

Moltiplicazione dell'olivo e vivaismo olivicolo in Italia

Raffaella Petruccelli^{1*}, Maurizio Micheli^{2**}, Primo Proietti^{2***}, Tommaso Ganino^{3****}

¹ CNR Istituto per la Valorizzazione del Legno e delle Specie Arboree, Sesto Fiorentino (FI)

² Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università di Perugia

³ Dipartimento di Biologia Evolutiva e Funzionale - Sezione Biologia Vegetale, Università di Parma

Ricezione: 15 dicembre 2011; Accettazione: 10 gennaio 2012

Olive propagation and Italian olive industry

Abstract. The olive nursery industry was founded in Tuscany (Italy) in the second half of the nineteenth century, and today the main production centers are located in Tuscany, Apulia, Calabria and Sicily. In these centers the most important propagation techniques used are grafting, cutting and, to a lesser extent, micropropagation. The paper comments, through an historical analysis, on the innovations achieved in the field of olive propagation (by grafting, cuttings and micropropagation) and highlights the "weak points" of the Italian olive nursery system. The mist system is now the standard method for olive propagation, and mist propagation is made effective by a combination of modern propagating facilities and automated systems. IBA and NAA are still the most effective auxins for rooting, and their action has been improved by associating polyamines or cyclodextrins. New compounds should be tested, other than auxins, to have a more effective activity in stimulating the formation of adventitious roots, and the molecular basis of the process should be understood. This would allow the cuttings to be pretreated or cotreated, for them to respond to auxin applications with high rooting percentages. As far as grafted plants are concerned, the nurseries have achieved a top efficiency, with success rates of almost 100%, and the technique is very functional since it allows cultivars with low or nil rooting ability (particularly in the case of many cultivars intended for table olive production) to be propagated. Presently research is focused on the selection of clonal rootstocks, able to increase plant resistance to biotic and abiotic stress, and whole plant architecture. In vitro propagation of olive cultivars has been used with success, and could be an important sector of the olive tree nursery. At present some 33 olive varieties have been micropropagated. Micropropagated plants, though, are expensive because they are extremely labor intensive; it is therefore necessary to focus

research on the automation of the process to reduce costs. Plant growth in the nursery is based on the "container system"; the improvements in plant production, to increase the performance and reduce plant prices, concerned the introduction of new types of containers and substrates, the setting up of a protocol of fertigation and symbiotic complex between the olive roots and arbuscular mycorrhizae. Finally, particular attention is given to the genetic true-to-typeness and plant health certifications of the plants produced. The broadening of the varietal standard, advances in propagation techniques and nursery plant production, and certified plants are the key points for the development of the olive nursery industry in Italy.

Key words: grafting, cutting, micropropagation, genetic and plant health certifications.

Introduzione

Il vivaismo olivicolo nasce in Toscana nella seconda metà dell'800 nelle province di Lucca e Pistoia dove, alla fine del secolo, assume carattere imprenditoriale. È proprio da Pescia (Pistoia) che partono le prime esportazioni di piante d'olivo dapprima verso i mercati nazionali e successivamente verso quelli internazionali. Tra il 1960 e il 1980 le nuove tecniche di propagazione, la favorevole campagna a favore del consumo dell'olio di oliva, nutrimento ideale per l'alimentazione umana, e la diffusione della coltura in Paesi non tradizionalmente olivicoli (Argentina, Australia, Cile, ecc.), danno un nuovo impulso al vivaismo olivicolo. In quegli anni, infatti, si ha l'espansione del comparto vivaistico olivicolo in zone emergenti dell'Italia meridionale (Puglia, Calabria e Sicilia) e di conseguenza il raggiungimento del massimo della produzione superiore agli otto milioni di piante/anno di olivi commerciabili, con un incremento nelle esportazioni verso nuovi Paesi.

Nell'ultimo decennio la produzione vivaistica nazionale si è attestata intorno a cinque milioni di

* petruccelli@ivalsa.cnr.it; ** maurizio.micheli@unipg.it;
*** first@unipg.it; **** tommaso.ganino@unipr.it

piante (tab. 1) per un volume di affari che ha superato i 20 milioni di euro/annui (Cimato e Petrucelli, 2006; Catalano e Sonnoli, 2007). La Toscana assicura il 50% della produzione totale nazionale ed è la regione dove è presente il 48% di aziende vivaistiche, la restante parte della produzione si concentra in Puglia, Calabria e Sicilia, dove è presente il 38% dei vivai nazionali. Scarsa, invece, è la produzione e la presenza di aziende vivaistiche nelle altre regioni italiane (Cimato e Petrucelli, 2006; Catalano e Sonnoli, 2007). La produzione vivaistica nazionale è assorbita per la maggior parte dal consumo interno e in minor misura dai paesi del Mediterraneo, Medio Oriente, Africa Settentrionale, Stati Uniti, Nuova Zelanda, Australia, Argentina e Cile.

La propagazione di piante di olivo utilizza principalmente le tecniche della talea e dell'innesto; la prevalenza dell'una o dell'altra dipende dalla zona di produzione e soprattutto dalle esigenze agronomiche, dalle tradizioni e dal mercato locale e nazionale (Catalano e Sonnoli, 2007). Le piante autoradicate (di età compresa tra 15 e 24 mesi) soddisfano soprattutto le richieste dei mercati esteri, mentre quelle innestate sono richieste prevalentemente dal mercato interno. In tabella 2 sono riportate le produzioni di piante autoradicate ed innestate prodotte in Italia: Toscana e Sicilia producono, per la maggior parte, piante innestate (70%), la Calabria produce per il 75% dell'intera produzione regionale piante autoradicate, mentre la Puglia produce esclusivamente piante innestate.

Sebbene la produzione vivaistica nazionale sia concentrata prevalentemente su 30-40 varietà, il 70% del materiale vegetale ottenuto è rappresentato da solo cinque cultivar ('Leccino', 'Frantoio', 'Carolea', 'Coratina' e 'Nocellara del Belice'). La rimanente produzione interessa un gruppo di 13 cultivar, eterogeneo per l'incidenza numerica sia per la destinazione del prodotto ('Pendolino', 'Moraiolo', 'Nocellara Etnea', 'Grossa di Spagna', 'Maurino', 'Nocellara Messinese', 'Itrana', 'Picholine', 'Ottobratica',

Tab. 1 - Produzione di piante di olivo e distribuzione territoriale dei vivai.

Tab. 1 - Olive plant production and number of nursery by region.

| Regione | Piante prodotte (n°/anno) | Percentuale (%) | Numero vivai |
|---------------|---------------------------|-----------------|--------------|
| Toscana | 2.000.000 | 40 | 52 |
| Sicilia | 1.500.000 | 30 | 16 |
| Calabria | 600.000 | 12 | 15 |
| Puglia | 500.000 | 9 | 9 |
| Altre regioni | 450.000 | 9 | 34 |
| Totale | 5.050.000 | 100 | 126 |

'Dritta', 'Ascolana Tenera', 'Taggiasca' e 'Bosana'), mentre altre cultivar, quali ad esempio 'Ogliarola', 'Nociara' e 'Cellina' in Puglia o 'Pizz'e Carroga' in Sardegna, assumono una distribuzione prettamente regionale.

In questi ultimi anni si è assistito ad un radicale cambiamento dell'olivicoltura; infatti il comparto vivaistico ha riorganizzato i propri sistemi produttivi e ha trasformato il vivaista da semplice "fornitore di materiale" ad elemento fondamentale della filiera produttiva, in grado di fornire servizi innovativi e qualificati che vanno dalla consulenza sulle varietà sino al collocamento del prodotto. Nonostante ciò, oggi il vivaismo olivicolo italiano si trova ad affrontare problemi di natura strutturale ed economica che riguardano principalmente:

- Ridotte dimensioni delle aziende vivaistiche. La situazione produttiva è caratterizzata dalla presenza di un alto numero di aziende di piccole dimensioni (inferiori all'ettaro) con ridotte produzioni (produzione media annua di 18.000 piante). Solo il 14% delle aziende ha dimensioni comprese tra i 5-6 ettari ed è in grado di presentarsi sul mercato con produzioni consistenti.
- Frammentazione fondiaria. Le aziende, spesso sono divise in più corpi con il conseguente aumento dei costi di produzione.
- Scarsa presenza di forme associative o cooperative. L'attività vivaistica è essenzialmente incentrata sull'impresa singola e il vivaista preferisce gestire in assoluta libertà le scelte e i risultati del proprio lavoro.
- Scarso supporto da parte delle strutture pubbliche (Stato, Regioni, ecc.) che spesso mancano di strategie mirate per lo sviluppo del settore.
- Livello tecnologico a volte inadeguato che non favorisce la meccanizzazione delle operazioni colturali, il risparmio energetico, ecc.
- Aumento dei costi non compensato dall'aumento del prezzo delle piantine e immobilizzazione di capitali derivata dal materiale prodotto e invenduto.
- Ritardo nel soddisfare la domanda di peculiari "standard varietali", ad esempio varietà adatte ai moderni impianti intensivi.
- Concorrenza di nuovi paesi produttori che immettono sui mercati i loro prodotti a costi inferiori.

Metodi di propagazione in olivo

La propagazione delle piante di olivo avviene attraverso l'innesto, la radicazione da talea in nebulizzazione e limitatamente attraverso la micropropagazione. Questi tre sistemi, sebbene si differenzino per

impiego di manodopera (decescente dall'innesto alla micropropagazione), per tecnologia e per efficienza (la coltura *in vitro* rappresenta il massimo grado tecnologico ed è il sistema che meglio consente la produzione di un elevato numero di piante in breve tempo) possono essere utilizzate simultaneamente per rispondere alle diverse esigenze e condizioni che si verificano in un vivaio. Attualmente la produzione vivaistica è ottenuta, principalmente, attraverso innesto (65% della produzione nazionale) e talea (34% della produzione nazionale) (Catalano e Sonnoli, 2007) (tab. 2), mentre ridotto è il numero di strutture che utilizzano la micropropagazione come tecnica di propagazione.

Propagazione per innesto

La tecnica dell'innesto ha assunto importanza alla fine dell'ottocento quando, ad opera di alcuni vivaisti toscani, nacque di fatto il vivaismo "industriale". Questa tecnica è efficiente e funzionale in quanto permette la propagazione delle cultivar che presentano bassa o nulla capacità di radicazione, ma risulta onerosa sia per la lunghezza del ciclo produttivo (occorrono 3-4 anni per ottenere una pianta commerciale) sia per la laboriosità e la professionalità che richiede.

La propagazione dell'olivo tramite innesto prevede la preparazione dei semi (Fase I) da cui ottenere il portinnesto, la germinazione e la crescita del portinnesto (Fase II), l'innesto e l'accrescimento della pianta bimembre (Fase III) (tab. 3).

I portinnesti utilizzati sono semenzali di un anno ottenuti o da semi di specifiche cultivar ('Moraiolo',

'Canino', 'Maurino', 'Mignolo' e 'Frantoio') o da piante spontanee di oleastro della macchia mediterranea (Godini, 2007). Gli inconvenienti nell'uso dei semenzali sono: la percentuale di germinazione non sempre ottimale e ripetibile e l'eterogeneità, in termini di vigore e di sviluppo dell'apparato radicale, che si traduce in una seppure limitata influenza sui ritmi di accrescimento e sull'entrata in produzione delle piante ottenute. In Italia sono ancora pochi i vivai che si rivolgono a ditte specialistiche per la produzione di semi o che si sono dotati, anche in forma associativa, di piante madri porta-semi. Sarebbe auspicabile che il materiale fosse prelevato da specifiche piante madri sottoposte a tecniche culturali idonee (ad esempio apporti nutritivi fogliari) e al controllo fitosanitario da parte degli Osservatori Regionali per le malattie delle piante. È stato accertato infatti che i semenzali sono una fonte di inquinamento da virus delle produzioni vivaistiche (Saponari *et al.*, 2002).

In olivo l'innesto è stato utilizzato, prevalentemente o esclusivamente, per la propagazione delle cultivar difficili ad essere propagate per talea, con limitata attenzione alla scelta del portinnesto. Isolate esperienze sono state condotte nel tempo per sostituire il 'franco' con portinnesti clonali, capaci di controllare determinati caratteri agronomici. I primi tentativi risalgono agli anni '40, quando per contenere la dimensione delle piante furono utilizzati, come portinnesti, generi e specie botanicamente vicine all'olivo (*Phillyrea*, *Syringa*, *Fraxinus*); i risultati furono deludenti a causa di una spiccata disaffinità tra i bionti (Morettini, 1950). Nell'olivo non sono stati generalmente rilevati problemi di disaffinità di innesto di cultivar su franco, l'unico caso di non attecchimento è stato osservato da Fiorino e Mancuso (2003) nella cultivar Maiatica di Ferrandina, per presunta disaffinità da 'discontinuità dei tessuti'. Successivamente le scelte si sono indirizzate verso cultivar di olivo in grado non solo di controllare lo sviluppo vegetativo (Troncoso *et al.*, 1990; Fontanazza *et al.*, 1995; Pannelli *et al.*, 2002), ma anche l'efficienza produttiva (Pannelli, 2006) e la tolleranza a stress biotici (Hartmann *et al.*, 1971; Porras Soriano *et al.*, 2003) e abiotici (Charlet, 1965).

Tab. 2 - Produzione di piante autoradicate e innestate (Catalano e Sonnoli, 2007).

Tab. 2 - Distribution of plant production with reference to propagation system (Catalano e Sonnoli, 2007).

| Regione | Piante autoradicate | % | Piante innestate | % |
|---------------|---------------------|----|------------------|-----|
| Toscana | 600.000 | 30 | 1.400.000 | 70 |
| Sicilia | 500.000 | 30 | 1.000.000 | 70 |
| Calabria | 450.000 | 75 | 150.000 | 25 |
| Puglia | 0 | 0 | 500.000 | 100 |
| Altre regioni | 225.000 | 50 | 225.000 | 50 |
| Totale | 1.725.000 | | 3.275.000 | |

Tab. 3 - Fasi del ciclo di produzione delle piante innestate.

