



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO

Dottorato in Scienze Agrarie e Forestali
Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali
Settore Scientifico Disciplinare AGR/03

VALUTAZIONE DI ACCESSIONI DI OLIVO SICILIANE AI FINI DELL'INDIVIDUAZIONE DI GENOTIPI ADATTI AD IMPIANTI SUPERINTENSIVI E ALLA PRODUZIONE DI OLI FUNZIONALI

LA DOTTORESSA
SILVIA FRETTO

IL COORDINATORE
CHIAR.MO PROF. STEFANO COLAZZA

IL TUTOR
CHIAR.MO PROF. FRANCESCO PAOLO MARRA

CICLO XXVI

ANNO CONSEGUIMENTO TITOLO 2016



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO

Dottorato in Scienze Agrarie e Forestali
Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali
Settore Scientifico Disciplinare AGR/03

**VALUTAZIONE DI ACCESSIONI DI OLIVO SICILIANE AI FINI
DELL'INDIVIDUAZIONE DI GENOTIPI ADATTI AD IMPIANTI
SUPERINTENSIVI E ALLA PRODUZIONE DI OLI FUNZIONALI**

LA DOTTORESSA

SILVIA FRETTO

IL COORDINATORE

CHIAM.MO PROF. STEFANO COLAZZA

IL TUTOR

CHIAM.MO PROF. FRANCESCO PAOLO MARRA

CICLO XXVI

ANNO CONSEGUIMENTO TITOLO 2016

Pensa, credi, sogna e osa

Walt Disney

INDICE

1. CENNI BOTANICI E CLASSIFICAZIONE	1
2. L'OLIVICOLTURA IN ITALIA	3
2.1 Struttura produttiva.....	3
2.2 Contesto economico	6
3. EVOLUZIONE DEI MODELLI D'IMPIANTO	9
3.1 Il modello superintensivo	12
4. BIODIVERSITÀ.....	16
4.1 Importanza e conservazione	16
4.2 La biodiversità dell'olivo in Italia	19
4.3 La biodiversità in Sicilia.....	22
5. CARATTERIZZAZIONE VARIETALE	27
5.1 Marcatori morfologici	28
5.2 Marcatori biochimici	30
5.3 Marcatori molecolari	31
6. COMPOSIZIONE CHIMICA DELL'OLIO EXTRAVERGINE DI OLIVA.....	35
6.1 I claim salutistici dell'European Food Safety Authority (EFSA).....	40
7. SCOPO DELLE RICERCHE	43
8. ESPERIMENTO 1 - SELEZIONE DI GENOTIPI ADATTI AI NUOVI IMPIANTI IN PARETE AD ALTA DENSITÀ.....	46
8.1 Introduzione.....	46
8.2 Materiali e metodi.....	46
8.3 Risultati.....	49
8.4 Conclusioni.....	63
9. ESPERIMENTO 2 – CARATTERIZZAZIONE GENETICA E QUALITATIVA DEGLI OLI DI NUOVE ACCESSIONI DI OLIVO DEL GERMOPLASMA AUTOCTONO SICILIANO.....	67

9.1 Premessa	67
9.2 Materiali e Metodi	68
Analisi molecolari	69
Amplificazione dei loci SSR mediante PCR	70
Analisi degli oli	71
9.3 Risultati.....	72
Indagine molecolare	72
Analisi oli	73
Composizione chimica	74
9.4 Conclusioni.....	83
10. ESPERIMENTO 3 - STUDIO PRELIMINARE DEL POTENZIALE DI CRESCITA VEGETATIVA E DI ARCHITETTURA DELLA CHIOMA IN CULTIVAR E NUOVE ACCESSIONI DI OLIVO SICILIANE	85
10.1 Premessa	85
10.2 Materiali e metodi.....	85
10.3 Risultati.....	87
10.4 Conclusioni.....	89
11. CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE.....	91
12. BIBLIOGRAFIA.....	93
13. Ringraziamenti	105

1. CENNI BOTANICI E CLASSIFICAZIONE

L'*Olea europaea* L. è la sola specie a frutti commestibili della famiglia delle Oleaceae, sottofamiglia delle Oleideae (Doveri e Baldoni, 2007). Tale famiglia comprende 30 generi, a portamento arboreo o arbustivo, distribuiti nelle regioni temperate e subtropicali, e include anche specie di interesse agronomico o ornamentale quali: *Fraxinus* (frassino), *Ligustrum* (ligustro), *Jasminum* (gelsomino), *Syringa* (lillà) e *Phillyrea* (fillirea).

Al genere *Olea* vengono attribuite circa 35 specie, con uguale numero cromosomico ($2n = 2x = 46$), classificate anche come sottospecie e distribuite in diverse zone che vanno dall'Africa all'Oceania (Rugini e Fedeli, 1990). Sono suddivise in tre gruppi geografici in relazione ai macro areali di diffusione: afro-mediterraneo, indo-cino-malese e natalense malgascio (Ciferri, 1942).

Tra le varie specie, l'*O. cuspidata* e l'*O. oblonga* destano interesse come potenziali portinnesti o come fonte di particolari caratteri genetici in programmi di miglioramento (Scaramuzzi e Roselli, 1986).

Considerando una nuova revisione (Green, 2002), il genere *Olea* è suddiviso in tre sottogeneri: *Paninculatae*, *Tetrapilus* e *Olea*. Il genere *Olea* comprende a sua volta 2 sezioni: Ligustroides e *Olea* (Green, 2002; Rubio de Casas et al., 2006). In quest'ultima sezione è collocata la specie *Olea europaea*, come complesso di forme potenzialmente interfertili, compatibili all'innesto e caratterizzate dalla presenza, nei tessuti, di glucosidi flavonoidi.

Il complesso *Olea europaea* L. comprende 6 sotto-specie (Green, 2002; Baali-Cherif e Besnard, 2005; Rubio de Casas et al., 2006; Besnard et al., 2007), alcune delle quali presentano casi di poliploidia (Besnard et al., 2007), divise, in base alla morfologia e alla distribuzione geografica, in:

subsp. *cuspidata* distribuita nel sud-ovest dell'Asia e della Cina e nel sud-est dell'Africa;

subsp. *laperrinei* presente nell'area del Sahara;

subsp. *maroccana* presente nel Marocco;

subsp. *cerasiformis* presente nelle isole di Madera;

subsp. *quanchica* presente nelle isole delle Canarie;

subsp. *europaea*, distribuita nel Bacino del Mediterraneo, dove si presenta con medio sviluppo (4-8 mt di altezza), potendo raggiungere in certi casi (in relazione alla cultivar, all'ambiente e alle condizioni colturali) anche grandi dimensioni. Basti ricordare gli imponenti olivi della Piana di Gioia Tauro, in Calabria (Lombardo et al., 1986; Barone et al., 1995) e l'olivo secolare più grande d'Europa che vive nel comune di Canneto, una frazione di

Fara Sabina, nel Lazio, il cui tronco presenta un diametro di circa 7 m (Gullo, 2000). La sua longevità è testimoniata dal reperimento sul territorio nazionale di esemplari multisecolari vecchi di circa 2000 anni (Doveri e Baldoni, 2007)

La subsp. *europaea* è ripartita in due varietà botaniche: l'*europaea*, che corrisponde all'antica denominazione *Olea sativa* (Weston) e alla quale appartengono le cultivar di olivo, e la *silvestris* (Mill.), corrispondente alla vecchia presunta specie *Olea oleaster* (Hoffman e Link), l'olivo spontaneo o oleastro (Fiorino, 2009). Studi recenti (Besnard et al., 2002) evidenziano che il complesso *Olea europaea* appartiene ad un unico ceppo, sebbene con differenze che consentono di separare, all'interno della specie, alcune sottospecie che nel tempo si sono evolute indipendentemente.

Questi taxa possono essere considerati "entità geografiche" che, come detto sopra, presentano differenze molecolari anche notevoli: secondo Besnard et al., (2007), alcuni sono diploidi ma le loro caratteristiche talvolta sono così simili da rendere quasi sovrapponibili le descrizioni, giustificando le imprecisioni del passato.

Ad esempio, nella sottospecie *Olea europaea* cuspidata molte delle entità indicate come specie separate o come progenitori dell'olivo coltivato, le asiatiche *Olea crysophylla* e *Olea ferruginea* (Simmonds, 1976) vengono oggi accomunate nella stessa sottospecie con *O. monticola* e *O. somaliensis* del Corno d'Africa.

In base a quest'ultima classificazione l'areale del complesso *Olea europaea* occupa tre continenti: partendo dal Sud Africa attraversa l'Africa centrale e il Corno d'Africa e dall'Egitto e dal Mar Rosso si divide per entrare nel Mediterraneo ad Ovest, fino alle isole della Macaronesia, mentre ad Est passa dalla Palestina, Siria, Mesopotamia, dalle fasce orientali ed occidentali della catena dell'Himalaya fino alla Cina (Fiorino, 2009).

2. L'OLIVICOLTURA IN ITALIA

2.1 Struttura produttiva

L'olivo, specie tipica dei paesi mediterranei, è presente nel territorio italiano in 18 regioni con 250 milioni di piante su una superficie coltivata di 1.100.000 ettari (Ismea 2013).

Circa l'80% del patrimonio olivicolo nazionale è presente nelle regioni meridionali; il restante 20% trova diffusione nelle aree centro settentrionali.

La massima parte della superficie olivata appartiene ad aziende coltivatrici dirette (circa il 60%), cosiddette imprese accessorie, spesso a conduzione familiare, che producono principalmente per l'autoconsumo, riservando al mercato la parte eccedente.

La differenziazione ambientale, le diverse cultivar impiegate, le esigenze di una razionalizzazione delle pratiche colturali, siano esse legate alla struttura aziendale, alle condizioni edafiche e climatiche o alla struttura economica e sociale, hanno modellato le piantagioni olivicole creando un insieme di sistemi colturali fortemente diversificati tra loro. In questa variabilità, tuttavia, è possibile oggi individuare 2 differenti tipologie di olivicoltura, "marginale" e "tradizionale", con caratteristiche ambientali ed agronomiche contraddistinte.

L'olivicoltura marginale, presente per lo più in zone di alta collina e montane, con evidenti vincoli strutturali e orografici, è caratterizzata da una ridotta superficie aziendale (inferiore ad un ettaro), da modelli di impianto irregolari e densità d'impianto che in genere non superano le 80 piante/ha. La presenza di alberi secolari derivanti dall'innesto dell'oleastro, "pioniere silenzioso nella conquista di nuovi spazi coltivabili" (Bevilacqua, 1996), testimonia l'importanza e il ruolo svolto dalla specie nel passato quale fonte indispensabile di grassi nell'alimentazione di una popolazione contadina stanziale. Da un punto di vista economico la bassa produttività degli impianti e l'elevato impiego di manodopera (1,5-2 ore/pianta solo per la raccolta) rendono non più sostenibile tale tipologia olivicola. A causa dell'impervia orografia dei luoghi, infatti, risulta difficile prevedere una evoluzione tecnica in grado di assicurare un prodotto ad un costo competitivo sul mercato. Ad oggi l'unica innovazione in questo tipo di olivicoltura ha riguardato l'introduzione di agevolatori a batteria per la raccolta dei frutti (Vieri, 2005), ma l'incidenza sulla sostenibilità economica è ancora lontana. Il forte rischio di abbandono a cui è soggetta l'olivicoltura marginale si scontra con alcune importanti funzioni, non direttamente monetizzabili, a cui essa assolve quali quelle di presidio idrogeologico, di diversificazione ambientale e paesaggistica, di conservazione della biodiversità intra specie ma anche di forte identità estetica ed etica (Barbera, 2003).

La tutela dell'olivicoltura marginale è affidata ai soli agricoltori o piccoli proprietari che ne ricavano l'olio per il consumo familiare o come integrazione del reddito, o ancora per curare l'aspetto estetico o affettivo della propria azienda, non sostenuti da contributi contemplati dalle politiche agricole nazionali o europee (Polidori et al., 2013).

L'olivicoltura tradizionale, modello olivicolo ampiamente diffuso su tutto il territorio italiano, soprattutto nelle aree collinari interne favorite da diversi fattori come la fertilità e la giacitura del terreno, è oggi distinguibile in due sottomodelli: “tradizionale a bassa densità” e “tradizionale intensiva”.

L'olivicoltura tradizionale a bassa densità (< 200 piante per ettaro) è in genere costituita da oliveti di antica costituzione (oltre i 50 anni) che hanno spesso avuto origine dalla trasformazione dei vecchi impianti un tempo consociati con la vite o con specie erbacee. Tale tipologia olivicola rappresenta la gran parte del patrimonio olivicolo produttivo italiano nonostante gli elevati costi richiesti soprattutto per l'esecuzione delle operazioni di potatura e di raccolta.

Alcuni dei più importanti oliveti “tradizionali a bassa densità” dell'olivicoltura italiana sono presenti in aree pianeggianti come quelle del Salento, delle piane calabresi di Lamezia Terme e Gioia Tauro e della Valle del Belice (Lombardo et al., 1986; Barone et al., 1995).

Gli impianti, generalmente in asciutto, e le forme di allevamento diffuse sono abbastanza omogenei, mentre molto diversificata è la presenza varietale che implica sestri di impianto diversi in relazione al vigore della varietà. Vigore che in certi casi determina le caratteristiche paesaggistiche di un territorio, come accade ad esempio nell'olivicoltura calabrese con le cultivar ‘Ottobratica’ e ‘Sinopolese’ dal portamento e dal vigore molto accentuati al contrario di alcune cultivar siciliane, come la ‘Biancolilla’ e la ‘Nocellara del Belice’, che danno vita ad oliveti con architettura della chioma più contenuta (Barbera et al., 2005).

La forma di allevamento adottata viene suggerita dal genotipo e dalle tecniche colturali, a loro volta dipendenti dalle condizioni ambientali. In genere si tratta di forme libere in volume che assecondano l'habitus naturale della cultivar, monocoli (“vaso” e “vaso policonico”) o policauli (vecchio “vaso cespugliato”) (Barbera et al., 2005). L'altezza raggiunta dalle piante può variare dai 15-20 m ai 50-100 cm, come nel caso tipico e caratteristico degli olivi dell'isola di Pantelleria, con le branche poggiate al suolo (Baratta e Barbera, 1981). Ciò è legato a caratteri ambientali che, quando limitanti (freddo, estrema siccità, forte ventosità) determinano dimensioni più ridotte.

Le strategie adottate per incrementare la produttività di tali impianti si sono basate sul

contenimento del volume e dell'altezza della chioma per facilitare la meccanizzazione delle operazioni di potatura e di raccolta, sull'irrigazione, sulla concimazione e sulla lotta contro i parassiti dell'olivo. Ma le innovazioni più rilevanti del settore hanno riguardato certamente i processi di estrazione dell'olio, segnando il passaggio da una produzione di olio di massa a quella di oli fortemente tipicizzati e ad alto profilo qualitativo. Tuttavia, trattandosi di aziende prevalentemente di ridotte dimensioni, di solito inferiori ad un ettaro, le innovazioni accettabili sono state quelle che hanno richiesto un impegno economico contenuto, riguardanti piccole modifiche del processo colturale, risolvibili con le risorse di cui l'azienda dispone.

Molti dei nuovi oliveti realizzati negli ultimi trent'anni, caratterizzati da specializzazione varietale e dall'adozione di forme di allevamento in volume (vaso, vaso policonico, vaso globoso), sono tuttavia riconducibili a sistemi sostanzialmente 'tradizionali' ma con una maggiore densità di piantagione che varia da 300 a 500 piante/ha (tradizionale intensiva). Si tratta di modelli d'impianto il cui grande vantaggio è rappresentato in larga parte dalla possibilità di utilizzare tutte le cultivar del vasto panorama varietale italiano, mantenendo così la tipicità degli oli che contraddistingue l'Italia oleicola, in un contesto di olivicoltura sostenibile grazie all'abbattimento dei costi di raccolta mediante l'impiego di vibratorii da tronco muniti di ombrello intercettatore. In rapporto al vigore delle cultivar, alle condizioni ambientali e colturali le distanze tra le piante possono variare da m 5×5 a 8×6 . Gli alberi impiegano 7-10 anni per occupare tutto lo spazio a disposizione e raggiungere la piena produzione, con conseguente sottoutilizzazione del terreno in cui l'oliveto è impiantato (Famiani e Gucci, 2011). Risultati produttivi di impianti tradizionali in irriguo di 'Leccino', 'Frantoio' e 'Maurino' a vaso con 400 piante/ ettaro hanno fatto registrare, dal quinto al decimo anno, 50-70 qli/ha (Proietti et al., 1998). Raggiunta la piena maturità, dal settimo anno in poi, le piante possono produrre da 60 a 120 qli/ha di olive a seconda dell'ambiente di coltivazione e delle tecniche colturali adottate, irrigazione in particolare (Famiani e Gucci, 2011).

L'olivicoltura tradizionale intensiva, diffusasi non solo in Italia, ha avuto il grande pregio di sopperire alla imperante richiesta di contenimento dei costi di gestione. Tuttavia, una ulteriore riduzione, con le attuali conoscenze, non può spingersi oltre ragionevoli limiti, in quanto la meccanizzazione della raccolta applicabile ai suddetti modelli d'impianto è di tipo discontinuo. La potatura, inoltre, deve essere eseguita manualmente e, anche nel caso di potatura agevolata, sono necessari consistenti impieghi di manodopera per gli interventi manuali di rifinitura.

2.2 Contesto economico

Il settore olivicolo italiano sta attraversando una fase di crisi strutturale riconducibile, soprattutto, alle difficoltà che incontra nell'adattarsi ai profondi cambiamenti in atto che coinvolgono aspetti istituzionali ed economici. Sul piano istituzionale, le nuove modalità di erogazione dei contributi previste dalla riforma della Politica Agricola Comunitaria (disaccoppiamento totale della produzione e condizionalità) hanno reso l'entità degli aiuti indipendenti dai livelli produttivi. Tale strategia politica, nel comparto olivicolo italiano, potrebbe determinare, nel medio periodo, il fenomeno dell'abbandono soprattutto nelle aree marginali e di alta collina, ove i costi sono elevati ed il contributo non è legato a nessuna certificazione di produzione.

Sul piano economico, alla recente crisi globale si sono sommati gli effetti di alcuni mutamenti di scenario della filiera olivicolo-olearia che ha conosciuto un rapido incremento dei consumi di olio di oliva, passato da 2,6 milioni di tonnellate nel 2000 ad oltre tre milioni di tonnellate nel 2012, in Paesi tradizionalmente utilizzatori di oli di semi o grassi di origine animale (Consiglio Oleicolo Internazionale). I motivi dell'incremento della domanda di olio extra vergine di oliva sono legati essenzialmente alla riscoperta di tale alimento quale fonte di grassi ad elevato effetto salutistico e nutraceutico. Le maggiori aree di consumo sono da sempre l'Unione Europea e gli Stati Uniti, rispettivamente con una quota del 68.8% e dell'11% del totale (dati ISTAT).

Al soddisfacimento di tale incremento di domanda hanno contribuito la Spagna e, in misura minore, altri paesi come Tunisia, Algeria, Marocco, Turchia, Siria e alcuni Paesi "emergenti" dell'emisfero sud del pianeta (Cile, Australia, Argentina, ecc.).

In Italia, invece, nel triennio di riferimento i quantitativi di olio prodotto sono diminuiti di circa il 6%, probabilmente a causa dell'abbandono degli oliveti meno remunerativi e le importazioni di olio di oliva hanno subito un'impennata raggiungendo, nel 2011, 625 mila tonnellate di cui il 76% è rappresentato dal segmento dell'olio extravergine e vergine (Ismea, 2012), dati purtroppo confermati anche per il 2014 (Ismea, 2015).

La Spagna, con un prodotto molto standardizzato, ha conquistato oltre il 50% dell'esportazione mondiale dell'olio di oliva, mentre l'Italia, nonostante l'offerta di oli fortemente diversificati e tipicizzati, ha avuto una diminuzione di circa il 24% (Ismea 2013) e la sua quota di mercato mondiale delle esportazioni totali di olio di oliva (confezionato e sfuso) è in continua diminuzione. Negli Usa l'Italia ha perso il 15,06%, mentre la Spagna ha fatto registrare un incremento dell'1,64%; una costante perdita di quote di mercato si registra nei Paesi in cui l'Italia storicamente esportava olio di oliva.

Il dominio sul mercato internazionale della Spagna deriva da una politica mirata a sfruttare le agevolazioni economiche europee per incrementare la produzione attraverso la costituzione di nuovi oliveti basati su modelli d'impianto all'avanguardia e in grado di ottenere oli a costi molto contenuti. Anche a livello organizzativo la filiera spagnola si è contraddistinta per l'importante ruolo riconosciuto alla cooperazione, integrando anche le fasi di produzione, con il supporto del sistema finanziario delle casse rurali.

In merito ai canali distributivi, le nuove tendenze di mercato mostrano una contrazione di quelli tradizionali, quali la vendita diretta al frantoio (che incide ancora per circa il 25% sul totale) e la vendita porta a porta (5%), e ad un incremento dei sistemi moderni di distribuzione (oltre il 60%), al cui interno cresce il ruolo delle *private label* (nel 2009 le vendite nella GDO hanno rappresentato il 18% delle vendite) (De Gennaro et al., 2009).

La globalizzazione del mercato associata alla diffusione di nuovi impianti ad elevato grado di meccanizzazione ha spinto i prezzi dell'olio di oliva a stabilizzarsi su valori al di sotto dei costi di produzione dell'Italia (Deidda et al., 2006; Godini, 2009). La quotazione media annuale degli oli spagnoli, pari a 1.96 euro/kg, ha influenzato il valore del prodotto italiano che, nonostante gli sforzi compiuti in campo agronomico, industriale e commerciale, per l'innalzamento della qualità, ha chiuso il 2011 con un prezzo medio di 3,14 euro/kg (ISMEA, 2012), valore questo appena sufficiente a coprire i costi colturali (Deidda et al., 2006; Godini, 2009).

In Italia le innovazioni sui modelli di impianto, che comportano la standardizzazione della qualità degli oli, non hanno riscosso il dovuto interesse in virtù del ruolo da protagonista che l'Italia ha avuto, a livello mondiale, nella produzione di oli extra vergini di oliva di alta qualità e fortemente tipicizzati e tutelati attraverso i marchi europei collettivi di qualità DOP e IGP (Reg. CEE 2081/92). Sono infatti ad oggi riconosciuti 40 DOP e una IGP per l'olio extravergine di oliva, distribuiti in maniera disomogenea sul territorio nazionale, che rappresentano un patrimonio colturale e culturale di grande valore economico e sociale. La maggiore concentrazione di aziende di qualità si trova in Toscana, con circa 11 mila aziende (61,2% del totale iscritte alle DOP) e una superficie interessata di circa 56,3 mila ettari (63,4%) e 700 trasformatori (42,2%).

L'obiettivo di valorizzare l'olivicoltura italiana puntando sul solo miglioramento della qualità e sulla sua tutela e promozione attraverso i marchi di riconoscimento europeo, è stato ed è tutt'ora un lavoro che vede saldamente impegnati produttori, strutture associative e Istituzioni locali. Nonostante il paese possa vantare un gran numero di marchi di qualità l'olio a marchio DOP e IGP prodotto e commercializzato rappresenta solo circa il 2,13% del

prodotto totale (Dati SIAN campagna 2014-2015). Sembra evidente, quindi, che l'impegno profuso nella valorizzazione della tipicità degli oli italiani attraverso i marchi europei sia ancora lontano dagli obiettivi prefissati a causa di diversi fattori, tra cui la scarsa informazione delle garanzie che il marchio offre ai consumatori sulle caratteristiche specifiche dei prodotti e il più elevato prezzo di vendita rispetto all'olio di massa, sostenibile da una ristretta fascia di consumatori.

3. EVOLUZIONE DEI MODELLI D'IMPIANTO

Già nei primi anni del secondo dopo guerra il mondo dell'arboricoltura si è orientato verso la ricerca di tecniche atte a migliorare la conduzione delle aziende agricole, soprattutto frutticole, con l'introduzione e l'evoluzione graduale della meccanizzazione delle varie operazioni. Nonostante ciò per molti anni l'olivicoltura è stata considerata quasi marginale, insistendo su terreni oggi considerati poco idonei alla coltura, ricchi di scheletro e scoscesi; le piante, spesso di grandi dimensioni, venivano allevate in consociazione con altre colture. L'olio era usato prevalentemente per soddisfare il fabbisogno familiare e pochi erano gli agricoltori che indirizzavano il proprio olio verso il mercato. Inoltre, una errata campagna pubblicitaria ha contribuito ad orientare le scelte di gran parte dei consumatori verso l'uso di oli di semi: così l'olivicoltura italiana non è stata oggetto di processi di rinnovamento degli impianti, come invece è accaduto per altre colture reputate più remunerative. Per queste colture, infatti, si cominciarono a studiare forme di allevamento che meglio regolavano lo sviluppo vegetativo, con lo scopo di migliorare diversi processi fisiologici della pianta e nello stesso tempo facilitare le operazioni colturali in un primo tempo eseguite manualmente, ma successivamente indirizzate verso la meccanizzazione. Solo nel 1956, a causa di una gelata che provocò seri danni agli oliveti del centro Italia, si avvertì la necessità di rinnovare gli impianti. Come prima cosa venne eliminata la consociazione e fu proposta anche per l'olivo (Morettini, 1962) una forma di allevamento, il "vaso cespugliato", usato in frutticoltura. Tale forma fu concepita per abbassare drasticamente la chioma riducendo al minimo l'altezza del tronco, facilitando lo svolgimento delle operazioni manuali di potatura e di raccolta.

Nello stesso periodo il prof. Breviglieri (1958) propose l'olivo allevato a "palmetta" adottando uno schema geometrico in parete che permetteva di ottenere una forma appiattita dove la vegetazione veniva distribuita con una certa regolarità. L'architettura della chioma prevedeva un asse verticale centrale provvisto di freccia, sul quale s'inserivano a 50-60 cm, due branche oblique, inclinate di circa 30°-40° rispetto alla verticale. La parete verticale, orientata nella direzione del filare, era formata dalle due branche e dalla freccia.

L'aspetto positivo di questa forma di allevamento consisteva in una raccolta agevolata dalle ridotte dimensioni della chioma e dalla possibilità di intensificare gli impianti conferendo una maggiore efficienza economica alla coltivazione dell'olivo.

Gli oliveti cominciarono così ad assumere un aspetto diverso in quanto i nuovi impianti venivano effettuati con un numero consistente di piante per ettaro (circa 400), allineate sui filari in maniera tale da facilitare il passaggio delle macchine per la lavorazione del terreno.

L'elevato investimento economico legato al numero di piante per unità di superficie fu reso

sostenibile dallo sviluppo di tecniche vivaistiche che proponevano sul mercato piante franche di piede, ottenute da talee autoradicate a prezzi moderati.

Ma, poiché l'olivo è una specie fortemente basitona, molto vigorosa e che tende ad espandere la chioma in maniera tridimensionale, i costi di gestione della suddetta forma di allevamento ne determinarono il progressivo abbandono.

In alternativa fu proposta la forma a "epsilon" (Braconi, 1984). Anche questa forma prevedeva la recisione dell'asse centrale a 50-60 cm dal suolo, dal quale si lasciavano crescere ad altezze leggermente sfalsate, due branche primarie oblique in direzioni opposte. Ogni branca veniva orientata nella stessa direzione del filare e inclinata di 30° rispetto alla verticale, per evitare l'emissione di numerosi succhioni.

Le branche primarie si lasciavano rivestire di branchette fruttifere; queste, a loro volta si sviluppavano senza una geometria definita in modo da occupare tutti gli spazi fra le due branche e tra queste e il suolo. Le branchette venivano fatte crescere prevalentemente nel piano formato dalla struttura principale. Una parte di queste si orientava verso l'interfilare conferendo alla chioma una forma ellittica marcatamente eccentrica che andava a costituire una parete produttiva continua lungo il filare. Ciò ha permesso di restringere il sesto d'impianto (5x5) mantenendo lo spazio sufficiente per il passaggio delle macchine nell'interfilare. Con tale tecnica la produzione veniva in qualche modo gestita attraverso diverse forme di potatura, come curvature ed anulazioni delle branche.

Per migliorare l'efficienza della raccolta con l'uso di scuotitori, negli anni novanta venne proposto il "monocono" (Fontanazza e Cappelletti, 1993) ritenuta una forma in volume particolarmente interessante per un'olivicoltura intensiva e meccanizzata, basata sull'incremento della densità di piantagione e sul miglioramento dell'efficienza della resa alla raccolta meccanizzata, con l'impiego, oltre agli scuotitori, di vibratorii del tronco.

In tale forma è previsto un asse centrale con cima non recisa, simile allo "spindle" messo a punto per il melo, sfruttando la basitonia tipica dell'olivo per la costituzione di rami con lunghezza crescente dall'alto verso il basso. La lunghezza delle branche principali basali non doveva essere superiore ai 2,5 m di lunghezza, per favorire un'efficiente trasmissione della vibrazione degli scuotitori da tronco. Le branche, inoltre, dovevano essere disposte a spirale sul fusto e distanziate almeno 1 m per non accentuare l'ombreggiamento reciproco. Per esaltare l'efficienza della forma nell'intensificare gli impianti furono proposte cultivar di ridotto vigore provenienti da miglioramento genetico (Fontanazza et al., 1998).

Questa forma di allevamento, essendo priva di formazione di branche primarie, consente limitati interventi di potatura: la crescita risulta incrementata da una maggiore

superficie fotosintetizzante e la produzione risulta anticipata da un vantaggioso equilibrio tra attività vegetativa e attività produttiva.

L'indubbio vantaggio offerto dal monocono consisteva nell'intensificazione colturale (600-800 piante/ha) grazie all'aumento di densità sulla fila, che poteva essere spinta fino a 3m. Tuttavia il monocono è stato oggetto di pareri contrastanti. Diversi autori segnalano risultati non pienamente soddisfacenti sul piano produttivo ed economico sia di impianti semi-intensivi (6 x 6 m) che intensivi (6 x 3 m) (Angeli et al., 1995; Parlato et al., 1994; Preziosi et al., 1994; Proietti et al., 1998; Sillari e Cantini, 1993; Tombesi, 1989), legati, soprattutto, ai costi di potatura di formazione ed al comportamento varietale. Anche la raccolta meccanica si è rivelata poco efficiente perché presentava tempi morti molto lunghi per la gestione e per la movimentazione del cantiere di raccolta.

Infine, i costi per il conferimento della forma corretta alle piante sono risultati elevati talvolta fino al sesto-settimo anno, soprattutto se le piante non risultano già predisposte sin dal vivaio (Angeli et al., 1995); inoltre, in condizioni colturali che inducono forte vigoria e con cultivar con portamento espanso o globoso, il controllo della forma risulta molto difficile e possono verificarsi altezze eccessive con perdita di efficienza in particolare nella parte basale (Tombesi, 1989).

Le problematiche e i limiti presentati dalle tre forme di allevamento esposte sono stati superati con il ricorso ad una nuova forma diffusa tra gli anni 80' e 90': il "globo" o "vaso globoso" (Inglese, 2000), soprattutto negli ambienti meridionali dove più che all'ombreggiamento si deve prestare attenzione ai rischi di ustione cui la struttura legnosa va incontro. Rispetto al vaso tradizionale il globo presenta branche secondarie anche all'interno della chioma (sferoidale) e le branche principali sono più numerose e assurgenti. Il tronco ha un'altezza compresa tra 60 e 100 cm da terra, facilitando l'aggancio dello scuotitore. La fruttificazione si distribuisce nella parte periferica della chioma e, a seconda del grado di sfoltimento può distribuirsi anche all'interno. Questa forma ha sicuramente il vantaggio di richiedere limitati interventi di potatura per la formazione della pianta entro i primi 4-5 anni. La fase giovanile della pianta è abbastanza contenuta e si ottengono 4-5 t/ha di prodotto già al quinto anno, mentre al settimo si possono raggiungere 10-12 t/ha. Gli impianti che sfruttano questa forma sono costituiti da 300 piante/ha.

Analizzando l'olivicoltura italiana dagli anni 80' in poi, sembra che sia caratterizzata da una consistente staticità, malgrado i tentativi di "rinnovamento" nella forma e nella densità.

Le diverse tipologie adottate fino ad usare un sesto d'impianto 6 x 4 si sono rivelate instabili e limitate nel tempo fino ad un massimo di 10 anni, più o meno in relazione alla

cultivar e al vigore che le condizioni colturali suggerivano. Si verificavano spesso, infatti problemi di ombreggiamento tra le piante e sulla pianta stessa, con conseguente riduzione della fertilità e della produttività, aumento di attacchi crittogamici, tendenza a svettare e a defogliare nella parte basale della chioma. Tutto ciò si traduceva chiaramente in una scarsa resa in olio, peraltro caratterizzato da un basso profilo organolettico tanto da renderlo di scarsa qualità.

Per risolvere i problemi sopra esposti si è spesso fatto ricorso al diradamento della pianta. Tuttavia, cultivar poco vigorose come 'Leccino', 'Frantoio' e 'Maurino', in ambienti come ad esempio quelli umbri, allevate a vaso con 400 piante/ha hanno mostrato una produzione pari a quella raggiunta col monocono (Proietti et al., 1998).

3.1 Il modello superintensivo

L'insuccesso delle forme proposte ha indotto gli operatori del settore a valutare e comprendere che l'olivicoltura ha necessità di una svolta e ha permesso l'affermarsi del concetto di olivicoltura basata sull'intensificazione degli impianti e sull'allevamento delle piante in filari. Tali criteri sono alla base dell'olivicoltura intensiva studiata e diffusa in altri paesi come California e Spagna, e impiegati per creare modelli di impianto dove tutte le operazioni di conduzione possono essere totalmente meccanizzate.

L'obiettivo di contenere i costi di gestione dell'oliveto in parte è stato raggiunto attraverso il sistema di allevamento intensivo con un investimento di 300-500 piante/ha (Godini, 2010); ma la razionale sostenibilità economica in olivicoltura può concretizzarsi con la meccanizzazione totale di tutte le operazioni colturali, riducendo la manodopera e non semplicemente incrementando il numero di piante per ettaro (Tous et al., 2006).

Il successo dell'olivicoltura spagnola in ambito mondiale è legato al ricorso al sistema di allevamento superintensivo che prevede l'impiego di 1600-2000 piante/ha disposte in rettangolo in filari continui ad una distanza di 3.5-4 m tra le file e di 1.3-1.5 m. sulla fila. In tale sistema le piante vengono allevate ad asse verticale in modo da costituire una parete di vegetazione continua con dimensioni tali da essere compatibili con la camera di scuotitura della macchina scavallatrice, 1 m di larghezza e 2,5 in altezza, (Bellomo e Godini, 2003; Camposeo e Giorgio, 2006).

La rapidità delle operazioni inoltre, consente di raccogliere tempestivamente il prodotto al giusto grado di maturazione, con evidenti vantaggi sulla qualità degli oli, e di abbattere i costi di manodopera (Famiani et al., 2008; Godini, 2002).

Affinché il sistema mantenga la sua efficienza agronomica devono essere impiegate cultivar

caratterizzate da basso vigore, precoce entrata in produzione (già dal secondo-terzo anno), autofertilità, elevata produttività, maturazione non scalare dei frutti e buona resa in olio, nonché resistenza alla rogna e all'occhio di pavone.

Questo modello produttivo presenta tuttavia dei limiti: solo poche varietà vi si adattano. Nonostante gli studi condotti attualmente solo Arbequina e Arbosana (varietà spagnole) e Koroneiki (varietà greca) sono le più utilizzate perché caratterizzate da vigoria contenuta associata alla capacità di produrre di più e più precocemente (Tous et al., 2006), fattori indispensabili affinché una varietà possa essere impiegata in tale sistema. Le suddette varietà si sono distinte per tutte le qualità sopracitate, ma hanno mostrato, sebbene dotate di elevata plasticità di adattamento, sensibilità agli stress idrici e a valori elevati di temperatura.

Lo sviluppo viene tenuto sotto controllo da interventi di topping (taglio orizzontale per abbassare la chioma) integrati da interventi manuali in prossimità della parte distale della pianta. Tagli di ritorno si impiegano invece per ridurre lo spessore della chioma.

Altro limite degli impianti superintensivi è certamente rappresentato da elevati costi di impianto, circa 10.000 euro/ha e da un alto input legato alle tecniche di coltivazione come l'irrigazione, la concimazione, la gestione del suolo, la potatura e soprattutto il controllo dei parassiti. Appare quindi evidente che un siffatto sistema trova giustificazione su superfici superiori ad un ettaro e con entrata in produzione precoce e costante per almeno 15 anni (Tous et al., 2007).

È stato osservato che superati i 10.000 m³/ha di volume complessivo delle chiome nei sistemi superintensivi si ha un calo della produzione (De La Rosa et al., 2006; Tous et al., 2007), dovuto a diversi fattori. A densità d'impianto elevate si verificano fenomeni di ombreggiamento nelle piante e tra le piante e l'olivo, essendo una specie sciafila reagisce indirizzando la nuova vegetazione verso spazi dove l'intensità luminosa assicura la regolare attività fotosintetica delle foglie (Proietti et al., 1994). Si verifica così uno spostamento verticale della chioma, dovuto alla crescita verso l'alto della nuova vegetazione, con angoli più chiusi nel punto d'inserzione dei rami sul fusto, e un aumento del diametro della stessa, causato dalla crescita "centrifuga" dei giovani germogli (Díaz-Espejo et al., 2008).

Quando l'intensità luminosa scende al di sotto del 30% rispetto alla radiazione massima, la pianta può mostrare significative variazioni nel gradiente vegetativo che da basitono diviene tendenzialmente acrotono (Baldini, 1986). Inoltre, la progressiva riduzione dell'attività fotosintetica dei rami in ombra ha conseguenze negative sulla crescita della nuova vegetazione, sul numero di gemme indotte a fiore e sulla fertilità in generale della mignola (numero di fiori fertili, percentuale di frutti che allegano, regolare crescita e sviluppo dei

frutti) e sull'olio prodotto, poiché i frutti dei rami in ombra accumulano minori quantitativi di olio e la composizione acidica e il contenuto in polifenoli subiscono sensibili variazioni (Pastor et al., 2007).

