



Unione Europea

Fondo europeo agricolo

per lo sviluppo rurale

L'Europa investe nelle zone rurali



Assessorato Agricoltura



Programma
di Sviluppo Rurale
PSR CAMPANIA
2007/2013
Misura 111



Unità di Ricerca
per la Frutticoltura

RECUPERO E VALORIZZAZIONE DELLE MELE IRPINE

**PROGETTO REGIONALE
“FRUTTA ANTICA D’IRPINIA”**



Prima Relazione sui risultati ottenuti



Fondo europeo agricolo

per lo sviluppo rurale

L'Europa investe nelle zone rurali

Unione Europea



Assessorato Agricoltura



Programma
di Sviluppo Rurale
PSR CAMPANIA
2007/2013
Misura 111



Unità di Ricerca
per la Frutticoltura

RECUPERO E VALORIZZAZIONE DELLE MELE IRPINE

Testi a cura di:

Milena Petriccione *CRA-Unità di ricerca per la Frutticoltura di Caserta*

Pietro Rega *CRA-Unità di ricerca per la Frutticoltura di Caserta*

Luca Branca *Regione Campania Stapa-Cepica di Avellino*

PROGETTO REGIONALE “FRUTTA ANTICA D’IRPINIA”



Prima Relazione sui risultati ottenuti

Si ringraziano per la collaborazione

I colleghi del SeSIRCA e dello STAPA-CePICA di Avellino:

- Italo Santangelo
- Lalla Rocco
- Nicola Cirino
- Funzionari del Servizio Fitopatologico (Renato Feoli – Peppino Fiore – Francesco e Nicola Casciello – Felice Falco)

I tecnici:

- Ciro Preziosi (Avellino)
- Paolo Fiore Nittolo (Grottolella)
- Raffaele Iuorio (Torella dei Lombardi)
- Dante Della Porta (Montemiletto)
- Giovanni Storti (Paternopoli)
- Carlo Barone (Serino)
- Soccorso Gambale (Castelfranci)
- Franco Soriano (Lioni)
- Michele Masuccio (Ariano Irpino)

I “custodi della biodiversità”:

- Frati Francescani Minori Conventuali (San Francesco a Folloni - Montella)
- Dina Imperiale (Vulturara Irpina)
- Brunella Nigro (Grottolella)
- Angelo Conte (Grottolella)
- Leonardo e Maria Rachele Branca (Bagnoli Irpino)
- Donato Cassese (Sant’ Andrea di Conza)
- Donato Garro (Sant’ Andrea di Conza)
- Antonio Fraschini (Sant’ Andrea di Conza)
- Peppe Beatrice (Bonito)
- Antonio Masuccio (Ariano Irpino)
- Vincenzo Fiorentino (Paternopoli)
- Adelina Molettieri (Montemarano)
- Fiorenza e Francesca Russo (Aiello del Sabato)
- Pino Nardone (Pietradefusi)
- Antonio Prudente (Nusco)

Coordinamento editoriale:

Italo Santangelo e Lucia Coletta, *Regione Campania SeSIRCA*

SOMMARIO

Presentazione	5
Premessa	6
Il Progetto “Frutta Antica D’Irpinia”	7
INDIVIDUAZIONE E CARATTERIZZAZIONE FENO-POMOLOGICA DELLE ACCESSIONI DI MELO NEL TERRITORIO IRPINO	9
Introduzione	10
Materiali e metodi	12
Risultati e discussioni	13
Descrizione feno-pomologica	14
Bianca di Grottolella	14
Capo di Ciuccio, Renetta di Serino, Melone, Cucuzzara (sinonimi di Renetta del Canada)	15
Limoncella	16
Sergente	17
Chianella	18
Cichella o Cichedda	19
Mela Rosa	20
Zitella	21
Cassanese	22
Rossa di Volturara	23
Mela Arancio o Purtuallo	24
Fierro	25
Suricillo	26
Genovese o Culo di Monaco	27
Gentile	28
Cravanella	29
Barile	30
Mela Jelata o Gelata	31
Mela Rosa di Serino	32
Altre varietà censite	33
Conclusioni	33
Bibliografia	34
PROVE PRELIMINARI SULL’ATTITUDINE ALLA FRIGO-CONSERVAZIONE DI ALCUNE ACCESSIONI DI MELO	35
Introduzione	36
Materiali e metodi	36
Risultati e discussioni	37
Conclusioni	41

Bibliografia	42
CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DELLE ACCESSIONI DI MELO MEDIANTE L'UTILIZZO DI MICROSATELLITI (<i>SIMPLE SEQUENCE REPEAT</i>)	43
Introduzione	44
Materiali e metodi	44
Estrazione del DNA e amplificazione	44
Valutazione del polimorfismo ed analisi dei dati	46
Risultati e discussioni	46
Polimorfismo degli SSR	46
Identificazione delle accessioni e delle cultivar	46
Conclusioni	48
Bibliografia	48
ANALISI DEL CONTENUTO DI PROTEINE SOLUBILI PRESENTI NELLE ACCESSIONI DI MELO E VALUTAZIONE DEI POTENZIALI ALLERGENI	51
Introduzione	52
Materiali e metodi	53
Risultati e discussioni	53
Conclusioni	57
Bibliografia	57
MESSA A PUNTO DI PROTOCOLLI PER LA MICROPROPAGAZIONE DI MELE IRPINE	59
Introduzione	60
Materiali e metodi	60
Risultati e discussioni	60
Conclusioni	62
Bibliografia	62
Presentazione dei risultati	63

Presentazione

La strategia di sviluppo che si è messa in atto negli ultimi anni in agricoltura è legata soprattutto alla valorizzazione in generale delle risorse genetiche autoctone e alla diffusione dei processi di sostenibilità ambientale. L'obiettivo che ci si è posti è soprattutto quello di fare in modo che la biodiversità collegata all'agricoltura possa contribuire allo sviluppo delle aree rurali, soprattutto di quelle più marginali.

Tutela della biodiversità quindi, ma in un'ottica di recupero complessivo del territorio, ove l'agricoltura possa recitare sempre più un ruolo fondamentale in termini di sviluppo sostenibile e crescita economica delle popolazioni rurali.

Il lavoro di studio, censimento, recupero e caratterizzazione delle risorse genetiche locali si è andato sviluppando in Campania in tutti i comparti, con accentuazione particolare per la viticoltura, olivicoltura, orticoltura e frutticoltura.

La frutticoltura campana per decenni è stata caratterizzata da modelli di coltivazione tradizionale associati alla conservazione di un vastissimo patrimonio varietale, tramandato per generazioni. Il progressivo rinnovamento degli impianti produttivi ha portato, col tempo, ad un'inevitabile modificazione anche dell'assetto varietale per l'introduzione, spesso incontrollata, di nuovo materiale genetico proveniente da altre realtà produttive.

Ciononostante è ancora vasto il patrimonio di prodotti, di sapori e di colori che caratterizza la frutticoltura campana e che ne rappresenta anche la sua principale ricchezza. Un patrimonio che ci è stato lasciato dai nostri avi, dalla loro cultura, dalla loro abilità, dalla loro maestria nel riuscire a selezionare la frutta "più buona del mondo".

È pertanto, con grande soddisfazione che ho la possibilità di testimoniare la più completa condivisione del Progetto "Frutta Antica d'Irpinia", del quale il presente volume presenta i primi risultati del lavoro di catalogazione degli ecotipi recuperati, in attesa di poter celebrare con altrettanta enfasi il conseguimento degli obiettivi che sono alla base dell'intervento: la possibilità, cioè, per le aziende irpine di poter disporre delle piante delle antiche varietà selezionate, incrementando così l'offerta di prodotti locali ad elevata peculiarità genetica, con l'auspicio che possa esserlo anche sul piano mercantile.

Vito Amendolara
Assessore Regionale all'Agricoltura

Premessa

Nell'ambito del Programma Montagna Viva, Progetto "Frutta Antica d'Irpinia" il CRA-Unità di Ricerca per la Frutticoltura di Caserta in collaborazione con lo STAPA-CePICA di Avellino ha portato avanti cinque linee di ricerca:

- Individuazione e caratterizzazione feno-pomologica delle accessioni di melo rinvenute nel territorio Irpino.
- Prove preliminari sull'attitudine alla frigoconservazione di alcune accessioni di melo.
- Caratterizzazione molecolare delle accessioni di melo mediante l'utilizzo di microsatelliti (*Simple Sequence Repeat*).
- Analisi del contenuto di proteine solubili presenti nelle accessioni di melo e valutazioni dei potenziali allergeni.
- Messa a punto di protocolli per la micropropagazione di mele irpine.

La presente relazione rappresenta la fase conclusiva della prima parte dell'attività svolta nel 2008 e 2009, ovvero l'individuazione e la descrizione di alcune varietà di melo più rappresentative del territorio irpino.

Il Progetto “Frutta Antica D’Irpinia”

Il Progetto nasce, come idea, cogliendo le opportunità offerte dal Programma regionale “*Montagna Viva*”, contenitore programmatico di marketing territoriale della Regione Campania per lo sviluppo dei territori montani, e a seguito di indagini effettuate dai tecnici dello Stapa-Cepica di Avellino sul territorio irpino per l’individuazione di ulteriori prodotti agricoli tradizionali da inserire nell’Elenco Ministeriale di cui al DM 350/99.

Uno sprone a varare un’azione pilota nel campo del recupero del germoplasma frutticolo irpino proviene anche dalle istituzioni locali, in testa il Comune di Grottolella, fortemente sensibilizzate dagli operatori agricoli nel voler valorizzare le antiche mele locali, tra cui la famosa “Mela bianca di Grottolella”.

È così che la Giunta Regionale, su proposta del SeSIRCA, approva e finanzia l’intervento, individuando nello Stapa-Cepica di Avellino il soggetto attuatore e nel CRA-Unità di Ricerca per la Frutticoltura di Caserta la struttura cui affidare il coordinamento scientifico dell’attività.

L’intervento trova i suoi punti di forza:

- sulla presenza, in Irpinia, di una frutticoltura fatta di specie e varietà tipiche, soprattutto di mele, pere e ciliegie, ad elevata qualità organolettica e spiccata peculiarità genetica;
- sulla rilevanza economica ed occupazionale che dette produzioni possono rivestire, all’interno del paniere dei prodotti tipici di nicchia.

Il Progetto si articola in fasi di lavoro, secondo un cronoprogramma concordato dalle strutture regionali con il CRA-FRC, che in sostanza prevedono:

- il censimento, la caratterizzazione e il recupero delle accessioni presenti sul territorio, selezionate attraverso un’indagine preliminare fatta dai tecnici regionali;
- la riproduzione vivaistica degli ecotipi ritenuti di maggior interesse, per poter disporre di sufficiente materiale di propagazione da reimpiantare nei luoghi di origine;
- la realizzazione di campi dimostrativi presso le aziende interessate od anche la distribuzione di piante agli operatori che ne avessero fatto richiesta (soprattutto aziende agrituristiche);
- azioni di consulenza aziendale, da parte dei divulgatori agricoli, sulle tecniche colturali più idonee per la gestione dei frutteti impiantati, con prelazione sui metodi ecosostenibili;
- azioni di promozione e marketing sulle produzioni ottenute, con il coinvolgimento delle organizzazioni di categoria e attraverso la costituzione di un soggetto associativo volontario tra i produttori, disposto a gestire la fase commerciale e l’uso del marchio. Intorno a tale attività la Regione intende anche finanziare la realizzazione di un packaging funzionale ed attraente che veicoli la specificità del prodotto e le sue caratteristiche intrinseche.

Nel primo periodo di attività del Progetto, la ricerca ha riguardato il cospicuo patrimonio genetico delle mele irpine, concentrandosi su alcuni parametri tecnico-analitici in grado di caratterizzare i biotipi censiti, successivamente l'attività sarà estesa anche al ciliegio dolce e al pero.

Il presente volume riporta, quindi, i risultati dell'attività tecnico-scientifica riferita agli ecotipi di Melo studiati sinora.

In chiusura, sia consentito un doveroso ringraziamento al collega Luca Branca, funzionario dello Stapa-Cepica di Avellino, che con dedizione e competenza ha organizzato il lavoro sul territorio e che ha reso possibile il conseguimento dei risultati presentati nel presente volume.

Italo Santangelo

**INDIVIDUAZIONE E CARATTERIZZAZIONE FENO-POMOLOGICA
DELLE ACCESSIONI DI MELO NEL TERRITORIO IRPINO**



INDIVIDUAZIONE E CARATTERIZZAZIONE FENO-POMOLOGICA DELLE ACCESSIONI DI MELO NEL TERRITORIO IRPINO

PETRICCIONE M.¹, SCOGNAMIGLIO G.¹, BRANCA L.², TARTAGLIA A.², REGA. P.¹

1 CRA - Unità di Ricerca per la Frutticoltura via Torrino, 3 - 81100 Caserta

2 STAPA-CePICA di Avellino - Collina Liguorini - 83100 Avellino

Introduzione

La salvaguardia, lo studio e la valorizzazione della biodiversità, assumono un ruolo importante quali elementi indispensabili per il rilancio dell'agricoltura nelle aree marginali. Le antiche varietà locali costituiscono una preziosa risorsa per il miglioramento genetico e possono contribuire alla tipicizzazione delle produzioni di un territorio, soddisfacendo una consolidata fascia di consumatori orientata verso cibi naturali che evocano natura ambienti incontaminati e antichi sapori. La tutela della biodiversità attraverso il recupero del prezioso germoplasma autoctono e la reintroduzione nel suo luogo di origine ci ha stimolato a iniziare uno studio sulle antiche varietà delle diverse specie frutticole. Con questa ricerca si vuole rimarcare il carattere locale, di settore, affidato a questa particolare frutticoltura le cui produzioni vogliono essere complementari a quelle destinate alla grande distribuzione e rivolte al sostegno economico delle zone montane e pedemontane accostate al turismo enogastronomico.

