTIN B., HERNANDEZ S., SILVARREY C., JACAS J. A., CABALEIRO C., 2005. *Vegetable, fish and mineral oils control of grapevine powdery mildew*. Phytopathology Mediterranea, 44: 169-179.

PROTA U., 1993. *La difesa dai parassiti vegetali.* Atti Convegno su "Tecniche, norme e qualità in olivicoltura" Potenza, 15-17 dicembre: 419-444.

ROSSELLI G., 1978. *Indagine sulla suscettibilità alla* Saissetia oleae *(Oliv.) di cultivar di olivo da mensa*. Riv. Ortoflorofrutt. It., 62: 287-294.

RONGAI D., CERATO C., LAZZERI L., PALMIERI S., 2006. *Composition for the treatment and/or prevention of attacks by biological agents*. (Patent number PCT/IB2006/001700).

RONGAI D., CERATO C., LAZZERI L., PALMIERI S., PATALANO G., 2008. *Vegetable oil formulation as biopesticide to control California red scale (*Aonidiella aurantii *Maskell)*. J. Pest Science 81(4): 179-185.

Prove sulla radicazione di talee di cultivar siciliane di *Olea europaea* L.

Chiancone B., Macaluso L. e Germanà M.A.*
Dipartimento SENFIMIZO, Sezione Frutticoltura Mediterranea, Tropicale e Subtropicale, Università di Palermo

Root induction in cuttings of sicilian cultivars of *Olea europaea* L.

Abstract. Up to now, almost 60% of olive plants on the market are self rooted plants. They have several advantages with respect to the grafted ones, such as the genetic homogeneity of the material, the shorter permanence in greenhouse and the lower costs of production. The main limiting factor for a larger diffusion of self rooted cuttings is the low olive attitude to rooting. The possibility of increasing rooting in a larger number of olive cultivars represents the starting point for a large scale utilization of self rooted cuttings and for their larger diffusion at nursery level. For this reason, several researches have been carried out to increase the rooting ability, through the treatments to the cutting, the use of nebulization and the basal heating. The present research has been carried out to evaluate the response to rhizogenesis of sixteen Sicilian cultivars, treating cuttings only with Indole-3-butyric acid (IBA) or with oxygen peroxide and then with IBA. Both for the percentage of cuttings with callus and with roots, the rhizogenic answer has been statistically different among the cultivars and, per each cultivar, between treatments. For some cultivars, treatment with H_2O_2/IBA gave better results than treatment with only IBA.

Key words: hydrogen peroxide, olive, propagation, rooting.

Introduzione

L'olivo (*Olea europaea* L.) è una delle piante che più caratterizzano l'ambiente del bacino del Mediterraneo. Negli ultimi anni, l'olivicoltura ha cominciato a diffondersi in un numero sempre maggiore di Paesi e, quindi, la richiesta di piante di qualità di olivo è aumentata. In questo ambito, il comparto vivaistico acquisisce un ruolo chiave, ma è necessario che la ricerca scientifica continui ad approfondire le ricerche in modo da aumentare il livello qualitativo del materiale vegetale prodotto.

La propagazione dell'olivo si effettua principalmente mediante innesto su portinnesti ottenuti da semenzali o mediante talee autoradicate (Hartmann *et al.*, 1990).

In particolare, negli ultimi anni nel comparto vivaistico le piante autoradicate hanno acquisito la stessa importanza commerciale delle piante innestate. A tutt'oggi, circa il 60% delle piante di olivo presenti sul mercato sono piante autoradicate che presentano una serie di vantaggi rispetto alle innestate, fra cui l'omogeneità genetica del materiale, il ridotto periodo di permanenza in serra e i bassi costi di produzione (Briccoli Bati *et al.*, 2006).

Il principale fattore limitante per una maggiore diffusione delle talee autoradicate è la scarsa capacità rizogena dell'olivo.

Nell'olivo, la formazione di radici avventizie può essere stimolata dall'apporto di auxine esogene, ma il loro ruolo nella radicazione non è esclusivo e altri composti sono coinvolti. Le poliammine (putrescina) e l'acqua ossigenata (H_2O_2) si sono dimostrati utili per indurre una precoce radicazione delle talee (Gaspar *et al.*, 1997; Ozkaya *et al.*, 1993; Rugini *et al.*, 1990, 1997). Inoltre, a livello vivaistico, la combinazione dell'acqua ossigenata con l'IBA ha incrementato la radicazione, sia di cultivar ad alta (Frantoio) che a bassa (Gentile di Larino) attitudine rizogena (Sebastiani *et al.*, 2002).

L'induzione alla formazione di radici, così come la fisiologia dello sviluppo radicale sono processi molto complessi che sono mediati da diversi cambiamenti nel metabolismo della pianta come dimostrato dai molti fattori biochimici e molecolari coinvolti (Davis e Haissig, 1994; Altman e Waisel, 1997).

Dalla scoperta e dall'identificazione del primo fitormone, l'acido indol 3 acetico (IAA), le auxine naturali e i composti di sintesi di questa categoria sono stati utilizzati come promotori della formazione di radici avventizie. Comunque, l'effettivo ruolo delle auxine nella radicazione è stato spesso sovrastimato o male interpretato. Gaspar *et al.* (1997) hanno infatti messo in evidenza come i livelli endogeni di IAA variano in parallelo con l'attività della perossidasi; la stessa IAA, per esempio, controlla l'attività della perossidasi coinvolta nella lignificazione (Ros Barcelo e Munoz, 1992) che è un processo fondamen-

* agermana@unipa.it

tale nella formazione delle radici. Il picco della perossidasi può essere indotto dall'applicazione di poliammine esogene, come la putrescina che favorisce una precoce radicazione (Rugini *et al.*, 1990, 1997; Ozkaya *et al.*, 1993; Gaspar *et al.*, 1997).

La degradazione della putrescina è accompagnata dalla formazione di acqua ossigenata (H_2O_2) che interviene nel meccanismo delle perossidasi (Rugini *et al.*, 1991; Gaspar *et al.*, 1997). Inoltre, la stessa acqua ossigenata promuove la radicazione e aumenta la percentuale di radicazione nell'olivo, se applicata durante la fase di induzione (Rugini *et al.*, 1997). In ogni caso, a dispetto di questi risultati interessanti, sono pochi gli studi effettuati ricorrendo a trattamenti con acqua ossigenata e auxine in combinazione (Rugini *et al.*, 1997, 2001; Sebastiani e Tognetti 2004).

La presente ricerca è stata effettuata al fine di verificare il comportamento di talee prelevate da diversi genotipi siciliani sottoposte a due trattamenti induttivi.

Materiali e metodi

Materiale vegetale

Germogli semi-legnosi sono stati prelevati nel mese di novembre da piante adulte di olivo, allevate in regime di agricoltura biologica, presenti in un campo collezione sito nel comune di Scillato (PA).

Le cultivar prese in esame sono le seguenti: Biancolilla Caltabellotta, Biancolilla napoletana, Biancolilla Pantelleria, Biancolilla Scillato, Biancolilla siracusana, Cerasuola Sciacca, Galatina, Giarraffa, Minuta, Nasitana, Nocellara del Belice, Nocellara messinese, Passulunara, Tonda Iblea, Verdello e Zaituna.

Per ogni cultivar sono state preparate 50 talee con sezione di circa 2 mm, e lunghezza di circa 10 cm. Le talee sono state defogliate tranne che per le due foglie nella parte distale.

Trattamenti induttivi la radicazione

Le talee così preparate sono state sottoposte a due trattamenti induttivi. Per ciascun genotipo, 25 talee sono state immerse in una soluzione al 3,5% (w/v) di perossido di idrogeno per 30 secondi, prima di trattarle con una soluzione idroalcolica di acido indol 3 butirrico (IBA) (3.000 ppm) per 10 secondi (H_2O_2/IBA). Inoltre, 25 talee sono state trattate solamente con IBA (3.000 ppm) per 10 secondi (IBA).

Dopo il trattamento induttivo, le talee sono state poste in recipienti di plastica rettangolari del volume di circa 14 litri, su substrato di radicazione preparato mescolando, in appositi contenitori, torba e agriperlite in rapporto di 1:2 (fig. 1). I contenitori sono stati coperti con dei film plastici, dopo aver bagnato le talee con una soluzione di fungicida (150 mg/l Propamocarb). Sono state effettuate nebulizzazioni ogni due giorni.

Fig. 1 - Talee poste a radicare.
Fig. 1 - Cuttings placed to rooting.

In concomitanza con il trapianto, effettuato dopo quattro mesi dal trattamento induttivo, è stato svolto il primo monitoraggio in cui è stato rilevato il numero di talee che presentavano callo, il numero di talee con germogli, il numero di germogli per talea e la lunghezza dei germogli; inoltre, è stato contato il numero di radici per talea ed è stata misurata la lunghezza delle radici. In seguito, le talee sono state poste singolarmente in vasi di plastica rotondi e neri di 14 cm di diametro, contenenti una miscela di torba e agriperlite in rapporto 1:2.

Durante il secondo monitoraggio, effettuato dopo tre mesi dal trapianto (7 mesi dal trattamento induttivo), è stato rilevato il numero di talee germogliate, il numero di germogli per talea e la lunghezza dei germogli.

Analisi statistica

Le talee sono state disposte in un blocco randomizzato. Per analizzare statisticamente l'effetto di ogni trattamento sulle diverse cultivar, per ogni monitorag-

gio, è stato effettuato il test del χ^2 per i dati riguardanti la percentuale di talee con callo, con radici e germogli; mentre, è stata condotta un'analisi della varianza (ANOVA) a due vie per i dati riguardanti il numero e la lunghezza di radici e di germogli.

Risultati

Durante i mesi in cui le talee sono state poste a radicare, le foglie apicali si sono mantenute verdi e turgide, a dimostrazione che le talee sono rimaste vitali. Inoltre, al primo monitoraggio condotto dopo 4 mesi dal trattamento induttivo è stato possibile osservare lo sviluppo di germogli in alcune talee, mentre nella parte ipogea alcune presentavano un callo indifferenziato (fig. 2) ed altre già le prime radici sviluppate.

L'analisi statistica ha evidenziato come la risposta ai due trattamenti cambi a seconda delle diverse cultivar. La percentuale di germogliamento più alta è stata osservata nelle cultivar "Verdello" (rispettivamente 42,1% per l'IBA e 23,5% per H_2O_2/IBA) e "Biancolilla napoletana" (19,1%), ma solo per il trattamento con il solo IBA. Alcune cultivar come la Biancolilla Caltabellotta, la Cerasuola Sciacca, la Giarraffa, la Nocellara messinese e la Zaituna non hanno germogliato con nessuno dei due trattamenti; mentre non è stato osservato alcun germogliamento nel trattamento con IBA per la Biancolilla Scillato e nel trattamento con H_2O_2/IBA per la Biancolilla Siracusana (tab. 1).

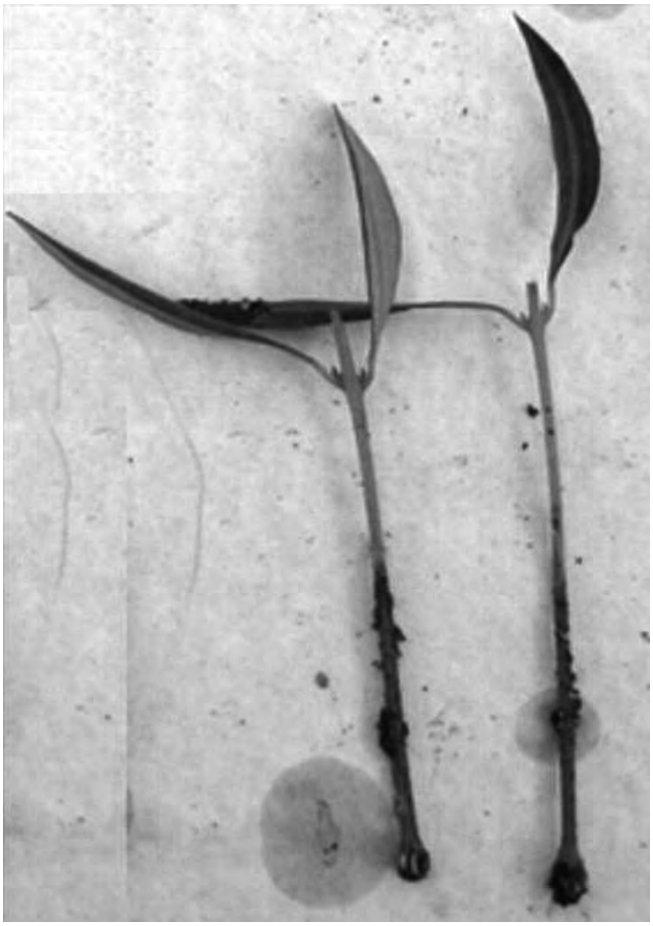


Fig. 2 - Talee di Nocellara del Belice con callo.
Fig. 2 - Cuttings of Nocellara del Belice with callus

Nessuna differenza statisticamente significativa è stata osservata per quanto riguarda i parametri numero e lunghezza dei germogli per talea. Nella cv "Biancolilla siracusana", le talee trattate con IBA hanno prodotto il numero medio di germogli più alto, mentre i germogli più lunghi sono stati ottenuti dalle talee trattate con solo IBA della "Minuta".

Al momento del primo monitoraggio, le talee estratte dal substrato sono state suddivise in tre categorie: non radicate, con callo e radicate (fig. 3).

Sia per quanto riguarda la percentuale di talee con callo che per quanto riguarda quelle con radici, la risposta rizogena è stata statisticamente diversa fra le cultivar, e per ciascuna cultivar fra i due trattamenti (tab. 1).

Infatti, per la maggior parte dei genotipi, la più alta percentuale di talee con callo è stata osservata per il trattamento con perossido di idrogeno, eccetto che per la Zaituna in cui la percentuale più alta è stata ottenuta con il trattamento con solo IBA. Le talee di Biancolilla Caltabellotta, invece, non hanno prodotto callo con nessun trattamento (Tab. 1). La percentuale di radicazione è stata molto alta per alcune cultivar, come la "Verdello" (94,7% per IBA e 70,6% per H_2O_2/IBA) e la "Biancolilla napoletana" (80,5% IBA e 59,1% H_2O_2/IBA) e molto bassa per altre, come la "Cerasuola Sciacca" (3% IBA e 6% H_2O_2/IBA), la Biancolilla Caltabellotta (3,0% IBA e 0% H_2O_2/IBA) e la "Zaituna" (0% in entrambi i trattamenti) (tab. 1).

Per gli altri parametri analizzati (numero medio di radici per talea e lunghezza media delle radici), l'analisi statistica non ha evidenziato differenze significative fra i due trattamenti. Il numero medio di radici più alto è stato osservato nella "Biancolilla napoletana" per la prova con il solo IBA (5,5) e nella "Nocellara messinese" nella prova H_2O_2/IBA (4,5).

Dopo quattro mesi dal trattamento induttivo, le radici presentavano una lunghezza media variabile: nella prova IBA, dai 4,4 cm osservati nella "Verdello" e nella "Tonda Iblea" ai 2,2 cm osservati nella "Biancolilla Scillato". Mentre, per quanto riguarda la prova H_2O_2/IBA, i valori osservati variavano da 4,4 cm della "Tonda Iblea" a 1 cm della "Minuta".

Le osservazioni effettuate hanno mostrato come il trattamento con H_2O_2 abbia inibito l'allungamento

Tab. 1 - Risposta di diverse cultivar siciliane di olivo a due trattamenti induttivi la radicazione dopo 4 mesi.
Tab. 1 - Response of several Sicilian olive cultivars after 4 months.

Cultivar	% talee germogliate		% talee con callo		% talee radicate	
	H_2O_2/IBA	IBA	H_2O_2/IBA	IBA	H_2O_2/IBA	IBA
Biancolilla Caltabellotta	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0
Biancolilla Scillato	6,2	0,0	75,0	53,3	15,6	30,0
Biancolilla Napoletana	9,1	19,5	22,7	17,1	59,1	80,5
Biancolilla Ppantelleria	0,0	12,5	59,4	33,3	31,3	60,0
Biancolilla Siracusana	0,0	2,4	65,9	29,3	24,4	68,3
Cerasuola Sciacca	0,0	0,0	81,8	81,8	6,1	6,1
Galatina	21,9	4,9	43,9	34,1	31,7	53,7
Giarraffa	0,0	0,0	80,0	56,7	3,3	13,3
Minuta	3,2	6,4	51,6	32,3	29,0	67,7
Nasitana	14,3	4,8	61,9	23,8	38,1	76,2
Nocellara del Belice	2,4	4,8	55,6	14,8	37,0	70,4
Nocellara messinese	0,0	0,0	53,6	28,6	14,3	60,7
Passulunara	18,5	7,4	66,7	35,7	19,0	64,3
Tonda iblea	14,7	13,9	88,2	50,0	11,8	47,2
Verdello	23,5	42,1	29,4	5,3	70,6	94,7
Zaituna	0,0	0,0	20,0	33,3	0,0	0,0
	P = 0,024		P = <0,001		(P = 0,022)	

I dati sono stati analizzati mediante test χ^2 $p \leq 0,001$

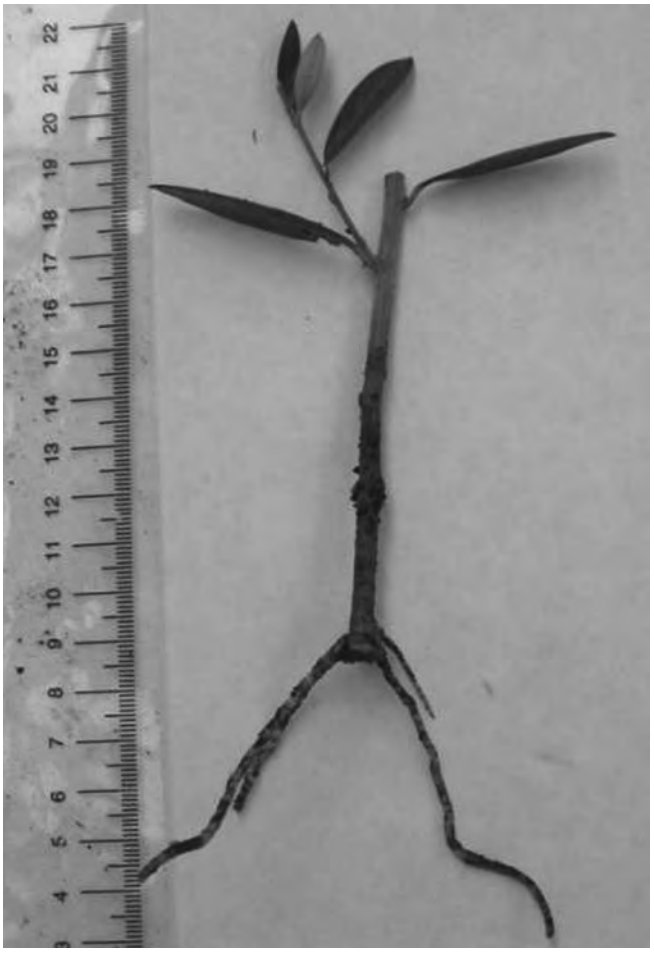


Fig. 3 - Talea di Tonda Iblea radicata.
Fig. 3 - Rooted cutting of Tonda Iblea

delle radici che, infatti, risultano sempre di lunghezza inferiore a quelle delle talee trattate solo con IBA, eccetto che per la Galatina (2,6 cm IBA e 3,2 cm H_2O_2/IBA) e per la Tonda Iblea (4,4 cm IBA e 4,4 cm H_2O_2/IBA).

Durante i 3 mesi dopo il trapianto in vaso, le talee hanno continuato a produrre germogli (fig. 4). Il monitoraggio effettuato dopo sette mesi dal trattamento induttivo ha evidenziato un notevole incremento nella percentuale di talee germogliate e, di conseguenza, radicate, soprattutto fra quelle trattate con H_2O_2/IBA; infatti, se da un lato la percentuale di radicazione delle talee trattate con IBA si è mantenuta abbastanza costante fra i due monitoraggi, dall'altro, la percentuale di radicazione delle talee trattate con H_2O_2/IBA è aumentata notevolmente; per esempio, è stato possibile osservare un incremento fino a 79 punti percentuali per la cultivar Tonda Iblea (fig. 5).

Dopo sette mesi dal trattamento induttivo, per alcune cultivar trattate con H_2O_2/IBA, la percentuale di talee radicate ha eguagliato se non superato i valori dell'altro trattamento, come nel caso della Biancolilla Pantelleria, Biancolilla Scillato, Cerasuola Sciacca, Galatina, Nasitana, Tonda Iblea e Verdello (fig. 5).

Il perossido di idrogeno che nelle talee prelevate in estate dalle cultivar Frantoio e Gentile di Larino aveva determinato un anticipo nella radicazione (Sebastiani e Tognetti, 2004), per le cultivar prese in esame in questa ricerca ha avuto un effetto contrario.

Fig. 4 - Talee germogliate dopo 7 mesi dai trattamenti induttivi.
Fig. 4 - Sprouted cuttings after 7 months from the inductive treatments.

È, però, importante sottolineare che le talee trattate con perossido di idrogeno sono rimaste vitali e attive, tanto da continuare, anche dopo il trapianto, il processo rizogenico e raggiungere, dopo sette mesi, i risultati ottenuti con il trattamento con il solo IBA ed in pochi casi anche a superarli.

Conclusioni

La possibilità di aumentare l'efficienza rizogena in un gran numero di varietà commerciali di olivo rappresenta la base di partenza per un utilizzo su larga scala di talee autoradicate e per una loro più ampia diffusione a livello vivaistico. Il trattamento con acqua ossigenata sembra favorire per alcune cultivar la radicazione, sebbene con tempi più lunghi rispetto al trattamento con il solo acido indol-butirrico. Ulteriori studi sono necessari al fine di conoscere più a fondo i fattori che influenzano la capacità rizogena, migliorando i protocolli e ricorrendo a trattamenti induttivi con composti che in altre specie recalcitranti alla radicazione hanno dato risultati positivi.

Riassunto

A tutt'oggi, circa il 60% delle piante di olivo presenti sul mercato sono piante autoradicate che presentano una serie di vantaggi rispetto alle innestate, fra cui l'omogeneità genetica del materiale, il ridotto periodo di permanenza in serra e i bassi costi di produzione. Il principale fattore limitante per una maggiore diffusione delle talee autoradicate è la scarsa capacità dell'olivo ad emettere radici. La possibilità di aumentare l'efficienza rizogena in un maggior numero di varietà commerciali di olivo rappresenta la base di partenza per un utilizzo su larga scala di talee autoradicate e per una loro più ampia diffusione a livello vivaistico. Per tale motivo, sono state condotte molte ricerche per aumentare la capacità rizogena, mediante l'impiego di trattamenti alle talee, l'applicazione della nebulizzazione e del riscaldamento basale.

La presente ricerca è stata condotta al fine di valutare la risposta alla rizogenesi di sedici cultivar sicilia-

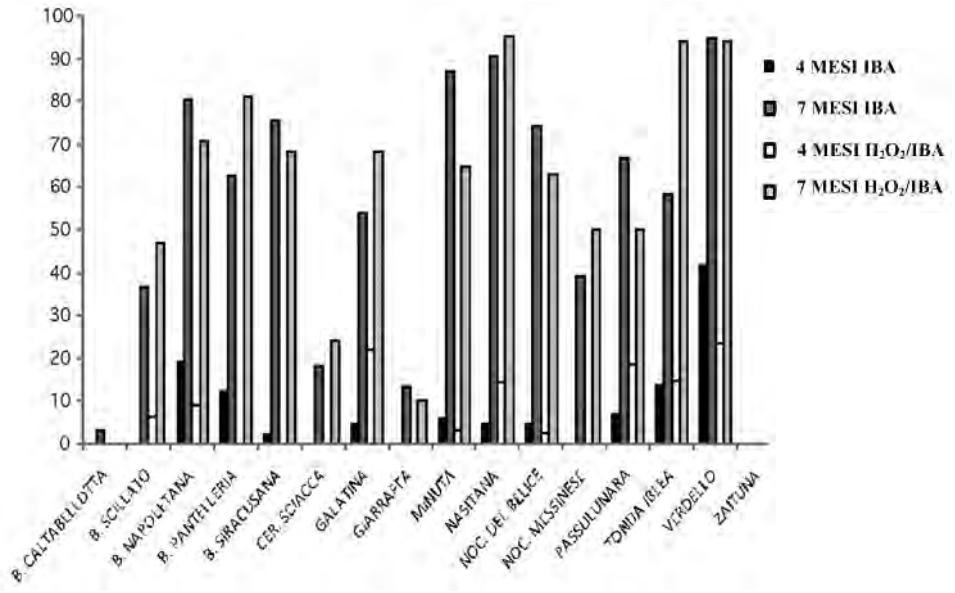


Fig. 5 - Percentuale di germogliamento dei 16 genotipi, rilevata dopo 4 e 7 mesi e per i due trattamenti induttivi.
Fig. 5 - Percentage of sprouting of the 16 genotypes after 4 and 7 months referred to two inductive treatments

ne, le cui talee sono state sottoposte a due trattamenti induttivi: uno che prevedeva la sola immersione in una soluzione idroalcolica di acido indol 3 butirrico (IBA) ed una che prevedeva l'immersione in perossido di idrogeno, prima di trattarle con IBA. Sia per quanto riguarda la percentuale di talee con callo che per quanto riguarda quelle con radici, la risposta rizogena è stata statisticamente diversa fra le cultivar, e per ciascuna cultivar fra i due trattamenti. Per alcune cultivar il trattamento con H_2O_2/IBA, ha fornito risultati migliori rispetto al trattamento con solo IBA.

