

DOCUMENTO
TECNICO**Manna Crespan
Antonio Calò
Angelo Costacurta
Roberto Carraro***Istituto Sperimentale per la
Viticoltura - Conegliano (TV)*

A. Costacurta

IDENTITA' E CARATTERIZZAZIONE DI ANTICHI VITIGNI ITALIANI: FIANI, AGLIANICI, AGLIANICONE E CILIEGIOLO

Alcuni biotipi di vitigni di antica coltivazione in Italia sono stati messi a confronto con uno studio multidisciplinare e si è potuto chiarire che Fiano di Avellino e Fiano di Puglia sono vitigni diversi, mentre Aglianico e Aglianico del Vulture da una parte e Aglianicone e Ciliegiolo dall'altra sono sinonimi.

Introduzione

Il lavoro qui presentato riassume ed integra un gruppo di ricerche effettuate nel corso degli ultimi anni dall'Istituto Sperimentale per la Viticoltura in tema di identificazione e caratterizzazione di alcuni vitigni di antica coltivazione in Italia, in particolare Fiani, Aglianici, Aglianicone e Ciliegiolo, i cui risultati sperimentali sono stati presentati in sede di Accademia Italiana della Vite e del Vino e sulla Rivista di Viti-

coltura e di Enologia (Calò et al., 2001; Costacurta et al., 2001; Crespan et al., 2002).

Lo studio della piattaforma ampelografica nazionale ha acquisito una importanza crescente per diversificare l'offerta sul mercato di prodotti enologici di qualità, soprattutto in seguito alla grande e sempre più capillare diffusione dei grandi vitigni internazionali: infatti, molte varietà locali, anche se pregiate, hanno visto la progressiva riduzione della superficie coltivata e sono state tal-

volta abbandonate.

La ricerca ha evidenziato che alcuni vitigni con scarsa attitudine enologica possono essere importante fonte di geni utili, come per esempio il Gouais, progenitore con il Pinot di una serie di vitigni francesi rinomati, tra cui lo Chardonnay ed il Gamay (Bowers et al., 1999a), oppure possono dare prodotti pregevoli se allevati in idonei ambienti di coltura, come il Tocai friulano, che è sinonimo del poco apprezzato Sauvignonasse francese (Calò e



Tab. 1 - Elenco delle accessioni di Fiano allo studio

Codice accessione	Nome accessione	Zona di reperimento
F1	Fiano	Avellino
F2	Fiano	Avellino
F3	Fiano	Avellino
Fa5	Fiano	Locorotondo (BA)
Fa6	Fiano	Crispiano (TA)

Tab. 2 - Elenco delle accessioni di Aglianico, Aglianico del Vulture, Aglianicone e Ciliegiole allo studio

Codice accessione	Nome accessione	Zona di reperimento/provenienza
A2	Aglianico	Avellino
A6	Aglianico	Montefusco (AV)
A10	Aglianico	Benevento
Av1	Aglianico del Vulture	Rionero in Vulture (PZ)
Av3	Aglianico del Vulture	Melfi (PZ)
A.e8	Aglianicone	Melfi (PZ)
A.e1	Aglianicone n.	Basilicata
A.e2	Aglianicone n.	Collezione ISV Spresiano (TV)
A.e3	Aglianicone n.	Collezione ISV Turi (BA)
C1	Ciliegiole n.	Collezione ISV Arezzo
C2	Ciliegiole n.	Collezione ISV Susegana (TV)
C3	Ciliegiole n. 8T	Collezione ISV Arezzo
C4	Ciliegiole n. VCR 1	Vivai Cooperativi di Rauscedo (PN)

Costacurta, 1992).

Da qui la necessità di salvaguardare e valorizzare il nostro patrimonio varietale, attraverso azioni di recupero, studio e conoscenza delle risorse genetiche viticole presenti sul territorio nazionale. A questo scopo sono necessari l'accurata identificazione varietale, il reperimento dei documenti storici e la caratterizzazione dei vitigni in senso ampelologico, tenendo conto dell'insieme degli aspetti morfologici, fisiologici, chimici, molecolari ed enologici. Questo articolato approccio è indubbiamente complesso, ma consente di proporre alla coltivazione, con cognizione di causa, quelle varietà in grado di fornire delle produzioni economicamente redditizie e non necessariamente di nicchia.

Nell'ambito di questa filosofia, l'Istituto Sperimentale per la Viticoltura si è occupato dello studio di alcuni biotipi di Fiano, della selezione clonale dell'Aglianico e dell'Aglianico del Vulture,

della caratterizzazione e del confronto dell'Aglianicone con il Ciliegiole.

Le metodologie di analisi

Le ricerche sono state condotte impiegando una serie di metodologie di analisi utili per identificare e caratterizzare i vitigni secondo il criterio ampelologico descritto precedentemente: si è fatto ricorso a varie discipline, come l'ampelografia, la fillometria, l'analisi della composizione chimica degli acini (antociani, aromi), l'analisi isoenzimatica e l'analisi del DNA per mezzo di marcatori microsatellite, come di seguito brevemente presentato.

La descrizione morfologica dei vitigni fa capo all'ampelografia in senso stretto. Per contenere la soggettività delle descrizioni sono stati compiuti negli anni notevoli sforzi da parte degli ampelografi europei per elaborare

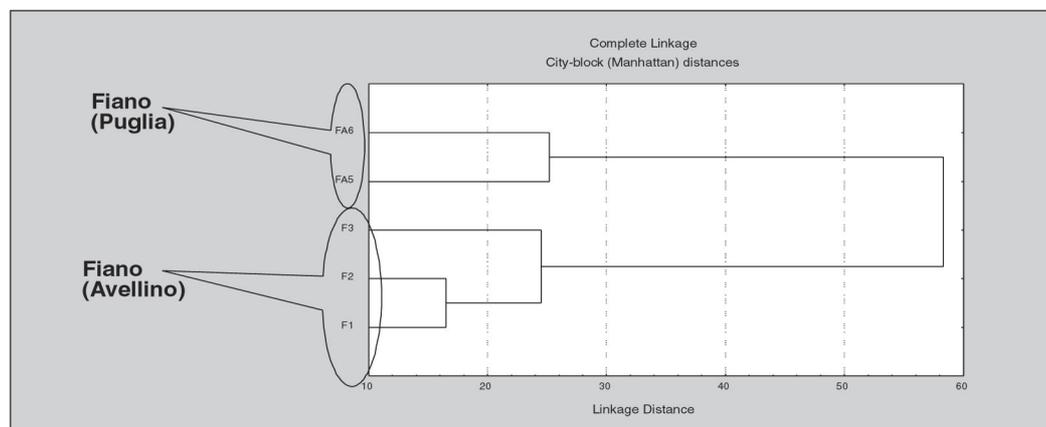
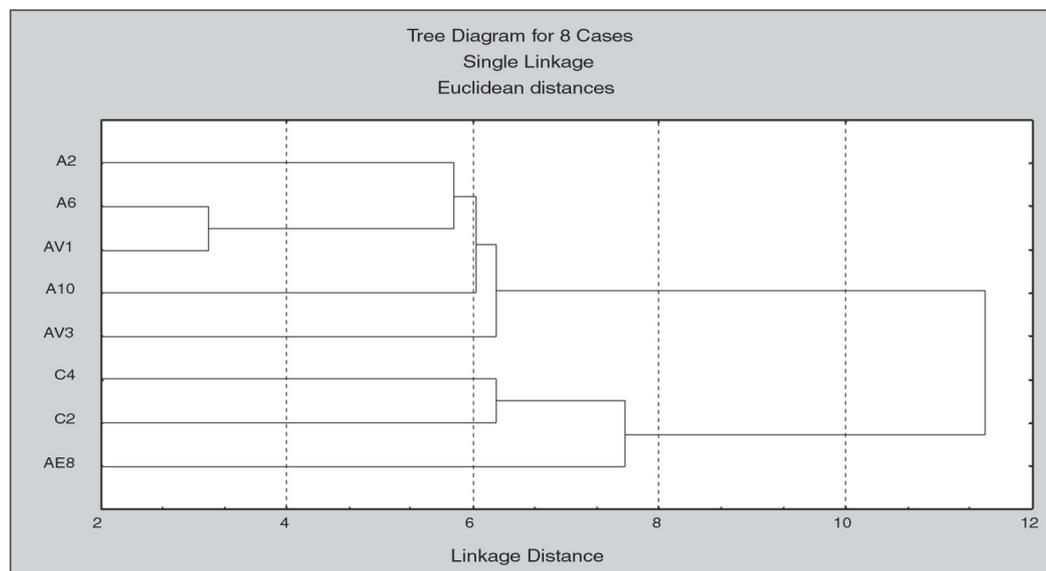
dei parametri descrittivi comuni, che consentissero la quantificazione dei livelli di espressione in forme numeriche, utili per l'archiviazione computerizzata dei dati: il frutto dell'ultima fatica è l'elaborazione della scheda OIV secondo un elenco di descrittori primari e secondari, ottenuta nell'ambito di una collaborazione internazionale all'interno del progetto europeo Genres 081. Le informazioni sono disponibili nel sito <http://www.genres.de/eccdb/vitis>

