

SOCIETÀ BOTANICA ITALIANA

GRUPPO DI LAVORO PER LA BOTANICA TROPICALE

LAVORI PRESENTATI
ALLE RIUNIONI SCIENTIFICHE
SU

ATTUALITA' E PROSPETTIVE DELLA RICERCA BOTANICA
ITALIANA NEGLI AMBIENTI TROPICALI

Pisa, 10 maggio 1997
Firenze, 9 maggio 1998

PREMESSA

Da alcuni anni il Gruppo di Lavoro della Botanica tropicale ha avviato una serie di incontri scientifici con lo scopo di contribuire al monitoraggio e alla corretta gestione delle risorse naturali delle aree tropicali e subtropicali. Ciò è parso indispensabile per una migliore fruizione delle risorse anche in sede locale, sia in termini scientifici che tecnologici, nonché per una miglior divulgazione delle stesse.

I lavori presentati in questi due incontri tenutisi a Pisa (1997) ed a Firenze (1998) fanno parte di una serie di contributi scientifici che sono il risultato delle ricerche di base ed applicate sui temi della Botanica tropicale.

I temi vari affrontati riguardano sia la biologia di base che la biologia applicata, ed abbracciano ricerche autoecologiche, etnoecologiche e sinecologiche. Contribuire alla diffusione delle conoscenze, e se possibile portare nuovi contributi, è stata la strategia perseguita sino ad oggi accanto a quella di dare la possibilità ai giovani ricercatori di farsi conoscere e

trovare risposte alle loro ricerche.

Un'altra strategia è stata quella di favorire incontri scientifici che potessero avere risvolti applicativi e ricadute socio-economiche nelle aree tropicali ove sono state svolte le indagini.

Questa potrebbe essere considerata una nuova filosofia di ricerca che vede il coinvolgimento interdisciplinare e internazionale degli attori della ricerca ai fini di una solidarietà comune, in cui la compartecipazione degli organi accademici e ministeriali potrebbe rivelarsi veramente indispensabile e prioritaria.

Noi e loro nella ricerca e nello sviluppo, pur essendo fortemente consapevoli che esistono grosse difficoltà sia nello svolgimento delle ricerche di base che in quelle applicate negli ambienti tropicali e subtropicali.

Perugia, 30 agosto 2000

[a cura di M.R. CAGIOTTI]

I resti botanici del sito archeologico di Cahuachi (Nazca, Perù)

L. PIACENZA

ABSTRACT - *Botanical remains from the archaeological site of Cahuachi (Nazca, Peru)* - This paper presents the results concerning the ancient plant material found during the archaeological excavations in Nazca (Peru), in a period ranging from 1984 to the present time, conducted by the "Progetto Archeologico Nazca", Missione Archeologica Italiana, supported by the "Centro Italiano Studi e Ricerche Archeologiche Precolombiane" (C.I.S.R.A.P.) of Brescia, Italy. Data analysis shows the important relevance for the evaluation of the presence of spontaneous and cultivated plants utilized by the ancient peruvian populations.

Key words: archaeobotany, Nazca, Peru

INTRODUZIONE

Agli inizi del nostro secolo arrivano sui mercati europei opere d'arte del Perù, tra cui alcuni vasi policromi di una ignota cultura precolombiana: ne fu accertata la provenienza dalla zona di Nazca, nome della cittadina della costa peruviana in seguito usato (con la grafia Nazca) per denominare la cultura sconosciuta che ha prodotto l'artistico materiale fittile. La profusione di elementi fitomorfi, rappresentati nelle ceramiche e nei tessuti della Cultura Nazca, fu per alcuni studiosi uno stimolo per cimentarsi nell'identificazione botanica dei vegetali raffigurati. Il tentativo più conosciuto è quello del botanico YACOVLEFF (1933) che ipotizza l'antica coltivazione della Jiquima, *Pachyrrhizus* sp., partendo inizialmente dall'analisi dell'iconografia fitomorfa Paracas e Nazca ed in seguito dal materiale proveniente da scavi archeologici (YACOVLEFF, MUELLE, 1934). La prima informazione scientifica sui resti botanici presenti in Cahuachi è probabilmente quella di MALDONADO (1952), che analizzò coproliti umani ivi rinvenuti per individuare i componenti della dieta degli antichi peruviani. Negli anni 1984-85 SILVERMAN DE MAYER effettuò scavi archeologici in Cahuachi; nella sua tesi di dottorato (1986) ed in una pubblicazione successiva (1993) presenta l'elenco dei vegetali da lei reperiti. Nel 1984 iniziano le ricerche della missione archeologica italiana patrocinata dal Centro Italiano Studi e Ricerche Archeologiche Precolombiane (C.I.S.R.A.P.) di Brescia, diretta dal Dott. Giuseppe Orefici. Le ricerche proseguono sino ai giorni nostri nelle diverse fasi del "Progetto Archeologico Nazca". I risultati delle analisi dei resti botanici recuperati dalla missione italiana, sono inseriti in modo com-

pleto nelle relazioni di campo presentate annualmente all'Istituto Nazionale di Cultura Peruviana e sono riportati in maniera schematica nella seguente esposizione.

MATERIALI E METODI

Cahuachi, ubicato a 15° di latitudine sud ed a 75° di longitudine ovest, fa parte del Dipartimento di Ica sulla costa centrale peruviana, si trova ad una altitudine di circa 500 metri sul livello del mare e dista 30 Km in direzione ovest dalla cittadina di Nazca e, sulla stessa traiettoria, a 40 Km dall'Oceano Pacifico. L'ambiente ecologico è definito "Deserto Pre-Montano" con un clima semiarido (ONERN, 1971): le scarse precipitazioni non superano i 3 mm di media annuale. Le temperature sono comprese mediamente tra i 28°C le massime e gli 11°C le minime.

Il suolo della vallata di Nazca è di origine alluvionale e di natura argillo-sabbiosa, con un pH oscillante tra 7,9 e 8,4, con una moderata presenza di sali (ONERN, 1971).

La zona archeologica copre una superficie di quasi 24 Km², è situata sulla riva sinistra del Rio Nazca, fiume a carattere torrentizio, la cui portata idrica dipende dalle piogge che cadono sulla Sierra, fenomeno che condiziona gran parte della risorse idriche e le attività agricole della vallata di Nazca.

Il materiale archeologico proveniente dagli scavi è conservato nel deposito del Centro di Investigazione che la missione italiana ha edificato in Nazca. Nei laboratori del Centro sono state eseguite le analisi e

le osservazioni che non possono essere effettuate in campo.

In generale l'investigazione sul campo consiste in una analisi macroscopica del materiale botanico: l'osservazione dei campioni minuscoli si effettua dopo aver passato il suolo al setaccio con maglie quadrate aventi misure che variano da 2 a 0,5 mm.

Per l'identificazione botanica e la posizione tassonomica dei campioni sono stati utilizzati vari manuali e pubblicazioni. Vengono di seguito riportati alcuni tra i più importanti: YACOVLEFF, HERRERA (1934-35); WEBERBAUER (1945); ENGLER (1953); MCBRIDE (1956); RUIZ, PAVON (1957); TOWLE (1961); FERREYRA (1979, 1986); PURSEGLOWE (1984); SOUKUP (1987); TOVAR (1993); MOSTACERO, MEJIA (1993); SAGASTEGUI, LEIVA (1993).

E' risultato di estrema utilità l'allestimento di un erbario con i campioni della vegetazione attuale circostante Cahuachi nonché la consultazione dell'Erbario del Museo Natural "Javier Prado" di Lima.

L'erbario ha posto in rilievo che le specie reperite negli scavi sono presenti, in maggioranza, nell'attuale vegetazione della vallata di Nazca.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Il suolo sabbioso dell'ambiente desertico è stato un ottimo conservatore dei resti botanici che, nella loro maggioranza, derivano da offerte alimentari rituali, da piante utilizzate nei riempimenti (PIACENZA, 1988) e da vegetali provenienti dai rifiuti delle attività quotidiane. La quantità dei resti botanici reperiti, selezionati e conservati nel Centro di Investigazioni di Nazca ammonta a più di 170 Kg.

Finora sono state identificate 74 specie botaniche appartenenti a 65 generi suddivisi tra 32 famiglie, che sono catalogate secondo il registro tassonomico ZANDER (1984). Le specie spontanee individuate sono 36, quelle commestibili 22 (di cui 2 spontanee), le medicinali 9 (tutte spontanee) ed infine altre 8 specie spontanee che potremmo definire semicoltivate.

Caratteristica principale del sito è di essere un centro cerimoniale e rituale (STRONG, 1957), da cui una casta teocratica dirigeva le attività della popolazione Nazca già diversificata in strati sociali (OREFICI, 1992, 1993). La società Nazca si sviluppa a partire dal 350 a.C. fino al 550 d.C., sebbene le prime manifestazioni culturali siano ben più antiche.

In Cahuachi le offerte rituali dei prodotti agricoli sono numerose, probabilmente composte dai migliori esemplari, sono depositate nel terreno dentro contenitori di terracotta o avvolte in tessuti, sovente interrati in semplici pozzetti. I doni di frutti della terra possono consistere sia da pochi esemplari come da considerevoli quantità di prodotti agricoli. In genere i pozzetti contengono offerte monospecifiche, tuttavia esistono anche quelle composte da più specie botaniche.

Il mais è il prodotto agricolo più impiegato nelle offerte, seguito dai fagioli e dai tuberi. Tra le piante

da frutto, la *Campomanesia* è offerta in modo considerevole: i suoi frutti, da poche unità a centinaia di esemplari, appaiono in quasi tutti gli strati e livelli di scavo.

Le offerte agli dei depositate nel sito archeologico di Cahuachi non appartengono solo alle specie alimentari, ma anche a specie utilitarie come ad esempio il cotone, *Gossypium* sp., prodotto di alto valore socio-economico. Da un pozzetto si recuperarono un migliaio di semi del cotone, questo significa che le richieste umane agli dei non erano finalizzate a chiedere la benevolenza divina solamente sulle piante alimentari, ma anche su vegetali utili alla propria esistenza.

L'antico agricoltore Nazca ha coltivato un buon numero di piante alimentari sfruttando intelligentemente le limitate risorse idriche della zona, realizzando una rete di canali sotterranei che captavano le acque filtranti (GONZALES GARCIA, 1935; MEJIA HESPE, 1939; ROSSEL CASTRO, 1942; SCHREIBER, LANCHO, 1988) che si disperdevano nel sottosuolo. L'acqua era convogliata in capienti bacini e da questi distribuita nei campi per l'irrigazione.

Le piante alimentari coltivate comprendono per lo meno undici generi: tra questi la maggior parte appartiene alla famiglia delle *Leguminosae* con i generi *Arachis*, *Canavalia*, *Pachyrrhizus*, *Phaseolus*. Le specie fornitrici di tuberi e rizomi sono presenti con i generi *Manihot*, *Ipomoea*, *Canna*. Naturalmente sono presenti anche le due specie tipiche delle colture precolombiane: *Zea mays* presente con 3 varietà (Proto confite iqueño, Proto kulli e Confite morocho), ed il peperoncino, *Capsicum* sp. (ají). La famiglia delle *Cucurbitaceae* è presente nelle coltivazioni con due generi: *Cucurbita*, con le specie *C. maxima* e *C. moschata* e *Lagenaria* sp. A queste piante vanno aggiunti i cinque generi fornitori di frutta: *Inga* sp., *Bunchosia* sp., *Campomanesia* sp., *Psidium* sp. e *Pouteria* sp., che si pongono tra le piante semi-coltivate, in quanto esistono normalmente allo stato spontaneo e probabilmente facevano parte della dieta assieme ad altre specie spontanee raccolte. L'elenco delle specie antiche identificate è riportato di seguito e per alcune di esse sono citati i nomi volgari locali.

CONCLUSIONI

Gran parte delle informazioni sulla flora del tempo, in particolare modo quella spontanea, provengono dai vegetali impiegati nelle costruzioni, nei terrapieni e nei riempimenti di ambienti dove in modo considerevole furono impiegati grossi fasci di piante appartenenti a specie diverse: questo fatto ha permesso di conoscere le specie botaniche allora esistenti, la cui presenza diversamente sarebbe stata molto difficile accertare.

Osservando l'elenco tassonomico delle specie antiche finora recuperate e identificate, si nota che appartengono quasi tutte ad un ambiente pantropicale con alcune presenze cosmopolite e riflettono, in qualche modo, il tipico habitat della costa sud peruviana. L'alta percentuale delle piante eduli coltivate rispetto

a quelle spontanee riflette una flora poco favorevole all'insediamento umano, risolto dall'uomo con la coltivazione di specie alimentari diversificate e appartenenti al ciclo annuale, in relazione al periodo delle piogge, che cadendo sui contrafforti andini ingrossano i torrenti e permettono l'irrigazione delle colture. L'elenco riporta anche le piante usate nella farmacopea in base alle notizie dei primi Cronisti della Conquista e non alla tradizione, che ne annovera molte di più, ma con poca sicurezza storica. Attualmente nella vallata di Nazca le coltivazioni predominanti sono il cotone, il mais, le leguminose ed i tuberi della patata e del camote (*Ipomoea* sp.). La coltivazione delle arachidi è quasi nulla e ridotta è anche quella della yuca (*Manihot* sp.), coltivata per consumi personali.

ELENCO SISTEMATICO DELLE ENTITÀ REPERITE A CAHUACHI (NAZCA)

CHLOROPHYCEAE

Famiglia CLADOPHORACEAE
Cladophora sp.

CONJUGATEAE

Famiglia ZYGNEMACEAE
Spirogyra sp.

PHAEOPHYCEAE

Famiglia LESSONIACEAE
Macrocystis integrifolia Bory

SPHENOPSISIDA

Famiglia EQUISETACEAE
Equisetum giganteum L.

DICOTYLEDONES

Famiglia SALICACEAE
Salix chilensis Mol. – **Huayau**

Famiglia AMARANTHACEAE
Amaranthus sp. – **Kiwicha - Hataco**

Famiglia CHENOPODIACEAE
Chenopodium sp. – **Yerba del gallinazo**

Famiglia CACTACEAE
Neoraimondia sp.
Opuntia sp.
Echinopsis sp. – **San Pedro**

Famiglia PAPAVERACEAE
Argemone subfusiformis Ownb. – **Cardo santo**

Famiglia LEGUMINOSAE (FABACEAE)
Arachis hypogaea L. subsp. *hypogaea* var. *hirsuta*
Kohler – **Maní**

Arachis hypogaea L. subsp. *fastigiata* var. *peruviana*
Krapov & Gregory
Canavalia ensiformis (L.) DC. – **Pallar de los gentiles**

Canavalia sp.

Cassia bicapsularis L. – **Alcaparilla**

Crotalaria incana L. – **Sacha-sacha**

Inga feuillei DC. – **Pacae**

Indigofera sp. – **Añil**

Pachyrrhizus tuberosus (Lam.) A. Spreng. – **Jíquima**

Parkinsonia aculeata L. – **Mataburro – Palo verde**

Phaseolus lunatus L. – **Pallar**

Phaseolus lunatus L. var. *papa-sieva*

Phaseolus vulgaris L. – **Frijol**

Prosopis pallida (H & B ex Will.) H.B.K. – **Huarango**

Vicia graminea Smith – **Alverjilla**

Famiglia ERYTHROXYLACEAE

Erythroxylum novogranatensis (Morris) Hieron. var.
truxillense (Rusby) T. Plowman – **Cuca**

Famiglia EUPHORBIACEAE

Euphorbia hypericifolia L.

Euphorbia heterophylla L. – **Huachapurga**

Manihot esculenta Krantz – **Yuca**

Famiglia MALPIGHIACEAE

Bunchosia armeniaca (Cav.) DC. – **Ciruella del fraile**

Famiglia SAPINDACEAE

Sapindus saponaria L. – **Boliche – Choloque**

Famiglia RHAMNACEAE

Scutia spicata (Will.) Weber. – **Ruoke**

Famiglia MALVACEAE

Gossypium barbadense L. – **Algodón – Huthco**

Famiglia STERCULIACEAE

Waltheria ovata Cav. – **Palo negro – Lucraco**

Famiglia BIXACEAE

Bixa orellana L. – **Achiote**

Famiglia BEGONIACEAE

Begonia sp.

Famiglia CUCURBITACEAE

Cucurbita maxima Duch. – **Zapallo**

Cucurbita moschata Duch. – **Zapallo**

Lagenaria siceraria (Molina) Standley – **Mate**

Famiglia MYRTACEAE

Campomanesia lineatifolia Ruiz & P. – **Palillo**

Psidium guajava L. – **Guayaba**

Famiglia SAPOTACEAE

Pouteria lucuma Kuntze

Famiglia CONVULVULACEAE

Ipomoea batatas (L.) Poir – **Camote – Apichu**

Famiglia VERBENACEAE

Lippia canescens H.B.K.

Famiglia SOLANACEAE

Capsicum frutescens L. – **Ají** – **Uchu***Datura innoxia* Mill. – **Chamico***Nicotiana paniculata* L. – **Tabaco cimarrón***Solanum americanum* Mill. – **Yerba mora**

Famiglia SCROPHULARIACEAE

Bacopa monnieri (L.) Pennell

Famiglia COMPOSITAE (ASTERACEAE)

Ambrosia peruviana Willd. – **Altamisa** – **Mallco***Baccharis lanceolata* (L.) Kunth – **Chilca***Eclipta alba* (L.) Hassk.*Eupatorium* sp.*Tessaria integrifolia* Ruiz – **Pajaro bobo**

MONOCOTYLEDONES

Famiglia BROMELIACEAE

Tillandsia purpurea Ruiz – **Achupalla***Tillandsia* sp.

Famiglia GRAMINEAE (POACEAE)

Cenchrus pilosus H.B.K.*Chloris virgata* Swartz*Chloris radiata* (L.) Swartz*Distichlis spicata* (L.) Greene – **Gramma***Eragrostis* sp.*Gynerium sagittatum* Beauv. – **Caña brava***Leptochloa uninervia* (Presl.) Hitch. & Case*Phragmites australis* Trinius ex Steudel – **Carrizo***Paspalum distichum* L.*Sporobolus virginicus* (L.) Kunth – **Gramma***Tragus berteronianus* Schult.*Zea mays* L. – **Sara**

Famiglia TYPHACEAE

Typha sp. – **Tоторa**

Famiglia CYPERACEAE

Cyperus esculentus L. – **Coquito***Cyperus laevigatus* L.*Eleocharis geniculata* (L.) Roem. e Schult.*Scirpus* sp.

