



Progetto ARISTOIL

## L'olio di Oliva, oro verde del Mediterraneo

Chiaramonte Gulfi, 9 settembre 2017

Sala Leonardo Sciascia



## VALORIZZAZIONE DELLE BIODIVERSITÀ OLIVICOLA: TRACCIABILITÀ E QUALITÀ DELLE PRODUZIONI

FRANCESCO SCOLLO, STEFANO LA MALFA  
DIPARTIMENTO DI AGRICOLTURA, ALIMENTAZIONE E  
AMBIENTE (DI3A) UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI  
CATANIA



 [www.svimed.eu](http://www.svimed.eu)

 [aristoil.interreg-med.eu](http://aristoil.interreg-med.eu)

 [#livehealthy](https://www.instagram.com/livehealthy)

Progetto co-finanziato dal  
Fondo Europeo di Sviluppo Regionale

CHIARAMONTE GULFI, 09/09/2017

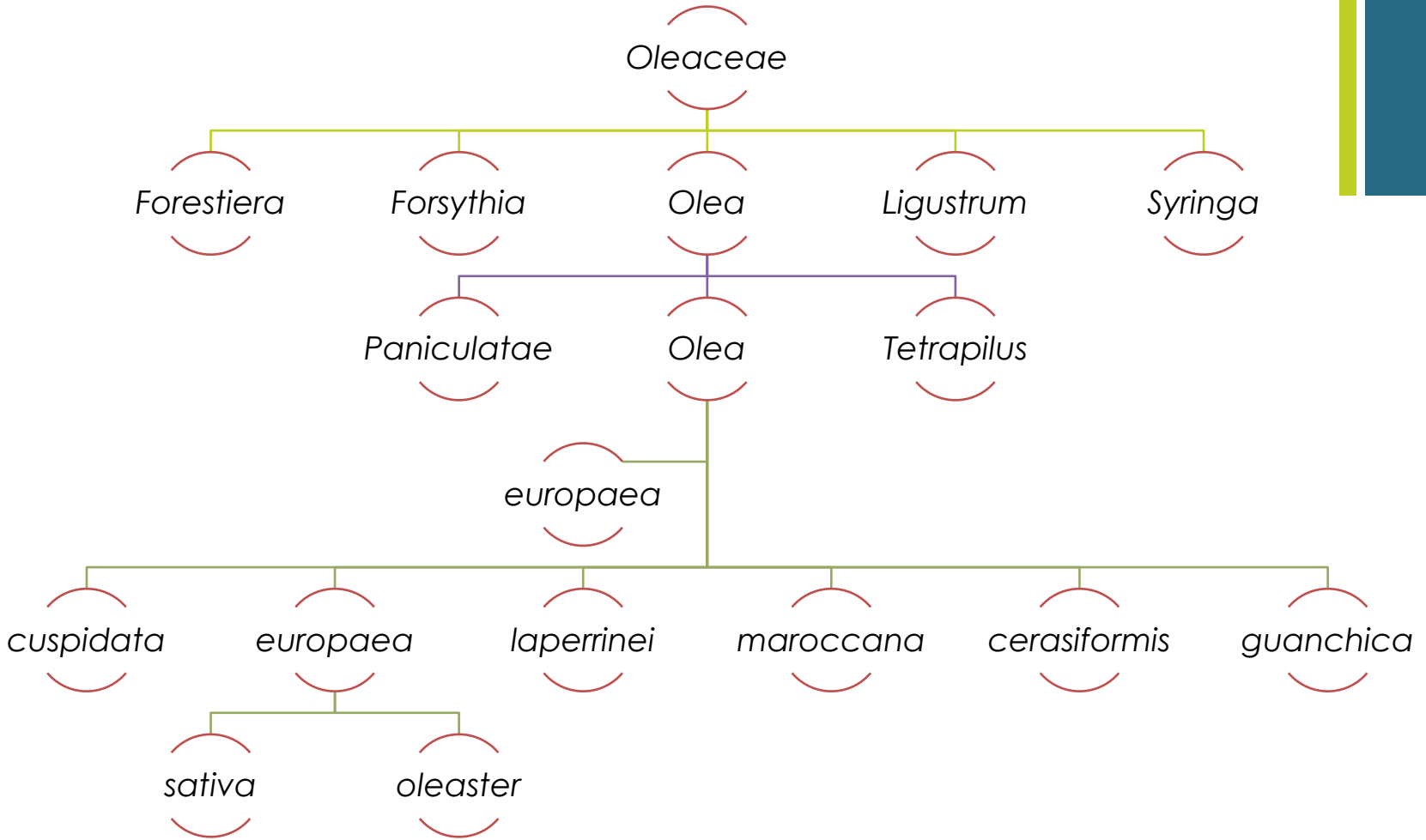


# L'OLIVO E L'OLIO

L'olivo (*Olea europaea* L.) è una delle colture arboree più antiche a livello mondiale, la più importante e rappresentativa del Mediterraneo

- *Specie polimorfica con diversità genetica e morfologica*
- *Specie allogama e spesso autoincompatibile*
- *Elevati livelli di eterozigosi*
- *Presenza di omonimie e sinonimie*





La famiglia delle *Oleaceae*, a cui appartiene l'olivo, comprende circa 30 generi e 600 specie distribuite in vaste regioni a clima caldo e freddo.

Al genere *Olea*, specie *O. europaea* L., appartiene un numero imprecisato di varietà coltivate (cultivar).

- Il termine "cultivar" in olivicoltura è improprio perché ci troviamo di fronte a cultivar composte da individui con fenotipo relativamente simile, e con genotipo differente; per queste si dovrebbe usare il termine di "popolazione di cloni" o di "cultivar-popolazioni"

Le cultivar descritte o citate in Italia sono 476 con 1599 sinonimi, ciò ha portato nel passato ed ancora oggi, ad una confusione tra i nomi delle cultivar e i loro sinonimi.

Questa situazione evidenzia una notevole variabilità dei caratteri morfologici, riscontrata nelle diverse zone di coltivazione, determinando probabilmente l'alto numero dei sinonimi conosciuti.



## + Le Cultivar

Le 24 varietà a maggiore diffusione nel nostro Paese sono:

Il panorama produttivo italiano è caratterizzato dalla presenza, in coltivazione principale, di ben 148 cultivar; a testimonianza di questo straordinario patrimonio genetico, con alcune cultivar che hanno una limitata diffusione geografica.

Esse occupano una superficie di 655.000 Ha, pari al 58,0% circa del totale nazionale.



Il panorama produttivo italiano è caratterizzato dalla presenza, in coltivazione principale, di ben 148 cultivar.

Incidenza delle varietà principali sulla superficie investita



Italia

- 24 varietà
- 58%



Spagna

- 24 varietà
- 96%



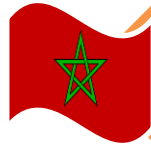
Grecia

- 3 varietà
- 90%



Tunisia

- 3 varietà
- 90%



Marocco

- 1 varietà
- 97%



# IL PANORAMA VARIETALE



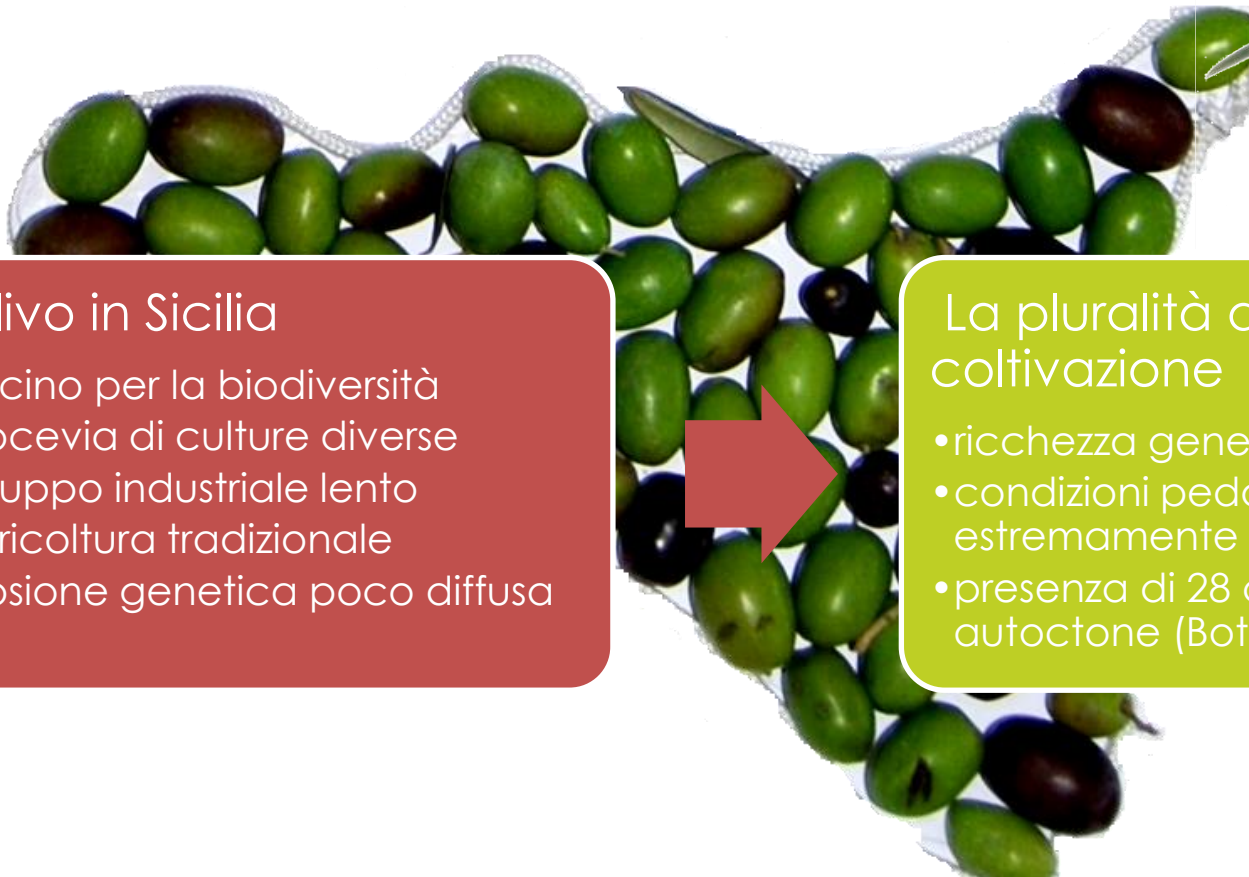
## L'olivo in Sicilia

- bacino per la biodiversità
- crocevia di culture diverse
- sviluppo industriale lento
- agricoltura tradizionale
- erosione genetica poco diffusa