Anche la misura di particolari parametri fogliari (filometria) è uno strumento efficace di caratterizzazione varietale, in particolare i rapporti fra alcune misure di distanze e di angoli mostrano una variabilità ristretta e consentono di disegnare il profilo della foglia media della varietà. Un software appositamente messo a punto presso il nostro Istituto (Leaf ISV) elabora i dati ottenuti dall'analisi delle foglie e fornisce un'indicazione della percentuale di somiglianza della foglia tipo designata per il campione incognito rispetto ad un archivio di foglie tipo, specifiche per ciascun vitigno, presente nel database. Queste indicazioni sono molto utili per restringere in modo significativo il numero dei vitigni con i quali operare il confronto, alla ricerca dell'identità del campione incognito.

Lo spettro della composizione antocianica per le uve colorate e la composizione aromatica arricchiscono il quadro descrittivo dei vitigni: anche queste informazioni sono importanti per classificare le varietà in base alla loro capacità di sintetizzare particolari composti e in base alla presenza percentuale dei singoli componenti all'interno di specifiche classi di molecole.

L'analisi isoenzimatica fornisce anch'essa un contributo importante alla caratterizzazione dei vitigni. In particolare sono correntemente impiegati due sistemi, quello della GPI (Glucose Phosphate Isomerase) e quello della



Fig. 1 - Risultati della cluster analysis per i caratteri ampelografici condotta sulle accessioni di Fiano**Fig. 2 - Risultati della cluster analysis condotta con 83 caratteri ampelografici relativi ad Aglianici, Aglianicone e Ciliegiolo**

PGM (Phosphoglucosidasi). Ogni vitigno è caratterizzato da un particolare profilo per ciascun isoenzima, codificato secondo Calò et al. (1989a). Tutte le varietà iscritte al Registro nazionale sono state analizzate e sono state raggruppate per combinazioni comuni di patterns. L'esperienza di caratterizzazione varietale e clonale con questi due sistemi, riportata nel lavoro di Calò et al. (1989b), indica che, quando due viti hanno patterns isoenzimatici diversi, sono sicuramente due varietà diverse. Questi dati aiutano nella ricerca dell'identità di un vitigno incognito, restringendo la cerchia dei possibili candidati al gruppo di vitigni

che condividono con quello incognito i profili isoenzimatici: questo consente di scartare dal confronto tutti gli altri.

I marcatori microsatellite sono marcatori del DNA caratterizzati dalla presenza, all'interno della sequenza, di ripetizioni successive di unità di base di 1-6 nucleotidi: il numero di queste ripetizioni è ipervariabile e determina l'elevato polimorfismo che li distingue; offrono inoltre il vantaggio di essere codominanti e di venire ereditati secondo le leggi di Mendel. Negli ultimi anni hanno ottenuto un consenso crescente e sono diventati lo strumento molecolare prediletto per la caratterizzazione

e l'identificazione varietale della vite (Thomas et al., 1993 e 1994; Bowers et al., 1996; Sefc et al., 1999). La loro utilità si estende anche alla mappatura del genoma ed alle analisi di pedigree (Grando et al., 2002; Bowers e Meredith, 1997; Bowers et al., 1999a; Sefc et al. 1997; Crespan, 2003). E' sufficiente la conoscenza delle sequenze di primers specifici per ottenere l'amplificazione dei loci microsatellite e i dati sono facilmente scambiabili fra laboratori, consentendo il confronto a distanza dei vitigni.

Alcune informazioni sui vitigni analizzati. Il Fiano era noto fin dalla fine del 1100 e gli inizi del 1200 ed

era diffuso sia in Campania che in Puglia (Calò e Costacurta, 2002). Sembra definitivamente accertato che il suo nome sia un toponimo derivato dalla corruzione del nome Apio (oggi Latio, in provincia di Avellino) in Apiano, quindi Afiano e poi Fiano (Carlucci, 1904).

Nel corso di una serie di studi condotti dall'Istituto Sperimentale per la Viticoltura sono state raccolte diverse accessioni di Fiano, riferibili a due biotipi principali: il primo è attualmente coltivato soprattutto nella provincia di Avellino e produce uve dal sapore leggermente aromatico, l'altro è allevato in zone pugliesi residuali, in particolare nella valle d'Idria, ed ha caratteristiche decisamente aromatiche.

L'Aglianico è conosciuto con questo nome almeno dalla fine del 1500 (Bacci, 1596). La sua origine sembra tuttavia molto più antica ed una panoramica storica dettagliata si ritrova in Calò e Costacurta (2003). Attualmente è particolarmente diffuso in Basilicata ed in quasi tutti i comuni delle province campane ed ha cominciato ad espandersi anche in Puglia. Ne esistono molti biotipi diversi, che sono frutto di selezioni locali avvenute nel corso dei secoli.

L'Aglianicone è dato in letteratura come sicuramente appartenente alla famiglia dell'Aglianico (Ministero dell'Agricoltura e Foreste, 1990) ed è un vitigno poco diffuso, con questo nome, nella penisola italiana, essendo coltivato solo in Basilicata.

Il Ciliegiolo è descritto in bibliografia come vitigno di origine incerta e la citazione più antica di cui siamo a conoscenza è del Soderini (1590). In alcuni casi è stato ipotizzato che il Ciliegiolo fosse sinonimo di Sangiovese, ma il Prof. Cosmo (1948) chiarì definitivamente che, nonostante la somiglianza, si tratta di due varietà distinte. Il Ciliegiolo è coltivato in molte regioni italiane, dal Piemonte alla Puglia.