Famiglia CANNACEAE

Canna edulis Ker. – Gawl. – **Achira**

LETTERATURA CITATA

ENGLER A., 1953 - *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*. Duncker e Humboldt, Berlin.FERREYRA R., 1979 - *Sinopsis de la Flora Peruana - Gymnospermas y Monocotiledoneas*. R. Ferreyra, Lima.—, 1986 - *Flora del Perú - Dicotiledoneas*. R. Ferreyra, Lima.GONZÁLES GARCÍA F., 1935 - *Los acueductos incaicos de Nazca*. In: *Tecnología Andina*: 129-156. R. Ravines, Lima.MALDONADO A., 1952 - *Los antiguos habitantes de Nazca comieron frutos de Algarrobo o Huarango*. Revista

Facultad de Farmacia y Bioquímica: 69-78.

MAC BRIDE J.F., 1956 - *Flora of Peru*. Field Museum of Natural History, Chicago.MEJIA XESSPE T., 1939 - *Acueductos y caminos antiguos de la hoya del Rio Grande de Nazca*. Actas XXVII° Congreso Internacional de Americanistas, ed. Imprenta Gil. Tomo I°. Lima.MOSTÁCERO L.J., MEJÍA F.C., 1993 - *Taxonomía de Fanerogamas Peruanas*. CONCYTEC, Trujillo.ONERN (Oficina Nacional Evaluación Recursos Naturales), 1971 - *Inventario, evaluación y uso racional de los recursos naturales de la costa: Cuenca del Rio Grande*. Presidencia de la Republica, Lima.OREFICI G., 1992 - *NAZCA - Archeologia per una ricostruzione storica*. Ed. Corpus Precolombiano. Jaca Book, Milano—, 1993 - *NAZCA - Arte e società del popolo dei geoglifi*. Ed. Corpus Precolombiano. Jaca Book, Milano.PIACENZA L., 1988 - *I vegetali nella tecnica costruttiva del Monticulo 1(Y1) di Cabuachi (Nazca)*. In: *Archeologia, Scienza e Società nell'America Precolombiana*: 219-221. CISRAP, Brescia.PURSELOWE J.W., 1984 - *Tropical Crops - Dicotyledons*. Longman, Harlow - Essex.ROSSEL CASTRO A., 1942 - *Sistema de irrigación antigua de Río Grande de Nazca*. Rev. Museo Nacional, XI: 196-203.RUIZ H., PAVON J., 1957 - *Flora Peruviana et Chilensis*. An. Inst. Bot. A. J. Cavanilles: 196-197.SAGÁSTEGUI A. LEIVA S., 1993 - *Flora invasora de los cultivos del Perú*. CONCYTEC, Trujillo.SCHREIBER K., LANCHO J., 1988 - *Los puquios de Nazca: un sistema de galerías filtrantes*. Boletín de Lima, Sept. 1988: 51-62.SILVERMAN DE MAYER H., 1986 - *Cabuachi: an andean ceremonial center*. Phd Thesis, University of Texas, Austin, Texas.SILVERMAN DE MAYER H., 1993 - *Cabuachi in the Ancient Nazca World*. Yowa University Press, Yowa.SOUKUP J., 1987 - *Vocabulario de los nombres vulgares de la flora peruana y catálogo de los géneros*. Editorial Salesiana, Lima.STRONG W.D., 1957 - *Paracas, Nazca and Tiahuanacoid cultural relationships in south coastal Peru*. American Antiquity, XXII, (4).TOVAR, O., 1993 - *Las Gramineas (Poaceae) del Perú*. Tomo 13. Ruiza, Ed. Monografías del Real Jardín Botánico. Consejo Sup. Invest. Científicas, Madrid.TOWLE, M., 1961 - *The Ethnobotany of Pre-Columbian Peru*. Viking Fund Publications in Anthropology, New York.WEBERBAUER A., 1945 - *El mundo vegetal de los Andes Peruanos*. Ministerio de la Agricultura, Lima.YACOVLEFF E., 1933 - *La Jiquima, raíz comestible extinguida en el Perú*. Rev. Museo Nacional, II° (1): 51-65. Lima.YACOVLEFF E., HERRERA F., 1934-35. *El mundo vegetal de los antiguos peruanos*. Rev. Museo Nac. San Marcos: 241-322; 29-102.YACOVLEFF E., MUELLE J.C., 1934 - *Un fardo de Paracas*. Revista Museo Nacional, III (1-2): 63 -163. Lima.ZANDER R., 1984 - *Handwörterbuch der Pflanzennamen*. Ulmer, Stuttgart.

RIASSUNTO - Il presente lavoro riporta l'elenco di vegetali antichi reperiti negli scavi archeologici condotti nell'ambito delle ricerche del "Progetto Archeologico Nazca" della missione archeologica italiana patrocinata dal Centro

Italiano Studi e Ricerche Archeologiche Precolombiane (C.I.S.R.A.P.) di Brescia. Le ricerche, iniziate nel 1984, proseguono sino ai giorni nostri nelle diverse fasi. I risultati delle analisi dei resti botanici recuperati dalla missione

italiana presentano interessanti informazioni sulle piante coltivate e spontanee utilizzate dalle antiche popolazioni peruviane.

AUTORE

Luigi Piacenza, Centro Italiano Studi e Ricerche Archeologiche Precolombiane, via delle Grazie 6, 25100 Brescia

Analisi delle proteine di riserva estratte da semi antichi peruviani

M. DURANTE, L. PIACENZA, P. BRUSCHI e R. BERNARDI

ABSTRACT - *Analysis of seed storage proteins from ancient peruvian seeds* - The storage proteins of ancient seeds from the archaeological site of Ica (Perù) were isolated and compared with those extracted from modern seeds through electrophoresis in denaturing conditions. Glutelins and zeins are well preserved in all the ancient specimens of *Zea mays*. In *Canavalia* sp. were found the polypeptides of the two main storage components, canavalin and concanavalin A, and other minor bands. The results suggest the possibility of using the electrophoretic patterns of the storage proteins in ancient and modern seeds for studying the recent evolution of crop plants.

Key words: ancient seeds, Peru, storage proteins

INTRODUZIONE

I primi studi sulle proteine di riserva dei semi antichi risalgono agli anni '40 (BARTON-WRIGHT *et al.*, 1944). Studi evolutivisti su materiale vegetale archeologico di mais, in base a caratteristiche morfologiche, sono stati riportati da MANGELSDORF (1974). DERBYSHIRE *et al.* (1977), dopo elettroforesi in condizioni denaturanti delle proteine totali estratte da campioni di mais provenienti da un sito archeologico del N.E. Arizona e da varietà moderne, hanno rilevato che le componenti proteiche, ed in particolare la frazione zeinica, erano ben conservate. Pertanto, studi comparativi dei profili proteici di semi antichi con semi moderni possono essere usati sia per ricerche archeologiche, che per studi sull'origine ed evoluzione delle piante coltivate. SHEWRY *et al.* (1982), confrontando il contenuto aminoacidico e proteico di cariossidi di orzo datate approssimativamente 1000-3000 anni a.C. e ritrovate in un sito archeologico in Egitto, con tre campioni più recenti (datati 1848, 1852, 1889) ed un campione moderno di controllo hanno rilevato che il contenuto percentuale degli aminoacidi era conservato, sebbene tecniche elettroforetiche ed immunologiche non evidenziano presenza di globuline o ordeine, poiché le proteine erano altamente degradate. DURANTE *et al.* (1988) hanno estratto cinque frazioni proteiche da semi antichi di mais, provenienti da un sito archeologico peruviano e datate 950 ± 50 a.C., e le hanno comparate con campioni moderni. Le frazioni più conservate erano rappresentate da gluteline e zeine: di queste ultime risultavano perfettamente conservate le subunità di 22 e 20 kiloDalton (kDa), mentre le

subunità di 15 e 10 kDa erano diversamente rappresentate. Quindi, le proteine alcool solubili rappresentano le componenti proteiche prevalenti nei semi archeologici di mais, in accordo con i risultati ottenuti da DERBYSHIRE *et al.* (1977).

Nel presente lavoro campioni di semi provenienti dal sito archeologico situato nella regione di Ica (Perù) sono stati comparati con semi attuali dello stesso genere per mezzo di analisi elettroforetiche in condizioni denaturanti, per verificare il grado di conservazione delle principali subunità proteiche e per individuare le possibili relazioni filogenetiche.

MATERIALI E METODI

Materiale vegetale - I semi antichi utilizzati nel presente lavoro provengono da un sito archeologico che si trova nella costa meridionale del Perù, in cui, dal 1982, sta operando il Progetto Nasca del gruppo diretto dal Prof. G. Orefice del Centro Italiano di Studi e Ricerche Archeologiche Precolombiane, Brescia (OREFICI, 1992). In Tab. 1 sono riportati i dati relativi ai campioni utilizzati sia antichi che moderni. Le età attribuite ai semi analizzati derivano da datazioni con il metodo del radiocarbonio su resti vegetali ritrovati negli scavi archeologici. Non sono state eseguite datazioni dirette sui semi oggetto del presente lavoro, quindi le età, derivate da analisi stratigrafiche, sono da ritenersi approssimative.

Estrazione delle proteine ed elettroforesi - Le proteine totali sono state estratte dai semi antichi e da semi moderni completamente maturi secondo DERBYSHIRE *et al.* (1977) per i semi di *Zea* e secon-

TABELLA 1

Specie vegetali, luogo di ritrovamento ed età dei semi oggetto di studio. I semi moderni di mais, utilizzati come confronto, provengono da campioni attualmente coltivati nella regione peruviana.

Codes, plant species, archaeological sites and age of the analysed seeds. Modern maize samples, used for comparison, are growing in the same Peruvian area.

Codice	Specie	Località	Età
M7	<i>Zea mays</i>	Perù	moderna
M6	<i>Zea mays</i>	Perù	moderna
M9	<i>Zea mays</i>	Perù	moderna
M4	<i>Zea mays</i>	Pueblo Viejo	200-300 a.C.
M5	<i>Zea mays</i>	Pueblo Viejo	400-500 a.C.
M10	<i>Zea mays</i> var. <i>protokulli</i>	Cahuachi	200 a.C.-300 d.C.
M11	<i>Zea mays</i> var. <i>confite morocho</i>	Cahuachi	200 a.C.-300 d.C.
M12	<i>Zea mays</i> var. <i>confite iqueño</i>	Cahuachi	200 a.C.-300 d.C.
C3	<i>Canavalia maritima</i>	Mozambico	moderna
C5	<i>Canavalia ensiformis</i>	Venezuela	moderna
C1	<i>Canavalia</i> sp.	Pueblo Viejo	400-500 a.C.
C2	<i>Canavalia ensiformis</i>	Pueblo Viejo	200-300 a.C.
C4	<i>Canavalia</i> sp.	Cahuachi	200 a.C.-300 d.C.

do DERNARDI *et al.* (1990) per i semi di *Phaseolus* e *Canavalia*. Le elettroforesi sono state condotte in condizioni denaturanti in gel di poliacrilamide al 12% (SDS-PAGE) secondo LAEMMLI (1970). Le bande sul gel sono state visualizzate mediante colorazione secondo BERNARDI *et al.* (1990). Le analisi densitometriche, condotte mediante un apparato UVP's e con software UVP's GelBase™ Windows (Ultra Violet Products Ltd., UK), hanno permesso di calcolare il peso molecolare e la quantità di proteina per ciascuna banda.

RISULTATI E DISCUSSIONE

In mais le componenti proteiche ottenute per mezzo di estrazioni delle proteine totali e frazionate (in complesso cinque frazioni denominate SN1-SN5) evidenziano, dopo elettroforesi, la presenza di bande sui campioni antichi. I traccianti elettroforetici delle subunità delle proteine totali presentano varie bande nei campioni moderni, mentre nei campioni mummificati sono visibili per lo più bande con basso peso molecolare. La frazione comprendente le proteine solubili in soluzioni saline (SN2) mostra solo delle tracce di bande ad alto peso molecolare nei semi antichi, mentre i tre campioni moderni mostrano una banda addizionale netta di circa 30 kDa. Le frazioni alcool solubili (SN3 e SN4) contengono rispettivamente le componenti proteiche denominate *glutelinae*, che costituiscono il secondo importante gruppo di proteine di riserva nei semi di mais, e le *zeine*, che rappresentano le maggiori componenti di riserva di mais. In tutti i campioni antichi sono ben conservate le subunità zeiniche di peso molecolare 20, 18, 17 e 15 kDa (Fig. 1), oltre a tracce di altre componenti a più alto peso molecolare: in alcuni campioni anti-

chi e moderni è presente una banda addizionale di 16,5 kDa. Anche le maggiori subunità gluteliniche appaiono ben conservate. Infine la frazione SN5, che rappresenta le proteine alcool insolubili, ha mostrato la presenza di bande nette con pesi molecolari compresi tra 21,5 e 14,4 kDa nei campioni moderni, mentre nelle specie mummificate sono presenti alcune subunità proteiche evidenziabili come bande diffuse: bande più nette sono state individuate nel cam-

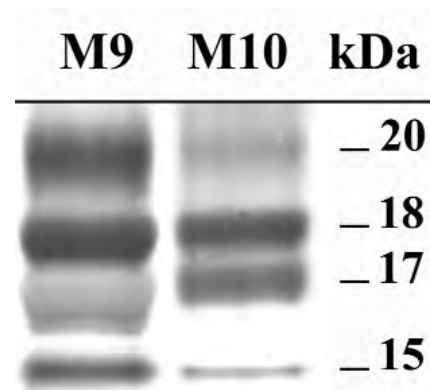


Fig. 1 Elettroforesi in condizioni denaturanti (SDS-PAGE) della frazione zeinica delle proteine di riserva di semi di *Zea mays* (campione M9, moderno; campione M10, antico). A destra sono riportati i pesi molecolari in kiloDalton (kDa).

Electrophoresis in denaturing conditions (SDS-PAGE) of zein storage proteins from *Zea mays* seeds (sample M9, modern; sample M10, ancient). On the right side are reported the molecular weights in kiloDaltons (kDa).

pione M5, che ha un migliore stato di conservazione rispetto agli altri. I risultati ottenuti sono in accordo con DERBYSHIRE *et al.* (1977) e con DURANTE *et al.* (1988), i quali asseriscono che le proteine alcool solubili sono le componenti principali di semi di mais che meglio si conservano nei semi antichi. Le maggiori componenti proteiche delle leguminose sono globuline. In tutti i campioni antichi sottoposti ad analisi elettroforetica le bande conservate sono visibili, ma con un fondo oscuro su tutta la pista elettroforetica, che può essere dovuto o alla frammentazione di alcune subunità proteiche che si distribuiscono secondo un gradiente uniforme di vari pesi molecolari, o più probabilmente all'interferenza di alcune sostanze ossidanti presenti nei campioni mummificati. Tuttavia il genere *Canavalia* ha fornito risultati soddisfacenti rispetto ad altre leguminose analizzate (*Phaseolus* spp.: risultati non riportati nel presente lavoro). Infatti le maggiori subunità delle due proteine principali di *Canavalia*, la canavalina e la concanavalina A, che hanno pesi molecolari di 52 e 32 kDa rispettivamente, sono ben conservate (Fig. 2). E' inoltre possibile individuare la presenza di numerose altre componenti in tutti i campioni analizzati: in particolare altre componenti cospicue sono

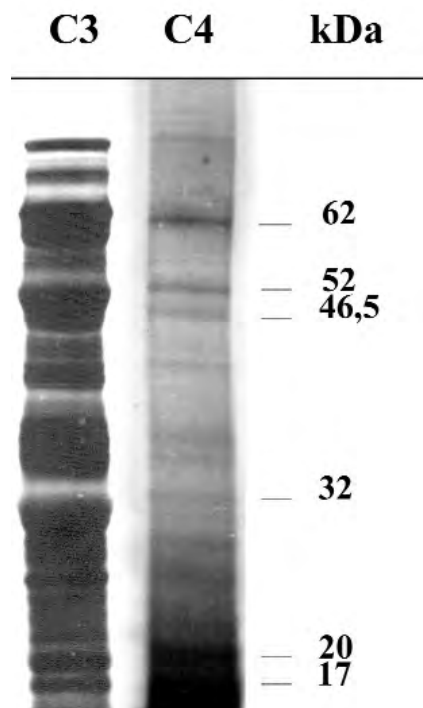


Fig. 2 Elettroforesi in condizioni denaturanti (SDS-PAGE) della frazione globulinica delle proteine di riserva di semi di *Canavalia* sp. (campione C3, moderno; campione C4, antico). A destra sono riportati i pesi molecolari in kiloDalton (kDa).

Electrophoresis in denaturing conditions (SDS-PAGE) of globulin storage proteins from *Canavalia* spp. seeds (sample C3, modern; sample C4, ancient). On the right side are reported the molecular weights in kiloDaltons (kDa).

quelle a pesi molecolari di 62, 46,5, 20 e 17 kDa. Tale risultato è confermato dai tracciati densitometrici.

CONCLUSIONI

I risultati sopra riportati confermano la possibilità di individuare e caratterizzare componenti proteiche di riserva in semi antichi. Per quanto concerne mais, i dati confermano i risultati precedenti di DERBYSHIRE *et al.* (1977) e di DURANTE *et al.* (1988), e contrastano con l'ipotesi di ZEVEN *et al.* (1975) secondo i quali la massima età per ritrovare proteine intatte in semi di orzo sia tra i 125 e i 175 anni. E' chiaro che il tipo di materiale biologico e le modalità di conservazione nel tempo possono giocare un ruolo importante nel processo di degradazione di macromolecole quali proteine ed acidi nucleici: nel nostro caso il clima arido della regione in cui è stato rinvenuto il materiale utilizzato nella presente ricerca ha contribuito sicuramente a mantenere pressoché inalterate le principali componenti di riserva. L'altro risultato interessante è quello relativo a *Canavalia*. In un'altra leguminosa (*Phaseolus vulgaris*) PAOLOZZO, JAFFÈ (1965), confrontando per mezzo di immunoelettroforesi le globuline estratte da un campione archeologico di circa 1000 anni con campioni moderni, hanno evidenziato una sola banda debole e diffusa. Nel nostro caso sono state individuate invece le principali componenti delle proteine di riserva oltre ad altre minori.