Tab. 3 - Stages of grafted plants production.

| Passaggi | Fase I | Fase II | Fase III |
|---------------|--|---------------|------------------------------|
| Step 1 | Collezione e conservazione dei semi Stratificazione | Semina | Innesto |
| Step 2 | | Germinazione | Allevamento piante innestate |
| Step 3 | | Accrescimento | Vendita |
| Durata (mesi) | 12 | 7-8 | 17-18 |

Alla fine degli anni novanta i cambiamenti nella gestione degli impianti olivicoli con sistemi superintensivi ha indirizzato le scelte verso varietà rispondenti a specifiche caratteristiche morfo-agronomiche (vigoria bassa, habitus semieretto, precoce entrata in produzione, elevata produttività e maturazione uniforme dei frutti, resistenza alla rogna). Una logica conseguenza, è stata la ricerca a livello varietale di genotipi che presentavano tali caratteristiche e la selezione di portinnesti “nanizzanti” capaci di ridurre lo sviluppo delle piante e attuare sestri di impianto ridotti. Alla fine degli anni ottanta erano stati provati alcuni genotipi, derivanti da un programma di selezione condotto su ‘Frantoio’, ‘Moraiolo’ e ‘Dolce Agogia’, e utilizzati come portinnesti per ridurre le dimensioni delle varietà Giaraffa e Ascolana Tenera. Risultati interessanti furono ottenuti in particolare con il genotipo FS17 che è stato proposto come portainnesto a “bassa vigoria” (Fontanazza *et al.*, 1995). Negli anni novanta è stata valutata l’influenza di 20 varietà spagnole, utilizzate come portinnesti della cv Gordal Sevillana (Troncoso *et al.*, 1990); gli Autori hanno definito una scala di vigoria della crescita della pianta bimembre e individuato alcuni soggetti capaci di incrementare la produzione. Un ulteriore contributo è stato dato dall’uso dei mutanti somatici ottenuti in seguito a irraggiamento con raggi gamma di piante delle cultivar Leccino e Frantoio (Petruccioli *et al.*, 1974), selezionando per il loro habitus compatto o nano tre genotipi denominati Frantoio Compatto (FC), Leccino Compatto (LC) e Leccino Dwarf (LD) (Pannelli *et al.*, 2002). Tali genotipi unitamente ad alcune cultivar o accessioni (‘Leccino’, ‘Nostrale di Rigali’, ‘Vocio’, ‘Sant’Arcangelo’ e ‘San Martino’) sono stati utilizzati per valutare l’influenza del portainnesto sulle caratteristiche biologiche delle cultivar Moraiolo e San Felice nella prevenzione dei danni da freddo e nel controllo della vigoria (Pannelli *et al.*, 2002). Emerge una interessante prospettiva d’uso per LC e LD; quest’ultimo, proprio per le sue caratteristiche morfo-fisiologiche tipiche di un portainnesto nanizzante, potrebbe essere una valida alternativa ai portinnesti ‘franchi’ (Pannelli, 2006). Nello scorso decennio il vivaio Sonnoli ha proposto la nuova varietà Urano[®], caratterizzata da una crescita ridotta, che se utilizzata come portainnesto, potrebbe determinare il contenimento della crescita del nesto (Sonnoli, 2001). Nello stesso periodo Rugini e collaboratori hanno segnalato, per la riduzione della vigoria, l’impiego di portinnesti transgenici (Rugini *et al.*, 2001). Ad oggi, tuttavia, non risulta una significativa diffusione in ambito vivaistico di tale materiale di propagazione.

A livello vivaistico un’attenzione particolare deve

essere rivolta agli aspetti sanitari del materiale propagato ed in particolare alla verticilliosi (*Verticillium dahliae*). I primi risultati hanno indicato la cultivar Oblonga come un possibile portainnesto per indurre resistenza al fungo (Hartmann *et al.*, 1971). Ambrico e collaboratori (2001) studiando il portainnesto DA121 hanno osservato la sua resistenza al fungo; altri Autori (Porras Soriano *et al.*, 2003; Erten e Yildiz, 2011) hanno indicato come possibili portinnesti, in grado di ridurre gli attacchi del fungo, le varietà che in letteratura sono riportate come resistenti al *Verticillium*. I risultati ottenuti, anche se non definitivi sembrano essere molto promettenti. In tabella 4 sono riportati alcuni dei portinnesti clonali segnalati per la capacità di indurre modifiche nell’architettura delle piante e nella resistenze a stress.

Le esperienze condotte recentemente nello studio della riduzione della vigoria hanno valutato non solo il fenomeno come causa-effetto, ma hanno anche analizzato gli aspetti eco-fisiologici ed anatomici che lo sottendono (Nardini *et al.*, 2006; Gasco *et al.*, 2007; Fabbri *et al.*, 2006). Diverse ipotesi (nutrizionale, ormonale e anatomica) sono state avanzate per spiegare il controllo della crescita da parte di un portainnesto e alcuni studi hanno ipotizzato che la diminuzione sia influenzata dalle relazioni idriche della pianta. Studi recentemente condotti sono stati focalizzati su quest’ultimo aspetto, sebbene venga dimostrata una relazione tra la conduttanza idrica dell’apparato radicale e la crescita ridotta della pianta (Nardini *et al.*, 2006; Gasco *et al.*, 2007), gli Autori sono concordi nel considerare gli studi non esaustivi per spiegare i reali meccanismi connessi alla riduzione della crescita nell’uso di portinnesti considerati “nanizzanti”. Per ridurre la vigoria è stato proposto anche l’uso di “intermediari nanizzanti” da inserire tra il portainnesto e la marza (Dwarf A, Dwarf D e Dwarf H), ma la pratica è risultata alquanto laboriosa (Fiorino e Mancuso, 2003).

Un problema associato all’innesto è il lungo ciclo di produzione delle piante. È necessario, pertanto, individuare metodi che riducano i tempi e permettano l’ampliamento dei periodi utili per l’innesto. Ciò è stato ottenuto con la tecnica della semi forzatura in tunnel freddo delle piante prima e dopo l’innesto (Sottile *et al.*, 2003). Un’altra metodologia che permetterebbe di accorciare i tempi per la preparazione della pianta potrebbe essere la tecnica dell’innesto *ex vitro*; questa metodologia utilizza come marza germogli prodotti *in vitro* e semenzali come soggetti. Stessi risultati potrebbero essere raggiunti con il microinnesto che prevede che tutte le fasi siano condotte *in vitro* (Troncoso *et al.*, 1999).

Tab. 4 - Portinnesti clonali, effetti sulla pianta e cultivar utilizzata come nesto in letteratura.

Tab. 4 - Clonal rootstocks, effects on the plants and cultivar used as graft in the literature.

| Portainnesto | Effetti sulla pianta | Cultivar | Riferimento bibliografico |
|---|--|---|--|
| <i>DA 12 I</i> [®] | Riduzione della vigoria, Resistenza al Verticillium | Giarraffa | Fontanazza <i>et al.</i> , 1995 Ambrico <i>et al.</i> , 2001 |
| <i>FS-17</i> [®] | Riduzione della vigoria | Giarraffa, I-77, Peranzana, Bella di Cerignola, Carpellese | Fontanazza <i>et al.</i> , 1998 Fontanazza, 2007 |
| <i>I/77</i> | Riduzione della vigoria | Giarraffa | Fontanazza, 1998 |
| <i>Acebuche</i> <i>Morisca de Badajoz</i> | Incremento della vigoria Incremento della produzione | Gordal Savillana | Troncoso <i>et al.</i> , 1990 |
| <i>Azulejo</i> ‘Lechín de Sevilla <i>Real sevillana</i> <i>Cornezuelo</i> <i>Aloreña</i> | Incremento della vigoria | Gordal Savillana | Troncoso <i>et al.</i> , 1990 |
| <i>Cañivano</i> <i>Carrasqueña</i> <i>Gordal</i> <i>Tempranilla de la Sierra</i> <i>Manzanilla de Jaén</i> | Incremento della produzione | Gordal Savillana | Troncoso <i>et al.</i> , 1990 |
| <i>Redondilla de Logroño</i> <i>Picual</i> <i>Buidiego</i> <i>Hojiblanca</i> <i>Habichuelero</i> | Riduzione della vigoria | Gordal Savillana | Troncoso <i>et al.</i> , 1990 |
| <i>Leccino</i> <i>Leccino Compatto (LC)</i> <i>Leccino Dwarf (LD)</i> <i>Urano</i> [®] <i>Frantoio</i> <i>Frantoio Compatto (FC)</i> <i>Piantone di Mogliano</i> <i>San Martino</i> <i>Sant’Arcangelo</i> <i>Nostrale di Rigali</i> <i>Vocio</i> <i>Oblonga</i> <i>Empeltre</i> <i>DA12 I</i> <i>Lechin de Sevilla</i> <i>Verdial de Badajoz</i> <i>Hojiblanca</i> | Tolleranza al freddo Incremento della vigoria Riduzione della vigoria, Tolleranza al freddo Riduzione della vigoria, Tolleranza al freddo Riduzione della vigoria Resistenza al Verticillium Riduzione della vigoria Riduzione della vigoria Riduzione della vigoria Incremento della vigoria Tolleranza al freddo Tolleranza al freddo Riduzione della vigoria Resistenza al Verticillium Resistenza al Verticillium Resistenza al Verticillium Resistenza alla siccità e al freddo Resistenza alla siccità Resistenza alla siccità e al freddo | Moraiolo, San Felice Moraiolo San Felice Moraiolo San Felice Cornicabra San Felice, Moraiolo Moraiolo, Canino Moraiolo, San Felice Moraiolo Moraiolo Moraiolo Moraiolo, San Felice Manzanillo Cornicabra Varietà sensibili Gordal sevillana, Manzanilla de Sevilla, Morona Manzanilla de Sevilla Aloreña | Pannelli e Rosati, 2000 Pannelli, 2006 Pannelli, 2006 Pannelli e Rosati, 2000 Pannelli <i>et al.</i> , 2002 Pannelli e Rosati, 2000 Sonnoli, 2001 Porras Soriano <i>et al.</i> , 2003 Pannelli <i>et al.</i> , 2002 Rugini <i>et al.</i> , 2003 Pannelli <i>et al.</i> , 2002 Pannelli <i>et al.</i> , 2002 Pannelli e Rosati, 2000 Pannelli e Rosati, 2000 Pannelli e Rosati, 2000 Hartmann <i>et al.</i> , 1971 Porras Soriano <i>et al.</i> , 2003 Fontanazza, 2007 Fabbri <i>et al.</i> , 2004 Fabbri <i>et al.</i> , 2004 Fabbri <i>et al.</i> , 2004 |

Propagazione per talea

La possibilità di propagare l'olivo attraverso diverse organi della pianta (branche, ovuli, polloni, ecc.) è nota da tempi remoti, ma l'uso di rami di un anno o dell'anno, dotati di gemme e foglie, consente di ottenere la massima efficienza produttiva. Durante la fase di radicazione le talee devono mantenere un alto grado di turgore e buoni risultati sono stati ottenuti con la nebulizzazione (*mist o fog*). Il primo riferimento all'uso della nebulizzazione nella propagazione vegetativa riporta al 1936, quando la tecnica fu utilizzata per la radicazione di piante di cacao (Evans, 1951). Negli anni '50, grazie alla messa a punto di un sistema in grado di controllare la frequenza delle erogazioni dell'acqua, la tecnica cominciò ad essere applicata a livello vivaistico (Preece, 2003). In olivo i primi risultati furono riportati da Hartmann (1946) e in Italia da Breviglieri (1958) e Anzillotti (1961) che utilizzarono la tecnica della nebulizzazione per propagare talee delle cultivar Moraiolo e Frantoio. Successivamente la moltiplicazione per talea è diventata un sistema di largo impiego che permette di produrre rilevanti quantità di piante a costi contenuti, utilizzando strutture semplici e maestranze poco specializzate. La facile programmazione della propagazione per talea, rispetto all'innesto consente, inoltre, di avere più cicli di radicazione nello stesso anno, e di conseguenza una maggiore produzione di piante da mettere in commercio. Il sistema prevede la preparazione delle talee semilegnose costituite da un tratto di ramo con almeno 2-4 foglie e quattro nodi, il trattamento basale con fitoregolatore e la radicazione in bancali di nebulizzazione (vivai di medie e grandi dimensioni) o in cassone riscaldato (vivai di piccole dimensioni). Le fasi di un ciclo produttivo e i relativi tempi di operatività sono riportati nella tabella 5.

Questo sistema di propagazione è documentato da un'ampia letteratura scientifica; si stima che dagli anni cinquanta ad oggi siano state prodotte più di 500 pubblicazioni (Cimato, 2008) con una massima produzione scientifica ottenuta negli anni ottanta (Fabbri, 2006). In quegli anni, infatti, vennero definiti gli aspetti fisiologici e i parametri tecnici della radicazione della talea, tutt'ora utilizzati dai vivaisti. I lavori

scientifici hanno valutato la capacità di radicazione, naturale ed indotta, di più di 400 varietà di olivo e messo in risalto l'ampia variabilità presente nel germoplasma olivicolo nazionale ed internazionale; solo il 10% delle cultivar presenta una percentuale di radicazione naturale prossima al 50%, che può definirsi il livello accettabile per un sistema vivaistico efficiente ed economico. La percentuale di radicazione, tuttavia, incrementa, nelle stesse cultivar, quando le talee sono trattate con fitoregolatori con i quali oltre il 50% delle cultivar raggiunge percentuali di radicazione soddisfacenti (Cimato, 2008).

L'emissione di radici avventizie in una talea è un complesso fenomeno, definito da quattro distinte fasi interdipendenti tra loro: induzione, de-differenziazione, neoformazioni di primordi radicali ed emissione delle radici. Il suo successo dipende da una serie di fattori intrinseci, connessi allo stato vegetativo della pianta madre, al tipo di talea e al periodo della sua preparazione e di fattori estrinseci associati agli effetti dei trattamenti ormonali, al tipo e temperatura del mezzo di radicazione, alla intensità luminosa e ai parametri di nebulizzazione.