Parole chiave: perossido di idrogeno, olivo, propagazione, radicazione.

Lavoro supportato dal Progetto RIOM (Ricerca e Innovazione per l'Olivicoltura Meridionale) del MiPAF.

Bibliografia

ALTMAN A., WAISEL Y., 1997. *Biology of root formation and development*. Plenum Press, New York.

BRICCOLI BATI C., GODINO G., MONARDO D., NUZZO V., 2006. *Influence of propagation techniques on growth and yield of olive trees cultivars 'Carolea' and 'Nocellara Etnea'*. Sci Hort. 109: 173-182.

DAVIS T.D., HAISSIG B.E., 1994. *Biology of adventitious root formation*. Plenum Press, New York.

GASPAR T., KEVERS C. HAUSMAN J.F., 1997. *Indissociable chief factors in the inductive phase of adventitious rooting*. In: Altman A. e Waisel Y. (Eds.), Biology of Root Formation and Development. Plenum Press, New York: 55-63.

HARTMANN H.T., KESTER D.E., DAVIES Jr. J.T., 1990. *Plant Propagation. Principle and Practices*. 5th ed. Prentice-Hall, New Jersey.

LORETI F., PISANI P.L., 1982. *Physiological and technical factors affecting rooting in woody species*. In: Proc. 21st Horticultural Congress, Hamburg: 294-309.

OZKAYA M.T., CELIK M., LAVEE S., 1993. *The effect of rooting environment and combination of auxin polyamine on the rooting ability of Turkish olive cultivars Gemlik and Domat*. Acta Hort. 356: 31-34.

ROS BARCELO A., MUNOZ R., 1992. *Peroxidases: their role in the control of plant cell growth*. In: Penelc., T. Gaspar, And H. Greppin (eds.). Plant Peroxidases 1980-1990. Topics and detailed literature on molecular biochemical and physiological aspects. Univ. of Geneve, Publications.

RUGINI E., DI FRANCESCO G., MUGANU M., ASTOLFI S., CARICATO G., 1997. *The effects of polyamines and hydrogen peroxide on root formation in olive and the role of polyamines as an early marker for rooting ability*. In: Altman A., Waisel Y. (Eds.), Biology of Root Formation and Development. Plenum Press, New York: 65-73.

RUGINI E., POLITI V., BIGNAMI C., GREGO S., DE AGAZIO M., 1990. *Effect of polyamine treatments on rooting cuttings of three olive cultivars*. Acta Hort. 286: 97-100.

RUGINI E., BIASI R., MUGANO M., AVERSA G., ZAMBONI E., MAGGINI F., MARTELLI G.P., PANNELLI G., ZUCCHERELLI G., BARBA M., 2001. *Organizzazione di un moderno vivaismo olivicolo alla base della produzione di piante certificate (*Olea europaea *L. -Italia)*. Frutticoltura 63(5): 11-12, 15-16, 19-20

SEBASTIANI L., TOGNETTI R., 2004. *Growing season and hydrogen peroxide effects on root induction and development in* Olea europaea *L. (cv. "Frantoio" and "Gentile di Larino") cuttings*. Sci. Hort. 100(1/4): 75-82.

SEBASTIANI L., TOGNETTI R, DI PAOLO P., VITAGLIANO C., 2002. *Hydrogen peroxide and indole-3-butyric acid effects on root induction and development in cuttings of* Olea europaea *L. (cv. Frantoio and Gentile di Larino).* Adv. Hort. Sci. 16(1): 7-12.

Osservazioni sulla radicazione di talee di genotipi di *Olea europaea* var. *sylvestris*

Chiancone B., Germanà M.A.* **e Di Marco L.**
Dipartimento SENFIMIZO, Sezione Frutticoltura Mediterranea, Tropicale e Subtropicale, Università di Palermo

Observations on rooting of *Olea europaea* var. *sylvestris* cuttings

Abstract. Oleaster, that has been considered for long time a marginal specie, is recently object of increasing interest, particularly for re-wooding, due to its rusticity, its great resistance to wind, to drought and for its high photosynthetic efficiency (Mulas, 1997; 1999; 2002). Because oleaster is mainly propagated by seed, it is impossible to obtain homogeneous plants, easily marketable, to be included in a certified nursery chain. For this reason, it is useful to deep the knowledge on oleaster vegetative propagation, and particularly on self-rooted plant production, not only to exploit this enormous genotype potential, but also with the aim of preserving and valorizing the Mediterranean biodiversity. This research has been carried out in order to evaluate oleaster cutting rooting efficiency, that is usually quite low, after two inducing treatments: immersion only in a hydroalcoholic solution of indol-butyrric acid (IBA) or immersion in hydrogen peroxide before the treatment with IBA. Results obtained in this research are encouraging enough, considered that the highest reached rooting percentage has been 78%, while in previously papers it was about 60% (Mulas, 2005).

Key words: hydrogen peroxide, oleaster, propagation, rooting.

Introduzione

L'oleastro, (*Olea europaea* var. *sylvestris*), è la forma selvatica dell'olivo, e insieme con altre specie, quali il lentisco, il corbezzolo, il mirto, la fillirea, l'erica e il leccio, caratterizza fortemente l'ambiente mediterraneo (Camarda e Valsecchi, 1983; Mulas *et al.*, 2001a). Le forme selvatiche dell'olivo sono considerate una preziosa risorsa naturale per diverse caratteristiche, quali la rusticità, la grande resistenza al vento e all'aridità e l'elevata efficienza fotosintetica. L'oleastro, che a lungo è stato considerato una specie del tutto marginale, recentemente è stato oggetto di crescente interesse ed utilizzato anche in programmi di rimboschimento (Mulas *et al.*, 2001b; Mulas e Francesconi, 2000), grazie alle pregevoli caratteristiche del legno, alla regolarità e all'assenza di alterazioni e di carie nel fusto, oltre che al rapido sviluppo della massa legnosa utilizzabile (Mulas e Deidda, 1998; Mulas, 2002).

Finora il materiale prodotto in vivaio non è stato caratterizzato geneticamente, così come non è stato svolto nessun lavoro di selezione mirato all'ottenimento di piante particolarmente adatte alla forestazione. Tra le diverse caratteristiche che andrebbero ricercate, vi sono la buona attitudine alla propagazione, la rusticità, la rapidità di accrescimento, l'adattabilità alle diverse condizioni ambientali (Mulas, 1997, 1999).

Poiché la propagazione dell'oleastro viene attualmente effettuata, principalmente, per via gamica, non è possibile ottenere un prodotto omogeneo facilmente commercializzabile da inserire in una filiera vivaistica certificata.

Risulta, quindi, utile approfondire le ricerche sulla propagazione agamica dell'oleastro, con particolare riferimento alla produzione di piante autoradicate, non solo al fine di sfruttare l'enorme potenziale di questa pianta, ma anche con l'intento di salvaguardare e valorizzare la biodiversità presente nel bacino del Mediterraneo.

L'attitudine alla radicazione delle piante arboree è influenzata da diversi fattori, tra cui il genotipo, lo stato nutrizionale e lo stadio fisiologico della pianta madre, nonché le condizioni ambientali (Loreti e Pisani, 1982; Hartmann *et al.*, 1990).

L'induzione alla formazione di radici, così come la fisiologia dello sviluppo radicale sono processi molto complessi che sono mediati da diversi cambiamenti nel metabolismo della pianta, come dimostrato dai molti fattori biochimici e molecolari coinvolti (Davis e Haissig, 1994; Altman e Waisel, 1997). In particolare, fra i trattamenti rizogeni, numerosi studi sono stati condotti sull'azione non solo delle auxine esogene, ma anche di altri composti, come le poliammine e il perossido di idrogeno (H_2O_2) (Ozkaya *et al.*, 1993; Rugini *et al.*, 1990, 1997; Sebastiani *et al.*, 2002; Sebastiani e Tognetti, 2004).

* agermana@unipa.it

Gaspar *et al.* (1997) hanno messo in evidenza come i livelli endogeni di acido indol-acetico (IAA) variano in parallelo con l'attività della perossidasi; la stessa IAA, per esempio, controlla l'attività della perossidasi coinvolta nella lignificazione (Ros Barcelo e Munoz, 1992) che è un processo fondamentale nella formazione delle radici.

Lo stesso perossido di idrogeno, inoltre, promuove la radicazione e aumenta la percentuale di radicazione nell'olivo, se applicata durante la fase di induzione (Rugini *et al.*, 1997, 2001; Sebastiani e Tognetti 2004).

L'attività di ricerca, tuttavia, è stata rivolta quasi esclusivamente all'olivo, mentre nell'oleastro non sono stati effettuate analoghe sperimentazioni.

Nella ricerca di cui si riferisce, è stata studiata la risposta dell'oleastro a due trattamenti induttivi la radicazione, effettuati su talee di alcuni genotipi spontanei di oleastro.

Materiali e metodi

Nel mese di novembre, sono stati prelevati germogli semi-legnosi, da piante adulte di 13 diversi genotipi di oleastro, individuati sulle Madonie, (comune di Scillato, PA). Per ogni genotipo sono state preparate 50 talee, del diametro medio di 2 mm, e della lunghezza di circa 10 cm, contenenti nodi e gemme. Le talee sono state defogliate, eccetto che per le due foglie presenti nella parte distale.

Per ciascun genotipo, 25 talee sono state immerse in perossido di idrogeno al 3,5% (v/v) per 30 secondi, prima di trattarle con una soluzione idroalcolica di acido indol 3 butirrico (IBA) (3.000 ppm) per 10 secondi (Trattamento H_2O_2/IBA). Inoltre, 25 talee sono state trattate solamente con IBA (3.000 ppm) per 10 secondi (Trattamento IBA). Le talee sottoposte ai due trattamenti sono state poste in recipienti rettangolari di plastica del volume di circa 14 litri, contenenti un substrato di radicazione, preparato mescolando, torba e agriperlite in rapporto di 1:2.

Le talee poste a radicare sono state abbondantemente bagnate con acqua nebulizzata, in modo da fornire l'apporto idrico necessario alla loro idratazione. Inoltre, per realizzare una elevata umidità e favorire la radicazione delle talee, i contenitori sono stati coperti con dei film plastici. La prima bagnatura è stata effettuata nebulizzando le talee con una soluzione di fungicida (150 mg/l Propamocarb). Le talee sono state nebulizzate ogni due giorni, in modo da mantenere elevata l'umidità.

Il primo monitoraggio è stato effettuato dopo quattro mesi dal trattamento induttivo. Le talee sono state estratte delicatamente dal substrato e per ciascun genotipo e per ciascun trattamento è stato rilevato: il numero di talee che presentavano germogli, il numero di germogli per talea e la lunghezza dei germogli; inoltre, è stato contato il numero di radici per talea, la lunghezza di ciascuna radice e il numero di talee che presentavano callo.

Dopo il monitoraggio, le talee sono state poste in vasi di plastica rotondi e neri di 14 cm di diametro, contenenti una miscela di torba e agriperlite in rapporto 1:2. In questa seconda fase della prova, le irrorazioni effettuate sulle talee sono state diradate.

Dopo 3 mesi dal trapianto, le talee sono state sottoposte ad un ulteriore monitoraggio registrando il numero di talee germogliate, i germogli per talea e la lunghezza dei germogli. Ai fini dell'interpretazione dei dati è stato assunto che le talee che al momento del trapianto non avevano emesso germogli e che successivamente li hanno emessi, avevano emesso radici dal callo solo successivamente all'operazione di trasferimento dai primi recipienti ai vasi.

Le talee sono state disposte in un blocco randomizzato. Per analizzare statisticamente l'effetto di ogni trattamento sui diversi genotipi, per ogni monitoraggio, è stato effettuato il test del χ^2 per i dati riguardanti la percentuale di talee con callo, con radici e con germogli; mentre, è stata condotta un'analisi della varianza (ANOVA) a due vie per i dati riguardanti il numero e la lunghezza di radici e di germogli.

Risultati e discussione

Nei mesi successivi al trattamento induttivo, le talee poste a radicare si sono mantenute vitali, presentando foglie verdi e turgide; inoltre, è stato osservato il germogliamento di circa il 10% delle talee, in particolare in quelle trattate con acqua ossigenata. La percentuale di germogliamento più alta è stata osservata nel genotipo 3, sia per la prova H_2O_2/IBA (53,8%) che per la prova IBA (35,7%), anche se l'analisi statistica non ha evidenziato differenze statisticamente significative né tra i genotipi, né tra i trattamenti induttivi (tab. 1). In media ciascuna talea ha prodotto un germoglio di lunghezza media di 0,8 cm, con un valore massimo osservato nel genotipo 10, trattato anche con acqua ossigenata, di 2,5 cm.

Le talee hanno mostrato una risposta molto eterogenea al trattamento induttivo. In media, il 24,78% circa presentavano alla base un callo (fig. 1), mentre solo il 18% circa delle talee hanno presentato la formazione di radici avventizie alla base (fig. 2). Mediamente, la percentuale di radicazione più alta è stata raggiunta nelle talee trattate solo con IBA; in

Fig. 1 - Talee di oleastro 12 con callo.
Fig. 1 - Cuttings of oleaster 12 with callus.

Fig. 2 - Talee germogliate e radicate di oleastro 10 dopo 4 mesi dal trattamento induttivo.
Fig. 2 - Sprouted and rooted cuttings of oleaster 10 after 4 months from rooting inductive treatments.

particolare, il genotipo 3 ha fatto osservare la percentuale di radicazione più alta (78,6%), mentre il valore più alto fra le talee trattate con acqua ossigenata è stato il 31,3% (tab. 1). L'effetto inibitore causato dall'acqua ossigenata è stato osservato non solo nella risposta rizogena, ma anche nella qualità delle radici ottenute. Infatti, nel controllo trattato solo con IBA sono state osservate radici più numerose (2,9) e più lunghe (4,6 cm). Sebbene il genotipo 13 abbia fatto registrare la percentuale di radicazione più bassa nel trattamento con solo IBA (6,3%), esso ha prodotto il numero maggiore di radici per talea (7,0), con una lunghezza media di 2,6 cm; mentre il genotipo che ha fatto osservare le radici più lunghe (8,5 cm), è stato il 2, del quale solo il 7,7% delle talee aveva radicato e che aveva prodotto mediamente 2,3 radici.

Tab. 1 - Risposta di diversi oleastri dopo 4 mesi dai due trattamenti induttivi la radicazione.
Tab. 1 - Response of several oleasters after 4 months from rooting inductive treatments.

Genotipi	% talee germogliate		% talee con callo		% talee radicate	
	H_2O_2/IBA	IBA	H_2O_2/IBA	IBA	H_2O_2/IBA	IBA
1	33,3	12,1	24,24	9,09	18,2	12,1
2	7,1	0	0	53,85	21,4	7,7
3	53,8	35,7	76,92	0	23,1	78,6
4	4,2	8,7	0	4,35	12,5	8,7
5	0	0	8	0	0	0
6	0	0	72,22	31,25	0	25
7	0	3,6	18,75	3,57	28,1	21,4
8	11,1	11,1	77,78	22,22	11,1	27,8
9	0	0	20	30,77	0	15,4
10	18,8	25	25	12,5	31,3	31,3
11	7,9	12,5	52,63	43,75	10,5	12,5
12	10,3	15,4	15,38	17,95	25,6	33,3
13	3,1	3,1	17,86	6,25	10,7	6,3
	P = 0,219		P = <0,001		P = <0,001	

I dati sono stati analizzati mediante test χ^2 ($p \leq 0,01$).

Dopo tre mesi dal trapianto, la percentuale di talee che presentavano germogli è notevolmente aumentata, passando mediamente, per la prova IBA da 9,8% a 31,5% e, per la prova H_2O_2/IBA, da 11,5% a 27,2%, dimostrando che le talee che presentavano callo al momento del trapianto hanno continuato il processo di sviluppo di nuove radici (figg. 3 e 4). Al contrario che nel primo monitoraggio, l'analisi statistica ha messo in evidenza che la risposta dei diversi genotipi è stata strettamente legata al trattamento induttivo. Infatti, tenendo conto che le talee che presentavano germogli dopo sette mesi dal trattamento induttivo hanno radicato, è interessante osservare come per alcuni genotipi (7, 8, 10 e 11) sia stato osservato al secondo rilievo un incremento notevole nella percentuale di radicazione, che, in particolare per il genotipo 8, è arrivato fino a 33 punti percentuali (fig. 3).

Mediamente, nel corso dei tre mesi successivi al trapianto, il numero medio di germogli per talea è raddoppiato per entrambi i trattamenti. In particolare per quello con il solo IBA si è passati da 0,9 a 1,9 germogli, raggiungendo il massimo di 3,5 germogli per il genotipo 4, mentre per la prova H_2O_2/IBA si è passati da 1,0 a 2,2, con un massimo di 4 germogli per il genotipo 13.

Inoltre, è stato osservato un incremento notevole della lunghezza dei germogli che è aumentata di 18 volte nelle talee trattate solo con IBA, passando da 0,7

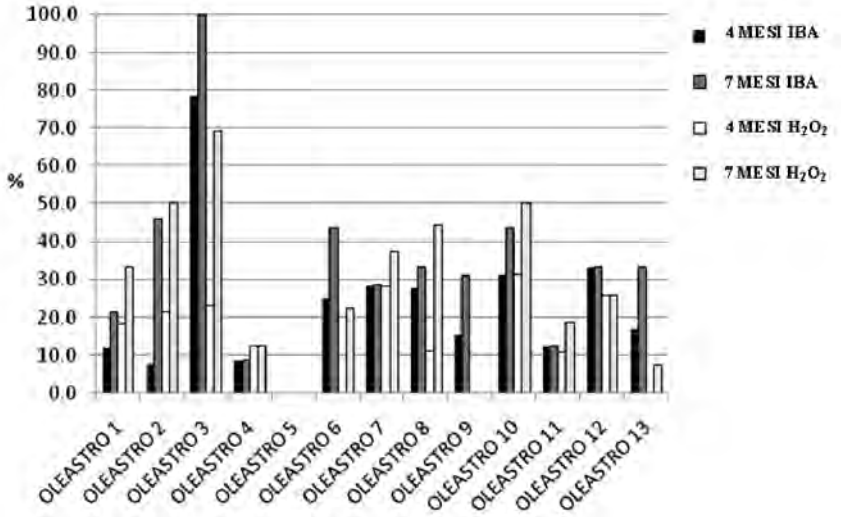


Fig. 3 - Percentuale di germogliamento dei 13 genotipi rilevata dopo 4 e 7 mesi per i due trattamenti induttivi.
Fig. 3 - Percentage of sprouting of the 13 genotypes after 4 and 7 referred to the different inductive treatments.

Fig. 4 - Talee radicate di oleastro in vaso, dopo 4 mesi (sin) e dopo 7 mesi (dx) dai trattamenti induttivi.
Fig. 4 - Rooted cuttings in pots, after 4 months (left) and after 7 months (right) from inductive treatments.

cm a 12,9 cm, e di 13 volte in quelle trattate con acqua ossigenata, che sono passate da 0,9 cm a 11,9 cm.

L'attitudine alla radicazione in serra delle talee semilegnose ha permesso di conseguire risultati abbastanza soddisfacenti, considerato il fatto che la specie in questione è per natura ricalcitrante a questo tipo di propagazione (Mulas, 2005). L'influenza esercitata dal fattore genotipo è stata molto marcata; infatti, è stata osservata una notevole difformità tra i diversi oleastri per tutti i parametri rilevati. Inoltre, in questa ricerca si sono ottenuti risultati superiori rispetto a quanto ottenuto in precedenti sperimentazioni (Mulas, 2005).

L'influenza del trattamento con l'acqua ossigenata non è stata positiva quando paragonata ai risultati ottenuti in precedenti ricerche condotte su olivo (Sebastiani e Tognetti, 2004).

Conclusioni

Il trattamento induttivo la rizogenesi con IBA, utilizzato in questo studio, è ampiamente utilizzato per l'olivo a livello vivaistico. Il trattamento con acqua ossigenata che aveva lo scopo di aumentare l'efficienza rizogena e la qualità delle radici ottenute per l'oleastro, non ha dato risultati del tutto superiori. E' da notare che al secondo rilievo, la percentuale di talee radicate dopo trattamento con acqua ossigenata si è attestato su valori più che soddisfacenti, in alcuni casi superiori alla tesi senza H_2O_2.

Ulteriori studi sono necessari al fine di migliorare la risposta al trattamento induttivo di genotipi recalcitranti come l'oleastro, modificando i protocolli e provando nuovi composti che nell'olivo o in altre specie arboree hanno migliorato i risultati precedentemente ottenuti.

Riassunto

L'oleastro, che a lungo è stato considerato una specie marginale, recentemente è stato oggetto di crescente interesse ed utilizzato anche in programmi di rimboschimento per alcune sue peculiari caratteristiche, quali la rusticità, la grande resistenza al vento e all'aridità e l'elevata efficienza fotosintetica (Mulas, 1997; 1999; 2002).

Poiché la propagazione dell'oleastro viene attualmente effettuata, principalmente, per via gamica, non è possibile ottenere un prodotto omogeneo facilmente commercializzabile da inserire in una filiera vivaistica certificata. Risulta, quindi, utile approfondire le ricerche sulla propagazione agamica dell'oleastro ed in particolare sulla produzione di piante autoradicate, non solo al fine di sfruttare l'enorme potenziale di questo genotipo, anche a livello paesaggistico, ma anche con l'intento di salvaguardare e valorizzare la biodiversità presente nel bacino del Mediterraneo.

Il presente lavoro è stato svolto al fine di valutare l'efficienza di radicazione delle talee di oleastro, che in genere risulta piuttosto bassa, in seguito a due trattamenti induttivi: uno che prevedeva la sola immersione in una soluzione idroalcolica di acido indol 3 butirrico (IBA) ed uno che prevedeva l'immersione in perossido di idrogeno, prima del trattamento con IBA.

I risultati ottenuti in questa ricerca sono abbastanza incoraggianti considerato che la percentuale di radicazione in qualche caso ha raggiunto il 78%, mentre precedenti ricerche la indicavano in circa il 60% (Mulas, 2005).

Parole chiave: perossido di idrogeno, oleastro, propagazione, radicazione.

Questo lavoro è stato supportato dal Progetto RIOM (Ricerca e Innovazione per l'Olivicoltura Meridionale) del MiPAF.

Bibliografia

CAMARDA I., VALSECCHI E., 1983. *Alberi e arbusti spontanei della Sardegna*. Ed Galizzi, Sassari:403-412.

GASPAR T., KEVERS C. E HAUSMAN J.F., 1997. *Indissociable chief factors in the inductive phase of adventitious rooting*. In: Altman A. e Waisel Y. (Eds.), Biology of Root Formation and Development. Plenum Press, New York: 55–63.

HARTMANN H.T., KESTER D.E., DAVIES JR. J.T., 1990. *Plant Propagation. Principle and Practices*. 5th ed. Prentice-Hall, New Jersey.

MULAS M., 2005. Olea europaea *L. var.* sylvestris. In: C. Cervelli. Le specie arbustive della macchia mediterranea: un patrimonio da valorizzare. Editore: Dipartimento Azienda regionale Foreste Demaniali, Palermo: 121-127.

MULAS M., 1999. *Characterisation of olive wild ecotypes.* Acta Hort., 474: 121-124.

MULAS M., 1997. *Studio morfologico delle forme spontanee di* Olea europaea *L. per la valorizzazione forestale della specie.* Atti del 3° Convegno Nazionale su "Biodiversità: Tecnologie Qualità", Reggio Calabria 16-17 giugno: 495-499.

MULAS M., PERINU B., RUM E.P. 2001a. *Ecologia delle forme selvatiche di* Olea europaea *L. in una formazione a macchia mediterranea*. Presentato al III Congresso Nazionale SISEF "Alberi e foreste per il Nuovo Millennio". Viterbo, 15-18 Ottobre.

MULAS M., CAULI E., FRANCESCONI A.H.D., 2001b. *Valorizzazione delle forme selvatiche di* Olea europaea *L. per gli usi forestali della specie*. Monti e Boschi, LII(2):47-54.

MULAS M., FRANCESCONI A.H.D., 2000. *Wild olive (*Olea europaea *L.) as a forestry species*. Atti del II Congresso su "Applicazioni e prospettive per la ricerca forestale italiana". Bologna, 20-22 ottobre 1999: 55-60.

MULAS M., DEIDDA P., 1998. *Domestication of woody planis from mediterranean maquis to promote new crops far mauntain lands*. Acta Hort., 457:295-301.

LORETI F., PISANI P.L.P., 1982. *Physiological and technical factors affecting rooting in woody species*. In: Proceedings of the

21st Horticultural Congress, Hamburg, pp. 294–309.

OZKAYA M.T., CELIK M., LAVEE S. 1993. *The effect of rooting environment and combination of auxin polyamine on the rooting ability of Turkish olive cultivars Gemlik and Domat*. Acta Hort. 356: 31–34.

RUGINI E., DI FRANCESCO G., MUGANU M., ASTOLFI S., CARICATO G., 1997. *The effects of polyamines and hydrogen peroxide on root formation in olive and the role of polyamines as an early marker for rooting ability*. In: Altman A., Waisel Y. (Eds.), Biology of Root Formation and Development. Plenum Press, New York: 65–73.