L'obiettivo della sperimentazione dunque, deve essere quello di raggiungere un livello di conoscenza tale da poter avviare in queste aree una frutticoltura di montagna basata su antiche cultivar locali. Il CRA-FRC di Caserta e lo STAPA CePICA di Avellino da sempre attenti a queste problematiche hanno iniziato a censire e a raccogliere sul territorio informazioni su vecchie piante da frutto in particolare melo. E' stata così avviata una ricerca volta ad individuare le antiche varietà presenti sul territorio irpino (Fig.1) ed in particolare sono state considerate alcune aree melicole come quella di Grottolella e di Serino. Nel Comune di Grottolella sono tuttora presenti i residui di impianti vetusti della varietà Bianca di Grottolella (Fig. 2); qui la coltivazione del melo era fiorente e le produzioni venivano esportate, questo fino agli anni cinquanta quando i mutati indirizzi delle produzioni agricole e la repentina caduta delle esportazioni portò al totale abbandono dei meleti.

Lo stesso destino è toccato al Serinese dove venivano coltivate varietà quali: Fierro, Mela Arancio o Purtuallo, Mela Rosa, Genovese o Culo di Monaco e la Renetta di Serino (sinonimo di Renetta del Canada); qui però la coltivazione non era specializzata ma di tipo promiscuo, associata cioè ad altre specie sia erbacee che arboree. Altre varietà sono presenti sul territorio, in particolare sono stati rinvenuti nell'areale di Volturara Irpina vecchissimi esemplari sopravvissuti di alberi delle varietà Limoncella, Chianella, Cassanese, Capo di Ciuccio e Suricillo nella vallata, in terreni destinati a pascolo o alla coltivazione di essenze foraggiere. I frutti migliori venivano e vengono tuttora utilizzati per il consumo fresco o trasformati: frutta

secca, succhi e sidro; quelli cascolati o di scarto per l'alimentazione del bestiame, ciò a dimostrazione di come sia possibile la coesistenza di questi antichi alberi da frutto e l'attività zootecnica di cui possono considerarsi parte integrante nel rispetto dell'ambiente e nella salvaguardia della biodiversità; tema, questo, tanto discusso quanto sentito dalla società moderna e fonte da cui attingere per programmi di miglioramento genetico. Tutto il materiale rinvenuto si presume sia stato innestato su meli spontanei locali come del resto è stato possibile accertare intervistando vecchi agricoltori del posto.

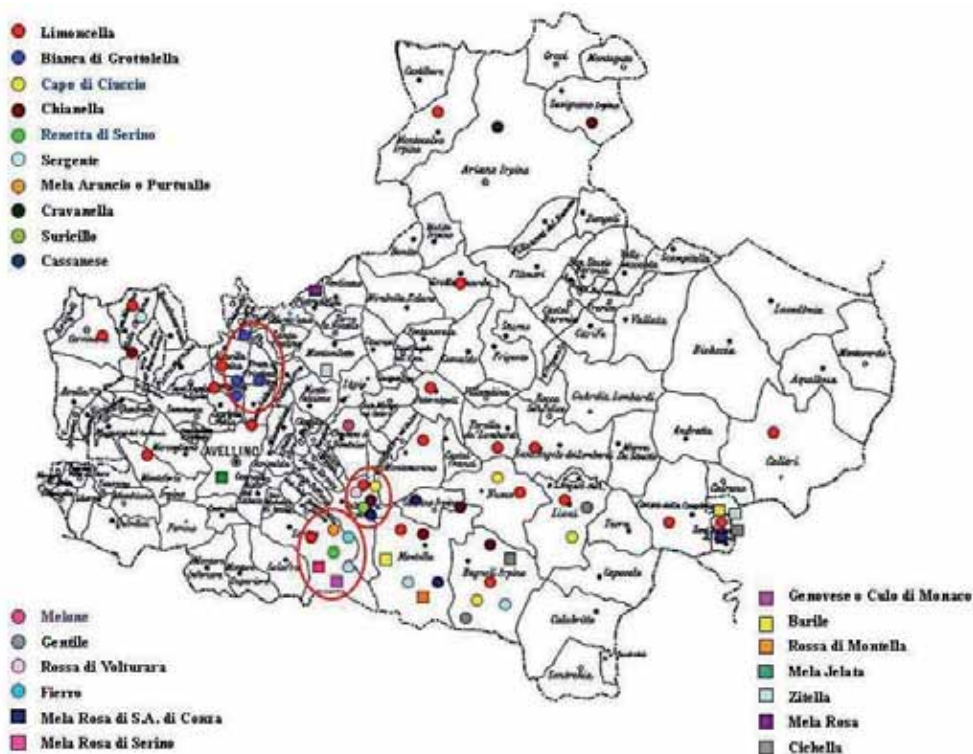


Fig. 1 - Distribuzione delle varietà sul territorio.



Fig. 2 - Vecchio impianto della varietà Bianca di Grottolella.



Fig. 3

Materiali e metodi

Gli alberi di melo delle diverse accessioni sono stati censiti sull'intero territorio irpino e su di essi sono stati effettuati i rilievi fenologici. Sui frutti raccolti da ogni varietà sono state effettuate le analisi pomologiche e sono state compilate apposite schede di valutazione. Sono, inoltre, stati determinati i parametri fisico-chimici quali durezza (determinata con penetrometro digitale con puntale da 11 mm, Fig. 3), solidi solubili espressi come % di °Brix (mediante rifrattometro digitale Fig. 4) e contenuto di acidi totali espressi come grammi/litro di acido malico, mediante titolazione con NaOH 0,1N.

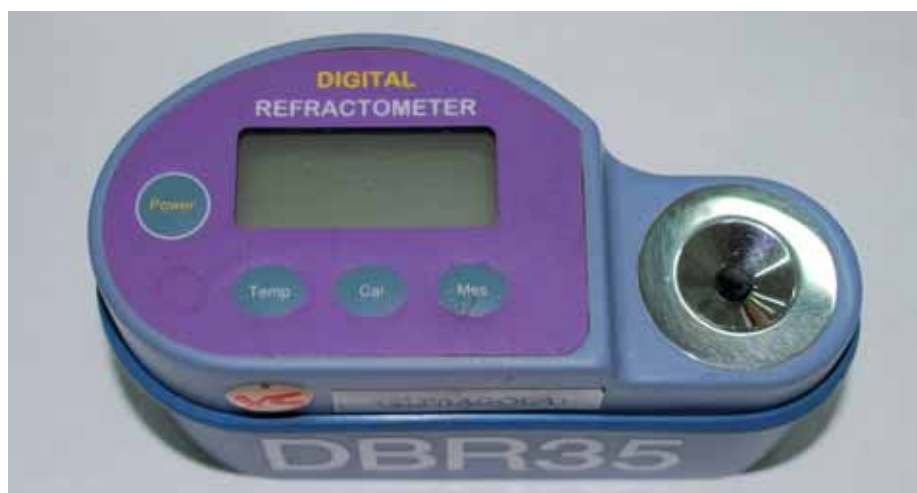


Fig. 4

Risultati e discussioni

Le accessioni reperite e censite sono state brevemente descritte, generalmente si tratta di piante spontanee che non hanno subito alcun intervento da parte dell'uomo eccezione fatta per qualche sporadica potatura, per cui è risultato difficile valutare la pezzatura e la costanza produttiva. La raccolta dei frutti è risultata difficoltosa e spesso la quantità non è stata sufficiente per effettuare tutte le osservazioni previste.

Da informazioni acquisite sul territorio e da osservazioni effettuate negli anni precedenti al Progetto alcune varietà si presumeva fossero simili tra loro e in qualche caso addirittura uguali ad altre ancora esistenti in commercio, per chiarire sinonimie e omonimie si è provveduto ad effettuare l'analisi del genoma attraverso i microsatelliti.

Attualmente le sinonimie e omonimie possono essere superate attraverso l'uso della genetica molecolare, ma ciò non deve ingenerare confusioni perché, probabilmente, quando si tratta di varietà come Renetta di Serino, che in realtà è Capo di Ciuccio, presente a Serino da tempo immemorabile può essere considerata come ecotipo e mantenere il nome locale anche per accentuare il concetto di genotipo autoctono ed esaltarne il legame con il territorio.

BIANCA DI GROTTOLELLA



Zona di reperto: presente particolarmente nei Comuni di Grottolella, Altavilla Irpina, Montefredane e Capriglia Irpina.

Albero: vigoria media, portamento semiaperto, fruttificazione elevata e costante.

Fioritura: tardiva.

Frutto: medio, peso medio (110-130g); di forma leggermente appiattita, leggermente asimmetrico in senso longitudinale, simmetrico in senso trasversale; peduncolo breve e spesso, cavità peduncolare profonda e stretta; cavità calicina poco profonda, calice e tubo calicino chiusi; buccia poco cerosa, di colore giallo talvolta sfaccettata di rosso chiaro, con lenticelle piccole ma evidenti e rugginose; polpa bianca, tenera a maturazione, aromatica e dal buon sapore.

Resistenza alle manipolazioni: buona.

Cascola preraccolta: elevata, accentuata notevolmente dalla brevità del peduncolo.

Produttività: elevata.

Epoca di raccolta: si raccoglie tra la II^a- III^a decade di ottobre.

Durezza kg/cm²: 7,55 - **RSR °Brix:** 12,69 - **Acidità g/l acido malico:** 4,3

Giudizio: cultivar mediamente sensibile a ticchiolatura poco a oidio, i frutti a volte sono soggetti a leggera rugginosità e mediamente serbevoli; in passato si usava conservarli in fruttai (bagnandoli ogni tanto) dove maturavano verso la fine di novembre e si conservavano fino ad aprile.

**CAPO DI CIUCCIO, RENETTA DI SERINO, MELONE, CUCUZZARA
(SINONIMI DI RENETTA DEL CANADA)**



Zona di reperimento: Serino: **Renetta di Serino**; Chiusano di S. Domenico: **Melone**; Nusco, Bagnoli Irpino, Lioni e Volturara Irpina: **Capo di Ciuccio**; Montemiletto: **Cucuzzara**.

Albero: vigoroso, espanso e di lenta messa a frutto; produce su legno vecchio. Mediamente sensibile alla ticchiolatura.

Epoca di fioritura: tardiva.

Frutto: grosso, peso medio 194g (con frutti anche di oltre 250g); di forma tronco-conico breve, leggermente appiattito e con profilo equatoriale irregolare e appena costoluto; peduncolo breve e di medio spessore cavità peduncolare profonda e ampia; cavità calicina mediamente profonda con calice e tubo calicino chiusi; buccia giallo-verdastra a volte appena sfaccettata di rosso all'insolazione, con lenticelle grandi e suberose, che la rendono un po' rugosa al tatto; la polpa è di colore giallognolo a maturazione, tenera, fondente, poco succosa, dolce acidula, aromatica e dalle buone qualità gustative.

Resistenza alle manipolazioni: discreta.

Cascola preraccolta: elevata accentuata dal peduncolo corto.

Produttività: buona.

Epoca di raccolta: III^a decade di settembre - I^a decade di ottobre.

Durezza kg/cm²: 6,5 - **RSR °Brix:** 13,96 - **Acidità g/l acido malico:** 5,02

Giudizio: cultivar adatta agli ambienti collinari e montani dove esprime al meglio le sue caratteristiche qualitative. Il prodotto oltre ad essere ottimo per il consumo fresco è idoneo per la preparazione di dolci e piatti particolari.

LIMONCELLA



Zona di reperimento: antica cultivar da tempo conosciuta nelle regioni meridionali presente in quasi tutti comuni della provincia di Avellino, in particolare a Volturara Irpina dove sono stati rinvenuti alberi molto vecchi.

Albero: mediamente vigoroso o vigoroso a portamento assurgente, di lenta messa a frutto e sensibile alla ticchiolatura.

Epoca di fioritura: tardiva.

Frutto: piccolo, peso medio (100-110g); di forma ellissoidale quasi cilindrica, asimmetrica o leggermente asimmetrica; peduncolo corto e spesso; cavità peduncolare stretta, mediamente profonda o profonda generalmente soggetta a rugginosità; cavità calicina mediamente ampia e mediamente profonda con calice medio-piccolo, semiaperto; buccia di spessore medio, gialla a maturazione, generalmente ruvida, leggermente cerosa e con numerose lenticelle rugginose; polpa bianca, mediamente compatta, mediamente succosa, dolce o leggermente acidula.

Resistenza alle manipolazioni: media.

Cascola preraccolta: medio-elevata.

Produttività: buona ma a volte alternante.

Epoca di raccolta: III decade di settembre, I decade di ottobre.

Durezza kg/cm²: 7,67 - **RSR °Brix:** 14,7 - **Acidità g/l acido malico:** 7

Giudizio: cultivar molto diffusa nel territorio irpino e presente in quasi tutti i comuni, esprime al meglio le sue caratteristiche organolettiche quando i frutti sono ben maturi, nel momento in cui il colore della buccia vira dal verde al giallo.

SERGE



Zona di reperimento: Bagnoli Irpino, Serino e San Martino Valle Caudina. Antica varietà conosciuta nelle aree di coltivazione dell'Annurca.

Albero: molto vigoroso a portamento intermedio, poi espanso, di lenta messa a frutto, sensibile alla ticchiolatura.

Epoca di fioritura: tardiva.

Frutto: medio piccolo (100-110g); di forma eterogenea, appiattita o sferoidale, simmetrica; peduncolo corto di spessore medio; cavità peduncolare acuta, mediamente ampia e poco profonda, rugginosa; cavità calicina ampia o mediamente ampia, poco profonda con calice medio semiaperto; buccia di spessore medio di colore giallo-verde soffusa di rosso striato su circa il 40-80% della superficie; polpa bianca, compatta, poco croccante, mediamente succosa e mediamente dolce, poco aromatica e di qualità media.

Resistenza alle manipolazioni: buona.

Cascola preraccolta: media.

Produttività: buona.