L'intercettazione regolare e omogenea della luce da parte delle piante nei sistemi superintensivi assume particolare rilievo, poiché è stato dimostrato che la precoce e abbondante fruttificazione e la costanza di produzione negli anni sono strettamente legate alla quantità di luce fotosinteticamente attiva che raggiunge le foglie più giovani (Tombesi, 2003).

Da quanto detto si evince che tra le tecniche colturali dedicate alla gestione della pianta assume un ruolo fondamentale la potatura di produzione per migliorare la funzionalità della chioma (Baldini, 1986), attraverso l'eliminazione selettiva di succhioni, rami esauriti e branchette per favorire la penetrazione di sufficienti quantitativi di energia radiante anche nelle parti più interne della chioma (Tombesi, 2006).

Nel 1994 furono realizzati i primi sei ettari di oliveto col modello superintensivo spagnolo, diffusosi in seguito in Francia, Argentina, USA, Cile, Brasile, Tunisia, Turchia e Italia, investendo una superficie pari a circa 100.000 ha (Mateu et al., 2008). In Italia è stato introdotto solo nel 2001 e ad oggi può contare solo su circa 100 ha (Sportelli, 2006).

Nell'ambito del VI International Symposium on Olive Growing, Evora (Portogallo), settembre 2008, è emerso che, confermata la tendenza in atto, gli impianti superintensivi di olivo nei prossimi anni potrebbero insistere su circa 250.000 ettari di superficie.

Nuove cultivar spagnole e italiane sono tutt'oggi in corso di valutazione, ma non ancora riconosciute utilizzabili su larga scala.

Per verificare la validità di questa tipologia di impianto in Italia sono state effettuate prove in tre diverse regioni al fine di valutare l'adattabilità della cultivar 'Arbequina' e le caratteristiche chimiche ed organolettiche degli oli. I risultati hanno mostrato un ottimo comportamento produttivo della cultivar 'Arbequina' e una qualità degli oli simili a quelli ottenuti da alcune rinomate cultivar, quali 'Cima di Bitonto' e 'Tonda iblea' (Caruso et al., 2014).

Dallo studio dei sistemi superintensivi emerge, tuttavia, un'eccessiva standardizzazione dei parametri architettonici a vantaggio della meccanizzazione della potatura e soprattutto della raccolta, a scapito però della qualità.

Da quanto esposto risulta evidente che un Paese così storicamente legato alla tradizione olivicola come l'Italia deve, per riscattare la sua posizione all'interno del mercato europeo in primo luogo e di quello mondiale successivamente, mirare a rendere gli oliveti efficienti ed economicamente sostenibili. La ricerca di genotipi adatti a sistemi di conduzione

superintensivi potrebbe consentire l'evoluzione dell'olivicoltura. Inoltre, alla luce delle nuove tendenze di mercato, dettate da una maggiore consapevolezza del consumatore agli aspetti salutistici e nutraceutici dei prodotti alimentari e soprattutto dell'olio di oliva, lo studio della biodiversità del panorama olivicolo italiano può offrire prospettive interessanti per l'identificazione di genotipi contraddistinti da una produzione di olio ad elevato standard qualitativo.

4. BIODIVERSITÀ

4.1 Importanza e conservazione

La biodiversità indica la misura della varietà di specie animali e vegetali in un dato ambiente, intesa come risultato dei processi di evoluzione e trasformazione della biosfera e su di essa si fondano i processi evolutivi, in quanto consente di attuare quelle piccole modificazioni genetiche, morfologiche e funzionali per permettere l'adattamento ai cambiamenti ambientali. Il sovrapporsi di mutazioni genetiche, indotte dai continui cambiamenti avvenuti nell'ambiente dall'origine della terra, danno origine a nuove specie viventi assicurando così la continuità della vita.

In generale, per biodiversità spesso si intende la moltitudine di specie di piante, animali e microrganismi che abitano il nostro pianeta, ma ciò non è sufficiente a definirne l'importanza in quanto non tiene conto delle interazioni reciproche e ambientali di gruppi con un dato grado di omogeneità genetica (specie) e della varietà interna degli stessi.

La biodiversità si articola in tre livelli gerarchici:

- di **geni** (genetica o intraspecifica). Indica la variazione dei geni all'interno della stessa specie entro una popolazione e tra popolazioni della stessa specie;
- di **specie** (specifico o interspecifico). Indica il numero e l'abbondanza delle specie in un dato ecosistema e le relazioni tra loro in uno stesso territorio;
- di **ecosistemi** (ecosistemica). Indica il numero e l'abbondanza degli habitat delle comunità biotiche e degli ecosistemi; prende in considerazione le funzioni delle diverse specie, le loro interazioni e le reciproche influenze con l'ambiente circostante (Redford e Richter 1999).

La diversità intraspecifica, nonostante sia il livello gerarchico più basso, determina il potenziale evolutivo delle specie ed influenza i livelli superiori di biodiversità (Templeton et al.; 2001), consente la perpetuazione della vita e il superamento delle avversità ambientali grazie alla fecondazione e alla ricombinazione dei geni.

Nell'ambito di una specie gli individui che manifestano caratteristiche genetiche affini costituiscono una popolazione che, nel tempo, si è adattata alle condizioni pedoclimatiche locali e che si differenzia da altre popolazioni della stessa specie se separata e non isolata da queste da barriere geografiche. Il patrimonio genetico di una specie viene conservato a condizione che le popolazioni siano abbastanza ampie e in comunicazione tra loro in modo da favorire gli incroci tra individui diversi. In tal modo si affermano le combinazioni favorevoli

costringendo quelle sfavorevoli a rimanere latenti. Se una popolazione viene ridotta drasticamente o isolata a causa di modificazioni ambientali di origine antropica, viene ridotta la variabilità genetica, quindi la capacità di adattamento della specie alle mutazioni ambientali, nonché la sua evoluzione con conseguente perdita, a lungo termine, di individui o di intere popolazioni.

La distribuzione della biodiversità non è uniforme: negli ecosistemi terrestri decresce con l'altitudine e in quelli marini con la profondità; è correlata con le precipitazioni, con il livello dei nutrienti, con la salinità e con la disponibilità energetica. Esistono degli habitat meno contaminati dall'azione antropica e che presentano una maggiore diversità genetica conosciuti come "hot spot" (Cowling et al., 1996).

Il termine "Biodiversity Hot Spot" si attribuisce al biologo Norman Myer che nel 1988 identificava le "regioni geografiche caratterizzate da concentrazioni straordinarie di specie con elevato grado di endemismo che stanno subendo in maniera non usuale un rapido svuotamento". Esse rappresentavano e rappresentano una riserva importante di biodiversità ma al contempo sono indice di una forte minaccia di distruzione. In un totale di 18 aree hot spot (14 aree di foresta tropicale, 4 aree del Mediterraneo) secondo Myers solo 1/5 delle piante presenti sulla terra sono riscontrabili in meno dell'1% della superficie terrestre e in habitat minacciati da sconvolgimenti continui (Myers 1988, 1990; Costa, 2009).

Il concetto di "diversità genetica" o "biodiversità" iniziò a essere preso in considerazione nei meeting scientifici agli inizi degli anni '70 quando i tassi di estinzione di alcune specie iniziarono a crescere drammaticamente.

La problematica riguardante la distruzione dell'ambiente e la perdita di specie e di ecosistemi preoccupò la comunità scientifica, i governi e varie organizzazioni di comuni cittadini consapevoli dell'importanza della questione ambientale tanto da cercare soluzioni e proporre azioni efficaci per definire modelli di sviluppo "sostenibile" che consentissero all'umanità di soddisfare i propri bisogni senza depauperare l'ambiente e senza compromettere la possibilità per le generazioni future di beneficiare della biodiversità.

Nel corso dei secoli i paesaggi naturali hanno subito modificazioni perché sottoposti al lavoro dell'uomo che, dedicandosi all'agricoltura, ha creato diversi agroecosistemi. In un primo momento la diversità intraspecifica è stata agevolata dagli incroci e dalle ibridazioni che hanno consentito l'affermazione di forme altrimenti selezionate, in natura, negativamente. Nello stesso tempo vi è stata una coesistenza di forme spontanee e forme domestiche nei diversi areali con conseguenti incroci tra esse e la nascita di nuovi genotipi grazie alla segregazione, alla ricombinazione e all'azione della selezione naturale. Con il trasferimento

poi dei nuovi genotipi da parte dell'uomo in nuovi areali i processi sopradescritti si sono ripetuti portando alla costituzione di un gran numero di varietà locali. Queste ultime, talvolta trascurate, associate a tradizioni e cultura, rivestono grande importanza in quanto la loro rusticità e plasticità all'adattamento ai cambiamenti pedoclimatici le rende uniche come fonte di un patrimonio da rivalutare poiché in genere risultano superiori alle varietà migliorate dall'uomo sia per la capacità di adattamento che da un punto di vista quali-quantitativo della produzione.

Va sottolineato che l'agricoltura intensiva, basata sull'incremento di numero di piante per ettaro, sull'adozione di tecniche colturali sempre più innovative e sull'impiego di varietà selezionate per gli aspetti interessanti dal punto di vista agronomico e corrispondenti ad esigenze di mercato, se da un lato ha determinato la crescita economica di alcuni paesi e la riconversione di terreni abbandonati da tempo, per contro ha provocato la scomparsa di alcune varietà del passato in seno al fenomeno noto come "erosione genetica". La costituzione di nuove varietà vegetali ha spesso causato una "radicale" sostituzione delle varietà tradizionali, meno produttive, determinando una profonda riduzione della variabilità genetica esistente.

Inoltre, la biodiversità rappresenta tipicità di un territorio, tradizione, valori, usi e costumi che sono parte integrante della storia dell'uomo, del trascorso rurale, ma allo stesso tempo è la base, la premessa per la costituzione di nuova variabilità genetica per la reintroduzione di caratteri di potenziale interesse dal punto di vista agronomico, pomologico e qualitativo. La sua riduzione, dunque, pregiudica la naturale sostenibilità di tutte le forme di vita e la produttività di qualsiasi ecosistema e, in agricoltura, compromette la possibilità di migliorare le piante per la resistenza ad avversità che potrebbero verificarsi in futuro.

Risulta quindi evidente la necessità di tutelare la biodiversità per limitare gli effetti negativi e riduttivi di uno sviluppo sfrenato che poco ha tenuto conto della protezione delle risorse genetiche come fonte di variabilità, di adattamento, di evoluzione e di perpetuazione.

La crescente consapevolezza, anche nell'opinione pubblica, che il futuro di tutti i paesi dipende, in gran parte dalla loro agricoltura, dalle risorse genetiche originarie di altri paesi e continenti, ha realizzato una solidarietà tra politici, scienziati e agricoltori. Tale solidarietà è stata tradotta nell'adozione di progetti, accordi e programmi formulati da istituzioni diverse, nazionali, internazionali, governative e non (FAO, COI, UE, IPGRI, WWF), al fine di conoscere, tutelare e valorizzare le risorse genetiche con le quali è possibile assicurare al genere umano benefici e produzioni alimentari.

4.2 La biodiversità dell'olivo in Italia

L'estrema longevità di cui l'olivo è dotato lo rende una pianta millenaria che porta con sé riferimenti, immagini, tradizioni e simbolismi di un passato tramandato nei secoli, facendone un simbolo delle culture del mediterraneo. La sua storia ebbe presumibilmente origine nelle regioni geografiche che vanno dal Sud del Caucaso (Iran) alla Mesopotamia e Palestina (Lavee, 1985; Rugini e Lavee, 1992) ma la sua diffusione è indissolubilmente legata a quella delle antiche civiltà mediterranee. In Italia, l'olivo ha conosciuto alterne vicende legate a vicissitudini politico-economiche ed ambientali, con periodi di espansione, alternati a periodi di riduzione delle superfici e con la scomparsa della coltura da ampi comprensori. Tutto ciò ha determinato la presenza di germoplasma olivicolo molto ricco e diffuso in tutte le regioni per effetto di diversi fattori quali: l'elevata variabilità ambientale ed orografica del territorio nazionale, alti livelli di eterozigosi e polimorfismo del DNA tra gli individui determinati dall'allogamia con alto grado di eteroimpollinazione (Angiolillo et al., 1999; Rallo et al., 2000), frequenti incroci tra le varie specie del genere *Olea* avvenuti nel corso dei secoli, la longevità, la forte stabilità genetica e la capacità di rigenerazione continua.

Le cultivar di olivo iscritte ufficialmente allo schedario olivicolo italiano ammontano a 395. Bartolini e collaboratori (1998) riportano che il germoplasma olivicolo in coltivazione in Italia comprende circa 600 cultivar, pari alla metà del totale mondiale che si attesta intorno alle 1200. Casi di sinonimia, identificazione e descrizioni di nuove varietà e accessioni poco diffuse o finora sconosciute rendono quest'ultimo numero in continua progressione.

I fenomeni di erosione genetica all'interno della specie sono stati abbastanza contenuti tanto da tramandare fino ad oggi una considerevole diversità (Fiorino e Lombardo, 2002). Anche il verificarsi di mutazioni nel corso dei secoli può aver favorito la costituzione di cultivar-popolazioni geneticamente non omogenee o policlonali. La moltiplicazione gamica e gli incroci tra le diverse popolazioni hanno contribuito ad accrescere la variabilità genetica della specie selvatica, offrendo una maggiore biodiversità nell'ambito della quale poter selezionare cloni da coltivare.

L'adattamento ai diversi contesti pedoclimatici ha favorito la nascita di accessioni o popolazioni locali eterogenee, con diversificazioni a livello morfologico, fenologico e di produzione, per le quali spesso risulta difficile trovare tratti fenotipici altamente discriminanti. Diversi progetti di ricerca sono collegati a programmi per la conservazione della diversità genetica. Sono state costituite numerose collezioni nei principali paesi olivicoli (www.oleodb.eu). Le più importanti, riconosciute a livello internazionale sono le collezioni mondiali di Cordoba, Marrakech, e, in Italia, Rende (CS).

Nella collezione spagnola sono presenti 406 accessioni provenienti da tutti i paesi olivicoli, di cui solo 224 sono state autenticate (Caballero et al., 2006).

In Italia l'olivicoltura è prevalentemente diffusa nelle aree più meridionali che interessano, oltre alle Isole, la Puglia, la Calabria, la Campania che nel complesso, producono oltre l'85% di tutto l'olio di oliva del nostro paese. Nelle regioni centro settentrionali, quali la Toscana, la Liguria, l'Umbria e l'Abruzzo, il comparto olivicolo, pur non raggiungendo i livelli, in termini di superfici, delle regioni sopra menzionate, assume una notevole importanza per la qualità e tipicità degli oli prodotti grazie anche ad un panorama varietale distintivo.

In Calabria l'olivicoltura si presenta estremamente diversificata sia da un punto di vista geografico che strutturale e tecnologico. Il patrimonio olivicolo regionale è costituito in gran parte da piante secolari, caratterizzate da una forte alternanza di produzione e da scalarità di maturazione. Seconda regione italiana dopo la Puglia, consta di 186.000 ettari coltivati su 137.700 aziende (in media 1,3 ha di ampiezza): la produzione di olio è di 210.000 tonnellate, pari al 32% della produzione nazionale. Il microclima di questa regione è ideale per l'olivo che cresce ovunque, sul versante tirrenico e su quello ionico. Il patrimonio varietale di olivi autoctoni è costituito da 33 cultivar le più diffuse delle quali sono "Carolea", "Tondina", "Roggianella", "Cassanese", "Moresca", "Grossa di Gerace", "Ottobratica", "Dolce di Rossano" e "Sinopolese". Sono state riconosciute 3 DOP (Perri et al., 2009).

La Campania ha una tradizione olivicola molto antica: i Fenici e i Greci coltivavano gli ulivi non solo per la produzione di olio alimentare, ma principalmente, per l'illuminazione, per ricavarne unguenti e profumi e per bruciarlo in omaggio alle divinità. In Campania è facile imbattersi in olivi secolari; nel salernitano, ad esempio, sono stati individuati esemplari millenari delle varietà 'Pisciottana' e 'Rotondella'. In tutte le principali aree olivicole della Campania sono presenti varietà autoctone di elevato pregio e spiccata tipicità quali: 'Ogliarola', denominata Olivo da olio, detta anche Minucciola, apprezzata per produttività e buona resa in olio, 20% circa (Di Vaio et al., 2009), 'Ravece', 'Ortice', 'Ortolana', 'Asprinia', 'Tonda', 'Rotondella', 'Carpellese', 'Nostrale', 'Biancolilla' e 'Pisciottana'. Attualmente sono riconosciute 5 DOP. Nel 2000 sono state descritte 66 accessioni di olivo presenti in tutte le province (Pugliano, 2000).

In Puglia l'olivicoltura è diffusa in tre macroaree: la zona Nord, corrispondente alla provincia di Foggia, il Centro, che corrisponde alla provincia di Bari e il Sud della regione, che interessa l'area jonico-salentina. La Puglia è terra olivicola per eccellenza: 40% della produzione nazionale. La superficie coltivata è 370.000 ha, con 240.000 aziende per un totale

di 250.000 tonnellate di olio prodotto, con 5 denominazione di origine protetta. Le cultivar principali sono: 'Coratina', 'Ogliarola barese' e 'Cellina di Nardò'. Diffuse anche le varietà alloctone 'Frantoio' e 'Leccino' e quelle autoctone 'Peranzana', 'Garganica' e 'Genti' (Guario e Germinario, 2009).

In Abruzzo l'olivo è coltivato sulle colline che si affacciano sull'Adriatico e nelle zone pedemontane interne fino a 400-500 m slm. La superficie coltivata è di 45.000 ettari, il 10% della superficie agricola totale, con una produzione di olio di 24.000 tonnellate. La provincia più olivicola è Chieti con 27.500 ha, quindi Pescara con 11.200 ha e Teramo con 5100 ha. Le DOP riconosciute sono 3. Nonostante la limitata superficie coltivata a olivo l'Abruzzo risulta ricco di cultivar, frutto della selezione naturale ma anche dell'introduzione di nuove selezioni con caratteristiche rispondenti al processo di intensificazione colturale su cui l'olivicultura abruzzese si è basata negli ultimi anni. Spesso le varietà assumono nomi diversi nelle aree di coltivazione. Più diffuse sono la varietà 'Dritta', anche conosciuta con i sinonimi di 'Loretana', o 'Lordana' o 'Moscufo', la varietà 'Leccino' o 'Leccio', di origine toscana ma ormai molto diffusa a partire dagli anni '60 e divenuta una delle varietà più rappresentative del patrimonio olivicolo abruzzese. Altre varietà presenti sono la varietà 'Gentile', detta 'Gentile di Chieti' o 'Nostrana', la varietà 'Intosso', denominata anche 'Grossa' o 'Indorse', la varietà 'Croccalegno', denominata anche 'Crognalegna' o 'Iannaro' o 'Crognale' e la varietà 'Tortiglione'. Risultato di una selezione secolare fortemente legata al territorio sono: la 'Police' o 'Toccolana', la 'Castiglione' e la 'Carpinetana', denominata anche 'Pizzutella' (Pisante et al., 2009).

L'Umbria concorre con meno del 2% alla produzione nazionale di olio. L'olivo non è spontaneo di questa regione, ma introdotto dalla passione dell'uomo. Circa 31.000 sono gli ettari di superficie coltivata con una produzione in olio compresa tra 6500-11.000 tonnellate, a seconda dell'annata. Le varietà principali sono 'Moraiolo' (41,7%), 'Leccino' (21,5%), 'Frantoio' (20,4%), 'Dolce Agogia' (5,9%), 'San Felice' (1,4%). 1 DOP (Proietti e Pannelli, 2009).

L'olivicultura toscana caratterizza aree molto diversificate dal punto di vista orografico e le aziende hanno un'estensione che frequentemente varia da uno a due a 5 ettari; sono presenti anche aziende molto più estese fino oltre i 10 ettari. Il panorama varietale risulta molto ricco. Sono stati infatti descritti ben 84 genotipi. L'olivo, insieme alla vite, si identifica con l'economia rurale, con la tradizione gastronomica e con il paesaggio. La superficie olivetata è 95.000 ha, con una produzione in olio pari a 19.000 tonnellate. La varietà dominante è 'Frantoio', quindi 'Moraiolo', 'Leccino', 'Pendolino', 'Correggiolo'. La

produzione è tutelata dall'IGP Toscano che abbraccia tutta la regione con 8 sottozone (Gucci, 2009). Le DOP ad oggi riconosciute sono tre e 1 IGP.

L'olivo occupa il 40% della superficie coltivabile della Liguria con 27.000 ha, ma molti sono purtroppo gli oliveti abbandonati. La provincia di Imperia incide per il 50% della superficie coltivata, seguono Genova, Savona e La Spezia con un totale di 4000 tonnellate di olio. A questa regione è stata riconosciuta una DOP Olio Extravergine d'Oliva. Furono i Fenici a importare l'olivo nell'Imperiese, anche se piante del genere *Olea* sono state segnalate già dal 3000 a.C. I Romani diedero impulso alla coltivazione dell'olivo e soprattutto i benedettini del convento di Taggia, in provincia di Imperia, seppero individuare le caratteristiche di rusticità e adattabilità ai terreni impervi della regione. La varietà più rinomata è la 'Taggiasca', che prende il nome dall'abbazia benedettina di Taggia (Sebastiani, 2009), seguita dalla varietà 'Razzola', per diffusione. Le altre principali varietà identificate e censite mediante schede varietali dettagliate sono: 'Arnasca', 'Castelnovina', 'Colombaia', 'Lantesca', 'Lavagnina', 'Liccione', 'Merlina', 'Mortina', 'Negrea', 'Olivotto', 'Pignola', 'Prempesa' e 'Rondino'.

4.3 La biodiversità in Sicilia

La Sicilia, per motivi geografici, storici, culturali e pedoclimatici rappresenta un grosso sito di differenziazione genetica. Le differenze geologiche e bioclimatiche hanno determinato la costituzione di habitat differenziati che nei secoli hanno ospitato le diverse specie vegetali via via introdotte e divenute endemiche, dando origine ad una vasta biodiversità.

Le citazioni in bibliografia e le testimonianze storiche sull'introduzione dell'olivo nell'isola sono diverse e spesso in contrapposizione tra loro. Ad esempio, secondo Plinio e Cicerone sono stati i greci ad introdurre l'olivo, in quanto tra l'VIII e il VI secolo A.C. l'economia delle colonie da essi costituite si basava principalmente sulla coltivazione del grano e secondariamente sulla coltivazione dell'olivo. Di certo, ritrovamenti archeologici testimoniano attraverso semi di forme selvatiche di olivo la presenza di questa specie già nel Neolitico antico. Inoltre manufatti archeologici risalenti alla media età del bronzo intorno al XIV sec. A. C. mostrano dipinti raffiguranti l'albero di olivo.

Anche se considerato un simbolo di pace e prosperità grazie alla duplice attitudine di utilizzo dei suoi frutti e alla sua longevità, l'olivo in Sicilia ha subito nella storia alterne vicende di gloria. Infatti, con il declino dell'Impero Romano e la dominazione araba l'olivicoltura viene trascurata a vantaggio del grano e degli agrumi, per assistere ad una ripresa dell'olivicoltura solo alla fine del XII sec. Ma è tra la prima metà del Quattrocento e

per tutto il Cinquecento che l'olivo si impone, assieme alla vite, come "coltura principe" del paesaggio siciliano.

Nel Novecento rappresenta sempre la coltura prevalente dell'isola, anche se presente in consociazione con altre specie e, solo nella seconda metà del secolo, periodo molto florido per l'agricoltura, inizia un processo di espansione e specializzazione produttiva (Cartabellotta et al., 2009).

Allo stato attuale si stima che la coltura dell'olivo insista su una superficie di 159.402 ettari e interessi 140.164 aziende (fonte ISTAT, 6° Censimento in Agricoltura). L'olivicoltura in Sicilia investe il 2,98% della S.A.U. e l'11,3% della superficie occupata da colture arboree (fonte ISTAT 2012). Gran parte degli oliveti è vocata alla produzione di olio; gli impianti specializzati per la produzione di olive da mensa incidono solamente su una superficie di circa 3.830 ettari (Fonte ISTAT maggio 2012).

La grande variabilità di ambienti pedoclimatici presenti in Sicilia ha fatto sì che i genotipi selezionati dagli antichi agricoltori e quelli provenienti da altri Paesi del Mediterraneo trovassero le migliori condizioni per adattarsi e far parte integrante del germoplasma olivico, in evoluzione naturale e costante nel passato. Così, ancora oggi, il panorama varietale autoctono dell'olivo in Sicilia risulta molto ricco e complesso (Marra et al., 2013; Caruso et al., 2014). Le prime citazioni bibliografiche sulla biodiversità di olivo in Sicilia risalgono al 1882 con la segnalazione di diverse entità genetiche di olivo presenti in alcune province dell'Isola (Caruso, 1882).

Si tratta di riferimenti pionieristici in cui si denota già da allora la difficoltà nell'attribuire alle cultivar una nomenclatura univoca a causa dei numerosi sinonimi con cui esse sono conosciute nei diversi territori e per le omonimie derivanti dalla consuetudine di correlare il nome ad alcune caratteristiche del frutto ('Nuciddara', 'Bianculidda', 'Ogliadora', 'Ogliara', ecc.).

È interessante notare che non vi è più traccia di alcune entità note all'epoca ('Alloro', 'Olivo di Francia', 'San Francescana') probabilmente per sostituzione della denominazione o perché scomparse.

Le prime indagini sulla piattaforma varietale del germoplasma autoctono olivicolo della Sicilia si deve a Bottari e Spina che, nel 1952, hanno descritto 32 cultivar, una interessante quota di tutto il patrimonio olivicolo italiano. Di tutte le accessioni segnalate soltanto un ristretto numero costituiva la base varietale su cui si fondavano le produzioni olearie, mentre la gran parte, per la limitata diffusione, a volte riconducibile a pochissimi esemplari, costituiva un patrimonio genetico poco conosciuto e in alcuni casi a forte rischio di

estinzione.

A partire dagli anni '80 il Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali (ex Istituto di Coltivazioni Arboree), con l'intento di valutare comparativamente le cultivar del germoplasma siciliano di olivo, preservandolo al tempo stesso da probabili rischi di erosione genetica, iniziò un'intensa attività di indagine per rintracciare tutte le cultivar riportate nello studio di Bottari e Spina (1952); nel corso di tale attività furono rinvenute accessioni non descritte in letteratura. Una volta validate le accessioni raccolte nell'isola, e dopo aver eliminato tutti i casi evidenti di omonimia e sinonimia e tutte quelle accessioni di origine alloctona, fu costituita la prima collezione *ex situ* del germoplasma di olivo autoctono siciliano. A questa prima fase, che ha consentito l'identificazione ed il recupero dei genotipi autoctoni della Sicilia, è seguita un'attività volta alla caratterizzazione morfologica, genetica ed agronomica (Barone et al., 1994; La Mantia et al., 2005; Caruso et al., 2007).

In particolare, l'integrazione dei risultati delle analisi biometriche e morfologiche con i risultati degli studi molecolari ha permesso di individuare casi di sinonimie e di confermare quelli che erano stati accertati dalle prime osservazioni sulla fisionomia delle piante (La Mantia et al., 2005).

Allo stato attuale, il panorama varietale di olivo in Sicilia è costituito da 25 cultivar di comprovata origine autoctona (Caruso et al., 2007). Tra queste 8 cultivar principali, che rappresentano la base genetica delle produzioni olearie siciliane ('Biancolilla', 'Nocellara del Belice', 'Cerasuola', 'Moresca', 'Ogliarola messinese', 'Nocellara etnea', 'Tonda iblea', 'Santagatese'), 8 cultivar minori, presenti in aree olivicole ristrette ('Brandofino', 'Calatina', 'Crastu', 'Giarraffa', 'Minuta', 'Nocellara messinese', 'Piricuddara', 'Verdello') e 9 cultivar neglette a rischio di estinzione ('Aitana', 'Bottone di gallo', 'Cavalieri', 'Erbano', 'Lumiaru', 'Nasitana', 'Nerba', 'Olivo di Mandanici', 'Vaddarica').

La ricchezza varietale dell'olivicoltura siciliana e la localizzazione in specifici ambiti territoriali di ciascuna cultivar (Marra et al., 2013; Caruso et al., 2014) ha reso possibile il riconoscimento, da parte dell'Unione Europea, di un numero di aree a denominazione di origine protetta (DOP) che non ha uguali in Europa. Sono infatti presenti nel territorio siciliano 6 aree che producono oli DOP, ognuna di esse con una base varietale diversificata.

Nell'area DOP 'Valdemone', corrispondente alla provincia di Messina, le cultivar più rappresentate sono l' 'Ogliarola Messinese' e la 'Santagatese'.

La cultivar 'Ogliarola messinese', dotata di grande plasticità di adattamento è molto presente nelle fasce litoranee e sublitoranee delle province di Palermo e Messina, dove si trova sia negli oliveti costieri che negli impianti collinari, fino a un' altitudine di 700 m s.l.m.

Il suo olio si distingue per l'elevato contenuto di acido oleico (circa l'80%) e per il colore tenue dovuto alla bassa concentrazione di pigmenti.

All'assaggio risulta equilibrato con medie o leggere note di piccante e con sensazioni di carciofo e pomodoro non sempre nette come nelle altre cultivar.

Nota anche come 'Passulunara', è utilizzata per la produzione di una particolare oliva da mensa, chiamata 'passuluni' o 'aliva acciurata', il cui processo di deamarizzazione avviene naturalmente all'albero grazie all'azione di un fungo, *Sphaeropsis dalmatica*, che rende il frutto prontamente commestibile. Già in passato è stata utilizzata a scopo ornamentale tanto che, ancor oggi, nei grandi giardini delle vecchie ville nobiliari della Conca d'Oro è una presenza quasi costante.

L'olivicoltura del catanese si basa essenzialmente su due cultivar: 'Nocellara Etnea' e 'Moresca'. La prima è una cultivar a duplice attitudine molto diffusa nel territorio, conosciuta anche con altri sinonimi tra i quali 'Marmorigna' e 'Zaituna' (oliva in arabo). Da sempre è particolarmente apprezzata grazie al medio vigore, alle ottime caratteristiche carpologiche, (grosso calibro e ottimo rapporto polpa/nocciolo), all'ampio e intenso spettro gusto-olfattivo degli oli che produce.

La cultivar 'Moresca', a duplice attitudine, è ampiamente coltivata anche nel ragusano dove rientra nell'ambito delle varietà ammesse per la produzione di oli DOP 'Monti Iblei'. Si caratterizza per la spiccata precocità di maturazione: le olive iniziano a invaiare già dalla prima metà di settembre.

Sempre nel ragusano è diffusa la cultivar da olio che negli ultimi anni sta riscuotendo maggior successo: la 'Tonda Iblea'. Il suo olio si contraddistingue per il caratteristico sentore di pomodoro (o foglia di pomodoro, come la chiamano alcuni assaggiatori) e l'armonico equilibrio dei sapori: annualmente si aggiudica premi nei concorsi nazionali di degustazione.

L'olivicoltura della Sicilia Occidentale si basa essenzialmente su tre cultivar: 'Biancolilla', 'Cerasuola' e 'Nocellara del Belice'.

La 'Biancolilla' non è una vera e propria cultivar bensì una cultivar-popolazione i cui frutti, prima dell'invaiaitura, mostrano un'attenuazione del colore che vira dal verde al biancastro.

Grazie alla sua variabilità genetica, le caratteristiche degli oli di Biancolilla sono molto variabili a secondo della zona di provenienza. L'olio di questa cultivar tende comunque a caratterizzarsi, dal punto di vista chimico, per il basso contenuto di acido oleico e la scarsa concentrazione di polifenoli.

Ha un sapore dolce con moderate note di amaro e piccante che lo rendono gradevole e

delicato.

La cultivar ‘Nocellara del Belice’ è la più importante per la quantità e la qualità del prodotto. Spesso è coltivata quasi in monocoltura nei territori del basso Belice che attualmente, con più di 1500 ha di superfici investite e produzioni di circa 3000 t, è il maggiore polo produttivo di olive da mensa di tutta la nazione.

Rappresenta anche la base genetica degli oli DOP ‘Valle del Belice’ e ha ricevuto anche il riconoscimento di ‘Denominazione di Origine Protetta Oliva Nocellara del Belice’.

Usata principalmente per la concia in verde, con il metodo *sevillano* o con quello alla *castelvetranese*, ma viene anche trasformata in nero, partendo da olive verdi, mediante un procedimento industriale di ossidazione in mezzo alcalino.

Alla ‘Nocellara del Belice’ e alla ‘Tonda Iblea’ si deve il successo degli oli siciliani di qualità fuori dalla Sicilia, nei mercati nazionali e internazionali.

La ‘Cerasuola’, tra le cultivar principali, si contraddistingue per le alte rese in olio e per le evidenti qualità nutraceutiche dei suoi oli che, grazie al giusto rapporto tra acidi grassi saturi, monoinsaturi e polinsaturi, all’abbondante patrimonio antiossidante, posseggono tutti i requisiti chimici che i nutrizionisti ricercano in un olio di oliva.

Tuttavia presenta indubbi aspetti negativi: è molto sensibile alla rogna dell’olivo, è androsterile ed è particolarmente vigorosa e assurgente.

Per quanto riguarda gli oli extravergini di oliva siciliani, la frammentazione varietale fa sì che, spostandosi da un capo all’altro dell’Isola le caratteristiche qualitative delle produzioni cambiano sensibilmente.

5. CARATTERIZZAZIONE VARIETALE

La perdita di biodiversità in agricoltura è un fenomeno che, oltre ad interessare la scomparsa di geni, indispensabili strumenti che permettono alla biosfera di adattarsi alle continue mutazioni ambientali, produce anche un depauperamento di paesaggi, sistemi produttivi, conoscenze e tradizioni ad essi legate. In virtù di tali considerazioni sono state adottate misure nazionali e comunitarie per il recupero e la conservazione di genotipi autoctoni nonostante la consapevolezza che recuperare la biodiversità di una specie è un lavoro lungo e complesso, che parte dalla raccolta e catalogazione delle presunte entità genetiche (*accessioni*) diffuse in una regione sino ad arrivare ad una rivalutazione dei caratteri agronomici e qualitativi delle produzioni.

Sono state proposte due diverse strategie per caratterizzare e preservare la biodiversità.

La prima si basa sulla conservazione *in situ*, cioè lo studio delle varietà nei luoghi dove vengono rinvenute. Tale strategia conservativa, utilizzata da molte nazioni, trova una giustificazione nei paesi in via di sviluppo, dove le conoscenze sulla biodiversità sono più scarse e dove spesso i costi di grossi programmi nazionali non sono affrontabili economicamente.

La tecnica di conservazione *in situ* richiede il coinvolgimento del territorio e la collaborazione di diverse figure quali agricoltori, tecnici e ricercatori, poiché prevede l'identificazione genetica e tassonomica delle specie (Sakai, 2000) e la conservazione di esse nelle aree d'origine al fine di proteggere le risorse biologiche mantenendone e rispettandone la crescita e lo sviluppo nel proprio ambiente naturale. A tal fine è necessaria l'istituzione di banche dati contenenti tutte le informazioni relative alle specie identificate e l'individuazione di aree protette naturali quali riserve genetiche, riserve di biosfera, parchi e oasi.

La conservazione *ex situ*, invece, prevede la caratterizzazione del germoplasma e la sua conservazione mediante propagazione in appositi campi di mantenimento (repositori) di centri specializzati. La costituzione di campi di conservazione *ex situ* è, infatti, il primo passo per discriminare, in un contesto colturale e agronomico uniforme, l'espressione fenotipica delle accessioni raccolte in un determinato territorio. Malgrado gli alti costi di gestione, tale metodologia comporta indubbi vantaggi nella esatta valutazione dei caratteri morfologici delle diverse accessioni, in quanto la presenza di piante in un unico luogo annulla il polimorfismo fenotipico indotto da diversi contesti colturali.

La tecnica di conservazione *ex-situ*, oltre a mantenere le risorse genetiche viene adottata per altri fini (Grassi, 2004), come, ad esempio, sviluppare nuove cultivar durante i programmi di miglioramento genetico, fornire popolazioni di riserva per consentire la sopravvivenza delle

specie durante le fasi di reintroduzione e ripopolamento o per favorire il recupero e la riabilitazione degli habitat; fornire materiale per l'industria, per l'agricoltura, per la formazione e la ricerca; assicurare, attraverso lo stoccaggio a lunga scadenza, materiale per i bisogni futuri.

Tuttavia entrambe le tecniche di conservazione presentano alcune problematiche:

- la conservazione *in situ* mantiene inalterate le funzioni e i processi ecologici permettendo di conservare le risorse genetiche delle varie specie, favorendone la continua evoluzione (Ledig 1986; Finkeldey e Gregorius, 1994), ma trova una grossa limitazione nella frammentazione degli habitat a causa dell'antropizzazione dei territori e nella conseguente contrazione delle popolazioni;
- la conservazione *ex situ*, invece, mantiene solo una parte della variabilità genetica dei taxa a causa della mancata interazione individuo/ambiente e della conseguente deriva genetica.

In conclusione un buon programma di conservazione della biodiversità deve prevedere un equilibrato bilanciamento tra i due tipi di conservazione (*in situ* ed *ex situ*).

Un importante contributo all'identificazione varietale è stato dato dai marcatori genetici: un marcatore genetico è un qualsiasi fattore ereditario (trasmissibile alla progenie) di cui esistano più varianti genotipiche.

I marcatori genetici si suddividono in:

- Marcatori morfologici;
- Marcatori biochimici;
- Marcatori molecolari.