La comparazione attualmente in corso tra campioni antichi e cultivar moderne, attraverso gli indici di similarità costruiti secondo NEI, LI (1979), come rapporto tra il numero di bande a comune ed il numero di bande comuni e differenti, potrebbe dare un contributo importante per lo studio delle distanze genetiche e quindi della storia evolutiva recente di piante coltivate nell'America latina.

LETTERATURA CITATA

- BARTON-WRIGHT E.C., BOOTH R.G., PRINGLE W.J.S., 1944 - *Analysis of barley from King Tutankhamen's tomb*. Nature, 153: 288.
- BERNARDI R., LUPI M.C., DURANTE M., 1990 - *Phaseolus coccineus storage proteins. Extraction and characterization*. Biologia plantarum, 32: 198-204.
- DERBYSHIRE E., HARRIS N., BOULTER D., JOPE M., 1977 - *The extraction, composition and intra-cellular distribution of protein in early maize grains from archaeological site in N.E. Arizona*. New Phytol., 78: 499-504.
- DURANTE M., BERNARDI R., ROLLO F., SALVI R., AMICI A., 1988 - *Comparison of storage proteins in modern and mummified maize (Zea mays) seeds*. Genet. Agr., 42: 446-447.
- LAEMMLI U.K., 1970 - *Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4*. Nature, 227: 680-685.
- MANGELSDORF P.C., 1974 - *Corn; its origin, evolution and improvement*. Harvard University Press, Cambridge, Mass.
- NEI M., LI W.-H., 1979 - *Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 10: 5269-5273.

- OREFICI G., 1992 - *NASCA, Archeologia per una ricostruzione storica*. Ed. Corpus Precolombiano, Jaca Book.
- PAOLOZZO A., JAFFÈ W.G., 1965 - *Reaciones inmunológicas de extractos de semillas de habichuelas recuperadas de tumbas prehistoricas en el Peru*. Bol. Soc. Quim. Peru, 31: 1-5.
- SHEWRY P.R., KIKMAN M.A., BURGESS S.R., FESTENSTEIN G.N., MIFLIN B.J., 1982 - *A comparison of the protein and amino acid composition of old and recent barley grain*. New Phytol., 90: 455-466.
- ZEVEN A.C., DOEKES G.J., KISLEV M., 1975 - *Proteins in old grains of Triticum sp.* J. Archaeol. Sci., 2: 209-213.

RIASSUNTO - Le proteine di riserva di semi antichi ritrovati dal sito archeologico di Ica (Perù) sono state isolate e comparate con quelle estratte da semi moderni, attraverso analisi elettroforetiche in condizioni denaturanti. Nei semi antichi di *Zea mays* le frazioni maggiormente conservate sono rappresentate da gluteline e zeine. In *Canavalia* sp. sono state ritrovate le bande polipeptidiche delle principali componenti di riserva, la canavalina e la concanavalina A, oltre ad altre minori. I risultati suggeriscono la possibilità di utilizzare i profili polipeptidici di semi antichi e moderni per studi relativi ai centri di origine ed all'evoluzione recente delle piante coltivate.

AUTORI

Mauro Durante, Paola Bruschi, Rodolfo Bernardi, Dipartimento di Biologia delle Piante Agrarie, Sezione di Genetica, via Matteotti 1/b, 56100 Pisa
Luigi Piacenza, Centro Italiano Studi e Ricerche Archeologiche Precolombiane, via delle Grazie 6, 25100 Brescia

Ulteriore caratterizzazione delle proteine di riserva di semi di *Vigna unguiculata* (L.) Walp. del Mozambico

R. BERNARDI, P. BRUSCHI, C. HONWANA, T. RULKENS e M. DURANTE

ABSTRACT - *Further characterization of seeds storage proteins of Vigna unguiculata (L.) Walp. from Mozambique* - Development of specific markers is necessary for cultivar identification and protection, and purity determination. Studies on genetic variants of seed protein composition can be useful to identify particular genotypes available for the improvement of the protein content and/or the amino acid composition. Electrophoretic analyses of the total seed proteins extracted from *Vigna unguiculata* cultivars and ecotypes revealed quantitative and qualitative differences among the accessions. The results showed a high polymorphism in the cowpea samples analysed and it is possible to distinguish each accession by their electrophoretic spectra. The similarity index and the phylogenetic tree were elaborated: a major group among the ecotypes can be identified by the cluster analysis. One interesting result is that the most of the ecotypes seems to be phylogenetically derived from *V. unguiculata* ssp. *dekindtiana* var. *dekindtiana*.

Key words: cowpea, cultivar, identification, phylogenetic analysis, *Vigna unguiculata*

INTRODUZIONE

Le tecniche biochimiche atte a determinare i polimorfismi delle proteine enzimatiche e di riserva si sono dimostrate validi strumenti di indagine nello studio della tassonomia delle piante e nella identificazione e caratterizzazione varietale.

L'analisi del profilo elettroforetico delle proteine dei semi rappresenta un valido mezzo per lo studio dell'origine ed evoluzione delle piante coltivate (LADIZINSKY, HYMOWITZ, 1979; KLOZOVA *et al.*, 1983; GEPTS *et al.*, 1986; BORROTTO, DURE III, 1987; DURANTE *et al.*, 1989; KOENIG, GEPTS, 1989), dal momento che la composizione delle proteine di riserva è altamente stabile e risente solo debolmente delle fluttuazioni nelle condizioni ambientali (GRAY *et al.*, 1973).

Lo studio delle varianti polipeptidiche delle proteine di riserva del seme può inoltre essere utile per identificare particolari genotipi, allo scopo di migliorare il contenuto qualitativo e quantitativo delle proteine (SCHROEDER, BROWN, 1984).

Questo lavoro, che rappresenta la continuazione di uno precedente (HONWANA *et al.*, 1996), si è prefissato come obiettivo principale l'analisi, con tecniche elettroforetiche, delle proteine di riserva di ecotipi e varietà selvatiche di *Vigna unguiculata*, onde poter individuare dei marcatori biochimici e poter mettere in luce una possibile correlazione filogenetica tra i diversi campioni analizzati.

Come altre leguminose, *Vigna unguiculata* (L.) Walp.

rappresenta una coltura importantissima nelle aree agricole delle regioni tropicali e sub tropicali, specialmente nell'Ovest dell'Africa ed in Nigeria, dove costituisce la principale risorsa proteica. Di tale pianta vengono consumati il seme secco o immaturo, il baccello verde immaturo, le foglie verdi e perfino le radici. La concentrazione proteica raggiunge il 3-4% circa nelle foglie verdi, il 4-5% circa nei baccelli, il 25-30% circa nei semi maturi. Il profilo aminoacidico mostra contenuti di lisina, leucina e fenilalanina relativamente alti rispetto ai cereali, mentre piuttosto bassi sono i contenuti di metionina, cisteina e triptofano.

I programmi di miglioramento genetico della specie si basano su due strategie principali: 1) il miglioramento della qualità delle proteine, cercando di aumentare le classi proteiche caratterizzate da un alto contenuto di amminoacidi solforati; 2) l'attuazione di programmi di incrocio con alcune specie selvatiche, che presentano una maggiore resistenza ai patogeni più comuni. Per tali motivi si rende indispensabile un'identificazione delle varie cultivars e specie selvatiche.

MATERIALI E METODI

Le proteine totali sono state estratte da frammenti di seme completamente maturi degli ecotipi V1, V3, V6, V11 di *Vigna unguiculata* (L.) Walp., e delle due sottospecie selvatiche V20 e V21 (rispettivamente *V.*

unguiculata ssp. *dekindtiana* var. *pubescens* e *V. unguiculata* ssp. *dekindtiana* var. *dekindtiana*) raccolte in differenti zone del Mozambico da due degli autori (H.C., R.A.J.H.). I semi sono stati macinati in mortaio a 4°C e la farina è stata sospesa nel tampone di estrazione Tris-HCl 0,5 M pH 7,5. Dopo omogeneizzazione la miscela è stata centrifugata a 20.000 x g a 4°C per 20 minuti. Il sovranatante è stato utilizzato per le analisi. Le elettroforesi in condizioni denaturanti (SDS-PAGE) sono condotte in gel di poliacrilammide al 12% secondo LAEMMLI (1970) e la colorazione delle bande è stata effettuata secondo BERNARDI *et al.* (1990). I pesi molecolari e le quantità di proteina relativa a ciascuna banda sono stati calcolati mediante analisi densitometriche utilizzando il programma UVP's GelBase™ Windows software (Ultra Violet Products Ltd., UK). Gli indici di similarità tra i campioni sono stati calcolati secondo NEI, LI (1979) (vedi Tab. 1) e sulla base dei valori della matrice di similitudine ottenuta, è stato costruito un albero filogenetico, applicando il metodo UPGMA della "cluster analysis" usando il programma NTSYS-pc (Exeter Software, Setanket, N.Y.).

RISULTATI E DISCUSSIONE

Allo scopo di trovare marcatori genetici utili per distinguere i vari ecotipi di *V. unguiculata*, sono stati utilizzati i polimorfismi dei "patterns" elettroforetici delle proteine totali estratte da semi. I profili proteici dei diversi campioni analizzati per mezzo di elettroforesi PAGE hanno confermato la presenza di tre componenti principali di peso molecolare apparente di 300, 170, e 110 kiloDalton (kDa), classificabili rispettivamente come legumina, vicilina e albumina (HONWANA *et al.*, 1996). Le proteine totali sottoposte ad elettroforesi in condizioni denaturanti (SDS-PAGE) mostrano un alto grado di polimorfismo, con subunità maggiori a 75, 70, 60, 54, 49, 39,5, 34, 32, 31, 29 kDa: è da rilevare che le componenti sono rappresentate in maniera differente nei vari ecotipi (vedi Fig. 1).

Le bande principali a 60, 54 e 49 kDa corrispondono alle componenti principali delle proteine classificate come CP1 e CP2 da PEDALINO *et al.* (1990).

L'analisi delle proteine totali (Fig. 1) evidenzia differenze qualitative e quantitative: tali risultati sono stati confermati per mezzo di analisi densitometriche (HONWANA *et al.*, 1996), che permettono di distinguere ciascun campione per mezzo del "pattern" elettroforetico.

Le differenze sono riproducibili quando estratti di semi diversi degli stessi ecotipi sono analizzati, escludendo la possibilità di alterazione dei "patterns" dovute a degradazione proteolitica durante l'estrazione e/o l'elettroforesi: per tale motivo i "pattern" elettroforetici delle proteine di riserva possono essere usati come marcatori genetici per l'identificazione degli ecotipi.

Risultati preliminari indicano la presenza di subunità di peso molecolare 95 e 88 kDa che, in seguito ad analisi elettroforetiche bidimensionali in condizioni riducenti, risultano contenere polipeptidi legati da

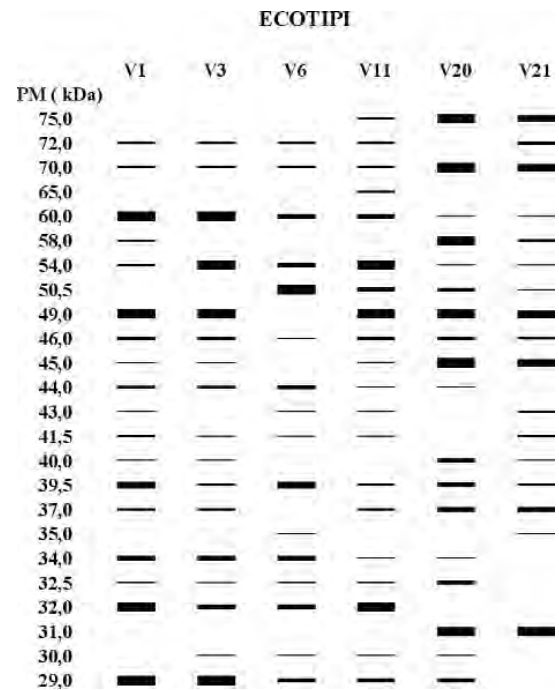


Fig. 1

Profilo elettroforetico in condizioni denaturanti (SDS - PAGE) delle proteine di riserva degli ecotipi V1, V3, V6, V11 di *Vigna unguiculata* (L.) Walp e delle due sottospecie selvatiche V20 e V21. I pesi molecolari (PM) sono espressi in kiloDalton (kDa).

Electrophoretic patterns in denaturing conditions (SDS - PAGE) of the storage proteins from ecotypes V1, V3, V6, V11 of *Vigna unguiculata* (L.) Walp and the wild subspecies V20 and V21 of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. The molecular weights are expressed as kiloDaltons (kDa).

ponti disolfuro: la subunità di 95 kDa è data dall'interazione di due subunità identiche di 49 kDa; la 88 è composta di due subunità di 72 e 20 kDa. Inoltre la banda a 39,5 kDa è data da due componenti a 31 e 17 kDa, mentre le subunità principali, incluse le due maggiori componenti globuliniche di peso molecolare 54 e 49 kDa, rimangono inalterate. La proteina con peso molecolare di 88 kDa dovrebbe essere la componente legumina-simile menzionata da CARASCO *et al.* (1978), poiché, come le legumine di altre leguminose, essa è composta da una subunità

TABELLA 1

Matrice di similarità generata utilizzando il metodo di stima di Nei, LI (1979).

Similarity matrix constructed by using the estimate method of Nei, LI (1979).

	V1	V3	V6	V11	V20	V21
V1	100	74.3	71.1	78.8	60.5	58.2
V3		100	78.1	89.6	60.5	54.2
V6			100	77.5	53.6	58.1
V11				100	64.3	60.5
V20					100	61.0
V21						100

acida ed una basica legate da un ponte disolfuro (DERBYSHIRE *et al.*, 1976).

Al fine di costruire le relazioni filogenetiche degli ecotipi e delle due specie selvatiche, abbiamo calcolato gli indici di similitudine secondo il metodo di NEI, LI (1979), utilizzando il rapporto tra il numero di bande in comune e la somma tra il numero di bande differenti ed il numero di bande in comune: un esempio è riportato in Tab. 1.

Le analisi filogenetiche sino ad ora permettono di individuare un gruppo maggiore ("cluster") comprendente 15 ecotipi e le due varietà selvatiche. Un risultato interessante è dato dal fatto che la maggior parte degli ecotipi all'interno del "cluster" sembrerebbe derivare filogeneticamente dalla varietà selvatica 21 (*V. unguiculata* ssp. *dekindtiana* var. *dekindtiana*). Tali risultati sono in accordo con FARIS (1965) e STEELE *et al.* (1980), che riportano quale probabile progenitore di *V. unguiculata* la specie selvatica *V. unguiculata* sottospecie *dekindtiana* o varietà *dekindtiana*.

Ringraziamenti – La presente ricerca è stata condotta con contributo del fondo di Ateneo dell'Università di Pisa.

LETTERATURA CITATA

- BERNARDI R., LUPI M.C., DURANTE M., 1990 - Phaseolus coccineus *L. storage proteins. Extraction and characterization*. Biol. Plant, 32: 198-204.
- BORROTTO K., DURE III L. (1987) *The globulin seed proteins of flowering plants are derived from the ancestral genes*. Plant. Mol. Biol., 8: 113-131.
- CARASCO J.F., CROY R., DERBYSHIRE E., BOULTER D., 1978 - *The isolation and characterization of the seed globulin of cowpea (Vigna unguiculata L. Walp.) and their sequential synthesis in developing seeds*. J. Exp. Bot., 29: 309-323.
- DERBYSHIRE E., WRIGHT D.J., BOULTER D., 1976 - *Legumin and vicilin, storage proteins of legume seeds*. Phytochem., 15: 3-42.
- DURANTE M., BERNARDI R., LUPI M.C., PINI S., 1989 - *Phaseolus coccineus storage proteins II. Electrophoretic analysis and erythroagglutinating activity in various cultivars*. Plant. Breed., 102: 58-65.
- FARIS D.G., 1965 - *The origin and evolution of the cultivated forms of Vigna sinensis*. Can. J. Genet. Cytol., 7: 433-452.
- GEPTS P., OSBORN T.C., RASHKA K., BLISS F.A., 1986 - *Phaseolin protein variability in wild forms and landraces of the common bean (Phaseolus vulgaris); evidence for multiple center of domestication*. Econ. Bot., 40: 451-468.
- GRAY J.R., FAIRBROTHERS D.E., QUINN J.A., 1973 - *Biochemical and anatomical population variation in the*

- Danthonia sericea complex*. Bot. Gaz., 134: 166-173.
- HONWANA C., RULKENS T., BRUSCHI P., BERNARDI R., DURANTE M., 1996 - *Proteine di riserva del seme come marcatori biochimici in cultivar ed ecotipi di Vigna unguiculata (L.) Walp. di origine mozambicana. VII Incontro "Actuality and perspectives of italian botanical research on the tropical environment"* Ann. Fac. Agraria Univ. Perugia, II Suppl. L: 75-84.
- KLOZOVA E., TURKOVA V., SVACHULOVA J., 1983 - *Seed proteins characters in the study of inter- and intraspecific relationship within the Phaseoleae (Fabaceae)*. In: JENSEN U., FAIRBROTHERS D.E. (Eds.), *Protein and nucleic acids in plant systematic*: 341-351. Berlin-Heidelberg, Springer-Verlag.
- KOENIG R., GEPTS P., 1989 - *Allozyme diversity in wild Phaseolus vulgaris: further evidence for two major center of genetic diversity*. Theor. Appl. Genet., 78: 809-817.
- LADIZINSKY G., HYMOWITZ T., 1979 - *Seed protein electrophoresis in taxonomic and evolutionary studies*. Theor. Appl. Genet., 54: 145-151.
- LAEMMLI U.K., 1970 - *Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4*. Nature, 227: 680-685.
- NEI M., LI W.-H., 1979 - *Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 10: 5269-5273.
- PEDALINO M., PAINO D'URZO M., COSTA A., GRILLO S., RAO R., 1990 - *Biochemical characterization of cowpea seed proteins*. In: NG N.Q., MONTI L.M. (Eds.), *Cowpea Genetic Resources*: 81- 89. International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria.
- SCHROEDER H.E., BROWN A.H.D., 1984 - *Inheritance of legumin and albumin contents in a cross between round and wrinkled peas*. Theor. Appl. Genet., 68: 101-107.
- STEELE W.M. E MEHRA K.L., 1980 - *Structure, evolution and adaptation to farming systems and environments in Vigna*. In: SUMMERFIELD R.J., BUNTING A.H., (Eds.), *Advances in Legume Science*: 393. Her Majesty's Stationery Office, London.