Epoca di raccolta: III^a decade di settembre - I^a decade di ottobre.

Durezza kg/cm²: 11,1 - ***RSR °Brix:*** 13.48 - ***Acidità g/l acido malico:*** 7.87.

Giudizio: cultivar presente nelle aree di coltivazione dell'Annurca dove veniva usata come impollinatore, poco presente nell'areale avellinese, il frutto non ha particolari peculiarità; il sapore è medio, la pezzatura buona nelle piante in normale coltivazione, piccola in quelle individuate a Bagnoli Irpino e Serino.

CHIANELLA



Zona di reperimento: Bagnoli Irpino, Volturara Irpina, Montella, San Martino Valle Caudina e Savignano Irpino.

Albero: vigoroso a portamento espanso poco sensibile a ticchiolatura e oidio.

Epoca di fioritura: tardiva.

Frutto: medio piccolo (110-120g); di forma appiattita, asimmetrico sia in senso longitudinale che trasversale, cavità peduncolare ampia e profonda, peduncolo corto di spessore medio; cavità calicina mediamente profonda, calice chiuso, tubo calicino chiuso; buccia di medio spessore, di colore giallo verde e sovraccolore rosso brillante con forti striature a banda larga; poca rugginosità, di tipo fine localizzata alla cavità peduncolare; polpa bianca, compatta, succosa e di buon sapore.

Resistenza alle manipolazioni: ottima.

Cascola preraccolta: elevata, accentuata notevolmente dalla brevità del peduncolo.

Produttività: elevata.

Epoca di raccolta: II^a – III^a decade di ottobre.

Durezza kg/cm²: 9,1 - **RSR °Brix:** 14,64 - **Acidità g/l acido malico:** 7,37.

Giudizio: buone le caratteristiche organolettiche del frutto con una maggiore percezione degli zuccheri in confronto agli acidi, polpa soda e compatta che le conferisce una elevata resistenza alle manipolazioni.

CICHELLA o CICHEDDA



Zona di reperimento: individuata nei Comuni di S. Andrea di Conza e Bagnoli Irpino.

Albero: vigoria media, portamento semiaperto, fruttificazione elevata e alternante.

Fioritura: tardiva.

Frutto: piccolo, peso medio (50-60g); di forma leggermente cilindrica, leggermente asimmetrico in senso longitudinale, simmetrico in senso trasversale; peduncolo breve e spesso, cavità peduncolare superficiale; cavità calicina poco profonda, calice e tubo calicino chiusi; buccia liscia poco cerosa, di colore giallo talvolta sfaccettata di rosso chiaro brillante con lenticelle piccole poco evidenti; polpa fine, croccante e poco succosa.

Resistenza alle manipolazioni: buona.

Cascia preraccolta: elevata, accentuata notevolmente dalla brevità del peduncolo.

Produttività: elevata.

Epoca di raccolta: si raccoglie tra la III^a decade di settembre e la I^a decade di ottobre.

Durezza kg/cm²: 7,55 - **RSR °Brix:** 9,4 - **Acidità g/l acido malico:** 6,85.

Giudizio: cultivar mediamente sensibile a ticchiolatura poco a oidio, frutti di pezzatura molto piccola e di scarso sapore.

MELA ROSA



Zona di reperimento: individuata nel Comune di Pietradefusi e nel versante beneventano a San Nazzaro.

Albero: tipo semispur, vigoria media, portamento semiaperto, fruttificazione elevata e costante.

Fioritura: tardiva.

Frutto: medio-piccolo, peso medio (100-110g); di forma leggermente appiattita, leggermente asimmetrico in senso longitudinale, simmetrico in senso trasversale; peduncolo breve e spesso, cavità peduncolare ampia e profonda; cavità calicina poco profonda, calice e tubo calicino chiusi; buccia liscia mediamente cerosa, di colore giallo-verde sfaccettata di rosso chiaro brillante con lenticelle piccole poco evidenti; polpa bianca, fine, croccante e succosa.

Resistenza alle manipolazioni: buona.

Cascola pre raccolta: elevata, accentuata notevolmente dalla brevità del peduncolo.

Produttività: elevata.

Epoca di raccolta: si raccoglie tra la I^a e la II^a decade di ottobre.

Durezza kg/cm²: 6,62 - **RSR °Brix:** 12,4 - **Acidità g/l acido malico:** 4.

Giudizio: cultivar poco sensibile a ticchiolatura e oidio, frutti di pezzatura medio-piccola dall'aspetto gradevole e di ottimo sapore; a volte può presentare danni di scottatura da sole.

ZITELLA



Zona di reperimento: individuata nei Comuni di Sant'Andrea di Conza e Montemiletto ma presente anche in altre aree della dorsale appenninica campana.

Albero: tipo semispur, vigoria media, portamento semiaperto, fruttificazione elevata e costante.

Fioritura: medio-tardiva.

Frutto: di media pezzatura, peso medio (150-160g); di forma tronco-conica breve o leggermente appiattita, leggermente asimmetrico sia in senso longitudinale che trasversale; peduncolo breve di medio spessore, cavità peduncolare ampia e profonda; cavità calicina poco profonda, calice e tubo calicino chiusi; buccia liscia cerosa, di colore giallo-verde con leggero sovraccolore rosso slavato, lenticelle piccole e poco evidenti; polpa bianca, fine, croccante e molto succosa.

Resistenza alle manipolazioni: buona.

Cascola preraccolta: elevata, accentuata notevolmente dalla brevità del peduncolo.

Produttività: elevata.

Epoca di raccolta: si raccoglie tra la II^a e la III^a decade di settembre.

Durezza kg/cm²: 9,1 - **RSR °Brix:** 10,5 - **Acidità g/l acido malico:** 2,68.

Giudizio: cultivar sensibile a ticchiolatura, frutti di media pezzatura con buone caratteristiche organolettiche.

CASSANESE



Zona di reperimento: Volturara Irpina, Cassano Irpino e Montella (sinonimo Rossa di Montella).

Albero: Albero di vigoria medio-elevata sensibile a ticchiolatura, poco all'oidio a portamento espanso; fruttifica principalmente su lamburde ma anche su brindilli e rami misti.

Epoca di fioritura: tardiva.

Frutto: piccolo (50-60g); di forma appiattita, simmetrico sia in senso longitudinale che trasversale; cavità peduncolare profonda e ampia, peduncolo corto e di medio spessore; cavità calicina mediamente profonda con calice e tubo calicino chiusi; buccia giallo-verde con sovraccolore rosso brillante striato che spesso interessa anche gli strati di polpa più superficiali; polpa bianca di tessitura grossolana, soda, succosa e di buon sapore.

Resistenza alle manipolazioni: buona.

Cascola preraccolta: media.

Produttività: elevata.

Epoca di raccolta: III decade di ottobre, I decade di novembre.

Durezza kg/cm²: 7,63 - **RSR °Brix:** 15,32 - **Acidità g/l acido malico:** 10,05.

Giudizio: buono l'aspetto del frutto e le caratteristiche organolettiche della polpa con una elevata percezione dell'acido, pezzatura piccola.

ROSSA DI VOLTURARA



Zona di reperimento: Volturara Irpina.

Albero: di media vigoria a portamento assurgente.

Epoca di fioritura: tardiva.

Frutto: piccolo (50-60g); di forma quasi cilindrica con lobi appena pronunciati; cavità peduncolare profonda e stretta con peduncolo breve di medio spessore; cavità calicina profonda con calice e tubo calicino chiusi; buccia giallo-verde con sovracoloro rosso brillante striato su quasi tutta la superficie; polpa verdastra, grossolana, soda ma non croccante, di scarso sapore.

Resistenza alle manipolazioni: buona.

Cascola preraccolta: media.

Produttività: buona.

Epoca di raccolta: II^a decade di ottobre.

Durezza kg/cm²: 9,91 - ***RSR °Brix:*** 11,1 - ***Acidità g/l acido malico:*** 7,4.

Giudizio: frutti piccoli di forma e aspetto simili a quelli del gruppo Stark, mediocri le caratteristiche organolettiche (frutti poco maturi sono leggermente astringenti) ottimo il colore per estensione e brillantezza, caratteristiche organolettiche mediocri.

MELA ARANCIO O PURTUALLO



Zona di reperimento: Serino.

Albero: di media vigoria a portamento tendenzialmente assurgente, produce principalmente su lamburde e rami misti.

Epoca di fioritura: tardiva.

Frutto: medio piccolo, peso medio (110-120g), di forma sferoidale, cavità peduncolare superficiale e ampia con peduncolo breve e di medio spessore; cavità calicina mediamente profonda, ampia, con leggera rugginosità; calice e tubo calicino chiusi; buccia giallo-verde, giallo intenso a maturazione; polpa bianca, croccante e succosa.

Resistenza alle manipolazioni: buona.

Cascola preraccolta: media.

Produttività: buona.

Epoca di raccolta: III^a dec. di settembre – I^a dec. di ottobre.

Durezza kg/cm²: 7,58 - ***RSR °Brix:*** 11,23- ***Acidità g/l acido malico:*** 4.

Giudizio: varietà con frutti quasi esenti da rugginosità con buccia giallo-verde, giallo intenso a completa maturazione (da cui, forse, il nome) di mediocre qualità, sensibile al riscaldamento superficiale in frigo-conservazione.

FIERRO



Zona di reperimento: Serino.

Albero: di media vigoria a portamento assurgente, produce principalmente su lamburde portate da legno vecchio.

Epoca di fioritura: tardiva.

Frutto: medio piccolo, peso medio (100-110g), di forma piatta, cavità peduncolare superficiale e ampia con peduncolo breve e di medio spessore; cavità calicina mediamente profonda, ampia, con leggera rugginosità; calice e tubo calicino chiusi; buccia giallo-verde con sovraccolore rosso slavato a faccetta polpa bianca, croccante e succosa.

Resistenza alle manipolazioni: buona.

Cascola preraccolta: media.

Produttività: buona.

Epoca di raccolta: II^a dec. di ottobre.

Durezza kg/cm²: 7,2 - ***RSR °Brix:*** 13,4- ***Acidità g/l acido malico:*** 3,35.

Giudizio: varietà con buona produttività, frutti mediamente rugginosi, pezzatura piccola e presenza di vitrescenza; sapore gradevole a maturazione.

SURICILLO



Zona di reperimento: Volturara Irpina.

Albero: di vigoria medio-elevata a portamento espanso, fruttifica principalmente su lamburde.

Epoca di fioritura: tardiva.

Frutto: piccolo (60-70 g); di forma tronco-conico breve; cavità peduncolare profonda e ampia, peduncolo di medio spessore e mediamente lungo; cavità calicina mediamente profonda con calice e tubo calicino chiusi; buccia giallo-verde con leggero sovraccolore che va verso il rosso arancio a faccetta; polpa leggermente grossolana, soda, succosa e di discreto sapore.

Resistenza alle manipolazioni: elevata

Cascola preraccolta: praticamente nulla.

Produttività: elevata.

Epoca di raccolta: II^a - III^a decade di ottobre.

Durezza kg/cm²: 8.46 - ***RSR °Brix:*** 13-8 - ***Acidità g/l acido malico:*** 6.36.

Giudizio: buono l'aspetto, la consistenza del frutto e il sapore della polpa con gusto equilibrato che infonde senso di freschezza, pezzatura piccola.

GENOVESE O CULO DI MONACO



Zona di reperimento: Serino.

Albero: di elevata vigoria a portamento espanso, fruttifica principalmente su lamburde portate da legno vecchio.

Epoca di fioritura: medio-tardiva.

Frutto: medio piccolo (90-100g); di forma tronco-conico oblunga, asimmetrici in senso longitudinale; cavità peduncolare profonda, stretta, con peduncolo corto di medio spessore; cavità calicina mediamente profonda con calice e tubo calicino chiusi; cavità peduncolare profonda, stretta, con peduncolo corto di medio spessore; buccia di colore verde con una piccola percentuale di sovraccolore rosa-rosso striato; polpa bianca con tessitura grossolana, soda, succosa, di discreto sapore.

Resistenza alle manipolazioni: elevata.

Cascola preraccolta: media.

Produttività: elevata.

Epoca di raccolta: II^a decade di ottobre.

Durezza kg/cm²: 7,57 - ***RSR °Brix:*** 12,38 - ***Acidità g/l acido malico:*** 2,68.

Giudizio: poco attraente l'aspetto del frutto, pezzatura piccola, discrete le caratteristiche organolettiche con leggera percezione dell'acido.

GENTILE



Zona di reperimento: Bagnoli Irpino e Lioni.

Albero: di vigoria medio-elevata a portamento espanso, fruttifica principalmente su lamburde e rami misti.

Epoca di fioritura: medio-tardiva.

Frutto: medio-piccolo, peso medio (100-110g); di forma tronco-conico breve, asimmetrici in senso longitudinale; cavità peduncolare profonda e ampia con peduncolo di media lunghezza e medio spessore; cavità calicina mediamente profonda con calice e tubo calicino chiusi; buccia di colore giallo-verde con una sovraccolore rosso brillante striato su circa $\frac{1}{4}$ della superficie; polpa bianca fine, poco succosa dal sapore mediocre.

Resistenza alle manipolazioni: buona.

Cascola preraccolta: media.

Produttività: elevata.

Epoca di raccolta: II^a decade di settembre.

Durezza kg/cm²: 6,46 - **RSR °Brix:** 12,56 - **Acidità g/l acido malico:** 3.35.

Giudizio: polpa non soda ma leggermente croccante alla raccolta, sapore buono alla raccolta con gusto che infonde un senso di freschezza ma che peggiora nel corso della conservazione frigorifera acquisendo un retrogusto leggermente sgradevole, diminuisce anche la consistenza della polpa che diventa fondente.

CRAVANELLA



Zona di reperimento: Ariano Irpino.

Albero: di vigoria medio-scarso a portamento espanso, fruttifica principalmente su lamburde portate da legno vecchio.

Epoca di fioritura: medio-tardiva.