5.1 Marcatori morfologici

In passato sono stati proposti diversi sistemi di classificazione basati su marcatori morfologici per fare ordine nel vasto panorama olivicolo. Ma spesso tali sistemi sono stati oggetto di critiche e polemiche perché ritenuti incompleti o insufficienti.

Primo tra tutti a proporre un metodo di classificazione fu il botanico J. Pitton Tournefort (1719) seguito da altri botanici, riuscendo a descrivere un buon numero di varietà di olivo, ma non una classificazione pratica, esatta e completa (Prevost e Mostardini, 1999). Successivamente in Spagna venne tentato un nuovo sistema di classificazione basato sull'analisi dei caratteri della foglia e del frutto da parte di S. de Rojas Clemente (1815), mentre in Italia nel 1819 Tavanti propose il nocciolo come carattere discriminante nella classificazione degli olivi coltivati, ritenendo che i caratteri dell'endocarpo fossero di

importanza fondamentale nello studio delle “razze” di olivo.

Ma il solo nocciolo nel tempo venne ritenuto insufficiente come carattere discriminante per cui nel 1917, in Francia, Ruby propose tre organi della pianta sui quali basare il sistema di classificazione: oltre al nocciolo anche il frutto e la foglia.

Una svolta decisiva venne data nel 1942 da Cifferi, Marinucci e Morettini che elaborarono una scheda elaiografica particolareggiata prendendo in esame diversi caratteri morfologici e biometrici di individui allevati in ambienti omogenei. Tale scheda, tutt’oggi usata e considerata il punto di partenza per gli studi sull’olivo, presentava tuttavia un limite riconosciuto anche dagli stessi autori: la consistente variabilità dei valori considerati ne rendeva impossibile l’esatta definizione, a causa delle diverse condizioni ambientali, e di tecniche di coltivazione. Inoltre, anche la terminologia adottata era molto soggettiva quindi vi potevano essere delle discrepanze nei significati attribuiti allo stesso termine ma da figure diverse (tecnico e ricercatore).

Nel 1985 l’UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants, fondato nel 1961 dalla convenzione internazionale per la protezione delle nuove varietà vegetali), propose una scheda che prese in considerazione tutti i caratteri della pianta: rami fruttiferi, foglie, infiorescenze, fiori, frutti ed endocarpo al fine di uniformare la metodologia di raccolta dei dati per classificare il germoplasma con una metodica omogenea e seguita da tutti i ricercatori del settore.

Diversi sono stati i tentativi di schede più complete delle preesistenti e più idonee alla classificazione ma senza successo. Solo nel 1998 Bartolini e collaboratori proposero una scheda pomologica semplificata riportante i dati del passaporto, i caratteri dell’albero e i caratteri agronomici quali la produttività, la resa in olio, la tolleranza a stress biotici e abiotici e, per la prima volta, furono introdotte importanti informazioni come la presenza di brevetti, di collezioni ma anche dati relativi alla caratterizzazione biochimica e molecolare.

Nel 2000 il COI (Consiglio Oleicolo Internazionale), uniformando le diverse metodologie proposte, ha pubblicato il “Catalogo Mondiale delle varietà di olivo” (Barranco et al.,2000) redatto attraverso schede descrittive “universali” adottabili per la classificazione delle cultivar presenti in tutte le zone coltivate ad olivo, sempre al fine di tutelare il patrimonio olivicolo. Nella lista, oltre ai caratteri descrittivi, viene espressa una valutazione bioagronomica sintetica, così da poter disporre i dati in tre gruppi: dati del passaporto; caratteri morfologici; considerazioni agronomiche e commerciali. Il primo gruppo riporta il nome più comune della cultivar presa in esame e i suoi sinonimi, nonché la zona dove è maggiormente presente, l’importanza che essa riveste nel territorio di riferimento e la

destinazione principale del frutto. I caratteri morfologici sono strutturati in base a descrittori quantitativi, indici biometrici e descrittori qualitativi come forme ed espressioni morfologiche. L'ultimo gruppo racchiude tutte le informazioni che possono tornare utili sia ai ricercatori che agli agricoltori e ai diversi operatori del settore a diverso titolo. (Barranco et al., 2000).

Negli ultimi anni l'analisi statistica della variabilità dei singoli caratteri ha affermato che oltre a caratteri morfologici scarsamente discriminanti, foglie, drupe e nocciolo sono i più idonei per la caratterizzazione morfologica in quanto stabili ma tuttavia sempre insufficienti all'identificazione del complesso assetto varietale dell'olivo, spesso non identificabile con cultivar monoclonali, ma rappresentato da cultivar-popolazioni o da popolazioni di cloni (Bartolini et al., 1992; Caruso et al., 2014).

Nelle recenti schede elaiografiche i suddetti parametri vengono integrati con analisi chimico-organolettiche dell'olio e con dati provenienti dalla caratterizzazione molecolare attraverso l'utilizzo di diversi marcatori genetici.

5.2 Marcatori biochimici

I marcatori biochimici sono geni che codificano per isozimi e proteine di riserva, impiegate come marcatori per identificare specie e cultivar. La variabilità è osservabile attraverso analisi biochimiche.

Nell'olivo sono state studiate le proteine di riserva del seme (Durante et al., 1992) e le proteine totali delle foglie (Petruccelli, 1992).

Poiché gli isoenzimi sono isoforme di uno stesso enzima le differenze dei profili elettroforetici consentono di evidenziare il polimorfismo isoenzimatico e quindi le differenze varietali di una popolazione e le relazioni genetiche tra esse intercorrenti.

Purtroppo i marcatori biochimici non sono molto numerosi, rappresentano meno dell'1% dei geni strutturali di un intero genoma e le sostituzioni nucleotidiche a livello del DNA vengono identificate solo in parte, perché le variazioni non sempre si verificano a carico degli amminoacidi proteici. Di conseguenza essi hanno trovato un discreto impiego nell'analisi delle relazioni genetiche tra popolazioni (Gottlieb, 1981) e nell'identificazione di cultivar di olivo (Pontikis, 1980; Trujillo et al., 1989; Roselli et al., 1990; Petruccelli, 1992), ma limitato nello studio della variabilità genetica intra-cultivar.

5.3 Marcatori molecolari

La recente introduzione di marcatori del DNA e delle tecniche di DNA fingerprinting ha consentito di risolvere alcuni dubbi sulla tassonomia all'interno del genere *Olea*, ha permesso di risolvere problemi di errata identificazione in collezioni e di certificazione vivaistica e ha dato una svolta decisiva allo studio della variabilità delle cultivar e del genoma di olivo. I marcatori molecolari rivelano differenze (polimorfismi) a livello della sequenza nucleotidica del DNA, dovute ad inserzioni, delezioni, duplicazioni, traslocazioni e mutazioni puntiformi.

Diversi sono i vantaggi dei marcatori molecolari: rivelano siti presunti "neutrali" di variazioni a livello della sequenza del DNA; sono abbondanti nel genoma per cui consentono di identificare differenze anche tra individui geneticamente simili e non facilmente distinguibili dal punto di vista fenotipico; consentono di distinguere l'omozigote dall'eterozigote poiché possono avere espressione co-dominante e non sono influenzati dall'ambiente o dallo stadio fenologico della pianta (Kumar et al., 2009). Esistono fondamentalmente due tipi di marcatori molecolari: quelli che si basano sull'ibridazione di due frammenti di DNA e quelli che prevedono l'amplificazione artificiale di frammenti di DNA mediante la cosiddetta PCR (*DNA-Polymerase Chain Reaction*).

I marcatori basati sulla tecnica di ibridazione sono gli RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) (Beckman e Soller, 1986), essi sono di tipo co-dominante, permettono cioè di distinguere i loci omozigoti per ciascuno dei due loci marcatori dall'eterozigote. L'analisi consiste nella valutazione delle differenze in peso molecolare, numero e dimensioni dei frammenti che si ottengono digerendo il DNA genomico con enzimi di restrizione. Tali enzimi riconoscono specifiche sequenze nucleotidiche di quattro o sei coppie di basi e in corrispondenza delle sequenze tagliano il DNA. I Restriction Fragment Length Polymorphism sono proprio i frammenti così ottenuti. Un campione di DNA genomico viene digerito con enzimi di restrizione e i frammenti ottenuti vengono sottoposti a corsa elettroforetica su gel d'agarosio o di poliacrilammide: sarà possibile quindi osservare uno "smear", cioè una striscia continua e non bande nette poiché il DNA genomico digerito presenta tantissimi punti di taglio, quindi sul gel si troveranno tantissimi frammenti che migreranno con velocità diverse in base al diverso peso molecolare. Successivamente il gel viene immerso in una soluzione alcalina per denaturare il DNA, di solito una soluzione di NaOH per un tempo pari a 15 minuti. Un foglio di nitrocellulosa o nylon a carica positiva viene posto sopra il gel con sopra una pila di fogli assorbenti. La soluzione tenderà, per capillarità, ad attraversare il gel, il

foglio di nitrocellulosa e a risalire nei fogli assorbenti. I segmenti di DNA vengono trascinati perfettamente in verticale dai sali e depositati sullo strato di nitrocellulosa con il quale i segmenti instaurano legami elettrostatici (le cariche negative dei gruppi fosfato del DNA si legano alle positive della membrana). In questo passaggio il DNA non sale grazie a una forza elettrica come nella prima elettroforesi ma solo per capillarità. Gel e foglio di nitrocellulosa vengono separati e le cariche positive vengono saturate con DNA eterologo. Nell'ultima fase, il foglio di nitrocellulosa viene immerso in una soluzione contenente una sonda marcata in vario modo (fluorescenza, radioattività che ibridizza con sequenze di DNA complementari presenti sul foglio, identificandole. La sonda viene creata con tecniche di amplificazione del DNA. Il foglio di nitrocellulosa viene quindi lavato per eliminare le sonde non ibridate ed esposto a pellicola radioattiva che metta in evidenza dove la sonda ha legato il DNA genomico.

I principali vantaggi di questa tecnica sono rappresentati dalla quantità di polimorfismo rilevabile variando semplicemente le combinazioni sonda-enzima, dalla ripetibilità dei risultati.

Gli RFLP sono particolarmente idonei per la costruzione di mappe genetiche in quanto codominanti, distribuiti in modo uniforme sul genoma, mancano di effetti pleiotropici, sono ereditabili in maniera stabile e secondo le leggi mendeliane.

Gli svantaggi consistono nella complessità della tecnica, come la necessità di disporre di sonde variabili o la scelta dell'enzima di restrizione, le difficoltà legate all'impossibilità di automatizzare le procedure e alla necessità di ricorrere all'uso di traccianti radioattivi. La suddetta tecnica è stata impiegata per creare la prima mappa di linkage in olivo da De la Rosa e collaboratori (2003).

I RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) si basano sull'amplificazione in PCR di regioni casuali di DNA, mediante primers arbitrari di 10-20 bp. I frammenti vengono separati su gel di agarosio, colorati con etidio bromuro e osservati con luce ultravioletta. Manifestano una buona capacità discriminante perché consentono di ottenere un elevato numero di frammenti polimorfici. Tale numero dipende dalla sequenza del primer e dalla dimensione del DNA genomico in esame.

Questi marcatori sono molto diffusi grazie al basso costo, ma nello stesso tempo hanno come limite una bassa ripetibilità dell'amplificazione e trasferibilità dei risultati tra i laboratori, poiché il metodo è influenzato dal protocollo di estrazione di DNA e anche dalla tipologia delle apparecchiature utilizzate. È stato abbastanza usato per sondare il polimorfismo di cultivar di olivo (Fabbri et al., 1995) ai fini della identificazione varietale e

per lo studio delle relazioni esistenti tra le accessioni (Belaj et al., 2004, Ganino e Fabbri, 2005). Inoltre, utilizzati insieme agli RFLP, sono stati di fondamentale importanza per la classificazione tassonomica del genere *Olea* (Besnard et al., 2002).

L'Amplified fragment length polymorphism (AFLP) è una tecnica basata sulla PCR combinata con la digestione del DNA con enzimi di restrizione. In una prima fase il DNA genomico viene digerito con due enzimi di restrizione a diversa frequenza di taglio (bassa e alta). Successivamente a ciascuna estremità dei frammenti così ottenuti vengono aggiunte delle sequenze chiamate adattatori, legate tramite l'enzima ligasi. Si procede poi ad una pre-amplificazione attraverso PCR, impiegando primer costruiti sugli adattatori ma estesi di uno/due/tre basi casuali all'estremità 3' così da amplificare solo una parte di frammenti ottenuti. Questi sono poi sottoposti ad elettroforesi su gel di poliacrilamide o più di recente per elettroforesi capillare, al fine di separare i frammenti in base alle loro dimensioni. I polimorfismi di tali frammenti servono a discriminare i genotipi in studio.

Tra i vantaggi legati all'impiego degli AFLP sicuramente vanno citati: l'elevato livello di polimorfismo; la riproducibilità; l'identificazione di molti loci per gel. Possono essere marcatori dominanti polimorfici per mutazione nel sito di legame dei primer o codominanti (mutazione interna alla sequenza da amplificare). Il limite del loro utilizzo consiste nella elevata quantità e qualità di DNA da utilizzare, tuttavia sono validi strumenti per l'analisi di linkage, mappatura e fingerprinting.

Anche gli AFLP hanno dato il loro contributo nella comprensione delle relazioni di affinità genetica tra diverse forme di *Olea* e l'olivo coltivato, incrementando le informazioni sulle distanze genetiche tra diversi areali geografici (Angiolillo et al., 1999; Ambrosino et al., 2002).

I microsatelliti o SSR (*Simple Sequence Repeat*) sono brevi sequenze ripetute di DNA non codificante (1-6 bp) ripetute in tandem un numero n volte (Morgante e Oliveri, 1993). La sequenza ripetuta può essere di un nucleotide, un trinucleotide o un tetranucleotide, ma nelle piante la più frequentemente ripetuta è la frequenza A-T. Sono molto abbondanti nel genoma, 1 frequenza SSR ogni 50 kb, e presentano un alto livello di variabilità all'interno della specie, per cui sono molto utili per il fingerprinting e per la mappatura. Per l'analisi degli SSR si procede alla loro amplificazione mediante PCR, utilizzando primers complementari alle sequenze fiancheggianti il microsatellite, di solito molto conservate, non solo tra individui di una stessa specie, ma anche tra specie di una stessa famiglia. Anche gli SSR mostrano come vantaggi elevata riproducibilità e alto grado di polimorfismo, tanto da consentire l'identificazione fino a dieci alleli per locus. Attualmente vengono impiegati per

l'identificazione varietale e la costruzione di mappe genetiche.

Nel campo dell'olivo sono stati molto utilizzati: ad esempio, nel 2003 Belaj e collaboratori hanno impiegato gli SSR insieme a RAPD e AFLP per valutare le relazioni genetiche esistenti tra cultivar spagnole e cultivar italiane; Caruso et al., (2005) li hanno utilizzati per la caratterizzazione del germoplasma presente sul territorio siciliano e di recente per lo studio intravarietale (Caruso et al., 2014).

6. COMPOSIZIONE CHIMICA DELL'OLIO EXTRAVERGINE DI OLIVA

La composizione chimica dell'olio di oliva è data per il 98-98,5% del peso totale da una frazione saponificabile dei gliceridi e per il restante 1,5-2% da una frazione insaponificabile (costituenti minori).

La frazione saponificabile è composta da trigliceridi, gliceridi parziali, fosfolipidi (40-135mg/Kg), acidi grassi liberi e cere. I trigliceridi sono esteri del glicerolo in cui al posto degli atomi di H dei gruppi ossidrilici (OH) sono presenti catene di tre acidi grassi a media o lunga catena. Il glicerolo è un alcol costituito da una catena di tre atomi di carbonio con un gruppo OH legato ad atomi di C. Gli acidi grassi sono uniti all'alcol tramite legami esteri (reazione di condensazione) con eliminazione di una molecola di acqua. Sono fonte di energia per l'organismo, ma svolgono anche un ruolo strutturale e funzionale. Essi apportano acidi grassi essenziali non riproducibili dall'organismo, favoriscono l'assorbimento di vitamine liposolubili, hanno azione plastica sulla strutturazione delle membrane cellulari, effetto protettivo, soprattutto gli acidi grassi insaturi, per l'azione verso i radicali liberi e il colesterolo nell'organismo. In particolare gli acidi grassi a catena media (MCT) e lunga (LCT) da 14 e 16 atomi di carbonio hanno prevalentemente funzione energetica, mentre gli acidi grassi con 18 e più atomi di carbonio, tra i quali gli acidi grassi essenziali (EFA), linoleico (LA:18:2 omega-6) e alfa-linolenico (LNA: 18:3 omega-3), sono i principali componenti delle membrane cellulari, dove svolgono azione strutturale e funzionale regolandone la fluidità, le attività enzimatiche, di trasporto e recettoriali e costituiscono i precursori di mediatori intra ed intercellulari.

I trigliceridi si distinguono in acidi grassi saturi e insaturi. Tra gli insaturi, caratterizzati dalla presenza di doppi legami C=C, l'acido oleico (monoinsaturo) rappresenta il 75%, seguito da acidi linoleico e linolenico.

Gli acidi grassi saturi sono rappresentati da acido palmitico (7-15%) e stearico (2-6%). La composizione in percentuale degli acidi grassi varia in funzione della cultivar e delle condizioni climatiche ed agronomiche. Gli acidi grassi liberi se abbondanti, espongono l'olio all'ossidabilità a partire dai radicali liberi, aumentando l'acidità dell'olio e favorendo l'irrancidimento.

La frazione insaponificabile è costituita da costituenti minori ma che sono responsabili di proprietà importanti degli oli come i profumi (fruttato), gli odori (mela, carciofo, mandorla, pinolo, erba, foglia), i gusti tipici (amaro, piccante, dolce) e le proprietà biologiche quali le capacità antiossidanti, conservanti e salutari. Si tratta nello specifico di idrocarburi saturi e di idrocarburi insaturi, alcoli alifatici superiori, alcoli di-e tri-terpenici, steroli e metilsteroli,

tocoferoli e tocotrienoli, carotenoidi (luteina e beta-carotene) e clorofille.

Gli idrocarburi (0,15-0,8%) sono composti esclusivamente da carbonio e idrogeno. Il componente preponderante dell'insaponificabile e degli idrocarburi insaturi è lo squalene, precursore degli steroli, presente in quantità che vanno da 125 a 800 mg/100g. E' un intermedio della biosintesi del colesterolo, stimola l'acetil-coenzima A, fondamentale nel metabolismo degli acidi grassi e degli amminoacidi, precursore dell'HMG-CoA, componente basilare delle vie di sintesi del colesterolo: regola il processo di assorbimento, sintesi, esterificazione ed eliminazione del colesterolo.

Le clorofille rappresentano la parte dei componenti aromatici.

I maggiori composti antiossidanti dell'olio di oliva sono i polifenoli, che includono fenoli lipofili ed idrofili e i carotenoidi (Boskou, 1996; Shahidi, 1996), rappresentati dalla luteina e dal β -carotene. Quest'ultimo è il precursore della vitamina A, responsabile del colore giallo-arancio, presente ad una concentrazione pari a 0,5-10 mg/kg; svolge l'azione di proteggere l'olio dall'ossidazione provocata dalla luce (fotossidazione). Tra gli antiossidanti dell'olio di oliva i tocoferoli sono presenti in quantità comprese tra 5 e 300 mg/Kg (ppm). I tocoferoli α sono predominanti e svolgono una maggiore attività vitaminica rispetto all'attività antiossidante, mentre le forme β e γ non superano, insieme, il 10% del contenuto in α -tocoferolo (Di Maio, 2012).

Le sostanze fenoliche, presenti al 2-3% nelle olive fresche, si originano durante il processo meccanico di estrazione e si concentrano nell'olio in 200-500ppm, dove diminuiscono all'aumentare della temperatura.

A differenza dei tocoferoli, che sono contenuti anche in altri oli vegetali, alcuni fenoli idrofili sono caratteristici dell'olio vergine di oliva e gli conferiscono peculiari proprietà sensoriali e salutistiche che lo rendono un prodotto unico (Boskou, 1996; Shahidi, 1996). I derivati dell'oleuropeina e della demetiloleuropeina come il 3,4-DHPEA-EDA e il 3,4-DHPEA-EA sono i principali responsabili della nota di amaro dell'olio vergine di oliva (Kiritsakis, 1998; Garcia et al., 2001).

Tovar et al., (2001) hanno evidenziato una forte correlazione tra le note gustative di amaro e di pungente e il p-HPEA-EDA. Studi condotti da Gutiérrez-Rosales et al., (2003) hanno confermato che il 3,4-DHPEA-EDA, il 3,4-DHPEA-EA e il p-HPEA-EDA sono i composti maggiormente correlabili al gusto amaro dell'olio vergine di oliva.

Andrewes et al., (2003) hanno osservato che il p-HPEA-EDA è il composto in assoluto più responsabile della nota gustativa di bruciore/pungenza; questo risultato è stato confermato da Beauchamp et al., (2005).

I polifenoli dell'olio di oliva sono presenti in specifiche classi di fenoli idrofili tra cui acidi e alcoli fenolici, flavonoidi, secoiridoidi e lignani.

Gli acidi fenolici sono rappresentati da acido caffeico, vanillico, siringico, p-cumarico, ocumarico, protocatetico, sinapico, p-idrossibenzoico e gallico. Alla classe degli alcoli fenolici appartengono l'idrossitirosolo 3,4-DHPEA (3,4-diidrossifenil-etanolo) e il tirosolo (p-idrossifenil-etanolo) o p-HPEA (Montedoro et al., 1992). Alcuni composti dei lignani sono contenuti nella polpa delle olive e nella porzione legnosa del seme e passano nell'olio durante il processo di estrazione meccanica. La loro concentrazione nell'olio è fortemente influenzata dalle condizioni agronomiche di coltivazione mentre, a differenza dei secoiridoidi, non risente dei parametri tecnologici di estrazione (Servili et al., 2004).

I secoiridoidi, presenti solo nelle oleaceae, sono contenuti in maggiore quantità nell'olio, nella forma dialdeidica dell'acido decarbossimetil elenolico legato all'idrossitirosolo o al tirosolo (3,4-DHPEA-EDA o p-HPEA-EDA); un isomero dell'oleuropeina aglicone (3,4-DHPEA-EA) e il ligustroside aglicone (p-HPEA-EA) (Montedoro et al., 1992).

Le fasi critiche del processo di estrazione meccanica dell'olio, frangitura, gramolatura e separazione causano una grande variazione nella concentrazione dei secoiridoidi dell'olio vergine di oliva (Servili et al., 2004; Servili et al., 2007), poiché la loro presenza è strettamente legata all'attività di diversi enzimi endogeni del frutto. I secoiridoidi agliconi quali il 3,4-DHPEA-EDA, il p-HPEA-EDA, il p-HPEA-EA e il 3,4-DHPEA-EA si originano durante la fase di frangitura per idrolisi dell'oleuropeina, della demetiloleuropeina e del ligustroside per azione della β -glucosidasi endogena (Lo Scalzo et al., 1993; Uccella et al., 1999).

Ricerche condotte sull'influenza delle sostanze fenoliche sulla stabilità dell'olio all'ossidazione hanno evidenziato che essa è legata ai derivati dell'oleuropeina e della demetiloleuropeina, mentre l'incidenza di altri componenti quali i tocoferoli, i lignani e i derivati del ligustroside risulta marginale (Servili et al., 2009).

I derivati dell'oleuropeina e del ligustroside rappresentano buona parte della frazione fenolica totale dell'olio d'oliva.

Tra gli altri componenti vanno inoltre citate le vitamine liposolubili A, D, PP, H e molti composti volatili, circa 180, che sono alla base degli aromi dell'olio.

Anche a concentrazioni molto basse gli antiossidanti svolgono l'azione di rallentare l'insorgenza dei processi di ossidazione. Si possono distinguere tre gruppi di antiossidanti:

- 1) Antiossidanti di tipo I: inattivano i radicali liberi donando loro idrogeno, trasformandosi in radicali molto più stabili per effetto della delocalizzazione dell'elettrone

spaiato nell'anello aromatico; il risultato consiste nell'aumento del periodo di induzione in seguito ad una diminuzione della velocità delle reazioni radicaliche in proporzione alla concentrazione dell'antiossidante usato. Se l'antiossidante viene aggiunto ad una matrice già ossidata non è più in grado di ostacolare il processo ossidativo. I tocoferoli ed in generale tutte le sostanze a struttura fenolica presenti nell'olio vergine di oliva sono antiossidanti appartenenti a questo gruppo.

2) Antiossidanti del tipo II: agiscono prima della fase di propagazione, operando sulla velocità di innesco e regolando le fonti dei radicali liberi. Si tratta in generale di agenti chelanti che agiscono sui metalli, catalizzatori delle reazioni di ossidazione, inattivandoli: tra questi agenti vi è anche l'acido citrico. Risultano scarsamente efficaci ad alte temperature.

3) Antiossidanti del tipo III: non agiscono sulle reazioni di ossidazione ma sui fattori che le favoriscono, come temperatura, umidità, luce e disponibilità di ossigeno.

I polifenoli, antiossidanti di tipo I, inibiscono l'ossidazione dell'olio inattivando i radicali alchilperossidici generati dall'autossidazione lipidica: cedono un radicale idrogeno trasformandosi in radicali molto più stabili. Il radicale così formato dalla reazione di un fenolo con un radicale lipidico è stabilizzato dalla delocalizzazione dell'elettrone spaiato nell'anello aromatico. La stabilità del radicale fenossilico riduce la velocità della fase di propagazione della reazione di autossidazione lipidica.

La relazione tra polifenoli e shelf-life dell'olio di oliva con le sue proprietà nutrizionali ed edonistiche è stata studiata attraverso metodi di ossidazione accelerata come l'AOM (Active Oxygen Method) e il Rancimat (Baldioli et al., 1996; Pirisi et al., 2000; Brenes et al., 2000).

L'elevata attività antiossidante del 3,4-DHPEA tra i diversi fenoli idrofili è stata confermata da ricerche condotte da Servili e collaboratori (2004), e comprovata da ulteriori indagini attraverso l'utilizzo del Rancimat test in diversi secoiridoidi isolati dall'olio di oliva (Baldioli et al., 1996), evidenziando come gli o-difenoli tra cui, 3,4-DHPEA, 3,4-DHPEA-EDA e 3,4-DHPEA-EA hanno una maggiore attività antiossidante rispetto al p-HPEA e all' α -tocoferolo. Risulta così evidente che i secoiridoidi che contengono il 3,4-DHPEA nella loro struttura molecolare mostrano una più elevata attività antiossidante.

Il crescente interesse nei confronti dell'olio di oliva è legato alle importanti attività biologiche in cui sono coinvolti gli antiossidanti in esso presenti, ormai riconosciute a livello clinico e nutrizionale, senza tralasciare l'importante azione protettiva nei confronti dell'olio stesso e della sua shelf-life.

L'olio di oliva contribuisce all'apporto di specifici antiossidanti in grado di contrastare

alcuni disturbi cronico-degenerativi come le malattie infiammatorie, cardiovascolari e il cancro (Mangas-Cruz et al., 2004).

I radicali liberi dell'ossigeno, ROS, responsabili del cosiddetto "stress ossidativo", alla base delle malattie croniche e dell'invecchiamento, provocano l'ossidazione di lipoproteine a bassa densità (LDL), contribuendo alla formazione di lesioni ateriosclerotiche (Berliner et al., 1995), a possibili mutazioni del DNA, che sono alla base della carcinogenesi (Nakae et al., 1997). Inoltre sono responsabili di danni alla mucosa del colon in malattie infiammatorie dell'intestino, di coliti ulcerose e del morbo di Crohn a causa del loro accumulo sulla parete dell'epitelio (Orlando, 2002). L'azione dei radicali liberi dell'ossigeno (ROS) viene inibita dall'effetto protettivo degli antiossidanti (Viola, 2006). Diversi studi hanno evidenziato che le mutazioni del DNA aumentano con l'età (Giovannelli et al., 2003) e che lo stress ossidativo sembra essere correlato con le malattie neurodegenerative come il morbo di Parkinson (Jenner et al., 1996). L'assunzione di antiossidanti ha manifestato risultati positivi su diversi aspetti ossidativi e degenerativi, come la riduzione del rischio di cancro al seno (Martin-Moreno et al., 1994; Trichopoulou et al., 1995; La Vecchia et al., 1995), alla prostata (Hodge et al., 2004), al pancreas (Soler et al., 1998), al polmone (Fortes et al., 2003), alla laringe (Bosetti et al., 2002), all'esofago (Bosetti et al., 2003), all'ovaio (Bosetti et al., 2002) e al colon (Stoneham et al., 2000). E' stato dimostrato che il 3,4-DHPEA è in grado di inibire l'aggregazione delle piastrine (Petroni et al., 1995). Studi sperimentali hanno inoltre evidenziato che il 3,4-DHPEA, ma anche l'estratto fenolico dell'olio vergine di oliva e altri composti purificati come il 3,4-DHPEA-EDA e il p-HPEA-EDA, sono capaci di indurre l'apoptosi di cellule tumorali nel carcinoma del colon e del seno, del melanoma e in alcune cellule leucemiche (Fabiani et al., 2006). I composti che possiedono un gruppo o-difenolico nella struttura molecolare hanno una maggiore attività antiossidante, confermando la donazione di un radicale idrogeno del gruppo ossidrilico dell'anello benzenico ai radicali liberi.

Dalle osservazioni in vitro è emerso che anche a concentrazioni molto basse (1-10 μM), il 3,4-DHPEA manifesta la sua capacità di inibire la fase iniziale della carcinogenesi.

Al p-HPEA-EDA, denominato "oleocantale", viene attribuita l'azione di inibire l'attività degli enzimi ciclossigenasi COX-1 e COX-2 che catalizzano le reazioni all'interno della via biochimica infiammatoria dell'acido arachidonico, svolgendo così un effetto farmacologico simile a quello dell'ibuprofene, analgesico e potente riduttore dell'infiammazione (Beauchamp et al., 2005).

Gli effetti chemopreventivi mostrati dagli estratti fenolici in vari studi risultano diversi

non tanto perché legati alla concentrazione, ma alla composizione degli stessi.

Anche ai lignani viene riconosciuta una piccola attività pro-apoptotica, sebbene risultino più resistenti al trattamento termico rispetto al tirosolo e all'idrossitirosolo.

6.1 I claim salutistici dell'European Food Safety Authority (EFSA).

Negli ultimi anni alcuni cibi hanno assunto un ruolo importante nell'alimentazione umana non solo come nutrimento ma anche per la capacità di fornire benefici alla salute soprattutto in termini preventivi, grazie alla presenza di particolari composti capaci di variare le funzioni cellulari e potenziare i meccanismi di difesa dell'organismo.

Le particolari proprietà degli alimenti vengono oggi comunemente indicate con il termine *nutraceutico*, che fa riferimento alle proprietà curative di una sostanza dell'alimento, e con il termine *funzionale* (o farmalimento) che identifica l'intero cibo dotato di proprietà benefiche sulla salute.

Il concetto di alimento funzionale ("Foods for Specified Health Use" - FOSHU) ha avuto origine in Giappone sul finire degli anni 80', con il riconoscimento, da parte delle autorità sanitarie, della necessità di migliorare la qualità e, parallelamente, l'aspettativa di vita della popolazione.

Per evitare la speculazione dettata dal successo degli alimenti funzionali, attribuendo tale termine anche a cibi dalle qualità meno nobili e non supportato da risultati scientifici, alcuni Paesi hanno regolamentato le procedure per la loro certificazione.

Negli Stati Uniti, ad esempio, non esistono esami, verifiche o criteri dettati dalle autorità di controllo per etichettare un alimento come funzionale, per cui al consumatore non rimane che verificare se nell'etichetta è presente o meno la cosiddetta "health claims", rivendicazione salutistica o affermazione relativa ai presunti effetti sulla salute o su alcuni stati patologici, che possono apparire solo previa approvazione della FDA (Food and Drug Administration).

In Europa, per favorire una corretta informazione verso scelte alimentari più consapevoli e corrette e per evitare che ingannevoli slogan pubblicitari sulle virtù di determinati alimenti, volte ad indurre un aumento del consumo di un dato alimento ad un surplus di prezzo non giustificato, il Parlamento Europeo, su proposta della Commissione europea, ha varato il regolamento (CE) n. 1924/2006 del 20 dicembre 2006, che disciplina le "indicazioni" nutrizionali e sulla salute (claim) da introdurre nelle etichette degli alimenti e/o divulgati con la pubblicità. Il testo finale è stato pubblicato, a seguito di rettifica, nella Gazzetta ufficiale dell'Unione europea n.12, Serie L, del 18 gennaio 2007. Si tratta di informazioni veritiere, poste sulle confezioni degli alimenti per spiegare quali vantaggi per la

salute si possono trarre dal loro consumo, senza però attribuire all'alimento proprietà idonee a prevenire, curare e/o guarire malattie.

L'indicazione nutrizionale o sulla salute può essere utilizzata solo se basata su risultati scientifici, sottoposta alla validazione da parte dell'European Food Safety Authority (EFSA).

La normativa definisce categorie di indicazioni in base a requisiti specifici degli alimenti così da avere:

-claim nutrizionali, in relazione al contenuto di energia o nutrienti, come ad esempio "a basso contenuto calorico", "ad alto contenuto di proteine", ecc.

-claim salutistici, in relazione al beneficio che può apportare alla salute, stabilendone le relative condizioni, come ad esempio "La vitamina D contribuisce a normali livelli di calcio nel sangue".

-claim relativi alla riduzione di un rischio di malattia.

Il Regolamento n. 432 del 16 maggio 2012 pubblicato sulla Gazzetta Europea n. L136 e rettificato con quello pubblicato nella Gazzetta europea L 154 del 15 giugno 2012, relativo alla compilazione di un elenco di indicazioni sulla salute consentite sui prodotti alimentari, contiene la lista di claim di salute autorizzati, ai sensi dell'art. 13.1 del Reg.1924/2006.

Le indicazioni sulla riduzione dei rischi di malattia e quelle che si riferiscono allo sviluppo e alla salute dei bambini possono essere fornite solo se ne è stato autorizzato l'inserimento in un elenco comunitario (art. 14).

Al processo di autorizzazione si ricorre sia nel caso di innovazioni tecnologiche (nuovi enzimi, ingredienti probiotici), sia nel caso di nuove scoperte sulle caratteristiche degli alimenti (proprietà antinfiammatorie di polifenoli e componenti minori dell'olio extravergine di oliva).

L'EFSA, per stimolare ed incrementare la ricerca e l'innovazione anche per le Piccole e Medie Imprese, definisce i profili nutrizionali specifici e le condizioni, comprese le esenzioni, cui devono attenersi gli alimenti o talune loro categorie per esibire in etichetta indicazioni nutrizionali o sulla salute.

I profili nutrizionali di un alimento vengono definiti in base alle quantità di determinate sostanze nutritive in esso presenti, come grassi, acidi grassi saturi etc.; al ruolo, all'importanza e al contributo dell'alimento nella dieta della popolazione in genere o di certi gruppi a rischio, compresi i bambini, e alla presenza di sostanze nutritive il cui effetto sulla salute sia stato scientificamente riconosciuto. Nella vasta gamma dei prodotti funzionali è inserito anche l'olio extravergine di oliva dotato di particolari caratteristiche nutrizionali.

Ricerche condotte sul ruolo dei polifenoli contro l'ossidazione delle lipoproteine a

bassa densità (LDL), hanno dimostrato l'efficacia protettiva sul processo di deposito dei grassi nelle arterie, con una riduzione della probabilità di malattie cardiovascolari, quali l'aterosclerosi e l'infarto.

In virtù di tali acquisizioni scientifiche l'EFSA ha inserito nell'apposito elenco (regolamento Ue 432/2012) la dicitura “*i polifenoli dell'olio di oliva contribuiscono alla protezione dei lipidi ematici dallo stress ossidativo*”, che può essere apposta in etichetta. Tale indicazione deve essere accompagnata dalla frase: “L'effetto benefico si ottiene con l'assunzione giornaliera di 20 g di olio d'oliva”. L'indicazione è utilizzabile solo per l'olio extra vergine d'oliva che contiene almeno 5 mg di idrossitirosolo e suoi derivati (ad esempio, complesso oleuropeina e tirosolo) per 20 g di olio d'oliva. Il limite dei 20g fissato dall'EFSA deriva dall'elevato potere calorico dell'olio di oliva e degli effetti negativi all'organismo che scaturirebbero dall'assunzione di dose superiore.

Altro claim salutistico ammesso per l'olio di oliva riguarda la vitamina E che deve essere contenuta in dose superiore o uguale a 80 mg/1000g di alfa tocoferolo (vitamina E), equivalente al 15% della dose giornaliera raccomandata (10 mg in base alla Direttiva 90/496/CEE). Normalmente l'olio d'oliva contiene 200-220 mg/1000g di vitamina E.

Gli oli con un adeguato contenuto di alfa tocoferolo possono riportare in etichetta la dicitura “*fonte di vitamina E*”, unitamente al relativo claim salutistico: “*la vitamina E contribuisce alla protezione delle cellule dallo stress ossidativo*”.

7. SCOPO DELLE RICERCHE

Il settore olivicolo e oleario negli ultimi decenni sta vivendo una fase di espansione sia a livello di consumi che di produzioni.

Il consumo di olio d'oliva è in rapida crescita determinata dall'aumento della popolazione e dall'affermarsi di nuovi stili alimentari, riconducibili in gran parte alla ormai diffusa "dieta mediterranea", non soltanto nei paesi mediterranei, ma anche in quelli in via di sviluppo (ISMEA, 2006; Carman, 2007).

L'incremento dei consumi e lo sviluppo strutturale, infrastrutturale e commerciale del settore hanno dato impulso, in molte aree del Mediterraneo, alla produzione di olive e di olio d'oliva, incoraggiando così gli scambi commerciali (Calatrava Requena e González Roa, 2008). Le variazioni di produzioni e consumi avvenute negli ultimi anni hanno modificato sostanzialmente i rapporti di forza tra i principali paesi produttori (Anania e Pupo D'Andrea, 2008).