RUGINI E., POLITI V., BIGNAMI C., GREGO S., DE AGAZIO M., 1990. *Effect of polyamine treatments on rooting cuttings of three olive cultivars*. Acta Hort. 286: 97–100.

SEBASTIANI L., TOGNETTI R., 2004. *Growing season and hydrogen peroxide effects on root induction and development in* Olea europaea *L. (cv. "Frantoio" and "Gentile di Larino") cuttings.* Sci. Hort., 100 (1/4):75-82.

SEBASTIANI L., TOGNETTI R, DI PAOLO P., VITAGLIANO C., 2002. *Hydrogen peroxide and indole-3-butyric acid effects on root induction and development in cuttings of* Olea europaea *L. (cv. Frantoio and Gentile di Larino)*. Adv. Hort. Sci. 16(1): 7-12.

Variabilità dell'attitudine rizogena ed effetto di trattamenti di stimolo alla radicazione di talee di cultivar campane di olivo

Di Vaio C.*, Nocerino S. e Sorrentino C.
Dipartimento di Arboricoltura Botanica e Patologia vegetale, Università di Napoli "Federico II"

Variability of rhizogenic activity and effect of rooting treatments on campanian olive cultivar cuttings

Abstract. A test was conducted on 20 cultivars belonging to olive germplasm from Campania in the autumn of 2007 and repeated in the spring of 2008 at the Improsta experimental farm south of Salerno. The propagation material was collected from three mother plants, selected from a varietal collection by uniformity of development and production. Eighteen branches per variety were collected from the mother plants, 18 of which were basal, 18 median and 18 apical cuttings. For each variety and for each portion, the cuttings were subjected to the following rhizogenic treatments with different commercial formulations: pure alpha-naphthyl acetic acid (NAA) in liquid formulation at a dose of 0.66 grams; amide derivative of pure NAA (NAD) at a dose of 0.75 grams in powdery formulation and untreated control. The cuttings were then placed in rooting benches with a substrate of perlite, provided with basal heating and irrigation spray. The cuttings were left to form roots for about 60 days and some observations were later made on the rate of rooting, and on the number and length of the new roots. The study highlights the rhizogenic activity of the main olive varieties from Campania. Rooting treatment improved both the length and number of newly formed roots, while the median and apical portion of the branch turned out to be more suitable for the formation of roots.

Key words: olive, germplasm, cutting, rooting.

Premessa

La propagazione per talea semi-legnosa abbinata alla nebulizzazione è la tecnica più diffusa per moltiplicare le cultivar commerciali di olivo (*Olea europaea* L.) (Hartmann 1946, 1953; Cimato, 1980). Nei paesi del Mediterraneo circa il 70% dei piantoni di olivo prodotti dai vivai viene ottenuto mediante questa tecnica. Tuttavia, la propagazione per talea presenta una grande eterogeneità dei tassi di riuscita che deriva in gran parte dalla variabilità naturale alla rizogenesi delle diverse varietà e dalla difficoltà di controllo delle condizioni dell'ambiente di moltiplicazione (Caballero, 1983; Hartmann *et al.*, 1990; Cimato, 1999). L'attitudine rizogena delle diverse varietà di olivo moltiplicate per talea dipende sia da fattori intrinseci alla talea che estrinseci (Hartmann, 1953; Jacobini *et al.*, 1975; Caballero, 1983). Essa è legata principalmente alla varietà (Nahlawi *et al.*, 1975; Carfi *et al.*, 1994; Chaari *et al.*, 1995; Khabou, 1997), ma dipende anche dalla stagionalità e dalle fasi fenologiche dell'albero (Hartmann e Kester, 1975, Caballero e Nahlawi, 1979; Del Rio *et al.*, 1991; Khabou, 1994, 1995), come dalla disponibilità idrica e di elementi nutritivi delle piante madri. Obiettivo del presente studio è esaminare come varia l'attitudine rizogena e la risposta a trattamenti di stimolo alla radicazione di talee delle principali cultivar di olivo campane.

Materiali e metodi

La prova è stata condotta, nel periodo autunnale del 2007 (a partire dalla terza decade di settembre) ed è stata ripetuta nella primavera del 2008 (a partire dalla seconda decade di marzo) presso l'azienda sperimentale "Improsta" della Regione Campania (Eboli, Sa), con il contributo economico del Progetto OLVIVA, ed ha interessato 20 cultivar autoctone di olivo, ovvero 4 della provincia di Avellino (Ravece, Ogliarola campana, Ritonnella e Ruveia), 5 della provincia di Benevento (Ortice, Ortolana, Pampagliosa, Femminella, e Racioppella), 4 della provincia di Caserta (Caiazzana, Tonda, Asprinia e Tenacella) e 7 della provincia di Salerno (Carpellese, Pisciottana, Salella, Biancolilla, Cornia, Oliva Bianca e Rotondella).

La prima fase ha riguardato l'individuazione della fonte da cui prelevare il materiale da propagare. A tale fine si è provveduto alla selezione, per ogni varietà, di 3 piante madri omogenee per sviluppo ed attività produttiva, presenti nell'ambito del campo di germoplasma dell'azienda regionale Improsta.

La seconda fase ha interessato la raccolta del materiale e le tecniche di propagazione delle talee. Per tali finalità dalle piante madri sono stati prelevati 18 rami

* divaio@unina.it

per varietà di 30 cm di lunghezza e un diametro compreso fra 0,3-1 cm, da cui sono state ottenute 18 talee basali, 18 mediane e 18 apicali, di 8-10 cm con tre/quattro nodi e provviste di 2-3 paia di foglie terminali, allestendo complessivamente 1.080 talee.

Per ciascuna varietà le 18 talee apicali, mediane e basali sono state ulteriormente suddivise in 3 gruppi da 6 talee che sono state sottoposte ai seguenti trattamenti rizogeni con differenti formulati commerciali: acido alfa-naftilacetico puro (NAA) in formulazione liquida alla dose 0,66 g (immergendo la base della talea per 30 minuti nella soluzione), derivato amidico del NAA puro (NAD) alla dose di 0,75 g in formulazione polverulenta (immergendo la base per circa 2 cm prima in acqua distillata e poi nella polvere), controllo non trattato (immergendo la base della talea per 30 minuti in acqua distillata). Quindi le talee sono state poste in perlite all'interno di bancali di radicazione, provvisti di riscaldamento basale (temperatura del substrato 22-24 °C) e di un impianto d'irrigazione nebulizzata, che provvedeva ad una periodica bagnatura delle talee per evitare la disidratazione delle stesse (umidità ambientale intorno a 90-95%), il tutto collocato in una serra fredda.

Le talee sono state lasciate nel cassone riscaldato circa sessanta giorni; successivamente sono state estratte dal substrato e sono state effettuate osservazioni sulla percentuale di radicazione, il numero e la lunghezza delle radici neo formate.

Tutti i risultati ottenuti sono stati sottoposti all'analisi della varianza (ANOVA) mediante il programma XL-STAT e le medie valutate mediante il test di Duncan per $P \leq 0,05$.

Risultati e discussione

Le osservazioni eseguite hanno evidenziato un'elevata variabilità nella radicazione delle talee di cultivar appartenenti al germoplasma di olivo campano.

In figura 1 sono riportate le percentuali di radicazione delle 20 cultivar in osservazione per talee prelevate nel mese di marzo. I risultati dimostrano che passando da una varietà all'altra l'attitudine rizogena è soggetta a variazioni molto significative.

In particolare, è possibile individuare cultivar che si caratterizzano per una elevata radicazione, quali Racioppella, Ortolana e Pampagliosa, con percentuali comprese tra il 56 e l'82%, mentre altre varietà, quali Caiazzana, Ortice, Ravece e Salella, mostrano valori di radicazione nettamente più bassi, compresi tra il 7 e l'11% (fig. 1). La media generale di radicazione è stata del 36,2%. Analoghi tassi di radicazione sono stati riscontrati per l'epoca di prelievo di settembre, dove la media generale di radicazione rimane pressoché invariata, pari al 35,6%: le cultivar che a settembre hanno mostrato tassi di radicazione maggiori sono state la Biancolilla, l'Ortolana e la Carpellese con valori che variano tra il 56 e il 68%, mentre quelle che

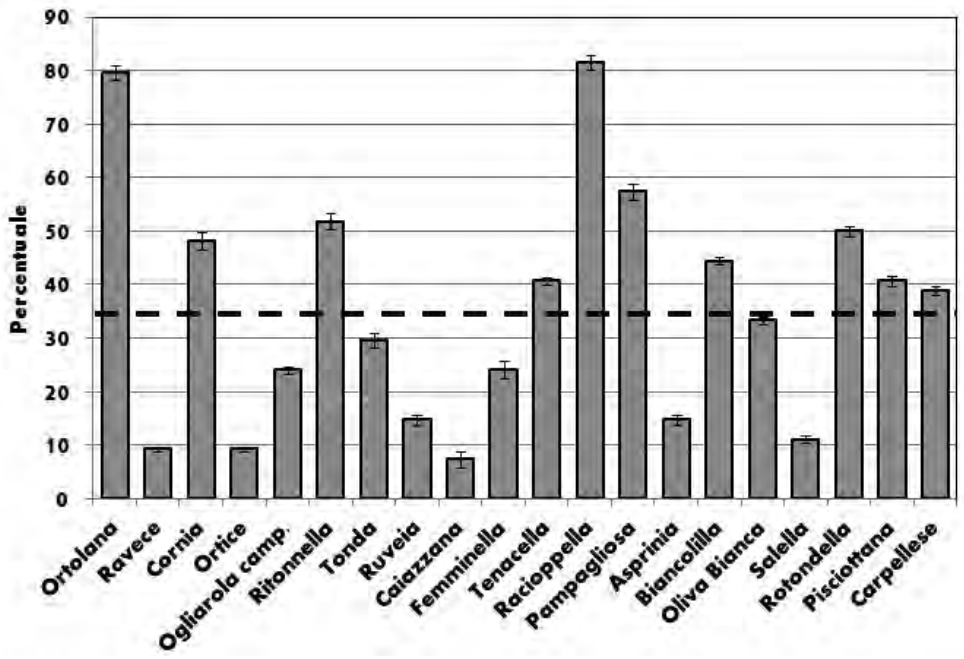


Fig. 1 - Attitudine alla radicazione delle talee di cultivar campane di olivo (epoca di prelievo: mese di marzo); la linea blu indica la percentuale di radicazione media di tutte le cultivar in osservazione (media ± errore standard).

Fig. 1 - Rooting aptitude of olive cultivar cuttings from Campania (sampling period: March); the blue line shows the average rooting percentage of all cultivars under observation (mean ± standard error).

Tab. 1 - Attitudine all'autoradicazione delle 20 cultivar di olivo campane, rilevata in cassone riscaldato.
Tab. 1 - Rooting aptitude of 20 olive cultivar cuttings from Campania, observed in bottom heated.

Classi di radicazione	Cultivar
Elevata > 50%	Ortolana, Racioppella, Biancolilla, Carpellese
Media 30÷50%	Cornia, Ritonnella, Tonda, Tenacella, Pampagliosa, Asprinia, Oliva Bianca, Rotondella, Pisciottana
Scarsa < 30%	Ravece, Ortice, Ogliarola campana, Ruveia, Caiazzana, Femminella, Salella

hanno presentato tassi di radicazione più bassi sono state le cultivar Ritonnella, Ogliarola campana e Salella con valori compresi tra il 9 e l'11%.

Facendo riferimento alle percentuali di radicazione registrate (media delle due epoche di prelievo) è stato possibile ripartire le cultivar in base al potenziale rizogeno, individuando tre classi di radicazione (tab. 1): elevata, superiore al 50%; media, compresa tra il 30 e il 50% e scarsa meno del 30% (Fontanazza *et al.*, 1981).

In generale entrambi i prodotti utilizzati per la stimolazione della radicazione delle talee, nelle due formulazioni liquida e polverulenta, sono risultati efficaci nel migliorare l'emissione e la crescita delle radici (figg. 2 e 3).

Per quanto riguarda il numero di radici, si nota distintamente che il trattamento liquido è il più efficiente (NAA: acido alfa-naftilacetico puro alla dose di 0,66 g) sia per la porzione basale, che per quella mediana ed apicale, facendo registrare un incremento percentuale medio pari al 259,03% rispetto al testimone. Lo stesso trattamento è risultato particolarmente efficace anche nello stimolare la lunghezza delle radichette, riportando un incremento percentuale medio rispetto al testimone del 136,44%.

Anche la porzione di ramo influenza in maniera significativa la radicazione delle talee. Infatti, le talee prelevate dalla porzione apicale e mediana hanno presentato in ogni caso una percentuale di radicazione superiore rispetto a quelle prelevate dalla porzione basale (fig. 4). In particolare, si riscontra un incremento medio di radicazione delle talee prelevate dalla porzione apicale e mediana del 23,9 e del 15,3 % rispetto a quelle basali (fig. 4).

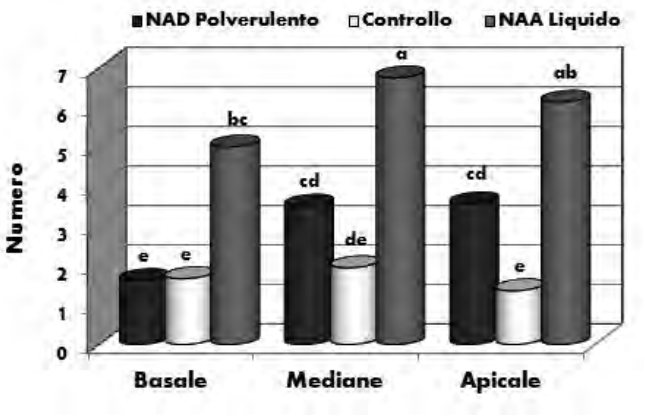


Fig. 2 - Numero delle radici per talea, in relazione ai trattamenti di stimolo della radicazione e alla porzione di ramo (epoca di prelievo: mese di marzo). A lettere diverse corrisponde un significatività statistica per P ≤ 0,05 (Test di Duncan).
Fig. 2 - Number of roots per cutting in relation to rooting stimulus treatments and to branch portion (sampling period: March). Different letters correspond to statistical significance with P ≤ 0.05 (Duncan test).

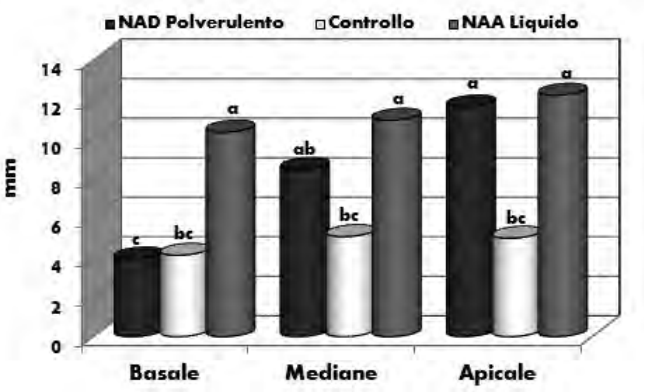


Fig. 3 - Lunghezza delle radici per talea, in relazione ai trattamenti di stimolo della radicazione e alla porzione di ramo (epoca di prelievo: mese di marzo). A lettere diverse corrisponde un significatività statistica per P ≤ 0,05 (Test di Duncan).
Fig. 3 - Length of roots per cutting in relation to rooting stimulus treatments and to branch portion (sampling period: March). Different letters correspond to statistical significance with P ≤ 0.05 (Duncan test).

Conclusioni

Il presente studio ha permesso di mettere in evidenza la variabilità dell'attività rizogena delle cultivar di olivo appartenenti al germoplasma campano. Ha confermato, inoltre, l'utilità di questo criterio descrittivo per la caratterizzazione e la classificazione delle varietà di olivo in base alla loro capacità rizogena. Tale potenziale è influenzato geneticamente variando da una cultivar e l'altra; infatti, a fronte di cultivar con capacità di radicazione superiore al 50%, come Ortolana e Racioppella, ve ne sono altre la cui capacità rizogena è piuttosto scarsa (< del 30%), come Ravece, Ortice e Salella.

Complessivamente le due epoche di prelievo, del materiale da destinare alla radicazione delle talee

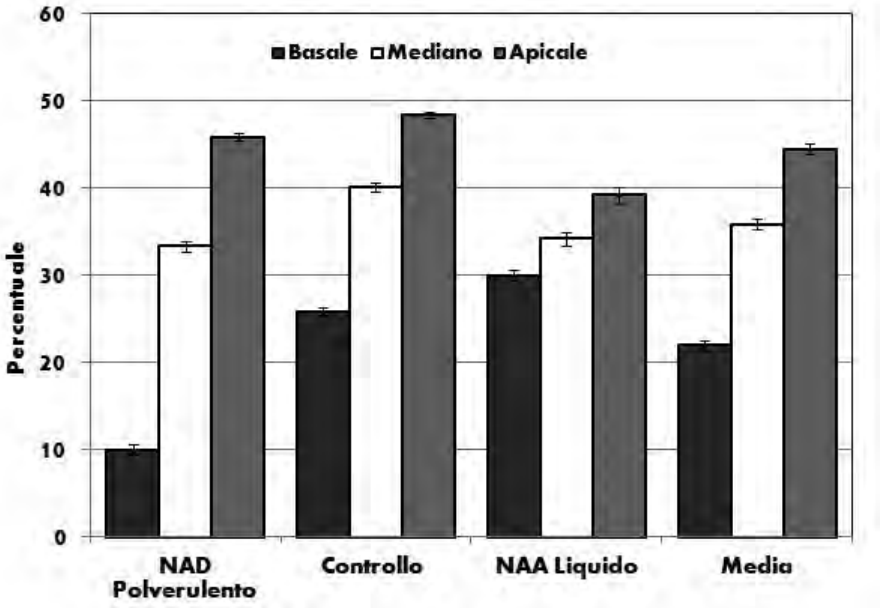


Fig. 4 - Percentuale di radicazione delle talee basali, mediane ed apicali in relazione ai trattamenti di stimolo e alla porzione di ramo (epoca di prelievo: mese di marzo) (media ± errore standard).
Fig. 4 - Rooting percentage of basal, middle and apical cuttings in relation to stimulus treatments and branch portion (sampling period: March) (mean ± standard error).

(mese di marzo e settembre), non hanno modificato significativamente l'attitudine rizogena delle cultivar, ad eccezione di un differente comportamento di poche cultivar come Ritonnella e Pampagliosa.

E' stato possibile valutare, inoltre, la capacità rizogena delle cultivar appartenenti al germoplasma campano di olivo rispetto ad alcuni trattamenti di stimolo. I risultati ottenuti, sia con il NAD mediante trattamento polverulento, che quelli con NAA con trattamento liquido, indicano che la radicazione delle talee risponde positivamente ad entrambi i trattamenti di stimolo, anche se con differente efficacia. Per quanto riguarda la porzione di ramo, da cui prelevare le talee, quella apicale e mediana, corrispondenti agli ultimi accrescimenti vegetativi, risultano più idonee a migliorare la radicazione delle talee.

Ringraziamenti

Si ringraziano i tecnici Gennaro Acunzo e Giustino Boccheti per la collaborazione nei rilievi di campo.

Riassunto

La prova è stata condotta, nel periodo autunnale del 2007 e ripetuta la primavera del 2008, presso l'azienda sperimentale "Improsta" della Regione Campania (Eboli, Sa) ed ha interessato 20 cultivar appartenenti al germoplasma olivicolo campano. Il materiale di propagazione è stato prelevato da tre piante madri scelte, per omogeneità di sviluppo ed attività produttiva, nell'ambito di un campo di collezione varietale. Dalle piante madri sono stati prelevati 18 rami per varietà da cui sono state ottenute 18 talee basali, 18 mediane ed 18 apicali. Per ciascuna varietà e per ciascuna porzione, le talee sono state sottoposte ai seguenti trattamenti rizogeni con differenti formulati commerciali: acido alfa-naftilacetico puro (NAA) in formulazione liquida alla dose 0,66 g; derivato amidico del NAA puro (NAD) alla dose di 0,75 g in formulazione polverulenta e un controllo non trattato. Quindi le talee sono state poste in bancali di radicazione con un substrato di perlite, dotati di riscaldamento basale e di impianto di irrigazione nebulizzata. Le talee sono state lasciate radicare per circa 60 giorni e successivamente sono state eseguite osservazioni sul tasso di radicazione, sul numero e sulla lunghezza delle radici neo formate. Lo studio ha permesso di mettere in evidenza la capacità rizogena della principali varietà campane di olivo. I trattamenti di stimolo alla radicazione hanno migliorato sia la lunghezza che in numero di radici neo-formate, mentre la porzione mediana e apicale del ramo sono risultate più idonee per la radicazione.

Parole chiave: olivo, germoplasma, talea, radicazione

Ricerca effettuata nell'ambito del progetto "OLVIVA Qualificazione del vivaismo. Caratterizzazione varietale, sanitaria e innovazione nella tecnica vivaistica".

Bibliografia

CABALLERO J., NAHLAWI N., 1979. *Influencia de los idrato de carbono y del lavado con agua en el enraizamiento por estaquillado semi-leñoso del cv. "Gordal"*. Anales del INIA, Serie Producciòn Vegetal, 11, 219-230.

CABALLERO J.M., 1983. *Reproduction de l'olivier par bouturage semi-ligneux sous nébulisation.* Cours international sur la multiplication de l'olivier, Cordova.

CARFI CH., BEN HADJ SALAH H., MSALLEM M., HADDAR T., HELLALI R., 1994. *Effet des doses d'AIB et des dates de prélévement sur la rhizogenése des boutures de 6 variétés d'olivier (*Olea europaea *L.) "Chetoui", "Meski", "Picholine", "Besbessi", "Chemlali", "Arbequina"*. Revue INAT n°1-2 vol 9.

CHAARI A., MSALLEM M., 1995. *Le comportement de boutures semi-ligneuses de l'olivier dans deux systems d'enracinement different*. 9e consultation du Réseau Coopératif Interrégional sur la recherche oléicole. Hammamet (Tunisie) du 20 au 23 Sept 1995. Résumé p. 33.

CIMATO A., 1999. *L'élevage des plants d'olivier en pèpinière*. Innovations technologiques et leur application en oléiculture et oléotechnie. Séminaire international, Firenze (Italia).

CIMATO A., FIORINO S., 1980. *La moltiplicazione dell'olivo con la tecnica della nebulizzazione*. Informatore Agrario, 36(38): 12227-12238.

DEL RIO C., RALLO R., CABALLERO J.M., 1991. *Effect of carbohydrate content on the seasonal rooting of vegetative and reproductive cuttings of olive*. J. Hort. Sci., 25-50.

FONTANAZZA G., BALDONI L., 1989. *Innovazioni tecnologiche in olivicoltura*. Olivicoltura: innovazioni tecnologiche e valutazione dei risultati economici in alcune realtà aziendali. Formez, Archivio dei Corsi di Formazione: 41-54.

HARTMANN H.T., 1946. *The use of root promoting substances in the propagation of olives by softwood cutting.* Proc. Amer. Soc. Hort. N° 48: 303-308.

HARTMANN H.T.,1953. *Leafy Sevillano olive cutting*. Calif. Agri. 5: 6-16

HARTMANN H.T., KESTER D.E., 1975. *Plant propagation: principles and practices*. Print. Hall. Inc. Englewood Clifts N.J., 662 p.

HARTMANN H.T, KESTER D.E., DAVIES F.T., 1990. *Plant propagation principles and practices*. 5th Ed. Prentice-Hall, New Jersey: 547.

JACOBINI M.N., FONTANAZZA G., 1975. *Radicazione delle tale di olivo*. Frutticoltura. (37) 9: 25-30.

KHABOU W., 1997. *Contribution à l'étude de l'amélioration de l'aptitude à la rhizogenése des boutures ligneuses et semiligneuses de quelques cultivars d'olivier (*Olea europaea *L.)*. DEA en Écologie Générale. Faculté des Sciences de Sfax, 55 p.

KHABOU W., 1994. *Contribution à l'étude de la rhizogenése sous conditions contrôlées de l'olivier "Chemlali de Sfax" (*Olea europaea *L.) multiplié par bouturage semiligneux et par semis*. Mémoire de troisiéme cycle de l'INAT. 103p.

KHABOU W., TRIGUI A., 1995. *Effet de l'application de l'AIB sur l'importance qualitative et quantitative de la rhizogenése des boutures semiligneux de la variété à huile "Chemlali de Sfax"*. 8e Journnées Biologiques de la Société Tunisienne de Chimie Biologique. Ain Drahem, 22-24/3/1995, p. 67.

NAHLAWI N., RALLO L., CABALLERO J., EGUREN J., 1975. *Aptitud al einraizamiento de cultivares de olivo por estaquillado herbàceo en nebulizacìon.* Anales del INIA, Serie Producciòn Vegetal, 5(7): 167-180.