Frutto: piccolo, peso medio (45-50 g); di forma tronco-conico oblunga, simmetrico sia in senso longitudinale che trasversale; cavità peduncolare profonda e stretta con peduncolo di media lunghezza e medio spessore; cavità calicina mediamente profonda con calice e tubo calicino chiusi; buccia di colore verde chiaro; polpa verdastra, fine, succosa dal sapore mediocre a maturazione.

Resistenza alle manipolazioni: buona.

Cascola preraccolta: media.

Produttività: medio-elevata.

Epoca di raccolta: II^a decade di ottobre.

Durezza kg/cm²: 7,39 - ***RSR °Brix:*** 12,3 - ***Acidità g/l acido malico:*** 10,05.

Giudizio: frutti piccoli con caratteristiche organolettiche medie, interessante a completa maturazione.

BARILE



Zona di reperimento: Sant'Andrea di Conza.

Albero: albero standard, mediamente vigoroso che fruttifica prevalentemente su lamburde.

Epoca di fioritura: medio-tardiva.

Frutto: medio-piccolo, peso medio (85-90 g); di forma cilindrica, molto asimmetrico in senso longitudinale e asimmetrico in senso trasversale; cavità peduncolare profonda e stretta con peduncolo di media lunghezza e medio spessore; cavità calicina mediamente profonda con calice e tubo calicino chiusi; buccia di colore giallo-verde con sovraccolore rosso a faccetta; polpa grossolana, soda, succosa dal sapore medio-croccante.

Resistenza alle manipolazioni: buona.

Cascola preraccolta: media.

Produttività: medio-elevata.

Epoca di raccolta: II^a decade di ottobre.

Durezza kg/cm²: 8,4 - **RSR °Brix:** 16,1 - **Acidità g/l acido malico:** 2,3

Giudizio: frutti medio-piccoli con caratteristiche organolettiche discrete, gusto dolce; di discreto interesse.

MELA JELATA O GELATA



Zona di reperimento: Avellino.

Albero: albero standard, mediamente vigoroso che fruttifica prevalentemente su lamburde.

Epoca di fioritura: medio-tardiva.

Frutto: medio, peso medio (140-150g); eterogenea nella forma (sferoidale e ellissoidale), asimmetrico in senso longitudinale e simmetrico in senso trasversale; cavità peduncolare profonda e stretta con peduncolo breve e di medio spessore; cavità calicina mediamente profonda con calice e tubo calicino chiusi; buccia di colore verde chiaro con sovraccolore rosso vinoso; polpa bianca, grossolana, soda, succosa dal sapore mediocre.

Resistenza alle manipolazioni: buona.

Cascola preraccolta: media.

Produttività: media.

Epoca di raccolta: I^a decade di ottobre.

Durezza kg/cm²: 8,7 - ***RSR °Brix:*** 15,0 - ***Acidità g/l acido malico:*** 3,7.

Giudizio: frutti medi con una forte presenza di vitrescenza tipica della varietà, con caratteristiche organolettiche discrete.

MELA ROSA DI SERINO



Zona di reperimento: Serino.

Albero: di vigoria media-elevata a portamento assurgente, produce principalmente su lamburde portate da legno vecchio.

Epoca di fioritura: tardiva.

Frutto: medio piccolo, peso medio (100-110g), di forma piatta, cavità peduncolare superficiale e ampia con peduncolo breve e di medio spessore; cavità calicina mediamente profonda, ampia, con leggera rugginosità; calice e tubo calicino chiusi; buccia verde con sovraccolore rosso slavato a faccetta, polpa bianca, croccante e succosa.

Resistenza alle manipolazioni: buona.

Cascola preraccolta: media.

Produttività: buona.

Epoca di raccolta: II^a dec. di ottobre.

Durezza kg/cm²: 8,26- ***RSR °Brix:*** 15,3- ***Acidità g/l acido malico:*** 7,37.

Giudizio: cultivar mediamente produttiva, frutti poco rugginosi, pezzatura medio piccola, gusto equilibrato nonostante l'elevata acidità.

ALTRE VARIETÀ CENSITE

Oltre alle accessioni descritte sono stati individuati nell'ambito del territorio provinciale 20 biotipi ai quali è stata assegnata la sigla AVMB (AV = Avellino, M = Melo, B = Biotipo):

AVBM 1 (Mela Gialla di S. Francesco a Folloni – Montella), AVMB 2 (Mela Rossa grande di S. Francesco a Folloni - Montella), AVMB 3 (Mela bianca – Volturara Irpina), AVMB 4 (Cora di Ciuccio - Montemiletto), AVMB 5 (Bianca sfusata di Conza – Conza della Campania), AVMB 6 (Mela rosa di S. Andrea – S. Andrea di Conza), AVMB 7 (Mela Fraschini - S. Andrea di Conza), AVMB 8 (Mela giallorossa di S. Francesco a Folloni – Montella), AVMB 9 (Mela rosa di Volturara – Volturara Irpina), AVMB 10 (Mela banana - Montemiletto), AVMB 11 (Mela rossa piccola - S. Francesco a Folloni – Montella), AVMB 12 (Mela rossa di Montemiletto - Montemiletto), AVMB 13 (Mela verde di Montaperto – Montemiletto), AVMB 14 (Mela rossa di Acquasale – Montemiletto). AVMB 15 (Mela rossa di Montaperto – Montemiletto), AVMB 16 (Bianca di Conza – Conza della Campania), AVMB 17 (Mela Gambale - Castelfranci), AVMB 18 (Mela Fiorentino - Paternopoli), AVMB 19 (Mela Barone – Serino), AVMB 20 (Soricillo di Nusco - Nusco).

Conclusioni

Conservare l'agrobiodiversità ha assunto oggi anche un significato più ampio che comprende la valorizzazione dei territori e lo sviluppo economico degli stessi.

Conservare le risorse genetiche agrarie significa non solo mantenere alcune coltivazioni che caratterizzano un territorio ma anche il patrimonio culturale e l'assetto paesaggistico e ecologico ad esse legate (FAO, 2001).

A livello comunitario la tutela ambientale e la sostenibilità dello sviluppo rurale, attraverso anche la tutela della biodiversità, costituiscono gli obiettivi fondamentali dei nuovi orientamenti della politica agricola comunitaria (PAC). Specifiche Direttive Comunitarie garantiscono anche la conservazione *in situ* e l'utilizzo sostenibile di risorse fitogenetiche, ecotipi e varietà naturalmente adattate alle condizioni locali e minacciate da erosione genetica ("varietà da conservazione") tramite la coltivazione e la commercializzazione delle sementi (Planta Europa, 2008).

Le varietà locali sono definite come *“antiche popolazioni costituite ed affermatesi in zone specifiche, in seguito alle disponibilità offerte dall'ambiente naturale e dalle tecniche culturali imposte dall'uomo. Tali materiali sono dotati di un notevole adattamento e rappresentano interessanti fonti di geni per caratteristiche di qualità e produttività in ambienti marginali. Tuttavia, al di fuori dell'area di origine, le varietà locali spesso non reggono il confronto con le moderne varietà”*.

Le varietà locali, a causa della larga base genetica che le contraddistingue possono rappresentare il principale materiale genetico di base per la costituzione di nuove varietà o per il miglioramento di quelle esistenti. Esse costituiscono, pertanto, una fonte primaria ed eccellente di geni utili. Sono coltivate principalmente in ambienti margi-

nali, laddove possono avere una maggiore stabilità e persino essere più produttive di molte varietà moderne. Il concetto di varietà locale, quindi, appare strettamente legato al territorio di origine (bioterritorio) inteso come luogo in cui le varietà locali si sono adattate e caratterizzate nel tempo, grazie all'azione degli agricoltori locali (MiPAAF, 2008).

Bibliografia

Food and Agriculture Organisation (2001). International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome, Italy. (http://www.planttreaty.org/texts_en.htm)

Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali - Dipartimento delle Politiche di Sviluppo Direzione Generale dello Sviluppo Rurale (2008). Piano nazionale sulla biodiversità di interesse agricolo, pp. 62.

Planta Europa (2008). A sustainable Future for Europe; the European Strategy for Plant Conservation 2008-2014. Plantlife International (Salisbury, UK) and the Council of Europe (Strasbourg, France).

Santangelo I., Casato G., Martino A., Falzarano F.(2002). *Salviamo le buone "vecchie" mele*. Campania Agricoltura 4: 3-9.

Autori vari, 1981. *Il melo*.- REDA

Autori vari, 2008. *Il melo*. Bayer Crop Science s.r.l. – Milano

Autori vari, 1997. *Melicoltura di pianura: quale futuro?* Atti Convegno, Verona 12 aprile.

Scaramuzzi E., 1975. *Per la tutela e la conservazione delle risorse genetiche delle specie legnose da frutti*. Ortofrutticoltura Italiana 6.

Bergamini A, Faedi W. (1983). *Monografie di cultivar di melo – volume I*. Istituto Sperimentale per la Frutticoltura Roma.

Bergamini A, Faedi W. (1984). *Monografie di cultivar di melo volume II*. Istituto Sperimentale per la Frutticoltura, Roma.

Della Strada G., Monastra F., Pennone F., Recupero S. (1987). *Monografia di cultivar di melo coltivate in ambienti centro-meridionali con particolare riferimento alla Campania*. Regione Campania e Istituto Sperimentale per la Frutticoltura-Roma, Napoli.

Sansavini S., Bergamini A., Camorani F., Faedi W., Mantinger H. (1986). *Schede per il registro varietale dei fruttiferi – MELO*. Ministero dell'Agricoltura e Foreste, Regione Emilia Romagna. Bologna.

Autori vari (2003). *Monografia Postraccolta*. Progetto finalizzato MiPAF "Frutticoltura" Sottoprogetto Post-raccolta. Coordinamento: Istituto Sperimentale per la Frutticoltura – Roma.

Tonini G. (1996). *Atlante delle alterazioni microrganiche post-raccolta: pomacee e drupacee*. Bayer S.p.A. Milano.

**PROVE PRELIMINARI SULL'ATTITUDINE ALLA
FRIGO-CONSERVAZIONE DI ALCUNE ACCESSIONI DI MELO**

PROVE PRELIMINARI SULL'ATTITUDINE ALLA FRIGO-CONSERVAZIONE DI ALCUNE ACCESSIONI DI MELO

PETRICCIONE M.¹, MIGLIOZZI T.¹, SCOGNAMIGLIO G.¹, BRANCA L.², TARTAGLIA A.², REGA P.¹

1 CRA - Unità di Ricerca per la Frutticoltura, Via Torrino, 3 - 81100 Caserta

2 STAPA-CePICA di Avellino, Collina Liguorini - 83100 Avellino

Introduzione

Il melo è di gran lunga la specie da frutto temperata più importante al mondo, sia per quantità, con circa 60 milioni di tonnellate prodotte annualmente, sia per superficie coltivata superiore a 5 milioni di ettari e diffusione geografica (la coltura è presente in più di 90 Paesi dei 5 continenti).

Le ragioni di un tale successo, che inizia con la creazione dell'uomo, risiedono oltre che nella gradevolezza del frutto assunto a simbolo delle tentazioni umane, nella grande serbevolezza e nella particolare idoneità ai trasporti che hanno fatto della mela uno degli esempi più compiuti di globalizzazione dei mercati. Anche in Italia il melo è il più importante dei fruttiferi temperati con una produzione stabile da anni, di 20-22 milioni di quintali che colloca il nostro Paese ai primi posti in Europa, con Francia e Polonia.

La melicoltura italiana rappresenta anche un positivo esempio di specializzazione territoriale in cui le particolari caratteristiche geopedologiche hanno consentito lo sviluppo di numerosissime accessioni distribuite sull'intero territorio.

Il frutto che noi acquistiamo al mercato, nel negozio, o nei supermercati è infatti solo il prodotto finale di un lungo processo, che parte dalla coltura nei vivai, alla cura nei frutteti, per arrivare alla raccolta ed alla vendita.

Come è noto le mele in passato venivano conservate in assenza di celle frigorifere in cantina, in normali magazzini o in appositi fruttai allestiti all'aperto, di solito la maggioranza delle vecchie varietà di mele tramandateci sono caratterizzate da una elevata conservabilità e spesso hanno bisogno di un periodo di maturazione post raccolta per essere consumate. Consapevoli di ciò si è voluto effettuare una prova di conservazione di alcune delle accessioni di melo reperite sul territorio irpino.

Materiali e metodi

I campioni sono stati prelevati da piante che non hanno subito alcun trattamento antiparassitario, concimazioni o altra pratica agronomica eccezione fatta per qualche sporadico e irrazionale intervento di potatura. Essi sono stati frigoconservati per 150 giorni in cella frigorifera in atmosfera normale a una temperatura di 2°C e umidità relativa (UR) 85-90%.

Le mele sono state selezionate eliminando tutte quelle che presentavano danni da fitofagi (carpocapsa) o traumatici subiti durante le operazioni di raccolta, il campione così selezionato è stato posto in cella per 150 giorni insieme a un campione di Annurca tradizionale (senza arrossare) utilizzato come controllo, ovviamente non è stato

effettuato alcun trattamento con prodotti antitranspiranti, fungicidi o altri prodotti che facilitino la conservazione. Dal campione di ogni varietà è stato prelevato un sub campione di 20 frutti sul quale sono state effettuate le analisi di routine quali: calibro max, peso, durezza (kg/cm² con puntale da 11 mm mediante penetrometro digitale), contenuto di solidi solubili (° Brix mediante rifrattometro digitale).

È stato calcolato anche l'indice di qualità di Thiault calcolato come $[10 \times \text{acidità (g/L)} + \text{contenuto di zuccheri (g/L)}]$ (Alavoine *et al.*, 1988; Harker *et al.*, 2002).