L'Italia non ha assecondato prontamente tali mutamenti e pertanto ha perso importanti quote di mercato. Attualmente, le produzioni oleicole italiane non risultano nemmeno sufficienti a coprire la domanda interna di olio per cui ogni anno vengono importate circa 550.000 t di olio di cui una quota viene utilizzata per l'esportazione (ISMEA 2013).

Sul piano strutturale, la mancata introduzione di innovazioni agronomiche non ha permesso al comparto di raggiungere livelli di efficienza economica tali da consentire una crescita economica al pari di quella riscontrata nei principali paesi competitors (Anania et al., 2001; Idda et al., 2004; Finco et al., 2008).

Di certo l'Italia si è sempre contraddistinta per la qualità dell'olio di oliva, apprezzato a livello internazionale, soprattutto per gli oli extravergini e, tra questi, gli oli a marchio di origine controllata e di qualità, spesso inseriti in particolari settori commerciali remunerativi, come, ad esempio, il biologico (Del Giudice e D'Elia, 2001; Meloni, 2001; ISMEA 2006).

Una parte del successo che l'olio extravergine di oliva sta riscuotendo si deve certamente alle attività promozionali da parte delle imprese di trasformazione e di distribuzione, che hanno consentito di spuntare sui mercati prezzi sensibilmente più alti rispetto agli oli di oliva tradizionali.

Finora questa fetta di mercato ha rappresentato una nicchia, a causa dei costi di produzione molto elevati; così l'Italia da un lato mostra delle eccellenze che le fanno meritare premium price per l'apprezzata qualità degli oli d'oliva ma, nel contempo, ha perso paradossalmente negli ultimi decenni, competitività.

Il mancato adeguamento alle moderne tendenze strutturali, ha comportato costi di

produzione maggiori a quelli sostenuti dagli altri Paesi produttori.

Molti dei nuovi oliveti realizzati negli ultimi trent'anni, pur caratterizzati da specializzazione varietale, da una maggiore densità di piantagione (200-500 piante/ha) e dall'adozione di forme di allevamento in volume (vaso, vaso policonico, vaso globoso), adatte alla meccanizzazione della raccolta mediante l'impiego di vibratori da tronco muniti di ombrello intercettatore, sono tuttavia riconducibili a sistemi sostanzialmente 'tradizionali'. Si tratta, in particolare, di modelli d'impianto il cui grande vantaggio è rappresentato in larga parte dalla possibilità di utilizzare tutte le cultivar del vasto panorama varietale italiano, mantenendo la tipicità degli oli e riducendo i costi di produzione.

Tuttavia, non è ancora attuabile un'ulteriore riduzione dei costi, con le conoscenze ad oggi acquisite, in quanto la meccanizzazione della raccolta applicabile ai suddetti modelli d'impianto è di tipo discontinuo (Godini e Bellomo, 2002). Gli interventi di potatura richiedono sempre manodopera, anche nel caso di potatura agevolata.

Da quanto esposto risulta evidente che un Paese così storicamente legato alla tradizione olivicola come l'Italia deve, per riscattare la sua posizione all'interno del mercato internazionale, mirare a rendere gli oliveti efficienti ed economicamente sostenibili. Tuttavia, in Italia i processi di ammodernamento strutturale e infrastrutturale non risultano semplici o facili da realizzare, qualora si intenda seguire quanto realizzato in Spagna con gli impianti superintensivi.

Nonostante in Italia esista un ampio patrimonio genetico, non risulta sia stata ancora oggi intrapresa un'estesa e coordinata attività di ricerca per individuare, nelle diverse regioni olivicole, genotipi autoctoni adatti, per vigore e architettura della chioma, a sistemi di conduzione ad alta densità in parete in modo da favorire la produttività e la raccolta in continuo con macchine scavallatrici, e genotipi contraddistinti da peculiari caratteristiche chimiche anche in rapporto ai claims salutistici riconosciuti dall'EFSA.

Considerata la ricchezza del patrimonio autoctono dell'olivo in Sicilia, nella presente tesi si riportano i risultati di indagini svolte al fine di individuare genotipi:

- a) con caratteristiche agronomiche adatte allo sviluppo di nuovi modelli di impianto in parete;
- b) in grado di fornire oli ad elevato potere funzionale.

La ricerca è stata articolata in tre esperimenti di seguito esposti:

- a) esperimento 1: Selezione di genotipi adatti ai nuovi impianti in parete ad alta densità;
- b) esperimento 2: caratterizzazione genetica e qualitativa degli oli di nuove

accessioni di olivo del germoplasma autoctono siciliano;

- c) esperimento 3: Studio preliminare del potenziale di crescita vegetativa e di architettura della chioma in cultivar e nuove accessioni di olivo siciliane.

8. ESPERIMENTO 1 - SELEZIONE DI GENOTIPI ADATTI AI NUOVI IMPIANTI IN PARETE AD ALTA DENSITÀ

8.1 Introduzione

L'esigenza di avviare anche in Sicilia una nuova olivicoltura dinamica e più adatta al contesto economico attuale impone il superamento dei sistemi tradizionali a favore di nuovi modelli, a partire da quelli vivaistici (Caruso et al., 2008) fino alla realizzazione di impianti ad elevata produttività e con limitato impiego di manodopera.

Sembra improbabile, tuttavia, che l'olivicoltura siciliana, nel breve periodo, possa competere nel contesto dell'olivicoltura internazionale facendo affidamento sugli impianti superintensivi, soprattutto se tali modelli di impianto saranno adottati ai fini dell'ottenimento di prodotti il cui standard qualitativo è finalizzato ai consumi di massa (Pampanini e Pignataro, 2008).

La Sicilia vanta un ampio patrimonio varietale autoctono, composto da 25 differenti genotipi (Caruso et al., 2007) e, nel tempo, ha assunto un ruolo da protagonista, a livello nazionale e internazionale nella produzione di oli extravergini di oliva fortemente tipicizzati.

Tutelare tale patrimonio, per lungo tempo sconosciuto dal punto di vista agronomico, non è importante perché determinato dal solo interesse commerciale verso la diversità degli oli, ma anche per la possibilità di individuare cultivar agronomicamente valide allo sviluppo locale di nuovi modelli colturali intensivi, integralmente meccanizzabili.

In tale ottica il Dipartimento SAF, nel 2006, ha costituito un campo intensivo ponendo a confronto piante di cultivar del germoplasma autoctono siciliano con quelle delle più rinomate varietà utilizzate negli impianti superintensivi spagnoli.

Lo scopo del presente esperimento è stato quello di individuare genotipi siciliani autoctoni adatti ai contesti d'impianto ad alta intensità in parete in grado di produrre oli di alta qualità chimica con particolari profili organolettici.

8.2 Materiali e metodi

L'esperimento è stato condotto negli anni 2013-2015 presso il campo sperimentale sito in C.da Maragani, in agro di Sciacca (AG), territorio particolarmente vocato all'olivicoltura (37 ° 31'N, 13 ° 03'E, a circa 56 m slm). Dal punto di vista pedologico il terreno è del tipo 'terre rosse mediterranee' caratterizzato da percentuali di sabbia, limo e argilla pari al 69%, 13% e 18%; il pH è moderatamente alcalino (7.9) con sostanza organica pari a 1,1%. Il clima, tipicamente mediterraneo, è stato caratterizzato da estati calde e secche e inverni freddi, con

una piovosità media annua compresa tra 500-600 mm (Fig. 1). Il periodo di siccità in genere dura da maggio a settembre, con una media delle temperature di 25-30° C (Servizio Informativo Agrometeorologico Siciliano, SIAS).

L'impianto è stato realizzato nel 2006 con piante di olivo innestate su portinnesti clonali di 'Nocellara del Belice'. Oggetto delle osservazioni sono state gran parte delle cultivar principali, minori e neglette del germoplasma olivicolo siciliano confrontate con le cultivar diffuse nei sistemi superintensivi (Tab. 1). I dati relativi agli anni precedenti la ricerca sono stati resi disponibili dal gruppo di ricercatori del Dipartimento SAF.

Tabella 1. Elenco delle cultivar minori e neglette, delle cultivar principali o standard appartenenti al germoplasma siciliano e delle tre cultivar internazionali impiegate nell'esperimento.

Cultivar Minori o neglette	Cultivar principali	Cultivar di riferimento
Abunara	Biancolilla	Arbequina
Bottone di gallo	Cerasuola	Arbosana
Brandofino	Moresca	Koroneiki
Calatina	Nocellara del Belice	
Castricianella rapparina	Nocellara etnea	
Cavalieri	Passulunara	
Crastu	Tonda iblea	
Erbano		
Giarraffa		
Minuta		
Nasitana		
Nerba		
Nocellara messinese		
Olivo di Mandanici		
Piricuddara		
Vaddarica		

Sono state messe a dimora 25 piante per genotipo in singola fila con orientamento nord-sud, ad un sesto di impianto di 2,5 x 3,5 m (1.140 piante/ha circa). Durante i primi anni non sono stati effettuati interventi di potatura per consentire una migliore allegagione e valutare al meglio il potenziale di crescita, mentre sono stati eliminati i rami sotto i primi 50 cm del tronco. A partire dall'inverno dopo il 5° anno dall'impianto (YAP) (Year After Plantation) gli alberi sono stati potati meccanicamente e poi allevati a palmetta per poter meccanizzare le operazioni di raccolta. Nella seconda metà di luglio, dopo l'indurimento dell'endocarpo, e nella seconda metà di agosto, durante l'espansione delle cellule del mesocarpo, l'irrigazione è stata mediamente di 800 m³/ha/anno, al fine di evitare eccessive sollecitazioni sulle piante e per assicurare il normale tasso di crescita. L'acqua è stata fornita da cinque gocciolatori autocompensanti in linea per pianta posti ad intervalli di 50 cm e con un apporto idrico di 1,6

l/h.

Dal 4° all'8° YAP, su 8 alberi per genotipo, scelti per uniformità di dimensioni, è stata calcolata la produzione per pianta.

Per ogni genotipo è stato calcolato l'indice (I) di alternanza produttiva (IA), utilizzato per quantificare la misura in cui la produzione varia ogni anno, per i tre anni sperimentali produttivi completi (dal 4° all'8°) secondo l'equazione di Hoblyn et al., (1936):

$$I = \frac{\sum_{t=2}^n (|y_t - y_{t-1}|) / (y_t + y_{t-1})}{n - 1}$$

Y= produzione nell'anno t corrispondente;

n = numero totale di anni;

I varia tra 0 e 1:

I = 0 non vi è stata alternanza di produzione;

I = 1 si è avuta totale alternanza di produzione (Wood, 1989).

Alla fine di ogni stagione di crescita, a 50 cm sopra il livello del suolo, è stata misurata l'area della sezione trasversale del tronco (AST, cm²) di ogni albero selezionato.

Sono stati così calcolati la produzione per ettaro (in tonnellate) e l'efficienza produttiva (EP= kg di frutti/AST). Durante l'anno 2010, prima dell'inizio della potatura meccanica, 12 piante per genotipo sono state etichettate e monitorate per i loro parametri vegetativi. Sono stati misurati l'altezza della chioma (H), la larghezza (L₁) e profondità (L₂) per calcolare il volume della chioma per ogni cultivar come segue:

$$\text{Volume} = L_1 \times L_2 \times H$$

Nel 2014, subito dopo la raccolta dei frutti, si è provveduto all'estrazione dell'olio utilizzando un sistema di estrazione continuo a tre fasi (Pieralisi MAIPSpA modello M3, Jesi, Italia) che si trova nelle immediate vicinanze dell'oliveto. I frutti sono stati lavati e frantumati da un mulino a martelli; la pasta di olive è stata miscelata a 25°C per 20 minuti e l'olio separato da una centrifuga trifase. Gli oli estratti sono stati conservati al buio a 8°C fino al momento delle analisi, eseguite secondo i metodi ufficiali della Comunità europea (Reg. CEE n. 2568/91 e successive modifiche).

Acidità libera, numero di perossidi e composizione in acidi grassi sono stati misurati in conformità con i metodi ufficiali europei (UE 1989/2003 che modifica il CEE 2568/91).

Clorofilla e carotenoidi sono stati misurati mediante assorbimento di luce ultravioletta a 476 nm e 670 nm utilizzando lo spettrofotometro Beckman DU UV 640, (Mineo et al.,

2007).

L'estrazione dei polifenoli totali è stata effettuata secondo il metodo colorimetrico Folin-Ciocalteu (Di Stefano e Guidoni, 1989; Picerno et al, 2003; Mineo et al., 2007). Le quantità sono state espresse in ppm di acido gallico (Slinkard e Singleton, 1977). Le frazioni fenoliche sono state estratte mediante estrazione liquido-liquido (Montedoro et al., 1992) e poi analizzate mediante HPLC (Selvaggini et al., 2006; Servili et al., 2007).

L'analisi statistica dei dati (ANOVA) è stata effettuata utilizzando il pacchetto Systat (SYSTAT Software Inc., Chicago, IL). La minima differenza significativa a $P \leq 0.05$ è stata calcolata per separare le medie.

8.3 Risultati

In figura 1 è riportato l'andamento climatico dal 2009 al 2014. La pioggia annuale è variata da un valore minimo di 500 mm nel 2011 ad un valore massimo di 776 mm nel 2009. La temperatura estiva ha fatto registrare valori medi intorno a 25/30 °C ed evapotraspirazione di riferimento (ET_0) di 6,6 millimetri, con assenza di pioggia da maggio a settembre.

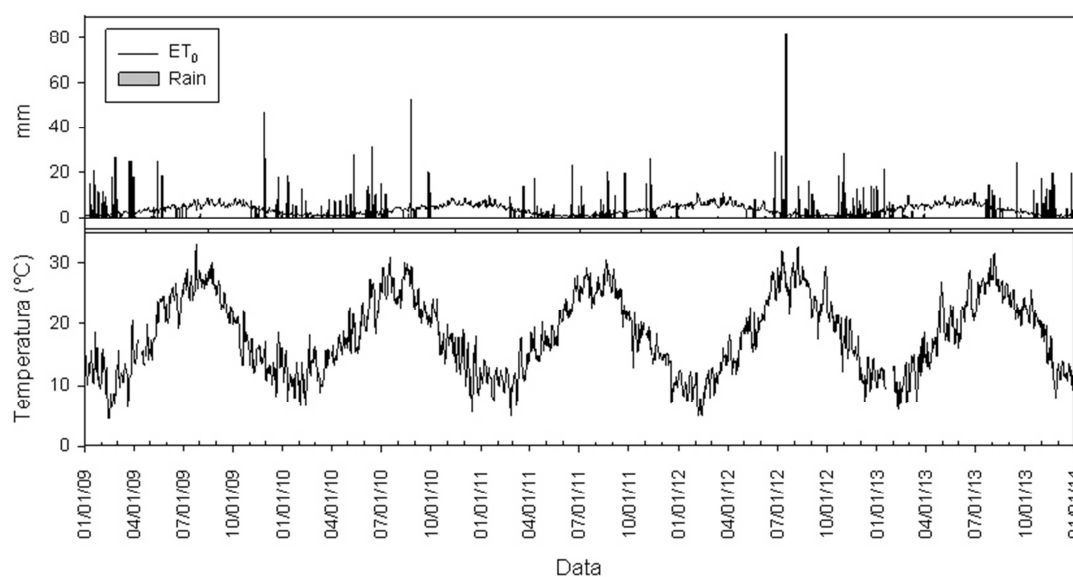


Figura 1. Temperatura dell'aria (°C, media giornaliera), evapotraspirazione di riferimento (ET_0 , mm, media giornaliera) e precipitazione cumulata (mm totali giornalieri) del periodo 2009-2014 registrata presso la stazione meteorologica (SIAS Servizio Informativo Agrometeorologico Siciliano) situata in prossimità dell'oliveto (Sciacca, TP).

Alla fine del 2010 (Fig. 2a) 'Olivo di Mandanici' si è dimostrato il genotipo più produttivo con 5,6 t/ha seguito dai genotipi 'Arbosana', 'Koroneiki' e 'Arbequina', che hanno mostrato una produzione media per ettaro di 3,1 t/ha. L'efficienza produttiva (EP), nei genotipi su menzionati, era compresa tra 0,055 e 0,075 kg/cm². Il genotipo 'Minuta' ha

prodotto 2 t/ha, mentre valori inferiori sono stati registrati per tutti i restanti genotipi. Nel 2011 la produzione è aumentata in tutte le piante (Fig. 2b). 'Koroneiki' ha mostrato una produzione per ettaro significativamente più alta rispetto agli altri genotipi (31 t/ha), seguito da 'Bottone di gallo', 'Nocellara etnea', 'Abunara', 'Olivo di Mandanici' e 'Arbequina' che hanno prodotto tra 14 e 15 t/ha. Valori leggermente più bassi (12 t/ha) sono stati registrati in 'Calatina', 'Minuta', 'Cavalieri', 'Arbosana' e 'Piricuddara'. Per quanto concerne i valori di EP registrati nel 2011, 'Calatina' e 'Koroneiki' hanno mostrato i più alti valori di EP (0,28 kg/cm² e 0,29 kg/cm², rispettivamente), seguiti da 'Arbequina', 'Arbosana', 'Cavalieri' e 'Crastu' con 0,16 kg/cm². Nel 2012 non è stata registrata alcuna produzione mentre nel 2013 (Fig. 2c) 'Abunara', 'Koroneiki' e 'Nocellara etnea' hanno mostrato la più alta produzione in frutti (14-16 t/ha) seguiti da 'Minuta', 'Olivo di Mandanici' e 'Calatina' con 12-13 t/ha. Altri 8 genotipi siciliani hanno prodotto in media circa 8-10 t/ha, produzione statisticamente paragonabile a quella delle cultivar internazionali di riferimento 'Arbequina' e 'Arbosana'.

'Calatina' ha mostrato i più alti valori di EP (0,17 kg/cm²) seguito da 'Abunara' (0,13 kg/cm²) e 'Koroneiki' (0,12 kg/cm²).

Nel 2014 (Fig. 2d) la produzione maggiore è stata registrata per 'Nocellara etnea' (26 t/ha), seguita da 'Biancolilla' (24 t/ha), 'Calatina' (22 t/ha), 'Abunara' (20 t/ha) e 'Bottone di gallo' (19 t/ha), mentre le cultivar internazionali 'Koroneiki' e 'Arbequina' hanno prodotto 18 t/ha. 'Calatina' ha confermato i valori più elevati di EP (0,24 kg/cm²); per i restanti genotipi più produttivi questo parametro è variato tra 0,10 kg/cm², in 'Koroneiki', e 0,16 kg/cm², in 'Nocellara etnea'.

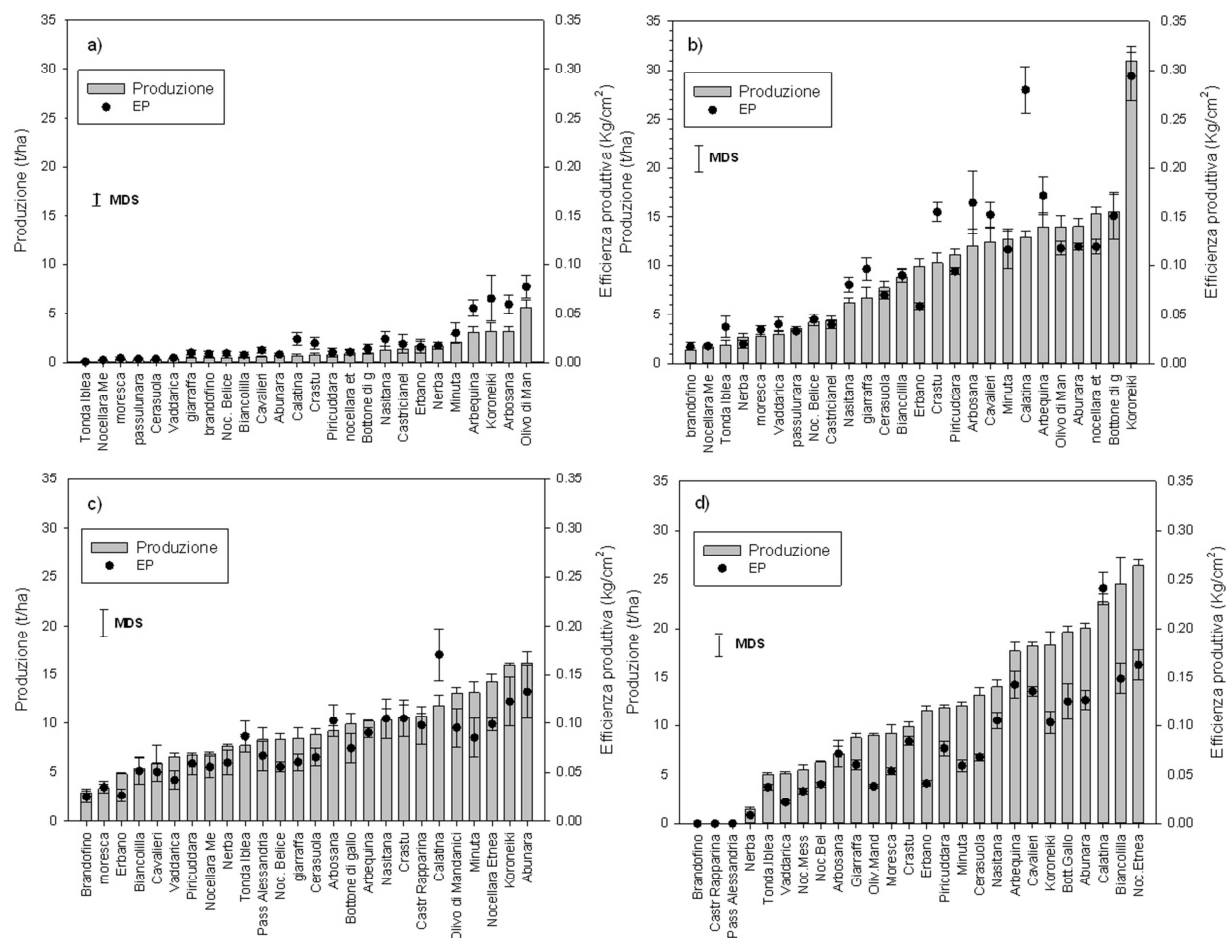


Figura 2. Produzione (t/ha) ed efficienza produttiva (EP, kg/cm²), nel 2010 (a) 2011 (b), 2013 (c) e il 2014 (d). Le barre verticali rappresentano l'errore standard della media. MDS = minima differenza significativa; g.d.l. = 182; P < 0.001.

Alla fine del periodo di osservazione (Fig.3), 'Koroneiki' si è dimostrata la varietà più produttiva con una produzione cumulata nei quattro anni di osservazione (2010-2014) di 68 t/ha. Tre dei genotipi siciliani, hanno mostrato una produzione complessiva per ettaro significativamente più alta rispetto alla cultivar 'Arbequina' che ha prodotto 45 t/ha in 4 anni. In particolare, 'Nocellara etnea' con 57 t/ha, 'Abunara' con 50 t/ha e 'Calatina' con 48 t/ha. 'Bottone di gallo' e 'Olivo di Mandanici' si sono dimostrati molto simili ad 'Arbequina'; gli altri genotipi siciliani ('Biancolilla', 'Minuta' e 'Cavaliere') hanno dato risultati interessanti, mostrando una produzione solo leggermente inferiore ad 'Arbequina' (37-40 t/ha).

Per quanto riguarda l'indice di alternanza produttiva (IA) (Fig.3), i valori più bassi sono stati osservati in 'Crastu', 'Minuta' e 'Giarraffa' (0,02-0,04), seguiti da 'Abunara' e 'Olivo di Mandanici' (0,07) e da 'Arbosana' e 'Cerasuola' (0,09), mentre i valori più alti sono stati registrati in 'Castricianella rapparina', 'Passulunara d'Alessandria' e 'Brandofino' (circa 0,46). In merito all'efficienza produttiva (EP), il genotipo 'Calatina' ha raggiunto i valori più alti (0,69 kg/cm²) seguito da 'Koroneiki' (0,57 kg/cm²) e da 'Arbequina' (0,46 kg/cm²) e

'Arbosana' (0.38 kg/cm^2). 'Nocellara etnea', 'Abunara', 'Bottone di gallo', 'Crastu' e 'Cavalieri' hanno mostrato valori di EP simili ad 'Arbosana' (tra $0,35$ e $0,39 \text{ kg/cm}^2$).

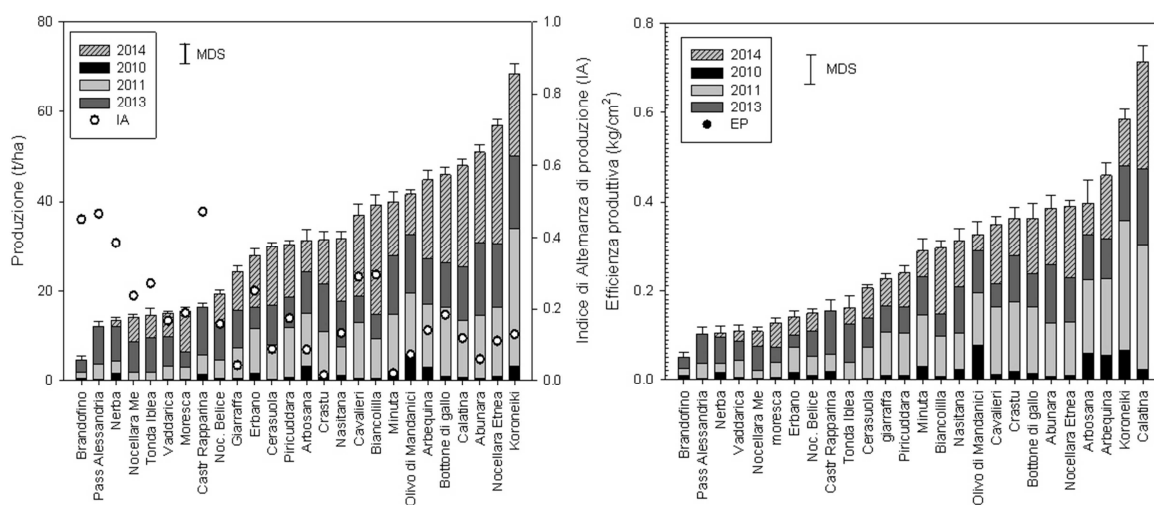


Figura 3. Produzione cumulata per ha (t/ha), indice di alternanza (AI) e efficienza produttiva cumulata (EP, kg/cm^2) dal quarto (2010) all’ottavo (2014) anno dopo l’impianto. Le barre verticali rappresentano l’errore standard della media. MDS = minima differenza significativa; g.d.l. = 182; $P < 0.001$.

L’epoca di raccolta dei genotipi in esame è risultata molto variabile (da ottobre a dicembre) rispetto alle cultivar internazionali 'Koroneiki' e 'Arbosana' che hanno mostrato una maturazione tardiva a metà dicembre (Fig. 4). I genotipi siciliani 'Giarraffa', 'Moresca' 'Tonda Iblea' e 'Biancolilla' hanno mostrato un’epoca di raccolta anticipata (ottobre) insieme ad altri 6 genotipi ('Vaddarica', 'Passulunara d’Aless.', 'Crastu', 'Nasitana', 'Abunara', 'Calatina'); per i restanti è stato osservato un periodo di maturazione intermedio.

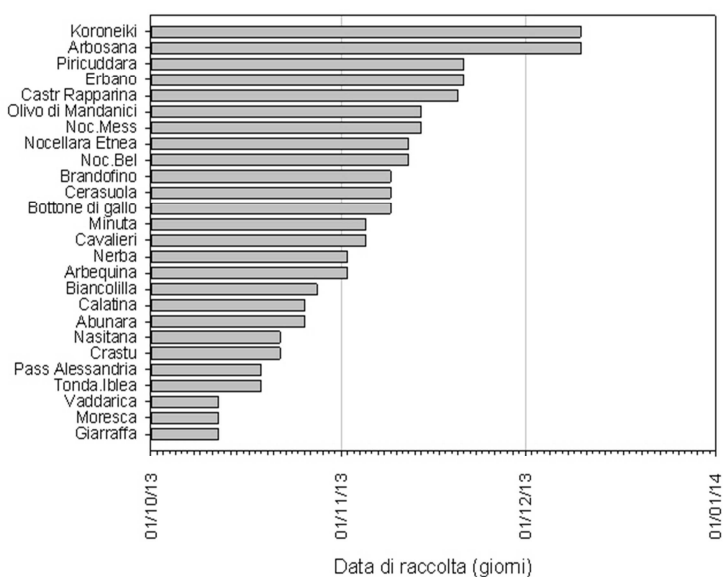


Figura 4. Epoca di raccolta nel 2013 dei 23 genotipi siciliani piantati in un sistema ad alta densità (1140 albero/ha) rispetto alle varietà internazionali 'Arbequina', 'Arbosana' e 'Koroneiki'.

Dalle osservazioni sull'area della sezione trasversale del tronco (AST) 'Erbano' è risultato il genotipo più vigoroso (251 cm^2), seguito da 'Olivo di Mandanici', 'Vaddarica', 'Minuta' e 'Cerasuola', con valori compresi tra 173 e 208 cm^2 (Fig. 5). 'Calatina', 'Crastu', 'Arbosana', 'Arbequina' e 'Cavalieri' si sono dimostrati meno vigorosi con valori AST compresi tra 84 e 118 cm^2 .

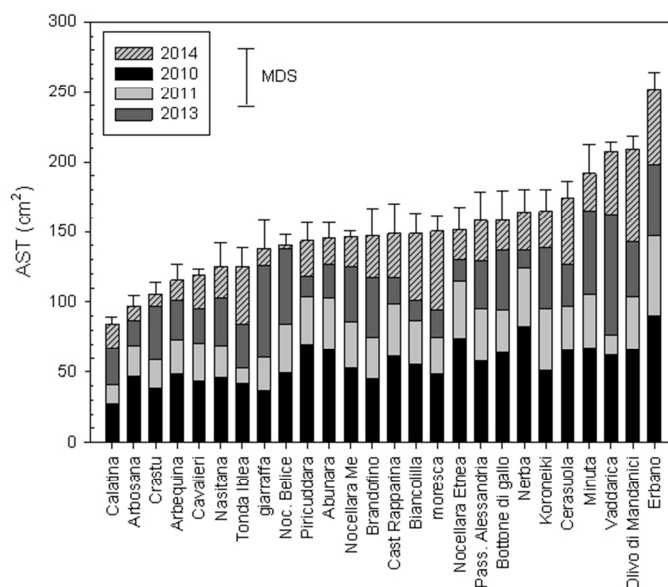


Figura 5. Area della sezione trasversale del tronco (AST, cm^2) dal quarto (2010) all'ottavo (2014) anno di impianto. Le barre verticali rappresentano l'errore standard della media. MDS = minima differenza significativa; g.d.l. = 182; $P < 0.001$.

Alla fine del quarto anno dall'impianto l'altezza della pianta per le cultivar internazionali (circa 2 m) era significativamente inferiore rispetto alla maggior parte dei genotipi siciliani con l'eccezione di 'Calatina' e 'Giarraffa' (Fig. 6a). L'altezza di tutti i genotipi analizzati si è comunque manifestata al di sotto dei limiti imposti dalle dimensioni della macchina per la raccolta meccanica, compresi i genotipi che hanno raggiunto la maggiore altezza ('Erbano', 'Minuta', 'Cerasuola', 'Nerba', 'Olivo di Mandanici').

Il volume minore della chioma (Fig. 6b) è stato osservato in 'Arbosana' ($7,5 \text{ m}^3$) seguito da 'Giarraffa', 'Calatina' e 'Olivo di Mandanici' (8 m^3). Valori più elevati di questo parametro sono stati invece osservati in 'Nerba' e 'Erbano' (superiori a 20 m^3) seguito da 'Bottone di gallo', 'Nocellara etnea', 'Moresca' e 'Minuta' ($16-18 \text{ m}^3$).

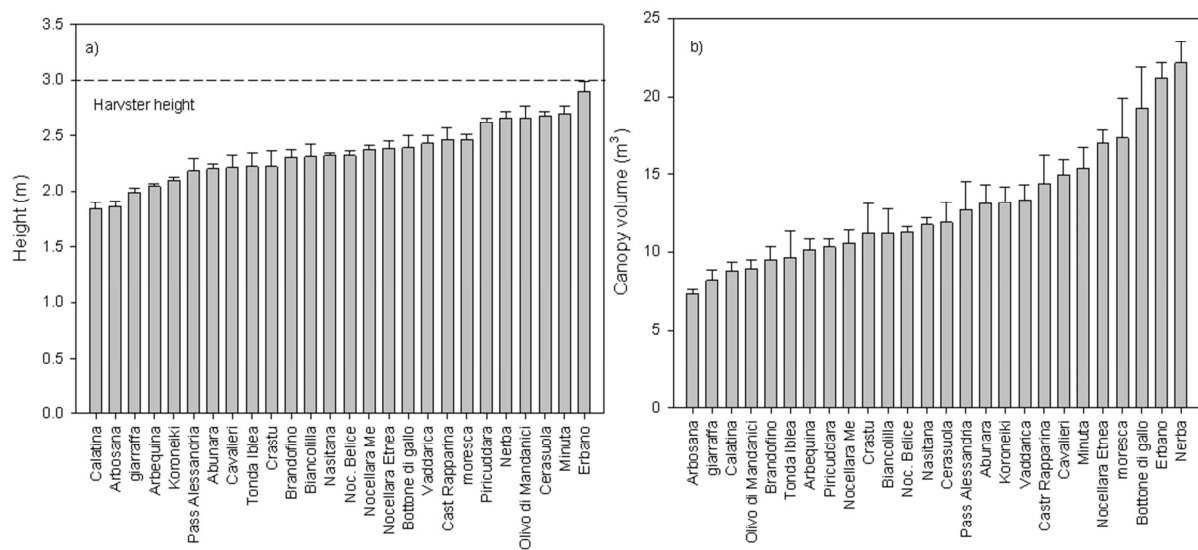


Figura 6. Altezza della pianta (a) e volume della chioma (b) alla fine del quarto anno dall'impianto (2010). Le barre verticali rappresentano l'errore standard della media. MDS = minima differenza significativa; g.d.l. = 182; $P < 0.001$.

Per quanto riguarda le analisi degli oli, nella tabella 2 vengono riportati i valori dell'acidità libera e dei perossidi che sono risultati inferiori al limite massimo fissato per la migliore qualità dell'olio commerciale denominato "extra vergine" dal regolamento UE 1989/2003, modifica del CEE 2568/91.

I valori delle clorofille e dei carotenoidi sono variati da un valore minimo di 0,79 e 5,94 ppm in 'Abunara' ad un massimo di 2,03 ppm e 14,35 ppm in 'Crastu'.

Tabella 2. Valori di acidità libera, numero di perossidi, clorofille e carotenoidi. I genotipi sono in ordine decrescente di produttività (t/ha).

Cultivar	Acidità libera (% ac. oleico)	Numero di perossidi (mEq.O ₂ /kg)	Clorofilla (ppm)	Carotenoidi (ppm)
Koroneiki	0.30	5.66	1.48	11.13
Nocellara etnea	0.28	6.01	1.50	11.22
Biancolilla	0.23	5.91	1.06	8.06
Abunara	0.39	5.15	0.79	5.94
Calatina	0.45	5.45	1.75	11.44
Bottone di gallo	0.17	5.44	1.15	6.80
Arbequina	0.38	6.24	1.81	13.90
Minuta	0.33	5.24	1.84	10.43
Cavaliere	0.34	5.56	1.59	9.73
Olivo di Mandanici	0.45	4.65	1.24	9.43
Nasitana	0.32	5.15	1.50	9.94
Crastu	0.31	5.56	2.03	14.35
Arbosana	0.38	5.05	1.15	7.46
Cerasuola	0.36	5.10	1.05	8.14
Erbano	0.28	6.24	0.91	7.12
Giarraffa	0.46	6.36	1.42	10.05
Piricuddara	0.28	5.68	0.86	6.72
Noc. Belice	0.17	4.50	0.89	6.40
Moresca	0.23	5.29	1.35	10.57
Vaddarica	0.45	4.95	1.52	11.85
Tonda Iblea	0.29	5.10	1.73	13.86
Noc. Mes.	0.23	5.39	1.12	10.06
Nerba	0.29	4.09	1.00	7.30
Media	0.32	5.40	1.34	9.53
Norm (U.E. 1989/2003)	≤0.8	≤20		

La concentrazione dell'acido oleico è variata da un minimo del 66% in 'Giarraffa' a un massimo pari a 81% in 'Cerasuola'.

'Koroneiki', 'Minuta' e 'Cerasuola' hanno mostrato un contenuto di acido oleico “molto elevato” (>80%), 'Bottone di gallo', 'Calatina', 'Cavaliere', 'Nasitana', 'Nocellara etnea',

'Piricuddara', 'Tonda Iblea' e 'Nocellara Messinese' hanno invece manifestato un “alto” contenuto di acido oleico (75% -80%), mentre 'Abunara', 'Crastu', 'Erbano', 'Vaddarica', 'Arbequina' e 'Nocellara del Belice' hanno manifestato un contenuto “medio” di acido oleico (70% -75%). Infine, 'Arbosana', 'Biancolilla', 'Giarraffa', 'Moresca' e 'Olivo di Mandanici' hanno evidenziato un “basso” contenuto di acido oleico (<70%).

I valori dell'acido palmitoleico (C 16:1) sono stati compresi tra 0,09% ('Cerasuola') e 1,54% ('Biancolilla' e 'Giarraffa') con altri due genotipi ('Bottone di gallo' e 'Koroneiki') i cui valori si sono posizionati sotto il limite minimo stabilito per l'olio extra vergine di oliva (0,3).