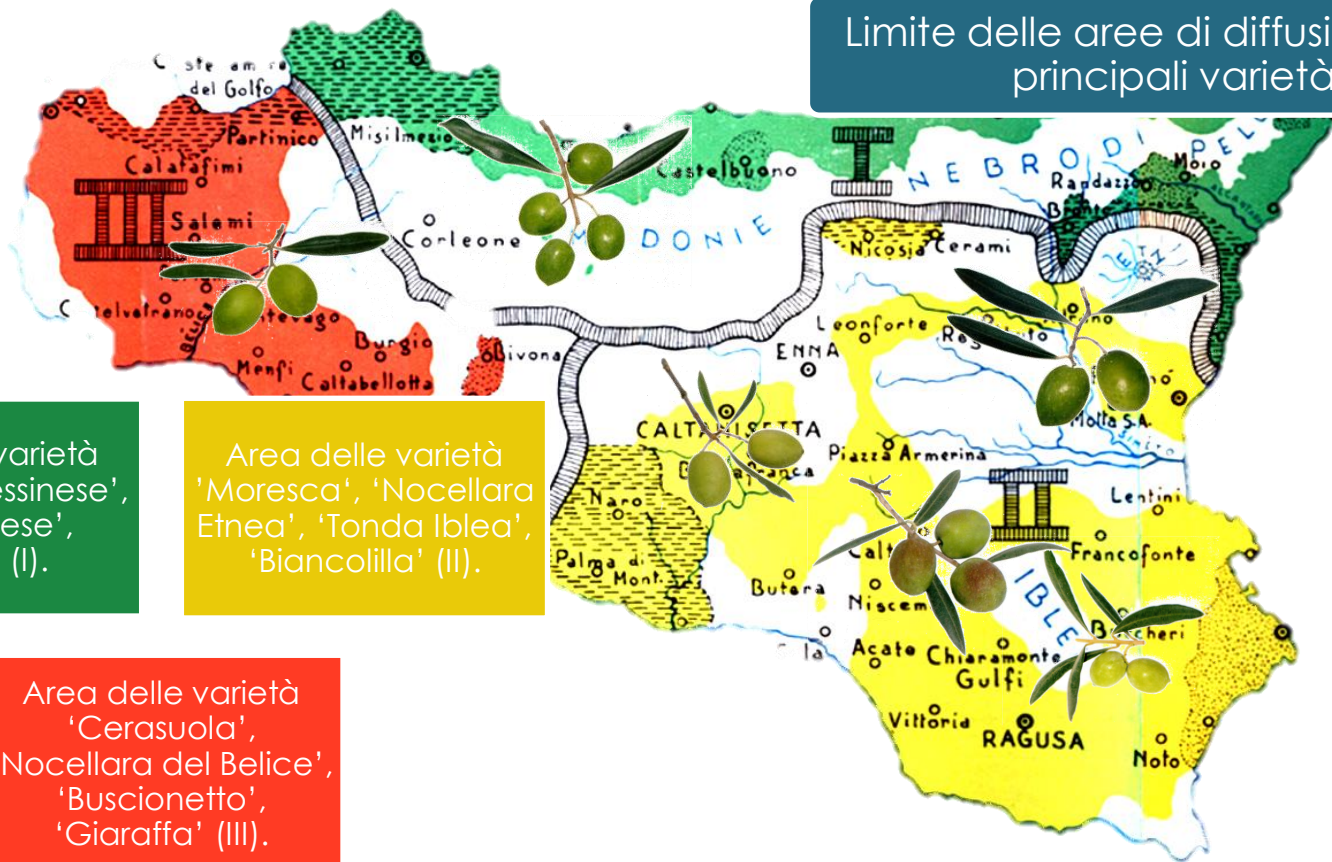
## La pluralità degli ambienti coltivazione

- ricchezza genetica
- condizioni pedoclimatiche estremamente differenti
- presenza di 28 cultivar autoctone (Bottari e Spina, 1952)



# + IL PANORAMA VARIETALE

Limite delle aree di diffusione delle principali varietà.



Area delle varietà  
'Ogliarola Messinese',  
'Santagatese',  
'Minuta' (I).

Area delle varietà  
'Moresca', 'Nocellara  
Etnea', 'Tonda Iblea',  
'Biancolilla' (II).

Area delle varietà  
'Cerasuola',  
'Nocellara del Belice',  
'Buscionetto',  
'Giaraffa' (III).

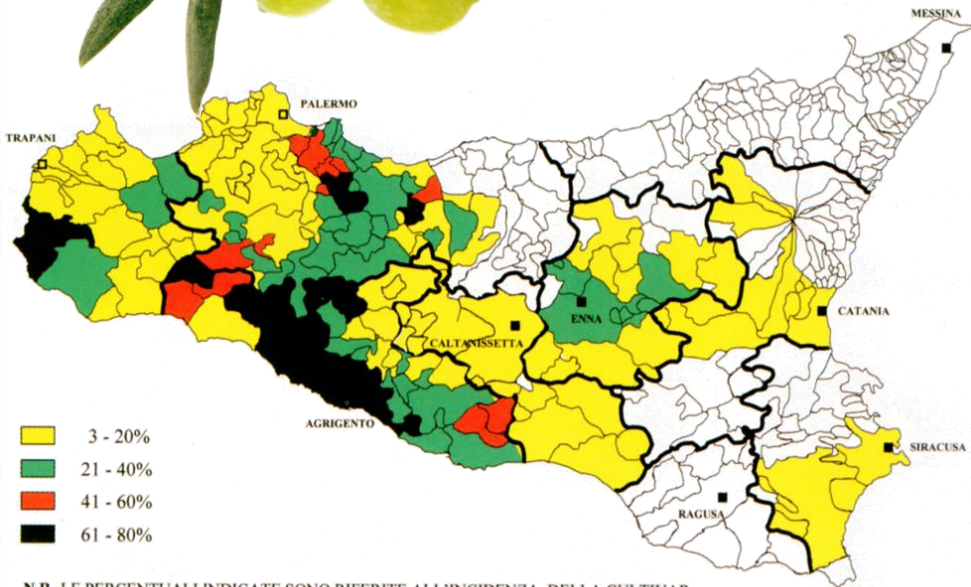
# + Cultivar Siciliane: principali e accessioni minori

- Abunara; Aitana; Biancolilla; Bottone di gallo; Brandofino; Buscionetto; Calamignana; Calatina; Castriciana; Cavaliere; Cerasuola; Erbano; Frantoio; Giarfara; Giarraffa; Gioconda; Leucocarpa; Lumiaro; Mandanici; Marmorina; Minuta; Monachella; Montonica; Moresca; Morghetana; Nasitana; Nerba ; Nocellara del Belice; Nocellara Etnea; Nocellara messinese; Occhiolà; Ogliarola messinese; Olivo di Castiglione; Passalunara; Randazzese; Riondello; Rizza; S. Benedetto; Santagatense; Tonda Iblea; Tortella; Turdunazza; Vaddarica; Verdella; Verdello grosso; Virdisa; Zaituna .





# Biancolilla



N.B. LE PERCENTUALI INDICATE SONO RIFERITE ALL'INCIDENZA DELLA CULTIVAR SUL COMPLESSIVO PATRIMONIO VARIETALE DI OGNI SINGOLA AREA COMUNALE.

**Habitus:** not defined.

**Vigor:** strong.

**Attitude production:** only by oil.

**Ripening:** medium.

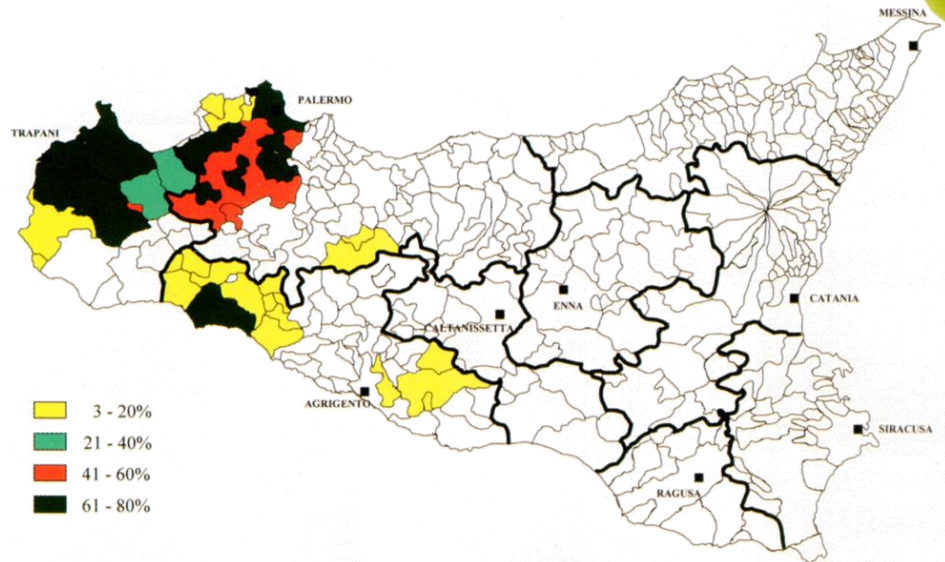
**Oil Yield:** low (11-15%).

**Leaf:** Straight, short, narrow, dark green.

**Drupes:** medium-small, ovoid-conical, green pea with yellow forward maturity, then pink-purple when ripe.



# Cerasuola



N.B. LE PERCENTUALI INDICATE SONO RIFERITE ALL'INCIDENZA DELLA CULTIVAR SUL COMPLESSIVO PATRIMONIO VARIETALE DI OGNI SINGOLA AREA COMUNALE.

**Habitus:** upright and spreading.

**Vigor:** high.

**Attitude production:** oil.

**Ripening:** late.

**Oil yield:** high (22-28%).

**Leaf:** small, tomentose, opaque green.

**Drupes:** spherical shape, medium sized, green forward maturity, then red-vinous maturity completed.



# Moresca



**Habitus:** spreading.

**Vigor:** medium.

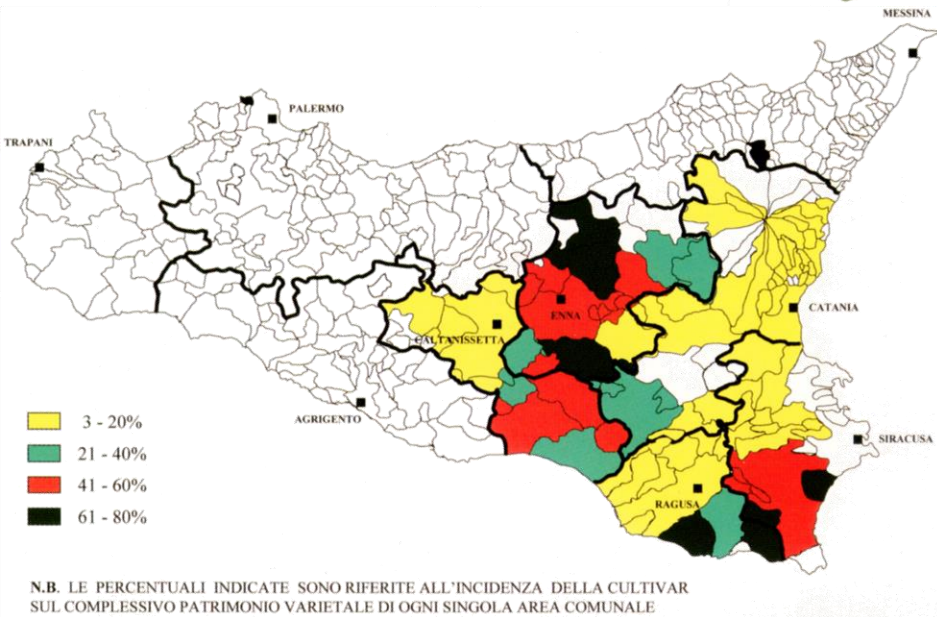
**Productive capacity:** double.