Nell'olivo, in quanto specie con un elevato numero di varietà recalcitranti, gli studi sul processo di radicazione hanno posto l'attenzione sull'efficienza del sistema in relazione alla quantità di materiale da produrre, ponendo in primo piano la regolazione dei fattori esogeni facilmente controllabili. Sono così stati standardizzati i seguenti aspetti: il substrato di radicazione costituito prevalentemente da perlite; la temperatura alla base della talea compresa tra 18 e 28 °C; i livelli di umidità in prossimità della talea intorno a 90-95%.

Lo sviluppo a livello commerciale della propagazione per talea semilegnosa è legato ai trattamenti auxinici la cui influenza è nota già dagli anni trenta, quando Zimmermann e Wilcoxon (1935), analizzando nove diverse sostanze chimiche auxino-simili, dimostrarono l'efficienza dell'acido indolbutirrico (IBA) e dell'acido alfa-naftalenacetico (NAA) nello stimolare l'emissione di radici avventizie. In olivo i primi risultati furono ottenuti da Hartmann (1946) che, sperimentando l'azione dell'IBA nella radicazione di talee semilegnose, rese tale sostanza di uso generalizzato.

Tab. 5 - Fasi del ciclo di produzione di piante moltiplicate per talea.
Tab. 5 - Stages of plant production by cutting.

| Passaggi | Fase I | Fase II | Fase III |
|---------------|--------------------------|-----------------------|-----------|
| Step 1 | Preparazione delle talee | Trapianto | Trapianto |
| Step 2 | Radicazione | Indurimento | Crescita |
| Step 3 | | Allevamento e vendita | Vendita |
| Durata (mesi) | 2-3 | 12-14 | 20-26 |

L'uso dell'IBA alla concentrazione di 2000-4000 ppm in soluzione idroalcolica al 30-40% è la pratica corrente presso i vivaisti (Cimato, 2008).

Sebbene l'IBA sia una sostanza rizogena sufficientemente efficace, le risposte non sempre soddisfacenti delle varietà difficili a radicare hanno stimolato un'intensa attività di ricerca su altri composti auxinici (IAA, NAA, 2,4-D, 2,4,5-T, 2,4,5-TP), sulla combinazione di questi con altri principi attivi e su sostanze diverse dalle auxine. Interessanti risultati furono ottenuti, tra gli anni '50 e '70, con l'impiego delle vitamine B1 e B6 e con l'uso combinato delle auxine con alcuni fungicidi o con una soluzione nutritiva (Cimato e Fiorino, 1980). Successivamente un incremento nella percentuale di radicazione, nel numero di radici emesse e una loro maggiore uniformità, furono ottenuti associando all'ormone l'acido 1-Aminociclopropanecarboxylic (ACC) (Fabbri *et al.*, 2004), l'acido borico (Briccoli Bati, 1986), le poliammine, in particolare la putrescina (Rugini *et al.*, 1990), il Paclobutrazolo e l'Urea-fosfato (due ritardanti di crescita), che agiscono sul controllo e il bilancio di promotori e inibitori della radicazione (Weismann e Lavee, 1995), e l' H_2O_2 (Rugini *et al.*, 1990; Sebastiani *et al.*, 2002). L'uso di sostanze sostitutive, sebbene efficace, è spesso riportato per poche cultivar e alle volte è privo di ripetibilità, pertanto le recenti ricerche sono concentrate sui "classici" fitoregolatori (IBA e NAA) e sui loro livelli ottimali in relazione al genotipo (Fernandes Serrano *et al.*, 2002; İsfendiyaroglu e Özeker, 2008).

Altre strategie furono messe in atto per migliorare la rizogenesi, come la bagnatura delle talee e l'intaccatura alla base della stessa o trattamenti fogliari con fitoregolatori (Fabbri *et al.*, 2004); tuttavia l'aumento dei costi legato ai trattamenti ha limitato il trasferimento di tali tecniche all'attività vivaistica commerciale.

Un aspetto che sta assumendo importanza in questi ultimi anni è la sostituzione dell'auxina sintetica (IBA) con quelle naturali, in modo particolare nella preparazione in vivaio di materiale di propagazione per l'agricoltura biologica. I regolamenti comunitari (Regolamento CE 2092/91 e successivi) sebbene prevedano, in via transitoria, l'uso di piante derivate da agricoltura convenzionale, indirizzano le scelte verso materiale vegetale ottenuto conformemente alle norme biologiche che non consentono l'uso di principi chimici. Differenti prodotti organici con azione auxino simile (Auxym oligo, Micor+AA, estratto di alghe, Sm-6, Terabal Organico) sono stati utilizzati nella propagazione di talee semilegnose di alcune varietà spagnole (Centeno e Gomez-del-Campo, 2008). Alcune sostanze potrebbero essere utilizzate in alternativa all'IBA ma è necessario valutare e definire la durata e la con-

centrazione dei trattamenti, l'azione su altre varietà e gli effetti sullo sviluppo del germoglio.

La scarsa stabilità chimica e la limitata solubilità in acqua delle auxine naturali ha portato alla definizione di differenti procedimenti di somministrazione (salificazione, soluzione idroalcolica, pasta di lanolina, polvere di talco); il preparato idroalcolico, come sistema più efficace, è il procedimento standardizzato in vivaio. L'azione del trattamento è stata potenziata dalla complessazione dell'ormone con ciclodestrine, oligosaccaridi ciclici in grado di rilasciare l'ormone in modo graduale. I risultati ottenuti hanno evidenziato nel 'Leccio del Corno', una cultivar a difficile radicazione, un miglioramento sulla percentuale delle talee radicate e sul numero di radici prodotte (Mura *et al.*, 1995). L'effetto positivo del formulato è stato attribuito alla migliore traslocazione dell'ormone e alla scarsa tossicità quando utilizzato a concentrazioni più elevate. Ciò potrebbe risultare vantaggioso qualora sia necessario applicare, in relazione allo stadio fisiologico della talea, alte concentrazioni di auxina, per evitare pericolosi effetti fitotossici. La possibilità di avere a disposizione prodotti commerciali così definiti potrebbe sviluppare ulteriormente la tecnica.

Di notevole interesse tecnico è la conoscenza del processo rizogenetico, variabile nel corso dell'anno e negli anni (Fiorino e Mancuso, 2003), nella sua complessità e in riferimento ai fattori endogeni che influenzano l'acquisizione della competenza rizogena e l'emissione di radici avventizie. Briccoli Bati (1981) ha definito due periodi temporali in cui si ha il massimo potenziale rizogeno; un ciclo estivo (maggio luglio), coincidente con la massima crescita vegetativa e un ciclo autunnale (ottobre novembre) che precede il decremento dell'attività vegetativa. Queste risposte, tuttavia, non sono univoche in quanto marcate differenze nella percentuale di radicazione sono state osservate nel tempo per una stessa cultivar mentre a livello vivaistico si può registrare uno scostamento dai valori percentuali di radicazione riportate in letteratura (Sonnoli, com. pers.).

Ad oggi, tuttavia, non si è ancora in grado di fornire una valida spiegazione al perché le cultivar di olivo mostrano marcate differenze nella risposta rizogenetica. Le prime esperienze rilevarono che il processo rizogenetico fosse favorevolmente influenzato dalla presenza nella talea di complessi rizogeni endogeni, senza fornire ulteriori chiarimenti. È stato ipotizzato che nei tessuti di talee a difficile o a facile radicazione possano registrarsi delle differenze tra l'IAA trasportato e l'IAA accumulato e/o una diversa velocità nel suo metabolismo; ancora si può supporre un controllo inibitore di altri ormoni, quali ad esempio ABA che

agisce da antagonista delle citochinine e gibberelline, inibitori del processo, o una diversa sensibilità all'auxina o una differente competenza per la de-differenziazione dei primordi radicali. In quest'ottica alcuni ricercatori (Ayoub e Qrunfleh, 2006; Aslmoshataghi e Shahsavari, 2010) hanno valutato, in foglie e gemme di talee di cultivar con diversa risposta rizogenetica, i livelli endogeni di promotori e inibitori. Le ricerche hanno confermato la variazione temporale delle auxine endogene e l'influenza positiva esercitata da queste sul processo ed evidenziato la mancanza di correlazione tra i cambiamenti nella concentrazione dell'ormone e la percentuale di radicazione (Ayoub e Qrunfleh, 2006). Altri Autori hanno studiato il fenomeno in relazione all'età della talea, al suo stato nutrizionale o hanno posto l'attenzione sull'azione svolta dai carboidrati endogeni nel processo rizogenetico. Quest'ultimi agiscono come fonte energetica e materiale strutturale delle cellule al momento dello sviluppo dei primordi radicali, influenzando positivamente il processo stesso. È noto che la radicazione risulta migliore quando le talee mostrano, sia all'inizio del processo sia durante, un contenuto endogeno elevato in carboidrati non strutturali. In uno studio condotto da Bartolini e collaboratori (2008) è stato messo in evidenza che la più alta percentuale di radicazione è correlata alla maggiore quantità iniziale di zuccheri totali (in particolare mannitolo) presenti nella talea. Risultati simili sono stati ottenuti da altri Autori (Aslmoshataghi e Shahsavari, 2010) su cultivar differenti. L'andamento del contenuto in zuccheri e la presenza delle foglie sulle talee semilegnose sono direttamente o indirettamente correlati all'attività fotosintetica. In talee semilegnose delle cultivar Leccino e Frantoio, è stata valutata la fotosintesi netta durante la permanenza delle talee in nebulizzazione (Proietti *et al.*, 2003). L'aumento nell'attività fotosintetica durante la rizogenesi è stata valutata positivamente durante il processo di radicazione e gli Autori propongono, per rendere più efficiente il sistema, un incremento dell'intensità luminosa, nelle condizioni di serra, senza però alterare gli altri parametri (in particolare l'umidità).

L'emissione di radici avventizie è stata valutata anche in relazione all'aspetto morfoanatomico delle talee; le prime esperienze (Ciampi e Gellini, 1958) evidenziarono l'impedimento all'emissione di radici causato dalla presenza di una guaina sclerenchimatica immersa nel floema. A conclusioni diverse sono giunti altri studiosi (Fabbri, 1980) i quali evidenziarono che la capacità rizogena non è correlata alla conformazione anatomica, e, in alcune cultivar, alla formazione di callo (Ayoub e Qrunfleh, 2006).

È chiaro, tuttavia, che un singolo studio e l'analisi di singoli fattori, non possono spiegare in toto il fenomeno e i considerevoli progressi raggiunti nella propagazione per talea semilegnosa in olivo devono rappresentare "il punto di partenza" per un miglioramento della tecnica che deve sostenere l'attività vivaistica commerciale con un abbattimento del costo della pianta prodotta. Seguendo questo indirizzo gli studi dovrebbero essere concentrati, anche in olivo, al monitoraggio dei parametri indicativi di uno stato fisiologico o metabolico favorevole alla rizogenesi delle piante madri e/o dei tessuti coinvolti nella radicazione e alla ricerca di marcatori della rizogenesi. Lo stato fisiologico della pianta madre è di estrema importanza e l'individuazione del momento in cui si verificano le condizioni più favorevoli alla rizogenesi si tradurrebbe in una amplificazione degli effetti dei trattamenti auxinici, con importanti riflessi applicativi ed economici. Lo stato fisiologico di una pianta madre può essere monitorato anche con sistemi fisici che sono rapidi e non distruttivi. Valori di impedenza elettrica (EI), misurati sulla pianta madre per monitorare la capacità rizogena di una talea, sono stati monitorati sulla cultivar Minerva® da Mancuso (1998). Questo metodo viene principalmente utilizzato per lo studio delle proprietà fisico-chimiche delle membrane vegetali ed è un metodo diagnostico basato sulla rilevazione delle proprietà elettriche passive di un materiale mediante osservazione della risposta dei tessuti al passaggio di una corrente elettrica alternata e il suo utilizzo si presta facilmente ed efficacemente al monitoraggio delle modifiche chimico-fisiche di un tessuto vegetale. L'autore ha rilevato la variazione dei parametri di impedenza in relazione a variazioni fisiologiche della pianta madre relazionandole alla capacità di radicazione della talea.

Ad oggi, tuttavia, nulle o scarse sono le informazioni circa l'interazione tra le condizioni ambientali e lo stato fisiologico e fenologico della pianta madre e la sua influenza sull'emissione di radici nella talea. Scarsi sono, anche, gli studi che hanno cercato di individuare un marcatore del processo rizogenetico nella talea d'olivo. Bartolini e collaboratori (2008) hanno focalizzato l'attenzione sulla sintesi di specifiche proteine coinvolte, mentre altri studiosi (Arnholdt-Schmitt *et al.*, 2006; Santos Macedo *et al.*, 2009), hanno correlato la radicazione all'attività enzimatica dell'ossidasi alternativa (AOX) considerando l'enzima un possibile marcatore funzionale del processo.

Propagazione in vitro

Nel 1922 fu pubblicato il primo testo di interesse relativo alle tecniche *in vitro* per la propagazione vege-

tativa delle piante (Knudson, 1922) e successive esperienze hanno definito le condizioni di coltura e quelle ambientali alle quali si aveva un ottimale sviluppo di una nuova pianta. Un significativo passo avanti fu fornito dato da Murashige e Skoog (1962), i quali idearono un eccellente mezzo di coltura che ancora oggi rappresenta il più comune substrato in uso.

La micropropagazione presenta numerosi vantaggi quali: ottenere un elevato numero di piante partendo da una singola pianta madre e in spazi e tempi ridotti (è possibile produrre più di 100.000 piante in un periodo di 12 subculture); la possibilità di modulare la produzione in funzione della domanda; produrre materiale vegetale geneticamente, fisiologicamente e fenotipicamente uniforme; assicurare la garanzia fitosanitaria del materiale e facilitare il trasferimento e la commercializzazione di piante radicate *in vitro* nei Paesi dove sono in vigore restrittive leggi fitosanitarie.