Anche il livello di acido palmitico (C16: 0), il principale acido grasso saturo in olio di oliva, si è mantenuto inferiore alla soglia minima imposta dalla normativa del COI (Consiglio Oleicolo Internazionale), essendo pari a 7,5% nei genotipi 'Minuta' (6,7%) e 'Cerasuola' (7,3%); al contrario, le più alte percentuali di questo acido sono stati osservati in 'Biancolilla', 'Giarraffa' e 'Moresca' (15-16%); il valore medio di tutte le varietà è stato del 12% (Tab.3).

Il contenuto di acido stearico (C18: 0) ha avuto un range di 0,83% ('Vaddarica' e 'Nerba') e 1,41% ('Koroneiki' e 'Nocellara Messinese').

Per quanto riguarda l'acido linoleico (C18: 2), nessuna delle cultivar studiate ha superato i valori limiti stabiliti per l'olio extravergine di oliva: la percentuale più alta è stata osservata in 'Olivo di Mandanici' (15%), mentre quella più bassa è stata trovata in 'Koroneiki' (7%).

Il livello di acido linolenico è rientrato nel range consentito per l'olio extra vergine di oliva in tutti i genotipi dell'esperimento, compreso tra 0,08% ('Nerba' e 'Minuta') e 0,15% ('Cavalieri').

Negli oli d'oliva analizzati sono state riscontrate anche basse quantità di acido arachico (C20: 0, valore medio di 0,25%) e tracce di acido Gadoleico (C 20: 1: il valore medio di 0,07%).

Tabella 3. Composizione (%) acidi grassi

Cultivar	C 16:0	C 16:1	C 18:0	C 18:1	C 18:2	C 18:3	C 20:0	C 20:1
Koroneiki	10.17	0.29	1.41	80.71	7.04	0.12	0.21	0.05
Nocellara etnea	10.39	0.33	1.05	76.43	11.37	0.11	0.26	0.07
Biancolilla	15.42	1.54	1.1	67.63	13.77	0.14	0.32	0.08
Abunara	11.63	0.38	1.01	74.2	12.28	0.13	0.28	0.09
Calatina	11.09	0.35	1.09	76.09	10.96	0.1	0.24	0.07
Bottone di gallo	9.8	0.15	1.02	77.61	10.97	0.12	0.23	0.1
Arbequina	11.6	0.41	1.25	73.88	12.32	0.14	0.33	0.08
Minuta	6.67	0.48	0.88	80.16	11.48	0.08	0.19	0.06
Cavalieri	11.68	0.39	1.19	77.13	9.06	0.15	0.31	0.09
Olivo di Mandanici	14.08	0.72	1.12	68.37	15.25	0.11	0.28	0.05
Nasitana	13.32	0.86	1.06	75.77	8.59	0.11	0.24	0.05
Crastu	12.83	0.45	1.27	74.64	10.37	0.13	0.25	0.06
Arbosana	14.3	1.34	1.01	69.29	13.61	0.12	0.27	0.07
Cerasuola	7.29	0.09	1.17	81.54	9.47	0.12	0.21	0.12
Erbano	11.73	0.49	1.24	73.89	12.25	0.1	0.25	0.06
Giarraffa	16.12	1.55	1.22	66.29	14.35	0.12	0.28	0.07
Piricuddara	10.15	0.31	0.89	76.69	11.6	0.09	0.22	0.05
Nocellara Belice	14.61	1.22	0.84	72.14	10.78	0.11	0.23	0.07
Moresca	15.34	1.10	1.33	69.76	12.05	0.13	0.24	0.06
Vaddarica	12.88	0.59	0.83	74.64	10.71	0.09	0.2	0.05
Tonda Iblea	12.59	0.39	1.15	76.71	8.75	0.12	0.24	0.06
Noc Messinese	11.65	0.47	1.41	76.29	9.72	0.13	0.26	0.07
Nerba	15.4	1.49	0.83	67.66	14.28	0.08	0.21	0.05
Media	11.99	0.65	1.09	74.23	11.61	0.11	0.25	0.07
Norm (COI 2008)	7.5-20	0.3-3.5	0.5-5	55-83	3.5-21	≤1	≤0.6	

Il rapporto UFA/SAF (Tab. 4) è risultato molto basso in Biancolilla " e 'Giarraffa' (<5), mentre il rapporto MUFA/PUFA è risultato basso in 'Giarraffa' e 'Olivo di Mandanici' (<5); il valore più elevato è stato riscontrato in 'Minuta' (UFA/SAF=11,9) e in 'Koroneiki' (MUFA/PUFA=11,3).

Tra i diversi genotipi studiati, 'Cerasuola' e 'Minuta' sono stati caratterizzati da valori elevati del rapporto UFA/SAF (superiore a 10), mentre 'Koroneiki' aveva particolarmente elevato il rapporto acidi grassi monoinsaturi/polinsaturi (MUFA/PUFA superiore a 9).

Per quanto riguarda il rapporto acido oleico/acido linoleico, 'Olivo di Mandanici', 'Giarraffa' e 'Biancolilla' hanno mostrato il valore più basso (<5), mentre i valori più elevati sono stati registrati in 'Koroneiki' (11,5) seguito da 'Nasitana' (8,8), 'Cerasuola' (8,6) e 'Cavalieri' (8,5).

Tabella 4. Rapporto tra acidi grassi insaturi (UFA) e acidi grassi saturi (SAF), acidi grassi monoinsaturi (MUFA) e acidi grassi polinsaturi (PUFA), acido oleico (C18: 1) e acido linoleico (C18: 2) riscontrati in oli di oliva vergini provenienti dai 23 genotipi siciliani allevati in un sistema ad alta densità (1140 albero / ha) a confronto con le varietà internazionali (in grassetto) 'Arbequina', 'Arbosana' e 'Koroneiki'.

Cultivar	UFA	SAF	MUFA	PUFA	UFA/ SAF	MUFA/ PUFA	C18:1/ C18:2
Koroneiki	88.2	11.8	81.1	7.2	7.5	11.3	11.5
Noc. Etnea	88.3	11.7	76.8	11.5	7.5	6.7	6.7
Biancolilla	83.2	16.8	69.3	13.9	4.9	5.0	4.9
Abunara	87.1	12.9	74.7	12.4	6.7	6.0	6.0
Calatina	87.6	12.4	76.5	11.1	7.1	6.9	6.9
Bottone di gallo	89.0	11.1	77.9	11.1	8.0	7.0	7.1
Arbequina	86.8	13.2	74.4	12.5	6.6	6.0	6.0
Minuta	92.3	7.7	80.7	11.6	11.9	7.0	7.0
Cavaliere	86.8	13.2	77.6	9.2	6.6	8.4	8.5
Olivo di Mand.	84.5	15.5	69.1	15.4	5.5	4.5	4.5
Nasitana	85.4	14.6	76.7	8.7	5.8	8.8	8.8
Crastu	85.7	14.4	75.2	10.5	6.0	7.2	7.2
Arbosana	84.4	15.6	70.7	13.7	5.4	5.1	5.1
Cerasuola	91.3	8.7	81.8	9.6	10.5	8.5	8.6
Erbano	86.8	13.2	74.4	12.4	6.6	6.0	6.0
Giarraffa	82.4	17.6	67.9	14.5	4.7	4.7	4.6
Piricuddara	88.7	11.3	77.1	11.7	7.9	6.6	6.6
Noc. Belice	84.3	15.7	73.4	10.9	5.4	6.7	6.7
Moresca	83.1	16.9	70.9	12.2	4.9	5.8	5.8
Vaddarica	86.1	13.9	75.3	10.8	6.2	7.0	7.0
Tonda Iblea	86.0	14.0	77.2	8.9	6.2	8.7	8.8
Noc. Messinese	86.7	13.3	76.8	9.9	6.5	7.8	7.8
Nerba	83.6	16.4	69.2	14.4	5.1	4.8	4.7
Media	86.67	13.33	74.95	11.72	6.82	6.67	6.68

Il contenuto totale di polifenoli degli oli è variato da 120 ppm in 'Minuta' a 432 ppm in 'Nocellara Messinese', con un valore medio di 250 ppm (Tab.5).

I genotipi 'Piricuddara', 'Vaddarica', e 'Cerasuola' hanno mostrato un alto contenuto di polifenoli totali (> 350 ppm).

Il contenuto massimo dei derivati secoiridoidi è stato osservato in 'Cerasuola', con 173 mg/Kg di 3,4-DHPEA-EDA e 46 mg/Kg di p-HPEA-EDA; valori elevati di questi composti sono stati osservati anche in 'Piricuddara', 154 mg/Kg di 3,4-DHPEA-EDA e 35 mg/Kg di p-HPEA-EDA e in 'Nocellara Messinese', con 164 mg/Kg di 3, 4-DHPEA-EDA e 25 mg/Kg di p-HPEA-EDA. Per i suddetti parametri nella cultivar 'Arbosana' è stato invece riscontrato il valore più basso (12,5 e 3,9 mg/kg).

Tabella 5. Composizione fenolica degli oli vergini di oliva dei 23 genotipi siciliani coltivati in un sistema ad alta densità (1140 albero/ha) a confronto con le varietà internazionali 'Arbequina', 'Arbosana' e 'Koroneiki' (in grassetto).

Genotipi	Totali (ppm)	Idrossitirosolo (mg/kg)	Tirosolo (mg/kg)	3.4-DHPEA-EDA (mg/kg)	p-HPEA-EDA (mg/kg)	3.4-DHPEA-EA (mg/kg)	Idrossitirosolo e derivati (mg/20g)	(+)-1-acetossipinoresinolo (mg/kg)	(+)-pinoresinolo (mg/kg)	p-HPEA-EA (mg/kg)
Koroneiki	241.3	7.6	2.5	127.4	15.9	23.6	3.5	9.4	6.4	0.0
Noc. etnea	225.7	1.8	2.2	63.7	16.5	21.5	2.1	10.3	9.2	0.0
Biancolilla	157.6	1.1	2.1	29.9	12.0	13.8	1.2	9.1	6.1	0.0
Abunara	342.6	1.5	3.3	36.6	14.0	9.3	1.3	6.8	4.3	0.0
Calatina	217.5	3.9	1.9	57.6	9.6	20.3	1.9	6.0	3.7	0.0
Bottone di	242.7	2.7	2.8	104.3	15.6	22.0	2.9	13.7	8.0	0.0
Arbequina	240.4	4.0	3.1	32.3	7.8	17.9	1.3	13.6	8.2	0.0
<u>Minuta</u>	<u>120.7</u>	1.6	1.5	12.9	10.2	12.3	0.8	10.2	13.5	0.0
Cavaliere	138.1	0.7	1.3	21.2	14.3	17.8	1.1	12.6	6.8	0.0
Olivo di	302.6	3.0	2.6	76.9	13.3	26.6	2.4	7.8	6.2	3.5
Nasitana	184.3	1.2	1.7	14.2	7.1	11.2	0.7	5.9	7.7	0.0
Crastu	228.6	1.8	39.4	14.6	9.5	0.0	1.3	6.4	16.6	0.0
Arbosana	164.0	1.4	1.5	12.5	3.9	7.2	0.5	5.0	3.2	0.0
<u>Cerasuola</u>	<u>357.9</u>	3.3	3.3	173.4	45.6	44.8	5.4	25.2	12.2	0.0
Erbano	241.2	2.8	3.4	78.2	15.7	33.1	2.7	10.2	12.6	1.6
Giarraffa	259.8	3.0	6.9	23.2	15.2	36.6	1.7	8.2	4.2	6.9
<u>Piricuddara</u>	<u>386.9</u>	2.6	4.8	154.2	34.8	37.3	4.7	14.5	24.6	1.5
Noc. Belic.	200.3	2.3	5.2	67.0	17.9	22.1	2.3	10.6	18.2	4.3
Moresca	344.2	4.3	7.4	93.8	44.9	41.0	3.8	10.5	4.9	8.6
<u>Vaddarica</u>	<u>366.2</u>	1.4	4.1	36.3	29.6	33.3	2.1	9.5	5.7	7.5
Tonda ibl.	184.5	5.5	5.8	25.4	11.7	11.5	1.2	6.2	4.3	1.9
<u>Noc. Mes.</u>	<u>432.2</u>	<u>4.1</u>	1.5	163.9	25.0	37.9	4.6	6.0	2.3	5.1
Nerba	240.1	3.2	92.3	17.3	18.3	0.0	2.6	7.0	30.2	0.0

Tabella 6. Analisi sensoriale degli oli

Genotipo	Fruttato	Dolce	Pungente	Amaro	Mandorla	Carciofo	Pomodoro	Foglia verde	Finocchietto selvatico	Piante aromatiche	Fiori di campo	Piccante	Mela matura	Cicoria	Fluidità	Persistenza
Arbequina	4	3	3	0.5	0.5	0.5	0.5	1.5	0	0	0	0	0	0	1	0.4
Biancolilla	4.4	2.95	2.85	2	1.8	0	2.25	0.75	0	0	0	0	0	0	4.25	4
Bott.gallo	3.55	2.15	3.5	2.9	0	0	0	0	3	0.9	0	0	0	0	4.5	4.5
Calatina	4	0	4	3.5	1.8	0	2	2.5	0	0	0	1	0	0	4.3	5.5
Castric.rapp.	4.6	0	3.8	6	1.7	2.9	1.5	1.5	0	0	1.25	0	0	0	5	6
Cavalieri	4	2.1	3	2.5	2.5	0	0	1.5	0	0	0	0	0	0	3.6	4.5
Cerasuola	5.5	1.3	3	3.5	0	2.4	2.8	3	0	0	0	0	0	0	5	6
Crastu	3.5	2.5	2	1.8	1.5	0	0	0	0	1.8	0	0	0	0	5	5.5
Erbano	5	0	3.7	3.9	3.25	2.3	0	0	0	1.5	0	0	0	0	5	5.75
Giarraffa	3.7	3.15	2.2	1.75	3	0	0	0.75	0	0	0	0	0	0	5.75	4
Minuta	3.6	0	4	3.9	1.5	0	0	2.5	2.5	1.5	0	0	0	0	4	5.5
Moresca	3.5	3	3	1.7	2.5	0	1	1.5	0	0	0	0	0.5	0	4.2	3.7
Nasitana	4.1	0	3.5	4	0	2.5	0	2.5	0	0	1.5	0	0	0	4	5.7
Nerba	4.1	2	3.4	3	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	3.5	4.55
Noc Belice	5.8	0	5.3	4.5	0	3.9	2.7	3.5	0	0	0	0	0	0	5	6
Noc. Etna	5	1.25	4.45	3.75	2.65	3	1.2	2.3	0	0	0	0	0	0	4.9	5.5
Noc mess.	4.7	1.9	3.5	2.8	2.5	0	2	0	0	0	0	0	0	0	5.2	5
Piricuddara	4.8	2	3.55	2.55	2.5	0.75	1.75	2.5	0	0	0	0	0	1.5	4.8	4.3
Tonda iblea	4.3	3.7	2.5	1.5	2.5	0	3.5	0	0	0	0	0	0	0	6	4
Vaddarica	4	1.15	3.25	5	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	3.65	4.85

Dalle analisi sensoriali condotte sugli oli dei genotipi oggetto di studio, dal punto di vista organolettico la più alta intensità di fruttato è stata riscontrata in 'Nocellara del Belice' e 'Cerasuola' (5.8 e 5.5, rispettivamente), mentre 'Castricianella rapparina', 'Erbano', 'Nocellara etnea', 'Piricuddara' e 'Nocellara Messinese' hanno mostrato valori medi (oltre 4.6); in tutti gli altri genotipi in esame il valore medio era 4.2 (Tab. 6). In generale nell'olio è stata riscontrata una predominanza del sapore piccante (valore medio tra tutti i genotipi analizzati: 3,34) seguito da amaro (3) e quindi dolce (1,6).

Gli oli di 'Nocellara Messinese', 'Piricuddara' e 'Cerasuola' sono risultati particolarmente equilibrati, mostrando valori molto elevati di piccante (4.4, 3.5 e 3, rispettivamente) e amaro (3.7, 2.5 e 3.5), bassi valori di fruttato e anche un basso valore per il carattere dolce (1.2, 2, 1.3).

Il 68% dei genotipi ha prodotto oli caratterizzati da aromi di mandorla, carciofo e pomodoro; il 40% dei genotipi sono stati caratterizzati da aroma di carciofo (valore medio di 2.3) e il 54% ha manifestato aroma di pomodoro (valore medio di 2).

Il valore più alto dell'aroma di mandorla si è manifestato in 'Erbano' (3.2), mentre in 'Nocellara del Belice' l'aroma più presente è stato di carciofo (3.9) e in 'Tonda Iblea' quello di pomodoro (3.5). I tre gli aromi si sono manifestati nei genotipi 'Castricianella rapparina', 'Nocellara etnea' e 'Piricuddara'.

In ultimo è importante sottolineare la presenza dell'aroma di finocchio selvatico in 'Minuta' e 'Bottone di gallo', con un'intensità di 2,5 - 3,0 seguito dall'aroma di piante officinali. Quest'ultimo aroma, sebbene lieve, è stato osservato anche in 'Crastu' e in 'Erbano'.

Inoltre, in 'Castricianella rapparina' e 'Nasitana' sono stati registrati profumo di fiori di campo e in 'Piricuddara' e 'Vaddarica' è stato registrato il profumo di cicoria.

8.4 Conclusioni

Poiché dalle indagini condotte è emerso che la produttività ottenuta dalla cultivar 'Arbequina' presso l'azienda studio era paragonabile a quella ottenuta nella zona di origine (Leon et al 2006;. Tous et al 2003) e tenuto conto che è considerata la migliore per gli impianti superintensivi (De La Rosa et al., 2007; Tous et al., 2008, 2011; Camposeo e Godini 2011) è stata utilizzata come riferimento per stimare il potenziale di produttività dei genotipi siciliani, gran parte dei quali sono entrati in produzione dopo tre anni così come le cultivar internazionali in altre aree e a diverse densità d'impianto (Pastor et al., 2005; Godini et al., 2006; De la Rosa et al., 2007;. Tous et al., 2008; Camposeo e Godini, 2010; Camposeo et al., 2008).

L'esperimento condotto ha confermato anche negli ambienti siciliani gli elevati standard produttivi, già riconosciuti, delle cultivar straniere (Camposeo e Godini 2010; Marra et al., 2012,

Caruso et al., 2014, Leon et al., 2006). In particolare la cultivar greca 'Koroneiki' ha mostrato una produzione media per ettaro più elevata rispetto ai dati riportati in letteratura (Tous et al., 2007, 2008, 2011). Probabilmente, le favorevoli condizioni pedoclimatiche dell'area sperimentale hanno influenzato positivamente la produttività di questa cultivar, confermando così l'idoneità di questo comprensorio olivicolo al sistema di coltivazione ad alta densità.

Cinque dei 23 genotipi siciliani ('Nocellara etnea', 'Abunara', 'Calatina', 'Bottone di gallo' e 'Olivo di Mandanici') hanno mostrato una produzione cumulata per ettaro, dal IV all'VIII YAP, superiore o uguale a 45 t/ha, valore registrato nella cultivar di riferimento 'Arbequina' (Fig. 3). In particolare 'Calatina' ha mostrato non solo una produttività molto alta e una bassa tendenza all'alternanza, ma anche una bassa vigoria. L'area della sezione trasversale del tronco al VI YAP era solo 80 cm², un valore di poco inferiore alla cultivar 'Arbosana', la meno vigorosa tra le internazionali (Fig. 5). In relazione all'elevata produzione e alla bassa vigoria il suddetto genotipo ha mostrato valori di EP significativamente superiori rispetto agli altri genotipi sia siciliani che internazionali. Tali valori sono particolarmente sorprendenti non solo perché superiori rispetto a quanto riportato in letteratura per il sistema SHD (Caruso et al., 2014), ma anche perché sono costanti negli anni (IA 0,12).

È importante sottolineare che altri genotipi testati, anche se hanno prodotto meno rispetto ad 'Arbequina', hanno comunque avuto una produzione di circa 12 t/ha, produzione ottimale suggerita per questo tipo di sistema (Vossen 2002). Si tratta di 'Minuta', con produttività costante negli anni ma vigoria molto elevata, e 'Cavalieri'. Quest'ultima è molto simile ad 'Arbequina' come area della sezione trasversale del tronco e volume della chioma, ma manifesta un'alternanza di produzione significativamente più alta (IA= 0,3 e 0,18 rispettivamente per 'Cavalieri' ed 'Arbequina').

Bisogna tuttavia tenere sempre presente che il comportamento di una varietà è il risultato dell'interazione di diversi fattori, quali il patrimonio genetico della stessa, la conduzione dell'impianto e le condizioni ambientali, intese come fattori pedologici e climatici. In relazione a ciò, alcuni genotipi osservati in ambienti diversi dal proprio habitat naturale non esprimono pienamente il loro potenziale produttivo. Per tale motivo non è da escludere che alcuni genotipi, come ad es. 'Tonda Iblea', che naturalmente cresce ad altitudini più elevate a quelle del campo sperimentale, possano risultare più produttivi in contesti pedo-climatici differenti.

Nella scelta delle cultivar da impiegare in sistemi di produzione superintensivi, oltre all'aspetto produttivo in termini di resa in olio va preso in considerazione anche il profilo chimico-organolettico degli oli ottenuti.

La crescente attenzione verso gli alimenti funzionali è legata al riconoscimento del ruolo

fondamentale dell'alimentazione nello stato di salute dell'individuo e nella prevenzione delle malattie, come già più volte evidenziato nella presente ricerca.

Gli effetti salutistici dell'olio extravergine di oliva, secondo molti studi sono da attribuire, oltre al contenuto di acido oleico ad alcuni altri composti, in particolare i flavonoidi ed i secoridoidi, i quali hanno dimostrato effetti significativi nella prevenzione di patologie croniche come le malattie cardiovascolari, alcuni tipi di tumori, l'invecchiamento precoce e le malattie degenerative del sistema nervoso (Gill et al., 2005).

In generale, gli oli ottenuti nel presente esperimento hanno mostrato valori molto elevati di acido oleico, che rappresenta l'acido grasso più importante e nobile grazie al suo effetto benefico sulla salute, poiché rallenta l'infiltrazione di acidi grassi nelle pareti arteriose (Charbonnier 1982). I valori di questo acido ottenuti nel presente lavoro per 'Arbequina' e 'Koroneiki' sono superiori a quanto osservato in diverse aree della Tunisia (Guerfel et al., 2012; Dabbou et al., 2011; Zarrouk 2010; Allalout et al., 2010), Spagna (León et al., 2006) e Italia (Camposeo et al., 2011). Questo risultato è particolarmente interessante se si considera la latitudine e le temperature calde del campo sperimentale, in contrapposizione a valori più alti di acido oleico normalmente registrati nelle regioni settentrionali e fredde (Civantos et al., 1992; Tous 1997).

Il profilo chimico di 'Cerasuola' si è rivelato particolarmente interessante grazie ad un alto contenuto sia di acido oleico che di polifenoli. L'olio di questo genotipo è stato l'unico a raggiungere la giusta quantità di idrossitirosolo e suoi derivati necessari per ottenere l'autorizzazione, ai sensi del regolamento CE 1924/2006, per etichettare e commercializzare questo prodotto nell'Unione Europea come un prodotto “salutare”, sostenendo gli effetti benefici dei polifenoli alla protezione dei lipidi del sangue da stress ossidativo.

Anche i profili chimici degli oli di 'Nocellara Messinese' e 'Piricuddara' si sono distinti per gli alti valori di acido oleico e il più alto contenuto di polifenoli, soprattutto l'olio di 'Nocellara Messinese', con 432 ppm. Gli oli di questi genotipi hanno mostrato contenuti di idrossitirosolo e suoi derivati solo leggermente inferiori rispetto alla soglia di 5 mg/20gr sopra citata, suggerendo che, con tecniche di gestione specifiche, potrebbe essere facilmente possibile ottenere la certificazione di olio “salutare”.

'Cerasuola' e 'Piricuddara', quindi non solo hanno mostrato olio di altissima qualità, ma la loro produzione media per ettaro è stata simile a quella di 'Arbosana' e solo leggermente inferiore a quella di 'Arbequina'.

Tra i genotipi più produttivi 'Abunara' ha manifestato la migliore composizione dell'olio con 342 ppm di polifenoli e il 74% di acido oleico.

Dal punto di vista organolettico tutti gli oli prodotti si sono rivelati dotati delle qualità standard per ottenere il marchio "IGP Sicilia". Con particolare attenzione dovrebbe essere considerato e studiato il genotipo 'Nocellara etnea', che non solo è stato uno dei più produttivi, ma si è anche distinto per l'olio molto equilibrato con un livello medio-alto di fruttato accompagnato da un livello medio di pungente e amaro, con forti sentori di mandorla, carciofo e pomodoro, i tre aromi principali che tanto fanno apprezzare gli oli siciliani a livello internazionale.

Quanto riportato nel presente lavoro conferma come sia importante il recupero e la salvaguardia delle risorse genetiche locali, anche allo scopo di ottenere nuove cultivar che abbiano caratteristiche agronomiche adattabili alle nuove tipologie di mercato e alle strategie tecnologiche dei nuovi impianti proiettati verso sesti molto stretti.

Negli ultimi anni gli olivicoltori italiani si sono trovati davanti ad una scelta di mercato: adottare il sistema ad alta densità e ritrovarsi a produrre un olio a basso prezzo o scegliere di allevare una cultivar caratterizzata da peculiari caratteristiche organolettiche e di qualità dell'olio ma adottare densità di impianto meno elevate.

Quanto esposto potrebbe rappresentare la possibilità di produrre, a prezzi sostenibili, olio di oliva di alta qualità, caratterizzato da un buon profilo organolettico, legato al territorio di origine, perfettamente in linea con le nuove tendenze di mercato che richiedono l'aspetto salutistico, oltre che organolettico e nutraceutico dei cibi e che siano legati anche storicamente al territorio, con conseguente riqualificazione di quest'ultimo.

Inoltre la diversità osservata tra i genotipi offre all'olivicoltore la possibilità di scegliere la cultivar che ritiene più idonea alla tipologia produttiva cui vuole indirizzarsi, in base alle proprie esigenze/disponibilità o in base alle caratteristiche intrinseche della zona in cui ricade l'oliveto, come ad esempio poter scegliere cultivar a maturazione precoce piuttosto che tardiva.

E ancora la diversificazione degli oli è tale che la produzione potrebbe essere indirizzata e apprezzata da diverse tipologie di consumatori.

Va segnalato che i genotipi presi in esame dovranno essere ulteriormente studiati in un futuro lavoro per valutarne il potenziale agronomico, al fine di poterli suggerire per la coltivazione su larga scala, in particolare per quanto riguarda i parametri di qualità degli oli, che sono stati studiati solo per un anno.

9. ESPERIMENTO 2 – CARATTERIZZAZIONE GENETICA E QUALITATIVA DEGLI OLI DI NUOVE ACCESSIONI DI OLIVO DEL GERMOPLASMA AUTOCTONO SICILIANO

9.1 Premessa

L'EFSA (European Food Safety Authority) ha stabilito che il consumo costante di olio d'oliva svolge numerose funzioni benefiche per l'organismo umano (cardioprotettive, anti-infiammatorie, di protezione dall'azione dei radicali liberi) grazie al suo naturale contenuto in polifenoli (Obied et al., 2012; EFSA 2011). Nell'olio extravergine di oliva i composti fenolici sono presenti in concentrazioni che variano da 50 a oltre 940 mg/kg e gli effetti biologici potenzialmente benefici dell'olio derivano dalla loro attività antiossidante, antimicrobica e anti-infiammatoria (Servili et al., 2014; Cicerale et al., 2012).

Tra i biofenoli il composto fenolico dell'olio di oliva di particolare importanza è l'idrossitirosolo (3,4-DHPEA), che costituisce uno degli antiossidanti naturali più potenti (Baldioli et al., 1996) tanto da essere identificato come uno dei principali responsabili delle proprietà salutistiche associate all'olio d'oliva (Manna et al., 1997).

Tuttavia il suo ruolo protettivo si manifesta quando l'assunzione giornaliera supera la soglia pari a 5 mg. Ai fini di una corretta alimentazione, il quantitativo di olio da assumere giornalmente è di circa 20 grammi. E' evidente quindi che un buon olio extravergine di oliva, per poter vantare il claim dell'EFSA (Numero dell'EFSA Journal: 2011; 9(4):2033), dovrebbe contenere più di 300 mg /kg di composti fenolici.

La variabilità genetica delle differenti cultivar influenza il profilo chimico dell'olio attraverso il duplice meccanismo di un diverso accumulo di trigliceridi e di formazione ed evoluzione degli altri componenti tra cui i polifenoli. Tali effetti risultano a loro volta influenzati dal sovrapporsi di fonti di variabilità, come le condizioni pedoclimatiche, il modello di impianto, l'età della pianta, le tecniche colturali, il carico e la maturazione dei frutti e, soprattutto, la trasformazione (Cimato, 1991; Montedoro et al., 1991; Inglese et al., 2011; El Riachy et al., 2011).

Le ricerche condotte sul germoplasma siciliano hanno permesso di individuare 25 diverse cultivar (Caruso, 2007). Più di recente, nuove indagini territoriali hanno portato al rinvenimento di accessioni sconosciute anche agli addetti al settore. Tale materiale genetico, moltiplicato per innesto, è stato posto in un campo di collezione *ex situ* attiguo a quello che ospita la prima collezione del germoplasma di olivo siciliano (Campo Carboj).

Considerato il rinvenimento di queste nuove accessioni, tenuto conto dell'influenza esercitata dai diversi genotipi sul profilo chimico e organolettico di un olio, si è ritenuto

necessario intraprendere uno studio volto alla caratterizzazione genetica di tale materiale ed alla determinazione dei profili chimico-fisici degli oli monovarietali dei genotipi già descritti nel Catalogo e delle nuove accessioni, per identificare molecole bioattive corrispondenti ai claim salutistici dell'EFSA.

9.2 Materiali e Metodi

I rilievi sono stati condotti nel 2014 su piante di 6 anni di età di 40 genotipi di olivo siciliani e una cultivar internazionale di riferimento, Arbequina, (Tab.1) allevati in un campo di collezione *ex situ* presso l'azienda Campo Carboj dell'E.S.A. della Regione Sicilia.

Tab.1: Elenco dei genotipi in studio

Cultivar descritte	Nuove accessioni
Aitana	SAF 1
Biancolilla	SAF 2
Bottone di gallo	SAF 3
Brandofino	SAF 4
Calatina	SAF 5
Cavalieri	SAF 6
Cerasuola	SAF 7
Crastu	SAF 8
Erbano	SAF 9
Giarraffa	SAF 10
Minuta	SAF 11
Moresca	SAF 12
Nasitana	SAF 13
Nerba	SAF 14
Nocellara del Belice	SAF 15
Nocellara etnea	SAF 16
Nocellara messinese	SAF 17
Ogliarola messinese	
Olivo di Mandanici	
Piricuddara	
Tonda iblea	
Vaddarica	
Verdello	

Il campo è stato costituito nel 2008 seguendo uno schema sperimentale a tre blocchi randomizzati completi, con tre repliche di tre piante/cultivar entro ciascun blocco. Gli alberi sono posti alla distanza di 5x7 m, pari ad un investimento di 286 piante/ettaro, ed allevati a vaso globoso.

Le precipitazioni, concentrate nel periodo autunno-inverno, sono risultate intorno ai 600 mm/anno (fonte SIAS); le temperature raramente sono scese al di sotto di 3-4°C durante i mesi invernali e nei mesi estivi hanno raggiunto valori prossimi o superiori ai 40°C. Per evitare che stress idrici potessero compromettere la produttività delle piante sono stati effettuati 3 interventi irrigui di soccorso con volumi di acqua di circa 600 m³/ha/anno attraverso un sistema d'irrigazione costituito da irrigatori di tipo in-line autocompensanti (4 l/h), innestati su tubo di polietilene (diametro 20 mm) e disposti lungo l'ala piovana ad intervalli di 1 m.

La potatura delle piante è stata effettuata nel mese di febbraio ed ha riguardato il taglio di alcune branchette esaurite, l'eliminazione di succhioni e di alcuni rami interni alla chioma.

Analisi molecolari

Le analisi molecolari sono state realizzate presso il laboratorio di Biologia Molecolare del Dipartimento SAF dell'Università degli Studi di Palermo. È stato studiato il polimorfismo di 9 loci SSR, raccomandati dalla comunità scientifica internazionale (Baldoni et al., 2009):

DCA 03, DCA 05, DCA 13, DCA 18 (Sefc et al., 2000);

GAPU 45, GAPU 71b, (Carriero et al., 2002);

EMO L, EMO 90 (De la Rosa et al., 2002);

UDO 43 (Cipriani et al., 2002).

Per la caratterizzazione molecolare il DNA genomico è stato estratto da foglie giovani del germoglio apicale seguendo il metodo CTAB di Doyle e Doyle (1987), leggermente modificato per ottenere in tempi brevi DNA con il più basso livello di degradazione possibile ed una purezza tale da poter essere impiegato efficacemente nella tappa successiva di amplificazione mediante la reazione a catena della Polimerasi (PCR).

150 mg circa di tessuto fogliare pre-ghiacciati in azoto liquido sono stati posti in un tubo da microcentrifuga da 2 ml contenente 1 sfera di acciaio di 5 mm di diametro e, con l'uso di un microdismembratore (Mikro-Dismembrator S, Sartorius), sottoposti ad agitazione meccanica per 50" a 2000 rpm per la polverizzazione del tessuto fogliare. Ad ogni campione di polveri sono stati aggiunti 750 µl di una soluzione contenente CTAB (hexadecyltrimethylammonium bromide) al 2% (CTAB 2%, NaCl 1,4 M, EDTA pH 8 20 mM, Tris-HCl pH 8 100 mM) preriscaldata a 70°C, necessaria per eliminare polifenoli e polisaccaridi. Dopo inversione per miscelare il tutto, il lisato cellulare è stato incubato in un bagnetto termostatico a 70°C, per 3' mescolandolo con il vortex ad ogni minuto. Al lisato è stato aggiunto 1 volume di Cloroformio-Isoamilico (24:1) e, successivamente, ciascun campione è stato incubato per 3' a temperatura ambiente sotto agitazione per capovolgimento. Dopo centrifugazione a 13000 x g per 10' è stata

recuperata la fase acquosa (procedimento ripetuto due volte). Alla fase acquosa così ottenuta sono stati aggiunti 0,6 volumi di Isopropanolo freddo (-20°C). Dopo agitazione manuale con moderata forza, la soluzione è stata incubata per 5' a -20°C e centrifugata a 13000 xg per 5'. Eliminato il sovrantante, il precipitato è stato lavato con l'aggiunta di 500 µl di EtOH 70% freddo, (-20°C) per eliminare eventuali sali precipitati insieme al DNA. Dopo avere centrifugato a 13000 x g per 5' è stato eliminato il sovrantante di etanolo ed il precipitato è stato lasciato in stufa a 37°C per circa 1 h. Successivamente il precipitato di DNA è stato portato in soluzione con 100 µl di tampone TE 1x a pH 8 (Tris-HCl 10 mM pH 8, EDTA 1 mM pH 8). 12) per eliminare l'RNA dalla soluzione. Il protocollo di estrazione illustrato ha previsto anche l'azione dell'enzima RNase A (Sigma) alla concentrazione finale di 0,2 µg/µl, a 37°C, per circa 40' con successiva precipitazione del DNA, lavaggio in etanolo e risospensione in 30-50 µl TE 1x a pH 8. La soluzione di DNA, infine, è stata conservata a -20°C. Una stima quantitativa del DNA purificato è stata realizzata mediante lettura al NanoDrop - Thermo Scientific.

Amplificazione dei loci SSR mediante PCR

A partire dalle diluizioni degli estratti di DNA genomico alla concentrazione di 20 ng/µl sono state eseguite per ogni campione le amplificazioni per PCR, mediante primer fluorescenti (6-FAM, HEX, PET Invitrogen), nelle regioni corrispondenti ai 9 loci SSR scelti in questo lavoro.

Le reazioni di PCR sono state eseguite in un volume di 8 µl, contenente 10 ng di DNA genomico, 1x Multiplex PCR master mix (Qiagen) e 0.2 µl di ciascuna coppia di primer, usando il seguente ciclo termico (touch down) PCR: 95 °C per 15 minuti; 10 cicli: 94 °C per 30 s, 60 °C per 1 minuto e 30 secondi, con 1°C di riduzione di temperatura per ogni ciclo, 72 °C per 1 minuto. 25 cicli: 94 °C per 30 secondi, 50 °C per 1 minuto e 30 secondi; e 65 °C per 30 minuti. Tutti gli ampliconi sono stati conservati a -20°C in attesa di essere analizzati al sequenziatore automatico capillare. L'identificazione degli alleli di un locus SSR per cultivar è stata eseguita per elettroforesi capillare al sequenziatore ABI-PRISM® 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA).

La determinazione delle dimensioni alleliche in termini di paia di basi (bp) è stata realizzata per confronto dei profili elettroforetici dei frammenti microsatelliti con il marcatore di peso molecolare GeneScan™-500 LIZ® Size Standard (presente in ogni campione) e mediante l'utilizzo del GeneMapper® Software v3.7 (Applied Biosystems, USA).

L'analisi statistica dei dati SSR è stata eseguita mediante l'utilizzo del software Power Marker v.3.25 (Liu and Muse, 2005). Sono stati calcolati la frequenza allelica, il numero medio

di alleli per locus SSR, l'eterozigosità attesa (H_e), l'eterozigosità osservata (H_o), la frequenza degli alleli nulli e il polymorphic information content (PIC). I dati SSR dei vari loci sono stati convertiti in una matrice di frequenza in cui, per ogni locus, la presenza di un allele è indicata con 0.5, la presenza in condizione omozigote è indicata con 1 e l'assenza di un allele è indicata con 0. Dalla matrice di frequenza è stata poi estrapolata la matrice simmetrica di distanza in cui ogni campione è stato paragonato con tutti gli altri per le loro differenze. Se le cultivar sono totalmente differenti a tutti i loci, questo è indicato con 0. Se invece le cultivar sono identiche a tutti i loci, questo è indicato con 1. Il coefficiente di similarità scelto è stato Nei (1973).