**Ripening:** early.

**Oil yield: medium (16-19%).**

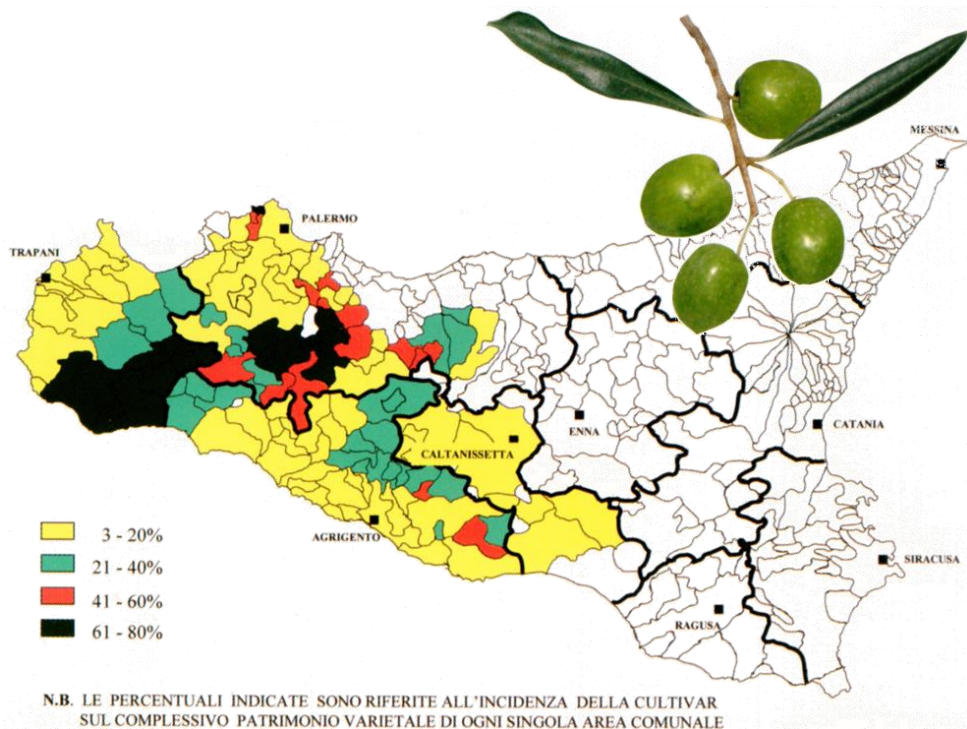
**Leaf:** large, short, straight, flat, tomentose, green matte gray.

**Drupes:** big, egg-shaped, nipple short, pale green back then maturity and intense black uniform.





# Nocellara del Bèlice



**Habitus:** drooping.

**Vigor:** weak.

**Productive capacity:** double.

**Ripening:** late.

**Oil yield:** low (15-18%).

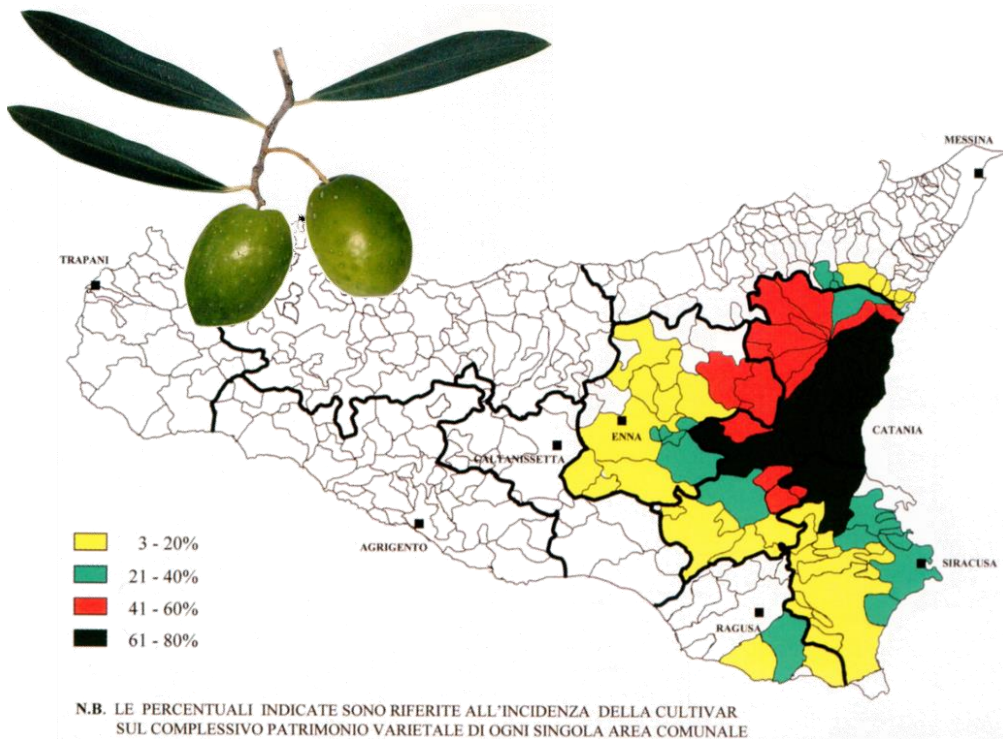
**Leaf:** large, long, straight, hairless, shiny green.

**Drupes:** large, spherical in shape and deep green, nipple sometimes present.





# Nocellara Etnea



**Habit:** drooping.

**Vigor:** strong.

**Productive capacity:** double.

**Ripening:** late.

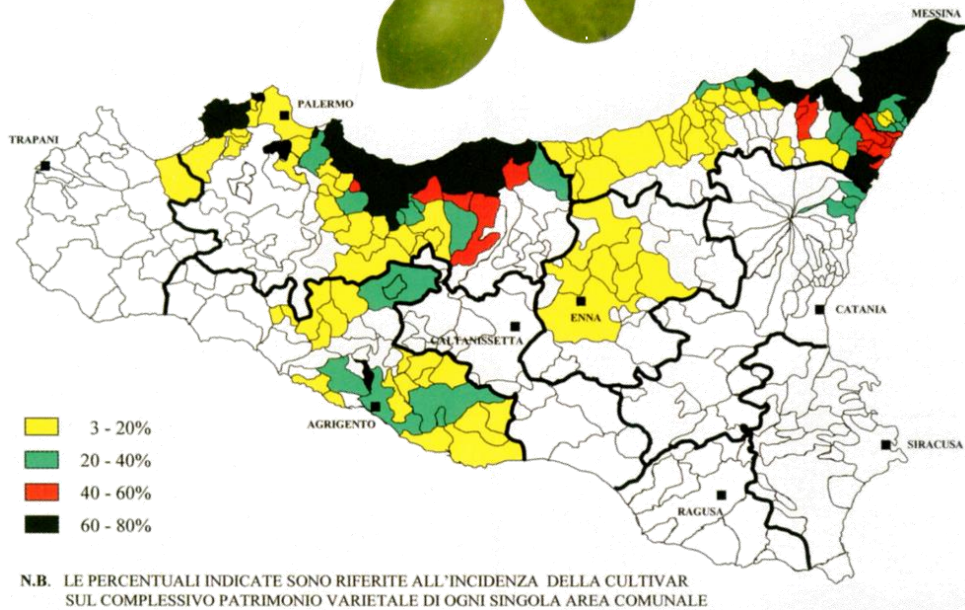
**Oil yield:** medium (15-20%).

**Leaf** narrow, long straight, tomentosa, opaque green.

**Drupes:** big or very big if irrigated, elongated, purple when ripe. Early ripening in the apical part. Easy pitting.



# + Ogliarola Messinese

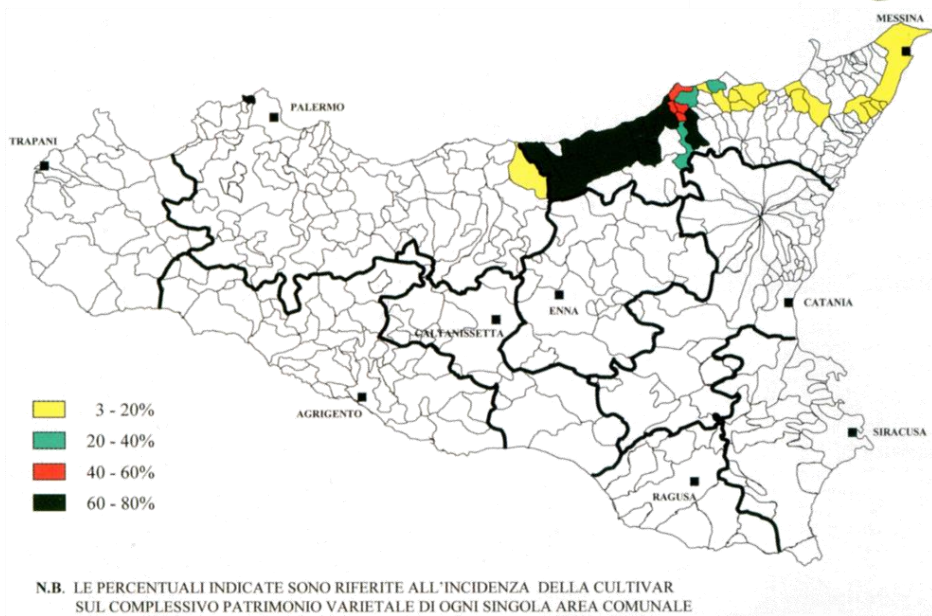


N.B. LE PERCENTUALI INDICATE SONO RIFERITE ALL'INCIDENZA DELLA CULTIVAR SUL COMPLESSIVO PATRIMONIO VARIETALE DI OGNI SINGOLA AREA COMUNALE

**Habit:** drooping  
**Productive capacity:** double  
**Ripening:** early  
**Oil yield:** high (24-28%)  
**Leaf:** long, lanceolate, apex recurved, tomentose, dull green.  
**Drupes:** medium-large, elliptical shape or lanceolate, pale green before ripening, then red-vinous.



# Santagatese



**Habit:** upright.

**Attitude production:** only by oil.

**Ripening:** late.

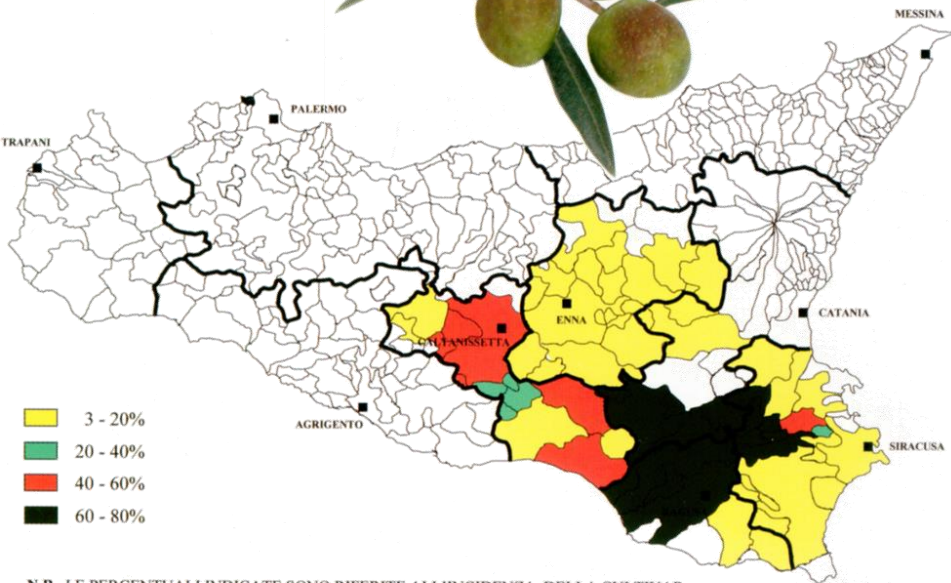
**Oil yield:** high (20-25%).