RIASSUNTO – Lo sviluppo di marcatori specifici è necessario per l'identificazione, la protezione e la determinazione delle varietà. Studi sulle varianti genetiche delle proteine di riserva dei semi possono essere utili nell'identificazione di particolari genotipi utilizzabili per il miglioramento del contenuto proteico e/o della composizione aminoacidica. Analisi elettroforetiche delle proteine totali estratte da semi di ecotipi di *Vigna unguiculata* (L.) Walp. origine mozambicana hanno evidenziato differenze quantitative e qualitative. I risultati evidenziano un alto polimorfismo nei campioni analizzati, che rende possibile distinguere le singole accessioni dai loro spettri elettroforetici. Gli indici di similarità e l'albero filogenetico mostrano la presenza di un gruppo che indica come la maggioranza degli ecotipi derivi filogeneticamente da *V. unguiculata* ssp. *dekindtiana* var. *dekindtiana*.

AUTORI

Rodolfo Bernardi, Paola Bruschi, Mauro Durante, Dipartimento di Biologia delle Piante Agrarie, Sezione di Genetica, via Matteotti 1/b, 56100 Pisa

Carla Honwana, Ton Rulkens, Departamento de Produção e Protecção Vegetal, Universidade E. Mondlane, Maputo, Moçambique

Callogenesi ed organogenesi in specie e varietà diverse di *Amaranthus*

R. BOVELLI, S. SCHIFF e A. BENNICI

ABSTRACT - *Callogenesis and organogenesis in species and different varieties of the genus Amaranthus* - A study has been carried out on several *Amaranthus* L. species breeding lines (*A. caudatus*, *A. cruentus*, *A. hybridus*, *A. hypochondriacus*) as far plant regeneration from callusing primary explants. The data obtained from different experiments provide unequivocal evidence that plant regeneration from primary explants varies with the genotype (species, variety) and with growth regulator combination used. The ratio between auxin and cytokinin concentrations affects shoot formation: optimum conditions for shoot induction are a high cytokinin/auxin ratio. Strong cytokinins such as BAP or 2iP seem to be effective agents for shoot regeneration. Also the age-dependent competence of the explant tissues influences the potential for regeneration, as the different responses of *A. cruentus*, *A. caudatus* and *A. hypochondriacus* show in our research.

Key words: *Amaranthus*, explant state, genotype, growth regulators, organogenesis

INTRODUZIONE

Il genere *Amaranthus* (*Amaranthaceae*) ha attirato, dal punto di vista agronomico, grande attenzione negli anni passati in diverse parti del mondo. Infatti esso dimostra un potenziale nutrizionale ed economico molto promettente per l'elevato contenuto in proteine dei suoi semi (16-18 % mediamente), una composizione in aminoacidi ben bilanciata con un elevato contenuto in lisina e metionina oltre ad una ampia adattabilità come pianta C_4 (pseudocereale) (BAGGA *et al.*, 1987; PETERS, JAIN, 1987). Inoltre in questo genere possono essere compresi tipi da foglia (foraggieri) con un elevato contenuto di proteine nelle foglie (fino a 5,6 % del peso fresco). Gli Amaranti da foglia sono commestibili, come gli spinaci, e sono adoperati in questo modo nell'Africa equatoriale e sud-est asiatico (FEINE *et al.*, 1979; FLORES, TEUTONICO, 1986).

Le specie da granella possono essere confrontate con il mais e altri cereali. Le specie di *Amaranthus* furono addomesticate nella preistoria sugli altipiani dell'America tropicale e subtropicale. Oggi queste specie sono diffuse ampiamente in quasi tutte le parti del mondo.

La tecnologia della coltura *in vitro* può fornire metodologie utili al miglioramento genetico delle specie di *Amaranthus* da granella (FLORES, TEUTONICO, 1986).

In particolare la rigenerazione e/o la micropropagazione di piante da espianti primari offre la possibili-

tà di moltiplicare genotipi superiori per la resistenza a stress biotici e abiotici, di ottenere piante selezionate per un'elevata produzione di proteine o aminoacidi specifici o piante maschiosterili. In questa ottica lo studio qui riportato del comportamento *in vitro* di espianti primari di molte specie e varietà di *Amaranthus* risulta interessante.

MATERIALI E METODI

Il materiale usato in questo studio è stato ottenuto dal germoplasma della collezione del Rodale Research Center (New Crop Department) di Kutztown (Pennsylvania, USA). Sono state utilizzate le seguenti specie: *A. caudatus*, *A. cruentus*, *A. hypochondriacus* e *A. hybridus* (per le varietà si vedano le Tab. 1-4). Per studiare la capacità a formare germogli avventizi (e quindi piante) a partire da espianti primari sono state realizzate due serie di esperimenti in coltura *in vitro*.

Prima parte sperimentale - I semi, una volta sterilizzati con $HgCl_2$ per 5 minuti e risciacquati cinque volte con acqua deionizzata sterile, sono stati fatti germinare in tubi contenenti un mezzo nutritivo MS (MURASHIGE, SKOOG, 1962) a concentrazione dimezzata, solidificato con Difco Bacto agar (0,8 %) e 15 gl^{-1} di saccarosio, senza altri composti organici. Dopo tre mesi sono stati prelevati dalle plantule cresciute dai semi posti a germinare porzioni di fusto di 10 mm di lunghezza e 3-4 mm di diametro; questi

sono stati posti orizzontalmente in beute da coltura Erlenmayer (40-50 espianti per varietà) contenenti 30 ml di mezzo nutritivo MS a cui sono aggiunti 100 mg^l-1 di mioinositolo, idrolizzato di caseina 500 mg^l-1, piridossina 1 mg^l-1, acido nicotinico 1 mg^l-1, acido ascorbico 0,1 mg^l-1, saccarosio 30 gl⁻¹, agar 0,8 %. A questo mezzo nutritivo sono stati aggiunti i seguenti regolatori di crescita: kinetina 3 mg^l-1 e acido indolacetico (IAA) 0,3 mg^l-1; benzilaminopurina (BAP) 3 mg^l-1 e IAA 1 mg^l-1. Il materiale è stato trapiantato due volte (al 10° e al 20° giorno) e i risultati raccolti al 30° giorno sottoforma di numero di espianti con germogli (e/o radici) rigenerati. Per indurre la formazione di radici i germogli rigenerati sono stati tagliati alla base e trasferiti in tubi contenenti mezzo nutritivo MS a concentrazione dimezzata e acido indolbutirrico (IBA) 1 mg^l-1. Le plantule con radici ben sviluppate sono state trasferite in vasetti e avvolte in plastica trasparente per ridurre il disseccamento. Tutti i mezzi nutritivi, portati a pH 5,6 con NaOH 0,1 N, sono stati autoclavati per 20 minuti a 120°C e a 108 kPa. Per la germinazione dei semi, la rigenerazione delle plantule e l'induzione delle radici i contenitori della coltura sono stati tenuti in una camera di crescita a 25±1°C, con un fotoperiodo di 16 h di luce/ 8 h di buio e sotto luce fluorescente (35 mol/m²/ s⁻¹).

Seconda parte sperimentale - Il primo tipo di esperimento è stato realizzato utilizzando piccioli, fusti e foglie ottenuti da piante giovani (di cinque mesi di età) di *A. cruentus*, *A. hypochondriacus* e *A. hybridus* (solo una varietà per ciascuna specie) cresciute in un campo sperimentale. I segmenti di fusto, senza gemme ascellari, e di picciolo (lunghi 10 mm, 10-5 mm di diametro rispettivamente) e i dischi fogliari (10 mm di diametro) sono stati presi da piante che avevano raggiunto un fusto del diametro di 10 mm. Questo materiale, prima lavato sotto acqua corrente, è stato sterilizzato con una soluzione di ipoclorito di sodio (NaClO 7 %) a concentrazioni variabili da 15 a 30 % per 10-15 minuti e risciacquati molte volte con acqua deionizzata sterile. Come mezzo di coltura è stato utilizzato il B5 (GAMBORG *et al.*, 1968) a cui sono stati aggiunti mioinositolo 100 mg^l-1, piridossina 1 mg^l-1, acido nicotinico 1 mg^l-1, tiamina-HCl 10 mg^l-1, saccarosio 30 gl⁻¹, agar 0,8 % e due combinazioni di regolatori di crescita: 2-isopenteniladenina (2iP) 2 mg^l-1 e acido naftalenacetico (NAA) 0,5 mg^l-1, NAA 0,1 mg^l-1 e kinetina 0,5 mg^l-1. Per ciascun tipo di espianto sono stati usati 40-50 espianti e il materiale è stato controllato dopo 4 settimane di coltura per verificare la risposta all'organogenesi. Una seconda serie di esperimenti è stata realizzata usando segmenti di fusto (10 mm di lunghezza e 15 mm di diametro) prelevati da piante che si trovavano in avanzato stadio di fioritura. La sterilizzazione con soluzione al 30 % di ipoclorito di sodio (NaClO 7 %) per 15 minuti è stata soddisfacente. Gli espianti (30-40 per specie/varietà) sono stati posti su mezzo nutritivo MS con mioinositolo 100 mg^l-1, piridossina 0,5 mg^l-1, acido nicotinico 1 mg^l-1, tiamina-HCl 1 mg^l-1, glicina 2 mg^l-1, sacca-

rosio 30 gl⁻¹, agar 0,8 %. Le combinazioni dei regolatori di crescita sono state: 2iP 2 mg^l-1 e NAA 0,5 mg^l-1, NAA 0,1 mg^l-1 e kinetina 0,5 mg^l-1, NAA 0,1 mg^l-1 e BAP 0,1 mg^l-1, NAA 0,5 mg^l-1 e BAP 1 mg^l-1, NAA 1 mg^l-1 e BAP 3 mg^l-1, NAA 0,1 mg^l-1 e BAP 1 mg^l-1. La formazione di organi è stata controllata dopo un mese dalla messa in coltura. Tutte queste colture (in beute Erlenmayer contenenti 30 ml di substrato) sono state mantenute nelle stesse condizioni già descritte.

Per la radicazione dei germogli ottenuti in questa seconda parte dell'esperimento è stata adottata la stessa tecnica riportata in precedenza.

RISULTATI E CONCLUSIONI

Per il primo approccio sperimentale di questo lavoro su *Amaranthus* (BENNICI *et al.*, 1992) la Tab. 1 mostra che solo *A. caudatus* e *A. hypochondriacus* hanno risposto positivamente alla formazione di germogli: numerosi germogli sono stati ottenuti per rigenerazione in una varietà (1113) di *A. caudatus* sia in presenza di IAA e kinetina che con IAA e BAP. Lo stesso si è verificato per la varietà 646 di *A. hypochondriacus* ma solo in presenza di IAA e BAP. È interessante notare che alcune varietà (e specie), sebbene coltivate in presenza di un elevato livello di citochinina - che in vitro induce la differenziazione dei germogli (SKOOG, MILLER, 1957; EVANS *et al.*, 1981; PROFUMO *et al.*, 1985) - rigenerano radici.

Risulta evidente da questi risultati che nelle quattro specie di *Amaranthus* la morfogenesi è influenzata dal genotipo dell'espianto originale. Per ciò che riguarda la relazione tra la morfogenesi e i regolatori di crescita anche in queste specie di *Amaranthus* la citochinina benzilaminopurina sembra essere molto efficace per la rigenerazione dei germogli. Comunque la formazione di radici in presenza di elevati rapporti citochinina/auxina (kinetina/IAA) indica che per questo genere esistono delle difficoltà per stabilire il rapporto ottimale per la rigenerazione di piante.

Nella successiva fase della ricerca lo studio è stato diretto verso l'ampliamento della conoscenza del comportamento di quelle specie che hanno dimostrato poca o nessuna capacità nella rigenerazione dei germogli, cioè *A. cruentus*, *A. hybridus* ed anche *A. hypochondriacus*. Come riportato in Tab. 2, sebbene alcune condizioni colturali (mezzo nutritivo B5, stadio fisiologico e tipo dell'espianto, tipo di ormoni e loro combinazione) siano state cambiate in rapporto al precedente esperimento, solo *A. hybridus* ha dimostrato una capacità di rigenerazione di germogli, seppure ad una bassa frequenza, da espianti di fusto e in una sola combinazione ormonale (kinetina e NAA). Inoltre è stata notata la formazione di gemme fiorifere (*A. hybridus* e *A. hypochondriacus*). Quando sono state provate queste ultime combinazioni ormonali sulle stesse varietà delle specie di *Amaranthus* (inclusa un'altra varietà di *A. hypochondriacus*) cresciute su mezzo nutritivo MS, la risposta è stata molto positiva (Tab. 3). Infatti la rigenerazione di germogli si è avuta in tutte le tre specie, specialmente in presenza

di 2iP e NAA; inoltre questa combinazione ormonale innalzava la frequenza di rigenerazione di germogli in *A. hypochondriacus* in rapporto al precedente esperimento. I risultati mostrati in Tab. 4 sono in accordo con il comportamento di *A. cruentus* e *A. hybridus* in relazione alla loro capacità di rigenerazione, e dimostrano di nuovo l'importanza del tipo di regolatore di crescita usato: una citochinina come il BAP (si veda sopra) ad elevata concentrazione e una auxina (NAA per queste specie in particolare) è la più efficace combinazione per la induzione dei germogli. Poiché tutti gli esperimenti sono consistiti di una auxina aggiunta ad una citochinina, un certo numero di espianti presentava zone di sdifferenziazione

TABELLA 1

Percentuale di espianti che formano germogli (S) e radici (R) su due diversi mezzi nutritivi MS in alcune specie e varietà di *Amaranthus*. (Tutte le concentrazioni ormonali sono espresse in *mgl-1*). (BENNICI *et al.*, 1992).

Percentage of explants of shoots (S) and roots (R) in two different media MS in some species and varieties of *Amaranthus*. (*mgl-1*).

Specie	Varietà	Kinetina 3,0 IAA 0,3	BAP 3 IAA 1
<i>A. caudatus</i>	1036	-	-
<i>A. caudatus</i>	1113	83 (S) ^a	67 (S) ^a
<i>A. cruentus</i>	434	7 (R)	-
<i>A. cruentus</i>	622	-	-
<i>A. cruentus</i>	1011	20 (R)	-
<i>A. cruentus</i>	1034	-	-
<i>A. hybridus</i>	1004	-	-
<i>A. hybridus</i>	1047	-	-
<i>A. hypochondriacus</i>	412	25 (R)	-
<i>A. hypochondriacus</i>	646	13 (R)	26 (S) ^a
<i>A. hypochondriacus</i>	674	-	-
<i>A. hypochondriacus</i>	1046	-	-
<i>A. hypochondriacus</i>	1221	25 (R)	-

^a Da uno a tre germogli per callo

TABELLA 3

Percentuale di espianti che formano germogli (S) e radici (R) su due diversi mezzi nutritivi MS in alcune specie/varietà di *Amaranthus*. (Tutte le concentrazioni ormonali sono espresse in *mgl-1*).

Percentage of explants of shoots (S) and roots (R) in two different media MS in some species and varieties of *Amaranthus* (*mgl-1*).

Specie/varietà	2iP 2,0 NAA 0,5	Kin 0,5 NAA 0,1
<i>A. cruentus</i>		
434	45 (S)	70 (R) 37 (S)
<i>A. hybridus</i>		
1047	11 (S)	-
<i>A. hypochondriacus</i>		
674	13 (S) ^a	80 (R) 10 (S)
1221	50 (S)	100 (R)

^a Tre germogli per callo

(estremità di taglio dell'espianto) solo raramente correlate alla formazione di organi.

CONCLUSIONI E PROSPETTIVE

Il genere *Amaranthus* dimostra un grande potenziale in relazione alla sdifferenziazione ed ai processi morfogenetici e alla possibilità di (micro-) propagare genotipi selezionati per mezzo della rigenerazione diretta (o indiretta) di germogli oppure per mezzo dell'embriogenesi somatica. I dati ottenuti da diversi esperimenti forniscono la prova inequivocabile che la rigenerazione da espianti primari varia in funzione del genotipo (specie, varietà) e con la combinazione dei regolatori di crescita.

TABELLA 2

Percentuale di espianti che formano germogli (S), radici (R) e fiori (F) su due diversi mezzi nutritivi B5 in alcune specie/varietà di *Amaranthus*. (Tutte le concentrazioni ormonali sono espresse in *mgl-1*).

Percentage of explants of shoots (S), roots (R) and flowers (F) in two different media MS in some species and varieties of *Amaranthus* (*mgl-1*).

Specie/varietà	Tipo di espianto	2ip 2,0 NAA 0,5	Kin 0,5 NAA 0,1
<i>A. cruentus</i>			
	Picciolo	-	-
434	Fusto	-	(R)
	Foglia	-	-
<i>A. hybridus</i>			
	Picciolo	-	-
1047	Fusto	-	8: 5(S) 3 (F)
	Foglia	-	-
<i>A. hypochondriacus</i>			
	Picciolo	-	-
674	Fusto	14 (F)	-
	Foglia	-	-

TABELLA 4

Percentuale di espianti che formano germogli (S) e radici (R) su quattro diversi mezzi nutritivi MS in alcune specie e varietà di *Amaranthus*. (Tutte le concentrazioni ormonali sono espresse in *mgl-1*).

Percentage of explants of shoots (S) and roots (R) in two different media MS in some species and varieties of *Amaranthus* (*mgl-1*).