Micropropagazione

Le prime esperienze di micropropagazione sull'olivo risalgono agli anni settanta (Scaramuzzi e De Gaetano, 1974), ma grazie agli studi di Rugini e Fontanazza (1981) e di Fiorino e Leva (1986), che valutando le specifiche esigenze nutrizionali dell'olivo hanno definito due substrati denominati rispettivamente OM (Rugini, 1984) e MSM (Leva *et al.*, 1995), la tecnica entra di diritto tra i sistemi di propagazione clonale applicabili all'olivo.

La micropropagazione per stimolazione di gemme ascellari è la tecnica proposta nella attività vivaistica olivicola; questa si basa sulla miniaturizzazione di un germoglio e la sua successiva rapida crescita su un mezzo nutritivo in condizioni ambientali controllate. Le fasi nel ciclo produttivo della micropropagazione, successive alla preparazione della pianta madre, sono riportate nella tabella 6.

Le fasi II, III e IV in olivo (tab. 6) presentano tuttora problemi di varia natura che fanno della micropropagazione una tecnica ancora non standardizzabile ed in grado di sostituire, nella attività vivaistica, le classiche tecniche di propagazione.

La fase di proliferazione (fase II), la cui durata è

compresa tra 30 e 60 giorni (in relazione al genotipo), ha lo scopo di aumentare il numero di nuovi germogli, che nell'olivo sono formati da microtalee uninodali o binodali. L'olivo si caratterizza per un basso coefficiente di proliferazione (numero di espianti per nodo iniziale); la sua crescita *in vitro*, infatti, avviene su un unico asse e la moltiplicazione è limitata alla sola segmentazione del germoglio principale. Questo comportamento, osservato in maniera più o meno marcata sui principali substrati utilizzati, è stato associato alla forte dominanza apicale manifestata dall'olivo nelle condizioni *in vitro* (Rugini, 1997). Le esperienze condotte allo scopo di incrementare la proliferazione si sono concentrate sia sull'uso di regolatori di crescita (Mencuccini *et al.*, 1997; Mendoza de Gyves *et al.*, 2008), sull'uso di differenti substrati (Peyvandi *et al.*, 2009), sull'eliminazione dell'apice dell'espianto (Zacchini e De Agazio, 2004) ed infine sull'applicazione della tecnica "dell'immersione temporanea", che prevede l'immersione completa dell'espianto nel substrato liquido alternata a un periodo asciutto (Lambardi *et al.*, 2006). Leva e collaboratori (1994) hanno imputato la bassa proliferazione ad un non ottimale substrato di crescita *in vitro* ed in particolare alla fonte energetica. I migliori risultati sono stati ottenuti in espianti allevati su un mezzo addizionato di mannitolo, che è divenuta la fonte energetica prevalentemente usata nella coltura *in vitro* dell'olivo. Il mannitolo potrebbe svolgere non solo un ruolo energetico, influenzando positivamente la crescita lineare dell'espianto *in vitro*, ma anche modificare il modello di sviluppo favorendo la crescita di più germogli sullo stesso espianto (Leva *et al.*, 1994; 2004).

La radicazione (fase III) è la fase conclusiva del ciclo *in vitro* con la produzione di una pianta completa in grado di vivere autonomamente. La radicazione può essere di due tipi: *in vitro* e *in vivo*. Il primo sistema prevede o il trasferimento del germoglio in un mezzo nutritivo a concentrazione minerale ridotta e addizionato di auxine o l'immersione, per pochi secondi dello stesso in una soluzione sterile di IBA e successiva coltura su mezzo nutritivo (Fabbri *et al.*, 2004). Miglioramenti nel processo sono stati ottenuti

Tab. 6 - Schema del ciclo di produzione delle piante micropropagate. Fase I = organizzazione della coltura asettica (raccolta del materiale, sterilizzazione e messa in coltura); Fase II = proliferazione; Fase III = radicazione; Fase IV = acclimatazione.
Tab. 6 - Production stages of micropropagated plants. Stage I = organization of aseptic culture (material collection, sterilization and establishment in culture); Stage II = shoot multiplication; Stage III = root formation; Stage IV = acclimatization.

| Passaggi | Fase I | Fase II | Fase III | Fase IV |
|---------------|------------------------|-----------------|-------------|--------------|
| Step 1 | Raccolta del materiale | Moltiplicazione | Radicazione | Crescita |
| Step 2 | Sterilizzazione | Segmentazione | | I trapianto |
| Step 3 | Messa in coltura | | | II trapianto |
| Durata (mesi) | 1-1,5 | 1-2 | 1 | 4 |

con l'eziolamento della parte basale dell'espianto (Mencuccini, 2002), con l'uso di contenitori che migliorano l'efficienza degli scambi gassosi (Lucchesini e Vitagliano, 2002), con un trattamento con poliammine o inoculando i germogli con *Agrobacterium rhizogenes* (Cañas *et al.*, 1992). Queste metodologie, tuttavia, rendono la radicazione *in vitro* dei germogli di olivo antieconomica in termini di lavoro, tempo e consumo di prodotti chimici; è noto, infatti, che la fase di radicazione incide per il 40% sul prezzo finale della pianta micropropagata. La radicazione *in vivo* potrebbe essere una valida alternativa, tale sistema infatti presenta alcuni vantaggi quali la riduzione dei costi, la facilità di movimentare i germogli da radicare, lo sviluppo di un apparato radicale più funzionale e la riduzione tempo per ottenere la pianta completa. Recentemente è stato proposto un protocollo nel quale la radicazione degli espianti avviene *in vivo*, il germoglio, trattato con NAA, è posto a radicare in Coco Pots in condizioni controllate (Leva, 2011).

La fase di acclimatazione (fase IV) prevede il condizionamento delle piante micropropagate dal *vitro* al *vivo*; questa fase rappresenta il punto più debole e meno studiato dell'intero processo. Le piante cresciute *in vitro* sono continuamente esposte a un particolare microambiente per ridurre al minimo le condizioni di stress e per favorire una crescita ottimale. Gli espianti, infatti, sviluppano sotto bassi livelli di luce, in condizioni di asepsi e su un mezzo nutritivo ricco di elementi nutritivi e carboidrati che favoriscono una crescita eterotrofa, in un ambiente con alti livelli di umidità. Queste condizioni possono indurre alterazioni anatomiche e morfologiche delle foglie, che sono più sensibili al disseccamento e meno funzionali alla acquisizione delle condizioni di autotrofia, mentre l'apparato radicale neoformato è scarsamente funzionale. È necessario impostare, durante questa fase, determinate condizioni che devono permettere lo sviluppo di un apparato radicale capace di sostenere la domanda evapotraspirativa e favorire un graduale passaggio da una situazione eterotrofa ad una autotrofa. Nel caso specifico dell'olivo, gli espianti radicali sono posti in piccoli vasi e mantenuti all'inizio in un ambiente con elevata umidità, che viene progressivamente ridotta (Fabbri *et al.*, 2004). Alcuni Autori hanno ritenuto di semplificare l'acclimatazione ponendo gli espianti radicati *in vitro*, in una serra di nebulizzazione utilizzata per le talee semilegnose (Peixe *et al.*, 2007). Nella fase di acclimatazione è necessario favorire, inoltre, la più alta sopravvivenza del materiale ottenuto evitando di incidere ulteriormente sulla sostenibilità economica del sistema. Un

incremento della sopravvivenza e un miglioramento dello sviluppo e della crescita della pianta neoformata sono stati raggiunti con l'inoculazione di funghi micorrizici (Binet *et al.*, 2007) o con un'illuminazione supplementare delle piante micropropagate (Rugini *et al.*, 2001). Le piante trasferite in campo, dopo circa 7 mesi di condizionamento, si presentavano, rispetto alle piante controllo, con un'altezza media superiore e un maggior numero di rami laterali. Sul risultato finale (massima sopravvivenza e efficiente sistema radicale), incide anche la dimensione della microtalea (da uninodale a trinodale) come osservato da Haq e collaboratori (2009).

Una limitazione che da sempre è associata alla micropropagazione dell'olivo, e che ha provocato nei vivaisti una certa diffidenza, è l'eventuale ringiovanimento manifestato dalle piante micropropagate (Zuccherelli e Zuccherelli, 2002). Sebbene per altre specie siano noti, in letteratura, fenomeni di ringiovanimento e/o variazioni epigenetiche, in olivo sono ancora poche le esperienze condotte allo scopo di monitorare eventuali variazioni somaclonali. In letteratura emergono dati contrastanti per quanto riguarda le piante micropropagate sia nelle condizioni *in vitro* sia in quelle *in vivo*. Infatti se Yari e collaboratori (2011) hanno evidenziato modificazioni morfologiche *in vitro* e Peyvandi e collaboratori variazioni molecolari (2009), Leva e collaboratori (2002; 2003) e Briccoli Bati e collaboratori (2006), rispettivamente sulle cultivar Moraiolo i primi e Carolea e Nocellara Etnea i secondi, non hanno rilevato alcuna modificazione morfologica o di ringiovanimento. Le piante micropropagate non hanno mostrato cambiamenti nell'entrata in produzione e nelle potenzialità produttive, in particolare già al terzo anno era rilevabile una produzione sufficiente. Gli studi condotti sulla cultivar Maurino, hanno valutato, con analisi chimiche e sensoriali, l'olio ottenuto dalle piante micropropagate confrontandolo con quello ottenuto da piante-talea, non è stata evidenziata alcuna differenza sostanziale. Le piante micropropagate mostravano uniformità genetica e con analisi molecolari non sono state evidenziate differenze genetiche tra le piante da talea e le piante *in vitro* derivate (Leva *et al.*, 2002). Mencuccini e Pollacci (2003), invece, hanno osservato rami con aspetto giovanile nelle piante ottenute *in vitro* delle cultivar Canino, Frantoio e Moraiolo, mentre nessuna analoga manifestazione era presente nelle cultivar Kalamata e FS17. I risultati non omogenei indicano che nella risposta alle condizioni *in vitro* giocano un ruolo fondamentale molti fattori, quali il materiale dal quale si prelevano gli espianti (piante propagate da polloni manifestano caratteri spiccatamente

mente giovanili), le condizioni di acclimatemento delle piante micropropagate e il substrato utilizzato nella fase di proliferazione. Pertanto, attenzione deve essere data al protocollo usato *in vitro* ed in modo particolare qualora questo debba essere rilasciato per attività vivaistiche commerciali. Ciò deve avvenire solo dopo aver monitorato il comportamento vegeto-produttivo della pianta matura in campo.

Malgrado gli innumerevoli progressi ottenuti nella micropropagazione in olivo, la tecnica non ha ancora un posto di rilievo nell'attività vivaistica commerciale. I motivi sono principalmente da ricercare nella difficoltà della standardizzazione del sistema in quanto il risultato finale sembra essere genotipo dipendente.

Semi Sintetici

Recentemente alcune ricerche sono state indirizzate all'individuazione e alla messa a punto di tecnologie innovative da "integrare" alla micropropagazione, con l'obiettivo di implementare le potenzialità dell'impiego di materiale *vitro*-derivato. Trattasi in particolare degli studi, sempre più numerosi a livello mondiale, inerenti l'incapsulamento in alginato di calcio di espianti di vario tipo per l'allestimento dei semi sintetici, che ha già fornito interessanti risultati in molte specie legnose. Questa tecnologia consente di combinare alcune caratteristiche proprie dei semi gamici (come le dimensioni ridotte e la facilità di gestione) con i vantaggi della micropropagazione. Il concetto di incapsulamento nasce essenzialmente con Murashige (1978), che parla di seme artificiale (o seme sintetico) utilizzando embrioni somatici come quelli impiegati da Kitto e Janick, che nel 1982 pubblicarono per la prima volta un lavoro inerente questa nuova tecnologia facendo ricorso ad una matrice di glicole poliossietilenico (Polyox). Solo nel 1984 Redembaugh e collaboratori allestirono semi sintetici di erba medica in alginato, sostanza questa capace di assicurare un rivestimento con funzione trofica e protettiva a propaguli bipolari, cioè dotati di un polo vegetativo e di un polo radicale. Tuttavia, poco dopo, Bapat e collaboratori (1987) avviarono una nuova fase degli studi sull'incapsulamento, proponendone l'applicazione ad altre tipologie di espianto *vitro*-derivato, di pochi millimetri di lunghezza, quali apici, nodi o microbulbi, capaci (o resi capaci) di evolvere in plantula, cioè di convertire anche dopo eventuale stoccaggio, una volta seminati in condizioni di asepsi o *in ex vitro* (Redembaugh, 1993). Recentemente, infine, è stato proposto il concetto di capsula (Micheli *et al.*, 2007) per identificare qualsiasi porzione di tessuto vegetale *vitro*-derivato, che, inglobata in alginato di calcio e utilizzata per la conservazione di breve o

lungo termine o per lo scambio di germoplasma tra laboratori (Kumar *et al.*, 2010), può essere successivamente reimpiegata per la micropropagazione, essendo capace di evolvere in un germoglio.