Verifica dell'efficienza di micorrizazione di inoculi commerciali su varietà di olivo allevate in vivaio

Landi L., Murolo S., Romanazzi G.*
Dipartimento Scienze Ambientali e Produzioni Vegetali, Università Politecnica delle Marche

Root colonization efficiency of commercial arbuscular mycorrhiza inocula applied to olive plants in the nursery

Abstract. The quality of olive propagative materials is one of the main characteristics to reach high standard levels. To achieve this, an important role is played by natural biofertilizers such as arbuscular mycorrhiza (AM), as the agronomic practices in nursery can eliminate or drastically reduce the indigenous mycorrhizae. In this study, we investigated the efficiency of three commercial formulations of mycorrhiza inocula: Endorize mix (Biorize, Agrauxine, Saint Evazerc, France), Micosat F (CCS, Aosta, Italy) and Aegis Hydro (Italpollina, Rivoli Veronese, Verona, Italy). These inocula contain mycorrhizal fungi, and were used for the colonization of the roots of cvs Leccino and Coratina, which were inoculated at the transplanting stage. The intensity of mycorrhizal colonization was evaluated 6 and 18 months after inoculation, using non-vital staining (trypan blue) and light microscopy analysis. Each of these mycorrhizal inocula provided a high level of root colonization, of some 50% at 18 months after the inoculation. Application of these formulations also induced increased plants growth.

Key words: Arbuscular mycorrhizal symbiosis, Olea europaea L., propagative material.

Introduzione

La produzione vivaistica olivicola è una realtà che coinvolge in Italia più di 120 aziende, le quali producono ogni anno circa 5 milioni di piante (Briccoli Bati *et al.*, 2003; Catalano *et al.*, 2009). E'quindi evidente che tutte le metodiche di allevamento in vivaio atte ad incrementare la qualità delle piante hanno un ruolo fondamentale nella filiera produttiva. In questo scenario, può assumere un ruolo di rilievo la simbiosi mutualistica che si instaura tra radici della pianta e funghi del terreno conosciuta come micorriza. Gli effetti della simbiosi micorrizica sono ampiamente noti e possono essere riassunti in un generale incremento delle normali prestazioni della pianta in termini di assorbimento idrico, degli elementi nutritivi e nel potenziamento della protezione verso fattori biotici (Smith e Read, 1997). Si tratta di un processo naturale che coinvolge più del 90% delle piante di interesse agrario ma che spesso viene meno in vivaio, soprattutto quando i processi produttivi escludono o riducono la presenza di funghi naturalmente presenti nel suolo. In questo caso, l'applicazione controllata di inoculi micorrizici commerciali può essere importante nel potenziare la vigoria e la resistenza della pianta a stress biotici ed abiotici.

L'olivo, come la maggior parte delle piante di interesse agronomico, in ambiente naturale possiede una elevata affinità con i funghi micorrizici vescicolo-arbuscolari (Caliente *et al.*, 2004). Numerosi studi hanno evidenziato gli effetti indotti sulla crescita dell'olivo dall'applicazione di funghi micorrizici. Questi ultimi determinano un incremento dell'acquisizione di nutrienti, dell'approvvigionamento idrico e della biomassa della pianta (Querejeta *et al.*, 2003). Tali benefici sono spesso conservati anche dopo il trapianto in campo (Palenzuela *et al.*, 2002). L'analisi dei processi metabolici coinvolti evidenzia un incremento della fotosintesi (Caravaca *et al.*, 2003a, 2003b) e dell'attività antiossidante della pianta (Alguacil *et al.*, 2003). Sebbene sia evidente che l'impiego di funghi micorrizici nella produzione vivaistica possa avere una influenza positiva sui tempi di accrescimento, sulla vigoria e sul superamento dello stress da trapianto in pieno campo delle piante (Abbot e Robson, 1984; Rapparini *et al.*, 1994; Citernesi *et al.*, 1998), l'applicazione di formulati a base di micorrize non è commercialmente utilizzata, salvo in caso di specifica richiesta da parte dei committenti (Catalano *et al.*, 2009). Ciò potrebbe essere ricondotto anche alla differente relazione specie micorrizica-varietà di olivo, che è stata osservata e che spesso si manifesta con effetti diversificati nell'espressione del fenotipo della pianta (Citernesi *et al.*, 1998; Estaún *et al.*, 2003). E' necessario quindi individuare il tipo di simbiosi e le dosi commerciali più efficaci per le diverse varietà (Briccoli Bati e Godino, 2002; Briccoli Bati *et al.*, 2003). Scopo di questo lavoro è stato quello di testare

* g.romanazzi@univpm.it

la capacità di instaurare la simbiosi micorrizica di tre differenti formulati commerciali, ognuno a base di distinte specie fungine micorriziche da sole o integrate con batteri helper, su due varietà di olivo, Leccino e Coratina, confrontando l'efficienza di micorrizazione con l'accrescimento della pianta.

Materiali e metodi

Talee autoradicate di olivo delle varietà Leccino e Coratina sono state inoculate, al momento del trapianto in vaso, con l'1% di inoculo micorrizico aggiunto al substrato di coltura, costituito da torba, terreno sterile e sabbia. La prova sperimentale è stata svolta testando tre diversi formulati commerciali: Endorize mix (Biorize, Agrauxine, Saint Evazerc, Francia) contenente *Glomus* spp., Micosat F (CCS, Aosta) con micorrize e batteri helper e Aegis Hydro (Italpollina, Rivoli Veronese, Verona), a base di *Glomus intraradices*. Talee autoradicate poste a dimora in substrato sterilizzato sono state utilizzate come testimone.

Sei e 18 mesi dopo il trapianto è stata determinata l'intensità di micorrizazione utilizzando una colorazione non vitale a base di Trypan Blue (Phillips e Hayman, 1970) mediante analisi al microscopio ottico. Per ogni varietà e per ciascun trattamento sono state selezionate 5 piante. Dall'apparato radicale di ogni pianta sono state isolate almeno 30 radici tra quelle secondarie più affini alla micorrizazione. Da ciascuna radice, dopo lavaggio, sono stati ottenuti segmenti radicali di 1 cm, che sono stati sottoposti a chiarificazione per 10 min a 50 °C in una soluzione di KOH al 10%. Di seguito, i frammenti radicali sono stati incubati per 15 minuti a 50 °C in una soluzione allo 0,05% di Trypan Blue in lacto-glicerolo (acido lattico: glicerolo: acqua, 1:1:1). I frammenti radicali sono stati posti su vetrino, montati su glicerolo e osservati al microscopio ottico (Nikon Eclipse E600, Tokyo, Giappone). Il grado di micorrizazione è stato determinato calcolando la percentuale di colonizzazione delle radici osservate (M%) e la frequenza degli arbuscoli (A%) presenti nelle radici (Trouvelot *et al*., 1986). Per ogni tesi, sono state analizzate un totale di 150 radici. Indicazioni sull'influenza dei diversi inoculi micorrizici commerciali sull'accrescimento delle due varietà di olivo sono state ottenute misurando il diametro alla base del colletto delle piante oggetto di studio a 18 mesi dal trapianto. I dati sulla frequenza della simbiosi micorrizica e sull'accrescimento delle piante sono stati sottoposti ad analisi della varianza (ANOVA) e le medie sono state separate con il test di Duncan per $P \leq 0,05$.

Risultati e discussione

L'analisi microscopica dell'apparato radicale delle due varietà ha evidenziato la presenza della simbiosi micorrizica in tutte le piante analizzate. Il 100% delle radici osservate ha mostrato la presenza di funghi micorrizici. A 6 mesi dal trapianto sono state osservate differenze nell'efficienza di colonizzazione degli inoculi commerciali testati sulle varietà esaminate. Nella varietà Leccino, un considerevole livello di micorrizazione (31,8%) è stato osservato utilizzando il formulato commerciale Micosat F, mentre un valore significativamente inferiore (21,9%) è stato riscontrato nelle piante trattate con il formulato commerciale Endorize Mix. In Coratina, Endorize mix è risultato al primo rilievo il formulato più efficiente nella micorrizazione, con un valore pari al 28,6%, mentre un livello inferiore (22,6%) è stato osservato utilizzando l'inoculo commerciale Micosat F. Dopo 18 mesi dal trapianto, la micorrizazione si è assestata su livelli elevati, intorno al 50%, e la frequenza degli arbuscoli, strutture che consentono gli scambi nutrizionali tra i due simbionti, è risultata superiore al 20% per tutti gli inoculi in entrambe le varietà. I dati mostrano una elevata affinità tra le due varietà di olivo e gli inoculi micorrizici applicati. Le indicazioni ricavate dai dati sull'accrescimento al colletto, pur mostrando un incremento significativo del fusto rispetto alle piante testimone per tutti gli inoculi micorrizici testati, evidenziano che a fronte di una omogeneità del grado di micorrizazione osservato, esiste un accrescimento significativo del fusto differenziato a seconda della varietà di olivo e dell'inoculo micorrizico applicato. A questo proposito, la cv Leccino ha mostrato un accrescimento più elevato applicando l'inoculo Aegis Hydro, a base di *G. intraradices*, come riportato anche da Tataranni *et al*. (2009), mentre la varietà Coratina ha mostrato una crescita più elevata quando trattata con l'inoculo Micosat F. Queste indagini preliminari lasciano supporre che l'affinità specie micorrizica-varietà di olivo potrebbe avere un ruolo nella variabilità fenotipica osservata.

Ringraziamenti

Si ringraziano i colleghi delle Unità Operative di Potenza (Cristos Xyloiannis, Bartolomeo Dichio, Giuseppe Tataranni), Cosenza (Caterina Briccoli Bati, Elena Santilli) e Foggia (Salvatore Frisullo), il vivaio Agribiotecnica di Bernalda (MT) e Cristina Severini per la collaborazione alle indagini.

Riassunto

La qualità della produzione vivaistica olivicola è fattore prioritario per la conquista di elevati canoni di eccellenza. In questo contesto, è sostanziale il ruolo svolto in vivaio da biofertilizzanti naturali quali i funghi micorrizici arbuscolari (AM) quando le tecniche di allevamento escludono o riducono l'instaurarsi di micorrize indigene. In questo lavoro è stata indagata l'efficienza di micorrizazione di tre differenti formulati commerciali, Endorize mix (Biorize, Agrauxine, Saint Evazerc, Francia), Micosat F (CCS, Aosta) e Aegis Hydro (Italpollina, Rivoli Veronese, Verona) a base di funghi micorrizici in piante di olivo di due varietà, Leccino e Coratina, allevate in vivaio e inoculate in fase di trapianto. L'intensità di micorrizazione, osservata con tecniche di microscopia ottica 6 e 18 mesi dopo il trapianto, utilizzando una colorazione non vitale a base di Trypan Blue, ha mostrato elevati livelli di micorizzazione, che al secondo rilievo hanno raggiunto valori intorno al 50% per tutti gli inoculi testati, in entrambe le varietà. Inoltre, il trattamento con gli inoculi micorrizici commerciali ha incrementato la crescita delle piante.

Parole chiave: *Olea europaea* L., simbiosi micorrizica-arbuscolare, vivaismo.

Ricerca svolta nell'ambito del progetto interregionale OLVIVA "Qualificazione del vivaismo olivicolo" – finanziato nell'ambito del Programma Interregionale - "Sviluppo rurale" sottoprogramma "Innovazione e ricerca" D.M. n. 25279 del 23 dicembre 2003.

Bibliografia

ABBOTT L.K., ROBSON A.D., 1984. *The effect of VA mycorrhizae on plant growth*. In: Va mycorrhiza, Powell C.L., Bagyaraj D.J., Coord. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 113-130.

ALGUACIL M.M., HERNÁNDEZ J.A., CARAVACA F., PORTILLO B., ROLDÁN A., 2003. *Antioxidant enzyme activities in shoots from three mycorrhizal shrub species afforested in a degraded semi-arid soil*. Physiologia Plantarum 118: 562-570.

BRICCOLI BATI C., GODINO G., 2002. *Influenza delle micorrize sull'accrescimento in vivaio di piante di olivo*. Italus Hortus 9(3): 20-21.

BRICCOLI BATI C., GODINO G., BELFIORE T., 2003. *Ruolo della simbiosi micorrizica nella produzione vivaistica di piante di olivo*. Italus Hortus 10(4): 160-164.

CALIENTE R., CANO C., FERROL N., AZCON-AGUILAR C., BAREA J.M., 2004. *Analysing natural diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in olive tree (*Olea europea *L.) plantations and assessment of the effectiveness of native fungal isolates as inoculants for commercial cultivars of olive plantlets.* Applied Soil Ecology 26: 11-19.

CARAVACA F., DIAZ E., BAREA J.M., AZCÓN-AGUILAR C., ROLDÁN A., 2003a. *Photosynthetic and transpiration rates of* Olea europaea *subsp.* sylvestris *and* Rhamnus lycioides *as affected by water deficit and mycorrhiza*. Biologia Plantarum 46: 637-639.

CARAVACA F., DIAZ E., FIGUEROA D., AZCÓN-AGUILAR C., ROLDÁN A., 2003b. *Medium-term effects of mycorrhizal inoculation and composted municipal waste addition on the establishment of two Mediterranean shrub species under semiarid field conditions.* Agriculture, Ecosystems and Environment 97: 95-105.

CATALANO L., 2009. *Quali prospettive per il vivaismo olivicolo italiano*. Atti Convegno "Innovazione nel vivaismo olivicolo: attività svolta nell'ambito del Progetto OLVIVA" - Ancona, 26 novembre, 9.

CITERNESI A.S., VITAGLIANO C., GIOVANNETTI M., 1998. *Plant growth and root system morphology of* Olea europaea *L. rooted cutting as influenced by arbuscular mycorrhiza.* J. Hort. Sci. Biotech. 75: 647-654.

ESTAÚN V., CAMPRUBI A., CALVET C., PINOCHET J., 2003. *Nursery and field response of olive trees inoculated with two arbuscular mycorrhizal fungi,* Glomus intraradices *and* Glomus mosseae. J. Am. Soc. Hort. Sci. 128: 767-775.

PALENZUELA J., AZCÓN-AGUILAR C., FIGUEROA D., CARAVACA F., ROLDÁN A., AZCÓN-AGUILAR C., 2002. *Effects of mycorrhizal inoculation of shrubs from Mediterranean ecosystems and composted residue application on transplant performance and mycorrhizal developments in a desertified soil*. Biology and Fertility of Soils 36, 170-175.

PHILLIPS J.M., HAYMAN D.S., 1970. *Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection*. Transactions of the British Mycological Society 55: 158-161.

QUEREJETA J.I., BAREA J.M., CARAVACA F., ROLDÁN A., 2003. *Differential response of delta C-13 and water use efficiency to arbuscular mycorrhizal infection in two aridland woody plant species*. Oecologia 135: 510-515.

RAPPARINI F., BARALDI R., BERTAZZA G., BRANZANTI B., PREDIERI S., 1994. *Vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculation of micropropagated fruit trees.* J. Hort. Sci. 69, 1101-1109.

SMITH S.E., READ D.J., 1997. *Colonization of roots and anatomy of VA mycorrhizas*. In: Mycorrhizal Symbiosis, 2nd ed., Smith S.E., Read D.J. Coord. Academic Press, London, UK, pp. 605.

TATARANNI G., SANTILLI E., BRICCOLI BATI C., DICHIO B., 2009. *Influenza della simbiosi micorrizica sulla risposta vegetativa di cinque cultivar di* Olea europea. Atti I Convegno Nazionale dell'Olivo e dell'Olio, Portici (NA), 1-2 ottobre, 21.

TROUVELOT A., KOUGH J.L., GIANINAZZI-PEARSON V., 1986. *Mesure du taux de mycorrhization VA d'un systeme radiculaire. Recherce de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionelle. In Mycorrhizae: physiology and genetic.* Ist. ESM, Dijon, 1-5 July, 1985. INRA, Paris, 217-221.

Test di resistenza genetica alla verticilliosi (*Verticillium dahliae* Kleb.) su alcune importanti e diffuse cultivar di olivo

Vizzarri V.*, Belfiore T., Noce M.E., Scalercio S. e Iannotta N.
CRA OLI, Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia

Test of genetic resistance to *Verticillium dahliae* Kleb. on some important and widespread olive cultivars

Abstract. The control of Verticillium wilt is difficult and its efficacy is often uncertain. Then, it is important to prevent fungal infections. The purpose of this study was to test the genetic resistance of some important and widespread olive cultivars by artificial infections of young olive plants with a highly virulent patotype of Verticillium dahliae isolated from a diseased olive tree. Five plantlets each of "Koroneiki", "Roggianella", "Carolea", "Cassanese", "Ottobratica", "Arbequina", "Leccino", "Arbosana", "Frantoio", "Urano", "Ascolana", "Coratina", "Pendolino" and "Nocellara messinese" were inoculated by the stem-wounding method. Five classes of infection were defined in order to evaluate the severity of the symptoms. Results showed the cultivars Ottobratica, Leccino, Ascolana and Nocellara messinese as the less resistant ones. In any case, these cultivars showed only moderate symptoms and no defoliation. On the other hand, the cultivars Frantoio, Arbequina, Arbosana and Urano were the most resistant ones because they did not show any symptoms of the disease. In order to refine the results, further tests are needed by utilising other olive cultivars and other V. dahliae isolates, also from different geographic origin.

Key words: Verticillium wilt, Olea europaea, genetic resistance.

Introduzione

La verticilliosi dell'olivo, causata dal patogeno tellurico *Verticillium dahliae* Kleb., causa gravi danni in molti areali olivicoli italiani e di altri Paesi del Bacino del Mediterraneo. In Calabria ed in Sicilia, ove la presenza è stata segnalata già da diverso tempo, la verticilliosi appare attualmente preoccupante in quanto in espansione con danni abbastanza rilevanti (Iannotta *et al.*, 1998). La malattia può manifestarsi con differente evoluzione del quadro sintomatologico a seconda che siano colpite piante giovani o in età avanzata (Cirulli, 1981; Zazzerini, *et al*., 1993) . Nel primo caso si parla di decorso acuto o apoplessia, con rapido deperimento e disseccamento dei rami, cui rimangono attaccate le foglie secche fino alla morte delle piante; nel secondo caso, decorso cronico, si assiste ad un lento declino delle piante, in cui le infezioni si manifestano sui rametti apicali o a brachette situate nella porzione medio-alta della chioma, le cui foglie clorotiche progressivamente disseccano e cadono. I disseccamenti successivamente si estendono a rami più grossi fino ad interessare intere branche,come dimostrano gli imbrunimenti nei tessuti vascolari se trasversalmente sezionati (Ciccarese, 2003). Gli attacchi di *V. dahliae* si rendono visibili di solito all'inizio della primavera (marzo-aprile) e gradualmente proseguono e si intensificano nei mesi successivi per poi arrestarsi durante i mesi estivi. Fattori incidenti sullo sviluppo della fitopatia sono riconducibili ad alcune pratiche agronomiche, come l'irrigazione che facilita la disseminazione dei propagoli, o la consociazione con specie erbacee, soprattutto appartenenti alla famiglia delle Solanacee (Thanassoulopoulos *et al.*, 1979). La diffusione dell'inoculo di *V. dahliae* è favorita dall'accertata suscettibilità di alcune cultivar, ma è principalmente dovuta alle procedure di propagazione e allo stato sanitario dei vivai, dove spesso si allevano piantine in suoli contaminati dai propaguli del patogeno, oppure laddove si prelevano talee di radicazione da piante senza preventivi controlli sanitari, quindi con la probabilità che esse portino l'infezione in forma latente. Inoltre a volte si possono osservare variazioni nelle manifestazioni sintomatologiche nella malattia, o assenza di sintomi, che possono essere messe in relazione alle infezioni di particolari patotipi di *V. dahliae* (*defoliating* e *non-defoliating pathotypes*) ed in particolare alla loro virulenza (Schnathorst e Sibbett, 1971; Bejarano-Alcazar *et al*., 1995; Lopez-Escudero *et al*., 2004). Nell'ambito di una visione ecosostenibile della gestione della difesa fitosanitaria dell'olivo, questa ricerca si è posta l'obiettivo di valutare la capacità di resistenza genetica di alcune tra le più importanti e diffuse cultivar, mediante una procedura di infezione artificiale del patogeno virulento su piante mantenute rigorosamente in ambiente controllato (serra).

* veronica.vizzarri@entecra.it

Materiale e metodi

Il ceppo di *V. dahliae*, denominato "Isol F"ed impiegato in questo screening di resistenza, è stato ottenuto da olivo mediante isolamento su PDA (Patata-Destrosio Agar) a pH 5.5. Piccole porzioni dei rametti (parti secche e parti ancora verdi prossime a quelle dei rametti colpiti), dopo essere state sterilizzate superficialmente per immersione in alcool etilico denaturato e passati velocemente alla fiamma sono stati posti in piastre Petri contenenti PDA. Le piastre collocate in un termostato a 25°C al buio per 10-15 giorni, venivano osservate dopo qualche giorno per seguire lo sviluppo dei microrganismi ed infine esaminate con l'ausilio di uno stereomicroscopio ottico per accertare la presenza del patogeno. Successivamente, dopo isolamento e allevamento della coltura pura è stato realizzato un isolato monoconidico che è stato poi mantenuto in tubi di PDA a 15 °C. Questo ceppo era stato già testato in uno *screening* condotto in Sicilia e risultato fortemente virulento (Fodale, com. pers.). Lo schema sperimentale prevedeva l'impiego di 14 cultivar tra italiane ed estere (Arbequina, Arbosana, Ascolana, Carolea, Cassanese, Coratina, Frantoio, Koroneiki, Leccino, Nocellara messinese, Ottobratica, Pendolino, Roggianella e Urano). Cinque piantine per ogni varietà sono state inoculate artificialmente con *V. dahliae*, mentre altre tre sono state utilizzate come controllo. Le piantine di circa 18 mesi di età e alte circa 160 cm, sono state infettate a fine giugno mediante inoculo a ferita. Un tassello di agar, prelevato da una colonia del ceppo "Isol F"di 30 gg di età, veniva collocato sul fusto dopo aver rimosso la corteccia, poi il sito di inoculazione veniva coperto con cotone umido e avvolto con parafilm per prevenire l'essiccamento. Le piante controllo sono state inoculate allo stesso modo utilizzando tasselli di solo PDA (fig. 1). Dopo l'inoculazione tutte le piantine sono state collocate in serra, in condizioni assolutamente controllate, e tenute in osservazione per un anno. I sintomi mostrati dalle piantine sottoposte ad inoculazione per ferita, sono stati classificati secondo cinque categorie sintomatologiche in base alla percentuale di chioma che mostra i sintomi: 0% pianta sana; 20% clorosi diffusa e ripiegamento a doccia di diverse foglie; 50% ripiegamento a doccia delle foglie e parziale disseccamento del germoglio apicale; 75% disseccamento di oltre metà pianta; 100% completo disseccamento, senza defogliazione, dell'intera pianta con morte del soggetto infetto (Colella *et al.*, 2008). Su tutte le piantine, con o senza sintomi evidenti sono stati effettuati prelievi dagli organi ipogei ed epigei su cui si è proceduto a test di isolamento in laboratorio. I

Fig. 1 - Piantine di olivo inoculate artificialmente adottando la tecnica della ferita su fusto. Incisione del fusto con bisturi (a), tassello di inoculo prelevato da colonia di 30 gg. di età allevata su PDA (b), l'inoculo veniva collocato sul fusticino (c), il sito di inoculazione veniva coperto con cotone umido e avvolto con Parafilm **(d)**. Le piante testimoni sono state inoculate allo stesso modo utilizzando tassello di solo PDA **(e),** dopo l'inoculazione tutte le piantine sono state collocate in serra condizionata **(f)**.
Fig. 1 - Olive plantlets inoculated by stem wounding. (a) stem wounding; (b) inoculum taken from a 30-days-old colony grown on PDA; (c) the inoculum was located on the stem, and (d) covered by wet wool and Parafilm. Only a PDA portion without fungal spores was applied in the same manner to control plantlets (e), then, after inoculation, all plantlets were located in a conditioned greenhouse.

rilievi sono stati effettuati in tre periodi dell'anno (1-fine gennaio, 2-metà maggio e 3-metà giugno 2008). Ad ogni categoria sintomatologica è stato attribuito un moltiplicatore crescente (eccetto che per la categoria 0) secondo una progressione geometrica (1, 2, 4, 8) (tab. 1), utilizzato per calcolare il seguente *Indice di gravità della malattia*

(I_{gm}): $I_{gm} = p_a + 2p_b + 4p_c + 8p_d$
dove:
$p_x = n_x/N$;
con:
p: proporzione o abbondanza relativa
n_x: numero di piante attribuibili alla categoria x;
N: totale delle piante trattate.

Il moltiplicatore è stato scelto come progressione geometrica per meglio evidenziare l'evoluzione temporale dell'infezione (Freund e Wilson, 2001).

Risultati e discussione

Nella tabella 1, sulla base dell'indice di gravità della malattia (I_{gm}), si evince il diverso comportamento dei genotipi osservati. Delle 14 varietà indagate, quattro non hanno mostrato sintomi della malattia (Arbequina, Arbosana, Frantoio, Urano), mentre nelle rimanenti 10 sono apparsi sintomi evidenti. La cultivar meno resistente è apparsa l'Ottobratica, dove i sintomi sono comparsi subito dopo l'inoculazione e in forma più evidente, senza defogliazione. "Leccino", "Ascolana" e "Nocellara messinese" hanno evidenziato anch'esse chiari sintomi di verticilliosi, significativamente più gravi rispetto alle altre cultivar osservate. Le cultivar Pendolino, Roggianella, Coratina, Koroneiki, Carolea e Cassanese si collocano in una posizione intermedia, seppur con valori diversi in termini di I_{gm} , fra tutte quelle osservate e riportate in tabella. Pendolino e Carolea sono apparse le più lente a manifestare la sintomatologia. Nella tabella 2 si riportano i rilievi dettagliati relativi alle diverse epoche di osservazione con la percentuale del grado di infezione e l'eventuale esito infausto per alcune piante. I dati mostrano come la malattia abbia mostrato subito, già al primo rilievo, la propria gravità su "Ottobratica" e "Ascolana". Sulle prime di dette cultivar si registra una pianta morta ed un'altra con sintomi gravi (75%) sulle cinque inoculate e sulla seconda una pianta morta ed un'altra con sintomi al 20% sempre su cinque inoculate. Alla fine delle osservazioni (giugno 2008) le piante con esito infausto risultano essere quattro, una ciascuno delle cv Ottobratica, Ascolana, Leccino e Nocellara messinese.