**Leaf:** flat, short, straight, very tomentose, gray.

**Drupes:** medium-large, elongated, deep green and black when ripe.



# Tonda Iblea



N.B. LE PERCENTUALI INDICATE SONO RIFERITE ALL'INCIDENZA DELLA CULTIVAR SUL COMPLESSIVO PATRIMONIO VARIETALE DI OGNI SINGOLA AREA COMUNALE

**Habitus:** upright.

**Productive capacity:** double.

**Ripening:** normal.

**Oil yield:** medium (16-20%).

**Leaf:** small, narrow, with flaps folded down, green gray matte.

**Drupes:** variable size, also very large, round and red-vinous to full maturity.

# + SICUREZZA E QUALITÀ DEI PRODOTTI AGROALIMENTARI

In virtù delle sue caratteristiche, l'olio extravergine d'oliva è diventato uno dei prodotti alimentari maggiormente soggetti alle frodi.

Frodi del settore oleicolo

Miscelazione e/o sostituzione di oli extravergine d'oliva di pregio con altri di minor qualità

Aggiunta fraudolenta di oli specie vegetali diverse da *Olea europaea* L.



Articolo del quotidiano «Il Fatto Alimentare», 9-01-2012





DNA tessuti  
vegetale  
(drupa e foglie)

Per evitare le  
contaminazioni genetiche  
date dall'embrione della  
drupa, sono stati  
identificati marcatori  
molecolari di origine  
plastidiale

DNA  
estraneo  
(batteri, funghi ed  
insetti)

DNA  
Olio

DNA  
embrionale

DNA  
endospermatico

Marcatori plastidiali:

- origine materna (escludono la presenza nell'olio di eventuali impollinatori),
- aploidi (profilo unico per ciascuna varietà)
- altamente rappresentati

Il DNA, non essendo influenzato dall'ambiente, ha un grande potenziale come mezzo d'identificazione delle varietà che compongono un determinato olio.



# LIMITI DELLA TRACCIABILITÀ GENETICA APPLICATA ALL' OLIO D'OLIVA





# ESTRAZIONE DI DNA DA OLIO D'OLIVA

Protocolli di estrazione del DNA	Olio d'oliva	Quantità di partenza	DNA estratto	Bibliografia
	Olio vergine di oliva monovarietale	N.d.	N.d.	Muzzalupo e Perri (2002)
	Olio extravergine di oliva monovarietale	50-100 ml	quantità molto bassa	Busconi et al. (2003)
CTAB-based method	Olio di oliva monovarietale filtrato e non filtrato	2-40 g	10 ng/ $\mu$ l	Testolin and Lain (2005)
	Olio di oliva monovarietale e commerciale	6 ml	7.75 ng/ $\mu$ l	Martins-Lopes et al. (2008)
	Olio di oliva monovarietale commerciale	1 ml	N.d.	Gimenez et al. (2010)
	Olio di oliva monovarietale	100 ml	40 ng/ $\mu$ l	Consolandi et al.(2008)
CTAB-Hexane method	Olio di oliva monovarietale commerciale	1 ml	N.d.	Gimenez et al. (2010)
CTAB-Hexane-Chloroform method	Olio di oliva monovarietale commerciale	500 $\mu$ l	N.d.	Gimenez et al. (2010)



	Olio di oliva monovarietale	2 ml	27 ng/μl	Consolandi et al.(2008)
Hexane method	Olio di oliva monovarietale e commerciale	2 ml	35.2 ng/μl	Martins-Lopes et al. (2008)
	Olio di oliva monovarietale	1 ml	N.d.	Gimenez et al. (2010)
Based on DNA extraction from paraffin	Olio di oliva monovarietale	2 ml	N.d.	Pafundo et al. (2005)
	Olio di oliva monovarietale	2 ml	N.d.	Pafundo et al. (2007)
NucleoSpin® Plant mini Kit	Olio di oliva monovarietale e commerciale	1 ml	13.2 ng/μl	Martins-Lopes et al. (2008)
NucleoSpin® Food kit	Olio di oliva a differenti tempi di conservazione	N.d.	N.d.	Pafundo et al. (2010)
	Olio di oliva monovarietale	2 ml	23 ng/μl	Consolandi et al.(2008)
	Olio di oliva monovarietale	200 μl	5-10 ng/μl	Ayed et al. (2009)
	Olio di oliva monovarietale filtrato e non filtrato	2-40 g	10 ng/μl	Testolin e Lain (2005)
Qiagen QIAmp DNA Stool kit	Olio di oliva denocciolato	100-300 μl	3.67-15.0 ng/μl	Muzzalupo et al. (2007)
	Olio di oliva filtrato e marcato con λDNA	50 ml	10 μg λdna	Spaniolas, Bazokos, Nturu et al. (2008)
	Oli vegetali	50 ml	quantità molto bassa	Spaniolas, Bazokos, Nturu et al. (2008)



Dneasy Plant mini kit	Olio di oliva monovarietale filtrato e non filtrato	2-40 g	10 ng/ $\mu$ l	Testolin e Lain (2005)
	Olio di oliva monovarietale e commerciale	1 ml	1.75 ng/ $\mu$ l	Martins-Lopes et al. (2008)
Gene Elute plant kit (Sigma)	Olio di oliva monovarietale e blend filtrato e non filtrato	50 ml (olio non filtrato)	N.d.	Pasqualone et al. (2007)
		200 ml (olio filtrato)		
	Olio di oliva monovarietale	200 ml	N.d.	Montemurro et al. (2008)
	Olio di oliva monovarietale	250 ml	5 ng/ $\mu$ l	Alba et al. (2009)
Hydroxyapatite Biogel (Sigma)	Olio di oliva commerciale (DOP e IGP)	400 ml	N.d.	Breton et al. (2004)
Silica kit (Sigma)	Olio di oliva commerciale (DOP e IGP)	80 ml	N.d.	Breton et al. (2004)
	Olio di oliva commerciale (DOP e IGP)	40 ml	N.d.	Breton et al. (2004)
Wizard® Magnetic purification system for food (Promega)	Olio di oliva monovarietale filtrato e non filtrato	2-40 g	10 ng/ $\mu$ l	Testolin e Lain (2005)
	Olio di oliva monovarietale	120 ml	34 ng/ $\mu$ l	Consolandi et al.(2008)





---

Commercial LB Link-Bioteck ExtMan Official Swiss method for lecithin and oil DNA extraction		2,5 ml	quantità bassa	Doveri et al. (2006)
TEA based buffer (Tris, EDTA, and ascorbic acid) method Sedimento, Olio di oliva monovarietale filtrato e non filtrato 25-500 g			0.2-2 ng/g sedimento olio 0.1-0.5 pg/g olio	de la Torre et al. (2004)
TNE based buffer (Tris, NaCl, EDTA, SDS) method with Wizard DNA Clean up resin (Promega)	Olio d'oliva e olive	250 ml	N.d.	Pasqualone et al. (2001)
TNE based buffer (Tris, NaCl, EDTA, SDS) method	Olio di colza raffinato ed estratto a freddo	200 ml	N.d.	Hellebrand et al. (1998)

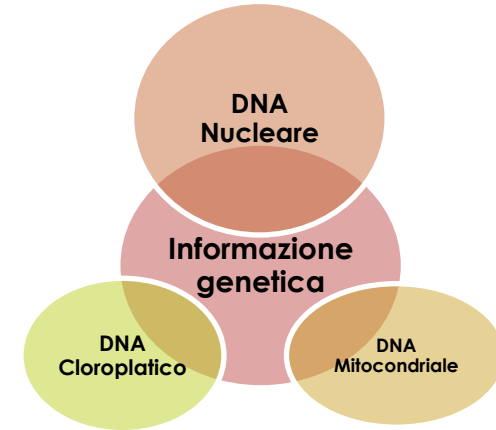
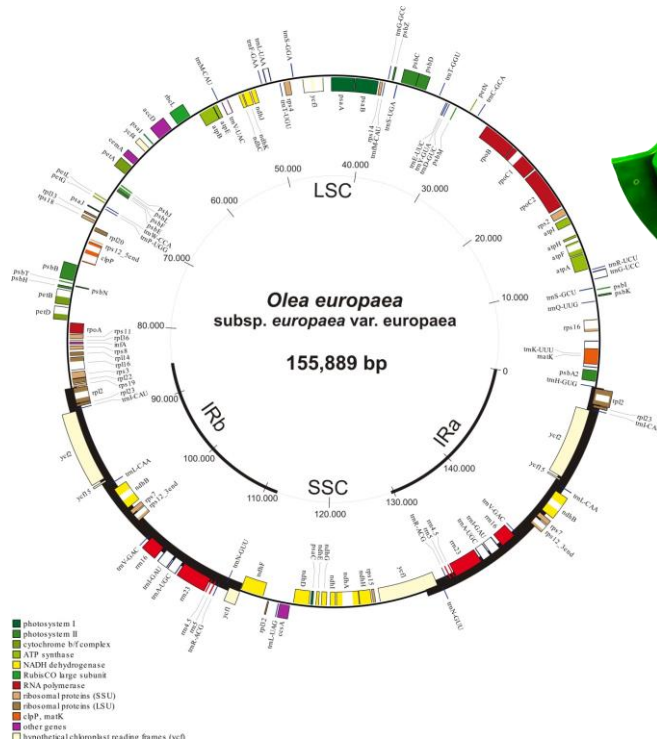
---



# MARCATORI MOLECOLARI IMPIEGATI NELL'OLIO D'OLIVA

Marcatori molecolari	Sviluppatori	Riferimenti
RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)	Williams et al. (1990)	Muzzalupo e Perri (2002) Martins-Lopes et al. (2008)
AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)	Vos et al. (1995)	Busconi et al. 2003, Pafundo et al. 2005
SCAR (Sequence Characterized Amplified Region)	Paran e Michelmore (1993)	De la Torre et al. (2004) Pafundo et al. (2007)
SSRs (Single Sequence Repeats)	Morgante e Olivieri (1993)	Muzzalupo et al. (2007) Pasqualone et al. (2007) Martins-Lopes et al.(2008) Alba et al. (2009)
ISSR (Inter Simple sequence Repeats)	Zietkiewicz et al. (1994)	Pasqualone et al.(2001) Martins-Lopes et al. (2008)
SNP (Single Nucleotide Polymorphism)	Wang et al. (1998)	Consolandi et al. (2007, 2008) Reale et al. (2006)
Chloroplast and mitochondrial (Direct sequencing)	Botstein et al. (1980)	Pérez-Jimenez et al. (2013)

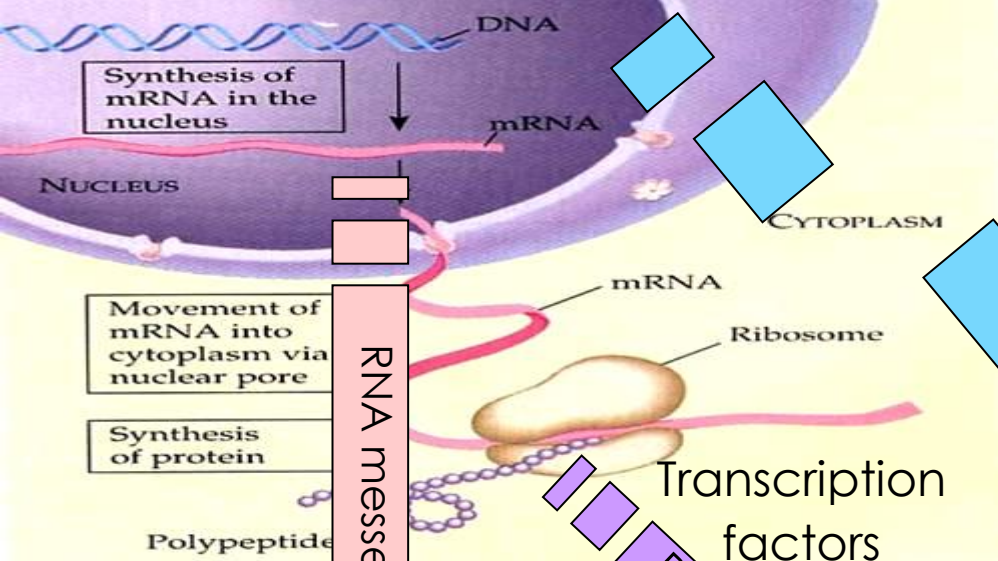
# + MARCATORI CITOPLASMATICI: PLASTIDIALI E MITOCONDRIALI