Tab. 3 - Elenco dei parametri fillometrici considerati con il programma Leaf-ISV

N°	Descrittore	Descrizione
1	OIV 066-1	lunghezza della nervatura N 1
2	OIV 066-2	lunghezza della nervatura N 2
3	OIV 066-3	lunghezza della nervatura N 3
4	OIV 066-4	lunghezza della nervatura N 5
5	OIV 066-5	lunghezza dal seno peziolare all'inserzione della nervatura N4 su N3
6	OIV 066-6	distanza dal seno peziolare al seno laterale superiore
7	OIV 066-7	distanza dal seno peziolare al seno laterale inferiore
8	OIV 077-1	lunghezza del dente N 2
9	OIV 077-2	lunghezza del dente N 4
10	OIV 077-3	larghezza del dente N 2
11	OIV 077-4	larghezza del dente N 4
12	OIV 078-1	lunghezza / larghezza del dente N 2
13	OIV 078-2	lunghezza / larghezza del dente N 4
14	OIV 079-1	ampiezza del seno peziolare
15	OIV 079-2	lunghezza N 3 / lunghezza N 1
16	OIV 079-3	lunghezza N 5 / lunghezza N 1
17	OIV 079-4	distanza dal seno laterale inferiore / lunghezza N 2
18	OIV 079-5	distanza dal seno laterale superiore / lunghezza N 3
19	OIV 092	lunghezza picciolo
20	OIV 093	lunghezza picciolo / lunghezza N 1
21	a	lunghezza N 2 / lunghezza N 1
22	b	lunghezza N 3 / lunghezza N 2
23	c	distanza tra la parte terminale della 1 ^a ner. di N1/ lunghezza della nervatura N1
24	d	distanza seno superiore / lunghezza della nervatura N 2
25	e	distanza seno inferiore / lunghezza della nervatura N 3
26	l	distanza tra la parte terminale di N1 e la parte term.della 1 ^a ner.su N1
27	pl	distanza tra la parte terminale di N2 e la parte term.della 1 ^a ner.su N2
28	Alfa	angolo N 1 / N 2
29	Beta	angolo N 2 / N 3
30	Gamma	angolo N 3 / N 4
31	Delta	angolo tra N 3 e l'estremità della nervatura N 5
32	Rho	angolo del dente N 1
33	Prova 1	distanza 1, 25 / lunghezza della nervatura N 1
34	Prova 2	larghezza di metà foglia /lunghezza della nervatura N 2
35	Prova Ar	superficie / lunghezza della nervatura N 1
36	Prova Ar 2	superficie / angolo Alfa
37	N4/N1	lunghezza della nervatura N 4 / lunghezza della nervatura N 1
38	seno 2	angolo tra N 3 e il punto di massima apertura del seno peziolare
39	seno 3	rapporto tra i due angoli del seno peziolare
40	sinus 1	angolo del seno peziolare all'estremità
41	sinus 2	angolo max del seno peziolare
42	esperim.	angolo 4. 1. 12
43	esperim. 2	angolo 4. 1. 19
44	alfa 19	angolo Alfa / distanza dal seno superiore
45	beta119	angolo Beta / distanza dal seno inferiore
46	theta	angolo Alfa+Beta / distanza seno superiore+distanza seno inferiore
47	a.p. medi	rapporto tra i due angoli del seno peziolare

Materiali e metodi

Sono state caratterizzate 5 accessioni riferite al Fiano (Tab. 1), reperite ad Avellino, Locorotondo (BA) e Crispiano (TA), 3 accessioni riferite all'Aglianico, 2 all'Aglianico del Vulture, 3 all'Aglianicone e 4 al Ciliegio (Tab. 2).

Tutti questi materiali sono stati raccolti presso le collezioni dell'Istituto Sperimentale per la Viticoltura e sono stati studiati con le metodologie riportate di seguito.

Descrizione ampelografica. La descrizione ampelografica è stata svolta con il supporto della scheda O.I.V. utilizzando 83 descrittori aventi maggior peso discriminante (Calò e Costacurta, 1990). I rilievi sono stati condotti per tre annate ed hanno interessato germogli, foglie, grappoli e acini.

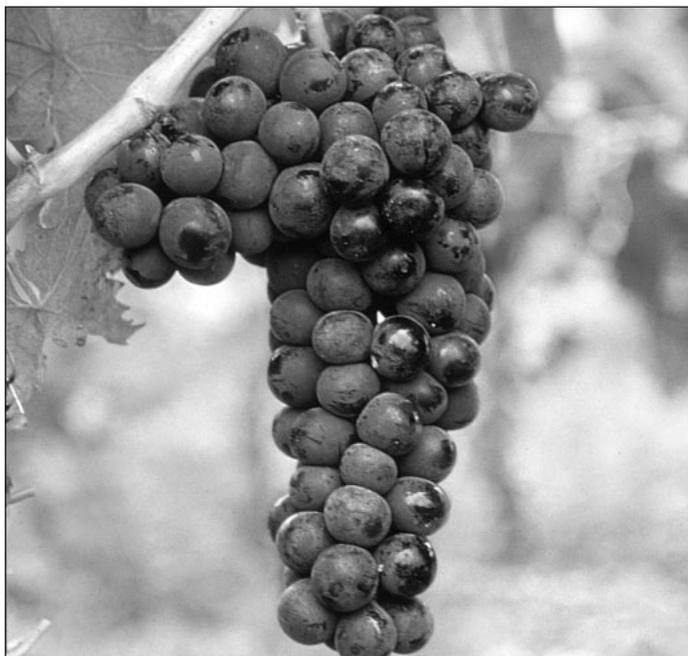
Elaborazione della silhouette della foglia media. Per ogni accessione sono state campionate dieci foglie poste ai nodi 6°, 7° od 8° di germogli principali inseriti su tralci di un anno. Il campionamento è stato ripetuto per tre annate e l'analisi si è svolta in laboratorio su foglie fresche. I 47 parametri fillometrici elencati nella tabella 3 sono stati calcolati con il programma Leaf-ISV (Costacurta et al., 1992), producendo la silhouette della foglia media.

Analisi chimica dell'uva. La determinazione dei composti aromatici varietali è stata realizzata come indicato da Ummarino e Di Stefano (1997).

Il profilo antocianico delle bucce è stato determinato per HPLC, come descritto da Di Stefano e Cravero (1991).

Analisi isoenzimatica. L'analisi isoenzimatica è stata condotta per i sistemi GPI (Glucose Phosphate Isomerase) e PGM (Phosphoglucose Mutase), usando come materiale di partenza foglie fresche, secondo il metodo descritto da Crespan et al. (1998). I profili isoenzimatici ottenuti sono stati codificati secondo Calò et al. (1989a).



Foto 1 - Grappolo di Aglianico del Vulture**Foto 2 - Grappolo di Fiano****Foto 3 - Grappolo di Aglianicone****Foto 4 - Grappolo di Fiano Aromatico**

Analisi del DNA con marcatori microsatellite. Il DNA è stato estratto secondo il metodo descritto da Crespan et al. (1999). Sono stati analizzati 16 loci: VVS1 e VVS2 (Thomas e Scott, 1993), VVS29 (Thomas, comun. pers.; CSIRO Plant Industry, Adelaide, Australia), VVMD5, VVMD7, VVMD8 (Bowers et al., 1996), VVMD27, VVMD28 e VVMD32 (Bowers et al.,

1999b), VrZAG 21, VrZAG47, VrZAG62, VrZAG64, VrZAG79 (Sefc et al., 1999), ISV2, ISV3 e ISV4 (Crespan, 2003).