Specificatamente per l'olivo gli studi inerenti l'incapsulamento hanno riguardato principalmente l'individuazione della tipologia degli espianti da utilizzare, la composizione della matrice incapsulante (endosperma artificiale), gli effetti di questa sulla capacità vegetativa (ripresa) dei propaguli, l'efficacia di alcuni trattamenti induttivi, la possibilità di impiegare le basse temperature per lo stoccaggio e l'individuazione e l'ottimizzazione di specifiche procedure per conseguire il germogliamento da capsula o la conversione dei semi sintetici. Allo stato attuale gli espianti vegetativi più idonei sembrano essere rappresentati dalle microtalee, porzioni uninodali prelevate dai germogli *vitro*-derivati, di 3-4 mm di lunghezza, prive di foglie e provviste di gemme apicali o ascellari (fig. 1). Sebbene i primi studi avessero mostrato la maggiore capacità di ripresa degli espianti apicali (Micheli *et al.*, 1998), ulteriori ricerche sono state condotte per migliorare la capacità di ripresa delle microtalee ascellari; in particolare si è cercato sia di ottimizzare la composizione dell'endosperma artificiale sia di somministrare trattamenti specifici atti a promuovere la schiusura delle gemme (Micheli *et al.*, 2007). Micheli e collaboratori (2002) hanno condotto studi preliminari, per verificare la possibilità di produrre semi sintetici di 'Canino' a partire da embrioni somatici. Gli studi successivi sono stati indirizzati all'impiego delle microtalee e da questi studi si evince che la risposta degli espianti è genotipo dipendente (fig. 2). In olivo, inoltre, sono state condotte interessanti esperienze volte sia a valutare l'effetto di

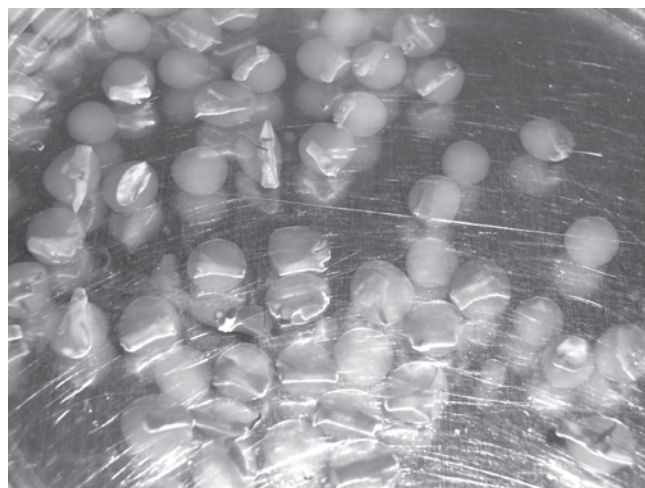


Fig. 1 - Microtalee di olivo incapsulate in alginato di calcio.
Fig. 1 - Encapsulate olive microcuttings encapsulated in calcium alginate.

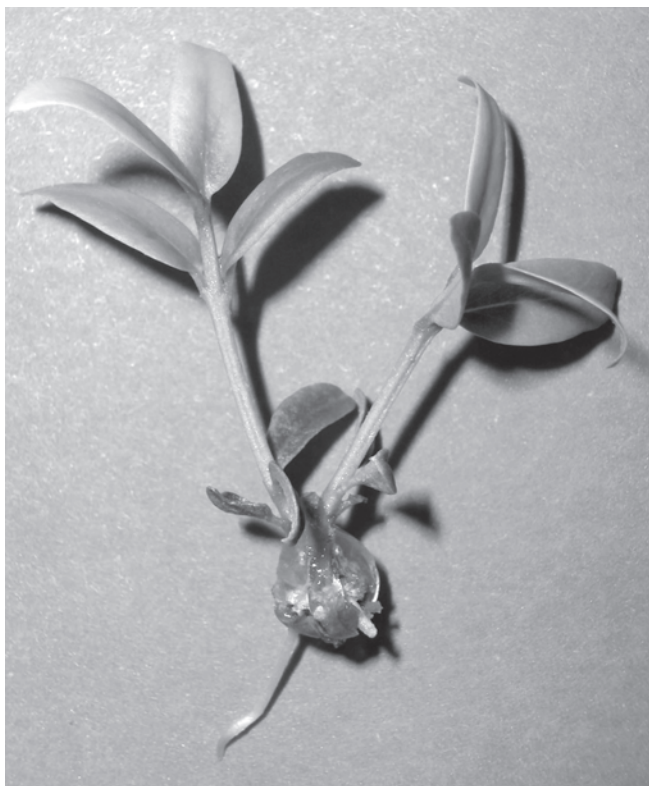


Fig. 2 - Conversione di un seme sintetico di 'Dolce Agogia'.
Fig. 2 - 'Dolce Agogia' synthetic seed conversion

trattamenti a base di auxine, prima o dopo l'incapsulamento (Micheli *et al.*, 2006) sia a valutare la possibilità di stoccaggio dei semi sintetici a 4°C (Ikhtaq *et al.*, 2010) come tecnica di conservazione del germoplasma.

Tecniche di crescita in vivaio

Negli anni settanta alcuni vivaisti toscani utilizzarono il contenitore per l'allevamento e per la commercializzazione di piante di olivo. Sebbene la propagazione per talea si fosse affermata da tempo, i vivaisti non completavano l'intero ciclo di produzione della pianta fuori suolo, ma effettuavano, in piccoli vasi, la sola fase di indurimento. Successivamente, sulla base di quanto avveniva per le altre specie, anche per l'olivo l'allevamento in contenitore divenne tecnica standard: le talee radicate venivano poste in contenitori di torba e/o di plastica dal volume utile di 300-400 ml, per il periodo di indurimento (2-4 mesi), e successivamente trasferite in contenitori di plastica di volume compreso tra 2,5-3,5 litri (Bartolini e Petruccelli, 1990). Queste condizioni di allevamento sono tuttora in uso nella tecnica vivaistica e sono valide anche per le piante prodotte tramite altri sistemi di propagazione.

Il "sistema contenitore", derivante dall'associazione di substrato, concimazione e irrigazione, permette la massima crescita delle piante e l'ottenimento di

materiale vegetale di qualità superiore, riduce i tempi di produzione e vendita, amplia i periodi di impianto, aumenta la densità delle piante per unità di superficie del vivaio, agevola la meccanizzazione delle operazioni colturali, semplificando così l'intero ciclo produttivo. È però richiesta una programmazione di filiera, una attenta preparazione del substrato e un controllo nelle operazioni di crescita e trapianto.

I primi contenitori erano classici vasi di terracotta, sostituiti successivamente da quelli in polietilene che sono di basso costo, leggeri, in grado di ridurre la perdita di acqua e riutilizzabili. La forma più comune è quella quadrata, mentre il volume dipende dalla fase del ciclo di produzione. Queste due caratteristiche influenzano in modo particolare lo sviluppo dell'apparato radicale che può andare incontro a fenomeni di 'invecchiamento' o di deficienza idrica o nutrizionale, compromettendo la crescita finale. Un altro aspetto negativo che si può verificare nel contenitore è la crescita spiralizzata delle radici che può sia compromettere lo sviluppo delle radici secondarie e provocare quindi una riduzione della crescita e determinare problemi di ancoraggio al momento della messa a dimora. Lo sviluppo tecnologico si è indirizzato verso contenitori di forma tronco-conica, allungati in senso longitudinale con sagomature diverse sulle pareti interne per favorire la crescita delle radici nella zona più esterna del substrato (Cimato e Petruccelli, 2006).

I primi substrati colturali utilizzati nei vivaisti erano costituiti da semplice terreno agricolo, ma ben presto la non funzionalità di questo materiale ha indirizzato verso "substrati artificiali", cioè miscele di composti organici (torba, cortecce, segatura, rifiuti urbani, ecc.) e inorganici (sabbia, pomice, perlite, vermiculite, ecc.). Per le sue caratteristiche chimico-fisiche la torba rappresenta il materiale normalmente utilizzato nella vivaistica in contenitore con l'aggiunta di altre sostanze (vermiculite, sabbia, pomice, perlite, ecc.) per migliorarne le caratteristiche e per ridurre il costo. Tuttavia il costo elevato della torba, la sua sempre minore disponibilità a causa di restrizioni ambientali e la possibilità di utilizzare sottoprodotti locali hanno portato all'utilizzo di materiali alternativi come ad esempio materiali di rifiuto di origine diversa (compost). La sostituzione o la riduzione della torba con materiali alternativi per la costituzione del substrato (miscele di cortecce e fanghi dell'industria dolciaria, raspi e fanghi della depurazione urbana, ecc.) non ha compromesso la crescita delle piante, ma l'ha al contrario favorita, insieme ad un buon sviluppo vegetativo delle piante di olivo (Tattini *et al.*, 1991). Negli anni novanta è stata utilizzata, come matrice vegetale la "polvere di cocco" in miscela con la torba e la

pomice (Cimato *et al.*, 2001). Sebbene siano stati osservati interessanti risultati sulla crescita delle piante e sulla ripartizione della biomassa l'uso di questo materiale non ha trovato applicazione nei vivaia a causa dell'alto costo e delle difficoltà nel reperimento. Recentemente compost ottenuti da scarti della produzione dell'olio di oliva sono stati utilizzati, in sostituzione totale o parziale della torba, nelle fasi di indurimento e crescita di piante autoradicate di olivo con promettenti risultati (Proietti e Nasini, 2005; Santilli *et al.*, 2011; Gigliotti *et al.*, 2011).

La nutrizione delle piante in vivaio avviene mediante l'utilizzo di: 1) concimi a lento rilascio, 2) fertirrigazione, 3) impiego dei due sistemi. Ciò che condiziona la scelta di una tecnica rispetto all'altra sono le dimensioni aziendali; normalmente le piccole aziende utilizzano il primo sistema, quelle di dimensioni maggiori si orientano verso il secondo o terzo sistema. In ogni caso un razionale piano di fertilizzazione consiste nel somministrare un'adeguata quantità di elementi minerali riducendo al minimo l'impiego dei concimi. L'obiettivo è, chiaramente, quello di ridurre il costo di produzione e, soprattutto, limitare il più possibile l'inquinamento ambientale provocato dai nutrienti veicolati dalle acque di drenaggio. A livello teorico la nutrizione delle piante in vivaio dovrebbe essere in relazione alla fase di sviluppo della pianta. Infatti, nella prima fase di crescita si dovrebbe far ricorso ad una limitata dotazione nutritiva, utilizzando preferibilmente fertilizzanti "a lenta solubilizzazione" o "a rilascio controllato" per evitare problemi di tossicità. Nella fase d'allevamento si dovrebbe, invece, ricorrere alla fertirrigazione per stimolare la rapida crescita della pianta e per ottenere piante qualitativamente idonee (altezza di 1,40-1,60 cm ed equilibrata presenza di rami laterali). Tattini e collaboratori (1990) hanno valutato la crescita di piante di olivo somministrando soluzioni nutritive modificate nei rapporti e nei livelli dei singoli elementi. Gli Autori definirono un livello ottimale di concentrazione al di sopra del quale l'assimilazione e di conseguenza la produzione di biomassa erano sostanzialmente ridotte. La definizione di una ottimale formulazione di nutrienti ha avuto scarsa applicazione pratica e ad oggi l'impresa vivaistica utilizza prevalentemente o esclusivamente concimi a lento effetto.

Affinché l'attività vivaistica sia sempre più competitiva è necessario ridurre i tempi di produzione della pianta pronta per la vendita, pertanto è nella fase di allevamento che si può intervenire cercando di ottenere una più rapida crescita e un miglioramento qualitativo delle produzioni. Questi risultati possono essere raggiunti con inoculi di micorrize. È stato dimostrato

infatti che la simbiosi micorrizica migliora il trasferimento di elementi nutritivi alle radici, garantisce una maggior crescita delle piante e stimola la formazione di un apparato radicale più dinamico, perché più esteso e ramificato (Citernesi *et al.*, 1998; Briccoli Bati *et al.*, 2003; Porras Soriano *et al.*, 2009).

Qualità delle piante prodotte in vivaio

L'impiego di piante sane e di un genotipo certo è una premessa indispensabile per garantire all'olivicoltore buoni risultati in termini di produzione e di longevità dell'oliveto (Saponari *et al.*, 2009).

Per quanto riguarda l'aspetto sanitario, l'olivo, pur se apparentemente poco gravato da problemi fitosanitari ascrivibili a parassiti trasmissibili con il materiale di propagazione, è affetto da malattie, di maggiore o minore rilevanza economica, di origine fungina, batterica, virale e fitoplasmica. Tra queste, la verticilliosi è divenuta particolarmente grave negli ultimi anni in seguito alla diffusione dell'irrigazione. Gli agenti virali segnalati su olivo generalmente sono associati a infezioni latenti. Le condizioni di latenza, di mascheramento o di fase d'incubazione, senza sintomi evidenti d'infezione, possono causare il prelievo di materiale di propagazione da piante madri infette, con conseguente produzione di materiale clonale anch'esso infetto. Infatti, è stato rilevato che un'elevata percentuale di alberi negli impianti olivicoli sono infetti da uno o più virus, spesso in forma latente. Alcune delle specie virali segnalate su olivo, come ad es. il virus della maculatura anulare latente della fragola (SLRV) e il virus della necrosi del tabacco (TNV), sono polifagi e importanti per altre colture (per es. ortive, pesco, vite ecc.). L'olivo, quindi, pur non subendo in genere danni apprezzabili a seguito delle infezioni da virus, può fungere da serbatoio e mezzo per la loro diffusione tramite vettori quali i nematodi, in particolare nei confronti di pesco e vite. Allo stato attuale per le malattie causate da patogeni sistemici non esistono efficaci mezzi di lotta diretti. Possono essere adottati, quindi, solo interventi preventivi quali, in primis, l'impiego di materiale di propagazione sano.

Autorizzazione all'attività vivaistica DL 19 agosto 2005, n. 214

L'ordinamento giuridico italiano ha disciplinato l'attività vivaistica non tanto per la rilevanza che essa ha di per sé, ma in quanto la regolamentazione di tale attività, principale causa di diffusione dei parassiti, è un mezzo efficace per la difesa delle piante coltivate. Il DL 19 agosto 2005, n. 214, stabilisce che chiunque svolga attività di produzione e commercio dei vegetali

deve essere in possesso di apposita Autorizzazione. Il rilascio dell'Autorizzazione spetta ai Servizi Fitosanitari Regionali (SFR) competenti per il territorio e deve essere richiesta dai produttori, dai commercianti all'ingrosso e dagli importatori da Paesi terzi di piante e dei relativi materiali di propagazione. Sono esonerati dal possesso dell'Autorizzazione i commercianti al dettaglio che vendono vegetali a persone non professionalmente impegnate nella produzione dei vegetali.

I SFR stabiliscono le procedure per il rilascio delle Autorizzazioni a seguito dell'accertamento dei requisiti di professionalità e della dotazione minima delle attrezzature occorrenti, in funzione del tipo di attività e per ogni categoria di richiedente l'Autorizzazione.