## Marcatori plastidiali:

- Origine materna
- Evitano la rilevazione di contaminazioni genetiche date dall'embrione della drupa
- Aploidi (profilo unico per ciascuna varietà)
- Altamente rappresentati nell'olio
- Resistenti alle endonucleasi e a fenomeni degradativi

# Biotech per le piante



RNA messengers

Proteins

RFLP  
RAPD  
AFLP  
SSR  
SCAR  
CAPS  
SSCP  
RGA e AFLP-RGA  
HA S-SAP  
SNP

DNA Random Markers  
DNA Functional Markers

Differential Display  
cDNA-AFLP  
Subtractive Libraries  
Array

SDS-PAGE  
2D-PAGE  
Isozymes  
Mass Spectrometry  
Crystallography

TRANSCRIPTOMICA

PROTEOMICA

GENOMICA

## Fenotipo









# INDAGINE SULLA VARIABILITÀ MORFOLOGICA INTER ED INTRA CULTIVAR DEL GERMOPLASMA OLIVICOLA SICILIANO





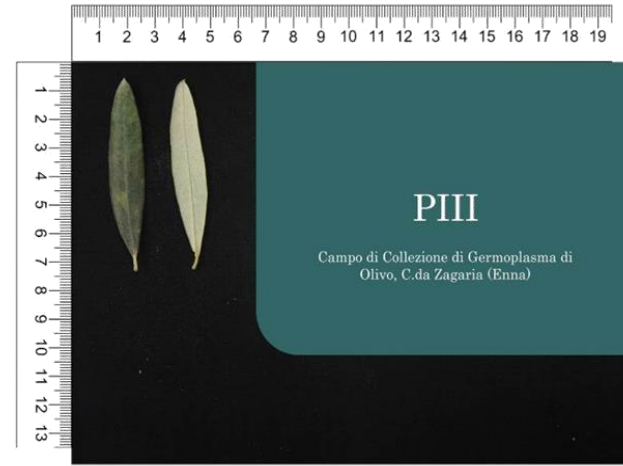


Nome accessione **PIII**

Filiare **1**

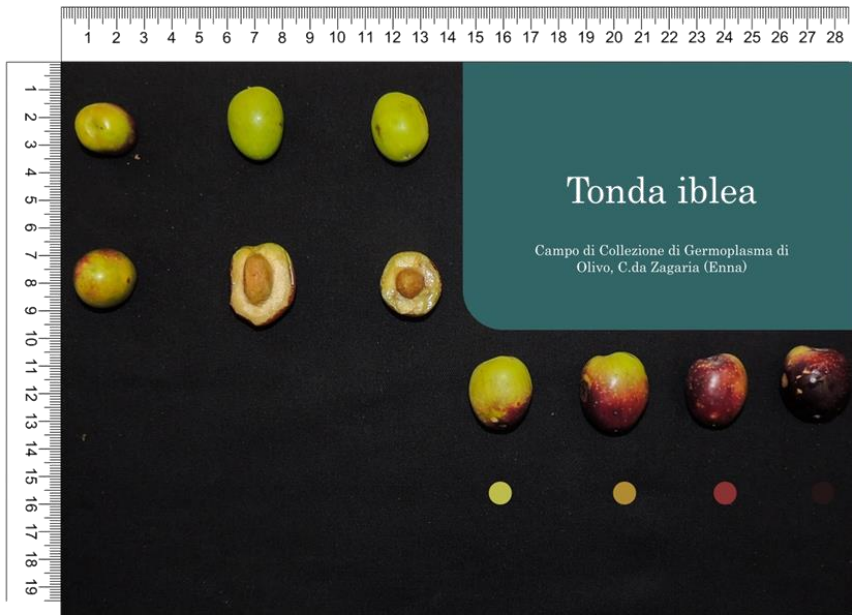
Lotto **A**

Codice Pianta **1**

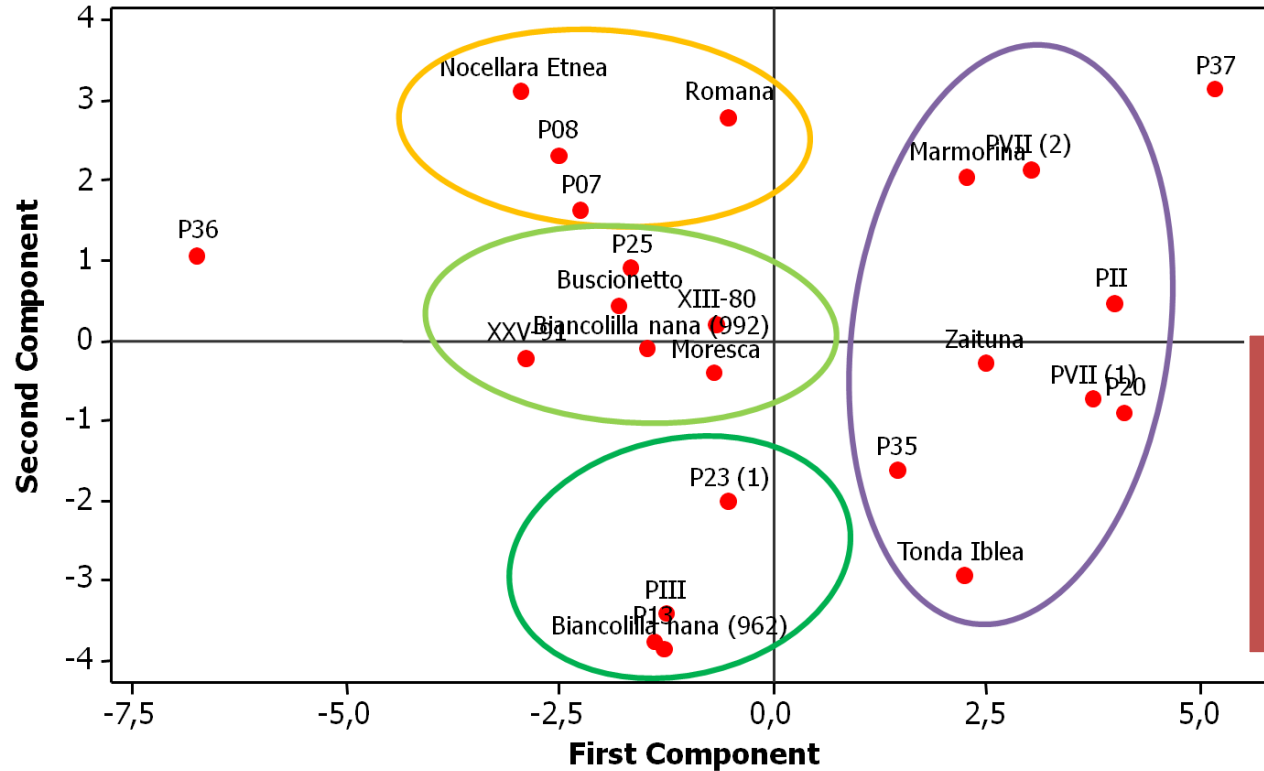




Nome accessione <b>Tonda Iblea</b>	Filiare <b>4</b>	Lotto <b>B</b>	Codice Pianta <b>148</b>
---	---------------------	-------------------	-----------------------------

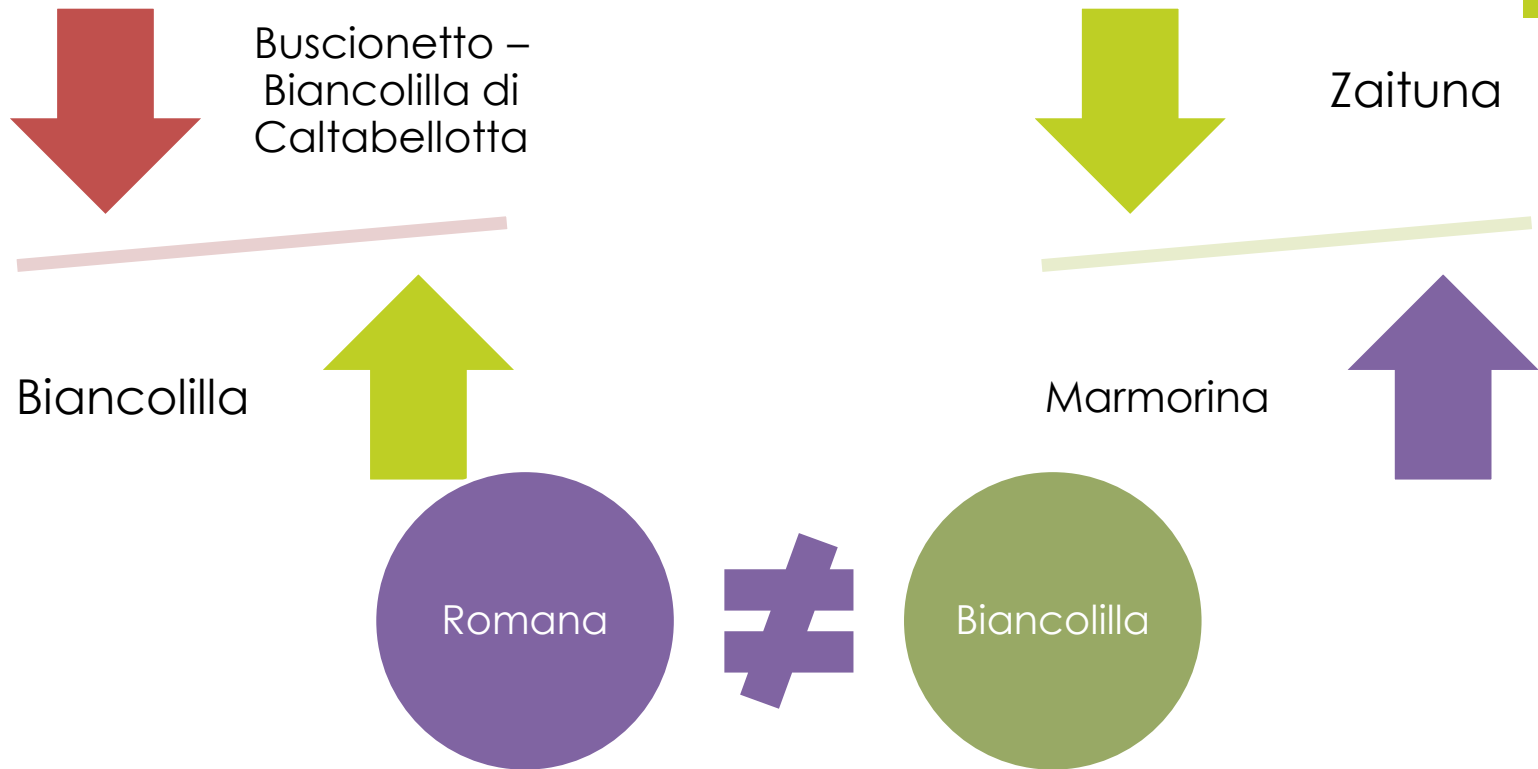


## Score Plot variabilità inter-cultivar accessioni di olivo Zagaria (EN)



Score plot delle accessioni di olivo analizzate in riferimento alle prime 2 principal components (PC)