Tab. 1 - Evoluzione dell'Indice di gravità della malattia (I_{gm}) sulle cultivar studiate.
Tab. 1 - Temporal evolution of the diseases gravity index (I_{gm}) on investigated cultivars.

Cultivar	I_{gm}		
	periodo 1	periodo 2	periodo 3
Ottobratica	2.4	2.6	2.6
Leccino	0.2	0.4	2
Ascolana	1.8	2	2
Noc. messinese	0	0.2	1.8
Pendolino	0	0.8	0.8
Roggianella	0.8	0.8	0.8
Coratina	0.6	0.8	0.8
Koroneiki	0.2	0.4	0.4
Carolea	0	0.2	0.2
Cassanese	0.2	0.2	0.2
Arbequina	0	0	0
Arbosana	0	0	0
Frantoio	0	0	0
Urano	0	0	0

Tab. 2 - Rilievi dettagliati relativi al numero di piante, afferenti alle diverse classi sintomatologiche, rilevato nelle diverse epoche di osservazione (1, 2, 3).
Tab. 2 - Number of plantlets belonging to sintomatological classes, at the different observation periods.

Cultivar	Classe sintomatologica												
	20%			50%			75%			morta			Totale sane
	Epoca di osservazione												
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
Ottobratica		1	1				1	1	1	1	1	1	2
Leccino	1				1	1						1	3
Ascolana	1	2	2							1	1	1	2
Noc. messinese		1	1									1	3
Pendolino								1	1				4
Roggianella							1	1	1				4
Coratina	3	2	2		1	1							2
Koroneiki	1				1	1							4
Carolea		1	1										4
Cassanese	1	1	1										4
Arbequina													5
Arbosana													5
Frantoio													5
Urano													5

Conclusioni

Dall'esame dei dati complessivamente ottenuti nel corso della prova, che ha previsto l'impiego di un ceppo di *V. dahliae* altamente virulento e il mantenimento delle piante in serra in condizioni di temperatura, umidità e nutrizione strettamente controllate, appare evidente la diversa risposta dei 14 genotipi allo stress indotto. Tale diversità comportamentale è ascrivibile, date le condizioni omogenee di trattamento, alle peculiari caratteristiche di ogni singola entità genetica esaminata. Tali indicazioni comportamentali delle cultivar di olivo nei confronti di *V. dahliae*, sono confortate anche da precedenti ricerche (Pennisi *et al.*, 1993) effettuate allo scopo di valutarne la suscettibilità nei campi di coltivazione.

In conclusione, atteso che le varietà saggiate in queste ricerche erano state scelte sulla base della loro diffusione e della maggiore frequenza d'impiego nei

nuovi impianti, alla luce dei risultati ottenuti appare chiara l'indicazione su quali di esse utilizzare negli areali in cui il patogeno è presente. Risultano certamente consigliabili le due cultivar spagnole (Arbequina e Arbosana) e la italiana "Urano", utilizzabili negli impianti superintensivi, mentre la cultivar Frantoio appare come la più affidabile per la coltivazione intensiva tradizionale. Future ricerche di genetica, anche con l'ausilio di tecniche molecolari, sono auspicabili circa lo studio dei meccanismi di resistenza e la possibile associazione di essi a specifici geni del corredo genomico di ogni singolo genotipo.

Riassunto

La lotta contro *Verticillium dahliae* Kleb. è difficile e di incerta efficacia, per cui risulta importante individuare sistemi che prevengano l'infezione. Con questo studio si è voluto approcciare il tema della resistenza genetica mediante test su alcune importanti e diffuse varietà di olivo, infettandole artificialmente con un patotipo fortemente virulento di *V. dahliae* ottenuto da olivo. Otto piantine di "Koroneiki", "Roggianella", "Carolea", "Cassanese", "Ottobratica", "Arbequina", "Leccino", "Arbosana", "Frantoio", "Urano", "Ascolana", "Coratina", "Pendolino" e "Nocellara messinese" sono state utilizzate nel saggio di resistenza, inoculandole artificialmente con la tecnica della ferita su fusto. Per la valutazione di resistenza, sono state individuate cinque categorie d'infezione in relazione alla gravità dei sintomi. La prova ha evidenziato una minore resistenza delle varietà Ottobratica, Leccino, Ascolana e Nocellara messinese, anche se i sintomi della malattia sono apparsi moderatamente gravi e la defogliazione assente. Frantoio, Arbequina, Arbosana e Urano sono risultate le varietà più resistenti, in quanto esenti da qualunque sintomo della malattia. Ulteriori test potranno essere effettuati con altri isolati del patogeno, anche provenienti da diverse aree olivicole, su altre entità genetiche di olivo.

Parole chiave: verticilliosi, *Olea europaea*, resistenza genetica.

Lavoro svolto nell'ambito del Progetto "RIOM, risorse aggiuntive", finanziato dal Ministero delle Politiche Agricole e Forestali".

Bibliografia

BEJARANO-ALCAZAR J., MELERO-VARA J.M., BLANCO-LOPEZ M.A., JIMENEZ-DIAZ R.M. (1995) – Influence of inoculum density of defoliating and non-defoliating pathotypes of *Verticillium dahliae* on epidemics of *Verticillium* wilt of cotton in southern Spain. Phytopathology 85, 1474-1481.

CICCARESE F. (2003) – Grave minaccia all'olivo: la verticilliosi. Inf. Fitopatol. 12, 17-21.

CIRULLI M. (1981) - Attuali cognizioni sulla verticilliosi dell'olivo. Inf.tore fitopatol. 31, (1-2), 101-105.

COLELLA C., MIACOLA C., AMENDUNI M., D'AMICO M., BUBICI G. AND CIRULLI M. (2008) – Sources of verticillium wilt resistence in wild olive germplasm from the Mediterranean region. Plant pathology 57, 533-539.

FREUND R.J. & WILSON W.J. (2001) – Metodi statistici – Piccin – Padova, 682pp.

IANNOTTA N., FODALE A.S., TOCCI C. (1998) La verticilliosi dell'olivo (*Verticillium dahliae*): grave malattia in forte espansione in Calabria e Sicilia. *Notiziario sulla protezione delle piante*, 9: 139-146.

LOPEZ-ESCUDERO F.J., DEL RIO C., CABALLERO J.M., BLANCO-LOPEZ M.A. (2004) – Evaluation of olive cultivars for resistance to *Verticillium dahliae*. Eur. J. Plant Pathology 110, 79-85.

PENNISI A.M, CACCIOLA S.O, MAGNANO DI SAN LIO G. and PERROTTA G. (1993) – Evaluation of the susceptibility of olive cultivars to verticillium wilt. Bullettin OEPP/EPPO 23, 537-541.

SCHNATHORST T W.C., SIBBETT S. G. (1971) - The relation of strains of *Verticillium albo-atrum* to severity of *Verticillium* wilt in *Gossypium hirsutum* and *Olea europaea* in California. Plant Dis. Reptr. 55, 780-782.

THANASSOULOPOULOS C.C., BIRIS D.A., TJAMOS E.V. (1979) - Weed hosts as inoculum source of *Verticillium* in olive orchards. Phytopath. medit. 30, 164-168.

ZAZZERINI A., TOSI L., D'ARMINI M. (1993) - Indagini sulla verticilliosi dell'olivo nell'Italia centrale. Convegno "Tecniche, norme e qualità in Olivicoltura", Potenza, 15-17 Dicembre 1993, 549-567.

Aspetti epidemiologici della cercosporiosi in un oliveto della provincia di Trapani e prova di lotta

Fodale A.S., Mulé R. e Tucci A.
CRA SFM, S.S. 113 km 245,500, 90011 Bagheria (PA)

Epidemiology of cercospora leaf spot on olives in province of Trapani and attempts to control the disease

Abstract. Mycocentrospora cladosporioides (Sacc.), every year, causes considerable damages to olive-orchards in provincie of Trapani (Sicily). The purpose of this research was observe the main epidemiological aspects of this disease and to carry out a test of control, at the time of more inoculum widespread, in order to minimize the risk of new infections. The trial lasted three years. During the first and the second year the symptoms incidence, the sclerotia and conidia, located on the leaves, were monitored every two weeks. In the third year, at the end of September and after the first rains, it has been carried out a test to comparare treatments with copper oxychloride, dodine, copper oxychloride+dodine and control, effected once only, adopting an experimental design in randomized blocks with four repetitions and plots with five trees. The experimental data showed that the period of maximum sporogenesis arrives at the end of summer with the fall of temperature and with the first rains. The thesis that had the best result was the treatment of dodine in association with copper oxychloride.

Key words: Olea europaea, Mycocentrospora cladosporioides, disease control.

Introduzione

In provincia di Trapani, sono due le malattie a carico delle foglie di olivo che necessitano di particolare attenzione: "l'occhio di pavone" causata da *Spilocaea oleagina* (Cast.) Hughes e la cercosporiosi il cui agente eziologico è rappresentato da *Mycocentrospora cladosporioides* (Sacc.) P. Costa ex Deighton (Deighton, 1983).

Tra gli agricoltori e i tecnici della "Valle del Belice" è convinzione comune che i trattamenti effettuati contro "l'occhio di pavone" valgano anche per la "piombatura". In realtà i risultati di campo dimostrano il contrario perché all'efficacia contro *S. oleagina* non corrisponde un altrettanto valido effetto contro la cercospora: a questo proposito analoghi riscontri sperimentali sono stati segnalati in Puglia (Nigro *et al*., 2002). In genere, nell'areale considerato, gli interventi effettuati contro "l'occhio di pavone" sono tre-quattro e realizzati il primo alla fine di Novembre-inizio Dicembre e altri due-tre ad un mese di distanza l'uno dall'altro, nel periodo Gennaio-Aprile (Cappello *et al.*, 2000).

Lo scopo della presente ricerca è stato quello di osservare, in un oliveto in territorio di Castelvetrano i principali aspetti epidemiologici della cercosporiosi e di condurre una prova di lotta, nel momento di maggiore sporulazione, al fine di ridurre al minimo la possibilità di nuove infezioni e di pervenire, in breve tempo, ad una sua eradicazione.

Materiali e metodi

La ricerca è stata condotta nel triennio 2004-2006, presso un'azienda ubicata tra i territori di Castelvetrano e Mazara del Vallo, la cui superficie, di circa 20 Ha. è destinata prevalentemente ad oliveto (di 12 anni all'epoca della prova) costituito con le varietà 'Nocellara del Belice' e 'Cerasuola'.

Nei primi due anni, ogni due settimane circa, su piante delle due varietà, sono stati raccolti, a caso e ad altezza d'uomo 30 rametti fruttiferi che sono stati portati in laboratorio; dopo l'eliminazione della parte apicale sono state staccate tutte le foglie che hanno costituito due campioni, uno per varietà, dai quali sono stati estrapolati due sottocampioni di 100 foglie ciascuno, al fine di calcolare la percentuale di foglie infette e accertare, attraverso una media ponderata, la severità dei sintomi basandosi su una scala empirica da 0 a 3 in cui: 0=foglie apparentemente sane; 1=foglie fino al 15 % di superficie interessata dall'infezione; 2=dal 16-50 %; 3=oltre il 50 %. Sempre per ciascuna varietà sono state scelte 10 foglie, con sintomatologia marcata, per procedere ad osservazioni microscopiche. A tale riguardo una striscia di nastro adesivo trasparente è stata incollata sulla pagina inferiore di ciascuna foglia in maniera da asportarne tutto il contenuto superficiale che è stato reincollato su un vetrino portaoggetto. Per ogni vetrino sono stati osservati 30 campi microscopici (10 x) e contati gli elementi scleroziali e i conidi presenti. Al terzo anno di indagine stabilito, sulla base dei dati sino ad allora accumulati, che le maggiori sporulazioni avvenivano

tra Settembre ed Ottobre, si è deciso di effettuare una prova di lotta in tale periodo utilizzando soltanto piante di 'Cerasuola' per l'incipiente raccolta delle olive della Nocellara destinate dall'azienda ospitante alla trasformazione da mensa.

Le osservazioni microscopiche hanno evidenziato un intensa sporulazione (oltre 1.000 conidi per campo) in corrispondenza del rilievo del 22 di Settembre 2006. Nella settimana successiva è stata apprestata la prova con, oltre il controllo: Ossicloruro di rame (Coprantol WG 400 g/hl), dodina (Syllit 65 WG 100g/hl), ossicloruro di rame + dodina alle dosi già indicate. E' stato adottato uno schema sperimentale a blocchi randomizzati con 4 ripetizioni e parcelle costituite da 5 piante; ai fini dei rilievi sono state utilizzate le 3 piante centrali di ogni parcella escludendo la prima e l'ultima. I trattamenti sono stati realizzati con lancia a pressione avendo l'accortezza di bagnare bene la pagina inferiore delle foglie. Inoltre sono state irrorate con cura anche le foglie cascolate a terra sulla proiezione della chioma, per abbattere anche quella fonte di inoculo. Dopo un mese, da ciascuna parcella, sono stati raccolti 12 rametti, per provvedere alle osservazioni relative alla presenza di conidi sulle foglie; alla fine di Aprile è stato condotto un secondo campionamento per rilevare la percentuale di foglie infette e l' incidenza dei sintomi sulle stesse. I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica attraverso l'analisi della varianza e le medie confrontate con il test Student-Newman e Keuls.

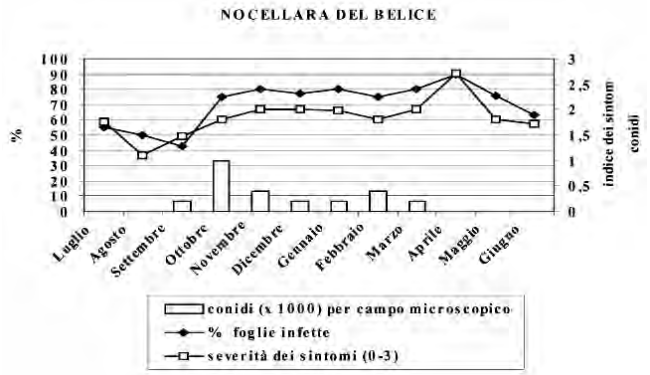


Fig. 1 - Incidenza dell'infezione sulle foglie e stima dei conidi sulle stesse.
Fig. 1 - Incidence of infection on leaves and conidia evaluation on them.

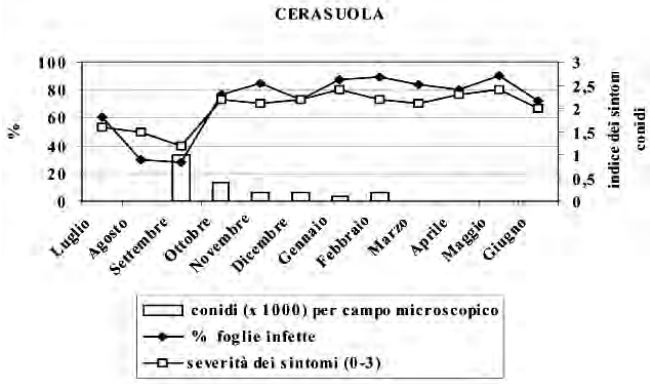


Fig. 2 - Incidenza dell'infezione sulle foglie e stima dei conidi sulle stesse.
Fig. 2 - Incidence of infection on leaves and conidia evaluation on them.

Risultati e discussione

La sintomatologia a carico delle foglie delle due varietà non è differita in maniera sostanziale. A partire dal mese di Ottobre si sono osservate poche macchie vellutate, distribuite soltanto su una metà della pagina inferiore e generalmente nella parte distale. Tra il periodo invernale e la primavera successiva la superficie interessata dal micelio si è incrementata ed ha assunto una colorazione più scura per la differenziazione dei corpi scleroziali. La pagina superiore inizialmente non ha mostrato sintomi poi sono comparse aree clorotiche che sono diventate necrotiche nel periodo Aprile-Maggio. L'infezione si è attestata nella porzione medio-bassa della chioma. Tra Agosto e Settembre, sotto le piante maggiormente colpite, si è evidenziata una notevole presenza di foglie cascolate a causa della malattia. Non sono mai stati riscontrati danni ai frutti.

Nelle figure 1 e 2 viene riportata, per ciascuna varietà, l'evoluzione nel tempo sia della percentuale di foglie infette che l'incidenza delle infezioni sulla lamina fogliare. Gli andamenti delle curve risultano, per entrambe le varietà, del tutto simili. A partire da Settembre la percentuale di foglie infette aumenta a causa di nuove infezioni innescate da quelle residue e si mantiene costante nei mesi successivi; da Aprile-Maggio e sino a Settembre se ne evidenzia invece una diminuzione per effetto di abbondante cascola; stesso andamento mostra la severità dei sintomi. Per la 'Nocellara del Belice' la percentuale di foglie infette passa dal 43 % di Settembre al 90 % di Aprile mentre la severità dei sintomi da 1,47 passa a 2,71. Per la 'Cerasuola' a Settembre si è riscontrata una percentuale di foglie infette del 28 % che è aumentata sino al 90 % di Maggio; analogamente, l'incidenza dei sintomi sulle foglie da 1,2 è passata a 2,4. Considerando questi dati la 'Nocellara del Belice' ha mostrato una maggiore suscettibilità alla malattia. Nelle stesse figure viene rappresentata, con istogrammi, la produzione di conidi che è risultata massima, cioè con oltre mille spore per campo microscopico, ad Ottobre per la

'Nocellara del Belice' e a Settembre per la 'Cerasuola'; la presenza dei conidi è stata costante sino a Febbraio-Marzo ma a livelli più contenuti: tra 50 e 100 spore per campo microscopico. Relativamente ai corpi sclerotiali e/o elementi diplodiformi c'è stato un picco, ad Aprile-Maggio, con oltre l'80% della pagina fogliare ricoperta e minima a Settembre. Nel corso dell'estate, da Giugno ad Agosto le foglie con sintomi presentavano una modestissima quantità di corpi sclerotiali e di conidi, segno evidente dei limiti imposti al parassita dalle sfavorevoli condizioni climatiche; le stesse foglie poste in camera umida hanno infatti, dopo breve tempo, mostrato una notevole presenza di elementi diplodiformi. Corpi sclerotiali sono stati regolarmente osservati, durante il periodo estivo, in ambienti più freschi (Modugno Pettinari, 1960). Subito dopo i primi acquazzoni di Settembre si è assistito alla germinazione di diversi corpi sclerotiali (fig. 3) con evidente formazione di micelio e quindi con ripresa dell'attività del fungo che dopo avere colonizzato le foglie ha portato, nell'immediato periodo, ad intense conidificazioni, complici le temperature medie ancora elevate (fig. 4). Analoghe germinazioni sono state rilevate, per entrambe le varietà, nel mese di febbraio in corrispondenza dell'innalzamento della temperatura.

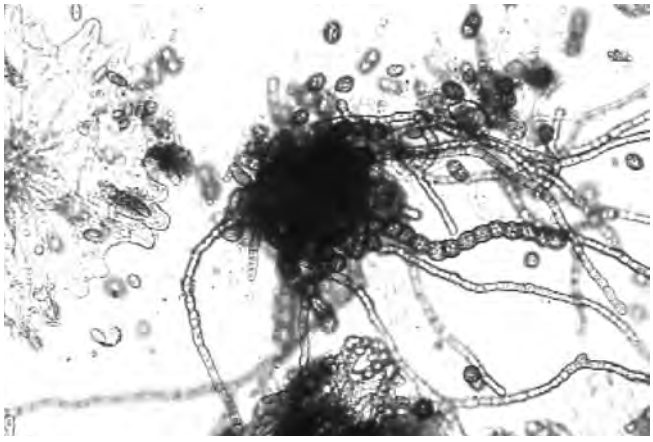


Fig. 3 - Germinazione di sclerozi nel mese di Settembre subito dopo le prime piogge.
Fig. 3 - Germination of sclerotia in September after the first rainy days.

Relativamente alla prova di lotta si può affermare l'efficacia dei trattamenti condotti in concomitanza dell'intensa produzione di conidi. Infatti ad un mese dai trattamenti e per tutte le tesi (fig. 5), rispetto al controllo, si è avuto un marcato abbattimento dell'inoculo. Sulle foglie della tesi controllo è stato riscontrato un numero medio di conidi per campo microscopico pari a 133, mentre 11, 5 e 6 è risultato quello per le tesi Dodina, Ossicloruro di Rame e Ossicloruro di rame+dodina. Riguardo ai rilievi effettuati ad Aprile, sulla percentuale delle foglie infette (fig. 6), appare chiara la maggiore efficacia del trattamento con ossicloruro di rame+dodina per il quale si è calcolata una percentuale pari al 7,75 contro 22,75 - 44,5 e 82,75 rispettivamente dell'ossicloruro di rame, della dodina e del controllo. Evidentemente l'azione citotropica della dodina associata alla maggiore persistenza dell'ossicloruro può avere giocato un ruolo positivo. Anche l'incidenza dei sintomi (fig. 7) è stata minore: 0,2 – 0,7 – 1,1 – 2,2 rispettivamente ossicloruro di rame+dodina, ossicloruro di rame, dodina e controllo.

Conclusioni

Dalle osservazioni effettuate e dai dati raccolti nel triennio 2004-2006 si può concludere che:

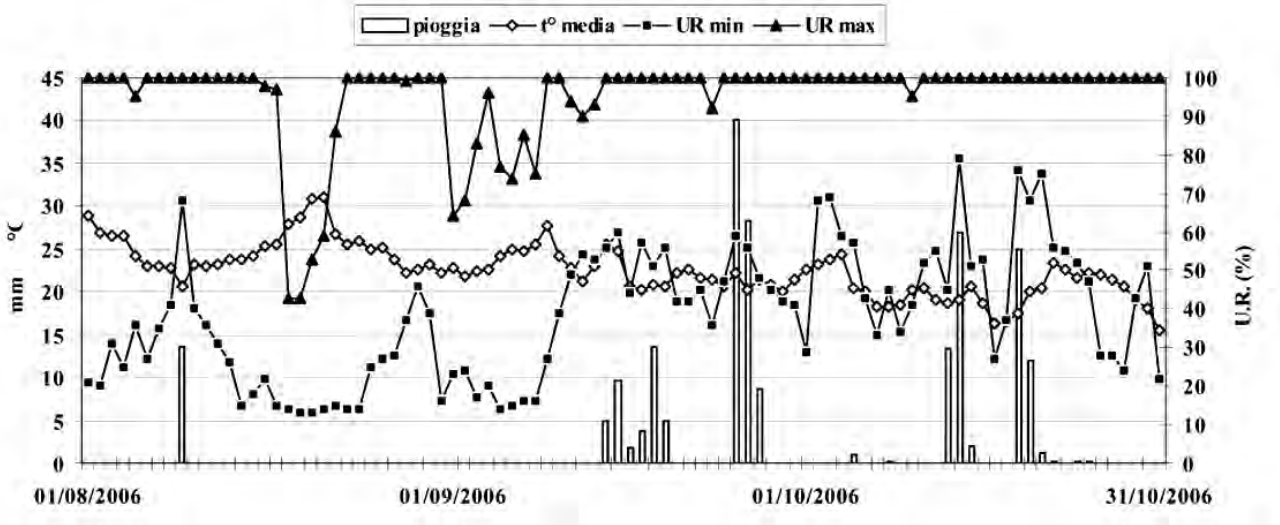


Fig. 4 - Principali dati meteo nell'area dell'esperimento (SIAS, Regione Sicilia).
Fig. 4 - Principal meteorological data of the experimental site (SIAS, Regione Sicilia).

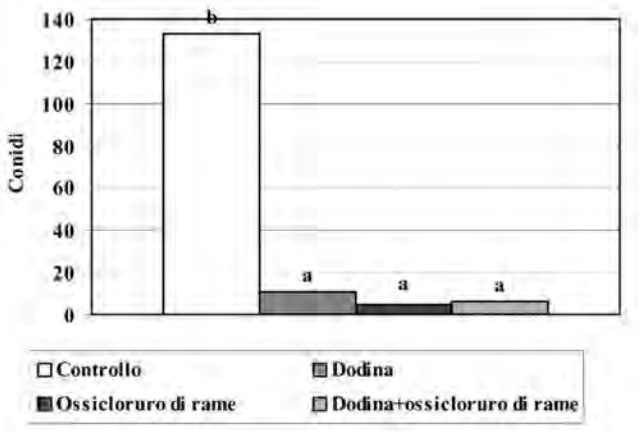


Fig. 5 - Stima dei conidi sulle foglie infette ad un mese dai trattamenti (p=0,05).
Fig. 5 - Conidia evaluation on infected leaves one month after the treatments.