Risultati e discussioni

Durante la frigoconservazione avvengono cambiamenti biochimici e fisici sui frutti che determinano variazioni nel colore della buccia, nella tessitura, nella dolcezza e nell'astringenza (Hulme and Rhodes, 1971). Le basse temperature regolano la velocità delle reazioni chimiche che avvengono nella polpa, determinando una diminuzione del tasso di respirazione del frutto (Perez-Illarbe *et al.*, 1997).

La durezza dei frutti (Tab. 1) è stata valutata su un campione omogeneo di 20 frutti all'inizio della frigoconservazione e dopo 150 giorni, il calo di durezza è stato espresso in percentuale.

Tabella 1 - Variazione della durezza durante il periodo di frigo-conservazione

VARIETÀ	Durezza inizio conservazione	Durezza dopo 150 giorni	Calo durezza (%)
Bianca di Grottolella	7,55	5,2	31
Mela Gentile	6,46	4,28	34
Fierro	7,2	6	17
Arancio	7,58	6,2	18
Rossa di Volturara	9,91	7,48	25
Renetta di Serino	6,5	4,13	37
Cassanese	7,63	6,5	15
Sergente	11,1	7,5	32
Limoncella	7,67	5,9	23
Suricillo	8,46	5,8	31
Annurca	9,9	6,8	31
Chianella	9,1	6,9	25
Genovese o Culo di Monaco	7,57	5,5	27

Dall'analisi dei dati è possibile osservare che le accessioni Cassanese, Fierro e Arancio hanno fatto registrare una perdita minima di durezza, rispettivamente del 15, 17, e 18%, le altre accessioni mostrano una perdita di durezza che oscilla tra il 23% di Limoncella e il 28 % di Annurca e tra queste si inseriscono Chianella e Rossa di Volturara al 25% e Culo di Monaco al 27%. Un terzo gruppo è costituito da quelle varietà che presentano polpa più tenera e una perdita di durezza maggiore: Bianca di Grottolella e Suricillo (31%), Sergente (32%), Mela Gentile (34%) e Renetta di Serino (37%) (Fig. 1).

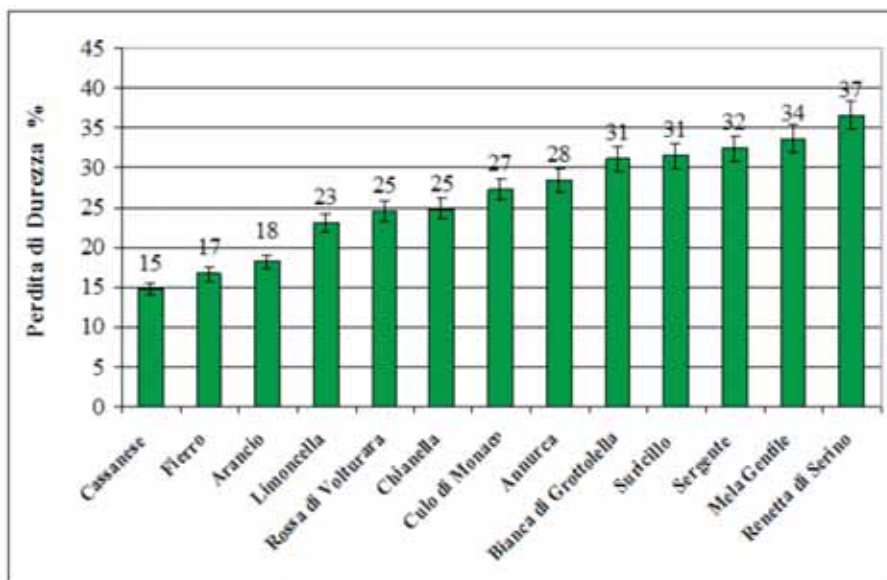


Fig. 1 - Calo di durezza in % dopo 150 giorni di conservazione.

Nel calcolare la perdita di peso si è tenuto conto di due fattori: calo peso fisiologico dovuto alla perdita di acqua e quello dovuto ad attacchi parassitari che hanno determinato marcescenze dei frutti, la somma di questi due fattori hanno determinato al calcolo del calo peso totale.

Il calo peso fisiologico (Tab. 2) è stato molto basso nelle accessioni Arancio, Cassanese, Chianella, Rossa di Volturara, Annurca e Fierro oscillando tra il 2,3 e il 3,4%; in un secondo gruppo di accessioni che comprende Surcillo, Sergente, Limoncella, Culo di Monaco e Gentile oscilla dal 4,5 al 5,7% ed infine le accessioni Renetta di Serino e Bianca di Grottolella hanno mostrato la perdita di peso più elevata superando il 9% (Fig. 2).

La presenza di frutti con marciumi è stata molto bassa in Fierro meno dell'1%, segue poi un gruppo costituito da Annurca, Bianca di Grottolella, Chianella, Rossa di Volturara che raggiungono il 2,4%; seguono Cassanese, Arancio e Sergente (2,7-2,8%); Surcillo 4,3%, Limoncella 8,2%, Culo di Monaco 13%, Renetta di Serino 21% e Gentile 29%.

Tabella 2 - Perdita di peso percentuale dopo 150 giorni di conservazione

VARIETÀ	Calo peso totale (%)	Peso frutti marci (%)	Calo peso fisiologico (%)
Gentile	37,79	28,69	9,10
Renetta di Serino	29,92	20,79	9,13
Culo di Monaco	18,55	12,85	5,69
Limoncella	13,36	8,20	5,16
Bianca di Grottolella	11,65	2,28	9,37
Suricillo	8,77	4,29	4,48
Sergente	7,66	2,82	4,84
Rossa di Volturara	5,58	2,41	3,17
Chianella	5,50	2,40	3,10
Annurca	5,43	2,16	3,27
Cassanese	5,34	2,68	2,66
Arancio	4,99	2,68	2,31
Fierro	4,22	0,84	3,37

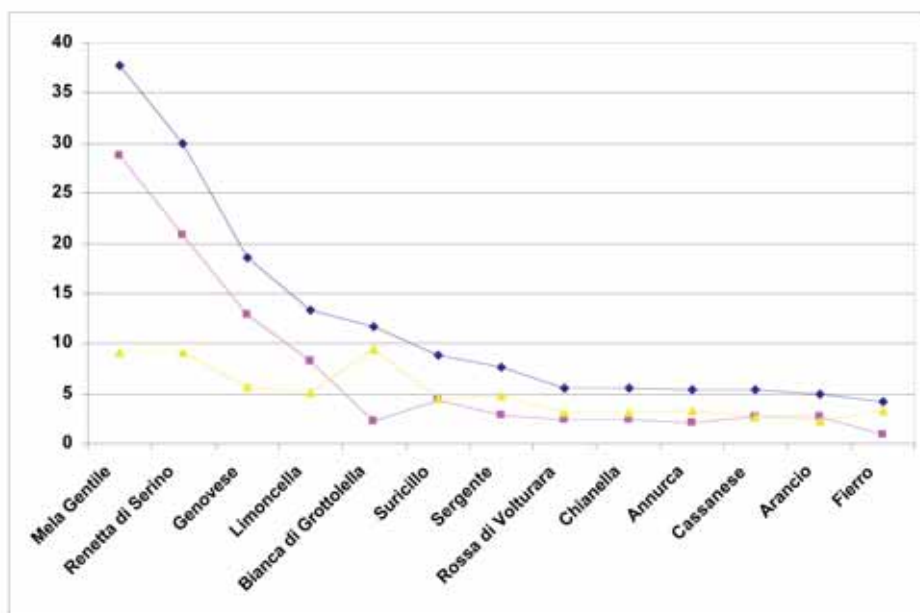


Fig. 2 - Perdita di peso % dopo 150 giorni di conservazione

Tabella 3 - Indice di Thiault delle diverse accessioni

VARIETÀ	RSR (° Brix)	Acidità (g/l di ac. malico)	Indice di Thiault
Cassanese	14,3	5,09	182
Annurca	14,6	4,25	177
Renetta di Serino	13,6	4,28	166
Bianca di Grottolella	11,4	3,84	154
Rossa di Volturara	11	5,54	151
Sergente	12,7	3,49	149
Limoncella	12,6	3,54	148
Suricillo	12,3	3,76	147
Chianella	12,6	2,86	142
Fierro	12,4	3,69	140
Culo di Monaco	12,2	2,88	137
Gentile	12	2,65	133
Arancio	10,9	2,61	121

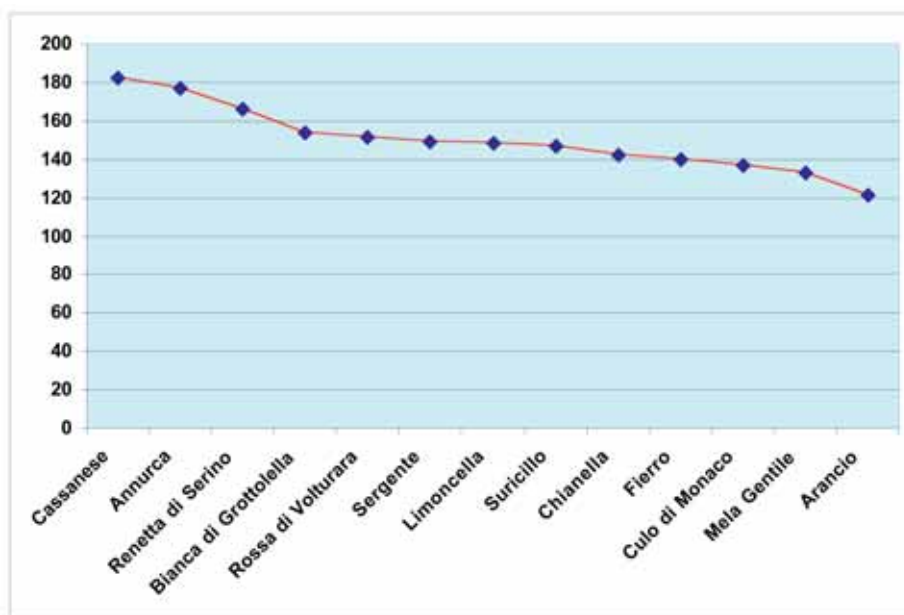


Fig. 3 - Indice di Thiault.

Conclusioni

Quasi tutte le varietà hanno mostrato una buona attitudine alla frigoconservazione anche se alcune di esse perdono molto nella consistenza della polpa: Bianca di Grottolella, Suricillo, Sergente, Gentile e Renetta di Serino; di queste alcune come Gentile, Renetta di Serino e Culo di Monaco hanno mostrato anche un forte calo peso; Gentile, Culo di Monaco e Arancio a fine conservazione hanno mostrato un basso contenuto di zuccheri e acido.

In base alle prime osservazioni effettuate, sotto il profilo qualitativo le accessioni Renetta di Serino o Capo di Ciuccio, Bianca di Grottolella, Cassanese, Limoncella, Chianella e Sergente sono apparse più interessanti; Fierro e Suricillo sono discrete mentre scadenti risultano Culo di Monaco e Gentile, inoltre Arancio ha mostrato sintomi di riscaldamento superficiale (Fig. 4).



Fig. 4 - Frutti con sintomi di riscaldamento superficiale.

Considerando i parametri chimico-fisici analizzati che risultano strettamente correlati alle caratteristiche organolettiche dei frutti percepite dai consumatori al momento del consumo, le accessioni Renetta di Serino, Bianca di Grottolella e Sergente possono essere frigo-conservate per tempi inferiori ai 150 giorni e dovrebbero essere consumate entro il mese di marzo. Le accessioni Limoncella e Chianella possono essere frigo-conservate per tempi leggermente più lunghi rispetto alle precedenti, mentre Cassanese (Fig. 5) mostra un comportamento molto simile all'Annurca, risultando per certi versi superiore per consistenza della polpa, intensità e brillantezza del colore.



Fig. 5 - Frutti di Cassanese a fine conservazione.

Per la scarsità di frutti non è stato possibile valutare la shelf life che consiste nel porre il campione a una temperatura di 20 °C e 75% di umidità relativa (UR) dopo la frigo-conservazione per 4-7 giorni in relazione alla deperibilità mostrata dalle singole cultivar.

Bibliografia

Alavoine F., Crochon M., Fady C., Fallot J., Moras P., Pech J. (1988). *La qualité gustative des fruits-Bases physiologiques et méthodes pratiques d'analyse*. Ed. CE-MAGREF-DICOVA, 92160 Antony, France.

Hulme AC, Rhodes MJC (1971) Pome fruits. In: Hulme AC (ed). *The biochemistry of fruits and their products*, vol 2. Academic Press, New York, p 333.

Javier Perez-Illarbe J., Hernandez T., Estrella I., Vendrell M. (1997). Cold storage of apples (cv. Granny Smith) and changes in phenolic compounds. *Z Lebensm Unters Forsch* 204: 52-55.

Harker, F.R., Marsh, K.B., Young, H., Murray, S.H., Gunson, F.A., Walker, S.B. (2002). *Sensory interpretation of instrumental measurements. 2. Sweet and acid taste of apple fruit*. *Postharvest Biol. Technol.* 24, 241-250.

**CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DELLE ACCESSIONI DI MELO
MEDIANTE L'UTILIZZO DI MICROSATELLITI
(*SIMPLE SEQUENCE REPEAT*)**

CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DELLE ACCESSIONI DI MELO MEDIANTE L'UTILIZZO DI MICROSATELLITI (*SIMPLE SEQUENCE REPEAT*)

PETRICCIONE M.¹, AKKAK A.², BRANCA L.³, REGA P.¹

1 CRA - Unità di Ricerca per la Frutticoltura, Via Torrino, 3 - 81100 Caserta

2 Dipartimento di Scienze Agro-Ambientali, Chimica e Difesa Vegetale - Via Napoli, 25 - 71100 Foggia

3 STAPA-CePICA di Avellino, Collina Liguorini - 83100 Avellino

Introduzione

L'avvento dei marcatori molecolari ha segnato una notevole svolta nel mondo della genetica vegetale consentendo la costruzione di mappe genetiche di associazione, l'individuazione di geni responsabili di caratteri agronomici e la caratterizzazione varietale (*fingerprinting*).