Intervento dell'Unione Europea sulla commercializzazione dei materiali di moltiplicazione vegetale

L'Unione Europea (UE) con una serie di Direttive ha introdotto degli standard obbligatori minimi di qualità sanitaria e genetica ("Qualità CE"), meno restrittivi rispetto a quelli volontari previsti dalla certificazione nazionale italiana come più avanti descritto (Savino, 2007). Oltre alla parte fitosanitaria, che impone l'assenza degli "organismi di qualità", cioè di quelli che potrebbero incidere sul valore della pianta, la Qualità CE riguarda anche la certificazione varietale: il nome della varietà deve essere obbligatoriamente riportato sui documenti di commercializzazione. Tale aspetto è interessante anche per i risvolti sulla produzione di olio a denominazione di origine protetta (DOP).

La Direttiva fondamentale in materia è la 28/4/1992 n. 92/34/CEE, relativa alla commercializzazione dei materiali di moltiplicazione delle piante da frutto e delle piante da frutto destinate alla produzione di frutti, che prende in esame 22 specie, fra le quali anche l'olivo. La normativa italiana di riferimento è il DPR 21 dicembre n. 697 (ora abrogato) e il DM 14 aprile 1997 che hanno recepito le direttive della Commissione. Successivamente, la normativa europea è stata modificata con la pubblicazione della Direttiva 2008/90/CE ("Commercializzazione dei materiali di moltiplicazione delle piante da frutto destinate alla produzione di frutti"), recepita in Italia con DL 124 del 25/6/2010.

In conformità a tali normative, il fornitore (cioè "qualsiasi persona fisica o giuridica che esercita professionalmente almeno una delle seguenti attività riguardanti i materiali di moltiplicazione o le piante da frutto: riproduzione, produzione, protezione e/o trattamento, importazione e commercializzazione") si assume la responsabilità che le piante prodotte possiedano le garanzie fitosanitarie, agronomiche e di identità varietale indicate dalle normative. A tal fine i

vivaisti e le altre categorie interessate alla produzione e commercializzazione delle piante e del materiale di propagazione, per operare, devono essere accreditati a livello comunitario. L'accreditamento va richiesto all'organismo pubblico responsabile (in genere al SFR) competente per il territorio ove la ditta ha la sede legale, sulla base di un dossier in cui, fra l'altro, gli interessati devono descrivere la loro attività, la propria azienda, il processo produttivo e i relativi punti critici, indicando in quali fasi verranno effettuati i previsti autocontrolli e i laboratori abilitati ai quali si rivolgeranno per le analisi necessarie. L'organismo pubblico verifica che la ditta sia in grado di attuare un processo produttivo tale da soddisfare i requisiti indicati dalle direttive in merito a strutture, attrezzature e conoscenze professionali. Per quest'ultime il richiedente deve possedere uno dei titoli di studio elencati nella normativa o deve superare un colloquio atto a verificare la conoscenza delle tecniche di produzione e delle normative fitosanitarie e della commercializzazione presso i rispettivi SFR.

Sono esclusi dall'obbligo dell'accreditamento i "piccoli coltivatori", cioè coloro che producono e vendono materiale che nella totalità è destinato, come impiego finale, nell'ambito del mercato locale (provinciale), a persone o acquirenti non professionalmente impegnati nella produzione di vegetali.

Il vivaista accreditato (fornitore) si impegna, tra l'altro, a mantenere i contatti col SFR, a procedere a ispezioni visive ogni qualvolta sia necessario, o secondo le indicazioni fornite dal SFR, a tenere sempre sotto controllo i punti critici, a compilare e a tenere a disposizione del SFR gli appositi registri (di carico e scarico, delle pratiche colturali, delle varietà non protette o non iscritte a registri ufficiali, dei campionamenti effettuati, ecc.) (Barba, 2005).

Il rispetto di uno specifico disciplinare di produzione garantisce lo stato sanitario e le caratteristiche agronomiche e varietali del materiale da commercializzare, ossia garantisce la Conformità Agricola Comunitaria (CAC).

In effetti, sulla base della normativa fitosanitaria vigente, non può più essere commercializzato materiale standard, ma solamente le categorie:

- CAC che è il livello minimo di qualità imposto nell'UE. La CAC garantisce l'assenza, almeno all'esame visivo, di organismi nocivi o malattie pregiudizievoli alla qualità precisati nell'allegato (*Verticillium dahliae* Kleb, *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi*, *Saissetia oleae* Olivier, *Euzophera pinguis* Haworth, *Meloidogyne* spp., virus ed agenti virus simili); inoltre garantisce l'identità della varietà e l'assenza di qualsiasi difet-

to che possa comprometterne la qualità come materiale di propagazione (generici requisiti relativi a vigore e dimensioni soddisfacenti). In particolare, il disciplinare impedisce al vivaista il prelievo casuale del materiale di propagazione che, invece, deve provenire da piante conservate in campi di piante madri sottoposti a controlli da parte di organismi pubblici (SFR) da almeno 2 anni. Pertanto, singolarmente o in associazione, i vivaisti devono costituire i campi di piante madri oppure prendere il materiale da un fornitore accreditato, materiale che, quindi, deve essere accompagnato da un documento di commercializzazione. Il materiale CAC è a un livello superiore rispetto al tradizionale materiale standard ormai non più commercializzabile, ma fornisce minori garanzie rispetto al materiale certificato virus-controllato (VT = *virus tested*) e virus-esente (VF = *virus free*), prodotto in base al sistema di certificazione volontaria nazionale che, infatti, ingloba anche le norme obbligatorie della CAC.

- Materiali certificati VT e VF, che sono ottenuti attraverso un sistema di certificazione volontaria nazionale. Tali materiali sono prodotti sotto il controllo dell'Ente certificante attraverso un processo di filiazione diretta a partire da un'unica pianta capostipite, seguendo uno specifico disciplinare tecnico che assicura garanzie di corrispondenza varietale e fitosanitaria superiori a quelle della categoria CAC:

- il materiale VT garantisce l'assenza di alcune specifiche malattie di particolare importanza economica di origine virale (ArMV, CLRV, SLRV, OLV-1, OLYaV), fungina (*Verticillium dahliae* Kleb) e fitoplasmica, nonché l'assenza di nematodi galligeni [*Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood, *M. javanica* Treub, *Pratylenchus vulnus* Allen and Jensen, *Xiphinema diversicaudatum* Micol.) e di rogna;
- il materiale VF rispetto al VT garantisce l'assenza di un maggior numero virus, includendo il CMV, l'OLV-2 e il TNV.

In entrambi i casi, il materiale di propagazione deve essere sottoposto a controlli specifici; nel caso della CAC sotto la responsabilità del vivaista, nel caso del materiale VT e VF da parte dell'Ente Certificante.

Per il materiale CAC i controlli, salvo diversa prescrizione, sono di tipo visivo. Tutto il ciclo produttivo viene supervisionato dall'Ente certificante (SFR) che, attraverso periodici controlli, verifica l'idoneità delle varie fasi operative, ispezionando il materiale vivaistico prodotto e, in caso dubbio, ricorrendo a specifiche

analisi di laboratorio su campioni. Al vivaista è attribuita la responsabilità di garantire la rispondenza sanitaria, varietale e qualitativa in senso generale; a tal fine, ogni vivaista deve conoscere e analizzare il proprio processo produttivo, effettuare controlli nei punti critici (qualità dei materiali di moltiplicazione utilizzati, il trapianto, l'invasatura, le cure colturali generali, ecc.). Lo Stato membro ha la responsabilità di provvedere ai controlli per accertare che le capacità e le strutture dei fornitori siano adeguate e prende le misure ufficiali per eliminare gli eventuali rischi fitosanitari che possono verificarsi. I controlli in loco possono essere eseguiti anche da esperti inviati dall'UE.

Le piante VT e VF, invece, come già indicato devono essere prodotte secondo un sistema di certificazione. In Europa, però, non ne esiste ancora uno comunitario. Conseguentemente, in attesa che questo venga istituito, sono riconosciuti temporaneamente validi dall'UE i sistemi attivati nei singoli Paesi: per l'Italia è riconosciuto valido dalla UE il "Servizio di certificazione volontaria del materiale di propagazione vegetale".

La normativa prevede che il materiale CAC, VT e VF sia obbligatoriamente accompagnato da un "documento di commercializzazione". Per la categoria CAC, il documento non è necessariamente un'etichetta, ma i dati in esso previsti possono essere riportati in altri documenti che accompagnano la merce (documento di trasporto o fattura accompagnatoria). Per il materiale certificato VT e VF, il SFR competente, dopo aver espletato le attività ispettive e di controllo previste dai disciplinari, autorizza la stampa del cartellino-certificato da applicare su ogni singola pianta.

L'importazione di materiali da Paesi terzi può essere ammessa qualora questi siano stati prodotti secondo criteri equivalenti a quelli previsti dalla normativa europea.

Servizio di certificazione volontaria del materiale di propagazione vegetale

In Italia, mediante una serie di Decreti ministeriali (D.M. Agricoltura 23/10/1987, D.M. Agricoltura 6/3/1989 e D.M. Agricoltura 2/7/1991 n. 289), è stato istituito e attivato il Servizio di certificazione volontaria del materiale di propagazione vegetale (SCVMPV). Lo stesso è stato successivamente riorganizzato con i decreti del 24 luglio 2003 e del 4 maggio 2006, cui sono seguiti i decreti specifici (comunemente noti come "disciplinari") che hanno definito le norme tecniche specifiche per ciascuna specie arborea sottoposta a certificazione VT e VF (elenco dei patogeni/malattie, requisiti delle strutture, periodicità e modalità dei controlli fitosanitari e di corrispondenza varietale).

Il decreto contenente le norme tecniche per l'olivo è il D.M. 20/11/2006 ("Norme tecniche per la produzione di materiale di propagazione vegetale certificato di olivo"), che ha abrogato il precedente D.M. 16/6/1993, fissa in dettaglio i soggetti responsabili, le fasi produttive, i requisiti delle strutture di produzione, le caratteristiche d'idoneità del terreno e dei substrati, lo stato fitosanitario delle piante (parassiti da controllare per il materiale VT e VF) e le relative metodiche di analisi (principalmente tecniche di tipo molecolare) e modalità di controllo, le verifiche di corrispondenza varietale (Saponari *et al.*, 2009).

Il SCVMPV si articola nelle fasi sotto riportate (Art. 6 D.M. Agricoltura 24/07/2003), strettamente concatenate fra loro così che, a partire da piante capostipiti, attraverso successive propagazioni, si ottiene il materiale di moltiplicazione certificato utilizzato dai vivaisti per la produzione di olivi certificati.

- *Conservazione per la premoltiplicazione.* I Centri di conservazione per la premoltiplicazione (CCP) hanno valenza nazionale e possono essere ubicati presso strutture pubbliche o private purché rispondano ai requisiti definiti dal disciplinare. Attualmente, i CCP sono attivati presso il CAV di Faenza, il CRA-PAV di Roma e il DiBCA dell'Università di Bari. Nei CCP sono conservate le piante madri di categoria Prebase, con un minimo di 2 esemplari per accessione, dalle quali si preleva il materiale per la costituzione "delle piante madri di base" che serviranno ad attivare i Centri di premoltiplicazione. Presso il MiPAAF è conservato il registro delle accessioni riconosciute nel SCVMPV ed in conservazione presso i CCP.
- *Premoltiplicazione.* I Centri di premoltiplicazione (CP) possono essere ubicati presso strutture pubbliche o private riconosciute idonee dal MiPAAF. Nei CP sono conservate le "piante madri di base" per la produzione delle piante madri utilizzate nei Centri di moltiplicazione per la costituzione dei campi di "piante madri certificate"; i CP hanno lo scopo di ampliare il numero di piante disponibili per ciascuna accessione certificata al fine di soddisfare le richieste del mercato.
- *Moltiplicazione.* I Centri di moltiplicazione (CM) sono riconosciuti dai SFR competenti per il territorio e sono generalmente gestiti da singoli vivaisti o da gruppi di vivaisti. Presso i CM si ottiene il materiale di moltiplicazione "certificabile" utilizzato dai vivaisti per la produzione di olivi certificati per gli olivicoltori. Le aziende vivaistiche che intendono certificare la loro produzione, devono farne richiesta al SFR competente per il territorio che, dopo aver eseguito i controlli previsti, rila-

scia il riconoscimento e l'autorizzazione alla certificazione genetica e sanitaria.

Il sistema assicura tracciabilità, rintracciabilità, uniformità genetica e sanitaria, in quanto tutto il materiale per una determinata accessione certificata deriva da un'unica pianta capostipite definita "fonte primaria".

Conclusioni

Il fenomeno della globalizzazione ha determinato una rapida evoluzione dei mercati che ha interessato sia l'offerta, divenuta più ampia per la stessa tipologia di prodotto, sia la domanda, effettuata non solo in relazione all'utilità dei prodotti, ma considerando anche, aspetti che coinvolgono l'intero processo produttivo (struttura ed organizzazione di tutta la filiera, impatto ambientale, valorizzazione e qualità dei prodotti, ecc.). Questi cambiamenti hanno interessato anche l'olivicoltura dove si è assistito sia ad un aumento delle produzioni olivicole sia alla richiesta di un prodotto (olio) non solo con specifiche caratteristiche sensoriali e nutraceutiche, ma anche ottenuto con sistemi di produzione a basso impatto ambientale. Queste esigenze trovano, nella scelta del materiale vivaistico di adeguata qualità, la soluzione per la qualificazione e la valorizzazione delle produzioni olivicole sui mercati nazionali ed internazionali.