Il metodo di analisi è riportato nel lavoro di Crespan e Milani (2001).

Elaborazione statistica dei dati. I dati ampelografici e fillometrici sono stati elaborati con l'analisi a grappolo (cluster analysis), per evidenziare i legami intercorren-

ti fra le varie accessioni in base a informazioni di natura multivariata. Per la realizzazione della matrice di similarità è stata utilizzata la tecnica della distanza euclidea, mentre il collegamento tra le unità è stato ottenuto con il single linkage per i dati ampelografici e con il complete linkage per i dati ampelometrici (Calò et al., 2000; Costacurta et al., 2001).

Il grado di vicinanza gene-



Tab. 4 - Descrittori ampelografici discriminanti dei biotipi di Fiano in studio

Organo	Carattere	Fiano (Avellino) F1, F2, F3	Fiano (Puglia) Fa5, Fa6	
Germoglio	Densità dei peli striscianti dell'estremità	fortissima	forte	
	Colore della faccia dorsale degli internodi	verde striato di rosso	verde	
	Pigmentazione antocianica delle gemme	nulla/leggera	nulla/forte	
Cirri	Lunghezza	medi	corti	
Foglia giovane	Colore della pagina superiore	giallo	zone bronzate	
	Densità dei peli striscianti tra le nervature principali	fortissima	quasi forte	
	Densità dei peli striscianti sulle nervature principali	fortissima	forte	
	Numero di infiorescenze per tralcio	da 1,1 a 2	da 2,1 a 3	
Tralcio	Vigoria del tralcio	media/forte	media/esile	
Foglia adulta	Taglia	media	piccola	
	Pigmentazione antocianica delle nervature principali della faccia superiore del lembo	nulla	al punto peziolare	
	Forma dei denti	a lati convessi	a lati rettilinei	
	Lunghezza dei denti	medio corti	medio lunghi	
	Lunghezza dei denti in rapporto alla loro larghezza alla base	medio corti	lunghi	
	Forma della base del seno peziolare	a U/ a V	a U	
	Fondo del seno peziolare delimitato dalla nervatura	assente	presente	
	Densità dei peli striscianti tra le nervature (pagina inferiore)	media	leggera	
	Densità dei peli dritti tra le nervature (pagina inferiore)	leggera	quasi nulla	
	Densità dei peli dritti delle nervature principali (pagina inferiore)	medio leggera	quasi nulla	
	Lunghezza del picciolo in rapporto alla nervatura mediana	più corto	molto più corto	
	Grappolo	Larghezza	media	medio stretto
		Peso di un grappolo	basso/molto basso	molto basso
	Acino	Forma	ellittico corto	arrotondato/ellittico corto
Pruina		media	medio leggera	
Grado di consistenza della polpa		medio	leggero	
Particolarità del sapore		nessuna	gusto speciale/moscato	
		Grado di separazione del pedicello	medio difficile	medio/facile

tica tra vitigni è stato calcolato usando il coefficiente di Dice (1945), escludendo il locus VVMD8, perché può avere alleli nulli. La cluster analysis è stata condotta con il programma NTSYS-pc, versione 1.80, metodo UPGMA.

Risultati delle indagini

Si riportano di seguito i risultati ottenuti con ciascun tipo di indagine.

Analisi ampelografica. Nell'ambito del Fiano, i rilievi ampelografici hanno evidenziato due gruppi principali: il primo costituito dai biotipi reperiti nella provincia di Avellino ed il secondo relati-

vo ai biotipi pugliesi.

I caratteri ampelografici differenziali vengono riportati nella tabella 4. Quelli maggiormente distintivi sono: il colore degli internodi del germoglio, verde striato di rosso nel Fiano di Avellino e verde nel Fiano di Puglia; una maggior peluria tra le nervature principali nella pagina inferiore della foglia adulta per il Fiano di Avellino; il sapore, neutro nel Fiano di Avellino e con gusto speciale, aromatico, nel Fiano di Puglia. Quest'ultimo è il carattere più interessante ed importante che discrimina i due tipi.

Anche l'analisi statistica dei dati ha evidenziato i due medesimi raggruppamenti (Fig. 1): i biotipi del Fiano di

Avellino formano un cluster con alto grado di similitudine entro una distanza di linkage di circa 25 (addirittura entro 15 con due delle tre accessioni). Questo stesso gruppo si unisce al Fiano di Puglia ad una distanza decisamente maggiore, pari a circa 60.

Riguardo ad Aglianico, Aglianico del Vulture, Aglianicone e Cilieggiolo, i rilievi ampelografici hanno evidenziato delle similitudini morfologiche fra i biotipi a confronto tali da poterli suddividere in due gruppi: il primo è costituito dai biotipi di Aglianico e Aglianico del Vulture, il secondo comprende l'Aglianicone ed il Cilieggiolo. I caratteri ampelografici differenziali di tali gruppi

vengono riportati nella tabella 5. Aglianico ed Aglianico del Vulture mostrano una modesta variabilità morfologica a carico di pochi caratteri, principalmente della foglia adulta (profilo, bollosità, forma dei denti), con piccole differenze nei livelli di espressione. Anche le differenze riscontrate tra i biotipi di Aglianicone e Cilieggiolo sono lievi, poco significative, in quanto relative a caratteri influenzati dall'ambiente e dalla variabilità all'interno della cultivar.

L'analisi multivariata ha evidenziato due raggruppamenti analoghi (Fig. 2). I biotipi appartenenti all'Aglianico ed all'Aglianico del Vulture formano un cluster con



Tab. 5 - Caratteri ampelografici differenziali di Aglianico/Aglianico del Vulture ed Aglianicone/Ciliegiolo

Organo	Carattere	Aglianico e Aglianico del Vulture	Aglianicone e Ciliegiolo	
Germoglio	Distribuzione della pigmentazione antocianica dell'estremità	assente	al margine	
	Intensità della pigmentazione antocianica dell'estremità	nulla	leggera	
	Densità dei peli striscianti dell'estremità	molto forte	molto forte	
	Portamento	eretto/semieretto	orizzontale	
Foglia giovane	Colore della pagina superiore	giallo	giallo/zone bronzate	
	Densità dei peli striscianti tra le nervature principali	molto forte	molto forte	
	Densità dei peli striscianti sulle nervature principali	forte	forte	
Tralcio	Vigoria del tralcio	medio-esile	medio-forte	
Foglia adulta	Taglia	media	grande	
	Forma del lembo	pentagonale/orbicolare	cuneiforme	
	Numero di lobi	cinque	tre	
	Depressione del lembo	presente	assente	
	Profilo	piano (A) / involuto (A, Av)	revoluto	
	Bollosità della pagina superiore	media (Av) / media forte (A)	leggera	
	Forma dei denti	convessi (A, Av) misto tra rettilinei e convessi (Av)	a lati rettilinei	
	Lunghezza dei denti	medi	lunghi	
	Lungh. denti/largh. denti	corti	medio-corti	
	Forma del seno peziolare	a lobi leggermente sovrapposti	aperto	
	Forma della base del seno peziolare	a V	a U	
	Densità dei peli striscianti tra le nervature (pagina inferiore)	quasi nulla	leggera	
	Densità dei peli dritti delle nervature principali (pagina inferiore)	medio-leggera	nulla	
	Lungh. picciolo/nervatura mediana	uguale/più corto	più lungo	
	Grappolo	Numero di infiorescenze per germoglio	da 1,1 a 2	<=1
		Compattezza	medio-compatto	più che compatto
	Acino	Lignificazione del peduncolo	leggera	media
		Peso	medio basso	medio
		Uniformità della grossezza	non uniforme	uniforme
		Forma	arrotondato	ellittico corto
Spessore della buccia		media/spessa	spessa	
Lunghezza del pedicello		corto	cortissimo	
	Peso	basso	medio	

un notevole grado di similitudine entro una distanza di linkage di circa 6, mentre ad una distanza quasi doppia (distanza di unione intorno a 11) si aggrega il secondo cluster formato dalle accessioni di Aglianicone e Ciliegiolo, ad indicare una netta diversità a livello morfologico tra questi due raggruppamenti.