Quest'ultima consente di effettuare la tipizzazione dei genotipi, ed ha assunto notevole importanza e largo impiego, in quanto permette l'identificazione e la distinzione di una cultivar rispetto ad altre sulla base del profilo del DNA.

La caratterizzazione genetico-molecolare nel melo è proposta come soluzione per definire in maniera inequivocabile la corrispondenza varietale e l'identità del prodotto fresco (tracciabilità nella filiera).

Attualmente sono stati effettuati studi di *fingerprinting* sul melo utilizzando marcatori molecolari come: RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) (Nybom and Schaal, 1990; Watillon *et al.*, 1991), RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) (Koller *et al.*, 1993; Mulcahy *et al.*, 1993; Harada *et al.*, 1993; Dunemann *et al.*, 1994; Gardiner *et al.*, 1996; Goulão *et al.*, 2001), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) (Goulão *et al.*, 2001) and SSR (*Simple Sequence Repeats*) (Guilford *et al.*, 1997; Gianfranceschi *et al.*, 1998).

Gli SSR sono i marcatori più utilizzati nell'analisi genetica in quanto presentano un elevato polimorfismo, un'ampia distribuzione nel genoma, sono codominanti, facili da analizzare, permettono un'alta ripetibilità delle analisi e consentono la costruzione di mappe genetiche.

Materiali e metodi

Estrazione del DNA e amplificazione

Per le analisi di seguito descritte sono state prese in esame un gruppo di varietà note e alcune accessioni reperite nel territorio irpino durante la ricerca (Tab.1).

Il DNA è stato estratto da 0.2 g di giovani foglie usando la procedura modificata descritta da Thomas *et al.* (1993) in un tampone Tris-EDTA-NaCl, contenente 0.25 M NaCl, 0.2 M Tris pH 7.6, 2.5% PVP 40,000, 0.05 M Na₂EDTA, e 1% β -mercaptoetanol. Dopo purificazione il DNA è stato sospeso in 100 μ l di tampone Tris-EDTA.

Nelle analisi molecolari sono stati utilizzati cinque loci SSR riportati in Tab.2.

Tabella 1

Cultivar di riferimento	Accessioni
Red Chief, Renetta del Canada, Renetta di Champagne, Golden B.	Bianca di Grottolella, Renetta Grigia, Chianella, Cravanella, Mela Rosa di Serino, Sergente, Capo di Ciuccio, Barile, Gentile, Limoncella (Vulturara), Renetta di Serino, Mela Arancio, Zampa di Cavallo, Mela Rosa, Limoncella (Paternopoli), Melone, Genovese e Mela Culo di Monaco.

Tabella 2 - **Caratteristiche dei microsatelliti utilizzati** (Gianfranceschi *et al.*, 1998; Liebard *et al.*, 2002).

Locus SSR	Sequenze 5'-3'	Tipo di ripetizione	Range (bp)	N° di alleli	Eterozigosità (H)	Gruppo di linkage
CH01d08	F: TCCGCCGCTATAACACTTC R: ACTCTGGAGGGTATGTCAAAG	Perfetta	238-290	6	0,77	15
CH01f02	F: ACCACATTAGAGCAGTTGAGG R: CTGGTTTGTTTTCTCCAGC	Perfetta	174-206	7	0,79	12
CH01f07	F: CCCTACACAGTTTCTCAACCC R: CGTTTTTGAGCGTAGGAAC	Perfetta	174-206	6	0,75	14
CH02g09	F: TCAGACAGAAGAGGAAGTGTATTG R: CAAACAAACCAGTACCGCAA	Perfetta	98-138	8	0,78	08
CH03a04	F: GACGCATAACTTCTCTTCCACC R: TCAAGGTGTGCTAGACAAGGAG	Perfetta	92-124	11	0,89	05

La miscela di PCR, per l'amplificazione è stata realizzata in un volume di 20 µL contenente 50 ng di DNA, 0.5 U di Taq-DNA polimerasi (AmpliTaq Gold, Applied Biosystems Inc., Foster City, Calif.), 2 µL di buffer PCR 10X (100 mM Tris-HCl, pH 8.3, 500 mM KCl), 2 mM MgCl₂, 200 µM dNTPs e 0.5 µM di ogni primer. Le condizioni di PCR prevedevano: una fase iniziale di denaturazione a 95°C per 9 min seguita da 26 cicli ripetuti comprendenti: una fase di denaturazione (30 sec at 95 °C), una fase di appaiamento dei primers ai due filamenti di DNA (annealing) (variabile a seconda del primer), e l'ultima fase di estensione (90 sec at 72 °C). Al termine dell'ultimo ciclo è stata effettuata una fase finale di allungamento a 72 °C per 30 min. I primers forward erano marcati con un fluorocromo (6-FAM o HEX), i prodotti di amplificazione sono stati analizzati usando un sequenziatore capillare ABI-PRISM 3130 (Applied Biosystems). I risultati della corsa sono stati processati con il software GeneMapper e la lunghezza degli alleli è stata stimata usando GeneScan-500 LIZ (Applied Biosystems).

Valutazione del polimorfismo ed analisi dei dati

I risultati delle analisi sono state effettuate calcolando il numero di alleli per locus, il numero di genotipi e l'eterozigosità osservata (H_o) calcolata come rapporto tra il numero di genotipi eterozigoti e il numero di genotipi totali.

Gli alleli sono definiti in accordo con il loro peso molecolare. L'analisi delle distanze genetiche tra le accessioni è stata effettuata mediante il software NTSYS-pc (Exeter Software, E. Setauket, NY, USA) elaborando una matrice binaria indicante la presenza (1) e assenza (0) dell'allele. Il dendrogramma, che rappresenta graficamente le similarità genetiche calcolate utilizzando l'indice di Jaccard (Jaccard, 1908), è stato costruito mediante il metodo UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic average*; Sneath and Sokal, 1973). La valutazione dei risultati ottenuti è stata effettuata mediante l'analisi delle componenti principali (PCA), un metodo di analisi statistica multivariata, utilizzando il software SGWIN (Statgraphic Plus for Windows version 5.1).

Risultati e discussioni

Polimorfismo degli SSR

Il numero di alleli per locus varia da 5 (CH01d08) a 11 (Ch01f02 e CH03a04), con un valore medio di 9,4 alleli per locus. Il numero medio di alleli per locus è comparabile a quello trovato in altri lavori condotti sul melo: 8,2 alleli per locus in 19 cultivars (Gianfranceschi *et al.*, 1998), 10,9 alleli per locus in 44 cultivars (Cavanna *et al.*, 2008) e 12,1 alleli per locus in 66 cultivars (Hokanson *et al.*, 1998).

La lunghezza degli alleli ottenuti per i locus è simile a quella trovata da Liebhard *et al.*, (2002). L'eterozigosità osservata varia da 0,78 (CH02g09) a 0,95 (CH03a04), con un valore medio di 0,87 comparabile al valore di 0,82 ottenuto da Cavanna *et al.*, (2008), ma più alto rispetto ai valori di 0,72 e 0,62 ottenuti rispettivamente da Liebhard *et al.*, (2002) e Hokanson *et al.*, (2001).

Complessivamente sono stati identificati 16 differenti genotipi su 23 accessioni studiate e ciò indica l'esistenza di presunti sinonimi. I loci SSR CH01f02 e CH03a04 mostrano un alto grado di polimorfismo e riescono a discriminare 15 genotipi differenti tra loro in modo univoco.

Identificazione delle accessioni e delle cultivar

Quattro delle accessioni, Capo di Ciuccio, Renetta di Serino, Zampa di Cavallo e Melone, sono triploidi e sono dei sinonimi della "Renetta del Canada". Tutte le altre accessioni individuate sono diploidi, in particolare Limoncella (Vulturara) è sinonimo di Limoncella (Paternopoli) e Genovese o Culo di Monaco.

Il dendrogramma (Fig. 1) ottenuto dalla cluster analisi mostra due principali raggruppamenti "A" e "B". cluster "A" è a sua volta articolato in 2 ramificazioni distinte: il sub-cluster A1 comprendente la Barile e il sub-cluster A2 che unisce invece in ramificazioni specifiche le cultivar di melo prese come riferimento (Renetta di Champagne, Red Chief, la Renetta del Canada con i suoi sinonimi e la Renetta Grigia). Il cluster "B" suddiviso anch'esso in due ramificazioni comprende tutte le altre accessioni analizzate.

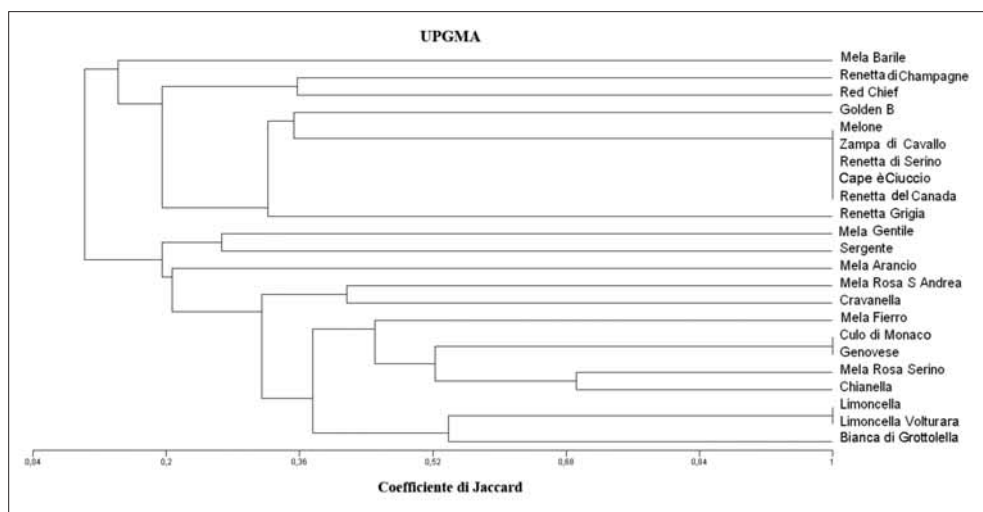


Fig. 1 - Dendrogramma delle varietà e accessioni melo ottenuto mediante il metodo UPGMA usando il coefficiente di Jaccard.

L'analisi delle componenti principali genera due componenti con il 37,02 e il 14,23% della varianza totale (Fig.2) e consente di definire le relazioni delle diverse accessioni tra loro. Nel grafico possiamo evidenziare due gruppi (A e B). Nel gruppo A si evince che Barile è ben distante dalle altre accessioni del gruppo, alcune delle quali sono dei sinonimi di Renetta del Canada. Nel gruppo B sono presenti la maggior parte delle altre accessioni rinvenute sul territorio irpino.

Analisi delle componenti principali (PCA)

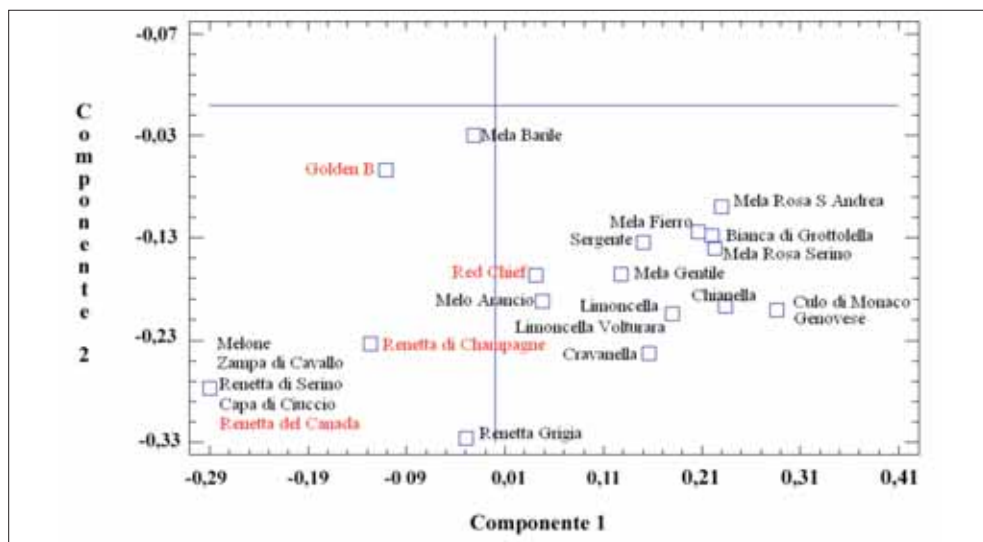


Fig. 2 - Plot delle prime due componenti principali ottenuto dalla matrice di similarità delle varietà e delle accessioni di melo.

Conclusioni

Negli ultimi dieci anni lo sviluppo delle tecniche molecolari associate al DNA, ha fornito un largo numero di SSR nel melo (Gianfranceschi *et al.*, 1998; Liebhard *et al.*, 2002). Questi marcatori sono estremamente utili per la caratterizzazione genetica, il mappaggio e la selezione assistita da marcatori.

I risultati ottenuti confermano la capacità discriminatoria degli SSR in questo tipo di studi ed evidenziano ulteriormente come i marcatori molecolari possano essere un efficace strumento per determinare interessanti relazioni a livello genomico e stabilire in modo univoco le correlazioni e le sinonimie delle diverse accessioni rispetto alle cultivar standard.

Bibliografia

Cavanna M., Torello Marinoni D., Bounous G, Botta R. (2008). *Genetic diversity in ancient germplasm from northwest Italy*. J. of Hort. Science and Biotechnology 83 (5): 549-554.

Dunemann F., Kahnau R., Shmidt H. (1994). *Genetic relationships in Malus evaluated by RAPD 'fingerprinting' of cultivars and wild species*. Plant Breeding 113: 150-159.

Gardiner S.E., Bassett H.C.M., Madie C., Noiton D.A.M. (1996). *Isozyme, random amplified polymorphic DNA (RAPD), restriction fragment-length polymorphism (RFLP) markers to deduce a putative parent for the 'Braeburn' apple*. J Am Soc Hort Sci 121: 996-1001.