Specie/varietà	NAA0,1 BAP 0,1	NAA0,5 BAP 1,0	NAA1,0 BAP 3,0	NAA0,1 BAP 1,0
<i>A. cruentus</i>				
1034	10 (S) 47 (R)	54 (S)		45 (S) -
<i>A. hybridus</i>				
1047	15 (S)	-	-	8 (S) ^a

^a Tre germogli per callo

LETTERATURA CITATA

- BAGGA S., VENKATESWARLU K., SOPORY S.K., 1987 - *In vitro* regeneration of plants from hypocotyl segments of *Amaranthus paniculatus*. *Plant Cell Rep.*, 6: 183-184.
- BENNICI A., SCHIFF S., BOVELLI R., 1992 - *In vitro* culture of species and varieties of four *Amaranthus* L. species. *Euphytica*, 62: 181-186.
- EVANS D.A., SHARP W.R., FLICK C.E., 1981 - *Growth and behaviour of cell culture: embryogenesis and organogenesis*. In: THORPE T.A. (Ed.), *Plant tissue culture. Methods and application in agriculture*: 45-113. Academic Press, New York.
- FEINE L.W., HARWOOD R.R., KAUFFMAN C.S., SENFT J.P., 1979 - *Amaranth, gentle giant of the past and future*. In: RITCHIE G.A. (Ed.), *New agricultural crops AAAS Selected Symp 38*: 41. Westview Press, Boulder.
- FLORES H.É., TEUTONICO R.A., 1986 - *Amaranthus (Amaranthus spp.): Potential grain and vegetable crops*. In: BAJAJ YPS (Ed.), *Biotechnology in agriculture and forestry 2*: 568-577. Crops I. Springer Berlin Heidelberg New York.
- GAMBORG O.L., MILLER R.A., OJIMA K., 1968 - *Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells*. *Exp. Cell Res.*, 50: 151-158.
- MURASHIGE M., SKOOG F., 1962 - *A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures*. *Physiol. Plant*, 15: 473-497.
- PETERS I., JAIN S., 1987 - *Genetic of grain amaranths. III*

- Genecytoplasmic male sterility*. *Heredity*, 78:251-256.
- PROFUMO P., GASTALDO P., CAFFARO L., DAMERI L.M., ROTI MICHELOZZI G., BENNICI A., 1985 - *Callus induction and plantelet regeneration in Cichorium intybus L.: Effect of different hormonal treatments*. *Protoplasma*, 126: 215-220
- SKOOG F., MILLER C.O., 1957 - *Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultivated in vitro*. In: *Biological action of growth substances*. 11th Symp. Soc. Exp. Biol. 11: 118-131

RIASSUNTO - E' stato eseguito uno studio su numerosi *Amaranthus* L. specie con linee generazionali diverse (*A. caudatus*, *A. cruentus*, *A. hybridus*, *A. hypochondriacus*) rigenerate da piante con espanti primari da calli. I dati ottenuti dai vari esperimenti forniscono la prova inequivocabile che la rigenerazione di piante da espanti primari varia con il genotipo (specie, varietà) e con la combinazione del regolatore di crescita utilizzato. Il rapporto tra concentrazioni di auxina e citochinina influisce sulla formazione del germoglio: la condizione ottimale per l'induzione del germoglio è un alto rapporto citochinina/auxina. Citochinine forti come BAP o 2iP, sembrano essere agenti efficaci per la rigenerazione del germoglio. Anche la competenza età-dipendenza dei tessuti espantati influisce sul potenziale di rigenerazione, come risulta dalle varie risposte di *A. cruentus*, *A. caudatus* e *A. hypochondriacus* nella nostra ricerca.

AUTORI

Ruggero Bovelli, Silvia Schiff, Andrea Bennici, Dipartimento di Biologia Vegetale, Università di Firenze, Piazzale delle Cascine 28, 50144 Firenze

Cymbopogon citratus (DC.) Stapf.: caratterizzazione biologica ed acclimatazione

M.R. CAGIOTTI, A. RANFA, F. FERRANTI, M. CECCARELLI e M.C. COHEN PINILLOS

ABSTRACT – *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.: *biological characterization and acclimatation* – In the field of research into the natural resources of plants, a study was begun to determine the possibility development and acclimatation of *Cymbopogon citratus* (lemongrass, chà principe) in the Botanical Garden in Perugia. Other than studying the response of this species to new development conditions (indo-malaysian centre of origin), cytological and caryological studies were carried out. The genetic origin of the indo-malaysian plants was confirmed; the anatomical essential oil storage structures were identified, revealing the secretory glands; moreover the external secretory glands along the leaf margins were identified. The collected plants, at the moment 3 in number, and potted, have an average morphometric development.

Key words: acclimatation, biology, *Cymbopogon citratus*

INTRODUZIONE

Da molti anni (BISTOCCHI *et al.* 1979; ROMANO *et al.*, 1981; CAGIOTTI *et al.*, 1983; CAGIOTTI *et al.*, 1989) vengono condotti studi sull'acclimatazione di specie tropicali e subtropicali considerate risorse vegetali interessanti per il contenuto in proteine od in oli essenziali (SKERMAN, 1982; PAIVA, 1990; PRINCIPE, 1991). In questo lavoro, oggetto della ricerca è una graminacea, *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. (lemongrass), coltivato in piccola scala, ma largamente utilizzato in molte parti del mondo quale blando sedativo per la presenza del particolare olio essenziale (GUENTHER, 1950; SACCO, 1954; COLLA SILVA, 1957).

Nell'Orto botanico di Perugia, da alcuni anni erano presenti alcuni esemplari di *Cymbopogon citratus*, in collezione *ex situ*, di provenienza mozambicana. Tale specie, sia in Africa che in molte altre parti del mondo esclusa la parte indiana, ha difficoltà a raggiungere lo stadio di antesi ed affida prevalentemente la possibilità di sopravvivenza (propagazione) alla capacità di formare rizomi. E' comunemente utilizzata come blando, ma efficace sedativo, in commercio conosciuta come 'lemongrass' ed in Mozambico come 'chà principe'. Solamente nel 1995 nell'alta Zambesia (Mozambico) sono fiorite alcune piante nei giardini della cittadina di Guruè. Uno dei motivi della difficoltà a fiorire potrebbe essere legato al differente ambiente di origine del 'lemongrass', il cui genecentro si colloca nell'area indo-malese, rispetto a quello africano ed ancor più a quello di sperimentazione dell'Italia centrale (Fig. 1). La notevole risorsa

fitochimica presente in tale specie ha stimolato la ricerca nei vari settori della biologia vegetale; tale specie era stata coltivata con successo nel sud Italia, ma poi se ne è perso l'interesse (MAMMÌ DE LEO, 1969). Oggi alla luce delle difficoltà legate all'impiego non sempre consono della 'camomilla', il 'lemongrass' potrebbe acquistare un'importanza notevole in quanto non presenta, a detta degli esperti, controindicazioni o pericoli di allergie o di intossicazioni varie. Molti sono i paesi africani, latino americani, ed in primis quelli orientali, che usano normalmente l'infuso di tale specie (PEREZ-ARBELAZ, 1978; SAMRA

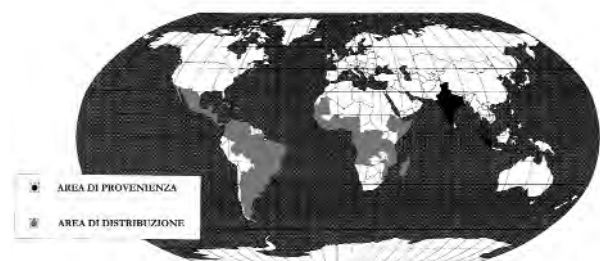


Fig. 1

Area di provenienza e distribuzione di *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.
Map of origin (black) and distribution (grey) of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.

et al., 1978; VASQUEZ, 1982).

Nel presente lavoro si è voluto verificare la possibilità di sviluppo e diffusione al clima dell'Italia centrale, sulla base di una valutazione morfologica dell'andamento del ciclo vegetativo ed anche attraverso una indagine isto-chimica delle strutture secretrici, accanto ad una indagine citogenetica, per comprendere il range di derivazione della specie introdotta (CAGIOTTI *et al.*, 1983).

AREA DI STUDIO, MATERIALI E METODI

L'indagine è stata svolta presso l'Orto botanico di Perugia, negli anni 1992-'93, utilizzando rizomi e foglie da campioni acclimatati da 2 anni, di provenienza mozambicana, in particolare di Maputo (Bairro da Universidade) e da quelli di Namaacha (Mozambico) (Fig. 2). Le condizioni di sviluppo presso l'Orto botanico di Perugia sono riportate nella Fig. 3 e quelle di Maputo e Namaacha in Fig. 4, secondo BAGNOULS, GAUSSEN (1953). Le osservazioni morfologiche e biometriche sono state condotte per un anno, operando in senso distruttivo con campionamenti di rizomi e foglie, su 3 piante, sia in pieno campo che in serra. Le misurazioni relative alle piante intere, effettuate con il doppio decimetro, hanno considerato i seguenti parametri: altezza, numero, lunghezza e larghezza delle foglie, diametro e lunghezza della guaina fogliare. Le osservazioni morfologiche di peli ghiandolari, ghiandole e stomi sulla superficie fogliare, sono state effettuate sia tra-

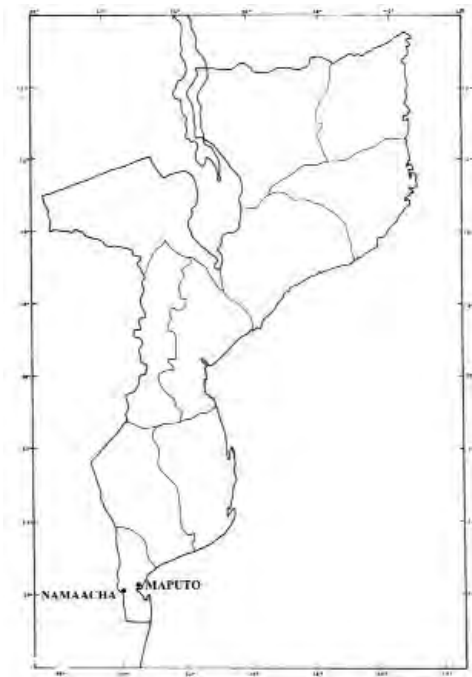


Fig 2

Area di provenienza dei campioni di *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.
Areas of provenance of samples of the *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.

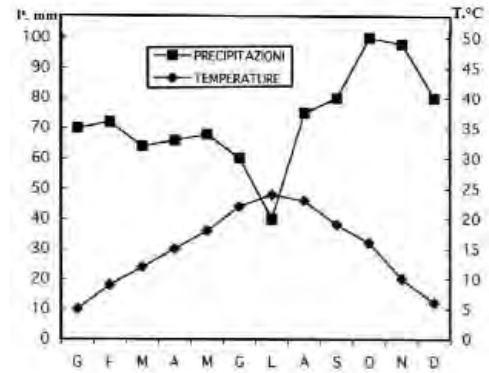


Fig. 3

Climogramma di Perugia (1991-'93).
Climate diagram of Perugia (1991-'93).

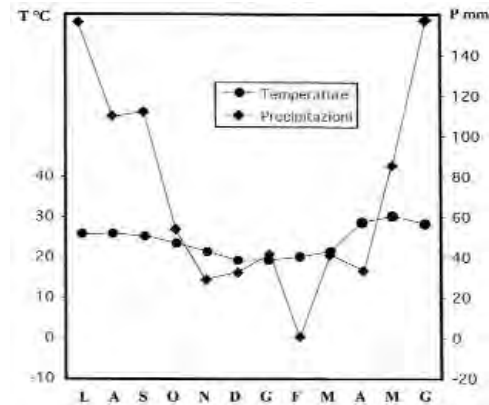


Fig. 4

Climogramma di Maputo (1990-'92).
Climate diagram of Maputo (1990-'92).

mite il microscopio Stereo Star-Zoom, che al SEM. Per tali osservazioni si è proceduto all'essiccamento del materiale fresco in stufa a 40 °C, e montaggio successivo di parti di materiale in stubs, sottoposto a metallizzazione con oro micronizzato per 3 minuti con l'ausilio dello 'sputter coater'. La realizzazione delle foto è stata ottenuta tramite pellicole Polaroid a 125 ASA a varie condizioni di osservazione. L'indagine isto-anatomica è stata condotta trattando il materiale (foglie e rizomi) con il metodo sia della colorazione semplice che della doppia colorazione (DOP, GAUTIER, 1928); le relative osservazioni sono state effettuate tramite microscopio ottico Leitz Diaplan-type dotato di camera fotografica Leica Wild MPS 52, usando pellicola Ektachrome 160 ASA. Relativamente alle analisi cariologiche, queste sono state condotte inizialmente su radici prelevate da piante adulte, immerse per 24 ore in acqua e ghiaccio a + 4 °C, allo scopo di bloccare la mitosi allo stadio di C-metafase, e quindi fissati in alcool etilico assoluto e acido acetico glaciale (3:1) in volume. Le successive analisi sono state effettuate su apici radica-

li, colorati con Feulgen, e sottoposti ad una idrolisi acida in HCl 1 N a 60 °C per 7 minuti. Poi è seguita la colorazione con il reattivo di Schiff per un'ora a temperatura ambiente.

Successivamente gli apici sono stati trattati e rimossi con il metodo di CONGER, FAIRCHILD, (1953). I preparati sono stati disidratati in una serie alcolica ascendente e montati in DPX. Alcuni preparati sono stati controcolorati con ematossilina, con il metodo di NUNEZ (1968). Per la colorazione dei nucleoli attivi si è seguita la tecnica di LACADENA *et al.* (1984).

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Come si osserva dalla Fig. 5, l'andamento dell'altezza-

za delle piante segue uno sviluppo (trend) regolare, con incrementi medi da luglio a febbraio, mentre successivamente, fino ad agosto, si notano incrementi nettamente superiori. Ciò può essere messo in relazione con le diverse condizioni di sviluppo fuori serra, da marzo ad agosto. Andamento simile viene osservato per la lunghezza delle foglie, mentre il numero delle foglie e la larghezza risentono in maniera rispettivamente minore dei cambiamenti microambientali.

Relativamente al parametro guaina si può osservare che solamente la lunghezza risente del cambiamento ambientale (marzo-agosto) mentre il numero ed il diametro della guaina hanno incrementi medi abbastanza regolari da luglio '92 ad agosto '93 (Fig. 6).

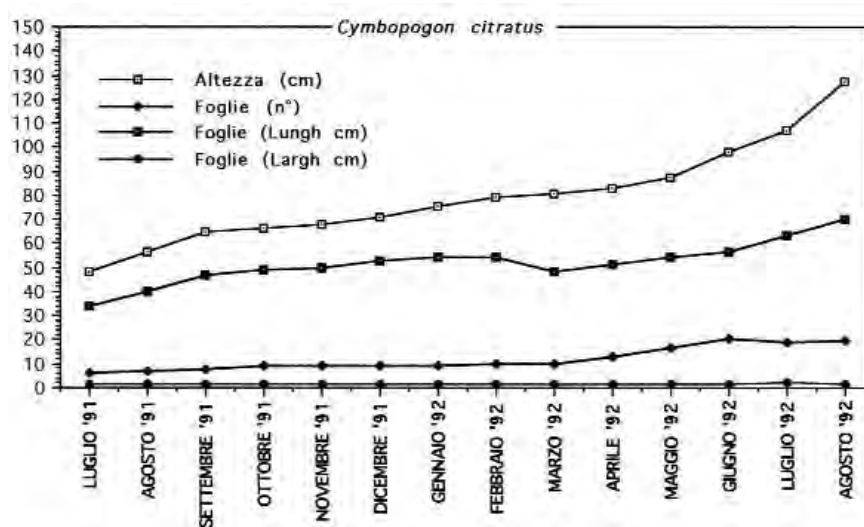


Fig. 5

Andamento delle variabili morfologiche.
Trend of morphological variables.

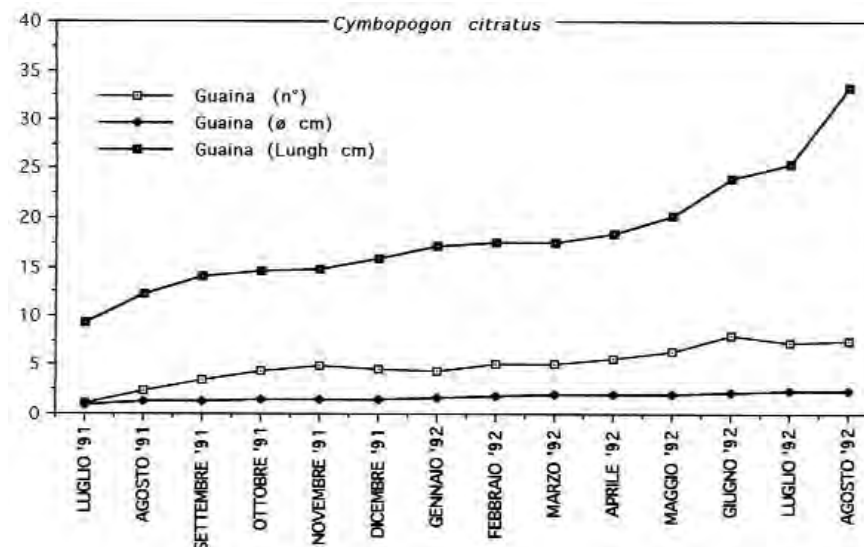


Fig. 6

Andamento della guaina fogliare.
Trend of the sheath.

La comparazione del ciclo di sviluppo del *Cymbopogon citratus* acclimatato in Perugia, ma non completamente naturalizzato (mancata fioritura), non può essere ancora effettuata in maniera soddisfacente. Si osserva, in generale, un raccorciamento della durata del ciclo di sviluppo e la mancata fase riproduttiva, compresi gli sviluppi vegetativi medi dell'intera pianta. Ciò è abbastanza analogo a quanto osservato da PIGNATTI (1982) per *Acorus calamus* L. di provenienza asiatica, naturalizzato in Italia, ma oggi quasi ovunque scomparso e che in Europa non ha mai fruttificato.