Analisi fillometrica. I risultati di questa analisi distinguono il Fiano negli stessi due gruppi già individuati con l'ampelografia. Lo schema che si ottiene con la cluster analysis mostra che le

due accessioni di Fiano di Puglia si uniscono ad una distanza di circa 6 e quelli di Avellino di circa 6.8, mentre fra i due raggruppamenti la distanza è di oltre 9 (Fig. 3).

Anche con l'analisi a grappolo dei dati fillometrici le accessioni di Aglianico, Aglianico del Vulture, Aglianicone e Ciliegiolo vengono suddivise in due gruppi principali, analoghi a quelli già ottenuti con l'ampelografia (Fig. 4): un primo gruppo è costituito dalle accessioni di Aglianico e Aglianico del Vulture e viene raggruppato

ad una distanza di legame di circa 8; un secondo cluster, comprendente le accessioni di Ciliegiolo ed Aglianicone, si associa a distanze leggermente superiori. La dissimilitudine fra i due cluster presenta una distanza quasi doppia rispetto alla distanza di unione.

Analisi chimica dell'uva. L'esame dei composti aromatici varietali dei diversi biotipi di Fiano ha evidenziato che essi possono essere divisi in due classi: aromatici (Fiano di Puglia) e non aromatici (Fiano di Avellino). I primi

sembrano appartenere alla stessa classe biosintetica del Moscato bianco, in quanto in essi prevale la sintesi del linalolo e dei suoi derivati diidrossilati o eteri interi, piuttosto che del geraniolo e dei suoi derivati. A differenza del Moscato bianco, i biotipi di Fiano di Puglia possiedono tenori elevati di a-terpineolo e di diolo 2, anche maggiori di quelli del diolo 1, e caratteristici rapporti fra i composti terpenici isomeri. Il contenuto più elevato di norisoprenoidi rappresenta un'altra particolarità di questo grup-



Tab. 6 - Risultati dell'analisi isoenzimatica

Codice accessione	Varietà	GPI	PGM
A2, A6, A10, Av1, Av3	Aglianico e Aglianico del Vulture	1	5
A.e1, A.e2, A.3, A.e8, C1, C2, C3, C4	Aglianicone e Ciliegiole	1	1
F1, F2, F3	Fiano di Avellino	10	6
Fa5, Fa6	Fiano di Puglia	2	1

Tab. 7 - Risultati dell'analisi del DNA a 16 loci microsatellite (la lunghezza degli alleli è espressa in bp)

Varietà	Fiano (Avellino)		Fiano (Puglia)		Aglianico e Aglianico del Vulture		Aglianicone e Ciliegiole	
codice accessione	F1, F2, F3		Fa5, Fa6		A2, A6, Av1, Av3		A.e8, A.e1, A.e2, A.e3, C1, C2, C3, C4	
Loci								
VVS1	181	181	181	181	181	181	181	181
VVS2	155	155	143	133	155	151	133	133
VVS29	179	179	171	171	171	171	171	171
VVMD5	228	226	232	226	246	232	236	226
VVMD7	239	239	249	239	239	239	263	247
VVMD8	167	141	147	141	141	-	143	-
VVMD27	189	183	194	189	189	183	183	179
VVMD28	247	231	247	239	261	231	249	237
VVMD32	263	259	273	263	257	251	253	253
VrZAG 21	202	190	206	202	190	190	202	190
VrZAG 62	193	187	195	193	187	187	203	193
VrZAG 64	143	137	159	143	159	137	141	139
VrZAG 79	250	244	250	248	246	244	258	244
ISV2	165	161	165	141	165	143	143	141
ISV3	145	133	139	133	145	133	139	133
ISV4	169	169	197	169	177	169	177	177

po. I biotipi classificati come non aromatici, in realtà, rappresentano uno stadio intermedio tra le uve neutre e quelle aromatiche, infatti possiedono un contenuto in linalolo libero e glicosilato non trascurabile ed anche l'aterpineolo è presente in quantità importanti (Di Stefano et al., 2001)

In tabella 6 viene riportata la composizione antocianica delle uve di Aglianico, Aglianico del Vulture, Aglianicone e Ciliegiole. I biotipi di Aglianico ed Aglianico del Vulture presentano lo stesso profilo caratterizzato da una netta prevalenza degli antociani trisostituiti all'anello laterale (soprattutto malvidina)

e, in particolare, da una bassa percentuale di cianidina, generalmente minore di 1, da percentuali di delphinidina e di petunidina maggiori di quella della peonidina; da un rapporto acetati/cinnamati minore di uno. La presenza degli antociani acilati è, comunque, piuttosto limitata. Nell'Aglianicone, rispetto agli Aglianici, la percentuale della cianidina è nettamente più elevata e la peonidina è l'antociano più importante dopo la malvidina. Inoltre le percentuali delle forme acilate sono particolarmente basse, intorno a uno per gli acetati. Modesta la presenza dei cinnamati, pari a circa il 4%.

I profili antocianici del Ci-

liegiolo e dell'Aglianicone sono stati ricavati rispettivamente dall'archivio dell'Istituto Sperimentale per l'Enologia di Asti e dai dati pubblicati da Tamborra e Di Benedetto (1991). Considerata la variabilità indotta dall'ambiente, dall'annata e, probabilmente, anche dai sistemi di gestione del vigneto, risultano molto simili e compatibili con un unico vitigno. Tali somiglianze riguardano lo scarso contenuto di antociani acilati, rappresentati soprattutto dai cinnamati, la prevalenza della malvidina-3-glucoside seguita dalla peonidina-3-glucoside piuttosto che dalla delphinidina e dalla petunidina 3-glucosilate. Le maggiori percentuali di cianidina e di peonidina 3-glucosilate nell'Aglianicone sono da attribuire all'influenza delle variabili sopra menzionate, che condizionano soprattutto la sintesi degli antociani disostituiti.

Analisi isoenzimatica. Gli isoenzimi distinguono complessivamente 4 gruppi: 1) le accessioni del Fiano di Avellino, 2) quelle del Fiano di Puglia, 3) un gruppo unico per Aglianico ed Aglianico del Vulture, 4) un gruppo unico per Aglianicone e Ciliegiole, come riportato nella tabella 7.

Il solo dato degli isoenzimi sarebbe sufficiente per indicare come varietà diverse il Fiano di Avellino rispetto al Fiano di Puglia.