Si è proceduto a costruire un dendrogramma di similarità con il metodo UPGMA (Unweighted Pair Group Method with arithmetic Average). Il dendrogramma ha permesso di conoscere e definire le relazioni genetiche intercorrenti tra le accessioni in studio e di identificare casi di identità genetica.

Analisi degli oli

Nella stagione olivicola 2014, al sesto anno d'impianto, è stata effettuata la raccolta manuale dei frutti di ciascuna accessione quando questi avevano raggiunto il 20% d'invaiaatura. Le olive raccolte dalle nove piante in tesi, poste in bins di 250 kg, sono state molite entro 6 ore dalla raccolta.

I frutti sono stati lavati e frantumati da un mulino a martelli; la pasta di olive è stata miscelata a 25°C per 20 minuti e l'olio separato da una centrifuga trifase (Pieralisi MAIPSpA modello M3, Jesi, Italia).

Gli oli estratti sono stati posti in bottiglie di vetro scuro da 500 ml e conservati al buio a 8°C fino al momento delle analisi eseguite secondo i metodi ufficiali della Comunità europea (Reg. CEE n. 2568/91 e successive modifiche).

Acidità libera, numero di perossidi e composizione in acidi grassi sono stati misurati in conformità ai metodi ufficiali europei (UE 1989/2003 che modifica l'ECC 2568/91).

Clorofilla e carotenoidi sono stati misurati mediante assorbimento di luce ultravioletta a 476 nm e 670 nm utilizzando lo spettrofotometro Beckman DU UV 640 (Mineo et al., 2007).

L'estrazione dei polifenoli totali è stata effettuata secondo il metodo colorimetrico Folin-Ciocalteau (Di Stefano e Guidoni, 1989; Picerno et al., 2003; Mineo et al., 2007). Le quantità sono state espresse in ppm di acido gallico (Slinkard e Singleton, 1977). Le frazioni fenoliche sono state estratte mediante estrazione liquido-liquido (Montedoro et al., 1992) e poi analizzate mediante HPLC (Selvaggini et al., 2006), (Servili et al., 2007).

9.3 Risultati

Indagine molecolare

I loci SSR scelti per la discriminazione varietale hanno dimostrato di essere polimorfici con un livello medio di eterozigosità pari a 0,71, un numero di alleli medio di 7 ed un PIC (polymorphic information content) pari a 0,61 (Tab.2), permettendo di discriminare tutte le accessioni analizzate. Il numero di alleli amplificati per locus è variato da 3 con GAPu 45 a 14 con UDO 43.

Tabella 2. Parametri di diversità dei microsatelliti analizzati.

Marker	AlleleNo	GeneDiversity	Heterozygosity	PIC
DCA03	6.00	0.79	0.98	0.76
DCA05	7.00	0.50	0.55	0.48
DCA18	10.00	0.81	0.80	0.79
Gapu45	3.00	0.46	0.51	0.41
GAPu71b	5.00	0.76	0.86	0.72
EMOL	4.00	0.20	0.18	0.19
EMO90	5.00	0.63	0.76	0.58
UDO43	14.00	0.85	0.88	0.83
DCA13	6.00	0.76	0.88	0.71
Mean	6.67	0.64	0.71	0.61

I microsatelliti hanno permesso di distinguere la maggior parte dei genotipi, eccetto otto che sono risultati inclusi in quattro gruppi di identità (uguali a due a due) (Figura1).

I gruppi di identità riscontrati sono 'SAF7' e 'Vaddarica', 'Cerasuola' e 'SAF4', 'SAF 10' e 'SAF14', 'SAF6' e 'SAF17', come mostra il dendrogramma sopra riportato (Fig.1).

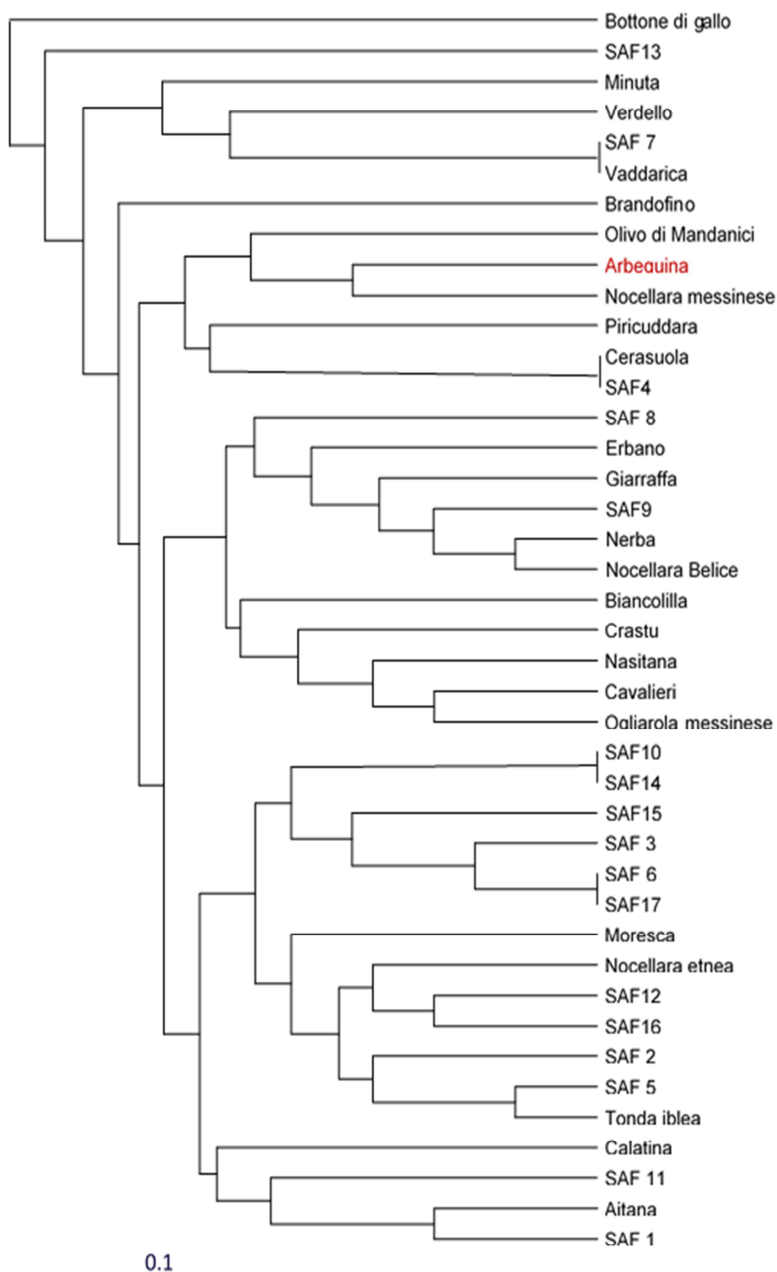


Figura 1 Dendrogramma UPGMA, costruito con coefficiente di similarità: Nei (1973).

Analisi oli

Sono stati analizzati 40 oli monovarietalici di olive dei genotipi siciliani noti e delle nuove accessioni. Le analisi sono state effettuate anche sull'olio monovarietalico di 'Arbequina' per valutare differenze. Per le cultivar identiche dal punto di vista molecolare, è stato scelto un genotipo per ogni gruppo di identità ('Vaddarica'; 'Cerasuola'; 'SAF6'; 'SAF10'). Dal punto di vista merceologico gli oli analizzati sono risultati ascrivibili alla categoria commerciale degli extra vergini (tab. 2).

Tabella 2. Acidità e Perossidi in oli monovarietali di 40 genotipi di olivi siciliani.

Cultivar	Acidità	Perossidi
Aitana	0,38	5,87
Biancolilla	0,23	5,91
Bottone di gallo	0,17	5,44
Brandofino	0,29	5,99
Calatina	0,45	5,45
Cavaliere	0,34	5,56
Cerasuola	0,33	4,09
Crastu	0,31	5,56
Erbano	0,28	6,24
Giarraffa	0,46	6,36
Minuta	0,33	5,24
Moresca	0,23	5,29
Nasitana	0,32	5,15
Nerba	0,29	4,09
Nocellara Belice	0,17	4,50
Nocellara etnea	0,28	6,01
Nocellara messinese	0,23	5,39
Ogliarola messinese	0,33	5,24
Olivo di Mandanici	0,45	4,65
Piricuddara	0,28	5,68
Tonda iblea	0,29	5,10
Vaddarica	0,45	4,95
Verdello	0,38	3,69
SAF1	0,39	5,15
SAF10	0,36	5,20
SAF11	0,34	5,35
SAF12	0,24	5,40
SAF13	0,31	5,35
SAF14	0,27	4,90
SAF15	0,34	4,32
SAF2	0,38	5,45
SAF3	0,34	5,00
SAF4	0,22	6,06
SAF6	0,28	5,19
SAF7	0,33	5,24
SAF9	0,32	5,45
SAF16	0,22	6,16

Composizione chimica

Valori superiori all'80% in acido oleico sono stati riscontrati negli oli di 'Cerasuola', 'SAF6' e 'SAF16'; 5 cultivar hanno raggiunto un livello in acido oleico compreso tra 60% e 70%; 10 genotipi, tra cui la cultivar di riferimento 'Arbequina', hanno fatto registrare un contenuto in acido oleico compreso tra 72% e 75% (Fig.2).

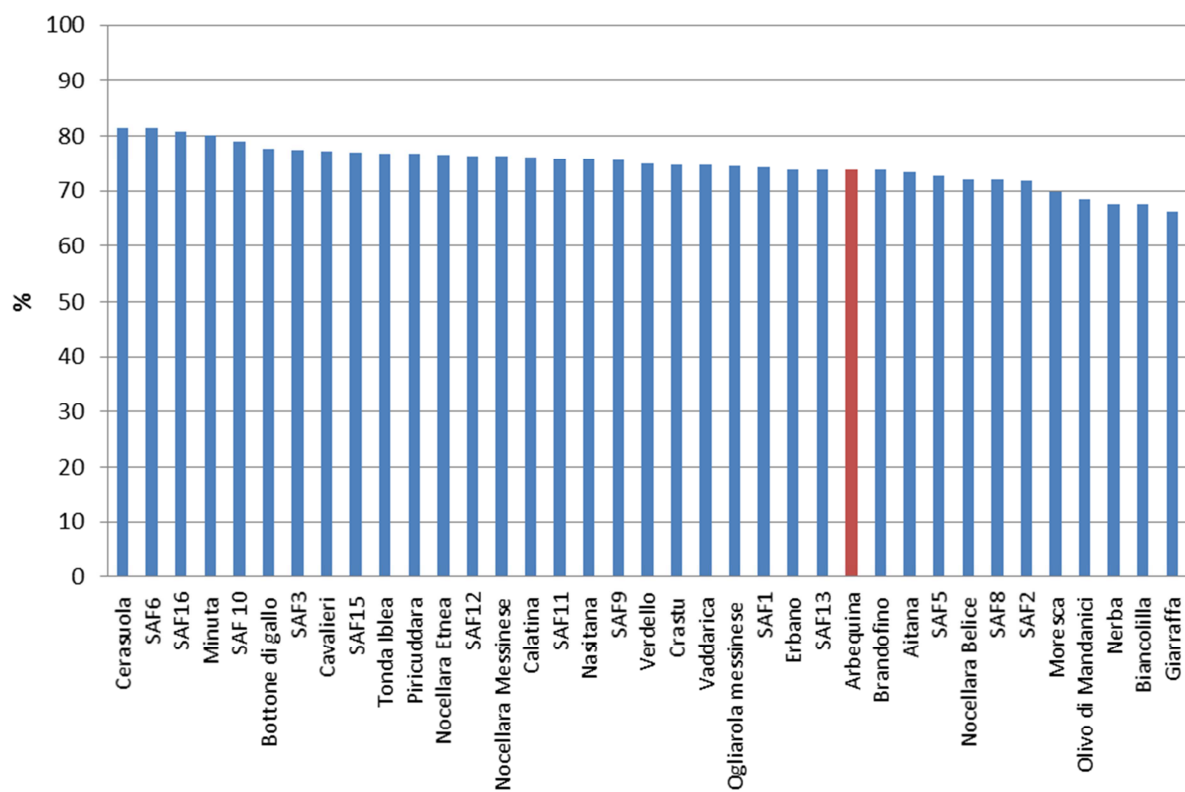


Figura 2. Contenuto (%) in acido oleico in oli monovarietali di cultivar e accessioni autoctone della Sicilia.

Il contenuto in acido linoleico (Ω_6) degli oli in studio è risultato compreso tra 8 e 15%. Gli oli delle cultivar ‘Nocellara messinese’, ‘Cerasuola’, ‘Cavalieri’, ‘Tonda iblea’ e ‘Nasitana’ e delle accessioni ‘SAF16’ e ‘SAF 12’ hanno fatto registrare valori inferiori a 10%.

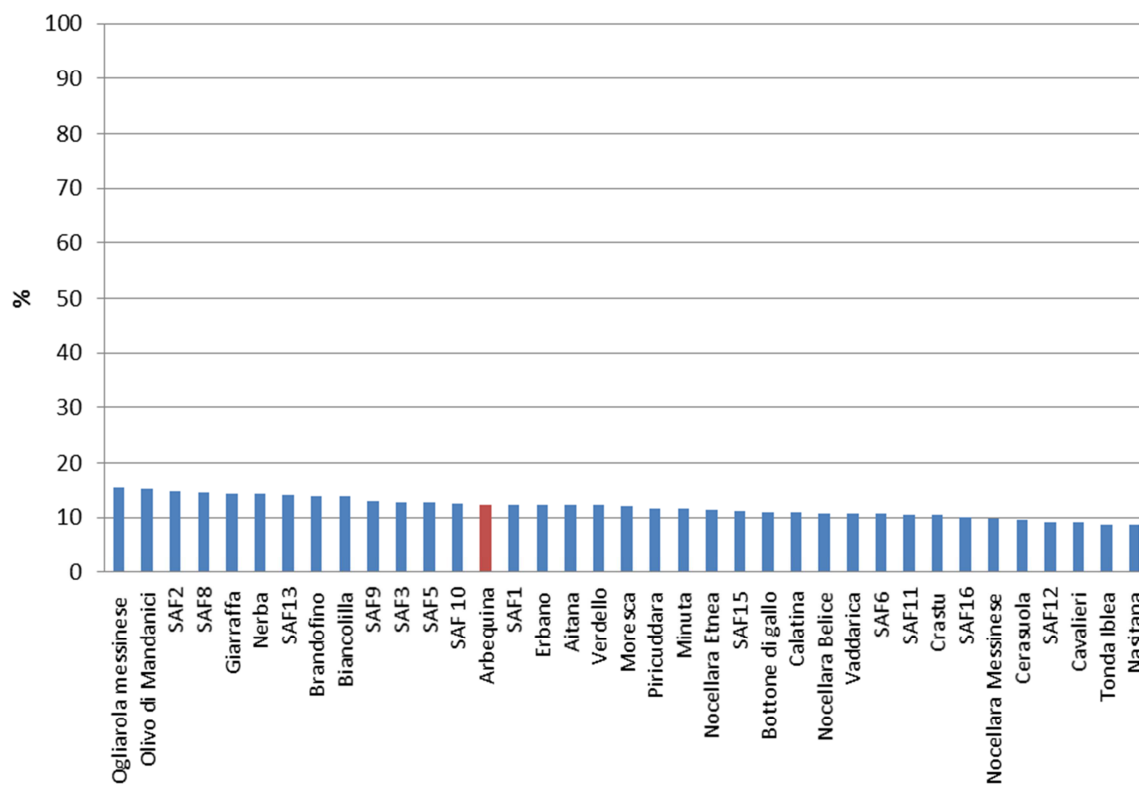


Figura 3. Contenuto (%) in acido linoleico (Ω_6) in oli monovarietali di cultivar e selezioni autoctone della Sicilia.

Tabella 3. Contenuto (%) in acido linolenico ($\Omega 3$) in oli monovarietali ottenuti dai genotipi in studio.

CULTIVAR	Acido linolenico %	ACCESSIONI	Acido linolenico %
Aitana	0,12	SAF1	0,13
Arbequina	0,14	SAF2	0,11
Biancolilla	0,14	SAF3	0,11
Bottone di gallo	0,12	SAF5	0,2
Brandofino	0,09	SAF6	0,09
Calatina	0,1	SAF8	0,09
Cavaliere	0,15	SAF9	0,12
Cerasuola	0,12	SAF10	0,1
Crastu	0,13	SAF11	0,12
Erbano	0,1	SAF12	0,1
Giarraffa	0,12	SAF13	0,13
Minuta	0,08	SAF15	0,14
Moresca	0,13	SAF16	0,13
Nasitana	0,11		
Nerba	0,08		
Nocellara del Belice	0,11		
Nocellara etnea	0,11		
Nocellara messinese	0,13		
Ogliarola messinese	0,05		
Olivo di Mandanici	0,11		
Piricuddara	0,09		
Tonda iblea	0,12		
Vaddarica	0,09		
Verdello	0,13		

Nessun olio ha fatto registrare valori di acido linolenico ($\Omega 3$) superiori alla soglia prevista dal regolamento CE 1989/03 (≤ 1); i valori (Tab.3) sono risultati compresi tra 0.05% ('Ogliarola messinese') e 0.20% ('SAF5').

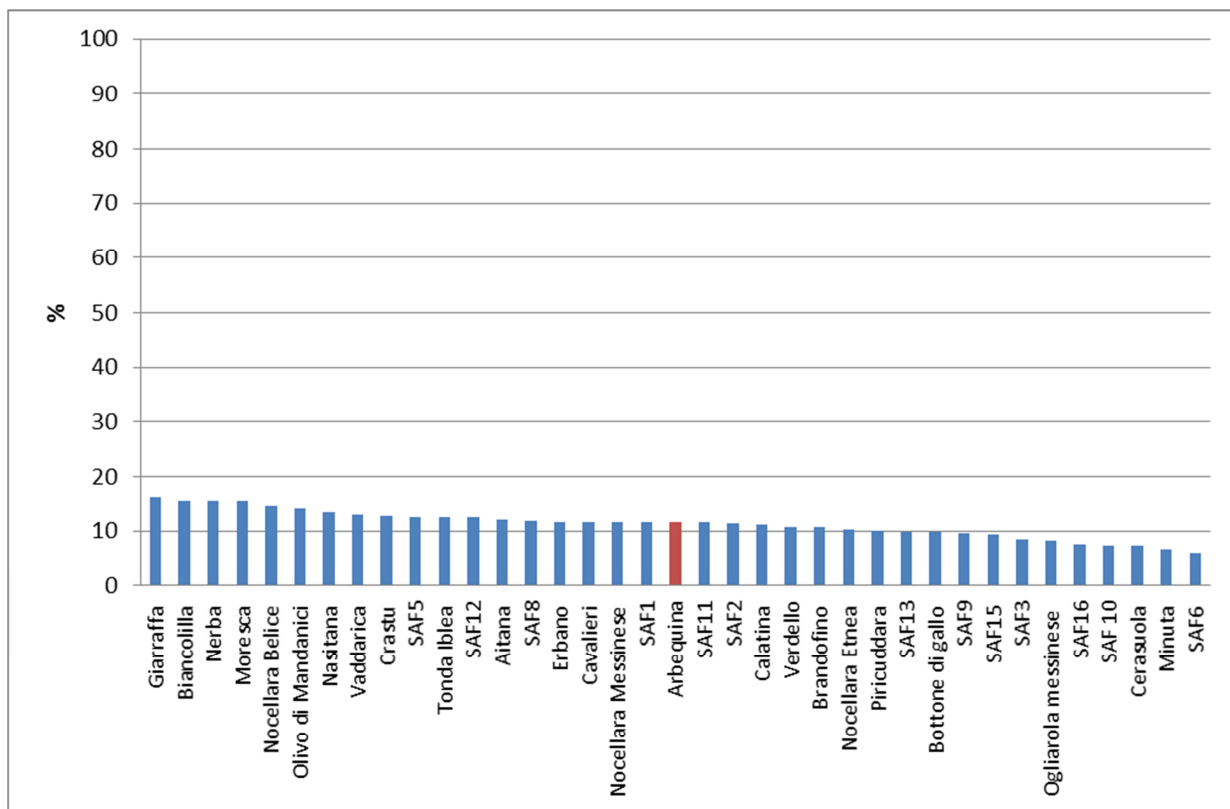


Figura 4. Contenuto (%) in acido palmitico in oli monovarietali di cultivar e selezioni autoctone della Sicilia

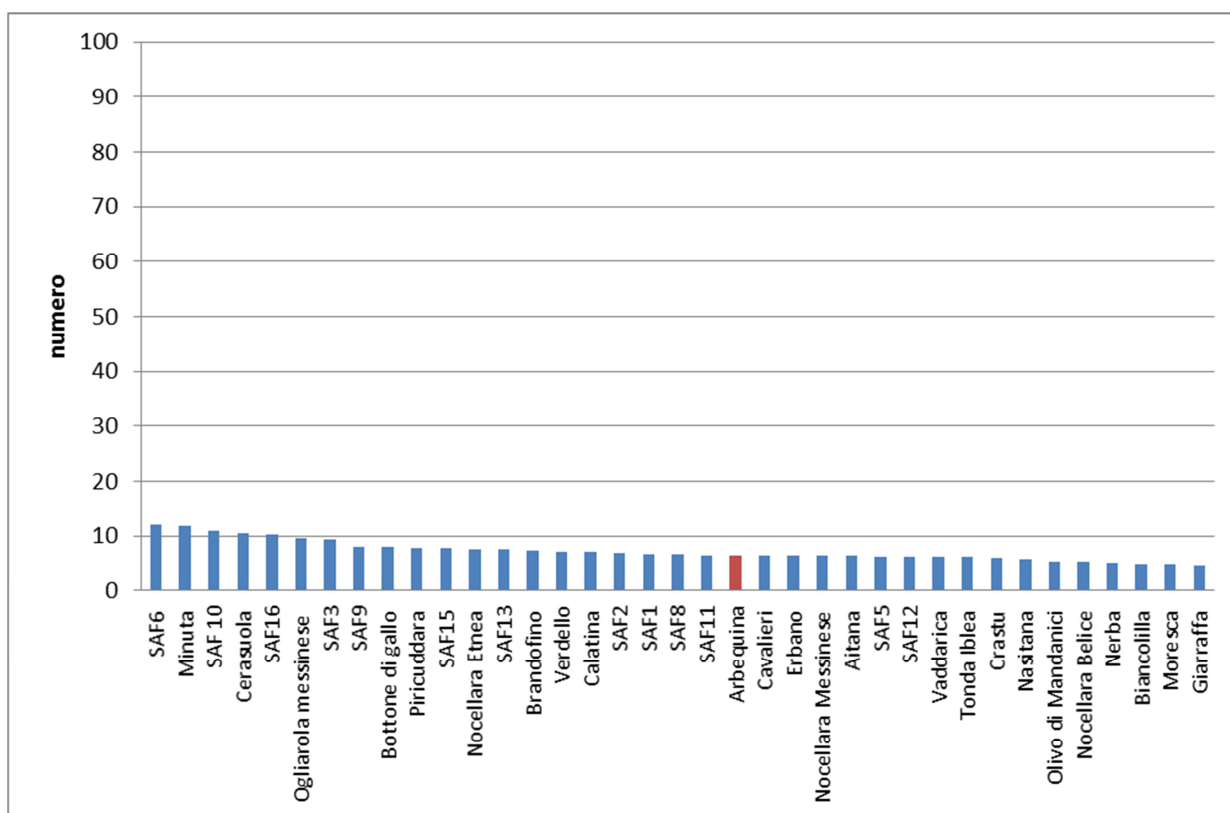


Figura 5. Rapporto acidi grassi insaturi e saturi in oli monovarietali di cultivar e selezioni autoctone della Sicilia

Relativamente al contenuto in acidi grassi saturi, la percentuale di acido palmitico è risultata molto variabile oscillando tra il 16,10 % in ‘Giarraffa’ e il 6,8 % in ‘SAF6’.

Per quanto riguarda il rapporto acidi insaturi/saturi (Fig.5) il range di variazione è risultato compreso tra 4,68 in ‘Giarraffa’ e 12 in ‘SAF6’; solo cinque accessioni hanno presentato valori prossimi a 10.

Ad eccezione degli oli delle cultivar ‘Minuta’ e ‘Nasitana’, tutti i genotipi siciliani analizzati hanno fatto registrare un contenuto in polifenoli superiore alla cultivar spagnola (Fig. 6); ‘SAF9’ e ‘SAF6’ hanno raggiunto valori prossimi a 400ppm.

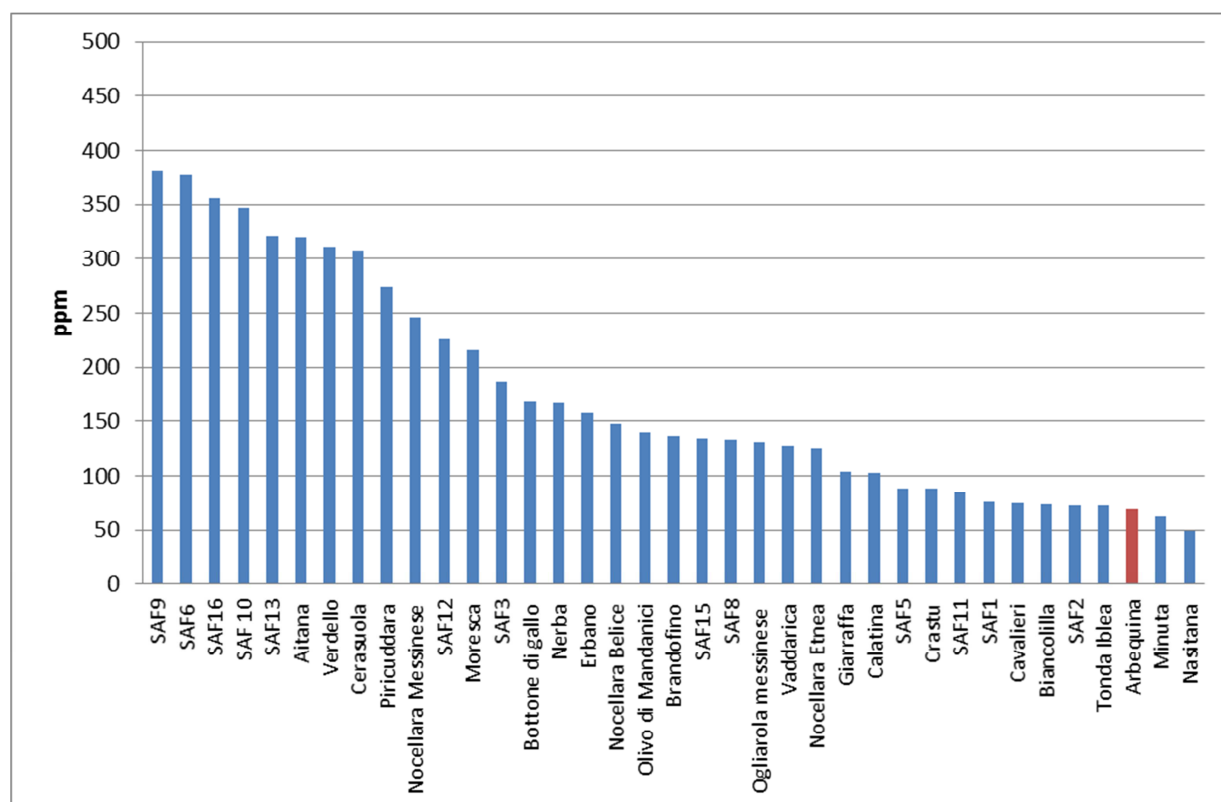


Figura 6. Contenuto (ppm) in polifenoli determinato mediante HPLC in oli monovarietali di cultivar autoctone siciliane

Ben otto genotipi siciliani hanno fatto registrare un contenuto di idrossitirosolo e suoi derivati superiore a 5mg in 20g di olio extravergine (Fig.7), superando la soglia minima indicata nel Claim dell’ESFA.

Il valore più alto è stato rilevato negli oli delle accessioni ‘SAF9’ (7,08 mg/20gr), seguita da ‘SAF6’ (6.83 mg/20gr), ‘SAF16’ (6.50 mg/20gr) e ‘SAF10’ (6.34 mg/20gr); i valori più bassi sono stati registrati negli oli delle cultivar ‘Minuta’ e ‘Nasitana’. L’olio della cultivar spagnola ha fatto registrare valori di gran lunga inferiori a quelli di gran parte dei genotipi siciliani.

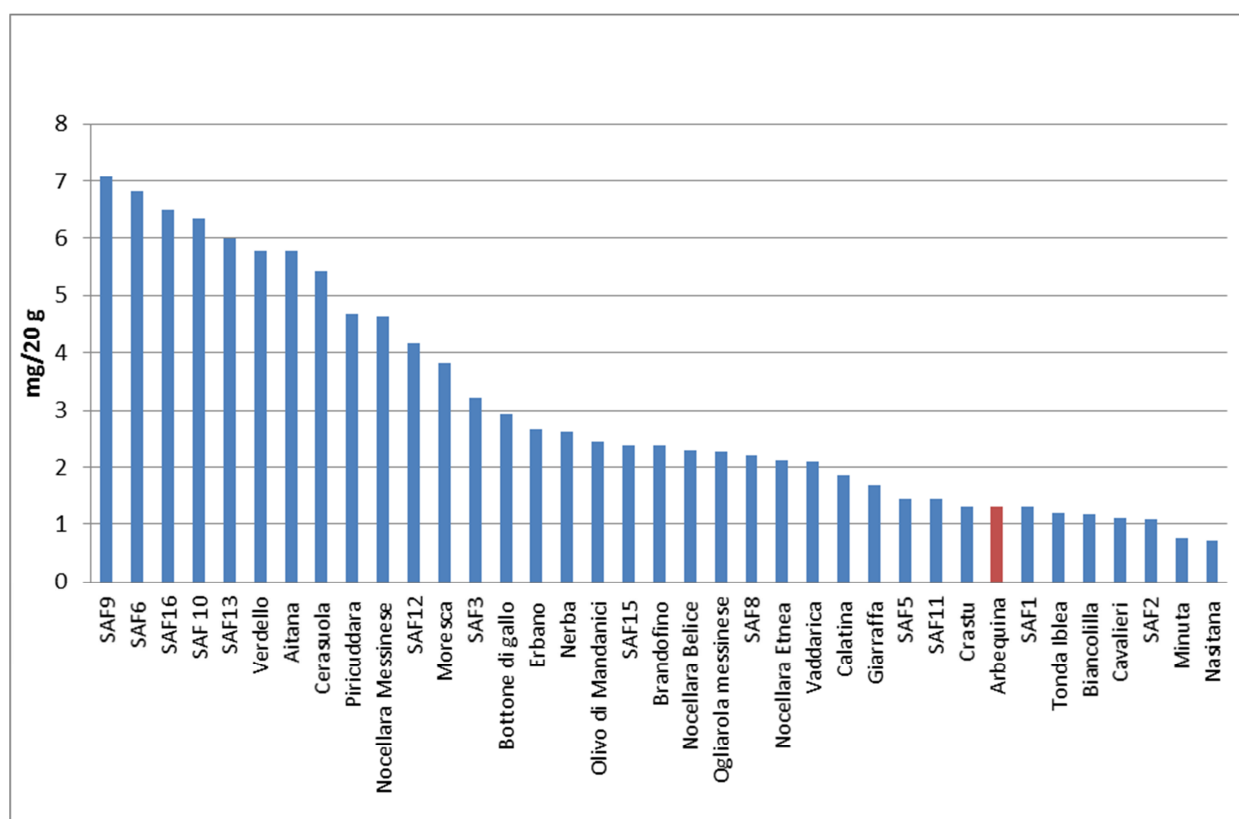


Figura 7. Contenuto (mg/20g di olio di oliva) di idrossitirosolo e suoi derivati determinato mediante HPLC in oli monovarietali di cultivar e selezioni autoctone della Sicilia

In tabella 4 è illustrata la composizione fenolica dei campioni di oli monovarietali provenienti dai genotipi siciliani oggetto del presente lavoro. La grande variabilità nei valori assoluti nella concentrazione di 3,4-DHPEA-EDA e di 3,4-DHPEA-EA, secondo quanto evidenziato anche in altre esperienze (Montedoro et al., 1992; Pannelli et al., 1990; Gomez-Alonzo et al., 2002), sarebbe direttamente correlata alla cultivar tanto che, alcuni autori, propongono di utilizzare tali composti come marker dell'origine genetica del frutto (Amiot et al., 1986, 1989).

Tabella 4. Composizione fenolica (ppm) determinata mediante HPLC in oli monovarietali di cultivar autoctone siciliane, di accessioni di olivo siciliane e della cultivar spagnola di riferimento.

Cultivar	H- tirosolo ppm	Tirosolo ppm	3,4-DHPEA- EDA ppm	p-HPEA- EDA ppm	3,4-DHPEA- EA ppm	(+)-1-Acetossipinoresinolo ppm	(+)-Pinoresinolo ppm	Ligustroside Aglicone ppm
Aitana	6,64	3,87	130,84	33,57	113,97	9,70	9,88	11,00
Arbequina	3,96	3,07	32,26	7,81	17,89	13,56	8,22	0,00
Biancolilla	1,15	2,07	29,89	12,01	13,78	9,08	6,07	0,00
Bottone di gallo	2,66	2,78	104,35	15,55	21,99	13,68	8,00	0,00
Brandofino	3,10	4,09	62,50	18,19	30,43	9,24	4,83	4,34
Calatina	3,92	1,87	57,59	9,61	20,25	6,02	3,70	0,00
Cavalieri	0,68	1,31	21,20	14,25	17,79	12,57	6,83	0,00
Cerasuola	3,29	3,32	173,37	45,56	44,84	25,19	12,21	0,00
Crastu	1,76	39,38	14,60	9,49	0,00	6,38	16,60	0,00
Erbano	2,83	3,43	78,22	15,72	33,12	10,20	12,62	1,64
Giarraffa	3,00	6,89	23,22	15,16	36,58	8,18	4,19	6,92
Minuta	1,62	1,46	12,92	10,21	12,30	10,18	13,46	0,00
Moresca	4,28	7,40	93,79	44,92	41,00	10,48	4,89	8,62
Nasitana	1,25	1,66	14,19	7,08	11,24	5,91	7,74	0,00
Nerba	3,22	92,27	17,26	18,27	0,00	6,99	30,17	0,00
Nocellara Belice	2,25	5,23	66,97	17,94	22,12	10,64	18,25	4,28
Nocellara Etnea	1,82	2,24	63,72	16,50	21,45	10,26	9,16	0,00
Nocellara messinese	4,10	1,49	163,93	24,97	37,88	6,00	2,30	5,06
Ogliarola messinese	1,25	4,07	62,09	19,63	26,87	9,66	5,96	1,03
Olivo di Mandanici	3,05	2,63	76,88	13,27	26,60	7,78	6,17	3,49
Piricuddara	2,60	4,81	154,21	34,78	37,35	14,53	24,64	1,54
Tonda Iblea	5,51	5,75	25,36	11,74	11,52	6,17	4,25	1,87
Vaddarica	1,40	4,10	36,30	29,62	33,31	9,50	5,72	7,54
Verdello	3,97	2,60	199,38	29,96	53,09	9,15	8,04	5,28

Segue...

Accessione	H- tirosolo	Tirosolo	3,4-DHPEA-EDA	p-HPEA-EDA	3,4-DHPEA-EA	(+)-1-Acetossipinoresinolo	(+)-Pinoresinolo	Ligustroside Aglicone
	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm
SAF1	1,50	3,27	36,59	14,03	9,31	6,76	4,26	0,00
SAF2	0,56	2,24	23,82	10,54	16,59	10,71	7,94	0,00
SAF3	5,07	1,78	98,85	8,26	46,86	16,52	4,67	4,52
SAF5	2,90	2,71	39,76	10,35	17,02	10,71	4,99	0,00
SAF6	4,44	3,27	272,27	27,17	34,12	20,93	10,89	4,07
SAF8	2,39	3,83	44,14	21,94	37,70	13,95	3,20	6,43
SAF9	8,45	3,06	234,09	26,78	81,67	9,75	10,66	7,12
SAF10	3,63	2,86	222,78	24,94	62,98	13,83	10,81	4,63
SAF11	1,58	3,61	33,66	14,91	18,81	5,97	2,59	3,35
SAF12	3,00	2,59	127,15	33,83	41,58	8,38	2,95	6,65
SAF13	7,39	3,45	167,44	21,73	100,09	7,54	8,30	4,88
SAF15	4,76	3,12	67,42	24,58	18,56	5,87	8,26	1,90
SAF16	6,99	3,23	223,84	41,66	49,12	15,53	11,26	3,63

9.4 Conclusioni

Le proprietà qualitative degli oli extravergini di oliva risultano molto più complesse di quelle previste dalle norme del Codex alimentarius, o del COI (Consiglio Olivicolo internazionale) che distinguono le diverse categorie degli di oliva soltanto in rapporto al basso grado di alterazione idrolitica (acidità libera) ed ossidativa (numero di perossidi e costanti spettrofotometriche) e all'assenza di difetti sensoriali. La qualità di un olio extra vergine di oliva, infatti, è fortemente associata all'elevato contenuto di acidi grassi mono e polinsaturi e alla presenza di micronutrienti, quali la vitamina E (α -tocoferolo), e di composti fenolici che ne influenzano non solo la shelf-life ma anche le caratteristiche sensoriali e salutistiche (Servili et al., 2014; Artajo et al., 2007; Lopez-Miranda et al., 2010).

Recentemente la Comunità Europea, tramite la commissione dell'EFSA (Agenzia Europea per la Sicurezza Alimentare con sede a Parma) ha emanato una serie di claim salutistici, riportati nel reg. 432/2012, che comprendono gli acidi grassi monoinsaturi, il contenuto in α -tocoferolo (vitamina E) e, cosa più importante perché esclusiva dell'olio estratto dalle olive per via meccanica, i composti fenolici bioattivi.