È pertanto necessario dare nuovo impulso e nuova vitalità al vivaismo olivicolo italiano attraverso interventi strutturali, formativi e di ricerca. Dal punto di vista strutturale sarebbero auspicabili azioni tese a favorire l'accorpamento fondiario, mediante agevolazioni fiscali e finanziarie, l'adeguamento della struttura produttiva e l'ottimizzazione delle dimensioni aziendali. È, inoltre, necessario indirizzare il comparto verso l'adeguata programmazione delle produzioni e l'oculata scelta delle varietà da propagare; in quest'ottica il vivaista deve essere in grado di produrre piante rispondenti alle esigenze richieste dai mercati nazionali ed internazionali. Gli interventi formativi dovrebbero essere mirati a favorire la capacità all'associazionismo e all'imprenditorialità, a realizzare un efficiente servizio di formazione e promozione e a sviluppare un'ideale azione promozionale del prodotto del vivaismo cioè la pianta, dell'olio extravergine d'oliva italiano, in modo particolare, sui mercati internazionali.

La ricerca ha due scopi fondamentali: uno è aiutare il vivaista nella riduzione dei costi e dei cicli di produzione delle piante, l'altro è la comprensione dei processi legati alle tecniche di propagazione. È chiaro che i due indirizzi sono interdipendenti tra loro, sistemi di propagazione e produzione più efficienti e automatizzati si tradurranno in minor costo della pianta prodotta.

Gli indirizzi che dovranno essere perseguiti possono essere riassunti nei seguenti punti:

- selezione di nuove cultivar o portinnesti con definite caratteristiche bio-agronomiche;
- conoscenza dei fenomeni che portano una cellula de-differenziata alla formazione di radici e/o germogli, attraverso lo studio dei geni attivati o repressi durante lo sviluppo di radici avventizie e germogli, lo studio della recettività delle cellule al segnale dei fitoregolatori e dei meccanismi che rendono una talea competente alla radicazione. Ciò potrà incrementare l'efficienza di radicazione di cultivar a difficile radicazione e l'efficienza della micropropagazione;
- miglioramento delle tecniche di propagazione, con particolare attenzione alla micropropagazione che necessita di una standardizzazione del protocollo di produzione;
- miglioramento delle tecniche di allevamento attraverso la ricerca di substrati alternativi e meno costosi e l'uso di sostanze che stimolano della crescita (ad esempio micorrize);
- miglioramento della qualità delle produzioni attraverso la certificazione genetico-sanitaria. La certificazione è un elemento importante dell'intera filiera che consente la rintracciabilità, individuando i capostipiti da cui deriva il prodotto vivaistico. A tal fine è auspicabile l'omologazione, su tutto il territorio, di quei cloni individuati e selezionati all'interno delle più tradizionali cultivar.

Il vivaismo olivicolo deve indirizzarsi verso la realizzazione di tali obiettivi e “per poter riaffermare l'eccellenza del suo sistema”, il comparto deve mantenere “la tradizione per le cure alla produzione e le caratteristiche del prodotto, ma deve essere tecnologicamente avanzato ed aperto alle nuove realtà” (Fiorino, 2002).

Riassunto

Il vivaismo olivicolo in Italia nasce nella seconda metà dell'ottocento in Toscana e ad oggi i principali centri di produzione sono localizzati in Toscana, Puglia, Calabria e Sicilia. Le tecniche di propagazione principalmente utilizzate in questi centri sono innesto, talea e, in minor misura, micropropagazione. La produzione di olivo italiana risulta essere soddisfacente malgrado problemi strutturali e tecnologici che accompagnano il settore. Il lavoro propone, attraverso un'analisi temporale, le innovazioni ottenute nel settore della propagazione dell'olivo (innesto, talea e micropropagazione) ed evidenzia “i punti deboli” del sistema vivaistico italiano. Una particolare attenzione è

data alle normative per la certificazione genetico-sanitaria delle piante prodotte. L'ampliamento della base varietale, i progressi nelle tecniche di propagazione e produzione e la disponibilità di piante certificate sono i punti chiave dello sviluppo del vivaismo in Italia.

Parole chiave: innesto, talea, micropropagazione, certificazione genetico-sanitaria.

Bibliografia

- AMBRICO A., LONGO O., SCHIAVONE D., CICCARESE F., 2001. *Portinnesto di olivo resistente alla verticilliosi (Olea europaea L.)*. Italus-Hortus, 8 (2): 32-35.
- ANZILLOTTI F. 1961. *La coltivazione accelerata dell'olivo e la nebulizzazione delle talee*. Italia Agricola, 8: 771-774.
- ARNHOLDT-SCHMITT B., SANTOS MACEDO E., PEIXE A., CARDOSO H.C.G., CORDEIRO A.M., 2006. *AOX-A potential marker for efficient rooting of olive shoot cutting*. In Caruso T., Motisi A., Sebastiani L. (eds) “Olivebioteq 2006”, Marsala-Mazara del Vallo, 5-10 november: 249-254.
- ASLMOSHTAGHI E., SHAHSAVAR A.R., 2010. *Endogenous soluble sugar, starch contents and phenolic compounds in easy and difficult to root olive cuttings*. J. Biol. Environ. Sci., 4(11): 83-86.
- AYOUB S.J., QRUNFLEH M.M., 2006. *Seasonal variation in rooting “Nabali” and “Rassei” olive cuttings in relation to shoot content of endogenous plant hormone*. Jord. J. Agric. Sci., 2(2):15-27.
- BAPAT V.A., MHATRE M., RAO P.S., 1987. *Propagation of Morus indica L. (mulberry) bencapsulated shoot buds*. Plant Cell Rep., 6: 393-395.
- BARBA M., 2005. *Diritti e doveri del vivaista*. Olivo e Olio, 1: 42-45.
- BARTOLINI G., PETRUCCELLI R., 1990. *I substrati nel vivaismo*. Culture Protette, 12: 49-54.
- BARTOLINI G., PETRUCCELLI R., PESTELLI P., BERNARDI R., DURANTE M., 2008. *Preliminary Study on In Vivo Rooting of two Olea europaea L. Genotypes*. Acta Hort., 791: 191-196.
- BINET M. N., LEMOINE M. C., MARTIN C., CHAMBON C., GIANINAZZI S., 2007. *Micropropagation of olive (Olea europaea L.) and application of mycorrhiza to improve plantule establishment. in vitro* Cell. Dev. Biol. Plant, 43: 473-478.
- BREVIGLIERI N., 1958. *L'olivo propagato per talea con il metodo della “nebulizzazione”*. Italia Agricola, 4: 217-226.
- BRICCOLI BATI C., 1981. *Variazione stagionale della rizogenesi in tale di olivo cv ‘Carolea’*. In I fitoregolatori in Agricoltura pp. 119-129. Firenze.
- BRICCOLI BATI C., 1986. *Gli effetti del boro sulla radicazione delle cultivar di olivo*. Ann. Ist. Sper. Oliv., 7: 13-20.
- BRICCOLI BATI C., GODINO G., BELFIORE T., 2003. *Ruolo della simbiosi micorrizica nella produzione vivaistica di piante di olivo*. Italus Hortus, 10 (4): 160-164.
- BRICCOLI BATI C., GODINO G., MONARDO D., NUZZO V., 2006. *Influence of propagation techniques on growth and yield of olive trees cultivars “Carolea” and Nocellara Etnea*. Sci. Hort., 109(2): 1723-182.
- CAÑAS L. A., AVILA J., VICENTE M., BENBADIS A., 1992. *Micropropagation of olive (Olea europaea L.)*. In Y. P. S. Bajaja (ed.) Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 18. High-Tech and Micropropagation II. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York: 493-505.
- CATALANO L., SONNOLI A., 2007. *Le prospettive del vivaismo olivicolo: la parola ai vivaisti*. Convegno Nazionale “Ricerca e trasferimento delle innovazioni tecnologiche del vivaismo olivicolo”. Progetto Interegionale Olviva, IAMB Bari 27 febbraio www.olviva.it.

- CENTENO A., GÓMEZ-DEL-CAMPO M., 2008. *Effect of root-promoting products in the propagation of organic olive (Olea europaea L. cv. Cornicabra) nursery plants*. HortScience, 43(7): 2066-2069.
- CHARLET M., 1965. *Observations sur le comportement au froid de certaines variétés et de porte-greffes d'oliviers en France*. Inf. Oleic. Intern., 31: 13-39.
- CIAMPI C., GELLINI R., 1958. *Insorgenza e sviluppo delle radici avventizie in "Olea europaea" L. L'importanza della struttura anatomica agli effetti dello sviluppo delle radichette*. Giorn. Bot. Ital., 70: 62-74.
- CIMATO A., FIORINO P., 1980. *Stato attuale delle conoscenze sulla moltiplicazione dell'olivo con la tecnica della nebulizzazione*. Inf. Agr., 38: 12227-12238.
- CIMATO A., SANI G., ATTILIO C., MARZI L., 2001. *Polvere di cocco nei substrati artificiali dell'olivo*. Inf. Agr., 44.
- CIMATO A., PETRUCCELLI R., 2006. *The olive nursery system in Italy*. Olea, 25: 27-29.
- CIMATO A., 2008. *Olive Nursery Production and Plant Production Techniques*. International Olive Council. www.internationaloliveoil.org.53-55.
- CITERNESI A. S., VITAGLIANO C., GIOVANNETTI M., 1998. *Plant growth and root systems morphology of Olea europaea L. rooted cutting as influenced by arbuscular mycorrhizas*. J. Hirt. Sci. Biotech., 73: 647-654.
- ERTEN L., YILDIZ M., 2011. *Screening for resistance of Turkish olive cultivars and clonal rootstocks to verticillium wilt*. Phytoparasitica, 39: 83-92.
- EVANS H., 1951. *Investigations on the propagation of cacao*. Trop. Agr., 28: 147-203.
- FABBRI A., 1980. *Influenza di alcuni caratteri anatomici sulla radicazione di talee di olivo cultivar "Frangivento"*. Riv. Ortoflorofrut. Ital., 64 (4):325-335.
- FABBRI A., 2006. *Olive propagation: new challenges and scientific research*. In Caruso T., Motisi A., Sebastiani L. (eds) OliveBioteq 2006, Second International Seminar "Biotechnology and Quality of Olive Trees Products around the Mediterranean Basin" (Marsala, Mazara del Vallo, 5-10 November): 411-421.
- FABBRI A., BARTOLINI G., LAMBARDI M., KAILIS S., 2004. *Olive Propagation Manual*. CSIRO Publishing, Canberra.
- FABBRI A., BEGHÈ D., GANINO T., NISI R., 2006. *Anatomical root features of two olive rootstocks of different vigour*. In Caruso T., Motisi A., Sebastiani L. OliveBioteq 2006, Second International Seminar "Biotechnology and Quality of Olive Trees Products around the Mediterranean Basin" (Marsala, Mazara del Vallo, 5-10 November), Vol. I: 457-460.
- FERNANDES SERRANO J.M., SERRANO M., AMARAL E., 2002. *Effect of different hormone treatments on rooting of Olea europaea L. cv. Galega vulgar cuttings*. Acta Hort., 586: 875-877.
- FIORINO P., LEVA A.R., 1986. *Investigation on the micropropagation of olive (Olea europaea L.) influence of some mineral element on the proliferation and rooting of explants*. Olea, 17: 101-104.
- FIORINO P., 2002. *Il Vivaismo*. In: P. Nanni, La Toscana nella storia dell'olivo e dell'olio, Accademia dei Georgogili (Firenze): 261-274.
- FIORINO P., MANCUSO S., 2003. *Tecniche di propagazione e vivaismo*. In Olea. Trattato di olivicoltura. Edagricole: 307-329.
- FONTANAZZA G., 2007. *Manuale di olivicoltura*. Nuova PromoEdit (ed.), Foligno (PG).
- FONTANAZZA G., BARTOLOZZI F., ROCCHI P., VERGARI G., PATUMI M., 1995. *Osservazione sull'olivo da mensa cv "Giaraffa" innestata su dieci portinnasti clonali "Ascolana tenera" e "Giaraffa"*. Riv. Frutticol. 12: 61-65.
- FONTANAZZA G., BARTOLOZZI F., VERGATI G., 1998. *Fs 17*. Riv. Frutt., 5: 61.
- GASCO A., NARDINI A., RAIMONDI F., GORTAN E., MOTISI A., LO GULLO M.A., SALLEO S., 2007. *Hydraulic kinetics of the graft union in different Olea europaea L. scion/rootstock combinations*. Envir. Exper. Bot., 60, 245-250.
- GIGLIOTTI G., NASINI L., ILARIONI L., MASSACCESI L., PEZZOLLA D., PILLI M., PROIETTI P., 2011. *Produzione di un compost di qualità utilizzando sansa e raspi*. Convegno "Il Convegno Nazionale dell'Olivo e dell'Olio" (Perugia 21-23 settembre).
- GODINI A., 2007. *Il vivaismo olivicolo ha bisogno di innovazione*. Inf. Agr., 16: 36-40.
- HARTMANN H.T., 1946. *The use of root-promoting substances in the propagation of olive by soft-wood cutting*. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 48: 303-308.
- HARTMANN H.T., SCHNATHORST W.C., WHISLER J.E., 1971. *"Oblonga". A clonal olive rootstock resistant to Verticillium wilt*. Calif. Agric., 6: 12-15.
- HAQ I.U., AHMAD T., HAFIZ I.A., ABBASSI N.A., 2009. *Influence of microcutting sizes and IBA concentrations on in vitro rooting of olive cv. "Dolce Agogia"*. Pak. J. Bot., 41 (3): 1213-1222.
- IKHLAQ M., HAFIZ I.A., MICHELI M., AHMAD T., ABBASI N.A., STANDARDI A., 2010. *In vitro storage of synthetic seeds: Effect of different storage conditions and intervals on their conversion ability*. African J. Biotech., 9(35): 5712-5721.
- ISFENDIAROĞLU M., ÖZEJER E., 2008. *Rooting of Olea europaea "Domat" cuttings by auxin and salicylic acid treatments*. Pak. J. Bot., 40(3): 1135-1141.
- KITTO S.L., JANICK J., 1982. *Polyox as an artificial seed coat for a sexual embryos*. Hort. Sci., 17: 488.
- KNUDSON L., 1922. *Nonsymbiotic germination of orchid seed*. Bot. Gaz., 73: 1-25.
- KUMAR S., RAI M.K., SINGH N., MANGAL M., 2010. *Alginate-encapsulation of shoot tips of joboba [Simmondsia chinensis (Link) Schneider] for germplasm exchange and distribution*. Physiol. Mol. Biol. Plants, 16(4): 379-382.
- LAMBARDI M., BENELLI C., ÖZDEN-TOKATLI Y., ÖZÜDOĞRU E.A., GUMUSEL F., 2006. *A novel approach to olive micropropagation: the temporary immersion system*. In Caruso T., Motisi A., Sebastiani L. (eds) "Olivebioteq 2006", "Recent advances in olive industry", Marsala-Mazara del Vallo, 5-10 november, p. 319-326.
- LEVA A., PETRUCCELLI R., BARTOLINI G., 1994. *Mannitol in vitro culture of Olea europaea L. (cv Maurino)*. Acta Hort., 356: 43-46.
- LEVA A., PETRUCCELLI R., MULEO R., GORETTI R., BARTOLINI G., 1995. *Influenza di fattori trofici regolativi e condizioni del mezzo nutritivo sulla coltura in vitro di diverse cultivar di olivo*. Atti Convegno "l'Olivicoltura Mediterranea: stato e prospettive della Coltura e della Ricerca". 26-28 gennaio, Rende (CS), p. 239-248.
- LEVA A., PETRUCCELLI R., MONTAGNI G., MULEO R., 2002. *Field performance of micropropagated olive plants (cv. Maurino): morphological and molecular features*. Acta Hort., 586: 891-894.
- LEVA A., MULEO R., PETRUCCELLI R., 2003. *Reproductive, vegetative and agronomic behavior of micropropagated olive cv Maurino*. Acta Hort., 616: 309-311.
- LEVA A., PETRUCCELLI R., POLSINELLI L. 2004. *In vitro propagation from the laboratory to the production line*. Olivae 101: 18-26.
- LEVA A., 2011. *Innovative protocol for "ex vitro rooting" on olive micropropagation*. Cent. Eur. J. Biol., 6 (3): 352-358.
- LUCCHESINI M., VITAGLIANO C., 2002. *Effetti del microambiente durante la radicazione in vitro di plantule appartenenti a due cultivar di olivo (cv Leccino e Frantoio) [Olea europaea L.]*. Atti VI Giornate Scientifiche SOI 23-25 aprile Spoleto (PG): 123-124.
- MANCUSO S. 1998. *Seasonal dynamics of electrical impedance parameters in shoots and leaves relate to rooting ability of*