Analisi del DNA con marcatori microsatellite. Le analisi molecolari realizzate su tutte le accessioni della tabella 1 hanno prodotto quattro profili molecolari diversi (Tab. 8), che corrispondono a quattro varietà: Fiano di Avellino e Fiano di Puglia sono due varietà diverse, Aglianico e Aglianico del Vulture sono risultati sinonimi e così pure Aglianicone e Ciliegiole.

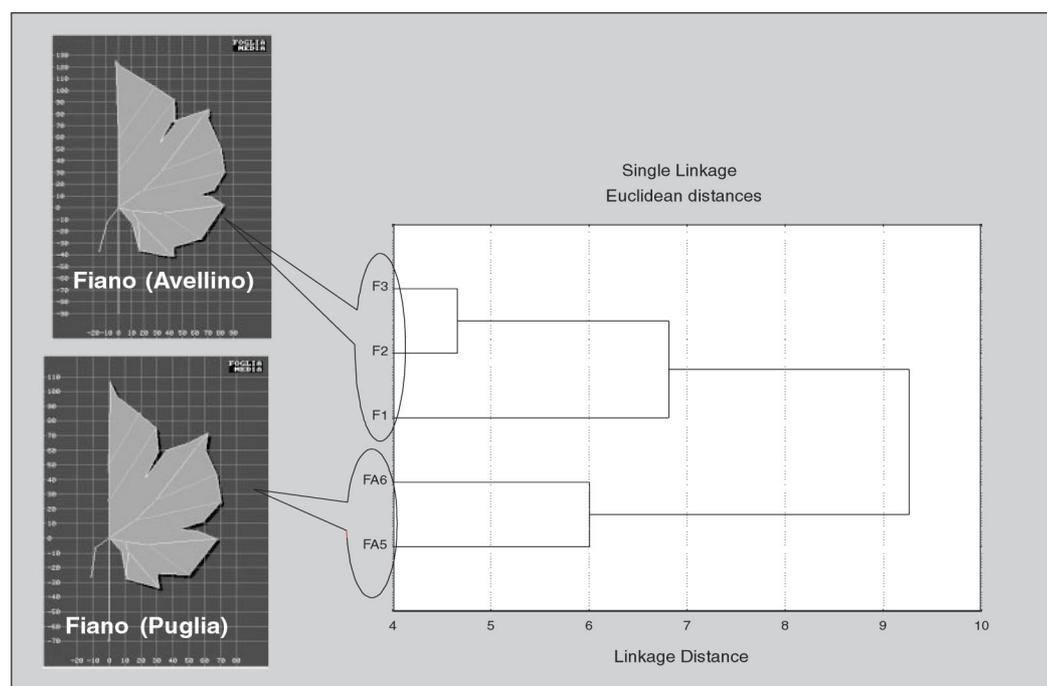
I dati molecolari consentono di escludere un legame di parentela diretta fra Aglianico ed Aglianicone, poiché non vi è condivisione di almeno un allele per locus.

Per valutare i rapporti di vicinanza genetica tra i viti-



Tab. 8 - Profilo antocianico delle bucce degli acini di Aglianico, Aglianico del Vulture, Aglianicone e Ciliegiole

Antociani %	Aglianico e Aglianico del Vulture	Aglianicone	Ciliegiole
Delfinidina-3-gl.	7,1	5,5	7,1
Cianidina-3-gl.	0,8	6,5	3,2
Petunidina-3-gl.	9,8	8,5	9,7
Peonidina-3-gl.	4,8	17,5	12,2
Malvidina-3-gl.	63,4	57,2	62,9
Acetati	3,7	0,8	1,1
Cinnamati	10,3	4,0	3,8

Fig. 3 - Fillometria. Risultati della cluster analysis e rappresentazione della silhouette della foglia media delle accessioni di Fiano

gni allo studio, sono state inserite due varietà di outgroup molto diverse fra loro ed anche rispetto a quelle studiate: Sultanina e Pinot nero.

L'elaborazione dei dati molecolari, utilizzando il coefficiente di Dice ed il metodo UPGMA, ha prodotto il dendrogramma in Fig. 5. Si distinguono tre gruppi principali: il primo comprende solo la Sultanina, che è risultata, come atteso, profondamente diversa da tutti gli altri vitigni; il secondo raggruppa Moscato bianco, Fiano di Puglia, Sangiovese e Ciliegiole; il terzo Pinot, Fiano di Avellino ed Aglianico.

La grande vicinanza tra Sangiovese ed Aglianico è

giustificata dal fatto che sono risultati direttamente legati l'uno all'altro da un rapporto di parentela del tipo genitore-figlio, giacché condividono almeno un allele per ciascuno dei 22 loci microsatellite analizzati ed anche i risultati dell'analisi isoenzimatica sono in armonia con queste conclusioni (Crespan et al., 2002). Inoltre Ciliegiole/Aglianicone e Sangiovese non possono essere derivati da autofecondazione uno dell'altro. Questo insieme di dati, tuttavia, non consente di avanzare delle ipotesi su quale dei due possa essere il genitore dell'altro, né ci aiutano le informazioni storiche, poiché le prime citazioni scritte

di entrambi si trovano nell'opera del Soderini del 1590.

Possiamo inoltre escludere un legame di parentela diretto del Ciliegiole/Aglianicone con l'Aglianico, il Montepulciano od il Canaiolo nero e tra questi ultimi tre e lo stesso Sangiovese, in quanto, già nel limitato numero di loci analizzati, non si riscontra la necessaria condivisione di alleli (dati non mostrati).

Il Fiano aromatico mostra una condivisione allelica superiore al 50% con il Moscato bianco, fatto che ci sorprende solo in parte, perché anche le indicazioni sulla composizione aromatica dei due vitigni mostrano la presenza di un substrato genetico comune.

Nel terzo gruppo il Pinot nero si stacca decisamente dagli altri due vitigni, mentre il Fiano di Avellino e l'Aglianico, e questa è una sorpresa, sono risultati molto vicini, come Fiano aromatico e Moscato bianco: forse una spiegazione si può ricercare nel fatto che condividono la stessa terra d'origine. La vicinanza genetica riscontrata è un indizio che merita un approfondimento.

Infine, a dispetto del nome, l'Aglianicone risulta geneticamente molto distante dall'Aglianico.

Considerazioni conclusive

In relazione agli studi condotti, possiamo sostenere che le differenze fra i biotipi di Fiano reperiti ad Avellino rispetto ai biotipi pugliesi sono tali da doverli considerare due varietà diverse.

Suggeriamo quindi di apportare le seguenti modifiche nel Registro delle Varietà:

1. confermare come Fiano il tipo a sapore semplice, classico della zona avellinese, il solo attualmente iscritto nel Registro nazionale (codice 81);

2. iscrivere come vitigno autonomo e diverso il Fiano dal sapore aromatico.