I risultati ottenuti con il presente lavoro hanno confermato l'influenza della cultivar sulle caratteristiche chimico-fisiche degli oli (Lavee e Wodner, 1991) e, nello steso tempo, dimostrano come solo alcune cultivar ('Aitana', 'Verdello' e 'Cerasuola') e nuove accessioni ('SAF9', 'SAF6', 'SAF16', 'SAF10'), potrebbero trarre vantaggio commerciale dall'adozione dell'indicazione prevista dal claim salutistico dell'EFSA sui polifenoli.

Preme inoltre sottolineare che molte delle cultivar ampiamente presenti nel territorio siciliano, così come la cultivar internazionale di riferimento ('Arbequina'), non hanno fatto registrare contenuti di biofenoli sufficienti per essere elette al claim sopracitato.

Diversi autori sostengono che i derivati dei secoiridoidi quali e 3,4- DHPEA-EDA e 3,4- DHPEA-EA sono quelli che maggiormente contribuiscono a dare la sensazione di amaro nell'olio vergine di oliva (Garcia et al., 2001). Altri ricercatori (Tovar et al., 2001; Servili et al., 2004; Servili et al., 2009; Dierkes et al., 2012), hanno dimostrato che nell'olio la sensazione di amaro e pungenza è strettamente correlata con il contenuto dei derivati del ligustroside quale il p-HPEA-EDA. Considerata, quindi, la grande variabilità di tali composti, si ritiene necessario uno studio delle caratteristiche sensoriali degli oli al fine di verificarne il gradimento da parte dei consumatori.

Infine, l'indagine territoriale svolta ha portato all'individuazione di nuovi genotipi, così come confermato anche dalle analisi molecolari, rappresentati a volte da singole piante. Non è da escludere, quindi, che il patrimonio varietale siciliano sia ben più ricco di quello attualmente

descritto. Ulteriori ricerche potranno portare all'individuazione di nuovi genotipi con caratteristiche qualitative, produttive e di habitus di vegetazione anche superiori a quelle dei genotipi finora descritti.

10. ESPERIMENTO 3 - STUDIO PRELIMINARE DEL POTENZIALE DI CRESCITA VEGETATIVA E DI ARCHITETTURA DELLA CHIOMA IN CULTIVAR E NUOVE ACCESSIONI DI OLIVO SICILIANE

10.1 Premessa

Lo studio dell'habitus vegetativo e il basso vigore sono importanti requisiti nella valutazione di un genotipo ai fini della sua utilizzazione per la costituzione di impianti ad alta densità idonei alla meccanizzazione della raccolta e della potatura.

Il vigore di una pianta è definito attraverso la misura di diversi parametri quali l'area della sezione del tronco, il volume della chioma, l'altezza della pianta, il numero e la lunghezza media degli internodi (Looney e Lane, 1984). La lunghezza degli internodi, ad esempio, sembra essere direttamente proporzionale alle dimensioni della pianta, così come, in diverse specie frutticole, è stato osservato che la basitonia è associata ad internodi corti, ad angoli d'inserzione ampi e alla bassa vigoria (Costes et al., 2014).

La distribuzione dei rami sull'asse principale e sulle ramificazioni laterali, cioè l'architettura della chioma, influenza in maniera determinante anche diversi processi fisiologici della pianta, come la fotosintesi, la quantità di sostanza secca prodotta e la qualità dei frutti. Inoltre, attraverso la modifica dei parametri microclimatici della chioma incide sull'aspetto fitosanitario.

Negli esperimenti precedenti è stata valutata la possibilità di contribuire al rilancio competitivo dell'olivicoltura con uno studio approfondito nell'ambito del vasto panorama olivicolo siciliano. Sono stati così ricercati ed individuati genotipi del germoplasma autoctono, con caratteristiche agronomiche di sviluppo corrispondenti alle richieste dei sistemi ad alta densità, in grado di fornire oli dalle pregiate caratteristiche nutraceutiche, salutistiche ed organolettiche.

Sulla base dei risultati ottenuti è stato intrapreso uno studio preliminare, con l'obiettivo di individuare, tra il germoplasma autoctono siciliano, quei genotipi che avessero vigoria e tratti dell'architettura della chioma adatti agli impianti in parete.

10.2 Materiali e metodi

Lo studio è stato condotto nel periodo 2014-2015 su piante di un anno innestate su portinnesti clonali di 'Nocellara del Belice' di 38 genotipi di olivo siciliani studiati nei precedenti esperimenti (Tabella 1). Ogni genotipo è rappresentato da 7 piante in successione, disposte secondo un sesto d'impianto di 5 x 2 m, con una densità d'impianto pari a 1000

piante/ha.

L'esperimento è stato condotto presso l'azienda "Campo Carboj" dell'Ente di Sviluppo Agricolo (ESA) della Regione Siciliana ubicata in territorio di Castelvetro (TP), contrada Belice di mare.

Le precipitazioni, concentrate nel periodo autunno-inverno, sono risultate intorno ai 600 mm/anno (fonte SIAS); le temperature raramente sono scese al di sotto di 3-4°C durante i mesi invernali e nei mesi estivi hanno raggiunto valori prossimi o superiori ai 40°C.

Per evitare che stress idrici potessero compromettere la produttività delle piante sono stati effettuati 3 interventi irrigui di soccorso con volumi di acqua di circa 600 m³/ha/anno attraverso un sistema d'irrigazione costituito da irrigatori di tipo in-line autocompensanti (4 l/h) innestati su tubo di polietilene (diametro 20 mm) e disposti lungo l'ala piovana ad intervalli di 1 m.

Per meglio valutare la crescita e la conformazione della chioma, le piante sono state lasciate libere di vegetare durante la fase di allevamento in vivaio e nel primo anno di crescita in pieno campo. Nel febbraio 2014, subito dopo la messa a dimora in campo, su ciascuna pianta sono stati effettuati i rilievi di seguito riportati e ripetuti nel febbraio 2015:

- altezza della pianta;
- diametro del tronco, misurato a 10 cm sopra il punto d'innesto;
- numero di rami inseriti lungo l'asse centrale e relativa distribuzione;

Le misurazioni effettuate hanno consentito di calcolare:

- intensità di ramificazione (n. di rami/cm lineari di tronco);
- distribuzione dei rami lungo il terzo apicale, mediano e basale del tronco.

I dati rilevati sono stati sottoposti ad ANOM (Analysis of Means) e i limiti di decisione superiore ed inferiore sono stati utilizzati per definire il range medio dei genotipi in esame.

I limiti di decisione sono stati calcolati secondo la formula (Nelson et al., 2005):

$$GM \pm [h_{(0,05, I, N-1)} * S_{popolazione} * \sqrt{(I-1)/N}]$$

GM = media generale delle accessioni;

h = valore tabulato che dipende dalla soglia di significatività (0,05);

I = numero di accessioni a confronto;

N = numero totale di repliche misurate;

S_{popolazione} = varianza media di tutte le accessioni.

I dati sono stati graficamente rappresentati con software SigmaPlot (Systat Software, Chicago, IL, USA).

Tabella 1: Genotipi di olivo siciliani in studio e relative sigle.

CULTIVAR	SIGLA	ACCESSIONI
Biancolilla	BC	SAF1
Bottone di gallo	BG	SAF2
Brandofino	BR	SAF3
Calatina	CAL	SAF4
Cavaliere	CAV	SAF5
Crastu	CR	SAF6
Erbano	ER	SAF7
Giarraffa	GF	SAF8
Minuta	MN	SAF9
Moresca	MR	SAF10
Nasitana	NA	SAF11
Nerba	NER	SAF12
Nocellara del Belice	NOB	SAF13
Nocellara etnea	NOE	SAF14
Nocellara messinese	NOM	SAF15
Olivo di Mandanici	OMD	SAF16
Ogliarola messinese	OM	
Passulunara d’Alessandria	PS	
Piricuddara	PRC	
Tonda iblea	TI	
Vaddarica	VCA	
Verdello	VLA	

10.3 Risultati

Analizzando i dati relativi all’altezza (fig. 1), le accessioni ‘SAF3’, ‘SAF9’, ‘SAF14’ e le cultivar ‘NOM’, ‘BR’ e ‘MR’ presentano valori superiori rispetto alla media, mentre i valori di ‘SAF6’, ‘SAF13’, ‘SAF16’ ‘GF’ e ‘CAV’ si sono mantenuti al di sotto della media.

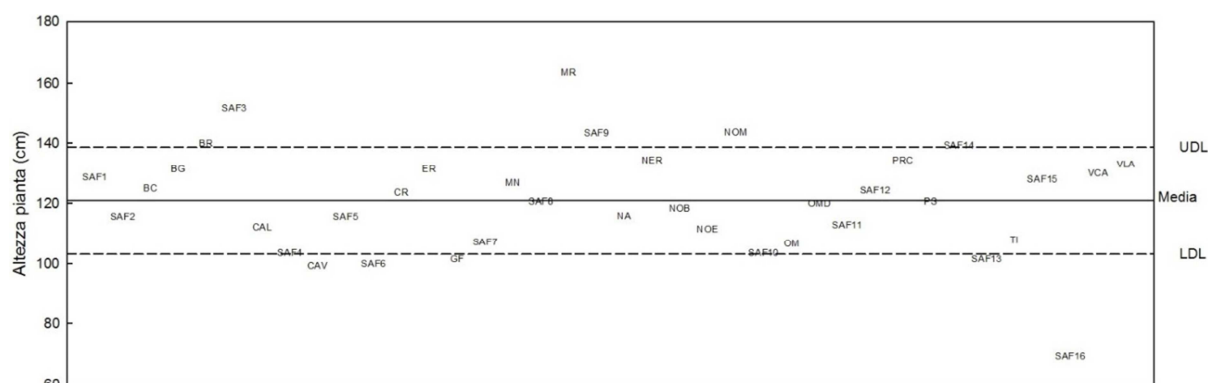


Figura 1: Altezza della pianta (cm) dei genotipi siciliani di olivo in un contesto d’impianto ad alta densità in relazione al limite di decisione superiore (UDL) e al limite di decisione inferiore (LDL) in seguito ad analisi delle medie (ANOM).

In figura 2 sono riportati i risultati relativi ai diametri dei diversi genotipi in studio. Le accessioni ‘SAF13’ e ‘SAF16’ hanno raggiunto valori al di sotto del limite di decisione inferiore (LDL), mentre le accessioni ‘SAF2’ e le cultivar ‘BC’ ed ‘ER’ risultano al di sopra del limite UDL. I diametri dei restanti genotipi misurati rientrano nel range medio.

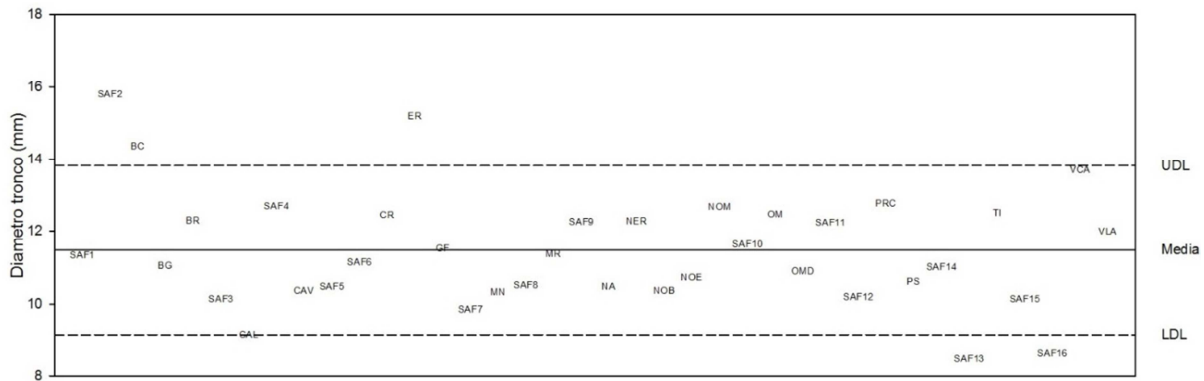


Figura 2. Diametro del tronco (mm) dei genotipi siciliani di olivo in un contesto d’impianto ad alta densità in relazione al limite di decisione superiore (UDL) e al limite di decisione inferiore (LDL) in seguito ad analisi delle medie (ANOM).

Le figure 3, 4 e 5 mostrano l’inserzione dei rami lungo il terzo basale, mediano e apicale del tronco, mettendo in risalto la diversa distribuzione dei rami lungo l’asse centrale della pianta. Dei genotipi studiati solamente ‘BR’ presenta una maggiore frequenza dei rami nel terzo apicale dell’asse (circa 60 %) mentre in quasi tutte le altre accessioni i rami si articolano prevalentemente nel tratto mediano dell’asse.

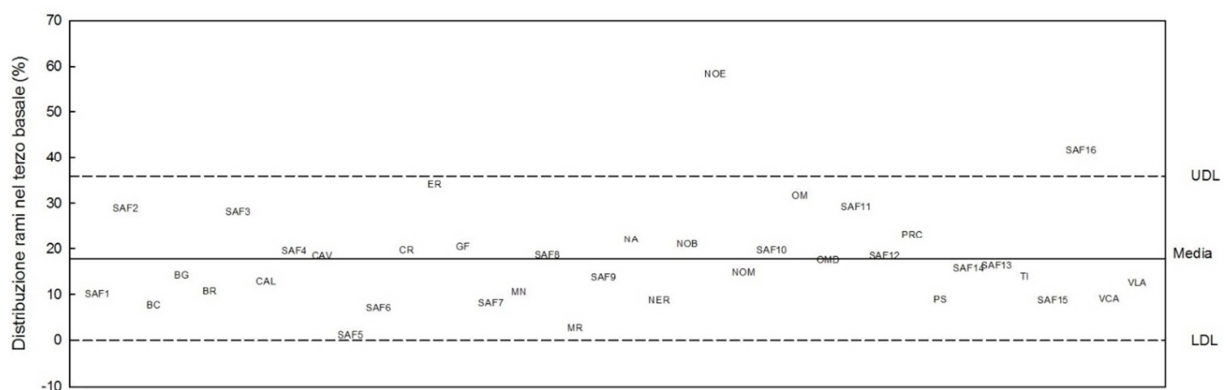


Figura 3. Distribuzione (%) dei rami nel terzo basale del tronco dei genotipi siciliani di olivo in un contesto d’impianto ad alta densità in relazione al limite di decisione superiore (UDL) e al limite di decisione inferiore (LDL) in seguito ad analisi delle medie (ANOM).

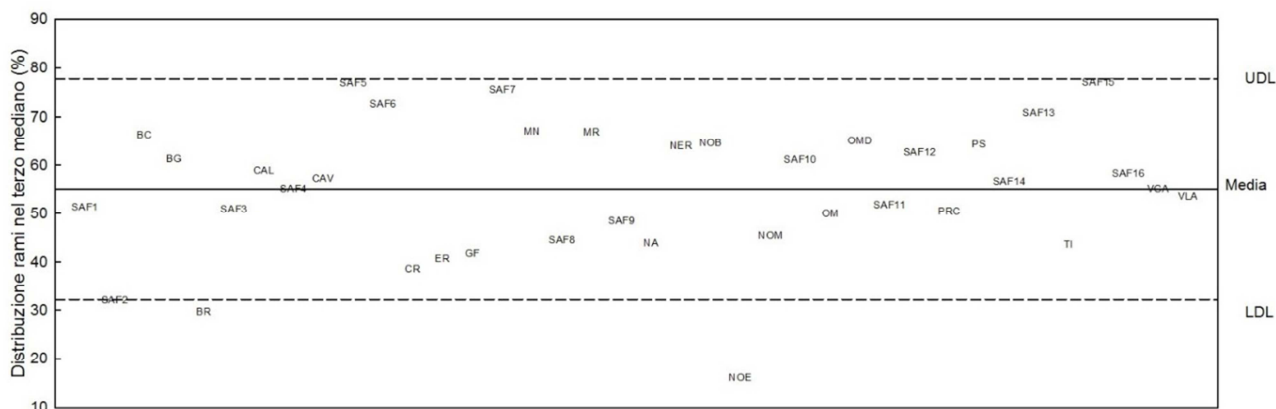


Figura 4: Distribuzione (%) dei rami nel terzo mediano del tronco dei genotipi siciliani di olivo in un contesto d’impianto ad alta densità in relazione al limite di decisione superiore (UDL) e al limite di decisione inferiore (LDL) in seguito ad analisi delle medie (ANOM).

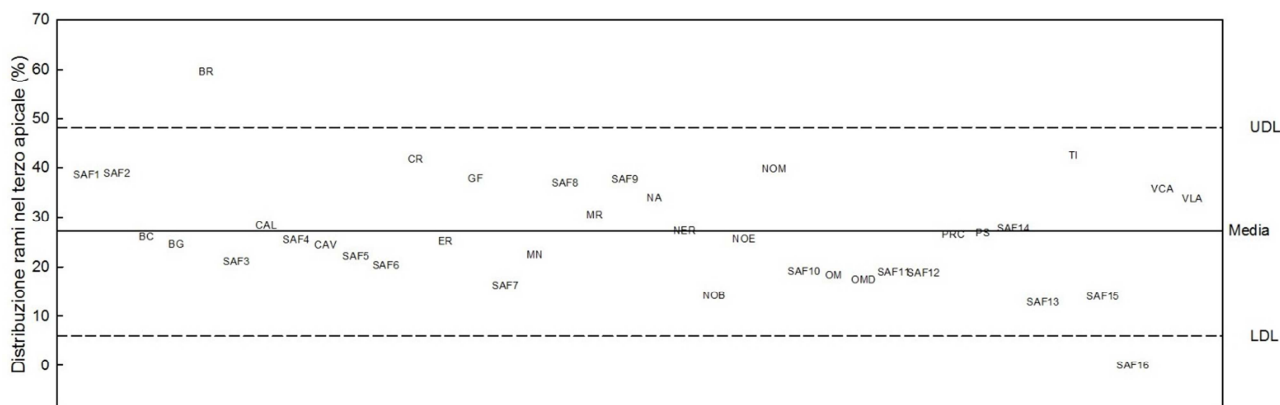


Figura 5. Distribuzione (%) dei rami nel terzo apicale del tronco dei genotipi siciliani di olivo in un contesto d’impianto ad alta densità in relazione al limite di decisione superiore (UDL) e al limite di decisione inferiore (LDL) in seguito ad analisi delle medie (ANOM).

10.4 Conclusioni

È oggi noto che nell’olivicoltura moderna, basata sui sistemi intensivi in volume e ad alta densità in parete, le forme di allevamento consigliate sono rispettivamente *Vaso Policonico* e *Palmetta libera*. La facilità nell’ottenimento e nel mantenimento delle suddette forme dipende anche da una corretta scelta delle varietà, che deve rispondere a determinate caratteristiche agronomiche e architeturali. Varietà con più alto tasso di crescita verticale e basso indice di ramificazione risultano particolarmente adatte all’allevamento a Vaso Policonico. Le varietà che, invece, presentano piante di “ridotta” altezza ed elevato indice di ramificazione, sono più adatte alle forme in parete, soprattutto quelle con tendenza ad emettere rami laterali che in futuro costituiranno palchi di branche.

Dalle indagini condotte la nuova accessione ‘SAF16’ ha manifestato uno sviluppo

vegetativo adatto all'allevamento in parete, mentre la cultivar 'Brandofino' (BR) ha mostrato caratteri architettonici adatti all'allevamento a vaso policonico.

Infine, nonostante il breve periodo di osservazione, sensibili differenze sono state osservate rispetto al parametro altezza della pianta. Alcuni genotipi, dopo un anno di crescita in campo, hanno fatto registrare altezze superiori ai 140 cm ('SAF3', 'SAF9', 'SAF14', 'MR', 'NOM' e 'BR'); mentre, soltanto quattro sono risultati inferiori ai 100 cm ('SAF6', 'SAF13', 'SAF16', 'CAV' e 'GF').

I risultati conseguiti nel presente studio, sebbene promettenti, potranno essere confermati soltanto negli anni a venire, quando saranno evidenti le relazioni tra habitus vegetativo e fruttificazione.

11. CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Le problematiche agronomiche del comparto olivicolo di quest'ultimo ventennio, connotate dalla ricerca di nuove forme di allevamento, dalla selezione di cultivar più fertili e poco vigorose e/o portinnesti nanizzanti, sono strettamente connesse all'esigenza dell'aumento della produttività degli impianti e della meccanizzazione della raccolta (Caruso et al., 2014; Famiani e Gucci, 2012; Fontanazza e Cappelletti, 1993). Tale "rivoluzione" scaturisce dalla difficoltà nel gestire i vecchi impianti olivicoli in maniera economicamente sostenibile e dalla veloce affermazione nel mondo di una nuova olivicoltura intensiva.

In Italia, lo storico legame esistente tra l'olivo e gran parte delle regioni tramanda come eredità un numero di cultivar che non ha eguali in altri Paesi olivicoli. Tale variabilità genetica, unitamente ai diversi contesti ambientali italiani di coltivazione dell'olivo, consente di produrre oli con caratteristiche qualitative e sensoriali a forte valenza territoriale.

Allo stato attuale, anche in Italia, nello sviluppo di nuovi modelli d'impianto si fa riferimento soprattutto all'esperienza spagnola che però, imponendo l'impiego delle poche cultivar idonee, non consente di sfruttare la biodiversità della specie. Nell'olivicoltura italiana, con l'affermazione di tale modello, si verrebbe quindi a perdere la tipicità degli oli, gran parte dei quali tutelati da marchi collettivi di qualità, riconosciuti in ambito dell'Unione Europea. (DOP, IGP).

Al fine di migliorare la sostenibilità economica degli impianti mantenendo la tipicità degli oli, il Dipartimento SAF ha avviato indagini volte ad individuare, nell'ambito del vasto patrimonio varietale autoctono della Sicilia, genotipi caratterizzati da produzione precoce e costante e con habitus vegetativo idoneo alla fruttificazione anche in impianti ad alta densità (500-1000 alberi/ha).

I risultati conseguiti nell'ambito della presente tesi di dottorato hanno permesso di identificare, nel panorama olivicolo siciliano, cultivar altamente produttive ('Nocellara Etnea', 'Calatina', 'Bottone di gallo' e 'Abunara'); cultivar ad elevata efficienza produttiva ('Calatina'); cultivar caratterizzate da bassa alternanza di produzione ('Crastu' e 'Minuta') e cultivar adatte a sistemi ad alta densità, perché caratterizzate da un volume contenuto della chioma, come 'Calatina' e 'Olivo di Mandanici'.

Per quanto riguarda le caratteristiche qualitative degli oli, tra i genotipi in studio che potrebbero trarre vantaggio commerciale dall'adozione dell'indicazione prevista dal claim salutistico dell'EFSA, meritano essere segnalate le cultivar 'Aitana', 'Verdello' e 'Cerasuola' e le nuove accessioni 'SAF9', 'SAF6', 'SAF16' e 'SAF10'.

Relativamente alla selezione 'SAF16' gli studi effettuati hanno inoltre messo in luce aspetti agronomici legati al vigore della pianta e all'architettura della chioma, che ne prefigurano un possibile utilizzo in impianti ad alta densità.

Se, nel proseguo della ricerca, tale selezione dovesse mostrare una precoce entrata in produzione unitamente a livelli produttivi elevati e costanti, si potrebbe prefigurare un suo utilizzo per la produzione di olio extra vergine di oliva di alta qualità a prezzi sostenibili.

In conclusione, i risultati delle prove condotte evidenziano chiaramente la possibilità di poter reperire, con specifiche prove, nella piattaforma varietale autoctona delle diverse regioni olivicole nazionali, cultivar adatte alle nuove esigenze in tema di contenimento dei costi di produzione e di standard qualitativo.

Per quanto esposto, non è da escludere, infine, che tali indagini possano portare alla valorizzazione di cultivar minori o neglette attualmente meno diffuse in coltivazione.

12. BIBLIOGRAFIA

- Alonso-Salces R. M., Héberger K., Holland M. V., Moreno Rojas J. M., Mariani C., Bellan G., Reniero F., Guillou C. (2010). Multivariate analysis of NMR fingerprint of the unsaponifiable fraction of virgin olive oils for authentication purposes. *Food Chem.* 118: 956-965.
- Ambrosino O., Monti L.M., Rao R. (2002). Marcatori AFLP per l'identificazione di cultivar di olivo e per la stima della variabilità genetica intra ed inter varietale. *Italus Hortus. Società Orticola Italiana.* 9: 36-40.
- Amiot M.J., Fleuriet A., Macheix J.J. (1986). Importance and evolution of phenolic compounds in olive during growth and maturation. *J. Agric. Food Chem.* 34: 823-826.
- Amiot M.J., Fleuriet A., Macheix J. J. (1989). Accumulation of oleuropein derivatives during olive maturation. *Phytochemistry* 28: 67-69.
- Anania G., Calatrava Requena J., De Gennaro B., Garcia Alvarez-Coque J.M., Parras Rosas M., Siciliani C.; Sivini G. (2001). Forum: problemi strutturali, domande di politiche e strategie delle imprese nell'olivicultura da olio in Italia e Spagna, *La Questione Agraria* 3: 143-172.
- Anania G.; Pupo D'Andrea R. (2008). The Global Market for Olive Oil: Actors, Trends, Policies, Prospects and Research Needs, Working Paper 08/2.
- Andrewes P., Busch J. L. H. C., de Joode T., Groenewegen A., Alexre H. (2003). Sensory properties of virgin olive oil polyphenols: identification of deacetylylgstroside aglycon as a key contributor to pungency. *J. Agric. Food. Chem.* 51: 1415-1420.
- Angeli, L., Sillari B., Cantini C. (1995). Cespuglio e monocono a confronto. *L'Informatore Agrario.* 43:59-63.
- Angiolillo A., Mencuccini M., Baldoni L. (1999). Olive genetic diversity assessed using amplified fragment length polymorphisms. *Theoretical and Applied Genetics*, 98: 411-421.
- Baali-Cherif D., Besnard G. (2005). High Genetic Diversity and Clonal Growth in Relict Populations of *Olea europaea* subsp. *laperrinei* (Oleaceae) from Hoggar, Algeria. *Annals of Botany*, 96 (5): 823-830.
- Baldioli M., Servili M., Perretti G., Montedoro G. F. (1996). Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73: 1589-1593.
- Baldini E. (1986). *Arboricoltura generale*. Ed. Clueb, Bologna.
- Baratta B., Barbera G. (1981). La forma di allevamento nell'olivicultura di Pantelleria. *Frutticoltura.* 12:43-45.
- Barbera G. (2003). I sistemi frutticoli tradizionali nella valorizzazione del paesaggio. *Italus Hortus.* 10:40-45.
- Barbera G., Inglese P., La Mantia T. (2005). La tutela e la valorizzazione del paesaggio culturale dei sistemi tradizionali dell'olivo in Italia. *Atti del Convegno Europeo: "Il futuro dei sistemi olivicoli in aree marginali: aspetti socio-economici, conservazione delle risorse naturali e produzioni di qualità"*, Matera 12-13 ottobre. 2004: 59-76.
- Barone E., Di Marco L., Motisi A., Caruso T. (1994). The Sicilian Olive Germplasm and its characterization by using statistical methods. *Acta Horticulturae.* 356: 66-69.
- Barone E., Caruso T., Marra F.P., Motisi A. (1995). Caratteristiche biometriche di 25 cultivar di olivo del germoplasma siciliano. *Atti Convegno "Tecniche, norme e qualità in olivicultura"*. Potenza, 15-17 dicembre. 1993: 623-630.
- Barone E., Di Marco L., (2003). *Morfologia e ciclo di sviluppo. Olea. Trattato di olivicultura*. Ed. F. P. Edagricole, Bologna: 13-33.
- Barranco D., Cimato A., Fiorino P., Rallo L., Touzani A., Castaneda C., Serafin F., Trujillo I. (2000). *World catalogue of olive varieties*. Consejo Oleícola Internacional, Madrid.
- Barranco D., Rallo L. (2000). Olive cultivars in Spain. *HortTechnology* 10(1): 107-110

- Bartolini G., Petruccelli R. (1994). Metodi biochimici e molecolari per l'identificazione delle specie coltivate. Riv. Sementi Elette. 5:45-56.
- Bartolini G., Prevost G., Messeri C., Carignani G. (1998). Olive germplasm: cultivars and world-wide collections.
- Bartolini G., Prevost G., Messeri C., Carignani G. (2005). Olive Germplasm: cultivars and world-wide collections. Web site FAO: <http://apps3.fao.org/wiews/olive/oliv.jsp>.
- Bartolini G., Pannelli G., Sonnoli A., Baldoni L., Servili M., (2005). Olivo (*Olea europaea* L.): scheda descrittiva varietale. Accademia Nazionale dell'Olivo e dell'Olio, Spoleto.
- Bartolozzi, F. (1998). L'olivicoltura non è più un'attività marginale. Terra e Vita. 31:27-29.
- Beauchamp GK., Keast RSJ., Morel D., Lin J., Pika J., Han Q., Lee CH., Smith AB., Breslin PA. (2005). Phytochemistry: ibuprofen-like activity in extra virgin olive oil. Nature 437: 45-46.
- Beckmann J.S., Soller M. (1986). Restriction Fragment Length Polymorphisms and genetic improvement of agricultural species. Euphytica. 35, 111-124.
- Berliner J. A., Navab M., Fogelman A. M., Frank J. S., Demer L. L., Edwards P. A., Watson A. D., Lusis A. J. (1995). Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. Circulation 91: 2488-2496.
- Beghè D. (2008). Studio sulla variabilità genetica e sulla provenienza del germoplasma di *Olea europaea* L. in Emilia. Salvaguardia della biodiversità: 29-30. Dottorato di Ricerca in Biologia Vegetale XX Ciclo. Università degli Studi di Parma.
- 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. Theoretical and Applied Genetics, 107: 736-744.
- Belaj A., Cipriani G., Testolin R., Rallo L., Trujillo I. (2004). Characterization and identification of the main Spanish and Italian olive cultivars by simple sequence repeat markers. HortScience, 39 (7): 1557-1561.
- Bellomo, F., A. Godini. (2003). Primeros campos experimentales de olivo superintensivo en Puglia-Italia. Olint. 7: 29.
- Besnard G., Khadari B., Baradat P., Bervillé A. (2002). *Olea europaea* (Oleaceae) phylogeography based on chloroplast DNA polymorphism. Theor. Appl. Genet., 104:1353- 1361.
- Besnard G., Henry P., Wille L., Cooke D., Chapuis E. (2007). On the origin of the invasive olives (*Olea europaea* L., Oleaceae). Heredity. 99:608-619.
- Bevilacqua P. (1996). Tra natura e storia In Ambiente, economie, risorse in Italia Ed. Donzelli, Roma.
- Bosetti C., Negri E., Franceschi S., Talamini R., Montella M., Conti E., Lagiou P., Parazini F., La Vecchia C. (2002). Olive oil, seed oil and other added fats relation to ovarian cancer (Italy) Cancer causes Control 13: 465-470.
- Bosetti C., Gallus S., Trichopoulou A., Talamini R., Franceschi S., Negri E., La Vecchia C. (2003). Influence of the mediterranean diet on the risk of cancers of upper aerodigestive tract. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 12: 1091-1094.
- Boskou D. (1996). Olive Oil Chemistry and Technology, AOCS Press, Champaign, IL, USA. 52-83.
- Bottari V., Spina P. (1952). Le varietà di olivo coltivate in Sicilia. Annali della Sperimentazione Agraria, 7: 937-1004.
- Braconi L. (1984). Olivicoltura intensiva. Edagricole, Bologna.
- Breviglieri N. (1958). L'allevamento dell'olivo in coltura intensiva. L'Italia Agricola. 9.
- Caballero J.M., Del Rio C., Barranco D., Trujillo I. (2006). The olive world germplasm bank of Cordoba, Spain. Olea, 25 nov: 14-18.
- Calatrava Requena J.; González Roa M.C. (2008). Technical versus Institutional Innovation in Andalusian Olive Tree Orchards: an Adoption Modelling Analysis, XII Conferenza dell'European Association of Agricultural Economics (EAAE), Ghent (Belgio), 26-29 Agosto 2008.

- 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.
- Carman H. (2007). Marketing the Mediterranean Diet: Some Comments on Issues and Opportunities, I Mediterranean Conference of Agro-Food Social Scientists. 103rd EAAE Seminar “Adding Value to the Agro-Food Supply Chain in the Future Euromediterranean Space”, Barcellona, 23-25 Aprile 2007
- Carriero F., Fontanazza G., Cellini F., Giorio G. (2002). Identification of simple sequenze repeats (SSRs) in olive (*Olea europaea* L.). Theoretical and Applied Genetics.104: 301-307.
- Cartabellotta D., Campisi G., Merra A. (2009). Olivo in Sicilia. In L'ulivo e l'olio. Collana ideata e coordinata da Angelini R. Bayer Crop Science. Script. Coltura e cultura: 152-165.
- Caruso G. (1882). Monografia dell'olivo (in G. Cantoni, Enciclopedia Agraria Italiana, Parte V, U.T.E.T.: 501-680.
- Caruso T., Campisi G., Motisi A., La Mantia M., Occorso G., Testolin R. (2005). Morphological, phenological and molecular characterization of the sicilian indigenous olive (*Olea europaea sativa* L.) germplasm. 5th international symposium on olive growing, 27 september - 2 october 2004, Izmir (Turkiye).
- Caruso T., Cartabellotta D., Motisi A., Campisi G., Occorso G., Bivona G., Cappello A., Pane G., Pennino G., Ricciardo G., Patti M., La Mantia M., Lain O., Testolin R., Finoli C., Cacioppo L., Corona O., Catagnano L., Savino V., Saponari M. (2007). Cultivar di olivo siciliane. Identificazione validazione, caratterizzazione morfologica e molecolare e qualità degli oli: 1-202.
- Caruso T., Campisi G., Marra F.P., Camposeo S., Vivaldi G. A., Proietti P., Nasini L. (2014). Growth and yields of 'Arbequina' high-density planting systems in three different olive growing areas in Italy. Acta Horticulturae, 1057: 341-348.
- Caruso T., Rotundo A., Sebastiani L. (2009). Olivo in Sicilia. In Paesaggio. L'ulivo e l'olio. Collana ideata e coordinata da Angelini R. Bayer Crop Science. Script. Coltura e cultura:
- Casale M., Casolino C., Oliveri P., Forina M. (2010). The potential of coupling information using three analytical techniques for identifying the geographical origin of Liguria extra virgin olive oil. Food Chem. 118: 163-170.
- Chevalier A. (1948). L'origine de l'olivier cultivé et ses variations. Revue Internationale de Botanique Appliquee & d'Agriculture Tropicale, 28: 303-304.
- Ciferri R. (1942). Recenti progressi negli studi botanico-agrari sull'olivo. “Convegno di Studi Olivicoli”. Reale Accademia dei Georgofili, Firenze, Italia, 15-17 Maggio. 49-98.
- Ciferri R., Marinucci M., Morettini A. (1942). Dati preliminari per una sistematica delle razze di olivo in coltura. L'Olivicoltore, 1: 3-7.
- Ciferri R., Breviglieri N. (1942). Introduzione ad una classificazione morfo – ecologica dell'olivo coltivato in Italia. L'Olivicoltore. 1: 2-7.
- Cipriani G., Marrazzo M.T., Marconi R., Cimato A., Testolin R. (2002). Microsatellite markers isolated in olive are suitable for individual fingerprinting and reveal polymorphism within ancient cultivars (*Olea europaea* L.). Theor. Appl. Genet. 104: 223-228.
- Cicerale, S.; Lucas, L.J.; Keast, R.S.J. (2012). Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in Extra Virgin Olive Oil. Curr. Opin. Biotechnol. 23: 129-135.
- Cimato A. (1991). La caratterizzazione dell'olio extravergine “Tipico Toscano”. Consorzio Regionale Olio Extra Vergine di Oliva “Tipico.
- Cimato A., Cantini C., Sani G., Marranci M. (1993). Il germoplasma dell'olivo in Toscana. Ed. Reg. Toscana, Tip. EmmeA, Scandicci.
- Cooper D.N., Smith B.A., Cooke H., Niemann S., Schmidtke J. (1985). An estimate of unique sequence heterozygosity in the human genome. Human Genetics. 69:201-205.