# + Risultati e discussioni



# + Risultati e discussioni

Osservazioni di carattere morfologico hanno discriminato le accessioni delle cultivar popolazione

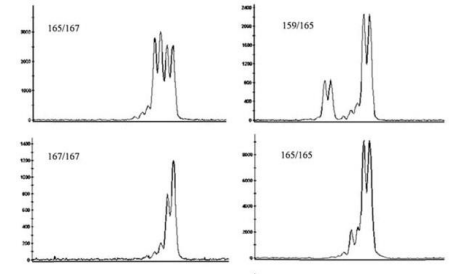
Frequenza di fenomeni di eterofillia

Biancolilla, Nocellara Etnea e Tonda Iblea raggruppate in cluster diversi

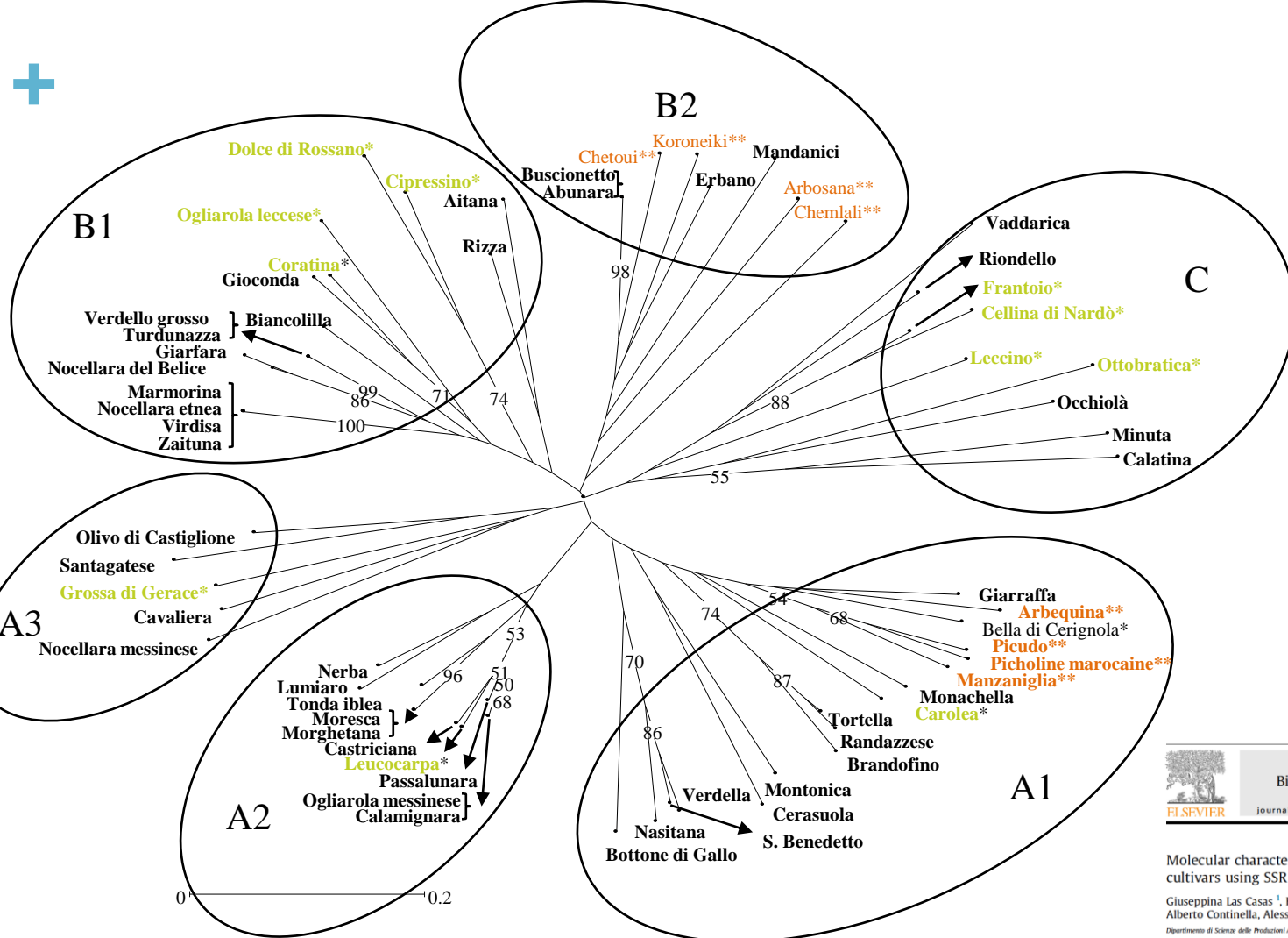




# CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DI CULTIVAR DI OLIVO (*OLEA EUROPAEA* L.) SICILIANE ED ESTERE CON MARCATORI MICROSATELLITI (nuSSR)







Dendrogram  
Neighbor Joining  
delle varietà.  
Legenda: **Varietà Siciliane**, **Varietà Italiane (\*)** e **Varietà Straniere (\*\*)**

Contents lists available at ScienceDirect

Biochemical Systematics and Ecology

Journal homepage: [www.elsevier.com/locate/biochemsyseco](http://www.elsevier.com/locate/biochemsyseco)




Molecular characterization of olive (*Olea europaea* L.) Sicilian cultivars using SSR markers

Giuseppina Las Casas <sup>1</sup>, Francesco Scollo <sup>1</sup>, Gaetano Distefano, Alberto Continella, Alessandra Gentile, Stefano La Malfa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agricole e Alimentari, University of Catania, Via V.lellosovi 5, 95123 Catania, Italy

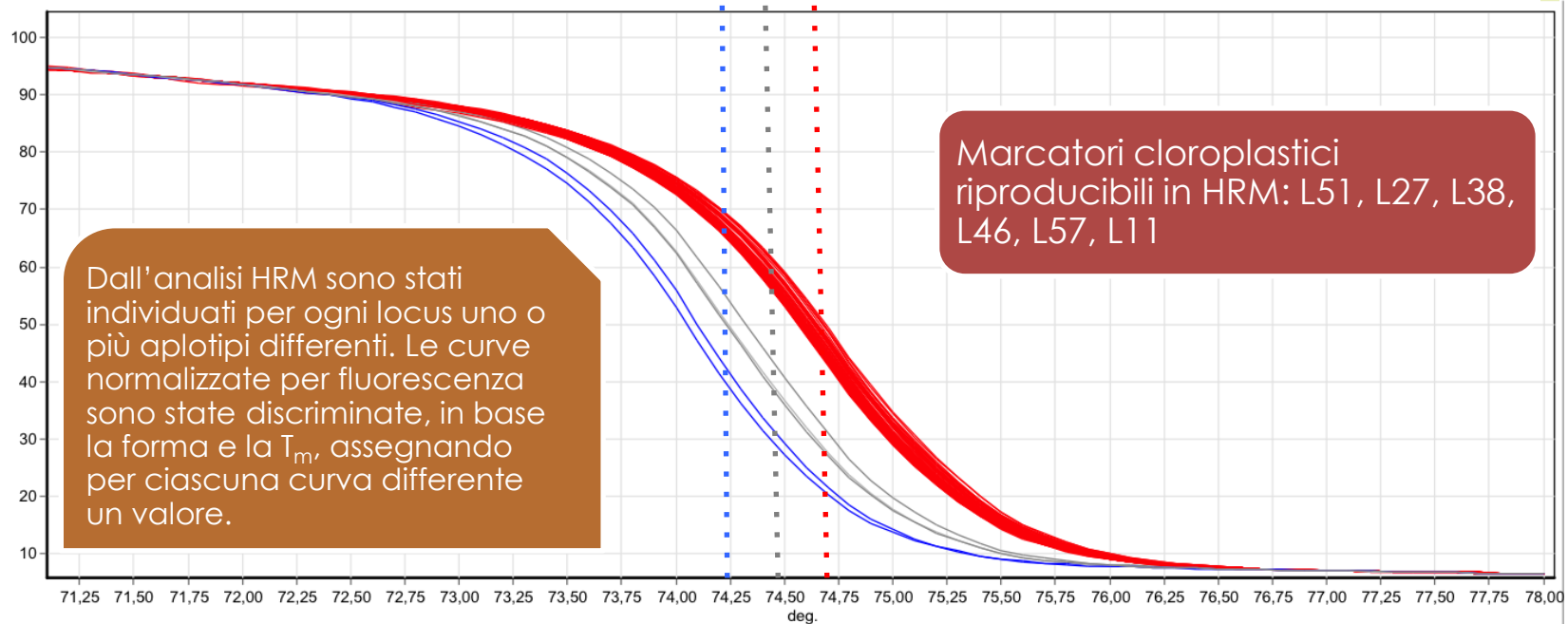




# CARATTERIZZAZIONE GENETICO MOLECOLARE DELLA VARIABILITÀ INTRACULTIVAR MEDIANTE HIGH RESOLUTION MELTING (HRM)



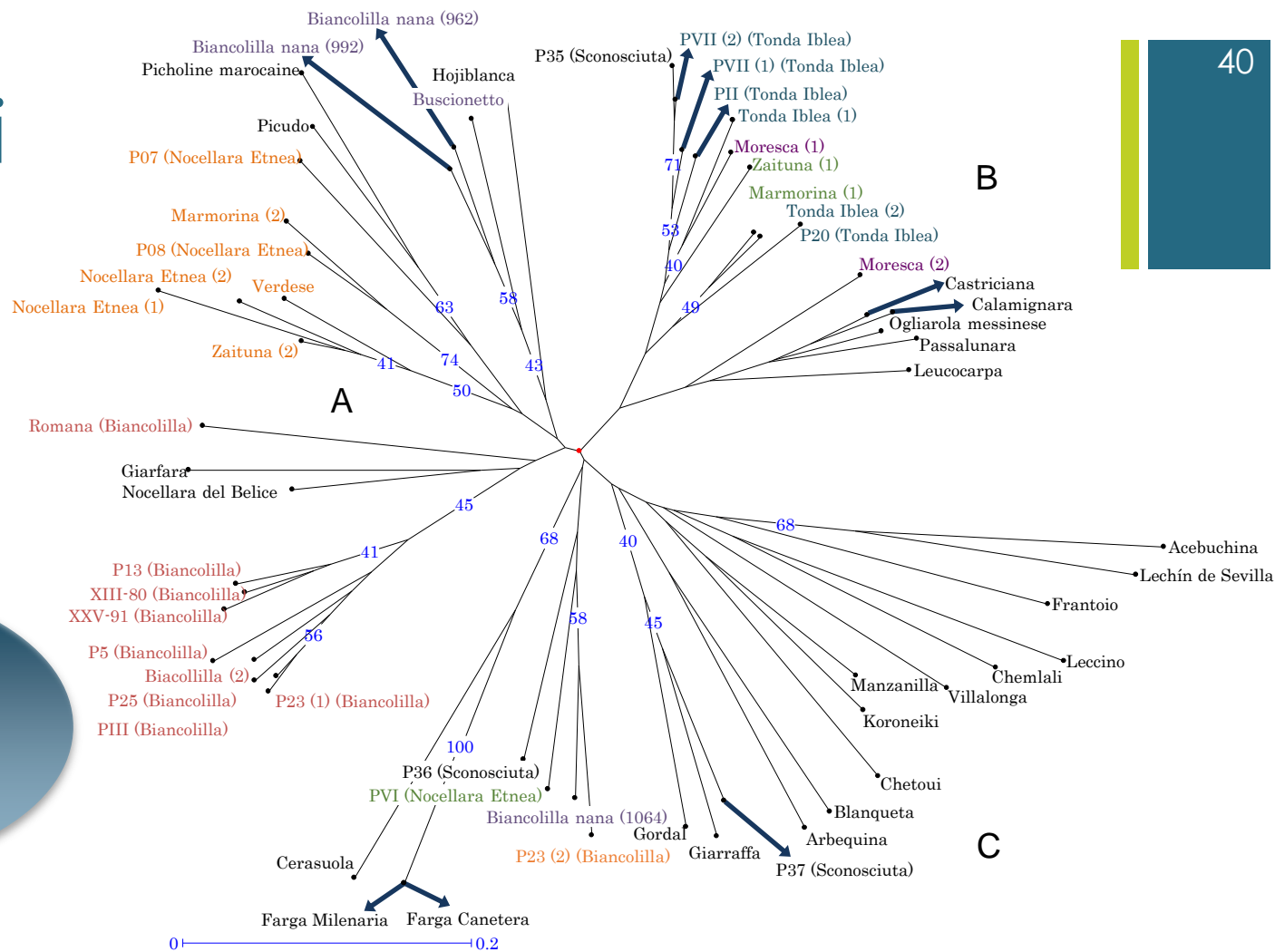
# + Marcatori cloroplastastici (cpSSR)