Il Fiano aromatico, così come emerso dai dati molecolari, non va considerato in



Fig. 4 - Risultati della cluster analysis ottenuti con l'elaborazione dei dati fillometrici per Aglianici, Aglianicone e Ciliegolo

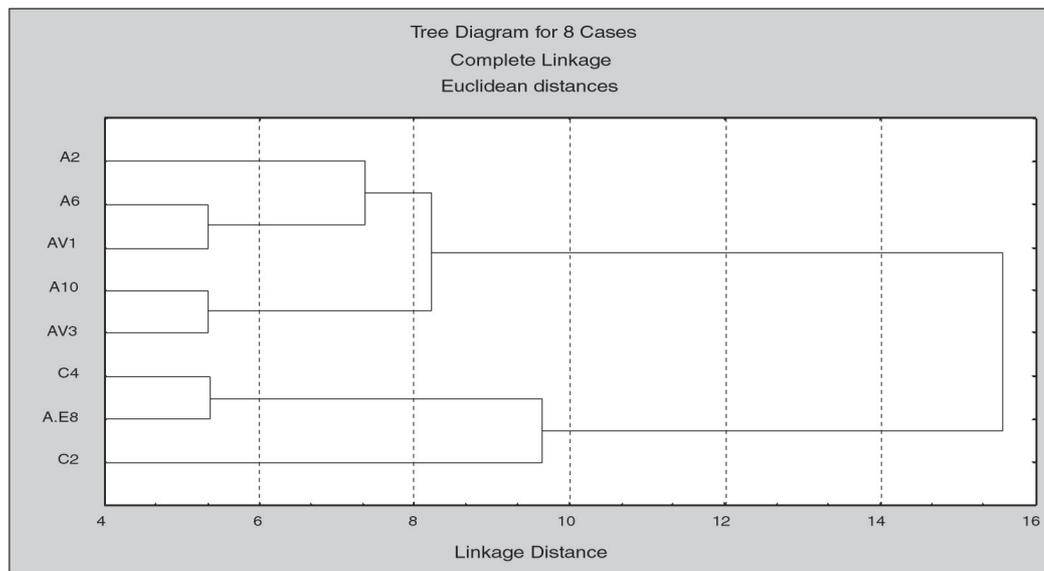
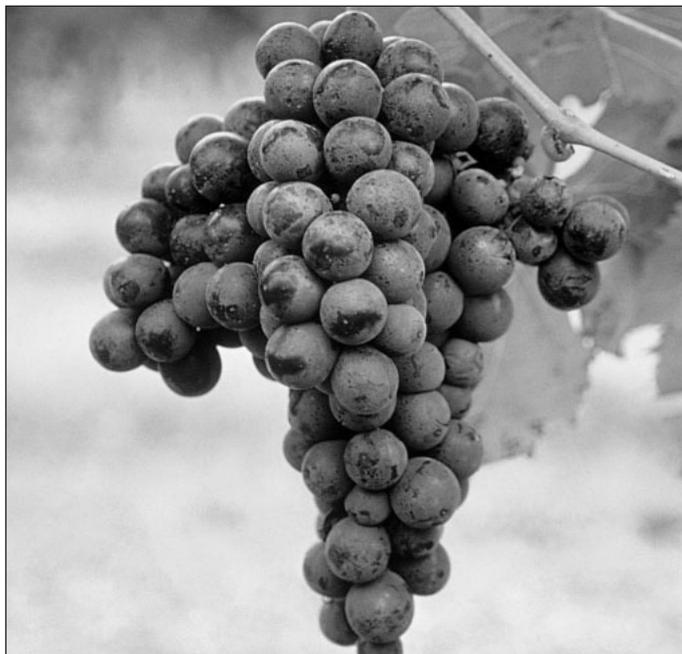


Foto 5 - Grappolo di Ciliegolo



relazione di parentela diretta con il Moscato bianco o con il Moscato di Alessandria, che sono capostipiti di una lunga serie di vitigni ad aroma moscato (Costacurta et al., 2003), pur essendo stato evidenziato un interessante grado di vicinanza genetica con il Moscato bianco.

Analoga conclusione deriva dallo studio degli aromi, dal momento che la composizione in terpeni liberi e glicosilati del Fiano a sapore aromatico, pur diversa da quella

del Moscato bianco, sembra essere il risultato di una linea biosintetica simile.

Queste considerazioni ci permettono di ipotizzare che anche il Fiano pugliese possa essere derivato, seppure indirettamente, dalle antiche Viti Apiane.

Valutando complessivamente i risultati delle diverse analisi si può anche affermare che l'Aglianico diffuso in Campania e l'Aglianico del Vulture sono da considerarsi un unico vitigno. Vi sono co-

munque alcune differenze fra i diversi biotipi, sia di ordine ampelografico che ampelometrico e chimico, ma rientrano nell'ambito della variabilità intravarietale.

Alla luce di dette considerazioni si propone, quindi, di riportare nel Registro delle varietà Aglianico e Aglianico del Vulture come vitigno unico con la denominazione di Aglianico.

Emerge, infine, che Aglianicone e Ciliegolo, precedentemente ritenuti e descritti come distinti, sono lo stesso vitigno, direttamente imparentato con il Sangiovese. ■

Riassunto

Il presente lavoro descrive gli studi effettuati su alcuni biotipi di Fiano, Aglianico, Aglianico del Vulture, Aglianicone e Ciliegolo. Le ricerche sono state condotte impiegando una serie di metodologie di analisi utili per identificare e caratterizzare i vitigni. I risultati delle varie indagini hanno portato alle seguenti conclusioni: 1) esistono due diverse varietà denominate Fiano, una delle quali dal sapore decisamente aromatico e correlabile al Moscato bianco, 2) l'Aglianico diffuso in Campania e l'Aglianico del Vulture sono da considerarsi un unico vitigno; 3) l'Aglianicone ed il Ciliegolo, precedentemente ritenuti e descritti come distinti, sono lo stesso vitigno, che è risultato direttamente imparentato con il Sangiovese.

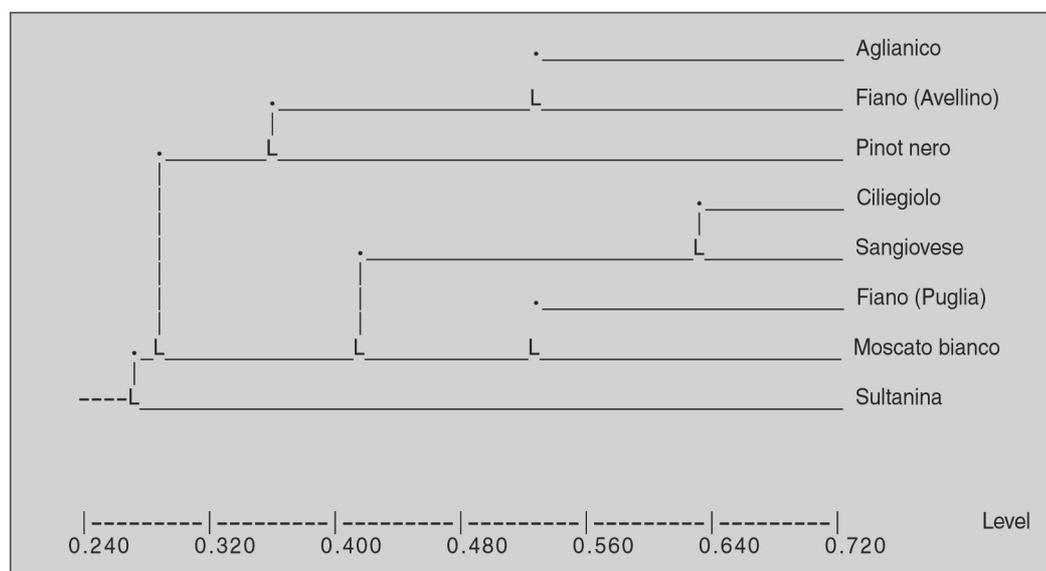
Bibliografia

Bacci A. (1596). De naturali vinorum historiae et de conviviis antiquarum. Libri Septem. Roma, Lib. IV, p.223.