- Costa F. (2009). Caratterizzazione morfologica e molecolare di cultivar di olivo autoctone dei principali distretti olivicoli del mezzogiorno d'Italia. Dottorato di Ricerca XX Ciclo. Settore Scientifico Disciplinare AGR/03. Università degli Studi di Palermo.
- Costes E., Lauri P.E., Regnard J.L. (2006). Analyzing fruit tree architecture: implications for tree management and fruit production. Horticultural reviews.
- Cowling R.M., Rundel P.W., Lamont B. B., Arroyo M. K., Arianoutsou M. (1996). Plant diversity in Mediterranean-climate regions. Trends in Ecology & Evolution, 11(9): 362-366.
- D'Auria R. (2001). Le olivicolture italiane, Cavazzani A. Sivini G. (a cura di): L'olivicoltura spagnola e italiana in Europa, Rubbettino, Soveria Mannelli (Catanzaro).
- De Gennaro B., Roselli L., Medicamento U. (2009). Il commercio internazionale degli oli di oliva italiani e pugliesi: un'analisi comparata. Economia Agro-alimentare. F. Angeli. Edagricole, Bologna: 79-101.
- Deidda P., Fiorino P., Lombardo N. (2006). Italian olive growing between evolution and extinction. Proceeding Olivebioteq, 2nd International Seminar:15-28.
- 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 (3): 265-267.
- De la Rosa R., Angiolillo A., Guerrero C., Pellegrini M., Rallo L., Besnard G., Bervillè A., Martin A., Baldoni L. (2003). A first linkage map of olive (*Olea europaea* L.) cultivars using RAPD, AFLP, RFLP and SSR markers. Theor. Appl. Genet., 106(7):1273-82.
- De la Rosa R., Leon L., Guerrero N., Barranco D., Rallo L. (2006). Resultados preliminares de un ensayo de densidades de plantacion en olivar en seto. Especial Olivicultura. IV:43-46.
- Del Giudice T.; D'Elia A. (2001). Valorizzazione dell'olio extra-vergine di oliva meridionale: una proposta metodologica per l'analisi delle preferenze, Rivista di Economia Agraria 56 (4): 571-609.
- Diaz Bermudez A. (2005). Desarrollo y caracterización de nuevos microsatélites y SNPs y aplicación en la mejora genética del olivo (*Olea europaea* L.). Tesis Doctoral, Departamento de Genética, Universidad de Córdoba – E.T.S.I.A.M. Córdoba.
- Díaz-Espejo A., Fernández E.J., Durán P.J., Girón I.F., Sinoquet H., Sonohat G., Phattaralerphong J., Infante J.M., Chamorro V., Villagarcía L., Palomo M.J. (2008). Canopy architecture and radiation interception measurements in olive. V International Symposium on Olive Growing - Acta Horticulturae. 791.
- Dierkes, G.; Krieger, S.; Dück, R.; Bongartz, A.; Schmitz, O.J.; Hayen, H. (2012). High-performance liquid chromatography-mass spectrometry profiling of phenolic compounds for evaluation of olive oil bitterness and pungency. J. Agric. Food Chem. 60: 7597-7606.
- Di Maio I. (2012). Individuazione e caratterizzazione dei prodotti di degradazione ossidativa dei secoiridoidi contenuti nell'olio vergine di oliva mediante tecniche analitiche innovative. Dottorato di Ricerca in Scienze e biotecnologie degli alimenti XXIV Ciclo.
- Di Stefano, R., Guidoni. S. (1989). La determinazione dei polifenoli totali nei mosti e nei vini. Università degli Studi di Bologna. Vignevini. 16(1/2), 47-52.
- Di Vaio C., Rotundo A. (2009). Olivo in Campania. L'ulivo e l'olio. Collana ideata e coordinata da Angelini R. Bayer Crop Science. Script. Coltura e cultura: 210-217.
- Dominguez L.J.; Barbagallo M. (2007). Mediterranean diet and longevity: role of extravirgin olive oil. Società Italiana di Gerontologia e Geriatria. 55: 231-238.
- Doveri S., Baldoni L. (2007). Olive. Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants. Fruits and Nuts. 4: 253-264.
- Doyle J.J., Doyle J.L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin. 19: 11-15.
- Durante M., Petrucelli R., Bartolini G., Bernardi R. (1992). Impiego delle proteine di riserva per

- l'identificazione delle cultivar di olivo (*Olea europaea* L.). Cong. "Olive oil Qualità": 57-60.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to polyphenols in olive and protection of LDL particles from oxidative damage (ID 1333, 1638, 1639, 1696, 2865) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA J. 2011. 9: 1–25.
- El Riachy, M.; Priego-Capote, F.; León, L.; Rallo, L.; Luque de Castro, M.D. (2011). Hydrophilic antioxidants of virgin olive oil. Part 2: Biosynthesis and biotransformation of phenolic compounds in virgin olive oil as affected by agronomic and processing factors. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 113: 692–707.
- Erre P., Chessa I., Munoz-Diez C., Belaj A., Rallo L., Trujillo I. (2010). Genetic diversity and relationships between wild and cultivated olives (*Olea europaea* L.) in Sardinia as assessed by SSR markers. Genet Resour Crop Evol. 57: 41-54.
- Espejel J., Fandos C.; Flavián C. (2007). La importancia de las Denominaciones de Origen Protegidas como indicadores de calidad para el comportamiento del consumidor. El caso del aceite de oliva del Bajo Aragón, Economía Agraria y Recursos Naturales. 7 (14): 3-19.
- European Union. Commission Regulation (EU) No 432/2012 of 16 May 2012 establishing a list of permitted health claims made on foods, other than those referring to the reduction of disease risk and to children's development and health. Off. J. Eur. Union 2012, L136, 1–40.
- Fabiani R., De Bartolomeo A., Rosignoli P., Servili M., Selvaggini R., Montedoro G. F., Di Saverio C., Morozzi G. (2006). Virgin olive oil phenols inhibit proliferation of human promyelocytic leukemia cells (HL60) by inducing apoptosis and differentiation J. Nutr. 136: 614-619.
- Fabbri A., Hormaza J.I., Polito V.S. (1995). Random Amplified Polymorphic DNA Analysis of Olive (*Olea europaea* L.) Cultivars. Journal of the American Society Science, 120 (3): 538 -542.
- Falco V. (2011). Crescita vegetativa, morfologia dei rami e architettura della chioma in olivo (*Olea europaea sativa* L.) in rapporto alla cultivar e al portinnesto. XXIII Ciclo. Settore Scientifico Disciplinare AGR/03.
- Famiani F., Gucci R. (2011). Moderni modelli olivicoli. Accademia Nazionale dell'Olivo e dell'Olio. Collana dell'Accademia Volume VII. Realizzato nell'ambito del progetto "Ricerca ed Innovazione per l'Olivicoltura Meridionale", finanziato dal MiPAAF:10-15.
- Famiani F., Giurelli A., Proietti P., Nasini L., Farinelli D., Guelfi P. (2008). Yield to the machine-aided harvesting in traditional and intensive olive orchards. Prove in Umbria su cultivar Frantoio e Moraiolo: sì alla raccolta agevolata in oliveti tradizionali e intensivi. Informatore Agrario, 4: 103-107.
- Famiani F, Proietti P., Lodolini E.M, Neri D. (2009). Gestione della chioma. Collana Coltura & Cultura - L'ulivo e l'olio. Bologna: Bayer CropScience: 390-411.
- FAO (2009). FAOSTAT Agriculture, <http://faostat.fao.org>.
- Finkeldey R., Gregorius H. R. (1994). Genetic resources: selection criteria and design. In: KIM Z.S., Hattemer H.H. (eds.). Conservation and Manipulation of Genetic Resources in Forestry. Kwang Moon Kag, Seoul, Korea. 322-347.
- Finco A., Padella M., Di Pronio G.; Pollonara M. (2008). Dinamiche del commercio internazionale dell'olio d'oliva italiano: un'analisi prospettica, relazione presentata al 16° Convegno della Società Italiana di Economia Agro-alimentare (SIEA), Trieste, 5-6 Giugno 2008.
- Fiorino P. (1998). Il germoplasma in olivicoltura. Atti VII International Course on olive growing. Scandicci, 6-11 maggio 1996: 33-37.
- Fiorino P., Lombardo N. (2002). Germoplasma, materiale vivaistico e certificazione. Atti del "Convegno Internazionale di Olivicoltura", Spoleto, 22 Apr. 82-90.
- Fiorino P. (2009). L'evoluzione globale dell'olivicoltura. Atti giornata di studio. Accademia dei Georgofili.

- Fontanazza, G., Cappelletti M. (1993). Evoluzione nei sistemi di coltivazione dell'olivo: dagli oliveti intensivi meccanizzati agli impianti fitti. *Olivae*. 48: 28-36.
- Fontanazza G., Camerini F., Bartolozzi F. (1998). Intervento meccanico e manuale nella potatura di produzione. *Olivo e Olio*. 1: 27-34.
- Fortes C., Forestiere F., Farchi S., Mallone S., Trequatrini T., Anatra F., Schmid G., Peducci C. A. (2003). The protective effect of the mediterranean diet on lung cancer. *Nutr. Cancer* 46: 30-37.
- Frankel E. N. (2011). Nutritional and biological properties of extra virgin olive oil. *J. Agric. Food. Chem.* 59: 785-792.
- García J. M., Yousfi K., Mateos R., Olmo M., Cert A. (2001). Reduction of oil bitterness by heating of olive (*Olea europaea*) fruits. *J. Agric. Food. Chem.* 49: 4231-4235.
- Gariboldi P., Jommi G., Verotta L. (1986) Secoiridoids from *Olea europaea*. *Phytochem.* 25: 865-869.
- Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana. R.CE 2568/91 and R.CE 299/13. Caratteristiche di oli di oliva e di sansa di olive e relativi metodi di analisi.
- Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana.Reg. CE 1513/2001. Modifica il regolamento (CEE) n. 2568/91 relativo alle caratteristiche degli oli di oliva e degli oli di sansa di oliva nonché ai metodi di analisi ad essi attinenti.
- Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana Reg. CE 1989/2003. Modifica il regolamento (CEE) n. 2568/91 relativo alle caratteristiche degli oli di oliva e degli oli di sansa di oliva nonché ai metodi di analisi ad essi attinenti.
- Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana. Reg. CE 640/2008. Modifica il regolamento (CEE) n. 2568/91 relativo alle caratteristiche degli oli d'oliva e degli oli di sansa d'oliva nonché ai metodi di analisi ad essi attinenti.
- Ganino T., Fabbri A. (2005). Genetic characterization of *Olea europaea* L. germplasm in northern Italy. 5th international symposium on olive growing, 27 september – 2 october 2004, Izmir (Turkiye).
- Ganino T. (2006). Indagini morfologiche e biomolecolari per la caratterizzazione di genotipi emiliani autoctoni di *Olea europaea* L. Dottorato di Ricerca XVIII Ciclo. Università degli Studi di Parma.
- García, J.M.; Yousfi, K.; Mateos, R.; Olmo, M.; Cert, A. (2001). Reduction of oil bitterness by heating of olive (*Olea europaea*) fruits. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4231-4235.
- Gill CI, Boyd A, McDermott E, McCann M, Servili M, Selvaggini R, Taticchi A, Esposto S, Montedoro G, McGlynn H, Rowland I. (2005).The anti-cancer effects of olive oil phenols in vitro. *Int J Cancer* . 117:1-7.
- Giovannelli L., Decorosi F., Dolora P., Pulvirenti L. (2003). Vulnerabilità to DNA damage in the aging rat *substantia nigra*: a study with the comet assay. *Brain Res.* 969: 244-247.
- Godini A. (2002). Apulian traditional olive training systems. *Acta Horticulturae*: 311-315.
- 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., Scavo V. (2006). Gli aspetti agronomici dell'olivicoltura superintensiva. *L'Informatore Agrario*. 1:65-67.
- Godini A. (2009). L'olivicoltura italiana deve innovarsi. *L'Informatore Agrario*. 7:66-70.
- Godini A. (2010). L'olivicoltura italiana tra valorizzazione e innovazione. *Frutticoltura*, 6: 2-11.
- Gómez-Alonso S., Salvador M.D., Fregapane G. (2002). Phenolic compounds profile of Cornicabra virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 6812–6817.
- Gómez-Alonso S., Fregapane G., Salvador D., Gordon M. H. (2003). Changes in phenolic composition and antioxidant activity of virgin olive oil during frying. *J. Agric. Food. Chem.* 51: 667-672.
- Gottlieb L.D.(1981). Electrophoretic evidence and plant populations. *Progress in Phytochem*, 7, 1-47.
- Grassi, S. (2004). Cryopreservation of buds of *Vitis Vinifera* L.rootstock “Kober 5BB” (*Vitis Berlandieri* x v. *Riparia*). *Acta Naturalia de “l'Ateneo parmense”* 40, 3/4: 91-94.
- Green P.S., Wickens G.E. (1989). The *Olea europaea* complex in: Kit Tan (Ed.). *The Davis & Hedge*

- Festschrift, Edinburg University Press: 287-299.
- Green P.S. (2002). A revision of *Olea* L. (*Oleaceae*). Kew Bulletin 57: 91-140.
- Grignaffini P., Roma P., Galli C., Catalano A. L. (1994). Protection of low-density lipoprotein from oxidation by 3,4-dihydroxyphenylethanol. Lancet 343: 1296-1297.
- Guario A., Germinario A. (2009). Olivo in Puglia. L'ulivo e l'olio. Collana ideata e coordinata da Angelini R. Bayer Crop Science. Script. Coltura e cultura: 182-197.
- Gucci R. (2009). Olivo in Toscana. L'ulivo e l'olio. Collana ideata e coordinata da Angelini R. Bayer Crop Science. Script. Coltura e cultura: 255-263.
- Gullo P. (2000). Il talamo di Ulisse. Trattati di storia dell'olivicoltura nel Mediterraneo Occidentale. Rubbettino editore.
- Gutiérrez-Rosales F., Ríos J. J. Gómez-Rey M. L. (2003). Main polyphenols in the bitter taste of virgin olive oil. Structural confirmation by on-line high-performance liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry. J. Agric. Food. Chem. 51: 6021-6025.
- Hodge A. M., English D. R., McCredie M. R. E., Severi G., Boyle P., Hopper J. L., Giles G. G. (2004). Food nutrients and prostate cancer. Cancer causes Control 15: 11-20.
- Hoblyn, T.N., Grubb N.H., A., Painter, A.C., Wates, B.L. (1936). Studies in biennial bearing, Journal of Pomology and Horticultural Science 14: 39-76.
- Idda L., Furesi R.; Madau F.A.; Rubino C. (2004). L'olivicoltura in Sardegna. Aspetti economici e prospettive alla luce di un'analisi aziendale, Quaderni di Economia e Politica Agraria n. 2, Sezione di Economia e Politica Agraria (Università degli Studi di Sassari), Sassari, Tipografia Editrice Giovanni Gallizzi. 21
- Inglese P. (2000). Innovazione dei modelli d'impianto in olivicoltura. Rivista di frutticoltura e di ortofloricoltura. 10: 40-48.
- Inglese, P., Famiani, F.; Galvano, F.; Servili, M.; Esposto, S.; Urbani, S. (2011). Factors Affecting Extra-Virgin Olive Oil Composition. In Horticultural Reviews; Janik, J., Ed.; John Wiley & Sons Pubs.: Hoboken, NJ, USA; Volume 38: 83-148.
- Imperato A. (2010). Studio della diversità genetica in olivo (*Olea europaea* L.) Dottorato in Scienze Biotecnologiche XXIII Ciclo. Indirizzo Biotecnologie Vegetali. Università di Napoli Federico II: 7-17.
- INEA (2008). Il commercio con l'estero dei prodotti agro-alimentari. Rapporto 2007, Edizioni Scientifiche Italiane, Napoli.
- INEA (2008): Annuario dell'agricoltura italiana 2007, Stilgrafica, Roma.
- ISMEA (2003). Filiera olio di oliva 2003, Roma. In www.ismea.it.
- ISMEA (2006). Olio d'oliva grezzo. Report economico finanziario 2005, Roma. In www.ismea.it.
- ISMEA (2006). Locatelli A. I prezzi dei prodotti agricoli, in Vieri S., Prestamburgo M. e Marotta M. (a cura di): L'agricoltura italiana: sfide e prospettive di un settore vitale per l'economia della nazione, INEA, Stilgrafica, Roma.
- ISMEA. (2009-2010). Istituto di Servizi per il Mercato Agricolo Alimentare. In www.ismea.it.
- ISMEA (2012). Il mercato internazionale e nazionale dell'olio di oliva. A cura di Tiziana Sarnari.
- ISMEA. (2013). Istituto di Servizi per il Mercato Agricolo Alimentare. In www.ismea.it.
- ISMEA. (2015). Istituto di Servizi per il Mercato Agricolo Alimentare. In www.ismeaservizi.it.
- ISTAT. (2008-2009). Istituto nazionale di statistica. In www.istat.it.
- ISTAT. (2010). Istituto nazionale di statistica. In www.istat.it.
- Jenner P., Olanov C. W. (1996). Oxidative stress and the pathogenesis of Parkinson's disease. Neurology 47: 161-170.
- Jones P.J., MacDougall D.E, Ntanos F., Vanstone C.A. (1997). Dietary phytosterols as cholesterol-lowering agents in humans Canadian Journal of Physiology and Pharmacology 75: 217-227.
- Karp A., Kresovich S., Bhat K.V., Ayada W.G., Hodgkin T. (1997). Molecular tools in plant genetic

- resources conservation: a guide to the technologies. IPGRI technical bulletin no. 2. International Plant Genetic Resources Institute, Rome , Italy.
- Kumar, P., Gupta, V. K., Misra, A. K., Modi, D. R., & Pandey, B. K. (2009). Potential of molecular markers in plant biotechnology. *Plant Omics J*, 2(4), 141-162.
- La Mantia M., Lain O., Caruso T., Testolin R. (2005). SSR-based DNA fingerprints reveal the genetic diversity of Sicilian olive (*Olea europaea* L.) germplasm. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 80 (5): 628-632.
- Lanza B., Marsilio V., Martinelli N. (1995). Identificazione varietale di cultivars di olivo (*Olea europaea* L.). Approcci analitici quantitativi del pattern esinico del granello pollinico. Atti del convegno: "L'olivicultura mediterranea: stato e prospettive della coltura e della ricerca. Rende (CS).
- La Vecchia C., Negri E., Franceschi S., Decarli A., Giacosa A., Lipworth L. (1995). Olive oil, other dietary fats, and the risk of breast cancer (Italy). *Cancer Causes Control*, 6 (6): 545-50.
- Lavee S. (1985). *Olea europaea*. In Halevy AH (ed.). *CRC Handbook of Flowering*. CRC Press, Boca Raton Flu 26: 423-434.
- Lavee S., Avidan N., Haskal A., Ogrodovich A. (1996). Acortamiento del periodo juvenil en los plantones de olivo obtenidos de semillas. Un instrumento para la revalorizacion de la mejora genetica. *Olivae*, 60: 33-41.
- Ledig F.T. (1986). Conservation strategies for forest gene resources. *Forest Ecology and Management*, 14: 77-90.
- León L., De la Rosa R., Guerrero N., Rallo L., Barranco D., Tous J. Romero A., Hermoso J.F. (2006). Ensayos de variedades de olivo en plantación de alta densidad. Comparación de resultados entre Andalucía y Cataluña. *Fruticultura Profesional*. 160:21-26.
- Liu K., Muse, S.V.(2005). PowerMarker: Integrated analysis environment for genetic marker Data. *Bioinformatics* 21, 2128-2129. <http://dx.10.1093/bioinformatics/bti282>.
- Lo Scalzo R., Scarpati M. L. (1993). A new secoiridoid from olive wastewaters. *J. Nat. Prod.* 56: 621-623.
- Lombardo N., Iannotta N., Rizzuti B. (1986). Ristrutturazione di oliveti tradizionali calabresi. I Primi risultati ottenuti nella Piana di Gioia Tauro. *Annali dell'Istituto Sperimentale di Cosenza*:145-146.
- Looney N., Lane W.D. (1984). Spur-type growth mutants of McIntosh apple: a review of their genetics, physiology and field performance. *Acta Horticulturae*. 146:31-41.
- Maas J.L. (1977). Pollen ultrastructure of Strawberry and other Small – Fruit Crops. Ed. J. Amer.Soc. Hort. Sci., 102:560-571.
- Maisonneuve P., Boyle P. (1994). Dietary fat, olive oil intake and breast cancer risk. *Int J Cancer*, 15. 58: 774-80.
- Mangas-Cruz M. A., Martinez-Brocca M., Ortiz-Leyba C., Garnacho-Montero J., Cunill J. L. P., Garcia-Luna P. P. (2004). Olive Oil clinical nutrition. *Grasas Aceites (Sevilla,Spain)* 55: 76-83.
- Marra F.P., Caruso T., Costa F., Di Vaio C., Mafrica R., Marchese A. (2013). Genetic relationships, structure and parentage simulation among the olive tree (*Olea europaea* L. subsp. *europaea*) cultivated in Southern Italy revealed by SSR markers. *Tree Genetics and Genomics*, 9 (4): 916-973.
- Martin-Moreno J. M., Willet W. C., Gorgojo L., Banegas J. R., Rodriguez-Artalejo F., Fernandez-Rodriguez J. C., Maisonneuve P., Boyle P. (1994). Dietary fat, olive oil intake and breast cancer risk. *Int. J. Cancer* 58: 774-780.
- Mateu J., Rius X., Lacarte J.M. (2008). Evoluzione della superficie piantata a olivi con il sistema superintensivo o a cespuglio nel mondo. *Suppl. Olint*. 15:1-7.
- Meloni M. (2001). La valorizzazione degli oli d'oliva DOP in Italia, in Cavazzani A. Sivini G. (a cura di): *L'olivicultura spagnola e italiana in Europa*, Rubbettino, Soveria Mannelli (Catanzaro).
- Mili S.; Rodríguez-Zuñiga M. (2001). Tendenze del commercio internazionale dell'olio di oliva: un'analisi prospettica, in Cavazzani A. Sivini G. (a cura di): *L'olivicultura spagnola e italiana in*

- Europa, Rubbettino, Soveria Mannelli (Catanzaro).
- Montedoro, G.F.; Servili M. (1991). I caratteri che definiscono la qualità dell'olio d'oliva. Atti del Convegno Qualità dell'olio d'oliva e tecnologie di lavorazione. Lecce:17-30.
- Montedoro G.F., Baldioli M., Servili M. (1992). I composti fenolici dell'olio di oliva e la loro importanza sensoriale, nutrizionale e merceologica. *Giornale Ital. Nutr. Clinica e Preventiva*. 1(1): 19-32.
- Montedoro G. F., Servili M., Baldioli M., Miniati E. (1992). Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 1. Their extraction, separation, and quantification and semiquantitative evaluation by HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 40: 1571-1577.
- Montedoro G. F., Servili M., Baldioli M., Miniati E. (1992). Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. Initial characterization of the hydrolyzable fraction. *J. Agric. Food Chem.* 40: 1577-1580.
- Montedoro G. F., Servili M., Baldioli M., Selvaggini R., Miniati E. Macchini A. (1993). Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 3. Spectroscopic characterizations of the secoiridoid derivatives. *J. Agric. Food Chem.* 41: 2228-2234.
- Montedoro G. F., Servili M., Baldioli M., Selvaggini R., Begliomini A. L., Taticchi A. (2002). The use of biotechnology means during oil mechanical extraction process: relationship with sensory and nutritional parameters of virgin olive oil quality. *Acta Horticult.* 586: 557-560.
- Morettini A. (1950). *Olivicoltura*. REDA: 596.
- Morettini A. (1962). Principali aspetti dell'olivicoltura moderna. Atti :1° Convegno Nazionale. Olivicolo. Oleario, Spoleto. 3-23.
- Morettini A. (1972). *Olivicoltura*, Ramo Editoriale degli Agricoltori, Roma, Italia.
- Morgante M., Olivieri A.M. (1993). PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *The Plant Journal*, 3 (1): 175-182.
- Myers, N. (1988). Threatened biotas: "hot spots" in tropical forests. *Environmentalist*, 8: 187-208.
- Myers, N. (1990). The biodiversity challenge: expanded hot-spots analysis. *Environmentalist*, 10: 243-256.
- Nakae D., Kobayashi Y., Akai H., Andoh N., Satoh K., Ohashi K., Tsutsumi M., Konishi Y. (1997). Involvement of 8-hydroxyguanine formation in the initiation of rat liver carcinogenesis by low dose levels of N-nitrosodiethylamine. *Cancer research*. 57: 1281-1287.
- Nei, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)* 70: 3321-3323.
- Nelson P.R., Wludyka, P.S., Copeland, K.A. (2005). The analysis of means: a graphical method for comparing means, rates, and proportions. 18, Siam.
- Obied H. K., Karuso P., Prenzler P. D., Robards K. (2007). Novel secoiridoids with antioxidant activity from Australian olive mill waste. *J. Agric. Food. Chem.* 55: 2848-2853.
- Obied H. K., Prenzler P. D., Ryan D., Servili M., Taticchi A., Esposto S., Robards K (2008). Biosynthesis and biotrasformations of phenol-conjugated oleosidic secoiridoids from *Olea europaea* L. *Nat. Prod. Rep.* 25: 1167-1179.
- Obied, H.K.; Prenzler, P.D.; Omar, S.H.; Ismael, R.; Servili, M.; Esposto, S.; Taticchi, A.; Selvaggini, R.; Urbani, S.(2012). Pharmacology of Olive Biophenols. In *Advances in Molecular Toxicology*; Fishbein, J.C., Heilman, J.M., Eds.; Elsevier: Amsterdam. The Netherlands.6: 195–223.
- O'Donnel E., Lynch M. A. (1998). Dietary antioxidant supplementation reverses age-related neuronal changes *Neurobiol. Aging* 19: 461-467.
- Orlando R. C. (2002). Mechanisms of epithelial injury and inflammation in gastrointestinal diseases. *Rev. Gastroenterol. Disord.* 2: S2-S8.
- Palmer J.W. (1989). Canopy manipulation for optimum utilization of light: 245-262. In Wright C.J. (ed.). *Manipulation of fruiting*. Butherworths, London, UK.
- 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.
- Pandey K.M., Troughton J.N. (1974). Scanning Electron Observations of Pollen Grains and Stigma and the Self Incompatible Species. *Euphytica*, 23:337-344.
- Pannelli G., Famiani F., Servili M., Montedoro G.F. (1990). Agro-climatic factors and characteristics of the composition of virgin olive oils. *Acta Hortic.* 286: 477-480.
- Parlati M.V., Perri E., Palopoli A., Rizzuti B. (1994). Further observations on oil quality of Calabrian olive cultivars. *Acta Hortic.* 356: 327-330.
- Pastor M., Garcia-Vila M., Soriano M.A., Vega V., Fereres E. (2007). Productivity of olive orchards in response to tree density. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology.* 82:555-562.
- Perri E., Inglese P., Gullo G. (2009). Olivo in Calabria. L'ulivo e l'olio. Collana ideata e coordinata da Angelini R. Bayer Crop Science. Script. Coltura e cultura: 166-181.
- Petroni A., Blasevich M., Salami M., Papini N., Montedoro G. F., Galli C. (1995). Determination of synthetic hydroxytyrosol in rat plasma by GC-MS. *Throm. Res.* 78: 151-160.
- Petroni A., Blasevich, M., Papini N., Salami, M., Sala A., Galli C. (1997). Inhibition of leukocyte B4 production by an olive oil-derived phenol identified by massspectrometry. *Thromb. Res.* 87: 315-322.
- Petrucelli R. (1992). Analisi di caratteri Biochimici e morfo-agronomici ai fini della identificazione varietale dell'olivo (*Olea europaea* L.). Dottorato di Ricerca. Dipartimento di Ortoflorofrutticoltura. Università degli Studi di Firenze.
- Pirisi F. M., Cabras P., Cao C. F., Magliorini M., Suggelli M. (2000). Phenolic compounds in virgile olive oil. 2. Reappraisal of the extraction, HPLC separation and quantification procedures. *J. Agric. Food Chem.* 48: 1191-1196.
- Pignatti S. (1982). *Flora d'Italia*: 321-326.
- Pisante M., Ramazzotti S., Sonsini A., D'Errico N. (2009). Olivo in Abruzzo e Molise In L'ulivo e l'olio. Collana ideata e coordinata da Angelini R. Bayer Crop Science. Script. Coltura e cultura: 244-253.
- Polidori R., Zammarchi L., Gucci R. (2013). Analisi tecnico-economica dell'olivicoltura intensiva nella Maremma Toscana. II Convegno Nazionale dell'olivo e dell'olio. 2011. SOI 2013.
- 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.
- Pontikis C.A., Loukas N., Koussonig G. (1980). The use of biochemical marker to distinguish olive cultivars. *J. Hort. Sci.* Vol. 55 (4): 333-343.
- Prevost G., Mostardini, S. (1999). Gli studiosi dell'olivo e la sua classificazione botanica. *Olivæ*, 78, 60-77.
- Preziosi P., Proietti P., Famiani F., Afei B. (1994). Comparison between monocone and vase training system on the olive cultivars Frantoio, Moraiolo and Nostrale di Rigali. *Acta Horticulturae.* 356: 306-310.
- Proietti P., Tombesi A., Boco M. (1994). Influence of leaf shading and defoliation on oil synthesis and growth of olive fruits. *Acta Horticulturae.* 356: 272-277.
- Proietti P., Palliotti A., Famiani F., Preziosi P., Antognozzi E. (1998). Confronto tra le forme di allevamento a monocono e a vaso in diverse cultivar di olivo. *Frutticoltura.* 7/8: 69-72.
- Proietti P., Pannelli G. (2009). Olivo in Umbria. In L'ulivo e l'olio. Collana ideata e coordinata da Angelini R. Bayer Crop Science. Script. Coltura e cultura: 264-283.
- Pugliano G. (2000). La risorsa genetica dell'olivo in Campania. STAPA-CEPICA, Regione Campania.
- Pupo D'Andrea M.R. (2007). Il mercato mondiale dell'olio d'oliva: attori, dinamiche, prospettive e bisogni di ricerca. *Agriregioni Europa.* 3.
- Quiros C.F. (1975). Exine pattern of a hybrid between *Lycopersicon esculentum* and *Solanum pennellii*. *The Journal of Heredity*, 66: 45-47.
- Rallo P., Dorado G., Martin A. (2000). Development of simple sequence repeats (SSRs) in olive tree

- (*Olea europaea* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 101: 984-989.
- Rao R., La Mura M., Corrado G., Ambrosino O., I. Foroni, E. Perri G. Pugliano G. (2009). Genetic diversity of olive cultivars using AFLP and morphological traits. *The Journal of Horticultural Science e Biotechnology*. 84 (3): 261-266.
- Redford K.H., Richter B.D. (1999). Conservation of biodiversity in a world of use. *Conservation Biology*, 13(6): 1246-1256.
- Regolamento (UE) n. 432/2012 della Commissione del 16 maggio 2012 Gazzetta ufficiale dell'Unione Europea. 25.5.2012; L 136/1.
- Roselli G., Vendramin G., Rossi P. (1990). Patterns isoenzimatici in cultivar di olivo. *Atti XXXIV Conv. Società di genetica Agraria, Marina di Ugento*.
- Rotondi A., Magli M., Ricciolini C., Baldoni L. (2003). Morphological and molecular analyses for the characterization of a group of Italian olive cultivars. *Euphytica*, 132: 129-137.
- Rubio de Casas R., Besnard G., Schönswetter P., Balaguer L., Vargas P. (2006). Extensive gene Xow blurs phylogeographic but not phylogenetic signal in *Olea europaea* L. *Theor Appl Genet* DOI Springer-Verlag. 10.1007/s00122-006-0306-2.
- Rugini E., Fedeli E. (1990). Olive (*Olea europaea* L.) as an Oilseed Crop in Legumes and Oilseed Crops I. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Vol.10: 593-641.
- Rugini E., Lavee, S. (1992) Olive. *Biotechnology of Perennial Fruit Crops*, CAB International, Wallingford, 371-382.
- Rugini E., Baldoni L. (2003). Le biotecnologie. *Olea*, Trattato di olivicoltura. Edagricole, Bologna. 145-166.
- Sakai A., Matsumoto T., Hirai D., Niino T. (2000). Newly developed encapsulation-dehydration protocol for plant cryopreservation. *Cryo Letters*, 21: 53-62.
- Scaramuzzi F., Roselli G. (1986). Olive genetic improvement. *Olea* 17: 7-17.
- Sebastiani L., Barichello R., Pini S., Gucci R. (2009). Olivo in Liguria. L'ulivo e l'olio. Collana ideata e coordinata da Angelini R. Bayer Crop Science. *Script. Coltura e cultura*: 294-305.
- Sefc K.M., Lopes M.S., Mendonça D., Rodrigues Dos Santos M., Laimer Da Câmara Machado M., Da Câmara Machado A. (2000). *Mol. Ecol.*, 9: 1171-1173.
- Selvaggini, R., Servili, M., Urbani, S., Esposto, S., Taticchi, A., Montedoro, G. F. (2006). Evaluation of phenolic compounds in virgin olive oil by direct injection in High-Performance Liquid Chromatography with fluorometric detection. *J. Agric. Food Chem.* 54, 2832-2838.
- 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 aspects of production that affect their occurrence in the oil. *J. Chromatogr.* 1054: 113-127.
- Servili M., Selvaggini R., Esposto S., Taticchi A., Urbani S., Montedoro G. F. (2006). La composizione fenolica dell'oliva e dell'olio vergine. In atti del Convegno "Gli antiossidanti degli oli vergini di oliva con particolare riferimento ai composti fenolici e alla loro importanza biologica", Spoleto, 10 giugno 2005 Accademia Nazionale dell'olivo e dell'Olio, pp. 7-26.
- Servili M., Esposto S., Lodolini E., Selvaggini R., Taticchi A., Urbani S., Montedoro G. F., Serravalle M., Gucci R. (2007). Effect of olive stoning on the volatile and phenolic composition of virgin olive oil. *J. Agric. Food Chem.* 55: 7028-7035.
- 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. *Infl ammopharmacology*.17:76-84.
- Servili M., Sordini B., Esposto S., Urbani S., Veneziani G., Di Maio I., Selvaggini R., Taticchi A. (2014). Biological Activities of Phenolic Compounds of Extra Virgin Olive Oil. *Antioxidants*. 3: 1-23.
- Shahidi F. (1996). *Natural antioxidants Chemistry, health effect and applications*. AOCS Press, Campaign (USA): 97-149.

- Sillari B., Cantini G. (1993). Confronto tra due impianti olivicoli intensivi: risultati e prospettive tecnico-economiche. In Atti Convegno 'Tecniche, Norme e Qualità in Olivicoltura' Potenza 15-17 dicembre: 81-96.
- Sneath P. H. A., Sokal R. R. (1973). Numerical Taxonomy, San Francisco: Freeman. 573.
- Soler M., Chatenau L., La Vecchia C., Franceschi S., Negri E. (1998). Diet, alcohol, coffee and pancreatic cancer: final results from an Italian study. *Eur. J. Cancer Prev.* 7: 455-460.
- Simmonds N. W. (1976). Evolution of crop plants. London.
- Sportelli G.F. (2006). Nome in codice, Agromillora. Aiuto, arrivano gli spagnoli. *Olio e Olio*:8-9.
- Stoneham M., Goldacre M., Seagroatt V., Gill L. (2000). Olive oil, diet and colorectal cancer: an ecological study and a hypothesis. *J Epidemiol Community Health*, 54:756-760.
- Templeton A.R., Robertson R.J., Brisson J., Strasburg J. (2001). Disrupting evolutionary processes: The effect of habitat fragmentation on collared lizards in the Missouri Ozarks. *PNAS*. 98 (80): 5426-5432.
- Tombesi A. (1989). Potatura e forme di allevamento nell'olivo. *Frutticoltura*. 1:7-13.
- Tombesi A. (2003). Biologia florale e di fruttificazione. *Olea-Trattato di Olivicoltura*. Edagricole. 35-65.
- Tombesi A. (2006). Planting systems, canopy management and mechanical harvesting. Second Interational Seminar Olivebioteq, 5-10 Novembre Marsala: 307-316.
- Tous J., Romero A., Plana J. (2003). Plantaciones superintensivas en olivar. Comportamiento de 6 variedades. *Agricultura*. 851: 346-50.
- Tous J., Romero A., Hermoso J.F., (2006). High density planting systems, mechanisation and crop management in olive. Atti II Seminario Internazionale "Olivebiotech 2006". Mazara del Vallo (TP), 5-10 novembre: 423-430.
- Tous J., Romero A., Hermoso J.F., Mallén N. (2007). The hedgerow system for olive growing. In *Agricultura, Revista Agropecuaria*. Editorial Agrícola Espanola S.A., Madrid; Spain. 360-367.
- Tous J., Romeo A., Plana J., Hermoso J.J. (2008). Olive oil cultivar suitable for very-high density planting conditions. *Acta Hort.* 791.
- Tous, J., Romero A., Hermoso J.F., Ninot A. (2011). Mediterranean clonal selections evaluated for modern hedgerow olive oil production in Spain. *California Agriculture* 65. 1: 34-40.
- Tovar M.J.; Motilva M.J.; Romero M.P. (2001). Changes in the phenolic composition of virgin olive oil from young trees (*Olea europaea* L. cv. Arbequina) grown under linear irrigation strategies. *J. Agric. Food Chem.* 49: 5502-5508.
- Trichopoulou A, Katsouyanni K, Stuver S, Tzala L, Gnardellis C, Rimm E, Trichopoulos D. (1995). Consumption of olive oil and specific food groups in relation to breast cancer risk in Greece. *J Natl Cancer Inst.*, 87:110-6.
- Trujillo I., Rallo L., Carbonell E.A., Asins M.J. (1989). Isoenzymatic variability of olive cultivars according to their origin. *Acta Hort.* Vol. 286: 137-139.
- Uccella N., Bianco A.D., Piperno A., Romeo G. (1999). NMR experiments of oleuropein biomimetic hydrolysis. *J. Agric. Food Chem.* 47: 3665- 3668.
- Uceda M., Hermoso M., García-Ortiz A., Jmenez A., Beltrán G. (1999). Intraspecific variation of oil contents and the characteristic of oils in olive cultivars. *Acta Horticulturae* 474: 652-659.
- Vieri M., Zimbalatti G. (2005). La meccanizzazione dell'olivicoltura italiana. *Accademia Nazionale dell'Olio e dell'Olio*. Vol. XV: 3-39.
- Viola P. (2006). L'olio vergine di oliva in nutrizione: aspetti generali. Atti del Convegno "Gli antiossidanti degli oli vergini di oliva con particolare riferimento ai composti fenolici e alla loro importanza biologica", Spoleto, 10 giugno 2005. *Accademia Nazionale dell'olivo e dell'Olio*. 71-77.
- Wood. B.W. (1989). Pecan production responds to root carbohydrates and rootstock. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 114:223-228.

13. Ringraziamenti

Diverse persone, a vario titolo, mi sono state vicine in questo particolare momento del mio percorso formativo.

Il mio grazie è rivolto a coloro che hanno condiviso con me la voglia di non fermarsi mai e in tal senso hanno spinto.

Ai colleghi, non più tali ma amici che mi hanno supportata e 'sopportata' Giuseppe, Annalisa, Giovanna, Laura, Adele, Giulia, Emilio, Francesca, Gabriele, Francesca t, Placido, Sebastiano, Franco e il prof. Caruso il mio grazie con profondo affetto.

Grazie alla mia splendida famiglia agrigentina.

A Gigi e Maria.

A Nino, Davide e Riccardo