Dal punto di vista del ciclo vegetativo, la risposta del *Cymbopogon citratus* alle nuove condizioni di sviluppo, tenendo conto delle nuove variabili climatiche, è stata positiva. Comunque rimangono difficili da effettuare le comparazioni con lo sviluppo delle piante nell'ambiente di origine. La crescita in pieno

campo con il superamento del periodo invernale (3 mesi in serra), ci consente di ben sperare anche se le condizioni di sviluppo per una produzione su larga scala sarebbero più indicate nelle regioni del sud Italia. Le dimensioni delle foglie e l'altezza totale, così come lo sviluppo delle guaine, possono essere ascritte a quelle della media delle piante mozambicane dei primi due anni di vita.

Dal punto di vista isto-anatomico sono state individuate le strutture secretrici interne, con abbondante formazione ed accumulo di olio essenziale soprattutto nel rizoma (Fig. 7). La presenza di peli ghiandolari e ghiandole sulla superficie e sul margine fogliare mostra strutture esterne ben conformate, anche se formatesi in condizioni diverse da quelle dei paesi di origine (Figg. 8 e 11).

L'osservazione isto-anatomica del rizoma mostra un parenchima di riserva in cui sono dislocati fasci perilematici. Tale parenchima, di tipo amilifero, mostra

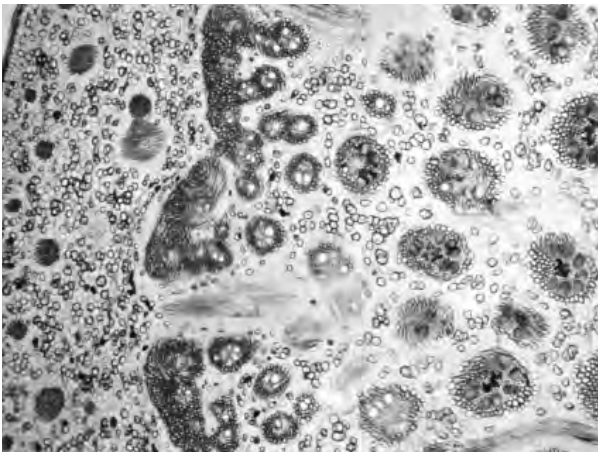


Fig. 7

Sezione trasversale di rizoma di *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. Parenchima di riserva e fasci concentrici, dall'esterno all'interno (x 10).

Cross-section of the rhizome of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. Reserve parenchyma and concentric bands (from outside to inside) (x 10).

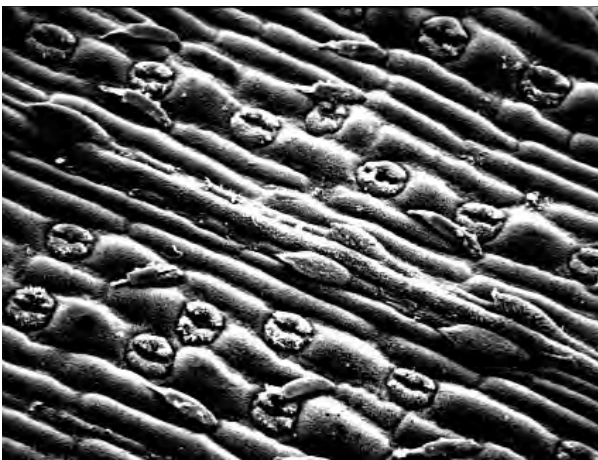


Fig. 8

Distribuzione tricomatosa e stomi sulla pagina superiore di *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.

Distribution of trichomes and stomata on the upper face of the *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.

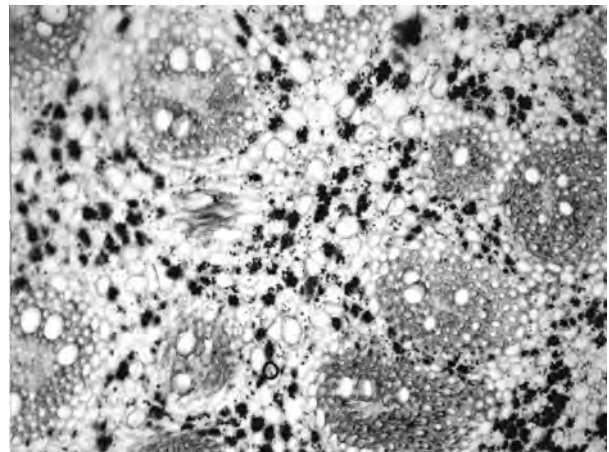


Fig. 9

Parenchima di riserva di tipo amilifero con concentrazione di granuli di amido, piccoli e sferoidali, di colore violetto intenso (x 23).

Reserve parenchyma (starchy-type) with starch grain, little and spheroidal, of the violet coloured (x 23).

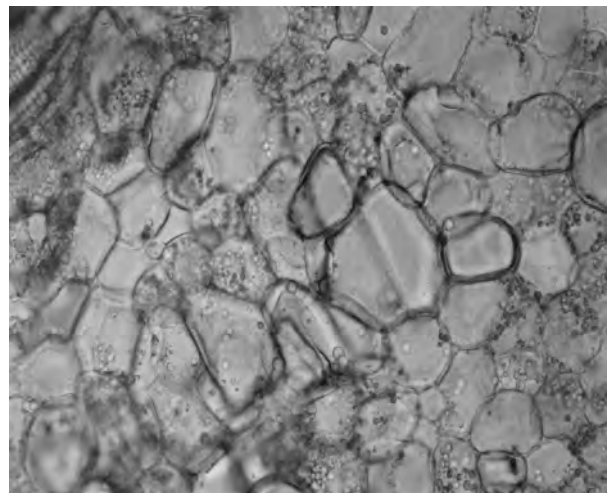


Fig. 10

Cellule secretrici contenenti olio essenziale, condensatosi per l'azione del calore (x 43).

Secretor cellules with condensed essential oil inside (x 43).

una forte concentrazione di granuli di amido, piccoli e sferoidali (Fig. 9); inoltre sono presenti cellule di dimensioni maggiori, riunite in gruppetti, agli angoli di un'ipotetica maglia. Tali cellule specializzate alla secrezione contengono olio essenziale che con il calore acquista una colorazione giallo-scura ed è maggiormente presente a ridosso delle parti interne della parete della cellula (Fig. 10). Questa disposizione è abbastanza simile a quella riscontrata negli idioblasti di *Acorus calamus* (aracea) che, al contrario di *Cymbopogon citratus* (graminacea), ha una disposizione degli stessi nettamente regolare e definibile 'a maglia' (DE CAPITTE, 1973). Ciò fa ritenere che questa struttura del 'lemongrass' sia più arcaica e quindi meno specializzata di quella del 'calamo aromatico'. L'osservazione isto-anatomica della foglia evidenzia una simmetria isolaterale, con una serie di piccoli fasci più o meno ridotti alla periferia ed una serie di fasci più grandi al centro del parenchima indifferenziato; tali fasci sono simili a quelli del rizoma. Le strutture collenchimatiche periferiche si continuano sino all'epidermide esterna; tale struttura è simile a quella riscontrata per le 'paniciformi', in opposizione a quella delle 'festuciformi' in cui si nota una continuità tra le due epidermidi (TONZIG, 1965). Sono ben evidenti gruppi separati di fibre collenchimatiche, che giustificano la forma lineare lanceolata e la resistenza al piegamento delle foglie, la cui funzione potrebbe essere simile a quella delle 'cellule bulliformi'. Peli ghiandolari e ghiandole sono soprattutto presenti al passaggio tra lamina e guaina della foglia, riuniti in gruppetti di 2 o 3. Gli stomi sono di tipo diacitico ed i peli ghiandolari risultano allineati e prostrati rispetto alla superficie epidermica (Figg. 8 e 11).

Dal punto di vista citogenetico il numero cromosomico riscontrato ($2n=60$) (Fig. 12), è in accordo con quanto ottenuto da LAVANIA (1988) per le popolazioni indiane, con una differenza relativa alla presenza di una sola coppia satellitata nel corredo cromoso-

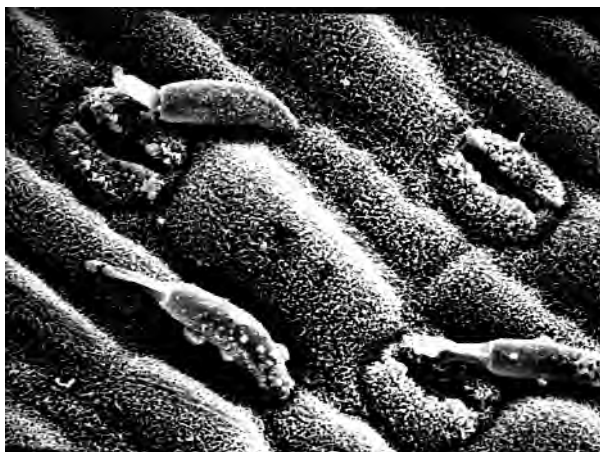


Fig. 11
Particolare delle distribuzioni tricomatose e stomatiche sulla pagina superiore di *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. Particular of the distribution of trichomes and stomata on the upper surface of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.



Fig. 12

Mappa cromosomica in C-metafase nel meristema radiale di una pianta di *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. (x 1500).

Chromosome-map on C-metaphase of the root meristem of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. (x 1500).

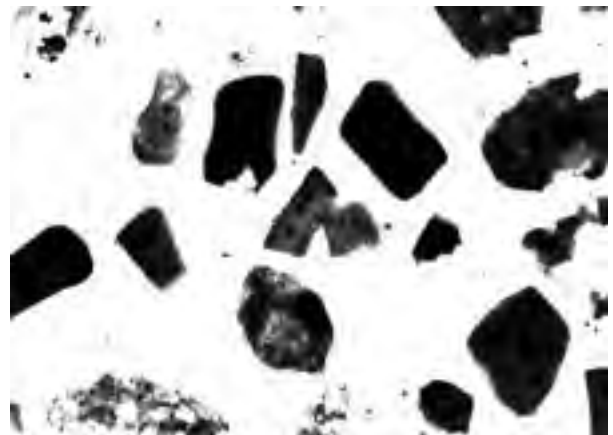


Fig. 13

Cellule di meristema radicale di una pianta di *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. Si contano fino ad un massimo di tre nucleoli (x 1510).

Root meristem cellular of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. The visibles till three nucleolus (x 1510).

mico. Da quanto osservato si può affermare, in base al numero massimo dei nucleoli (3) (Fig. 13), che nel corredo cromosomico delle piante analizzate (*Cymbopogon citratus* di origine mozambicana) esistono almeno due coppie con satellite. Ciò potrebbe indicare una tendenza delle piante acclimatate in Italia, di origine mozambicana, ad adottare parziali strategie morfogenetiche per l'adattamento al nuovo ambiente di vita.

LETTERATURA CITATA

- BAGNOULS F., GAUSSEN H., 1953 - *Saison sèche et indice xerothermique*. Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse, 88.
 BISTOCCHI N., CAGIOTTI M.R. et al., 1979 - *Indagine preliminare sulla biologia del fagiolo alato* [*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC.]. Ann. Fac. Agr. Univ. Perugia, XXXIII, 389-404.
 CAGIOTTI M.R., ROMANO B., DE CAPITTE L., 1983 - *Indagine su Vigna mungo* (L.) Hepper. Ann. Fac. Agr.

- Univ. Perugia, XXXVII: 29-41.
- CAGIOTTI M.R., ROMANO B., FORNACIARI M., BAUER R., 1989 - *Osservazioni sulla biologia di Cucurbita foetidissima H.B.K.* Ann. Fac. Agr. Univ. Perugia, XLIII: 419-451.
- COLLA SILVIA A., 1957 - *Sobre el contenido en Citral del "Pasto Cedròn" cultivado en diferentes zonas en misiones. Uruguay.* Archivo Ciencias Biologicas Naturales, 16.
- CONGER A.D., FAIRCHILD M., 1953 - *Equick freeze method for making smear slides permanent.* Stain Technol., 28: 281-283.
- DE CAPITE L., 1973 - *Botanica Farmaceutica - 2. Ed.* Porziuncola, Santa Maria degli Angeli, Assisi, (PG).
- DOP P., GAUTIÉ A., 1928 - *Manuel de technique botanique.* Lamarre, Paris.
- GUENTHER E., 1950 - *Essential Oil of the plant Family Gramineae.* Essential Oils, 4: 1-83.
- LACADENA J.É.R., CERME-O M.C., ORELLANA J., SANTOS J.L., 1984 - *Evidence for wheat-rye nuclear composition (amphiplast) in triticale by silver-staining procedure.* Theor. Appl. Genet., 67: 207-213.
- LAVANIA U. C., 1988 - *Karyomorphological observation in Cymbopogon Sprengel.* Cytologia, 53: 517-524.
- MAMMI DE LEO M., 1969 - *Su alcune essenze di graminacee del genere Cymbopogon.* E. P. P. O. S., luglio-settembre, 3: 157-162.
- NUÑEZ O., 1968 - *An acetic hematoxylin squash method for small chromosomes.* Caryologia, 21: 115-119.
- PAIVA J., 1990 - *Patrimonio biologico e biodiversidade.* Colleção: Estado do Planeta. Ed. Geota, 2, Lisboa.
- PEREZ-ARBELAEZ E., 1978 - *Plantas Útiles de Colombia.* Ed. Victor Hugo, 14^ª, Bogotá, 536-537.
- PIGNATTI S., 1982 - *Flora d'Italia.* Vol. III. Edagricole, Bologna.
- PRINCIPE P.P., 1991 - *Valuing the Biodiversity of Medicinal Plants.* In: AKERELE O., HEYWOOD V., SYNGE H. (Ed.), *Conservation of Medicinal Plants.* Univ. Press., Cambridge.
- ROMANO B., CAGIOTTI M.R., BISTOCCHI N., 1981 - *Indagine preliminare sul Cajanus cajan (L.) Millsp.* Ann. Fac. Agr. Univ. Perugia, XXXV: 405-433.
- SACCO T., 1954 - *Il Cymbopogon citratus nell'agricoltura e nell'industria Somala.* Allionia, LIII: 10-12, 3-13.
- SAMRA J.S., SAINI S.S., BAINS D.S., 1978 - *Lemon grass comes to Punjab.* Intensive Agriculture (New Delhi), February, 17-18.
- SKERMAN P.J., 1982 - *Les légumineuses fourragères tropicales.* Collection FAO: Production végétale et protection des plantes, N. 2, Roma.
- TONZIG S., 1965 - *Elementi di Botanica,* Vol. 2 - Editrice Ambrosiana, Milano.
- VASQUEZ M., 1982 - *Plantas y Frutas Medicinales de Colombia y America,* 1^ª edizione, Ed. Climent Ltda., Cali (Colombia).

RIASSUNTO – Nell'ambito dello studio sulle risorse vegetali naturali è stato iniziato uno studio sulle possibilità di sviluppo ed acclimatazione di *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. (lemongrass, chà principe) all'Orto botanico di Perugia. Oltre a studiare la risposta di tale specie alle nuove condizioni di sviluppo (genecentro indo-malese), sono state svolte indagini dal punto di vista citologico e cariologico. E' stata confermata la derivazione genetica delle nostre piante dal ceppo indomalese; sono state localizzate le strutture anatomiche di immagazzinamento dell'olio essenziale, evidenziando le cellule secretrici; inoltre sono state individuate le ghiandole secretrici esterne poste lungo il margine fogliare. Gli individui collezionati, al momento in numero di 3, poste in vaso, presentano uno sviluppo morfometrico medio.

AUTORI

Mauro Roberto Cagiotti, Francesco Ferranti, Dipartimento di Biologia vegetale e Biotecnologie agroambientali, Università degli Studi di Perugia, Borgo XX Giugno 74, 06121 Perugia

Aldo Ranfa, Centro di Ateneo per i Musei Scientifici, Area operativa Orto botanico, Università degli Studi di Perugia, Borgo XX Giugno 74, 06121 Perugia

Marilena Ceccarelli, Dipartimento di Biologia Cellulare, Università degli Studi di Perugia, Via Elce di Sotto, 06121 Perugia

Claudia Maria Cohen Pinillos, Dipartimento di Biologia vegetale e Biotecnologie agroambientali, Università degli Studi di Perugia, Borgo XX Giugno 74, 06121 Perugia

Caratterizzazione ecofisiologica e fitochimica di *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.

M.R. CAGIOTTI, N. POCESCHI, A. RANFA, M.C. COHEN PINILLOS e E. MINIATI

ABSTRACT - *Ecophysiological and phytochemical characterization on Cymbopogon citratus (DC.) Stapf.* - The yield of essential oil and the qualitative-quantitative composition of plants of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. of Mozambican origin, developed in the Botanical Garden in Perugia, were compared with plants originating from other environments. The results revealed few differences in yield, while the differences in the chemical components of the essential oil and in the leaf chlorophylls were more significant. Among the flavonoids the luteolin was considered as one of the chemical markers.

Key words: chlorophyll contents, *Cymbopogon citratus*, essential oil, flavonoids

INTRODUZIONE

Nell'ambito degli studi sulla biologia ed acclimatazione di piante alloctone nell'Italia Centrale avviati in precedenza (BISTOCCHI *et al.*, 1979, CAGIOTTI *et al.*, 1983, CAGIOTTI *et al.*, 1989), è stata rivolta da alcuni anni l'attenzione verso una graminacea *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf più usualmente conosciuta come "lemongrass" o come "citronella". Tale specie, originaria delle Indie Occidentali, cresce spontanea in molte regioni tropicali e subtropicali dell'Asia, dell'Africa e dell'America; già nel 1960 fu tentata la coltivazione presso la Stazione Sperimentale per l'Industria delle Essenze e dei Derivati Agrumari in Calabria (MAMMÌ DE LEO, 1969); precedentemente, SACCO (1954) in Somalia ha effettuato la coltivazione del *Cymbopogon*. Attualmente la sua coltivazione in Italia è cessata da molto tempo. In Francia viene ancora coltivata ma per uso prevalentemente erboristico; per le sue proprietà terapeutiche *Cymbopogon citratus* è stata inserita nelle Farmacopee Ufficiali di alcuni stati, quali India, Gran Bretagna, Francia, Messico e Brasile. *Cymbopogon citratus* è usata per la presenza di olio essenziale contenuto in tutte le parti della pianta, in particolare nelle foglie e nel rizoma.