Bowers J.E., Dangel G.S., Vignani R., Meredith C.P. (1996). Isolation and characterization of the new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.). Genome 39: 628-633.

Bowers J.E., Meredith C.P. (1997). The parentage of a classic wine grape, Cabernet Sauvignon. Nature Genetics 16: 84-87.



Fig. 5 - Dendrogramma di similarità genetica

Bowers, J. E.; Boursiquot, J.M.; This, P.; Chu, K; Johanson, H.; Meredith, C. P. (1999a). Historical genetics: the parentage of Chardonnay, Gamay, and other wine grapes of northeastern France. *Science* 285, 1562-1565.

Bowers J.E., Dangl G.S., Meredith C.P. (1999b). Development and characterization of additional microsatellite DNA markers for grape. *Am. J. Enol. Vitic.* 50: 243-246.

Calò A., Costacurta A., Paludetti G., Calò G., Arulsekar S. (1989a). The use of isozyme markers to characterize grape cultivars. *Riv. Vitic. Enol.*, 1: 15-22.

Calò, A., A. Costacurta, Calò G., Paludetti G. (1989b). Suggestion of employment of isoenzymatic markers as cultivars discriminants in "Vitis vinifera L.". *Riv. Vitic. Enol. XLII* n. 4: 3-8.

Calò A., Costacurta A. (1990). Principali vitigni da vino coltivati in Italia. Vol I, nuova serie. ED. MAF - ISV, Conegliano.

Calò A., Costacurta A. (1992). Tocai friulano e Sauvignonasse: un unico vitigno. *Riv. Vitic. Enol.* N.3: 31-40.

Calò A., Costacurta A., Egger E., Storch P., Crespan M., Milani N., Sensi E., Carraro R. (2000). Caratterizzazione molecolare, ampelografica ed ampelometrica di 30 accessioni di *Vitis vinifera L.* riferibili al Sangiovese. *Convegno Interna-*

zionale sul Sangiovese, Firenze, 8-10 marzo.

Calò A., Costacurta A., Crespan M., Milani N., Aggio L., Carraro R., Di Stefano R., Um-
marino I., 2001. La caratterizzazione dei Fiani: Fiano e Fiano aromatico. *Accademia Italiana della Vite e del Vino*, 24-25 Maggio 2001.

Calò A., Costacurta A. (2002). I Fiano, stelle del Sud. *Civiltà del bere*, Giugno: 141-147.

Calò A., Costacurta A. (2003). Aglianico, re del Sud. *Civiltà del bere*, Giugno: 93-102.

Carlucci M. (1904). Aglianico. In "Ampelographie" di Viala P., Vermorel V. (1901-1910). Masson e C.ie editori, Parigi vol. V, 81-102.

Cosmo I. (1948). Montepulciano - Canaiolo - Sangiovese - Ciliegiuolo. *Indagine ampelografica comparativa. Riv. Vitic. Enol.*: 4.

Costacurta A., Calò A., Giust M. (1992). Analisi ampelografiche ed ampelometriche mediante sistemi di rilevatori computerizzati. *Atti del congresso su germoplasma viticolo*, Alghero 21-25 settembre, 565-572.

Costacurta A., Calò A., Crespan M., Milani N., Giust M., Aggio L., Carraro R., Di Stefano R., Giordano M., Rotundo A., Marone F., Martelli S., D'Angelo D., Mastroberardino P., 2001. La caratterizzazione e selezione clonale di Aglianico

e Aglianicone. *Accademia Italiana della Vite e del Vino*, 24-25 Maggio 2001.

Costacurta A., Crespan M., Milani N., Carraro R., Flamini R., Aggio L., Ajmone-Marsan P., Calò A. (2003). Morphological, aromatic and molecular characterization of Muscat vines and their genetic relationships. *Riv. Vitic. Enol.*, n.2-3: 13-28.

Crespan M., Milani N., Zago M. S. (1998). Characterization of the most important grapevine rootstocks by using GPI and PGM isoenzymatic systems. *Riv. Vitic. Enol.*, 51, 2: 3-8.

Crespan M., Botta R., Milani N. (1999). Molecular characterization of twenty seeded and seedless table cultivars (*Vitis vinifera L.*). *Vitis*, 38, 3: 87-92.

Crespan M., Milani N. (2001). The Muscats: a molecular analysis of synonyms, homonyms and genetic relationships within a large family of grapevine cultivars. *Vitis*, 40, 1: 23-30.

Crespan M., Calò A., Costacurta A., Milani N., Giust M., Carraro R., Di Stefano R., 2002. Ciliegiolo e Aglianicone: unico vitigno direttamente imparentato col Sangiovese. *Riv. Vit. Enol.*, 2/3: 3 - 14.

Crespan M. (2003). The parentage of Muscat of Hamburg. *Vitis*, 42(4): (193-197).

Dice L.R. (1945). Measures of the amount of ecological association between species.

Ecology, 26: 297-302.

Di Stefano R., Cravero M.C. (1991). Metodi per lo studio dei polifenoli dell'uva. *Riv. Vitic. Enol.*, 2: 37-43.

Di Stefano R., Um-
marino I., Giordano M., Calò A., Costacurta A. (2001). Caratterizzazione chimica di biotipi di Fiano. *Relazione presentata alla Tornata Italiana dell'Accademia Italiana della Vite e del Vino "La Nobiltà dei Vitigni Italici"*, Napoli, Atripalda-Pompei, 24-25 maggio.

Grando M.S., Bellin D, Edwards K.J., Pozzi C., Stefanini M., Velasco R. (2002) Molecular linkage maps of *Vitis vinifera* and *Vitis riparia*. *Theor. Appl. Gen.* (in press)

Ministero dell'Agricoltura e Foreste (1990). *Principali vitigni da vino. Nuova serie. Vol.1. Grafiche Zoppelli S.r.l.*, Dosson (TV).

Sefc, K.M.; Steinkellner, H.; Wagner, H. W.; Glössl, J.; Regner, F.; 1997: Application of microsatellite markers to parentage studies in grapevine. *Vitis* 36, 179-183.

Sefc, M.K.; Regner F.; Turetschek, E.; Glössl J.; Steinkellner H.; 1999: Identification of microsatellite sequences in *Vitis riparia* and their applicability for genotyping of different *Vitis* species. *Genome* 42: 367-373.

Soderini G.V. (1590). *Delle condizioni della vite e del frutto che se ne può ricavare*. Giunti, Firenze.

Tamborra P., Di Benedetto G. (1991). Il profilo fenolico di alcune varietà di uve a bacca nera coltivate in Puglia. *L'Enotecnico*, 27 (10): 89-96.

Thomas M. R., Scott N. S. (1993). Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analysed as sequence-tagged sites (STSs). *Theor. Appl. Genet.*, 86: 985-990.

Thomas M.R., Cain P., Scott N.S. (1994). DNA typing of grapevines: A universal methodology and database for describing cultivars and evaluating genetic relatedness. *Plant Mol. Biol.* 25: 939-949.

Um-
marino I., Di Stefano R. (1997). Influenza del numero di semi per acino sulla composizione dell'uva. *Nota II. Riv. Vitic. Enol.*, 3: 9-23.