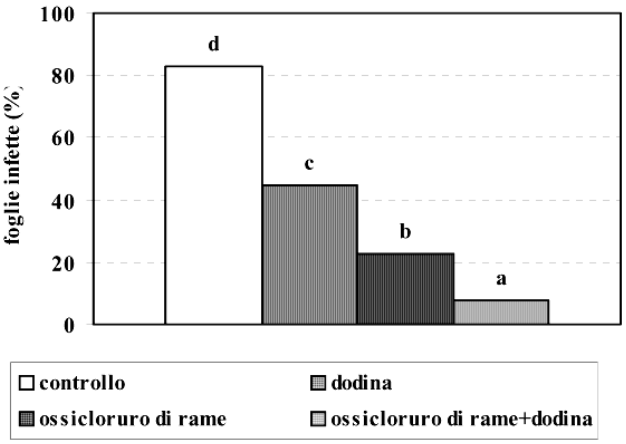


Fig. 6 - Presenza di foglie infette a sette mesi dai trattamenti (p=0,05).
Fig. 6 - Presence of infected leaves seven months after the treatments.

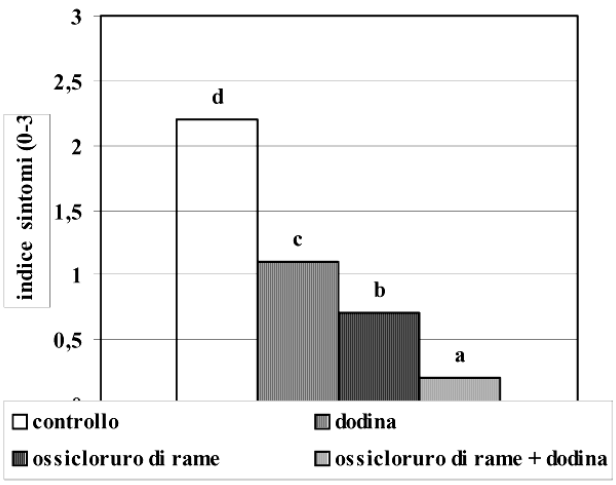


Fig. 7 - Severità dei sintomi a sette mesi dai trattamenti (p=0,05).
Fig. 7 - Symptoms severity seven months after the treatments.

- l'epoca di massima sporulazione sopraggiunge, nella Valle del Belice, a fine estate-inizio autunno, in corrispondenza dell'abbassamento delle temperature e dei primi eventi piovosi;
- i principi attivi saggiati all'epoca della massima sporulazione risultano efficaci nell'abbattere le fonti di inoculo, ma l'associazione tra dodina e ossicloruro di rame sortisce un effetto migliore.

In conclusione la prova di lotta ha indicato che un solo intervento, realizzato all'epoca della massima sporulazione, può riuscire decisivo per il contenimento dell'infezione. E' opportuno precisare che per la 'Nocellara del Belice', varietà a duplice attitudine, un tale trattamento risulterebbe applicabile solo quando le drupe vengano destinate all'oleificazione in quanto, nel caso delle olive da mensa, la raccolta è più anticipata cadendo di solito tra l'ultima settimana di Settembre e la terza di Ottobre.

Riassunto

La ricerca è durata tre anni; nei primi due si è provveduto a monitorare l'incidenza dei sintomi della malattia, la presenza di elementi scleroziali e di conidi sulle foglie. Al terzo anno, alla fine di Settembre, si è provveduto ad effettuare una prova di lotta con la quale sono state messe a confronto: ossicloruro di rame, dodina, ossicloruro di rame+dodina e il controllo. L'elaborazione dei dati ha permesso di stabilire che l'epoca di massima sporulazione sopraggiunge alla fine dell'estate in corrispondenza dell'abbassamento delle temperature e dei primi eventi piovosi, mentre la tesi che ha sortito il migliore effetto è risultata quella costituita dall'associazione tra ossicloruro di rame e dodina.

Parole chiave: Olivo, *Mycocentrospora cladosporioides*, malattia delle foglie, trattamenti.

Bibliografia

DEIGHTON F.C. 1983. *Studies on Cercospora and allied genera.* VII. *Further notes on Crrcoseptoria and some new species and redispositions*. Mycological papers, 151, 1-13. CAB International, Wallinford (GB).

CAPPELLO A., CANGELOSI A., SAMMARTANO A. 2000. *Razionalizzazione della tecnica colturale dell'olivo nella Valle del Belice.* Regione Siciliana, Assessorato Agricoltura e Foreste, seconda edizione: 11-83.

NIGRO F., IPPOLITO A., GALLONE P., CARMIGNANI P., ROMANAZZI G., LACCONE G. 2002. *Cercospora leaf spot of olive in Abulia and attemps to control the disease.* Acta Horticolturae, 586 (vol II): 773-776.

MODUGNO PETTINARI C. 1960. *Istopatologia causata dal parassitismo di Cercospora cladosporioides Sacc.su olivo.* Bollettino della Stazione di Patologia Vegetale, Roma, 18: 65-77.

Considerazioni sulle caratteristiche chimiche, fisiche ed ambientali di alcuni agrofarmaci impiegati in olivicoltura

Russo G.* **e Basile T.**
Dipartimento di scienze della Produzione Vegetale, Università di Bari

Considerations on chemical, physical and environmental characteristics of some pesticides employed in olive cultivation

Abstract. The European review of authorizations for pesticides has been determined a notable reduction of pesticides admitted for olive cultivation. Some products already employed in olive cultivation are no longer present on Italian market and others are waiting for a further evaluation. In this note chemical, physical and environmental aspects of pesticides which have determined the decisions of European Unit are under consideration. Moreover, the potential risk factors of these pesticides, the collection of data regarding pesticides residues in water of various Italian regions and the problems linked to olive vegetation water are considered.

Key words: pesticides, residues, olives, olive oil.

Introduzione

Gli agrofarmaci impiegati in agricoltura hanno subìto nel tempo una notevole variazione che è stata determinata principalmente da due fattori: accresciuta specificità d'azione e riduzione dell'impatto ambientale. A seguito della revisione imposta dalla direttiva 91/414/CE, è stata decisa l'eliminazione dal commercio per alcune sostanze attive, mentre per altre è stata richiesta una ulteriore valutazione. I prodotti attualmente in commercio devono possedere una bassa tossicità ed un ridotto impatto ambientale. Tutto questo ha determinato una riduzione delle sostanze attive specie in olivicoltura, settore di per sé già caratterizzato da un numero molto ridotto di agrofarmaci rispetto ad altri.

Data l'importanza dell'interazione degli agrofarmaci con l'ambiente, è necessario acquisire una conoscenza del loro destino ambientale. Per sottolineare gli aspetti positivi della direttiva europea sono state considerate alcune sostanze attive impiegate in olivicoltura prima della direttiva europea ed i principali fattori che condizionano la loro presenza nell'ambiente. I differenti processi a cui può andare incontro un agrofarmaco immesso nell'ambiente si possono così raggruppare: volatilizzazione e dispersione nell'atmosfera, assimilazione da parte delle piante ed interazione con il terreno. E' sembrato utile riportare in questa nota come la riduzione delle sostanze attive in olivicoltura abbia permesso, oltre ad una accresciuta salubrità alimentare, anche un notevole progresso nella conservazione dell'ambiente. I limiti residuali imposti dalla normativa europea hanno finalmente eliminato le notevole differenze per quanto concerne i valori residuali massimi nei vari paesi membri della comunità europea.

Descrizione sintetica degli aspetti chimici, fisici ed ambientali

Sono di seguito sinteticamente riportate le principali problematiche concernenti sia le molecole revocate che quelle presenti nell'allegato I della direttiva 91/414/CE.

Buprofezin (Direttiva 91/414/CE : non ammesso nell'allegato I)

2-tert-butylimino-3-isopropyl-5-phenylperhydro-1,3,5-thidiazin-4-one (IUPAC) $C_{16}H_{23}N_3OS$. Insetticida con struttura tiadiazinica, è un regolatore di crescita ad azione chitino-inibitore. La sostanza attiva è tossica per i pesci e molto tossica per gli organismi acquatici. La sostanza attiva risulta poco solubile in acqua, non volatile e moderatamente persistente nel terreno trasformandosi nel metabolita 2-amino-2metylpropyl2-isopropyl-4-phenylallophate. La commissione della Comunità europea non ha iscritto il buprofezin nell'allegato I della direttiva 91/414/CE ed ha stabilito la revoca delle autorizzazioni di prodotti fitosanitari contenenti detta sostanza poiché a causa della mancanza di dati non è stato possibile effettuare una valutazione affidabile del rischio.

Carbaril (Direttiva 91/414/CE : non ammesso nell'allegato I)

1-naftilmetilcarbammato (ISO), $C_{12}H_{11}NO_2$. Insetticida tossico per uccelli ed api, ed altamente tossico per gli organismi acquatici. Esso provoca alterazioni della fertilità del ratto e se somministrato nella

* girolamo.russo@agr.uniba.it

gravidanza ad animali da esperimento causa malformazioni. Il carbaril non è attualmente classificato come cancerogeno per l'uomo per insufficienza di prove. Esso può reagire con nitriti in ambiente acido, presente a livello dello stomaco, e dare origine all'N-nitrosocarbaril, sostanza dimostrata cancerogena nei topi. Durante l'uso la sostanza attiva viene rilasciata nell'ambiente, tuttavia si degrada nel terreno in pochi giorni e quindi è considerato non persistente. La sua solubilità in acqua è molto scarsa ma la reazione di fotolisi in acqua è moderatamente veloce. Si decompone rapidamente per idrolisi a contatto con alcali. I due principali metaboliti di degradazione nel terreno sono: 1-naftolo e metilamina. Si decompone per combustione producendo fumi tossici contenenti ossidi di azoto.

Deltametrina (Direttiva 91/414/CE : ammesso nell'allegato I)

(S)-α-ciano-3-fenossibenzil(1R,3R)-3-(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilciclopropano carbossilato (IUPAC), $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$. La deltametrina è classificata come moderatamente tossica dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS). E' nociva per gli organismi acquatici. Insetticida della categoria dei piretroidi, essendo fotostabile possiede quindi una discreta persistenza ed il suo impatto ambientale risulta notevole. La sostanza attiva risulta scarsamente selettiva, si deve quindi applicare in ambito limitato e circoscritto per conseguire un basso impatto nei confronti dell'antropodofauna utile, verso la quale è particolarmente nociva. La sostanza attiva risulta non persistente per la velocità della reazione di degradazione nel terreno, che determina due principali metaboliti: l'acido decametrinico e l'acido 3-fenossibenzoico. I limiti massimi di residui sono 1 mg/kg sia per le olive da tavola sia per le olive da olio, in attuazione delle disposizioni comunitarie valide sino al 1 novembre 2008 ed in attesa di ulteriore registrazione. Il tempo di sicurezza è 3 giorni.

Dimetoato (Direttiva 91/414/CE : ammesso nell'allegato I)

0,0-dimetil S-metilcarbamoilmetilfosforoditioato (IUPAC), $C_5H_{12}NO_3PS_2$. Impiegato per la sua efficacia verso insetti nocivi risulta idrosolubile e per questo la sua presenza nell'olio è poco probabile, inoltre per la sua rapida degradazione è considerato poco persistente. Il suo utilizzo lascia in sospeso alcuni problemi: residui che possono essere presenti in tracce nei prodotti agricoli e dissipazione nell'ambiente. In Italia è consentita la presenza di suoi residui fino a 2 mg/kg per le olive, mentre per l'olio di oliva un valore inferiore: 0,2 mg/kg. L'impiego della sostanza attiva è attualmente consentito con modifiche delle condizioni di impiego, tuttavia permane l'obbligo di rispettare il limite massimo di residuo ammesso. Il tempo di sicurezza è 28 giorni.

Fenitrotion (Direttiva 91/414/CE : non ammesso nell'allegato I)

Tiofosfato di 0,0–dimetile e 0,4-nitro-m-tolile (ISO), $C_9H_{12}NO_5PS$. Insetticida moderatamente tossico con ampio spettro d'azione che lo rende moderatamente dannoso per l'artropodofauna utile. Ha un forte impatto soprattutto negli ambienti acquatici per la sua alta tossicità verso gli organismi acquatici, e inoltre può provocare a lungo termine effetti negativi per l'ambiente. La Commissione europea non ha inserito il fenitrotion come sostanza attiva nell'allegato I della direttiva 91/414/CE.

Fosmet (Direttiva 91/414/CE : ammesso nell'allegato I)

Ditiofosfato di 0,0-dimetile e flalimmidometile (ISO), $C_{11}H_{12}NO_4PS_2$. E' un insetticida che esercita la sua azione tossica per contatto e per ingestione. Altamente tossico per gli organismi acquatici, esplica anche un'azione dannosa sull'entomofauna utile, in particolare nei confronti delle api verso le quali mostra una tossicità elevata. La sostanza attiva è ritenuta di tossicità moderata al pari di molti fosforganici di nuova generazione. Il fosmet si decompone per forte riscaldamento o per combustione producendo composti binari pericolosi dell'ossigeno con l'azoto, con il fosforo o con lo zolfo. La sua degradazione nel terreno è valutata non persistente ed il suo metabolita principale è il 3- metil-4-nitrofenolo. Sono ammessi i seguenti limiti massimi di residui: 10 mg/kg nelle olive da tavole e 2 mg/kg nell'olio di olive. Il tempo di sicurezza è 30 giorni.

Malation (Direttiva 91/414/CE : non ammesso nell'allegato I)

Ditiofosfato di 1,2-bis(etossicarbonil)etile e 0,0-dimetile (ISO), $C_{10}H_{19}O_6PS_2$. Insetticida ad ampio spettro con effetti simili a quelli degli altri organofosfati, ma con tossicità inferiore. Casi di intossicazione si sono verificati tra i lavoratori, ma non effetti cronici. Aumenta la mortalità dei neonati dei ratti, non ha capacità teratogene ma risulta mutageno in vitro. Moderatamente tossico per gli uccelli, può invece essere molto tossico per le api e per gli organismi acquatici (invertebrati acquatici e anfibi nella fase di sviluppo) e può provocare a lungo termine effetti negativi per l'ambiente. Non esistono sufficienti studi per dimostrarne il potenziale cancerogeno. Solubile in acqua, può dare problemi di contaminazione di falde.

Ha una bassa persistenza nel suolo con emivita da 1 a 25 giorni. La degradazione nel terreno è rapida con formazione di due principali metaboliti: acido malation monocarbossilico e acido malation dicarbossilico; se la decomposizione avviene per riscaldamento si forma principalmente isomalation.

Gli agrofarmaci nell'ambiente

Le concentrazioni di un agrofarmaco e dei suoi metaboliti presenti nell'ambiente, dipendono innanzi tutto dalle caratteristiche intrinseche dell'agrofarmaco considerato, ma anche dalle condizioni pedoclimatiche in cui esso viene applicato. L'impiego di agrofarmaci richiede, oltre alla osservanza dei limiti di tolleranza negli alimenti e dei tempi di sicurezza tra trattamento e raccolto, anche la conoscenza delle interazioni chimico-fisiche con gli ecosistemi terrestri al fine di tutelare la salute dell'uomo e la conservazione dell'ambiente. I possibili rischi di contaminazione ambientale di un agrofarmaco sono valutabili sulla base dei parametri disponibili in letteratura, utili per calcolare la solubilità, la volatilità e il bioccumulo.. E' inoltre di fondamentale importanza la conoscenza dell'interazione con la componente biotica presente nel terreno agrario costituita da vari microrganismi, dei quali quelli dannosi costituiscono una percentuale inferiore rispetto a quelli utili. L'utilizzo di agrofarmaci, in particolare di quelli xenobiotici, può comportare il rischio di inibire la microflora del suolo e le relative attività benefiche nei confronti delle piante. Infatti la perdita può interessare i funghi coinvolti nella micorizzazione, i batteri azotofissatori, i funghi che degradano il legno, i vari gruppi di batteri PGPR ed i batteri coinvolti nei cicli biogeochimici fondamentali (Sorlini *et al.,* 2003). La mancata conoscenza dell'attività di questi composti nei confronti della microflora del terreno comporta un inesorabile aumento di fertilizzanti e agrofarmaci impiegati con un incremento non solo dei costi di produzione ma anche di quelli ambientali. Questi dati insieme a quelli sulla tossicità, riportati nella sintetica descrizione delle singole sostanze, hanno determinato la non ammissione di certi agrofarmaci nell'allegato I della direttiva europea 91/414 CE. Bisogna comunque ricordare che, nonostante la dimostrata azione cancerogena su animali di laboratorio, molti pesticidi sono ancora in commercio perché non è stato dimostrato un effetto teratogeno nell'uomo alle concentrazioni di esposizione dei residui di pesticidi attraverso gli alimenti. Tuttavia, l'uso di migliaia di tonnellate di prodotti cancerogeni nell'agricoltura non può non destare una serie di preoccupazioni (Dolara, 1997).

Presenza degli agrofarmaci considerati nelle acque di falda

La percolazione nel suolo di un agrofarmaco dipende dal tipo di terreno e risulta maggiore in un terreno sabbioso (El Beit *et al.*, 1977a). L'evaporazione, la degradazione e l'adsorbimento irreversibile dipendono dalla quantità di tossico, tipo di terreno e microrganismi presenti nel terreno (El Beit *et al.,* 1977b), ma un fattore determinante risulta il contenuto in sostanza organica (Kawamori *et al.,* 1971). La persistenza di un agrofarmaco è inoltre diversa nel terreno e in acqua. Ad esempio il dimetoato è un pesticida non persistente nel terreno (emivita cioè degradazione del 50% in 2,6 giorni), ma in acqua di fiume la sua persistenza è risultata consistente: il 50% del prodotto disciolto è stato ritrovato anche dopo 8 settimane (Eichelberger e Lichtenberg, 1971). La presenza in acqua dipende dalla temperatura e dal pH. Il movimento diretto attraverso il suolo degli agrofarmaci considerati, tenendo presente la loro velocità di degradazione, è quindi poco probabile. Tuttavia il flusso dell'acqua, in particolari condizioni, potrebbe trasportare particelle di terra contenenti il tossico nelle acque di falda lungo crepe, fenditure o altre cavità scavate dall'uomo o dagli animali. Questa eventualità, dimostrata possibile dall'esistenza di una correlazione tra il contenuto di agrofarmaci e la torbidità dell'acqua (Shingara *et al.,* 1978), è dovuta all'assorbimento del tossico da parte delle particelle di terreno e della sostanza organica presenti in sospensione nell'acqua. Il dimetoato ed il malation sono risultati presenti, infatti, nelle acque superficiali monitorate nella regione Campania nell'anno 2006 e 2007, con una variabilità dovuta al differente dilavamento. Nell'anno 2007 la minore contaminazione presente potrebbe essere dovuta allo scarso trasporto per dilavamento in conseguenza della anomala siccità. I campioni di acqua di fiume contenenti il dimetoato sono stati più numerosi di quelli contenenti il malation (Manca *et al.,* 2007). Questi autori nello scegliere le sostanze attive da monitorare tra le numerose impiegate nella regione campana hanno utilizzato la formula seguente per stabilire l'indice di priorità: IP = [Pv + (Pu x Pa)] x Pd; dove: Pv= il punteggio vendita; Pu= punteggio per l'utilizzo; Pa= punteggio di distribuzione ambientale; Pd= punteggio di degradazione. In base alla formula per i cinque agrofarmaci considerati nella presente nota ed utilizzati in olivicoltura, sono stati ricavati i seguenti valori: Dimetoato 4,75; Buprofezin 4,56; Malation 3,68; Fenitrotion 3,35; Deltametrina 2,24. Premesso che questi prodotti non sono impiegati solo in olivicoltura è evidente che tro-

vano frequente impiego nella agricoltura campana. La presenza di alcuni di questi agrofarmaci è stata accertata anche in altre regioni italiane quali la Basilicata, dove sono stati trovati sia il fenitrotion che il dimetoato, ed anche in regioni dell'Italia settentrionale quale l'Emilia-Romagna, dove sono state trovate queste due le stesse sostanze attive. La revoca di alcuni di questi formulati rende quindi certamente più sicure le acque delle regioni italiane contribuendo in tal modo alla conservazione ambientale.

Residui nell'olio di olive

Residui delle tre sostante attive permesse in olivicoltura (deltametrina, dimetoato e fosmet) sono ammessi nei frutti e nell'olio di olive. L'insetticida deltametrina, in una indagine su 12 regioni italiane, è stato trovato, anche se in percentuale molto contenuta, in olio di olive (Vettori, 2007). I limiti massimi consentiti non devono però superare il valore di 1 mg/Kg sia nelle olive da tavola sia nell'olio di olive. Il fosmet è consentito con livelli massimi di residui (LMR) di 2 mg/kg nell'olio di olive e di 10 mg/kg nelle olive da tavola. I valori di LMR per il dimetoato e per il suo principale metabolita l'omeotoato, ammessi in Italia dal Ministero della Salute, sono 2 mg/kg per le olive mentre per l'olio di oliva solo 0,2 mg/kg. I valori di residui di dimetoato presenti nell'olio dipendono da diversi fattori: contenuto in acqua dei frutti di olive, quantità di acqua utilizzata per l'estrazione dell'olio, varietà delle olive utilizzate, ecc. (Elpiniki *et al.*, 2008). L'ometoato non è risultato presente in olio addizionato con l'agrofarmaco perché l'ossidazione del tossico non avviene in queste condizioni.

Residui nei sottoprodotti dei frantoi oleari

Una valutazione completa del destino ambientale degli agrofarmaci in olivicoltura deve comprendere anche la distribuzione nei sottoprodotti dell'attività di estrazione dell'olio, nelle acque di lavaggio delle olive, nelle acque di vegetazione e nelle sanse. Sono disponibili diversi procedimenti per il trattamento dei reflui in grado di ridurre la eventuale presenza degli agrofarmaci considerati, ma tali processi risultano scarsamente impiegati. Le acque di vegetazione per oltre il 90% dei casi sono smaltite per spargimento al suolo e la vasca di raccolta per lo stoccaggio delle acque è scaricata circa 6-7 volte durante la campagna molitoria. Tutti gli agrofarmaci considerati sono non persistenti, tranne il buprofenin, ma nelle matrici complesse dei sottoprodotti dei frantoi oleari la loro velocità di degradazione potrebbe risultare accelerata. Tuttavia, non esistono dati disponibili al riguardo e servono quindi ulteriori indagini per verificare se l'utilizzo agronomico di queste acque reflue possa, in qualche caso, determinare la presenza di questi agrofarmaci in falda, specialmente durante la stagione autunnale caratterizzata da abbondanti precipitazioni. E' lecito comunque ipotizzare che gli agrofarmaci disciolti in acqua possano arrivare in falda in presenza di terreni sabbiosi con poca sostanza organica e falda superficiale. Rischi reali sono possibili nel caso di quantità eccessive e fuori legge, in quanto bisogna tener presente che i reflui oleari si possono considerare come fertirriganti e fertilizzanti a lento effetto alle dosi e modalità permessi. E' necessario quantificare le concentrazioni degli agrofarmaci nelle acque di vegetazione, determinare la persistenza nei terreni ed eventuali percolazioni in falda. Questo specialmente in regioni dove risultano notevoli le quantità di sottoprodotti oleari, quale la regione Puglia con circa 2 milioni di tonnellate di acque di vegetazione e con 1.151 frantoi sparsi sul territorio (ISMEA, 2003).

Conclusioni

Nel futuro saranno minori le concentrazioni di contaminanti nei prodotti agricoli, ma il ritrovamento di tracce di dieldrin nel 2006 in zucchine dimostra che per un certo periodo di tempo è possibile la loro presenza specialmente in parti di piante con una buona capacità assorbente, come è noto per la famiglia delle Cucurbitacee. L'insetticida dieldrin, non più utilizzato in agricoltura ormai da molti anni, figura nella lista dei cosiddetti POP (inquinanti organici persistenti) banditi da diverse nazioni firmatarie della convenzione di Stoccolma (2001). Le tracce minime di questo contaminante sono probabilmente da ascrivere ad un leggero inquinamento del terreno agricolo e non da un illecito utilizzo di questo agrofarmaco. Analogamente, nel prossimo futuro si potrebbero ancora riscontrare tracce delle sostanze attive non ammesse nell'allegato I, ma con frequenza molto contenuta e valori di residui certamente inferiori, a causa della non persistenza di queste sostanze attive.

Riassunto

La Commissione europea per le autorizzazioni dei prodotti fitosanitari ha determinato una notevole riduzione degli agrofarmaci consentiti nella coltivazione olivicola. Alcuni prodotti precedentemente utilizzati in olivicoltura non sono più presenti sul mercato italiano ed altri sono in attesa di ulteriori valutazioni. In questa nota vengono considerati gli aspetti chimici,

fisici ed ambientali di agrofarmaci che hanno determinato le decisioni prese in sede europea e successivamente recepite da parte dell'Italia. Vengono inoltre valutati i valori di rischio potenziale di questi agrofarmaci, la raccolta dei dati dei loro residui presenti nelle acque di varie regioni italiane e le problematiche che riguardano le acque di vegetazione ed il loro ruolo nella tutela delle acque sotterranee.

Parole chiave: agrofarmaci, residui, olive, olio di olive.

Bibliografia

DOLARA P., 1997. *Effetti tossici generali dei pesticidi 120-124.* Ed. (in): Tossicologia: generale e ambientale - Piccin.

EL BEIT I.O.D., WHEELOK J.V., COTTON D.E., 1977a. *Factors affecting the fate of dimethoate in soils.* Int. J. Envoron. Stud., 11 (2), 113-124.

EL BEIT I.O.D., WHEELOK J.V., COTTON D.E., 1977b. *Factors affecting the accumulation of dimethoate in soil*. Int. J. Environ. Stud., 11 (3), 187-196.