- olive (*Olea europaea*) cuttings. *Tree Physiol.* 19: 95-101.
- MECUCCINI M., POLLACCI P., 2003. *Osservazioni in campo di piante micro propagate* (*Olea europaea* L.). *Italus Hortus* 10 (4): 175-178.
- MENCUCINI M., MICHELI M., STANDARDI A., 1997. *Micropropagazione dell'olivo: effetto di alcune citochinine sulla proliferazione*. *Italus Hortus*, 4 (6): 33-37.
- MENCUCINI M., 2002. *Effect of medium darkening on in vitro rooting capability and rooting seasonality of olive* (*Olea europaea* L.) cultivars. *Sci. Hort.*, 97:129-139.
- MENDOZA-DE GYVES E., MIRA F.R., RUII F., RUGINI E., 2008. *Stimulation of node and lateral shoot formation in micropropagation of olive* (*Olea europaea* L.) by using dikegulac. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 92: 233-238.
- MICHELI M., DALL'ORCO P., MENCUCINI M., STANDARDI A., 2002. *Preliminary studies on the synthetic seed and encapsulation technologies of vitro-derived olive explants*. *Acta Hort.*, 586 (2): 911-914.
- MICHELI M., HAFIZ I.A., BAZZURRI N., STANDARDI A., 2006. *Methodological development for the synthetic seeds production of 'Moraiolo'*. In Caruso T., Motisi A., Sebastiani L. *OliveBioteq 2006, Second International Seminar "Biotechnology and Quality of Olive Trees Products around the Mediterranean Basin"* (Marsala, Mazara del Vallo, 5-10 November), Vol. I: 155-158.
- MICHELI M., HAFIZ I.A., STANDARDI A., 2007. *Encapsulation of in vitro-derived explants of olive* (*Olea europaea* L. cv. *Moraiolo*). II. *Effects of storage on capsule and derived shoots performance*. *Sci. Hort.*, 113: 286-292.
- MICHELI M., MENCUCINI M., STANDARDI A., 1998. *Encapsulation of in vitro proliferated buds of olive*. *Adv. Hort. Sci.*, 12: 163-168.
- MORETTINI A., 1950. *Olivicoltura*. REDA, Roma.
- MURA P., CECCARELLI L., RINALDELLI E., MANCUSO S., 1995. *Improvement of solubility of indolebutyric acid by complexation with α -cyclodextrin and rhizogenic activity in Olea europaea L. cv. Leccio del Corno*. *Adv. Hort. Sci.*, 9: 119-121.
- MURASHIGE T., 1978. *The impact of tissue culture in agriculture*. In: *Frontiers of Plant Tissue Culture*, Thorpe A (Ed), International Association for Plant Tissue Culture, Univ. of Calgary Printing Services: 15-26.
- MURASHIGE T., SKOOG F., 1962. *A decisive medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture*. *Physiol. Plant.*, 7: 473-497.
- NARDINI A., GASCÒ A., RAIMONDO F., GORTON E., LO GULLO M.A., CARUSO T., 2006. *Is rootstock-induced dwarfing in olive an effect of reduced plant hydraulic efficiency?* *Tree Physiol.*, 26: 1137-1144.
- PANNELLI G., ROSATI S., 2000. *Effetto del portinnesto sulla sensibilità al freddo in olivo cv Moraiolo e San Felice*. *Atti "V Giornate Scientifiche SOI. Sirmione 28-30 Marzo: 331-2*.
- PANNELLI G., ROSATI S., RUGINI E., 2002. *The effect of clonal root-stocks on frost tolerance and on some agronomical behaviour in Moraiolo and S. Felice olive cultivar*. *Acta Hort.*, 586: 247-250.
- PANNELLI G., 2006. *Varietà e portinnesti superintensivi*. *Olivo e Olio*, 2: 47-49.
- PEIXE A., RAPOSO A., LOUREÇO R., CARDOSO H., MACEDO E., 2007. *Coconut water and BAP successfully replaced zeatin in olive* (*Olea europaea* L.) micropropagation. *Sci. Hort.*, 113: 1-7.
- PETRUCCIOLI G., FILIPPUCCI B., DONINI B., 1974. *Impiego della mutagenesi per l'ottenimento di forme nanizzanti nell'olivo. Primi risultati di un quinquennio*. *Ann. Ist. Sper. Oliv.* 2: 57-68.
- PEYVANDI M., NOORMOHAMADI Z., BANIHASHEMI O., FARAHANI F., MAJD A., HOSSEIN MAZINANI M., SHEIDAI M., 2009. *Molecular analysis of genetic stability in long-term micropropagated shoots of Olea europaea L. (cv. Dezuful)*. *Asian J. Plant Sci.*, 8 (2): 146-152.
- PORRAS-SORIANO A., SORIANO MARTIN M.L., PORRAS PIEDRA A., 2003. *Grafting olive cv. Cornicabra on root-stocks tolerant to Verticillium dahliae reduces their susceptibility*. *Crop Protection*. 22(2): 369-374.
- PORRAS-SORIANO A., SORIANO-MARTÍN M. L., PORRAS-PIEDRA A., ROSARIO A., 2009. *Arbuscular mycorrhizal fungi increased growth, nutrient uptake and tolerance to salinity in olive trees under nursery conditions*. *J.Plant Physiol.*, 166 (13): 1350-1359.
- PREECE J.E., 2003. *A century of progress with vegetative plant propagation*. *HortSci.*, 38(5): 1015-1025.
- PROIETTI P., NASINI L., FAMIANI F., BOCO M., SAVO SARDARO P., 2003. *Scambi gassosi e radicazione di talee semilegnose di differente lunghezza nell'olivo* (*Olea europaea* L.). *Italus Hortus*, 10 (4): 186-190.
- PROIETTI P., NASINI L., 2005. *L'utilizzo dei reflui oleari*. www.una-prol.org.
- REDEMBACH K., 1993. *Introduction*. In: *Synseeds: applications of synthetic seeds to Crop Improvement*, Redenbaugh K. (Ed.), CRC Press Inc. (Boca Raton): 3-10.
- REDEMBACH K., NICHOL J., KOSSLER M.E., PAASCH B.D., 1984. *Encapsulation of somatic embryos for artificial seed production*. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 20: 256-257.
- RUGINI E., FONTANAZZA G., 1981. *In vitro propagation of "Dolce Agogia" olive*. *HortScience*, 16: 492-493.
- RUGINI E., 1984. *In vitro propagation of some olive* (*Olea europaea* L.) cultivars with different root-ability, and medium development using analytic data from developing shoots and embryos. *Sci. Hort.*, 24: 123-134.
- RUGINI E., POLITI V., BIGNAMI C., GREGO S., DE AGAZIO M., 1990. *Effect of polyamine treatments on rooting cutting of three olive cultivars*. *Acta Hort.*, 286: 97-100.
- RUGINI E., 1997. *Prospettive di innovazione tecnologica per la propagazione e risanamento dell'olivo*. I Geogofili: *Atti dell'Accademia dei Geogofili Quaderni*, II:97-107, Firenze.
- RUGINI E., BIASI R., MUGANU M., PANNELLI G., AVERSA G., MAGGINI F., MARTELLI G.P., ZAMBONI E., ZUCCHERELLI G., BARBA M., 2001. *L'organizzazione di un moderno vivaismo olivicolo alla base della produzione di piante certificate*. *Frutticoltura*, 5: 11-24.
- RUGINI E., PANNELLI G., SONNOLI A., BARTOLINI G., DE ANGELIS S., 2003. *Impiego di olivi a sviluppo contenuto per la raccolta integrale con macchine scavallatrici*. *Frutticoltura* 1: 57-61.
- SANTILLI E., TOSCANO P., CASACCHIA T., LOMBARDO L., BRICCOLI BATI C., 2011. *Utilizzo di compost di reflui oleari nella preparazione dei substrati nel vivaismo olivicolo*. *Convegno "Il Convegno Nazionale dell'Olivo e dell'Olio"*, Perugia 21-23 settembre. In stampa.
- SANTOS MACEDO E., CARDOSO H.C. G., HERNANDEZ A., PEIXE A., POLIDOROS A., FERREIRA A., CORDEIRO A.M., ARNHOLDT-SCHMITT B., 2009. *Physiological responses and gene diversity indicate olive alternative oxidase as a potential source for markers involved in efficient adventitious root induction*. *Physiol. Plant.*, 137: 532-552.
- SAPONARI M., FAGGIOLI F., BALDONI L., LOCONSOLE G., SAVINO V., 2009. *Innovazioni per la certificazione varietale e sanitaria delle produzioni vivaistiche di olivo*. *Frutticoltura*, 4: 64-69.
- SAPONARI M., SAVINO V., MARTELLI G.P., 2002. *La trasmissione per seme dei virus dell'olivo*. *Frutticoltura*, 64 (4), 103-105.
- SAVINO V., 2007. *Certificazione dell'olivo: aspetti tecnici e normativi*. *Convegno Nazionale Ricerca e trasferimento delle innovazioni tecnologiche nel vivaismo olivicolo*, Bari, 26 Febbraio 2007.
- SCARAMUZZI F., DE GAETANO A., 1974. *Ricerche sulla rizogenesi di espianti di fusto di Olea europaea L. cv. Ogliarola di Monopoli coltivati in vitro*. *Riv. Ortoflorofrut.* It., 58: 419-436.
- SEBASTIANI L., TOGNETTI R., DI PAOLO P., VITAGLIANO C., 2002. *Hydrogen peroxide and indole-3-butyric acid effects on root induction and development in cutting of Olea europaea L. (cv.*

- Frantoio e Gentile di Larino). Adv. Hort. Sci., 1: 7-12.
- SONNOLI A., 2001. *A new, small variety of olive tree*. Olivae, 88: 46-49.
- SOTTILE F., SALA G., BARONE E., CARUSO T., 2003. *Ricerche sulle tecniche di forzatura dell'innesto in olivo*. Italus Hortus, 10 (4): 222-227.
- TATTINI M., BERTONI P., TRAVERSI M.L., NAPPI P., 1991. *Waste materials as media for container grown peach and olive plants*. Acta Hort., 294: 75-80.
- TRONCOSO A. LIÑÁN J., CANTOS M., ACEBEDO M.M., RAPAPORT H.F., 1999. *Feasibility and anatomical development of an in vitro olive cleft-graft*. J. Hort. Sci. Biotech., 74: 584-587.
- TRONCOSO A. LIÑÁN J., PRIETO J., CANTOS M., 1990. *Influence of different olive root-stocks on growth and production of "Gordal Sevillana"*. Acta Hort., 286: 133-136.
- WEISMANN Z., LAVEE S. 1995. *Enhancement of IBA stimulatory effect on rooting of olive cultivar stem cutting*. Sci. Hort., 62: 189-198.
- YARI R., FARAHANI F., SHEIDAI M., MONTASSER KOUHSARRI S., FAHIMI H., 2011. *The effects of prolonged vegetative re production of the two Iranian olive cv. tree cultivars (Dezful Baghmalek and Dezful Safiabad) on morphological traits*. African J. Biotechn., 10 (45): 9076-9081.
- ZACCHINI M., DE AGAZIO M., 2004. *Micropropagation of a local olive cultivar for germoplasm preservation*. Biol. Plant., 48 (4): 589-592.
- ZIMMERMANN P.W., WILCOXON F. 1935. *Several chemical growth substances which cause initiation of roots and other responses in plants*. Contrib. Boyce Thompson Inst., 7: 209-229.
- ZUCCHERELLI G., ZUCCHERELLI S., 2002. *In vitro propagation of fifty olive cultivars*. Acta Hort., 586: 931-934.