Gianfranceschi L., Seglias N., Tarchini R., Komjanc M., Gessler C. (1998). *Simple sequence repeats for the genetic analysis of apple*. Theor. Appl. Genet. 96: 1069-1076.

Goulão L., Cabrita L., Oliveira C.M., Leitão J.M. (2001). *Comparing RAPD and AFLP analysis in discrimination and estimation of genetic similarities among apple (Malus domestica Borkh.) cultivars*. Euphytica 119: 259-270.

Guilford P., Prakash S., Zhu J.M., Rikkerink E., Gardiner S., Bassett H., Forster R. (1997). *Microsatellites in Malus × domestica (apple): abundance, polymorphism and cultivar identification*. Theor Appl Genet 94: 249-254.

Harada T., Matsukawa K., Sato T., Ishikawa R., Niizeki M., Saito K. (1993). *DNA-RAPD detect genetic variation and paternity in Malus*. Euphytica 65: 87-91.

Hokanson S. C., Lamboy W. F., Szewc-Mcfadden A. K., Mcferson J. R. (2001). *Microsatellite (SSR) variation in a collection of Malus (apple) species and hybrids*. Euphytica 118: 281-294.

Koller B., Lehmann A., McDermott J.M., Gessler C. (1993). *Identification of apple cultivars using RAPD markers*. Theor. Appl. Genet. 85: 901-904.

Jaccard P. (1908). *Nouvelles recherches sur la distribution florale*. Bull. Soc. Vand. Sci. Nat. 44: 223-270.

Liebhard R., Gianfranceschi L., Koller B., Ryder C.D., Tarchini R., Van De Weg E., Gessler C. (2002). *Development and characterisation of 140 new microsatellites in apple (Malus x domestica Borkh.)*. Molecular Breeding 10: 217-241.

Mulcahy D.L., Cresti M., Sansavini S., Douglas G.C., Linskens H.F., Mulcahy G.B., Vignani R., Pancaldi M. (1993). The use of random amplified polymorphic DNAs to fingerprint apple genomes. *Scientia Horticulturae* 54: 89–96.

Nybom H., B.A. Schaal (1990). *DNA 'fingerprints' applied to paternity analysis in apples (Malus × domestica)*. *Theor Appl Genet* 79: 763–768.

Sneath P. H. A., Sokal, R. R. (1973) *Numerical Taxonomy*. Freeman, San Francisco, CA.

Thomas M.R., Matsumoto S., Cain P., Scott N.S. (1993). *Repetitive DNA of grapevine: classes present and sequences suitable for cultivar identification*. *Theor. Appl. Genet.* 86:173-180.

Watillon B., Druart P., Du Jardin P., Kettmann R., Boxus P., Burny A. (1991). *Use of a random cDNA probes to detect restriction fragment length polymorphisms among apple clones*. *Scientia Horticulturae* 46: 235–243.

Il presente lavoro è in corso di stampa sulla rivista di Frutticoltura.

**ANALISI DEL CONTENUTO DI PROTEINE SOLUBILI PRESENTI NELLE
ACCESSIONI DI MELO E VALUTAZIONI DEI POTENZIALI ALLERGENI**

ANALISI DEL CONTENUTO DI PROTEINE SOLUBILI PRESENTI NELLE ACCESSIONI DI MELO E VALUTAZIONE DEI POTENZIALI ALLERGENI

PASQUARIELLO M.S.¹, PETRICCIONE M.¹, DI CECCO I.¹, REGA P.¹, PALAZZO P.², TUPPO L.², LISO M.², MARIA.², ALESSANDRI C.², TARTAGLIA A.³, BRANCAL L.³, TAMBURRINI M.⁴, CIARDIELLO M.A.⁴

1 CRA - Unità di Ricerca per la Frutticoltura, Via Torrino, 3 - 81100 Caserta

2 IDI-IRCCS, Centro di Allergologia Molecolare, Via Monti di Creta, 104 - 00167 ROMA

3 STAPA-CePICA di Avellino, Collina Liguorini - 83100 Avellino

4 Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Biochimica delle Proteine, Via P.Castellino, 111 - 80131 Napoli

Introduzione

Le proteine svolgono un ruolo di primaria importanza per il metabolismo delle piante, intervenendo nel processo fotosintetico, respiratorio e in tutte le vie metaboliche. Esse conferiscono inoltre importanti caratteristiche nutrizionali agli alimenti freschi e a quelli conservati e alcune di esse possono avere effetti anche importanti sulla salute umana (es. proteine allergeniche).

In passato le mele venivano apprezzate soprattutto per la loro conservabilità. Oggi, molte varietà di melo, un tempo comunemente diffuse rischiano di rimanere vittime della erosione genetica, infatti alcune di queste esistono solo come singoli individui. Negli ultimi tempi una controtendenza sembra far crescere un interesse nei confronti delle varietà “dimenticate” sia per motivi ecologici (conservazione del germoplasma) sia per motivi legati alla salute umana. Di fatto molte varietà e/o specie antiche sono già state rivalutate per le caratteristiche organolettiche/nutrizionali, una testimonianza è riportata, ad esempio, dalla Mela Annurca rivalutata anche grazie al grande contenuto in antiossidanti. Ed è proprio in questo contesto che si inserisce questa attività di ricerca, infatti lo studio della composizione organolettica/nutrizionale (in questo caso proteine) dei frutti antichi ha l’obiettivo di attribuire un potenziale valore aggiunto a tali varietà al fine di favorirne la reintroduzione nel mercato anche se di “nicchia” e quindi salvare la cultivar dall’estinzione.

La frazione proteica presente nei frutti, come detto in precedenza, ha proprietà allergeniche ed il 60% di tutti gli allergeni vegetali appartiene a sole quattro famiglie proteiche: prolamine, cupine, profiline e proteine simili a Bet v 1 (Bet v 1-like, simili al maggiore allergene del polline di betulla) (Radauer e Breiteneder, 2007). Oltre a queste categorie, tra gli allergeni maggiormente presenti nella frutta si ritrovano anche proteine simili alle taumatine (“Thaumatin-like Proteins”, TLPs), glucanasi, chitinasi, proteinasi ed altre famiglie proteiche meno numerose, ma non per questo meno rilevanti dal punto di vista clinico. Ogni allergene presenta a sua volta numerose isoforme e, ogni isoforma, possibili varianti alleliche. Per quanto concerne la rilevanza biologica degli allergeni, molto spesso la loro funzione è collocabile tra le diciassette classi delle proteine cosiddette “patogeno-correlate” (“Pathogenesis Related”, PR), ovvero coinvolte nei meccanismi di tolleranza e/o resistenza da parte della pianta a stress biotici o abiotici.

In letteratura sono descritte variazioni nella composizione degli allergeni in differenti cultivar di melo, ma una caratterizzazione più accurata può fornire importanti informazioni sulla loro allergenicità e selezionare frutti ipoallergenici che possono essere consigliati a pazienti che mostrano sintomi clinici in seguito all'ingestione di mele.

Materiali e metodi

Frutti freschi di 12 varietà di mele antiche provenienti dall'Irpinia (Chianella, Casanese, Culo di Monaco, Rossa di Volturara, Arancio, Bianca di Grottolella, Suricillo, Renetta di Serino, Fierro, Mela Rosa, Sergente, e Limoncella) e di quattro cultivar standard (Annurca tradizionale, Annurca Rossa del Sud, Red Chief e Golden B) sono stati raccolti, privati della buccia e conservati a -80°C. L'estrazione delle proteine solubili totali è stata effettuata omogeneizzando il campione con aggiunta di NaCl 1.0 M nel rapporto 1:1 (w/w) secondo il protocollo modificato di Ciardiello *et al.*, 2009. Il surnatante è stato raccolto dopo centrifugazione refrigerata (4°C) a 14.0000 rpm per 30 minuti.

La concentrazione proteica è stata determinata mediante il saggio colorimetrico di Bradford effettuato con il reagente Coomassie Brilliant Blue G-250 (BioRad) utilizzando una curva di taratura realizzata con albumina di siero bovina (BSA, 2mg/ml).

Un'aliquota di surnatante avente una concentrazione proteica pari a 20 µg è stata precipitata con acido tricloroacetico (TCA) al 10% e risospesa nel loading buffer (Glicerolo 30%, Tris 2M pH 6.8, Blu di bromofenolo 0.03%, SDS 3%). Le proteine sono state separate in base al peso molecolare mediante elettroforesi su gel di poliacrilammide (4.75% stacking gel e 15% resolving gel) in condizioni denaturanti (SDS-PAGE) in accordo a Laemmli (1970).

Le proteine sono state visualizzate mediante colorazione del gel con Blu Comassie. La matrice di correlazione tra le accessioni è stata realizzata mediante il software SGWIN (Statgraphic Plus for Windows version 5.1), elaborando una matrice binaria indicante la presenza (1) e assenza (0) della banda proteica. Il dendrogramma, che rappresenta graficamente le similarità del pattern proteico calcolate utilizzando l'indice di Jaccard (Jaccard, 1908), è stato costruito mediante il metodo UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic average; Sneath and Sokal, 1973).

Su alcune delle accessioni è stata studiata la composizione degli allergeni valutando le IgE su microarray ISAC 103 (Phadia Multiplexing Diagnostics, Vienna, Austria), dove sono coniugati allergeni naturali ed i ricombinanti. Nel pool di siero dei pazienti allergici è stata valutata sia la capacità dell'estratto proteico delle accessioni di melo di inibire il legame con le IgE, sia il riconoscimento degli allergeni (profiline, LTPs e Bet v 1 simile).

Risultati e discussioni

La quantificazione dei campioni ha evidenziato l'assenza di differenze significative nel contenuto proteico dei campioni analizzati ma un'analisi più approfondita mediante SDS-PAGE ha consentito di evidenziare l'esistenza di una differenza qua-

litativa degli estratti messi a confronto. In particolare la Cassanese, la Fierro e l'Aran-
cio sono risultate avere una varietà di proteine maggiore delle altre risultando quindi,
potenzialmente più rilevanti a livello nutrizionale rispetto a quelle varietà con le quali
sono state messe a confronto. Le varietà che invece presentano un numero minore di
tipologie di proteine sono la Bianca di Grottolella e la Chianella (Figg.1 e 2).

La scarsa variabilità di proteine osservate in queste ultime varietà potrebbe assu-
mere un valore positivo se si considera che le proteine alimentari possono anche avere
una azione negativa (allergenica) quando assunte per via orale.

Le diverse accessioni mostrano un diverso pattern delle componenti allergeniche
sia come concentrazione che come tipologia di allergene. L'accessione Fierro mostra
una più alta concentrazione di proteine e una bassa inibizione delle IgE in termini
percentuali e di numero di allergeni inibiti, quindi può essere definita ipoallergenica;
al contrario l'accessione Bianca di Grottolella è un frutto iperallergenico.

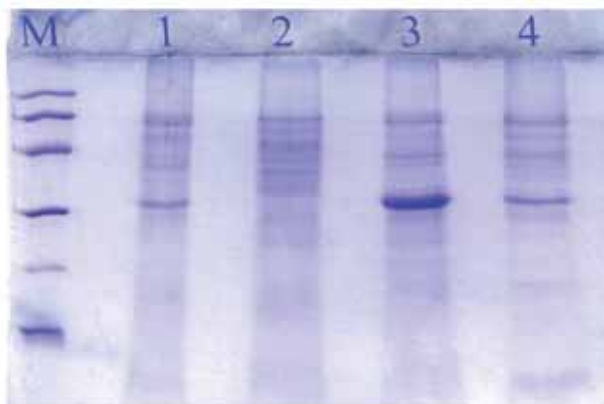


Fig. 1 - Elettroforesi in SDS-Page colorata con Blu Coomassie.

M=marker (14.4kDa-97kDa);

1 Suricillo, 2 Fierro; 3 Cassanese, 4 Limoncella.

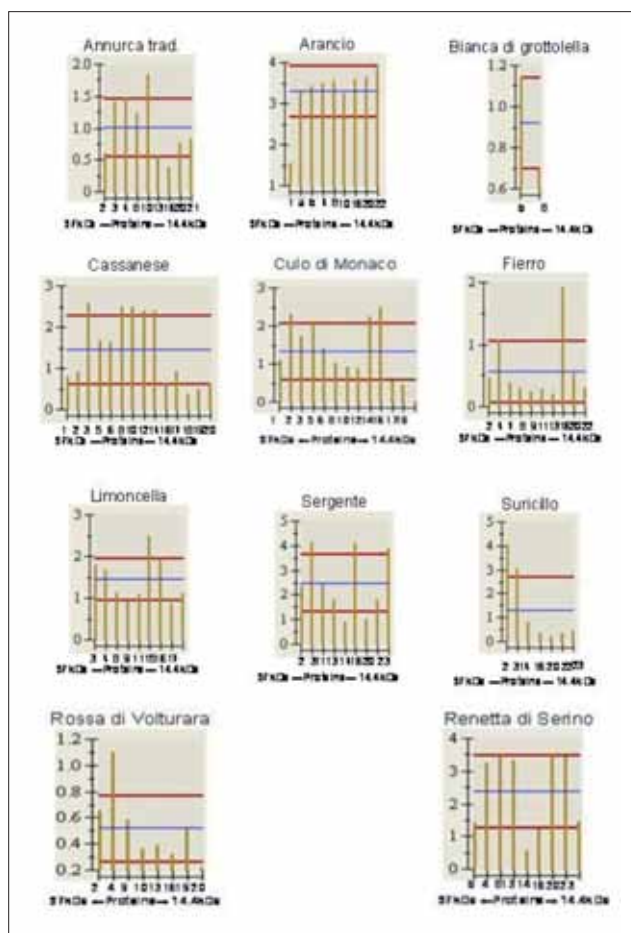


Fig. 2 - Istogrammi delle bande proteiche separate mediante SDS/PAGE, sull'asse delle ordinate sono riportate le intensità relative delle bande di ciascun campione, sull'asse delle ascisse le bande disposte in base al loro peso molecolare (espresso in kDa).