ELPINIKI G, ALBANIS T.A., 2008. *Multiclass pesticide determination in olives and their processing factors in olive oil: comparison of different olive oil extraction*. J. Agric. Food Chem., 2008, 56 (14), 5700-5709.

EICHELBERGER J. W., LICHTENBERG J. J., 1971. *Persistence of pesticides in river water*. Environ. Sci., Technol.,*5, 541-544.*

KAWAMORI J., SAITO T., IYATOMI K., 1971. *The fate of organophosphorus insecticides in soils. Part.1. The retention of 32P-labelled disulfaton and dimethoate in three soils*. Botyu-Kagatu, 36 (1), 7-12.

MANCA M. C., MIRELLA D., ARCORACI A., PIERINI G., PREZIOSI B., VETROMILE A., 2007. *Pesticidi nelle acque superficiali primi risultati del monitoraggio svolto in regione Campania.* Atti VII Convegno Nazionale Fitofarmaci ed Ambiente ,Torino 2007.

SHINGARA S., SANDHU M., WARREN W.J., NELSON P., 1978. *Pesticidal residues in rural water*. Journal Awwa, 1: 41- 45.

SORLINI C., VALLE A., ABBRUSCATO P., DAFFONCHINO D., 2003. *Il contributo dei microrganismi alla fertilità dei suoli*. Atti del Convegno. Patogeni, fitofagi e piante infestanti delle colture agrarie: le prospettive senza il bromuro di metile. Capri 15-17 ottobre 2000:16-30.

VETTORI G., 2007. *Residui di fitofarmaci nell'olio di oliva: principali risultati emersi dal progetto interregionale MIPAF*. Convegno: Mosca delle olive – Aggiornamento e nuovi approcci per il miglioramento dei sistemi di difesa. Firenze 17 maggio 2007- Archivio ARSIA.

Il punto sui prodotti chimici (Azadiractina e Rotenone) in olivicoltura biologica in seguito alla direttiva 91/414/CE

Russo G.* **e Basile T.**
Dipartimento di scienze della Produzione Vegetale, Università di Bari

State of the art of two chemical products (Azadirachtin and Rotenone) after the UE directive 91/414/CE

Abstract. The UE directive 91/414/CE has determined the elimination of more than 300 active substances already registered in the European Community. The aim of this directive is to safeguard human health and the environment. Anyway the UE directive provided for temporary dispensations for some active principles: their usage is allowed for an elongated period for peculiar cases in which their use is essential. The UE directive for pesticide authorization has determined, also in biological agriculture, a revision of active substances allowed. In this note two active substances (azadirachtin and rotenone) employed in biological olive cultivation are under investigation. Environmental problems linked to the presence of these two active principles in soil, in vegetal tissues and also in oil, olives and vegetation water are reported. Whereas the use of azadirachtin is still allowed, the formulates containing rotenone could be used in Italy only until October 2011 and stock disposal is not foreseen.

Key words: azadirachtin, rotenone, residues, olives.

Introduzione

L'utilizzo di agrofarmaci non di sintesi, ricavati da materiale presente in natura, che possono esercitare azione tossica o dare origine a sostanze tossiche per gli organismi dannosi alle coltivazioni agricole, costituisce un'alternativa agli agrofarmaci di sintesi per produzioni agricole nel rispetto dell'ambiente (Benner, 1993). Non sempre però tale scelta comporta effetti meno pericolosi per l'ambiente e la salute dell'uomo. In genere si è portati a considerare le sostanze di origine naturale meno pericolose di quelle che l'uomo sintetizza in laboratorio, ma questo a volte non è vero. Per coniugare un soddisfacente livello di efficacia, un ridotto impatto ambientale ed una maggiore sicurezza per gli operatori e per il consumatore, anche nella coltivazione biologica si è assistito alla scomparsa di sostanze "naturali".

La complessa stima di rischio ambientale e sanitario per le molecole di origine naturale od officinale basata inizialmente sulla valutazione di bassa tossicità acuta e cronica nei confronti dei mammiferi ha portato, con successive verifiche, a valutazioni molto diverse sui rischi ambientali.

Vengono qui riportati due esempi di prodotti "naturali" che hanno subito differenti destini in seguito alla direttiva 91/414/CE: l'azadiractina e il rotenone. (tab. 1)

E' sembrato utile riportare ed evidenziare le problematiche che hanno portato all'eliminazione di una delle molecole (rotenone) e all'ammissione dell'altra (azadiractina) come conseguenza delle indicazioni stabilite in sede europea. Di seguito vengono riportati i dati più significativi per rendere più chiara la decisione dell'inclusione per l'azadiractina e dell'esclusione per il rotenone.

Azadiractina

L'azadiractina indica, comunemente detto albero del Neem, è una pianta appartenente alla famiglia delle Meliacee, originaria del Nord-Est dell'India. Attualmente è diffusa anche nelle zone tropicali e subtropicali dell'Africa, dell'America e dell'Australia. Nell'olio di Neem sono presenti principi attivi appartenenti alla classe dei limonoidi.

Il prodotto tecnico a base di azadiractina è ricco di molecole naturali di differente tipo. In particolare il maggiore potere insetticida è stato attribuito a due molecole triterpenoidi, l'azadiractina A e l'azadiractina B, che sono strutturalmente simili. La principale differenza è rappresentata dalla presenza di un gruppo idrolizzabile sul primo anello cicloesanico nell'azadiractina A, che è invece assente nell'azadiractina B. La maggiore stabilità dell'azadiractina B rispetto all'azadiractina A è probabilmente legata a tale differenza strutturale. Il formulato a base di azadiractina presenta un elevato potere insetticida unito ad una elevata azione selettiva nei confronti di molti insetti utili, unitamente ad una bassa tossicità e ad una bassa persistenza ambientale (Capella *et al.,* 2000). Il prodotto commerciale però manifesta una certa instabilità, soprattutto in particolari condizioni quali luce, temperatura

[1] girolamo.russo@agr.uniba.it

Tab. 1 - Caratteristiche chimiche e fisiche dei due agro farmaci "naturali".

Agrofarmaci "naturali"	Solubilità (mg/l)	Coeff. Ripart. (LogP)	Degradazione (giorni)	Pres. Vapore (mPa)	Costante Kh (adimensionale)
Azadizactina	260 moderata	1,09 basso	26 non persistente	$3,60\ 10^{-6}$ stato intermedio	$1,6910^{3}$ volatile
Rotenone	15,0 bassa	4,16 elevato	3 non persistente	1,0 volatile	$1,0810^{-5}$ moderatamente volatile

elevata, un pH eccessivamente acido o basico ed un contenuto elevato di acqua.

La degradazione avviene per idrolisi e per ossidazione, ma i fenomeni idrolitici hanno un maggior peso rispetto ai quelli ossidativi. L'azadiractina A risulta presente in maggiore quantità ed è dotata di marcata azione insetticida. Il formulato concentrato emulsionabile a base di azadirictina è registrato in Italia su 42 colture (agrumi, olivo,vite ortaggi ecc.) con un intervallo di sicurezza di 3 -7 giorni. La tossicità degli estratti di Azadiractina appare trascurabile nei confronti dei vertebrati omeotermi. Nonostante l'ampio spettro d'azione, l'attività tossica che si esplica prevalentemente per ingestione, salvaguarda la maggior parte dell'entomofauna utile. La persistenza nel suolo è molto limitata (3-6 giorni). Le proprietà dell'albero del Neem sono note da moltissimo tempo nella regione di origine, l'India, infatti la popolazioni di quella regione usa da diverso tempo varie parti della pianta a scopo alimentare, medicinale o cosmetico. Le proprietà del Neem sono state valutate determinando la composizione chimica delle molecole attive e la loro estrazione industriale a partire dagli anni '50 sulla base di osservazioni in campo dal ricercatore tedesco Schmutter, il quale notò come la pianta di Neem rimaneva indenne all'attacco di locuste. Risultati molto favorevoli sono stati forniti dall'EPA (Environmetal Protection Agency – USA) per quanto riguarda i test tossicologici su formulati contente Azadiractina (Guarnone *et al.,* 2003). L'azione insetticida risulta piuttosto ampia e possiede anche attività nematocida (Ntalli *et al*., 2003) e fungicida (Capella *et al.*, 2000). Anche per questa sostanza naturale, oltre ai limiti di tolleranza negli alimenti e ai tempi di sicurezza tra trattamenti e raccolto, è necessaria una conoscenza della persistenza nei vari componenti dell'ambiente al fine di tutelare la salute dell'uomo e la conservazione degli ecosistemi terrestri.

A tale scopo potrebbe essere utilizzato un rapido metodo analitico che permette di quantificare residui di azadiractina A in frutti e campioni di vegetali, il quale ha permesso di determinare residui sino a 0,4 Ìg/kg in pesche e 0,8 Ìg/kg in frutti di pomodoro (Sarais *et al.,* 2008).

Rotenone

Prodotto di origine naturale estratto dalle radici di alcune leguminose, è un isoflavonoide presente principalmente nelle piante appartenenti al genere Derris, Lonchocarpus e Tephrosia, originarie rispettivamente dell'Asia, del sud America e dell'Africa. Il contenuto della sostanza attiva nelle varie parti della pianta risulta variabile con valori compresi tra il 2% e il 40% e l'efficacia dipende dal grado di purezza dell'estratto. La formulazione commerciale del biocida presenta composizione variabile anche per quanto riguarda gli altri componenti presenti (deidrorotenone, betarotenolone ecc.) che differisce a seconda della provenienza degli estratti. Questa diversa composizione è la causa della differente efficacia dei formulati in commercio. Questo biofarmaco fotodegradabile ha una solubilità limitata, risulta non sistemico e poco selettivo, con tempo di carenza 10 giorni, è inoltre tossico per i pesci e gli insetti utili ed è utilizzato in olivicoltura biologica. La ridotta velocità di degradazione in acqua può risultare pericolosa per gli organismi acquatici ed il suo impiego prolungato pare possa nuocere ai lombrichi del terreno.

L'uso del rotenone da parte dell'uomo risale ai tempi remoti, fu scoperto dai primi esploratori all'inizio 1900 nelle giungle peruviane dove veniva utilizzato per la cattura dei pesci a scopi alimentari. E' ancora ampiamente utilizzato come insetticida in diversi campi negli Stati Uniti D'America (USA). Impiegato come piscicida per il controllo o eradicazione di pesci non indigeni indesiderati ed altamente invasivi (Islam, 2006) nei laghi, fiumi e torrenti dell'USA ed è usato con successo a partire dal 1960 negli Stati Uniti d'America per allevamenti di trote (Mc Clay, 2000). Il rotenone in eccesso presente nell'acqua trattata può essere distrutto per ossidazione utilizzando un forte ossidante quale il permanganato di potassio. La reazione dà origine a prodotti di degradazione non tossici alle concentrazioni di utilizzo permesse : sono necessarie 40 ppm di rotenone per uccidere la maggior parte delle specie di pesci indesiderati, mentre le concentrazioni del permanganato necessarie per la degradazione dei residui del tossico, sono comprese tra 1 e 5 ppm.

La fotolisi del rotenone, la degradazione nel terreno, la mobilità e la cinetica di assorbimento hanno permesso di acquisire dati necessari per la definizione del comportamento di questa molecola naturale nell'ambiente. La degradazione e la persistenza in terreni a differenti temperature (Cavoski *et al.*, 2008) e la fotolisi in condizione ambientale (Cavoski *et al.*, 2007) hanno portato a risultati che permettono di conoscere meglio il destino ambientale del rotenone. La fotodegradazione risulta inibita dal terreno, aumentando così il tempo di emivita che varia da qualche giorno ad una settimana. Il prodotto si degrada principalmente in due metaboliti ancora biologicamente attivi con una emivita di un mese. Il principale metabolita della reazione ossidativa è il rotelone che, come gli altri metaboliti, è meno tossico del prodotto naturale originario. L'adsorbimento dipende dal contenuto di sostanza organica presente nel terreno: ad una bassa percentuale di sostanza organica corrisponde un valore basso di adsorbimento. Il rotenone risulta mobile nel terreno e quindi può lisciviare specialmente in presenza di basso contenuto di carbonio organico. La sostanza attiva ed i suoi prodotti di degradazione presentano un certo potenziale di trasferimento in falda e questo potrebbe essere fonte di inquinamento di acque profonde, anche se questi aspetti di impatto ambientale restano ancora non ben definiti.

Nelle acque naturali l'idrolisi, l'ossidazione e la fotodecomposizione risultano condizionate dalla temperatura, pH, durezza delle acque oltre che dalla luce solare. Alla temperatura di 24 °C il valore di emivita del rotenone è di 0,5 giorni, ma alla temperatura di 0 °C il periodo di dimezzamento è di 3,5 giorni (Gilderhus *et al*., 1986). Il rotenone risulta presente, sino ai limiti di rivelabilità, non oltre 3 mesi durante il periodo estivo quando la velocità di degradazione è più elevata (Dawson *et al.*, 1991).

Il rotenone si degrada con una diversa velocità nei vari tessuti vegetali e, nonostante nelle drupe di olive la reazione degradativa risulti meno veloce, è stato ammesso il suo utilizzo nell'olivicoltura biologica. Nelle olive ha un periodo di emivita di 4 giorni e la sua scomparsa è determinata da una fotodegradazione (Cabras *et al.*, 2002). In Italia il limite massimo di residui dell'agrofarmaco è di 0,04 mg/kg nei frutti di olive e non ne è consentita la presenza in nessun olio di oliva. Studi di quantificazione di residui del rotenone e dei componenti minori presenti nelle formulazioni commerciali, hanno mostrato che alla raccolta dei frutti gli accumuli in olive trattate sono risultati per il rotenone 0,08 mg/kg, per il deguelin 0,10 mg/kg, per il tephrosin 0,06 mg/kg e per il betarotenolone 0,10 mg/kg (Cabizza *et al.*, 2004).

Risultati differenti sono stati trovati su altre cultivar di olive nelle condizioni pedoclimatiche dell'Italia meridionale. I valori di residui di rotenone nelle olive a 10 giorni dal trattamento, utilizzando altre metodiche analitiche (Cordaro *et al.*, 2004; Di Donna *et al.*, 2004), sono risultati superiori ai limiti di legge e solo dopo circa 20 giorni dalla somministrazione dell'agrofarmaco i valori residuali trovati rientrano nei valori limiti ammessi. Le concentrazioni del biopesticida, negli oli prodotti dal medesimo campione di drupe trattate, risultavano superiori al valore limite e solo dopo circa un mese sono risultate al di sotto del residuo permesso per le sole drupe. Tutto questo implica che per il rotenone serve un tempo di sicurezza maggiore di quello ammesso ed anche un valore limite di residui più elevato di quello permesso negli oli di oliva (Caravita *et al.*, 2003).

Il rotenone non ha superato la revisione europea 91/414/CE e non risulta iscritto nell'Allegato I (Decisione 2008/317/CEE). A partire dal 10 ottobre 2008 i prodotti fitosanitari contenente rotenone sono stati revocati ma sono consentiti la vendita ed l'utilizzo delle giacenze sino al 10 ottobre 2009. In deroga per specifici impieghi (usi essenziali) è autorizzata l'immissione in commercio di prodotti fitosanitari contenenti rotenone su melo, pero, pesco, ciliegio, vite e patata sino alla fine di aprile 2011. La vendita e l'utilizzo delle giacenze, presenti in commercio al 30/04/20011, è possibile sino al 30/04/2012 (Decreto Ministero della Salute 2008) .

Conclusione

La tutela dell'ambiente e della salute umana ha determinato una progressiva revisione anche per gli agrofarmaci di origine naturale impiegati in agricoltura e questo ha risvegliato un maggiore interesse nell'impiego di mezzi più rispettosi dell'ambiente e nella produzione di alimenti privi di residui. I prodotti "naturali" non sempre permettono di coniugare un soddisfacente livello di efficacia, un ridotto impatto ambientale e una maggiore sicurezza per gli operatori e per il consumatore.

Il rotenone, antico piscicida ad uso tribale si è poi evoluto come insetticida, considerato poco tossico per l'uomo per lo scarso assorbimento intestinale, infatti se ingerito causa vomito. Recenti studi circa i rischi per la salute umana hanno stabilito che, invece, è un forte induttore di aggregati di alfa-sinucleina, proteina che pare giocare un ruolo fondamentale della sindrome di Parkinson. Questo dimostra che la conoscenza sugli effetti di molecole, anche naturali, non deve essere considerata precisa e completa anche quando

queste molecole sembrino soddisfare i requisiti di bassa tossicità per l'uomo e di basso impatto ambientale. Il caso del rotenone ci porta a pensare che si possano sottovalutare aspetti fondamentali per una semplice mancanza di conoscenze. Bisogna tuttavia sottolineare che, a causa di differenti valutazioni effettuate, attualmente son state prese differenti decisione negli USA e nell'Unione europea circa l'utilizzo del rotenone.

I dati disponibili per l'azadiractina non sono altrettanto numerosi, è quindi necessario un continuo monitoraggio dei rischi e degli aspetti positivi di questa molecole nel prossimo futuro, che permetterà una più precisa e completa conoscenza sugli effetti di questa nuova molecola a basso impatto ambientale e bassa tossicità per l'uomo.

Riassunto

La direttiva europea 91/414/CE ha determinato l'eliminazione di oltre 300 sostanze attive registrate per la difesa fitosanitaria nella Comunità europea, allo scopo di ridurne l'uso a tutela della salute umana e dell'ambiente. Sono state altresì previste anche temporanee deroghe alla revoca di alcuni principi attivi ritenuti essenziali per specifiche situazioni. La direttiva europea per le autorizzazioni dei prodotti fitosanitari ha determinato anche una revisione delle sostanze attive consentite per l'agricoltura biologica. Nella presente nota vengono considerate due sostanze attive (azadiractina e rotenone) utilizzate nell'olivicoltura biologica. Vengono riportate le problematiche ambientali legate alla presenza di questi due principi attivi nel terreno, nei tessuti vegetali ed anche nell'olio, nelle olive e nelle acque di vegetazione, che sono i residui di lavorazione della spremitura delle olive da olio. Mentre l'uso dell'azadiractina è ancora consentito, i formulati contenenti rotenone possono essere utilizzati in Italia sino a ottobre 2011 e non è previsto smaltimento delle scorte.

Parole chiave: azadiractina, rotenone, residui, olive.

Bibliografia

BENNER J.P., 1993. *Pesticidal compounds from higher plants*. Pesticide Science 39:95-102.

CABIZZA M., ANGIOINI A., MELIS M., CABRAS M., TUBEROSO C.V., CABRAS P., 2004. *Rotenone and rotenoids in cubè resins, formulations, and residues on olives*. J. Agric. Food Chem., 52 (2): 288-293.

CABRAS P., CABONI P., CABRAS M., ANGIONI A., RUSSO M., 2002. *Rotenone residues on olives and in olive oil*. J. Agric. Food Chem. 50: 2576-2580.

CAPELLA A., GUARNONE A., VICCINELLI R., BASILICO M., 2000. *Oikos ®: insetticida naturale a base di azadiractina*. Inf. Fitopatologico, 9: 24-33.

CARAVITA M.A., DI DONNA L., FUSTO D., MAZZOTTI F., MUZZALUPO I., PARISE A., PERRI E., SINDONA G., 2003. *Determinazione innovativa del rotenone negli oli di oliva da agricoltura biologica mediante spettrometria di massa tandem*. Atti Convegno nazionale: Germoplasma olivicolo e tipicità dell'olio, Perugia dicembre 2003, 231-234.

CAVOSKI I., CABONI P., SARAIS G., CABRAS P., MIANO T., 2007. *Photodegradation of rotenone in soils under Environmentel conditions*. J. Agric. Food Chem., 55: 7069-7074.

CAVOSKI I., CABONI P., SARAIS G., MIANO T., 2008. *Degradation and Pesticence of rotenone in soils and influence of temperature variations*. J. Agric. Food Chem., 56: 8066-8073.

CORDARO M., DI DONNA L., GRASSI G., MAIUOLO F., MAZZOTTI L., PERRI E. SINDONA G., TAGARELLI A., 2004, *High resolution Electrospray and Electrospray Tandem mass spectra of Rotenone and its Isoxazoline Cycloadducts*. Eur. J. Mass Spectrom, 10: 691-697.

DAWSON V.K., GILDERHUS P.A., ALLEN J.L., 1991. *Rotenone Persistence in Freshwater Ponds: Effects of Temperature and Sediment Adsorption*. North Am. J. Fisheries Manag., 11: 226-230.

DI DONNA L., GRASSI G., MAZZOTTI F., PERRI E., SINDONA G., 2004. *High-throughput Assay of rotenone in olive oil using Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI) Tandem Mass Spectrometry*. J. MassSpectrometry, 39: 1437-1440.

GILDERHUS P.A., ALLEN J.L., DAWSON V.K., 1986. *Persistence of Rotenone in Ponds at Different Temperatures*. North Am. J. Fisheries Manag., 6: 129-131.

GUARNONE G., CAPELLA A., VICCINELLI R., BASILICO M., AMBROGIONI L., CAROPPO S., 2003. *Oikos, insetticida naturale a base di Azadiractina: valutazione in vitro nei confronti di uova,larve di II stadio libere e larve di II stadio incluse negli ovisacchi di* Meloidogyne incognita *(Kofoid et White) Chitwood*. Atti del Convegno: Patogeni fitofagi e piante infestanti delle colture agrarie: le prospettive senza il bromuro di metile. Capri 15-17 ottobre 2003: 125-127.

ISLAM M.B., 2006. *Botanical Insecticides, Deterrents, and Repellents in Modern Agriculture and an Increasingly Regulated World*. Annual Review of Entomology, 51, 45-66.

MC CLAY W., 2000. *Rotenone Use in North America*. In : Rotenone Use in Fisheries Management. Administrative and Technical Guidelines Manual. B. J. Finlayson et al., editors. American Fisheries Society: 15-27.

NTALLI N.G., MENKISSOUGH-SPIRONDI U., GIANNAKON I.O., PROPHETON-ATHANASIADON D.A., 2009. *Efficacy evaluation of a neem (*Azadirachta indica A. *Juss) formulation against root-knot nematodes* Meloidogyne incognita. Crop Protection, 28 (6): 489 – 494.

SARAIS G., CABONI P., SARRITZU E., RUSSO M., CABRAS P., 2008. *A simple and selective method for the measurement of azadirachtina and related azadirachtoid levels in fruits and vegetables using liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry*. J. Agric. Food Chem. 56 (9): 2939 – 2943.

Selezione sanitaria dell'olivo nelle Marche

Murolo S.[1], Nardi S.[2], Bruni R.[3], Savino V.[4] e Romanazzi G.[1*]
[1]*Dipartimento di Scienze Ambientali e delle Produzioni Vegetali, Università Politecnica delle Marche,*
[2]*Servizio Fitosanitario – ASSAM, Regione Marche, Ancona*
[3]*Istituto di Istruzione Superiore "C. Ulpiani", Ascoli Piceno*
[4]*Dipartimento di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata, Università di Bari*

Sanitary selection of olive trees in Marche, central-eastern Italy

Abstract. In the framework of the "OLVIVA" Project, in the Marche region, deeply involved in the evaluation of local productions, we investigated the sanitary status of four local cultivars used in the production of olive-oil: 'Mignolone', 'Carbò', 'Raggiola', and 'Piantone di Falerone'. Furthermore, in the behalf of a collaboration with the Istituto di Istruzione Superiore "C. Ulpiani" of Ascoli Piceno, this included a project on the sanitary selection of trees of the famous 'Ascolana tenera' olive cultivar, which is well known for the production of "olive ascolane" (Ascoli olives). Selected olive plants underwent visual inspections and laboratory testing to determine the presence of viral infections, as indicated in the Italian national legislation (D.M. 14 April, 1997, and D.M. 4 May, 2006). Molecular analyses revealed Strawberry latent ring spot virus (SLRSV) in all of the samples of 'Raggiola' analyzed. The 'Mignolone', 'Carbò', 'Piantone di Falerone' and 'Ascolana tenera' (which investigations were carried out in the Autumn period only) varieties showed no infections by the viruses tested. Our investigations verified the good sanitary status of 'Ascolana tenera'. Moreover, the good sanitary status revealed will provide the olive growers in a short period of time the availability of virus-free (VF) propagative material of 'Mignolone', 'Carbò' and 'Piantone di Falerone'.

Key words: 'Ascolana tenera', Olea europaea L., one step RT-PCR, 'Raggiola', SLRSV.

Introduzione

Nella regione Marche l'olivicoltura rappresenta circa l'1,5% della produzione lorda vendibile. La superficie olivicola complessiva è di poco superiore ai 10.000 ettari, distribuita prevalentemente nelle zone collinari sia della fascia litoranea sia di quella interna. Pur essendo un comparto di piccole dimensioni, l'olivicoltura marchigiana è fortemente radicata al territorio, alla storia, alla cultura e al paesaggio, tanto da affiancare a cultivar di interesse nazionale ed internazionale (Frantoio, Leccino), un forte interesse per le varietà locali (Alfei *et al*., 2004). Sempre maggiore attenzione è stata rivolta alla valorizzazione del germoplasma autoctono, allo scopo di ottenere un prodotto finito tipico di una determinata zona geografica ed in grado di attrarre il consumatore con delle caratteristiche organolettiche ben definite che differenzino l'olio ottenuto da altri prodotti disponibili su scala industriale normalmente commercializzati.