Profile HRM of 62 genotypes of *Olea europaea* analyzed with locus L11



# Risultati



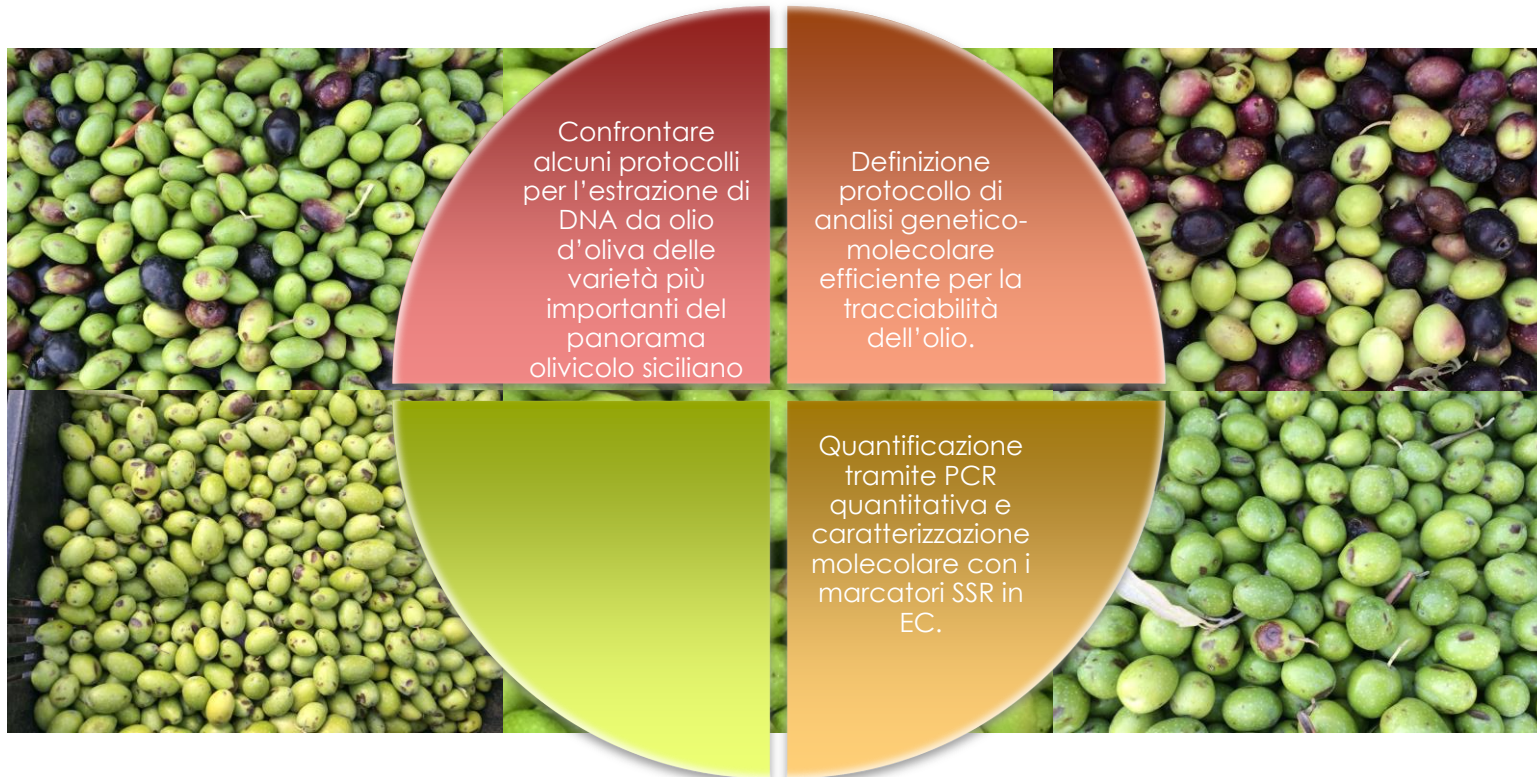


# ESTRAZIONE DI DNA DA OLIO DI OLIVA E UTILIZZO DI MARCATORI MICROSATELLITI PER LA SUA TRACCIABILITÀ





# Scopo del lavoro







# Materiali e Metodi

## ■ Prelievo del materiale vegetale ed estrazione dell'olio

Cultivar	Comune	Località	Coordinate
Calatina	Catania	C.da Primosole	37° 44' 40.00" N
			15° 03' 14.00" E
Moresca	Assoro	C.da Dainamare	37° 30' 11.00" N
			14° 25' 2.00" E
Biancolilla	Licodia Eubea	C.da Ragoleti	37° 07' 00.00"N
			14° 39'56.00"E
Nocellara Etnea	Licodia Eubea	C.da Ragoleti	37° 07' 00.00"N
			14° 39'56.00"E
Nocellara del Belice	Licodia Eubea	C.da Ragoleti	37° 07' 00.00"N
			14° 39'56.00"E
Tonda Iblea	Licodia Eubea	C.da Ragoleti	37° 07' 00.00"N
			14° 39'56.00"E

Cultivar di *Olea europaea* L. prelevate nelle varie località da cui si è ottenuto e campionato il corrispettivo olio extravergine d'oliva

# + Materiali e Metodi

Molitura di 30 kg di olive in minifrantoio presso l'Istituto Superiore I.P.S.A.A (Palazzolo Acreide).

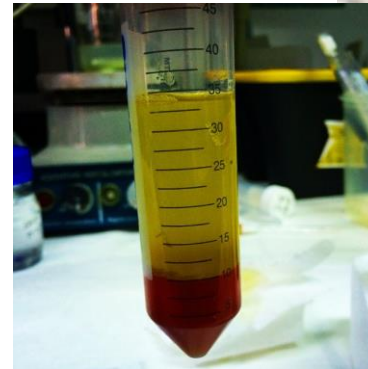
Estrazione di DNA da tessuto fogliare con *Qiagen TissueLyser* e *ISOLATE II Plant DNA Kit*

Estrazione di DNA da olio extravergine di oliva

Estrazione di DNA da  
matrice oleosa

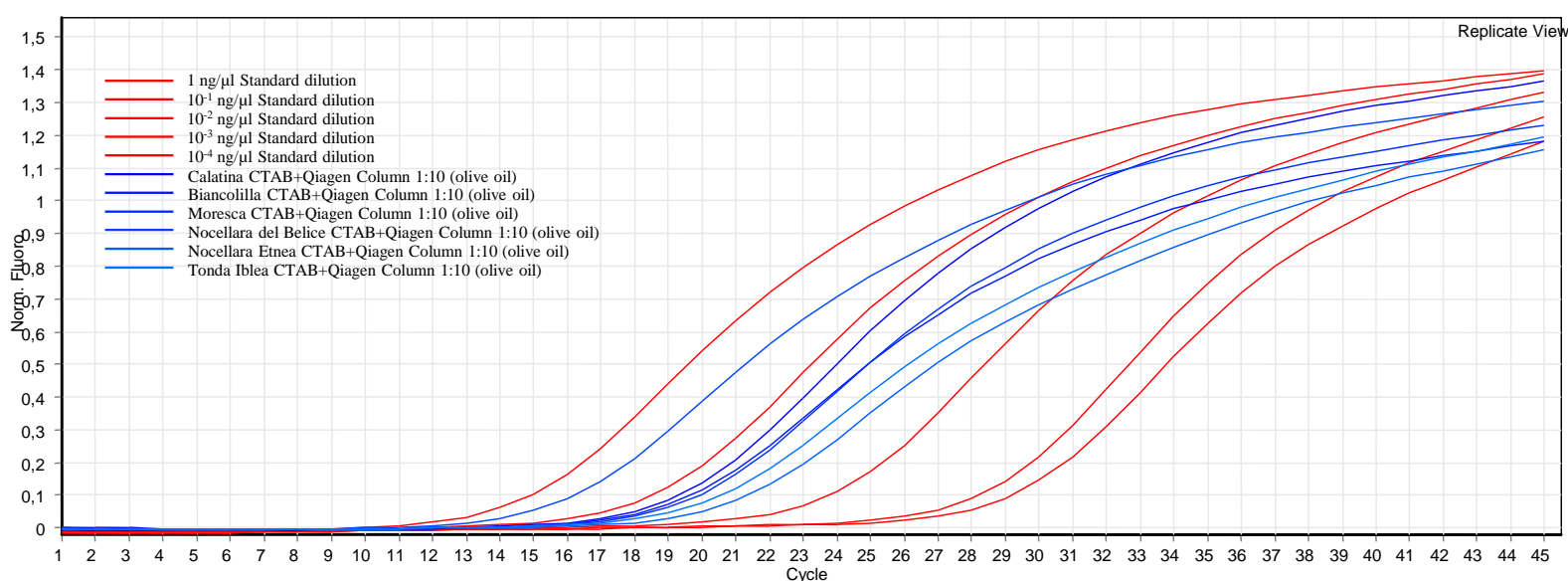
QIAmp DNA Stool –  
Protocol: Isolation of  
DNA from Stool for  
Pathogen Detection

CTAB e colonne di  
purificazione del kit di  
estrazione Dneasy®  
Plant Maxi Kit



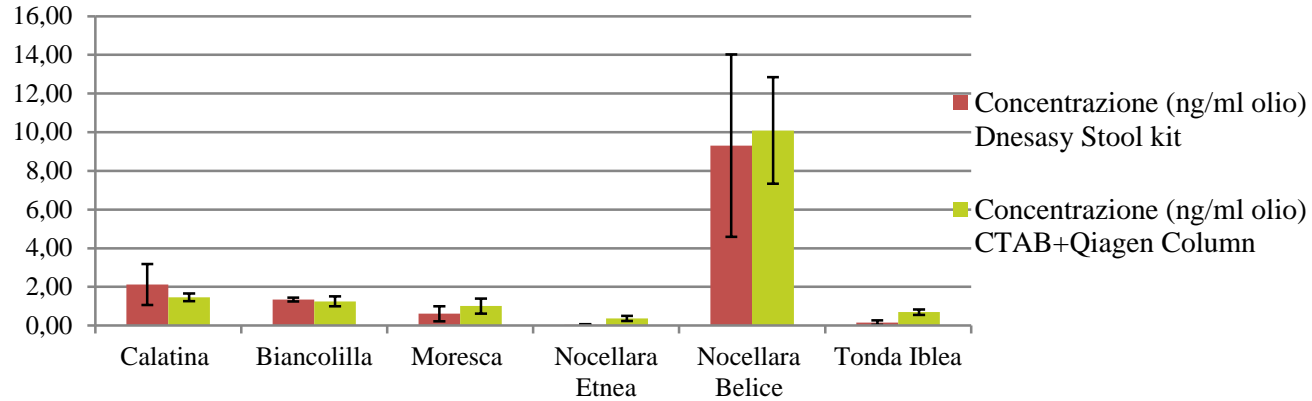


# Quantificazione assoluta CTAB+ Qiagen Column



Curve di amplificazione qRT-PCR di Standard Dilution (1, 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup> ng/μl) in rosso; a) estrazione di DNA da tutti i campioni con protocollo QIAamp DNA Stool; b) estrazione di DNA da tutti i campioni con protocollo CTAB Qiagen Column; c) estrazioni di DNA da olio monovarietale di cv. Noc. Del Belice. In ascisse il numero dei cicli di amplificazione, nelle ordinate la misura della fluorescenza.