Le correlazioni tra le diverse accessioni sono riportate in Tab. 1, la correlazione più importante (0.851) è tra Culo di Monaco e Cassanese.

Tab. 1 - Coefficienti di correlazioni tra le varie accessioni in base al contenuto proteico

	Annurca	Renetta di Serino	Bianca di Grottolella	Suricillo	Arancio	Sergente	Fierro	Limoncella	Mela Rosa di Serino	Culo di Monaco	Rossa di Volturara	Cassanese
Annurca	1,000	0,378	0,0860	0,247	0,306	0,379	0,408	0,200	-0,053	0,113	0,557	0,161
Renetta di Serino		1,000	0,430	0,336	0,478	0,448	0,315	0,081	-0,144	-0,144	0,265	-0,083
Bianca di Grottolella			1,000	-0,184	0,392	-0,202	0,060	0,114	0,012	0,012	-0,202	-0,036
Suricillo				1,000	0,089	0,718	0,218	-0,046	-0,423	0,114	0,145	0,194
Arancio					1,000	-0,157	0,238	0,021	-0,022	-0,053	0,200	-0,007
Sergente						1,000	0,315	0,0809	-0,144	0,027	0,264	0,090
Fierro							1,000	0,315	0,196	-0,292	0,490	-0,263
Limoncella								1,000	0,199	0,027	0,081	-0,083
Mela Rosa di Serino									1,000	0,199	0,199	0,045
Culo di Monaco										1,000	0,027	0,851
Rossa di Volturara											1,000	0,0898
Cassanese												1,000

Il dendrogramma mostra come dal punto di vista proteico la Bianca di Grottolella risulta essere differente da tutte le altre accessioni studiate. Le accessioni maggiormente simili risultano la Renetta di Serino con la Sergente e Cassanese con Culo di Monaco.

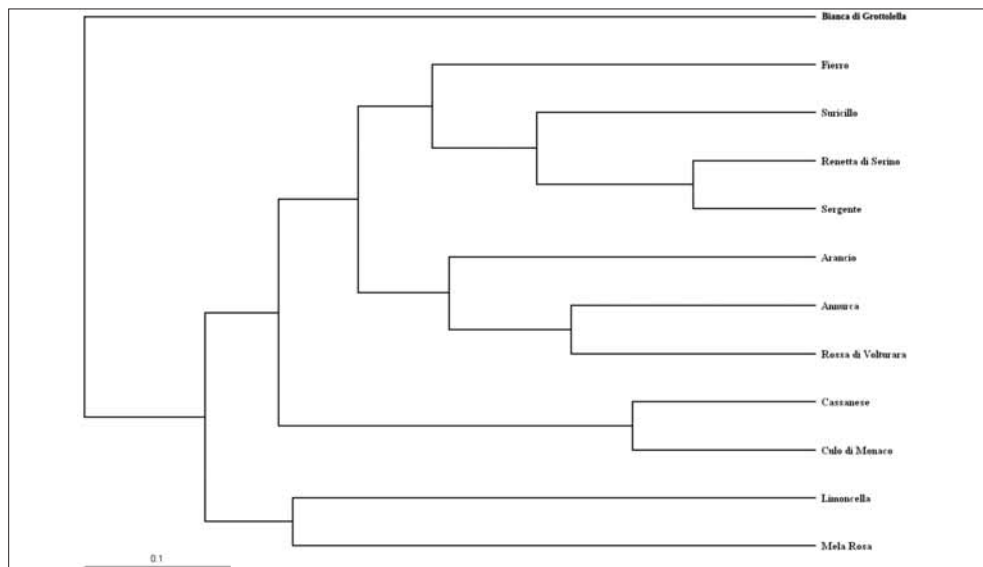


Fig. 3 - Dendrogramma delle varietà e accessioni melo ottenuto mediante il metodo UPGMA usando il coefficiente di Jaccard.

Conclusioni

Le accessioni Cassanese, Fierro e Arancio, dalle prime analisi mostrano un pattern proteico più complesso con diverse tipologie di proteine. Recenti studi hanno dimostrato che nei frutti di melo della cultivar Annurca sono presenti diversi allergeni (Guarino *et al.*, 2009), quindi queste accessioni sebbene siano più interessanti da un punto di vista nutrizionale potrebbero avere un contenuto di allergeni maggiori e quindi non possono essere consumate da coloro che manifestano sintomi di allergia a questo frutto. Fino ad ora quattro sono gli allergeni individuati nel melo Mal d 1, Mal d 2, Mal d 3 and Mal d 4, ma sicuramente ve ne sono altri non ancora identificati.

Non sempre esiste nelle accessioni studiate una correlazione positiva tra la concentrazione proteica ed il contenuto di allergeni. Sulla base dei risultati ottenuti, è possibile definire le accessioni studiate come ipoallergeniche ed iperallergeniche e ciò risulta estremamente importante per definire delle diete personalizzate nei soggetti allergici.

Bibliografia

Ciardiello M.A., Giangrieco I., Tuppo L., Tamburrini M., Buccheri M., Palazzo P., Bernardi M.L., Ferrara R., Mari A. (2009). *Influence of the natural ripening stage,*

cold storage, and ethylene treatment on the protein and IgE-binding profiles of green and gold kiwi fruit extracts. J. Agric Food Chem. 57(4): 1565-71.

Guarino C., Arena S., De Simone L., D'Ambrosio C., Santoro S., Rocco M., Scalloni A., Marra M. (2007). *Proteomic analysis of the major soluble components in Annurca apple flesh.* Mol. Nutr. Food Res. 51:255-262.

Laemli U.K. (1970). *Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4.* Nature 227, n. 5259: 680-685.

Sneath P. H. A., Sokal, R. R. (1973) *Numerical Taxonomy.* Freeman, San Francisco, CA.

Radauer C. e Breiteneder H. (2007). *Evolutionary biology of plant food allergens.* Journal of Allergy and Clinical Immunology. (120): 518-525.

**MESSA A PUNTO DI PROTOCOLLI PER LA
MICROPROPAGAZIONE DI MELE IRPINE**

MESSA A PUNTO DI PROTOCOLLI PER LA MICROPROPAGAZIONE DI MELE IRPINE

PASQUARIELLO M.S., PETRICCIONE M., MIGLIOZZI T., CAPUANO L.R., REGA P.

CRA - Unità di Ricerca per la Frutticoltura, Via Torrino, 3 - 81100 Caserta

Introduzione

La micropropagazione è una tecnica ormai nota da qualche decennio ma in continua evoluzione, che permette di conservare, risanare, moltiplicare germoplasma vegetale attraverso colture di apici meristematici in ambiente sterile su idonei substrati di crescita. La specie *Malus x domestica*, è ormai noto, ben si adatta alla coltura *in vitro* sebbene mostri una certa variabilità in funzione del genotipo. Il successo della tecnica della coltura di meristemi dipende da diversi fattori: il genotipo (esistono specie piuttosto reattive e recalcitranti); il tipo di substrato (macroelementi, microelementi, vitamine, fitormoni) e le condizioni della camera di crescita (luce, temperatura e fotoperiodo).

Materiali e metodi

In autunno sono state prelevate le marze di un anno da piante madri appartenenti alle seguenti accessioni: Limoncella, Bianca di Grottolella, Chianella, Capo di Ciuccio, Cassanese e Sergente. Sono state selezionate le migliori gemme dormienti e sterilizzate nel seguente modo: lavaggio manuale ed incubazione di 20 minuti con sapone Lisoform®. Dal momento che tutte le successive fasi devono avvenire in ambiente sterile, le gemme sono state portate sotto cappa e qui si è proceduto nel seguente modo: incubazione di 2 minuti in etanolo 70%; lavaggio in acqua sterile; successiva incubazione di 20 minuti in una soluzione acquosa all'1% di ipoclorito di sodio; lavaggio in acqua sterile; incubazione di 20 minuti in una soluzione di sodio mertiolato allo 0.05%; lavaggio in acqua sterile. terminate le operazioni sopra esposte si è proceduto al vero e proprio prelievo dell'espianto con l'ausilio di un microscopio stereoscopico. Dopo il prelievo, i meristemi sono stati messi in provette di vetro contenenti il terreno MS (Murashige and Skoog, 1962) arricchito con IBA 0,05 mg/l (Auxina); BAP 0,5 mg/l (Citochinina); zucchero 30g/l, agar 6 g/l ed il pH del mezzo è stato portato a 5.6.

Le gemme in coltura sono state allevate in camera di vegetazione con un fotoperiodo di 16 ore, temperatura di $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ed intensità luminosa di $37.5 \text{ E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (3000 lux).

Risultati e discussioni

I meristemi della varietà Limoncella hanno sviluppato dei buoni germogli (Fig. 1), altri meristemi, in modo particolare quelli appartenenti alla varietà Capo di Ciuccio, dopo circa di 2 giorni, hanno mostrato segni di contaminazione da muffe, evi-

dentemente dovuta ad una non efficace sterilizzazione. Si è ovviato a questo problema prolungando di altri 5 minuti la permanenza in alcol a 70°C e di altri 10 minuti i tempi di permanenza in ipoclorito di sodio e in sodio mertiolato; queste variazioni hanno in parte diminuito la percentuale di meristemi che andavano incontro a contaminazione.



Fig. 1 - Germogli di Limoncella da meristemi

Inoltre, alcuni meristemi appartenenti alle altre varietà hanno cominciato a svilupparsi mostrando una leggera vetrificazione (aspetto idropico dei tessuti) dei germogli. Tali germogli sono stati recuperati da otto subcolture settimanali su terreno fresco contenente Sali MS, vitamine MS senza glicine, BAP 0,3mg/l; IBA 0,1mg/l; Sorbitolo 20g/l, zucchero 10g/l, agar 4,5g/l (pH5.6).

In seguito effettuando mensilmente le subcolture nel terreno descritto precedentemente, le colture hanno mostrato un buon tasso di moltiplicazione senza mostrare più segni di vetrificazione e questo si è verificato per tutte le accessioni poste in coltura.

Attualmente soltanto sulla varietà Limoncella sono in atto prove di radicazione (Figg. 2 e 3) allo scopo di studiare:

- 1) l'effetto di due tipi di microsali LP/2 e MS/2 (il terreno basale contenete microsali MS e vitamine senza glicine, zucchero 20g/l, agar 4,5g/l – pH5.6)
- 2) l'opportunità di procedere ad un successivo ambientamento.

Anche le altre accessioni prese in esame hanno mostrato un buon tasso di moltiplicazione, infatti attualmente è in atto la fase di allungamento dei germogli in modo da poter successivamente procedere, anche su queste, con prove di radicazione.



Fig. 2 - Germogli da meristemi, radicati



Fig. 3 - Piantine di melo in ambientamento

Conclusioni

La tecnica di micropropagazione è ormai diventata per molte specie un sistema di moltiplicazione alternativo alle tecniche tradizionali di propagazione. In questo caso l'ottimizzazione del protocollo consentirà di ottenere in tempi brevi e a costi contenuti, un grande numero di piantine, identiche sia genotipicamente che fenotipicamente alla pianta di partenza spesso singola ma selezionata dagli agricoltori per caratteristiche fisiologiche e produttive di pregio.

Bibliografia

Murashige T. and Skoog F. (1962). *Revised Medium for rapid growth and bioassay with Tobacco Tissue Culture*. *Physiol. Plant.* 15:473-497.

Presentazione dei risultati

I risultati di quest'attività di ricerca sono stati presentati nelle seguenti occasioni:

- 1) Frutta dell'autunno III edizione – Convegno 12.10-2008, partecipazione mostra pomologica
- 2) Partecipazione Giornata Mondiale dell'Alimentazione; Mostra Pomologica – Carcere Borbonico, Avellino, 16-ottobre-2008.
- 3) Convegno: Frutti e fiori nell'economia di collina “*Caratterizzazione delle mele e la moderna frutticoltura: modelli a confronto*” (Autore: Rega P.) Avellino, 28 marzo 2009.
- 4) Rega P., Petriccione M., Akkak A., Tartaglia A., Branca L., Insero O. (2009). “*Recupero, conservazione e valorizzazione del germoplasma frutticolo dell'Irpinia*.” Atti del 104° Congresso della Società Botanica Italiana Campobasso 16-19 Settembre: pag. 147 (poster).
- 5) Relazione dal titolo “*Recupero, caratterizzazione genetica e valorizzazione delle mele irpine*” (Autori: P. Rega, M. Petriccione, O. Insero, A. Akkak, A. Tartaglia, L. Branca, S. Pasquariello, L. Farina) Convegno Frutta dell'autunno IV edizione: “Aggiornamento Varietale su Melo e Pero”. Caserta, 02 ottobre 2009.
- 6) Relazione dal titolo “*Biodiversità, recupero e valorizzazione della frutticoltura campana: caso studio dell'Irpinia*” (Autori: P. Rega, M. Petriccione) Frutta dell'autunno V edizione – Convegno: “La biodiversità frutticola della Campania”. Caserta, 15 ottobre 2010.
- 7) Palazzo P., Pasquariello M.S., Petriccione M., Rega P., Tuppo L., Liso M., Alessandri C., Tamburrini M., Tartaglia A., Mari A., Ciardiello M.A. (2010). *Analysis of the allergenic components in twelve traditional apple cultivars by Single Point Highest Inhibition Achievable assay (SPHIAa) for IgE*. 4th International Symposium on Molecular Allergology Munich – Germany 29 - 31 October 2010 (Abstract n. 47: 49-50).

Prestampa, stampa e allestimento:



**IMAGO
EDITRICE**

Imago Editrice srl
Loc. Pezza, Zona Industriale - Dragoni (CE)
Tel. e Fax: 0823 866638
email: imago.editrice@gmail.com