Per queste varietà locali è in atto un processo di caratterizzazione del patrimonio olivicolo autoctono (Baldoni *et al*., 2001) e di valorizzazione mediante il riconoscimento di denominazione di origine protetta (DOP), la produzione di oli monovarietali e l'attuazione di programmi di miglioramento sanitario. Prerequisito per l'utilizzo e la diffusione di questo prezioso germoplasma è una accurata valutazione dello stato sanitario. La valorizzazione di una produzione locale, si basa, infatti, sulla disponibilità di materiale di propagazione vivaistico qualificato.

L'olivo, essendo ospite di numerose entità virali, può svolgere il ruolo di serbatoio e veicolo, anche su lunghe distanze, di virus generalmente latenti, ma che dispongono in natura di vettori molto efficienti (Martelli, 2000). Per tale ragione i materiali di propagazione di olivo devono necessariamente soddisfare i requisiti minimi per la commercializzazione, previsti dalla Conformità Agricola Comunitaria (*Conformitas Agraria Communitatis* – CAC, D.M. del 14 aprile 1997), oppure possono presentare garanzie ulteriori fornite dalla Certificazione fitosanitaria (D.M. del 4 maggio 2006).

Per tale ragione, nell'ambito del Progetto "OLVIVA", nella regione Marche è stata svolta la selezione sanitaria per quattro varietà locali da olio (Mignolone, Raggiola, Carbò e Piantone di Falerone). Inoltre, nell'ambito di una collaborazione con l'Istituto di Istruzione Superiore "C. Ulpiani" di Ascoli Piceno, è stato avviato un progetto di valutazione dello stato sanitario, con particolare riferimento alla diagnosi di virus, della varietà da mensa "Ascolana tenera", famosa per la produzione delle "olive ascolane".

[1] g.romanazzi@univpm.it

Materiali e metodi

Le piante sono state sottoposte a rilievi visivi, effettuati in autunno e primavera, per la raccolta dei dati riguardanti l'aspetto vegetativo, la vigoria, la produzione e l'assenza di sintomi ascrivibili ad infezioni virali, fungine e batteriche. Dalle piante individuate in campo è stato raccolto un campione costituito da 20-30 talee ben lignificate, prelevate lungo tutta la proiezione della chioma. Dalle talee, previa defogliazione, sono stati ottenuti circa 5 g di tessuto sottocorticale, successivamente polverizzato in azoto liquido. Un'aliquota di tessuto polverizzato, corrispondente a 100 mg, è stata utilizzata per l'estrazione degli acidi nucleici totali (TNA), effettuata mediante il kit commerciale RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germania) e sottoposta a lettura spettrofotometrica (A260/A280) per valutare l'integrità e la qualità dell'estratto.

Due µl di TNA sono stati aggiunti ad una miscela di reazione contenente 10 mM Tris-HCl, pH 9,0; 50 mM KCl; 0,1% Triton X-100 (p/v); 1,5 mM $MgCl_2$; 125 µM dNTP; 0,2 µM per ciascun primer specifico (senso e antisenso); 2,5 U di Avian myeloblastosis virus (AMV)-RT (Promega, Madison, WI, USA); 20 U di RNase Out (Invitrogen Corporation, Paisley, Scotland, UK); 1,5 U di *Taq* DNA polymerase (Promega). In un unico tubo di reazione è avvenuta la sintesi del cDNA e la successiva amplificazione genica. La reazione è stata incubata in un termociclatore (iCycler Thermal Cycler, Bio-Rad, Hercules, CA, USA) programmato per lo svolgimento di 35 cicli di amplificazione costituiti dalle seguenti fasi: un ciclo iniziale a 46 °C per 30 min per permettere la sintesi del cDNA da parte della trascrittasi inversa; un ciclo di denaturazione a 95 °C per 3 min; 35 cicli che prevedono: denaturazione a 94 °C per 30 s, appaiamento dei primers a 55 °C per 30 s e sintesi a 72 °C per 30 s.

La one step RT-PCR è stata applicata per la diagnosi di *Arabis mosaic virus* (ArMV), *Cherry leaf roll virus* (CLRV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Strawberry latent ringspot virus* (SLRSV), *Olive latent virus 1* (OLV-1), *Olive latent virus 2* (OLV-2), *Olive leaf yellowing associated virus* (OLYaV), utilizzando protocolli ed iniziatori di reazione specifici riportati in letteratura (Faggioli *et al.*, 2002; Loconsole *et al.*, 2007) messi appunto mediante un ring test a cui hanno partecipato le diverse unità operative coinvolte nella diagnosi virale del progetto interregionale OLVIVA.

I prodotti dell'amplificazione sono stati analizzati tramite elettroforesi su gel di agarosio all'1,5% applicando una differenza di potenziale di 90 V per 20 min. Al termine della corsa elettroforetica, il gel è stato colorato in una soluzione di bromuro di etidio e verificato su transluminatore a luce UV. L'ampiezza del frammento amplificato è stata stimata facendo migrare, insieme ai prodotti PCR, un marker con frammenti di DNA a dimensione nota (Ladder 100 bp, Invitrogen) e un campione positivo rispettivamente per ciascuno dei virus analizzati. L'assenza di contaminazioni è stata verificata utilizzando acqua sterile come testimone.

Risultati e discussione

La maggior parte delle piante osservate non presentava alterazioni di forma e/o di colore ascrivibili a virosi. Solo sulle piante di 'Raggiola' sono stati verificati frutti bitorzoluti e piriformi e foglie con lamina distorta e ridotta, sintomi ascrivibili ad infezioni del virus della maculatura anulare latente della fragola (SLRSV) (fig. 1). La tecnica diagnostica adoperata (RT-PCR) ha permesso di rilevare la presenza di SLRSV in tutti campioni di 'Raggiola' analizzati (fig. 1C). Tale virus, per la prima volta riscontrato in Italia su piante di 'Ascolana tenera' (Marte *et al.*, 1986), è stato rinvenuto successivamente su piante di 'Corniolo', 'San Felice', 'Raggiola' e 'Frantoio' nella

Fig. 1 - Alterazioni rilevate su foglie (A) e frutti (B) di 'Raggiola' ascrivibili ad infezioni di SLRSV, successivamente diagnosticato mediante saggi molecolari (RT-PCR) (C).

Fig. 1 - Leaf (A) and fruit (B) malformations recorder on "Raggiola" infected by SLRSV and tested positive to the virus after molecular diagnosis (C).

regione Marche (Faggioli *et al*., 2002). Le fonti delle varietà 'Mignolone', 'Carbò','Piantone di Falerone' e 'Ascolana tenera' (quest'ultima sottoposta alle analisi nel solo periodo autunnale) sono invece risultate libere dai virus dell'olivo per i quali è stato effettuato il saggio. La tecnica diagnostica adoperata (RT-PCR) ha permesso di rilevare la presenza dei virus sopracitati soltanto nei campioni di controllo. I risultati positivi ottenuti con i campioni di controllo, suggeriscono, inoltre, che le reazioni enzimatiche non sono state inibite dalla presenza di sostanze oleose, presenti naturalmente nei tessuti di olivo e considerate il maggior ostacolo per la diagnosi dei virus in questa specie legnosa (Bertolini *et al.*, 2001).

Le indagini mettono in evidenza un discreto stato sanitario della varietà 'Ascolana tenera', sebbene sia necessario un ulteriore saggio delle fonti in primavera per confermare i dati ottenuti in autunno. La ricerca condotta nell'ambito del progetto OLVIVA renderà disponibile a breve per gli olivicoltori di materiale certificato virus esente (VE, o *virus free*, VF) e caratterizzato molecolarmente per le varietà 'Mignolone', 'Carbò' e 'Piantone di Falerone' (Baldoni *et al*., 2009; Romanazzi *et al*., 2009; Savino, 2009).

Riassunto

Nell'ambito del Progetto "OLVIVA", nella regione Marche, fortemente impegnata per la valorizzazione di varietà autoctone, è stata svolta la selezione sanitaria per quattro varietà locali da olio ('Mignolone', 'Carbò', 'Raggiola' e 'Piantone di Falerone'). Inoltre, nell'ambito di una collaborazione con l'Istituto di Istruzione Superiore "C. Ulpiani" di Ascoli Piceno, è stato avviato un progetto di valutazione dello stato sanitario, con particolare riferimento alla diagnosi di virus, della varietà da mensa 'Ascolana tenera', conosciuta per la produzione delle "olive ascolane". Le piante sono state sottoposte a rilievi visivi e saggi di laboratorio per verificare la presenza di virus contemplati dalla normativa fitosanitaria (D.M. del 14 aprile 1997 e D.M. del 4 maggio 2006). Le analisi molecolari hanno evidenziato la presenza di infezioni del virus della maculatura anulare latente della fragola (*Strawberry latent ring spot virus*, SLRSV) in tutti campioni di 'Raggiola' analizzati. Le fonti delle varietà 'Mignolone', 'Carbò', 'Piantone di Falerone' e 'Ascolana tenera' (quest'ultima sottoposta alle analisi nel solo periodo autunnale) sono invece risultate libere dai virus dell'olivo per i quali è stato effettuato il saggio. Le indagini mettono in evidenza un discreto stato sanitario della varietà 'Ascolana tenera'. Inoltre, la selezione sanitaria svolta consentirà la messa a disposizione a breve per gli olivicoltori materiale certificato di categoria virus esente (VE, o "virus free", VF) delle varietà 'Mignolone',' Carbò' e 'Piantone di Falerone'.

Parole chiave: 'Ascolana tenera', *Olea europaea* L., one step RT-PCR, 'Raggiola', SLRSV.

Ricerca svolta nell'ambito del progetto interregionale OLVIVA "Qualificazione del vivaismo olivicolo" - finanziato nell'ambito del Programma Interregionale - "Sviluppo rurale" sottoprogramma "Innovazione e ricerca" D.M. n. 25279 del 23/12/03. Le indagini svolte su 'Ascolana tenera' sono state svolte grazie al supporto della CARISAP.

Bibliografia

ALFEI B., CAVEZZA G., PANNELLI G., 2004. *Genotipi autoctoni nelle aree olivicole marginali delle Marche centrali*. Atti Convegno Europeo "Il futuro dei sistemi olivicoli in aree marginali: aspetti socio-economici, gestione delle risorse naturali e produzioni di qualità" - Matera, 12-13 ottobre.

BALDONI L., ALFEI B., SANTINELLI A., ANGIOLILLO A., PANNELLI G., 2001. *Esame dei principali casi di sinonimia e omonimia in varietà di olivo marchigiane mediante analisi AFLP*. VI Convegno Nazionale sulla Biodiversità, Bari, 6-7 Settembre.

BALDONI L., MARIOTTI R., CULTRERA N., 2009. *Analisi molecolare delle varietà di olivo delle Marche*. Atti Convegno "Innovazione nel vivaismo olivicolo: attività svolta nell'ambito del Progetto OLVIVA", Ancona, 26 novembre, 8.

BERTOLINI E., OLMOS A., MARTINEZ M.C., GORRIS M.T., CAMBRA M., 2001. *Single-step multiplex RT-PCR for simultaneous and colourimetric detection of six RNA viruses in olive trees.* J. Virological Methods 96: 33-41.

FAGGIOLI F., FERRETTI L., PASQUINI G., BARBA M., 2002. *Detection of strawberry latent ring spot virus in leaves of olive trees in Italy using a one-step RT-PCR.* J. Phytopath. 150: 1-4.

LOCONSOLE G., SAPONARI M., FAGGIOLI F., ALBANESE G., BOUYAHIA H., ELBEAINO T., NUZZACI M., PROTA V., ROMANAZZI G., SAVINO V., 2007. *Standardization of a common protocol for olive virus detection.* J. Plant Path. 89(3): 44.

MARTE M., GADANI E., SAVINO V., RUGINI E., 1986. *Strawberry latent ringspot virus associated with a new disease of olive in Central Italy*. Plant Disease 70: 171–172.

MARTELLI G.P., 2000. *Infectious diseases and certification of olive: an overview*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 29: 127-134.

ROMANAZZI G., MUROLO S., LANDI L., SANTINI M., SAVINO V., 2009. *Selezione sanitaria dell'olivo nelle Marche e uso di micorrize per favorire la crescita delle piante in vivaio*. Atti Convegno "Innovazione nel vivaismo olivicolo: attività svolta nell'ambito del Progetto OLVIVA", Ancona, 26 novembre, 6-7.

SAVINO V., 2009. *Presentazione del progetto OLVIVA: primi risultati*. Atti Convegno "Innovazione nel vivaismo olivicolo: attività svolta nell'ambito del Progetto OLVIVA", Ancona, 26 novembre, 4-5.

l'ulivo
e l'olio

784 pagine
1375 illustrazioni
ART Servizi Editoriali S.p.A.
per informazioni sull'acquisto:
tel. 051-61.63.860
www.colturaecultura.it

Coordinamento scientifico
Paolo Inglese
Giovanni Lercker
Michele Pisante

Sezione e autori

botanica
E. Barone, M. Fornaciari da Passano, B. Romano

storia e arte
L. Caricato, C.A. Santi, M. Seccia, S. Vannucci

alimentazione
G. Bolognesi, M. Bonaccio, C. Cannella, G. de Gaetano, M.B. Donati, A.M. Giusti

paesaggio
B. Alfei, R. Barichello, E. Bellini, R. Biasi, G. Campisi, C. Cantile, D. Cartabellotta, N. D'Errico, S. Dettori, C. Di Vaio, A. Fabbri, M.R. Filigheddu, A. Germinario, A. Guario, R. Gucci, G. Gullo, P. Inglese, E.M. Lodolini, A. Merra, A. Montinaro, L. Natarelli, S. Nin, G. Pannelli, E. Perri, S. Pini, M. Pisante, P. Proietti, S. Ramazzotti, A. Rotondi, A. Rotundo, E. Rugini, L. Sebastiani, A. Sonsini

coltivazione
E. Barone, G. Caruso, T. Caruso, R. d'Andria, G. De Paoli, G. Delrio, F. Famiani, A. Guario, R. Gucci, N. Iannotta, A. Lavini, E.M. Lodolini, F.P. Marra, P. Montemurro, D. Neri, M. Pisante, P. Proietti, S. Ramazzotti, G. Rotundo, M. Saponari, V. Savino, F. Stagnari, A. Tombesi, M. Vieri, P. Viggiani

ricerca
A. Bendini, T. Caruso, L. Cerretani, M. Chiarini, F. Famiani, P. Inglese, G. Lercker, L. Mannina, E. Perri, A. Rotundo, L. Sebastiani, T. Zelinotti

utilizzazione
A.M. Cane, L. Caricato, T. Caruso, A. Corsetti, G. D'Agostinis, R. Dei, S. Esposto, B. Lanza, G.F. Montedoro, N. Moretti, S. Rapagnà, A. Rotundo, M. Servili, G. Suzzi, R. Tofalo

mondo e mercato
G. Antonelli, R. Filo della Torre, E. Lupi

COLTURA & CULTURA
www.colturaecultura.it

Bayer CropScience

porta l'agricoltura vera nella scuola

Offerta esclusiva per insegnanti e studenti*

*sconto 30% acquistando da 1 a 7 volumi – sconto 45% acquistando almeno 8 volumi
maggiori dettagli contattando l'Editore: tel. 051-61.63.860, www.colturaecultura.it

La collana "Coltura&Cultura", progetto editoriale avviato da Bayer CropScience, è una raccolta di volumi sulle colture strategiche italiane. Scritta finora da 500 esperti del mondo accademico e della ricerca, della produzione e della comunicazione, integra le migliori conoscenze scientifiche sulle produzioni agroalimentari "made in Italy" con gli aspetti emozionali maggiormente apprezzabili dai consumatori, legati al territorio, alla cultura, alla cucina e alla salute. I volumi rappresentano un ottimo strumento didattico per formare chi domani guiderà la ricerca e la produzione agroalimentare italiana verso una comunicazione efficace dell'"agricoltura vera".

Volumi già pubblicati:

il grano
il pero
la vite e il vino
il mais
il pesco
il melo
il riso
l'ulivo e l'olio
il carciofo e il cardo
l'uva da tavola
il pomodoro

COLTURA & CULTURA
www.colturaecultura.it

BAYER Bayer CropScience

Indicazioni per la preparazione dei manoscritti per la pubblicazione di Atti di Convegno su *Acta Italus Hortus*

Invio dei Manoscritti
I testi dei lavori da pubblicare su *Acta Italus Hortus*, unitamente al sommario del volume, alla presentazione firmata dal Curatore e alle pagine introduttive, dovranno essere inviati alla Segreteria Redazione via e-mail (soifi@unifi.it) o salvati su CD spedito a SOI, Viale delle Idee 30, 50019 Sesto Fiorentino (FI).

Formati accettati: I testi devono necessariamente essere in formato Word (estensione DOC). Le tabelle possono essere salvate come files di Word (estensione DOC) o Excel (estensione XLS). I grafici dovranno essere in formato Excel (estensione XLS) o in formato JPG. Le foto e le figure in genere devono essere in formato JPG o TIF con risoluzione minima 300 dpi. Si raccomanda di salvare in files separati il testo e le tabelle (1 file) i grafici e le figure (1 file per grafico e/o figura). La pubblicazione avverrà in bianco e nero, salvo esplicita richiesta del Comitato Organizzatore, che ne sosterrà i costi aggiuntivi.

Revisione delle bozze tipografiche
Le bozze tipografiche saranno inviate al Curatore per la correzione e dovranno essere restituite entro due settimane, anche qualora non si rilevino correzioni da fare. Il mancato ritorno delle bozze corrette nei termini stabiliti comporta l'accettazione delle medesime.
Le correzioni dovranno essere pienamente comprensibili. Qualora sia necessario reinviare tabelle, grafici e/o figure in genere, dovrà essere chiaramente specificata la pagina nella quale inserire gli elementi corretti.

Copyright
Il copyright dei lavori pubblicati è proprietà della Società di Ortoflorofrutticoltura Italiana. L'autorizzazione alla stampa in qualsiasi forma dei lavori o parti dei lavori deve essere richiesta alla Segreteria Generale della SOI.

Preparazione del manoscritto
La prima pagina deve comprendere nell'ordine: Titolo in Italiano, nome e cognome (per esteso) dell'Autore(i), denominazione per esteso e indirizzo dell'Istituzione(i) di appartenenza di dell'Autore(i), indirizzo(i), e-mail dell'autore corrispondente, identificato da un asterisco (*), riassunto in Italiano, parole chiave (non presenti nel titolo, max 5), titolo in Inglese, abstract in Inglese, key-words (max 5).

Riassunto e abstract: il riassunto Italiano è limitato a 100 parole; l'abstract in Inglese è compreso tra 100-200 parole. In entrambi i casi devono essere riportati scopi e risultati della ricerca senza abbreviazioni, equazioni e citazioni bibliografiche. L'abstract in Inglese deve contenere con chiarezza tutte le informazioni e consentire la massima comprensibilità del lavoro a coloro che leggono.

Parole chiave e key words: la lista di parole chiave, in Italiano e Inglese, non usate nel titolo, include nomi comuni e scientifici, nomi delle specie, nome comune degli elementi chimici, termini fisiologici e patologici.

Testo: il testo dovrà essere organizzato nel seguente modo:
- nel caso di contributi sperimentali dovrà contenere: Introduzione (che deve terminare con indicazione degli scopi del lavoro), Materiale e metodi, Risultati, Discussione, Conclusioni, Bibliografia dei soli testi citati all'interno del lavoro. Risultati e discussione possono anche essere accorpati in un unico paragrafo.
- nel caso di relazioni ad invito con le caratteristiche di "Review" il testo sarà articolato in paragrafi a discrezione dell'autore; lo scopo della "Review" dovrà essere chiaramente indicato nell'Introduzione ed il testo dovrà includere un paragrafo "Conclusioni" che potranno assumere anche la forma di "Prospettive future" o "Ricadute pratiche".

Elenchi devono essere puntati, secondo l'esempio sotto riportato.
Il punto deve essere tondo e pieno;
Il testo deve rientrare;
L'eventuale sotto punto è tondo, ma vuoto;
Non sono ammessi ulteriori livelli.

Note a piè di pagina non sono ammesse e saranno cancellate.

Unità di misura: le unità di misura e il relativo simbolo devono essere quelle del Sistema Internazionale (SI). Il simbolo, senza punto, deve seguire il valore numerico.

Nomi delle Piante: i nomi scientifici di piante e animali devono essere indicati in corsivo. I nomi delle cultivar devono essere scritti con la prima lettera maiuscola, contenuti tra virgolette singole e preceduti dall'abbreviazione "cv" senza punto (es. *Chrysanthemum morifolium* Ramat cv 'Snow Don').

Corsivo: il corsivo nel testo dove essere usato solo per espressioni latine, nomi scientifici, parole ed espressioni straniere, comunque limitate a quelle per cui non esista corrispettivo italiano.

***Tabelle*:** le tabelle devono essere riportate a fine testo, in pagine separate e comunque non inserite all'interno del testo. E' possibile inviare le tabelle in files separati, salvate in formato Excel (estensione XLS). In ogni caso deve essere possibile intervenire all'interno delle tabelle per modificare bordi, dimensioni e caratteri di stampa. La didascalia delle tabelle deve essere in Italiano e Inglese (questo in corsivo). Non riportare gli stessi dati in tabelle e grafici. Le tabelle devono essere intellegibili senza ricorrere al testo e numerate con numero arabo progressivo (es. tab. 1). Le unità di misura devono essere chiaramente indicate. Ogni colonna deve riportare un'appropriata intestazione.

Grafici I grafici dovranno essere in formato Excel (estensione XLS) o in formato JPG con risoluzione minima 300 dpi. La didascalia dei grafici deve essere in Italiano e Inglese (questo in corsivo). In nessun caso i grafici possono essere inseriti all'interno del testo. All'interno del testo il grafico è indicato come figura e numerato con numero arabo progressivo (es. fig. 1).

Immagini: foto, diapositive, disegni ed immagini in genere devono essere forniti in formato JPG o TIF con risoluzione minima di 300 dpi. Ogni altro formato non sarà accettato. La pubblicazione a colori dovrà essere concordata con il Curatore degli Atti. Le figure devono essere intellegibili senza ricorrere alla lettura del testo e numerate con numero arabo progressivo (es. fig. 2). Tutte le figure devono avere un riferimento nel testo.

Didascalie: le didascalie di tabelle, grafici e figure in generale deve essere riportata in Italiano e Inglese (questo in corsivo). La didascalia delle tabelle è scritta sopra le medesime, la didascalia dei grafici e delle figure in genere sotto.

Bibliografia: le citazioni bibliografiche all'interno del testo devono avvenire mediante il riferimento al cognome dell'Autore o degli Autori (se due) e all'anno di pubblicazione. Nel caso di più Autori, al nome primo seguirà l'abbreviazione *et al*. Nel caso di più lavori nello stesso anno dello stesso Autore, all'anno si faranno seguire lettere minuscole progressive (es. 2003a, 2003b). La bibliografia dei lavori citati deve essere indicata in ordine alfabetico secondo lo schema riportato in calce, con i caratteri speciali e la punteggiatura indicati. I nomi delle riviste dovranno essere abbreviati.

CASO N. 1 PUBBLICAZIONE SU RIVISTA

AUTORE/I (la virgola separa gli Autori uno dall'altro), anno di pubblicazione. *Titolo del lavoro*. Rivista, volume (numero della rivista): numero pagine. Es. ROSSI G., BIANCHI M., 1990. *Le rose dei Romani sono belle*. Italus Hortus, 1 (1): 22-26.

CASO N. 2 CAPITOLO DI UN LIBRO

AUTORE/I, anno di pubblicazione. *Titolo del lavoro*. In: Curatore libro, Titolo del volume, Casa editrice (città): numero pagine. Es. ROSSI G., BIANCHI M., 1990. *Le rose dei Romani*. In: M. Bianchi ed., Le rose nel mondo antico, Società di Ortoflorofrutticoltura Italiana (Firenze): 22-26.

CASO N. 3 MONOGRAFIA

AUTORE/I, anno di pubblicazione. *Titolo del lavoro*. Casa editrice (città), numero pagine. Es. ROSSI G., BIANCHI M., 1990. *Le rose dei Romani*. Società di Ortoflorofrutticoltura Italiana (Firenze), pp. 200.

Acta Italus Hortus

Pubblicazione della Società di Ortoflorofrutticoltura Italiana (SOI)
Numero 1

Atti del “I Convegno Nazionale dell’Olivo e dell’Olio”

Sommario

I Sessione: Modelli colturali e loro gestione - Comunicazioni orali	Pag.	13
I Sessione: Modelli colturali e loro gestione - Poster	“	51
II Sessione: Germoplasma, Miglioramento genetico e Biotecnologie - Comunicazioni orali	“	85
II Sessione: Germoplasma, Miglioramento genetico e Biotecnologie - Poster	“	113
III Sessione: Biologia, fisiologia e relazioni con l’ambiente - Comunicazioni orali	“	159
III Sessione: Biologia, fisiologia e relazioni con l’ambiente - Poster	“	178
IV Sessione: Analisi di mercato e valorizzazione - Comunicazioni orali	“	213
IV Sessione: Analisi di mercato e valorizzazione - Poster	“	238
V Sessione: Tecnologie, qualità e tipicità dell’olio - Comunicazioni orali	“	249
V Sessione: Tecnologie, qualità e tipicità dell’olio - Poster	“	278
VI Sessione: Vivaismo e Difesa - Comunicazioni orali	“	345
VI Sessione: Vivaismo e Difesa - Poster	“	370

Indice completo a pag. 3
For full contents see pag. 3

Acta Italus Hortus
Numero 1
SOI