Nella medicina popolare vengono usate le foglie per fare una tisana che viene bevuta al posto del tè, il rizoma per la prevenzione della carie (PEREZ-ARBELAEZ, 1978). L'industria chimico-farmaceutica estrae dalle foglie, mediante distillazione, un olio essenziale, ricco in "citrale"; lo scarto di detta distillazione in molti casi viene riutilizzato sia per l'imbal-

laggio di frutta sia per l'ottenimento della carta (CIARMELLO *et al.*, 1984). Tale specie viene usata anche come barriera antierosione nelle aree a forte deterioramento ambientale (ROA TORRES, 1979). Da quanto esposto la suddetta specie è considerata ad "elevata risorsa naturale" in particolare quale specie "aromatica", potenzialmente interessante per la sua biodiversità intrinseca (PRINCIPE, 1991; HAWKSWORTH, 1995). E' coltivata su ampia scala in molti paesi del sud e centro America, conosciuto come "limoncello" compreso Haiti (IGOLEN, 1968) ed in molti paesi dell'Asia prevalentemente India (MOZOMORRON, 1972), ed anche di recente in Australia. Lo scopo del presente lavoro è quello di verificare il grado di adattabilità della specie ad un nuovo ambiente di sviluppo dell'Italia centrale, in particolare dell'Orto botanico di Perugia, considerando la resa dell'olio essenziale, così come la composizione qualitativa dell'olio medesimo formatosi in un ambiente diverso da quello di origine. Nel tentativo di avere un approccio ecofisiologico più completo si è valutato il tenore in pigmenti fotosintetici e la presenza dei flavonoidi al fine di avere un quadro maggiormente completo sulla biologia e sulla risposta di tale specie al nuovo ambiente di vita.

MATERIALI E METODI

Sono stati presi in esami i seguenti parametri: 1) - olio essenziale (composizione); 2) - pigmenti fotosintetici (clorofille e carotenoidi); 3) - flavonoidi (principali).

1 - Olio essenziale (resa e composizione)

Lo studio fitochimico in un primo approccio ha riguardato la valutazione della resa in olio essenziale ottenuto da piante acclimatate in Italia e da piante mozambicane. L'olio derivava da foglie di piante di *Cymbopogon citratus* presenti da alcuni anni nell'Orto botanico di Perugia ma sempre di provenienza mozambicana (Maputo), e da foglie di piante provenienti direttamente da Namaacha (Mozambico). L'olio essenziale è stato ottenuto tramite il metodo della distillazione in corrente di vapore, utilizzando piccole quantità di foglie triturate, poste nella caldaia del microdistillatore. L'olio ottenuto è stato raccolto in un recipiente tarato, che ha permesso di calcolarne la resa dell'olio. Le condizioni di sviluppo in termini climatici, secondo BAGNOULS, GAUSSEN (1953), sono riportate in Figg. 1a -1b. Per la determinazione della composizione quali-quantitativa dell'olio essenziale, dopo la diluizione con diclorometano, il campione è stato iniettato direttamente nel gascromatografo-spettrometro Varian Saturn 3, alle seguenti condizioni di lavoro:

Cromatografia

Colonna DB-Wax, 50 metri, 0,32 mm i.d., 1 micron film thickness. Gas di trasporto: elio, 2.2 ml/min a 35 °C, pressione 15 psi Iniettore splitless 0,75 i.d. Trasfert line: 220 °C. Temperatura programmata: a 35 °C da iniezione a 8 min., da 35 a 45 °C a 1,5 °C/min., da 45 a 150 °C a 3 °C/min., da 180 a 210 °C a 6 °C/min., poi isoterma a 210 °C. Tempo totale di analisi 80 minuti.

Massa

Scan rate 1500 millesecondi/scansione Low mass: 10 m/z. High mass: 650 m/z. Identificazione dei picchi tramite confronto degli spettri di massa con quelli forniti dalla "Libreria spettri LIST '92-NBS" implementata nel GC-MS. Nelle Tab. 1 - 2 sono riportati i dati relativi alle suddette analisi.

2 - Pigmenti fotosintetici

Campioni fogliari di *Cymbopogon citratus*, delle due località suddette, Orto botanico (PG) e Namaacha (Mozambico), sono stati prelevati per la determinazione dei pigmenti fotosintetici, quali clorofille e carotenoidi, secondo il metodo di POCESCHI *et al.* (1988), parzialmente modificato, come di seguito descritto.

- 1a fase: estrazione; una quantità nota del campione (1 gr.), viene posta in un mortaio e, tramite cristalli di quarzo, viene omogenata fino all'ottenimento di una finissima poltiglia. I pigmenti si estraggono poi aggiungendo una soluzione acetone-acqua (80/20) fino ad ottenere un residuo completamente bianco. L'estratto ottenuto viene filtrato con filtri "millipore" da 0,2 µm di diametro e portato ad un volume noto sotto corrente di azoto. L'intera operazione viene svolta al buio o ad intensità di luce molto bassa, per evitare la foto-ossidazione dei pigmenti stessi; la soluzione dei pigmenti viene poi analizzata all'HPLC.
- 2a fase: dosaggio; viene eseguito mediante HPLC, usando un apparecchio JASCO dotato di due pompe modello 880-PU, di un rivelatore UV-VIS

modello 875 UV e di un integratore modello SP 4270/4290. La colonna usata è una fase inversa Spherisorb ODS 2 (250x4 mm) 5µ e l'eluizione avviene con una miscela di acetonitrile-acqua in gradiente lineare da 30 a 0% di acqua. Il flusso è di 1 ml al minuto e la lunghezza d'onda è di 436 nm. L'identificazione dei picchi viene effettuata per confronto con soluzioni note di pigmenti standard. Nelle Tab. 3 - 4 sono riportati i risultati ottenuti.

3 - Flavonoidi

Per l'estrazione dei flavonoidi è stato utilizzato materiale secco di foglie (3 g), di entrambe le provenienze. I campioni sono stati triturati e successivamente estratti con 20 ml di soluzione etanolica al 30%. L'estratto ottenuto è stato filtrato con un "millipore" 0,2 µ e con l'ausilio di un imbuto separatore e l'aggiunta di 20 ml di etere di petrolio si sono allontanati i pigmenti e le altre molecole liposolubili. La frazione idrosolubile è stata di nuovo filtrata con lo stesso filtro usato in precedenza e poi analizzata all'HPLC.

Analisi all'HPLC

Condizioni operative: è stata impiegata una colonna RP 5µ 25 x 0,4 cm, con un flusso di 1ml/min ed una lunghezza d'onda di 254 nm. La separazione dei flavonoidi è stata effettuata in gradiente con acido acetico al 3 % (solv.A) e acetonitrile (solv.B), andando dall'84% al 70% di A in 20 minuti.

Il riconoscimento ed il dosaggio è stato effettuato per confronto con soluzioni standard a concentrazione nota. Nella Tab. 7 sono riportati i risultati ottenuti.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Dal diagramma climatico della Fig. 1a (Orto botanico-Perugia) in cui sono riportati gli andamenti delle condizioni climatiche di sviluppo, è possibile osservare una situazione di aridità relativa al periodo estivo (luglio-agosto) con temperature medie attorno ai 20 °C mentre quella dell'anno si attesta attorno ai 13,5 °C. Le precipitazioni mostrano andamenti fluttuanti con notevoli differenze tra le massime e le minime dei mesi primaverili ed autunnali oscillando tra 15 mm di febbraio ed 184 mm di ottobre. In totale le precipitazioni assurgono ad un valore annuale di 872 mm. Dalla Fig. 1b (Namaacha-Mozambico) è possibile osservare un periodo di aridità ampio che va da maggio ad ottobre. Le temperature sono molto più regolari come andamento con scarse oscillazioni medie tra 19 e 27 °C, anche se si sono registrati valori minimi di 14,5 °C e massimi di 33,5 °C. Le precipitazioni sono maggiormente distribuite nei periodi di gennaio febbraio ed ottobre-novembre con valori massimi di 767 mm.

Dai dati comparativi della Tab. 5 è possibile osservare come la resa in olio essenziale non varia nei vari campioni di provenienza sia per quelli di Perugia che del Mozambico e dell'India ad eccezione di quelli del Guatemala che risultano nettamente inferiori. Ciò è in linea con quanto trovato da MAMMI DE LEO (1969), su due specie di *Cymbopogon*. Le Tab. 1-2, relative alla composizione dell'olio essenziale, ripor-

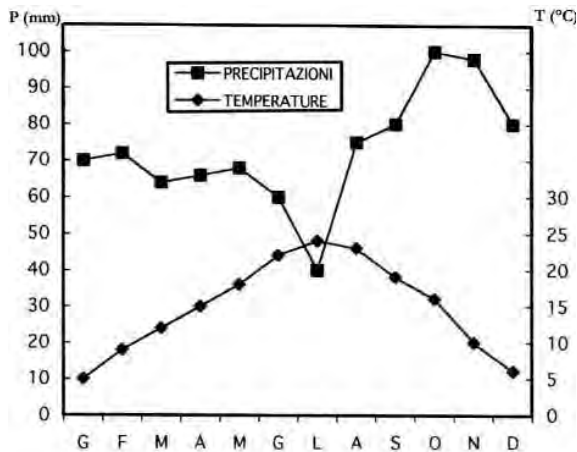


Fig. 1a

Climogramma di Perugia (1991-'93).
Climate diagram of Perugia (1991-'93).

tano i dati relativi ai componenti dei due campioni di diversa provenienza. In particolare la Tab. 1, riferita al campione dell'Orto botanico di Perugia, evidenzia un numero di componenti pari a 34 di cui i principali sono il trans-citrale (39,93%), cis-citrale (35,79%), beta-mircene (11,22%), geraniolo (2,64%), acido geranico (1%) e gli altri in percentuali nettamente inferiori. Nella Tab. 2, relativa ai campioni di Namaacha (Mozambico), si evidenzia un numero di componenti pari a 38, di cui i principali sono il trans-citrale (36,68%), cis-citrale (28,19%), beta-mircene (18,64%), geraniolo (2,74%), 1-4dimetil-(5-isopropil)-cicloeptene (2,28%), linalolo (1,58%), ipsenolo (1,19%) e gli altri in percentuali nettamente inferiori. Dal confronto dei due campioni emerge che per entrambi la maggior parte dell'olio è costituita nell'ordine da tre componenti, trans-citrale, cis-citrale e beta-mircene, anche se presenti in percentuali differenti tra loro. Rimangono comunque fisse le presenze dei tre componenti principali, anche se i campioni derivano da piante sviluppatesi in ambienti diversi (Fig. 2).

Ciò consente di ipotizzare la possibilità di ottenere comunque i suddetti componenti principali, nel momento in cui il "lemongrass" venisse coltivato su ampia scala. Nel campione dell'Orto botanico mancano alcuni componenti quali linalolo, ipsenolo e 1-4dimetil-(5-isopropil)-cicloeptene ed alcuni componenti presenti in percentuali minori; ciò potrebbe essere ascritto sia alle differenti condizioni di sviluppo (FARUQUI *et al.*, 1974; SING *et al.*, 1994), che ai diversi centri di origine del materiale di partenza (FENAROLI, 1975). Per quanto concerne il contenuto di clorofilla a e b (Tab. 3), si registra per entrambe un valore più elevato nel campione proveniente dal Mozambico rispetto a quello dell'Orto botanico. Per la clorofilla a si riscontra un valore di 1012 µg/g p.f. contro 872 µg/g p.f. e per la clorofilla b 374 µg/g p.f.

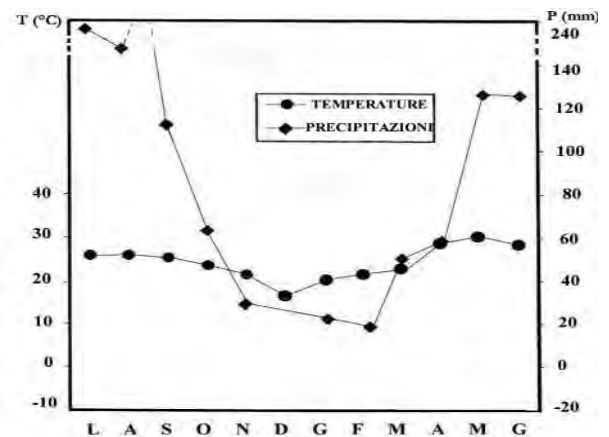


Fig. 1b

Climogramma di Namaacha (Mozambico) (1990-'92).
Climate diagram of Namaacha (Mozambique) (1990-'92).

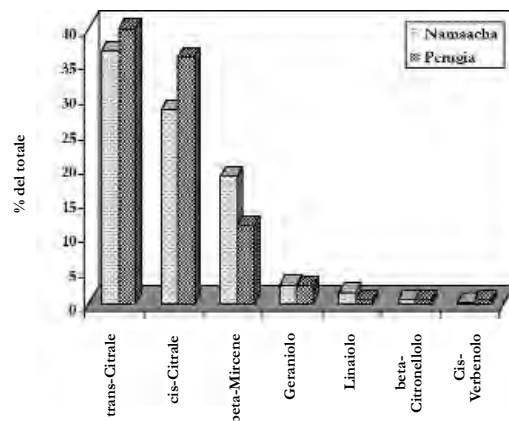


Fig. 2

Principali componenti dell'olio essenziale in *Cymbopogon citratus* comparati nelle due aree di sviluppo.
Main contents of the essential oil in *Cymbopogon citratus* in comparison on the two areas of development.

contro i 309 µg/g p.f. Anche il contenuto di tutti i carotenoidi (Tab. 4) risulta più elevato nel campione proveniente dal Mozambico, anche se le differenze non sono molto evidenti. Il pigmento maggiormente presente è la violaxantina in entrambi i campioni (7,94 µg/g p.f. contro 7,23 µg/g p.f.), mentre il pigmento meno presente è l'anteroxantina (1,23 µg/g p.f. contro 0,95 µg/g p.f.). Tutti gli altri carotenoidi hanno valori intermedi rispetto a quelli sopra citati. Quanto sopra, riscontrato sia per le clorofille che per i carotenoidi, è in linea con i risultati ottenuti in altre specie provenienti da ambienti vari ed acclimate nel nostro ambiente di sviluppo, come in *Zea mays*

TABELLA 1

Composti chimici dell'olio essenziale di Cymbopogon citratus dell'Orto botanico di Perugia.
Chemical constituents of the essential oil in Cymbopogon citratus from Botanical Garden of Perugia (Italy).

N°	Composto identificato	RT	AC/1000	%
1	Etano	2.04	908	0.53
2	Etere etilico (solvente)	2.52	734901	-
3	Isobutano	5.39	104	0.06
4	Metanolo	8.97	3810	2.23
5	Cloruro di metilene	10.02	52	0.03
6	Etanolo	10.89	35	0.02
7	beta-Mircene	26.44	19159	11.22
8	trans-Ocimene	30.77	538	0.32
9	cis-Ocimene	31.74	350	0.21
10	6-Metil-5-epten-2-one	36.49	188	0.11
11	2,6,6-Trimetil-2,4-cicloptadien-1-one	39.59	115	0.07
12	Citronellene	39.72	187	0.11
13	Ipsenolo ?	39.97	445	0.26
14	3,4-Metil-3-pentenilfurano	40.50	379	0.22
15	2,6,6-Trimetil-1-cicloesen-1-carbossaldeide	40.72	147	0.09
16	2,6-Dimetil-6-ottenale	43.24	242	0.14
17	1,3,4-Trimetil-3-cicloesene-1-carbossaldeide	44.79	704	0.41
18	Linalolo	46.02	1127	0.66
19	cis-Verbenolo	46.37	905	0.53
20	Undecanone	48.27	1089	0.64
21	cis-Citrale	52.07	61095	35.79
22	trans-Citrale	53.94	68169	39.93
23	Nerile acetato	54.37	414	0.24
24	beta-Citronellolo	54.69	1089	0.64
25	2-Tridecanone	56.14	1054	0.62
26	Geraniolo	57.47	4505	2.64
27	Acido caprilico	64.19	164	0.10
28	2,6,6-Trimetil-2,4-cicloptadien-1-one	64.52	172	0.10
29	6-Metil-2-Tridecanone	65.50	381	0.22
30	Spatenolo ?	66.29	113	0.07
31	alfa-Cariofillene	70.74	181	0.11
32	Acido nerico	71.97	496	0.29
33	Acido geranico	73.87	1701	1.00
34	Tridecanolo	74.57	694	0.41
	TOTALE		905613	100.0

TABELLA 3

Clorofille presenti nelle piante di Cymbopogon citratus dell'Orto botanico (PG) comparate con quelle provenienti da Namaacha (Mozambico).
Chlorophylls contents of the Cymbopogon citratus from two origin areas, in comparison.

	Namaacha	Orto bot. (PG)
Clorofilla a µ/g p.f.	1012	872
Clorofilla b µ/g p.f.	374	309
Clor. totale µ/g p.f.	1386	1181

TABELLA 2

Composti chimici dell'olio essenziale di Cymbopogon citratus proveniente da Namaacha (Mozambico).
Chemical constituents of the essential oil in Cymbopogon citratus from Namaacha (Mozambique).