# + Quantificazione qRT - PCR



	Dnesasy Stool kit	CTAB+Qiagen Column
<b>Calatina</b>	2,12 ± 1,06	1,46 ± 0,20
<b>Biancolilla</b>	1,35 ± 0,10	1,25 ± 0,25
<b>Moresca</b>	0,61 ± 0,39	1,01 ± 0,39
<b>Nocellara Etnea</b>	0,04 ± 0,02	0,37 ± 0,14
<b>Nocellara Belice</b>	9,31 ± 4,72	10,9 ± 2,75
<b>Tonda Iblea</b>	0,15 ± 0,11	0,69 ± 0,14

Concentrazione di DNA totale estratto (espresso in ng/ml di olio) in relazione agli oli monovarietali e ai diversi protocolli utilizzati

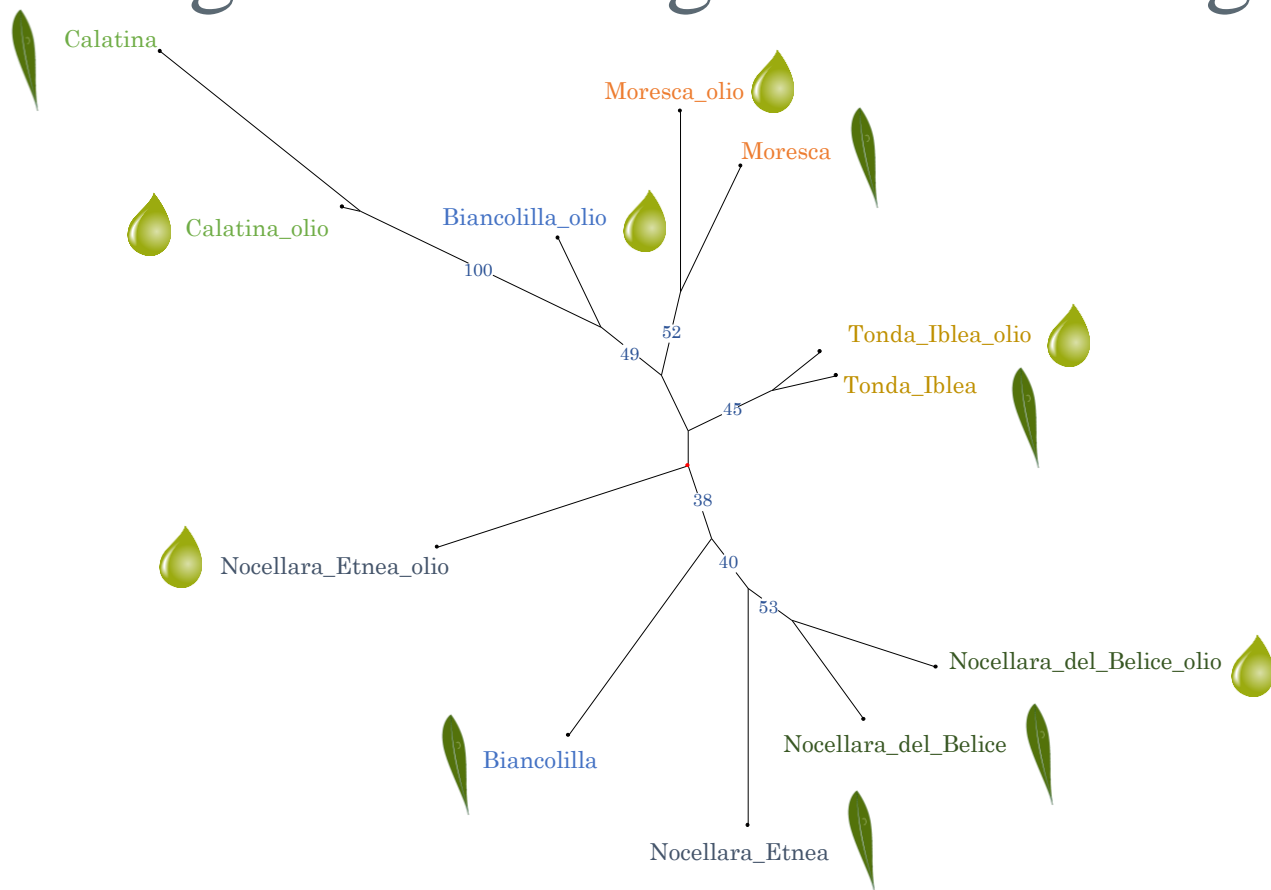


# Caratterizzazione nuSSR

Marker	Maggiore Frequenza Allelica		Numero osservazioni		Numero Alleli		Riproducibilità		Eterozigosi attesa		Eterozigosi osservata		PIC	
	DNA Olio	DNA Foglia	DNA Olio	DNA Foglia	DNA Olio	DNA Foglia	DNA Olio	DNA Foglia	DNA Olio	DNA Foglia	DNA Olio	DNA Foglia	DNA Olio	DNA Foglia
DCA3	0.33	0.33	6	6	5	5	1.00	1.00	0.76	0.74	1.00	1.00	0.73	0.69
DCA9	0.42	0.42	6	6	4	4	1.00	1.00	0.71	0.71	0.83	0.83	0.66	0.66
DCA16	0.50	0.42	6	6	3	4	1.00	1.00	0.57	0.68	1.00	0.83	0.48	0.62
GAPU59	0.58	0.67	6	6	2	3	1.00	1.00	0.49	0.49	0.83	0.50	0.37	0.42
GAPU10 <sub>1</sub>	0.33	0.33	6	6	4	5	1.00	1.00	0.71	0.76	1.00	1.00	0.65	0.73
UDO99-008	0.40	0.42	5	6	5	4	0.83	1.00	0.72	0.64	1.00	0.83	0.68	0.57
UDO99-012	0.83	0.42	3	6	2	3	0.50	1.00	0.28	0.65	0.33	0.83	0.24	0.58
UDO99-024	0.67	0.75	3	6	3	3	0.50	1.00	0.50	0.40	0.67	0.50	0.45	0.36
Media	0.51	0.47	5.1	6.0	3.5	3.9	0.85	1.00	0.59	0.63	0.83	0.79	0.53	0.58



# Dendrogramma Neighbor - Joining



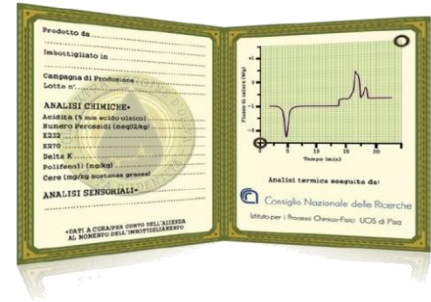


# Risultati e discussione

I protocolli di estrazione utilizzati in questo lavoro di tesi: estrazione di quantità esigue di DNA, ma comunque validi.

Considerazione di alcuni punti critici della metodica per una possibile fase applicativa.



Utilizzo di altre tipologie di marcatori molecolari che possano consentire la creazione di una "Carta d'identità" genetica di questi pregiati oli extravergini d'oliva.





# DISCUSSIONE GENERALE





E' stato indagato il patrimonio genetico dell'olivo siciliano, mediante caratterizzazione di tipo morfologico e molecolare con due differenti tecniche

I risultati confermano l'ampia variabilità presente, permettono di discriminare la maggior parte delle accessioni considerate e chiariscono alcuni casi di omonimia e sinonimia ed hanno messo in evidenza la presenza di variabilità intraculturale

La tecnica HRM, di nuova definizione, consente di individuare nuova variabilità, di abbattere i costi delle analisi, e può essere applicata anche per approcci di tracciabilità molecolare degli oli

Per la definizione di protocolli di analisi genetica degli oli non si può prescindere dalla qualità del DNA estratto e dall'utilizzo di idonei marcatori anche di origine extranucleare



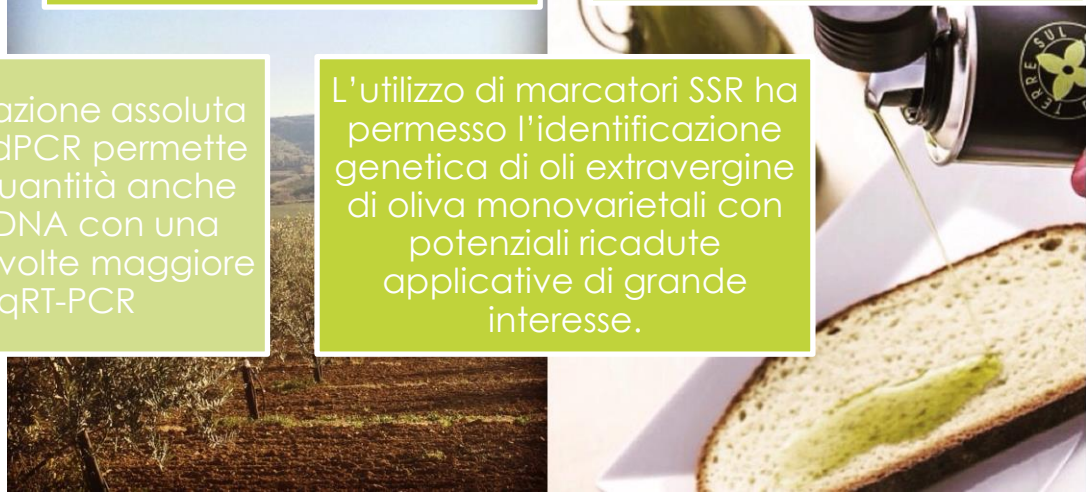
L'analisi del DNA offre molti vantaggi rispetto alle analisi chimiche

I diversi protocolli di estrazione interferiscono sulla «funzionalità» del DNA isolato da olio extravergine di oliva

La qualità del DNA estratto è influenzata anche da alcuni fattori specifici quali procedura di estrazione, conservazione e stoccaggio dell'olio.

La quantificazione assoluta mediante ddPCR permette di rilevare quantità anche minime di DNA con una sensibilità 10 volte maggiore della qRT-PCR

L'utilizzo di marcatori SSR ha permesso l'identificazione genetica di oli extravergine di oliva monovarietali con potenziali ricadute applicative di grande interesse.





## Prospettive di ricerca per la caratterizzazione delle popolazioni clonali delle principali cv di olivo siciliane:

- Forme di collaborazione con i diversi Consorzi di Tutela di Olio DOP
- Studio più approfondito sulle diverse accessioni che contraddistinguono i diversi areali di produzione
- Adozione di marcatori molecolari SNPs, che potrebbero consentire una più agevole discriminazione delle cultivar e delle eventuali loro popolazioni





**Grazie per l'attenzione**