N°	Composto identificato	RT	AC/1000	%
1	2-Metil-2-pentene	2.29	27	0.02
2	Etere etilico (solvente)	2.42	8117	-
3	Isobutano	4.89	189	0.17
4	Metanolo	7.99	428	0.39
5	Cloruro di metilene (solvente)	9.75	664924	-
6	2-Metil-3-buten-2-olo	17.80	46	0.04
7	beta-Mircene	26.14	20497	18.64
8	Limonene	28.12	24	0.02
9	trans-Ocimene	30.52	428	0.39
10	cis-Ocimene	31.59	218	0.20
11	6-Metil-5-epten-2-one	36.32	1473	1.34
12	2,6-Dimetileptenale	37.09	87	0.08
13	Pinene	37.19	73	0.07
14	Verbenone	39.47	704	0.64
15	Ipsenolo	39.82	1309	1.19
16	1-Isopropil-2,3-dimetil-ciclopentene	40.35	908	0.83
17	Citronellale	43.09	256	0.23
18	3,3,5-Trimetilcicloesene	43.52	155	0.14
19	Farnesolo	44.22	104	0.09
20	Linalolo	45.84	1742	1.58
21	cis-Verbenolo	46.14	316	0.29
22	2-Undecanone	48.17	1044	0.95
23	1,4-Dimetil-(5-isopropil)-cicloeptene	48.69	2512	2.28
24	cis-Citrale	51.97	31009	28.19
25	trans-Citrale	53.94	40343	36.78
26	Nerile acetato	54.30	479	0.44
27	beta-Citronellolo	54.54	551	0.50
28	Nerolo	55.87	159	0.14
29	2-Tridecanone	56.07	754	0.69
30	Geraniolo	57.32	3015	2.74
31	Cariofillene ossido	62.44	219	0.20
32	6-Metildecanone	65.39	87	0.08
33	1,4-Dimetilisopropiloct_ahydroazulene	67.42	199	0.18
34	4-Isopropil-2-metil-acetofenone	68.62	46	0.04
35	Butil-ottanolo	70.17	74	0.07
36	Acido nerico	71.65	108	0.10
37	Acido geranico	73.47	304	0.28
38	Tridecanolo	74.67	97	0.09
	TOTALE		783025	100.0

TABELLA 4

Carotenoidi presenti nelle piante di Cymbopogon citratus dell'Orto botanico (PG) e di Namaacha (Mozambico).
Carotenoids contents of the Cymbopogon citratus from two origin areas, in comparison.

	Namaacha	Orto bot.(PG)
Neoxantina µ/g p.f.	5,81	5,04
Violaxantina µ/g p.f.	7,94	7,23
Anteroxantina µ/g p.f.	1,23	0,95
Luteina µ/g p.f.	7,12	6,59
Zeaxantina µ/g p.f.	1,86	1,60
B-Carotene µ/g p.f.	3,28	2,67

TABELLA 5

Componenti chimici del "lemongrass" di varie provenienze e resa in olio essenziale.
 Chemical constituents of "lemongrass" of various origins and essential oil yield.

ORTO BOT. (PG)	MOZAMBICO	INDIA	GUATEMALA
Aldeidi contenute:			
cis, trans-citrale e beta-mircene			
85%	82%	76%	79%
Olio essenziale (resa)			
0,3%	0,3%	0,3%	0,22%

India e Guatemala da GUENTHER (1950).

TABELLA 6

Comparazione tra vari componenti di specie diverse.
 Comparison between various components of more species.

Melissa officinalis: geraniolo, citronellale, citrale.

Matricaria chamomilla: camazulene, alcoli sesquiterpenici, ac. caprinico ed esteri dell'acido caprinico, apigenina ed umbelliferone.

Lippia canescens: cis e trans-citrale, cineolo (eucaliptolo), limonene, linalolo, borneolo.

Cymbopogon citratus: cis e trans-citrale (nerale e geraniale), β -mircene, geraniolo, linalolo e geraniolo.

Da FENAROLI (1975).

TABELLA 7

Composti flavonoidici identificati in foglie di *Cymbopogon citratus* all'HPLC.
 HPLC separation of flavonoid compounds in *Cymbopogon citratus* leaves.

Composti (μ /g p.f.)	Namaacha	Orto bot.(PG)
Acido clorogenico	13,38	15,76
Vitexina	3,44	6,24
Rutina	5,08	4,78
Hyperoside	8,02	3,69
Kanferolo	2,64	2,94
Luteolina	24,46	17,16
TOTALI	57,02	50,57

(POCCESCHI *et al.*, 1988), in *Solanum tuberosum* (VENANZI *et al.*, 1989), in *Hordeum vulgare* (VENANZI *et al.*, 1991) ed in *Cucurbita foetidissima* (RANFA *et al.*, 1993).

L'analisi all'HPLC ha permesso di identificare diversi flavonoidi ed i tracciati dei due campioni non sono molto diversi tra loro. Nella Tab. 7 sono riportati sei composti identificati di cui la luteolina e l'acido clorogenico sono nettamente superiori in contenuto rispetto agli altri; ciò mette in evidenza una forte variabilità nella presenza dei flavonoidi dentro la specie. Emerge tra tutti il maggior contenuto di luteoli-

na in entrambi i campioni, ed in particolare quello riferito al campione proveniente dal Mozambico (24 μ g/g p.f. contro 17 μ g/g p.f.). La presenza della luteolina tra i flavonoidi identificati, acquista una significativa rilevanza poiché, come fitoalessina del tipo polifenolico, rientra tra i composti antiossidanti in quanto "radical scavengers" (BORS *et al.*, 1987). Ciò giustifica ancor più l'uso del "lemongrass" nella preparazione di tisane, infusi e di altre applicazioni alimentari. I contenuti più elevati di acido clorogenico e di vitexina, anch'esse considerate fitoalessine, nei campioni dell'Orto botanico, sono da imputare probabilmente alle diverse condizioni di sviluppo rispetto a quelle di origine; infatti le particolari condizioni di stress determinatesi possono aver stimolato la produzione di fitoalessine quale difesa delle piante ad eventuali attacchi di patogeni. La Tab. 5 mette in evidenza che i contenuti di aldeidi cis-citrale, trans-citrale e beta mircene espressi in % del totale sono, per le diverse aree di provenienza, superiori nei campioni dell'Orto botanico rispetto agli altri. La Tab. 6 mostra come la composizione dell'olio essenziale di *Cymbopogon citratus* possa essere accostata a quella della *Melissa officinalis* che presenta un olio essenziale costituito da un numero minore di componenti, rispetto a quello della camomilla e della verbena.

CONCLUSIONI

L'indagine fitochimica ha messo in evidenza come, dall'analisi dei campioni di *Cymbopogon citratus*, la resa dell'olio essenziale non presenta significative differenze tra le piante acclimatate in Perugia e quelle dei vari ambienti di origine. Compiono invece differenze nei componenti aromatici dell'olio stesso sia in termini qualitativi che quantitativi. La comparazione con le popolazioni di altri ambienti di provenienza mostra alcune differenze su composti quali ad esempio citrale che è nettamente superiore nelle piante di Perugia rispetto a quelle di Namaacha (Mozambico). Rispetto alle popolazioni di origine indiana e mozambicana è scomparso il citronellale mentre in quelle dell'Orto botanico di Perugia è presente citronellene. Al momento è possibile far ascrivere le differenze riscontrate alle diverse situazioni di stress ambientale verificatesi. I flavonoidi sin qui isolati sono stati identificati in entrambi i campioni di provenienza anche se quello mozambicano presenta un contenuto di poco superiore rispetto a quello dell'Orto botanico di Perugia

LETTERATURA CITATA

- BAGNOULS F., GAUSSEN H., 1953 - *Saison sé che et indice xerothermique*. Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse, 88.
- BISTOCCHI N., CAGIOTTI M.R. CROSTA G., 1979 - *Indagine preliminare sulla biologia del fagiolo alato* [*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC.]. Ann. Fac. Agr. Univ. Perugia, XXXIII: 389-404.
- BORS W., ERBEN-RUSS M., MICHEL C. AND SARAN M., 1987 - *Radical Chemistry of flavonoids. Implications for Antioxidative functions*. Int. Meeting, National Institute Nutrition, Rome, Nov. 19-20.
- CAGIOTTI M.R., ROMANO B., DE CAPITE L., 1983 -

- Indagine su Vigna mungo (L.) Hepper.* Ann. Fac. Agr. Univ. Perugia, XXXVII: 29-41.
- CAGIOTTI M.R., ROMANO B., FORNACIARI M., BAUER R., 1989 - *Osservazioni sulla biologia di Cucurbita foetidissima H.B.K.* Ann. Fac. Agr. Univ. Perugia, XLIII: 419-451.
- CIARMELLO D., AZZINI A. *et al.*, 1984 - *Estudos preliminares sobre o Emprêgo das Fôlhas de Citronella, Capim limão, Palma-Rosa e Vetiver na produção de Celulosa e Papel.* - Instituto Agrônômico, Campiñas, S. Paulo, Brasil.
- FARUQUI S.A., ALADINA L., ZAIDI Z.H., 1974 - *Differentiation of the varieties of Cymbopogon on the basis of its chemical constituents.* Pakistan J.Sci.Ind.Res., 17: 130-131.
- FENAROLI G., 1975 - *Fenaroli's Handbook of Flavors Ingredients.* Ed. CRC-PRESS, Cleveland, vol.I, 2a. ed.
- GUENTHER E., 1950 - *Essential Oil of the plant Family Gramineae. The Essential Oils.*, 4: 1-83.
- HAWKSWORTH D.L., 1995 - *Biodiversity. Measurement and estimation.* Ed. Chapman et Hall, London.
- IGOLEN G., 1968 - *Gli olii essenziali di Haiti.* E.P.P.O.S., 50 (10): 524-527.
- MAMMI DE LEO M., 1969 - *Su alcune essenze di graminacee del genere Cymbopogon.* E. P. P. O. S., 3: 157-162.
- MOZO MORRON T., 1972 - *La Citronela.* Revista ESSO Agrícola, (Colombia), 18 (3): 28-31.
- PAIVA J., 1990 - *Patrimônio biológico e biodiversidade. Coleção: Estado do Planeta.* Ed. Geota, Vol.2, Lisboa.
- PEREZ-ARBELAEZ E., 1978 - *Plantas Útiles de Colombia.* Ed. Victor Hugo, 14ª, Bogota: 536-537.
- POCCESCHI N., VENANZI G., BENCIVENGA M., MENGHINI A., 1988 - *Scambi gassosi e pigmenti in Zea mays L. cv Neva: relazione tra posizione ed età delle foglie.* Ann. Fac. Agr. Univ. Perugia, XLII: 761-776.
- PRINCIPE P.P., 1991 - *Valuing the Biodiversity of Medicinal Plants.* In: AKERELE O., HEYWOOD V., SYNGE H. (Eds.), *Conservation of Medicinal Plants.* Univ. Press., Cambridge.
- RANFA A., CAGIOTTI M.R., POCCESCHI N., 1993 - *Ulteriore contributo alla caratterizzazione biologica di Cucurbita foetidissima H.B.K.* Ann. Fac. Agr. Univ. Perugia, XLVII: 297-309.
- ROA TORRES A., 1979 - *Inventario de la vegetación Cuenca Superior del Rio Nima.* Tesi di: Master en Ingeniería forestal, Palmira, Colombia.
- SACCO T., 1954 - *Il Cymbopogon citratus nell'agricoltura e nell'industria Somala.* Allionia, LIII(10-12): 3-13.
- SINGH A.K., NAQUI A.A., RAM G. AND SINGH K., 1994 - *Effect of hay storage on oil yield and quality in three Cymbopogon species (C. winterianus, C. martinii and C. flexuosus) during different harvesting seasons.* Essential Oil Res., 6(3): 289-294.
- VENANZI G., POCCESCHI N., FRENGUELLI G., RANFA A., 1989 - *Efficienza fotosintetica di Solanum tuberosum L. coltivato in differenti condizioni.* Ann. Fac. Agr. Univ. Perugia, XLIII: 329-336.
- VENANZI G., POCCESCHI N., LUPATTELLI M., 1991 - *Caratteristiche fotosintetiche di differenti genotipi di Hordeum vulgare L.* Ann. Fac. Agr. Univ. Perugia, XLV: 347-356.
- RIASSUNTO - Sono state confrontate la resa in olio essenziale e la composizione quali-quantitativa di piante di *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. di origine mozambicana, sviluppate in Perugia (Orto botanico) e quelle di altri ambienti di origine. I risultati hanno messo in evidenza scarse differenze in termini di resa mentre più significative sono le differenze nei componenti chimici dell'olio essenziale e nelle clorofille delle foglie. Sono stati identificati 6 flavonoidi, di cui la luteolina, maggiormente presente, può acquistare un valore di marker chemiotassonomico.

AUTORI

Mauro Roberto Cagiotti, Novello Poceschi, Dipartimento di Biologia vegetale e Biotecnologie agroambientali, Università degli Studi di Perugia, Borgo XX Giugno 74, 06121 Perugia
 Aldo Ranfa, Centro di Ateneo per i Musei Scientifici, Area operativa Orto botanico, Università degli Studi di Perugia, Borgo XX Giugno 74, 06121 Perugia
 Claudia Maria Cohen Pinillos, Dipartimento di Biologia vegetale e Biotecnologie agroambientali, Università degli Studi di Perugia, Borgo XX Giugno 74, 06121 Perugia
 Enrico Miniati, Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università degli Studi di Perugia, Via S. Costanzo 1, 06127 Perugia

Estrattivismo e corrosione di biomassa e biodiversità in una foresta del Tamil Nadu (India del Sud)

C. LENZI-GRILLINI, A. GLINNI e R. VIGNOLA

ABSTRACT - *Encroachment, biomass and biodiversity erosion in a monsoon forest in Tamil Nadu (South India)* - Results of a monitoring study concerning areas with different vegetation use rate by local population are reported. The study was conducted by means of interviews to gather information about the areas and by means of transects to measure the ecological parameters (biodiversity and woody biomass). The degradation level is linked to the different protection constraints in the different areas as to the cultural background of the population.

Key words: biodiversity, encroachment, Irula, Tamil Nadu.

INTRODUZIONE

Questo studio si colloca in una zona fortemente interessata dal fenomeno della corrosione delle risorse naturali, in particolar modo di biomassa e biodiversità. Nel distretto di Chingleput (60 km a sud di Madras) gli Irula costituiscono la maggioranza della popolazione tribale (circa 36.000 persone censite nel 1984). La continua diminuzione della foresta, quantificata in 65.000 ha negli ultimi vent'anni, nello Stato del Tamil Nadu (SAHANI, 1993), è una delle cause del crescente impoverimento e dell'emarginazione degli Irula che sono, tradizionalmente, raccoglitori-cacciatori nomadi.

Negli anni recenti essi sono stati costretti a passare dal seminomadismo ad una vita stanziale, in piccole comunità di 10 - 20 famiglie ai margini dei villaggi e disponendo soltanto di ridotti residui di foresta dove cacciare o reperire piante commestibili e medicinali. Per lo più gli Irula divenuti stanziali dipendono dagli agricoltori per pochi lavori stagionali oppure forniscono piccoli servizi utili come, ad esempio, la cattura dei roditori (che costituiscono una fonte di proteine per gli Irula) nei campi di riso soprattutto nel periodo del raccolto. L'obiettivo principale del lavoro è stato quello di fornire un supporto di dati all'IRULA TRIBAL WOMEN'S WELFARE SOCIETY (I.T.W.W.S.) organizzazione non governativa indiana che svolge attività di conservazione ambientale e di afforestazione e che ha fornito le basi logistiche necessarie. Per la rigenerazione di 416 ha di aree degradate situate nelle zone Peramboke (aree comunitarie di uno o più villaggi) l'I.T.W.W.S. mantiene più di 20.000 piantine in vivaio appartenenti a

più di 200 specie, tra cui molte a disseminazione aviofila per favorire la ricrescita su aree estese. Ciò al fine di consentire una maggiore disponibilità di risorse per la sussistenza di gran parte della popolazione rurale appartenente, in particolar modo, alle caste più povere ed ai Tribali Irula.

Il progetto I.T.W.W.S. è particolarmente sensibile al mantenimento delle conoscenze tradizionali degli Irula per quello che riguarda le erbe medicinali al fine della commercializzazione a livello locale dei medicinali.

Scopo del lavoro svolto è stato lo studio della dinamica d'uso della biomassa e della biodiversità operata dalla popolazione porgendo attenzione al contesto socioeconomico per ripristinare sia la qualità (biodiversità) sia la quantità di biomassa. A tal fine si è proceduto ad effettuare i rilievi in tre aree distinte da diverso grado d'utilizzo da parte della popolazione.

AREA DI STUDIO E METODI

L'area di studio è situata presso il villaggio Thandarai, nel Distretto di Chingleput nello Stato del Tamil Nadu. L'area è compresa tra i 12°-13° di latitudine nord e i 79°-80° longitudine est ed è al livello del mare.

Le temperature medie annue variano da 28,3°C a 21,4°C con un picco di 45°C in maggio, la piovosità media annua è di 1210 mm; concentrata in giugno-settembre in piccola parte e in maggior quantità da ottobre a dicembre secondo il tipico regime monsonico della costa coromandelica. La vegetazione

viene definita come "tropical dry evergreen forest" (CHAMPION, 1964). Facendo riferimento al concetto di serie vegetale (GAUSSEN *et al.*, 1963a, b) si individuano vari stadi degradativi legati anche alla influenza antropica. La serie *Albizia amara* - *Acacia* spp. diviene la tipica vegetazione del distretto di Chingleput presentando vari stadi di degrado.

L'elaborazione di un primo inquadramento ecologico del territorio degli Irula, ancora poco conosciuto e studiato, mediante l'analisi degli effetti dell'influenza delle attività antropiche sulla foresta (o su ciò che ne rimane), utilizza come base di confronto aree ancora indisturbate.

Tali aree, rarissime, sono preziose in quanto modello finale per il restauro dell'ecosistema, riserva di patrimoni genetici adeguati e limiti massimi da raggiungere nella previsione di una ricostituenda copertura vegetale con specie autoctone. Lo studio di ecologia quantitativa e di etnobotanica è stato integrato da interviste alla popolazione locale sulla conoscenza e sull'uso delle specie raccolte nella giungla e dalla verifica incrociata dei dati elaborati. Le diverse specie identificate sono state catalogate per categorie d'uso, distruttivo o non distruttivo. Spesso alcune specie possiedono anche proprietà sconosciute dalla popolazione locale ma citate nella letteratura botanica. Quest'ultimo fenomeno è peraltro spiegabile col fatto che ogni popolazione locale ha sviluppato nella sua storia le conoscenze per lei più rilevanti a seconda della variabile disponibilità dell'ecosistema (GADGIL, GUHA, 1993).

Per individuare i luoghi a diverso livello di degrado è stato impostato un questionario conoscitivo composto di 16 domande e presentato a 30 famiglie nei villaggi in modo da includere le 4 diverse caste ivi presenti. Nonostante i dati risultanti dalle risposte non possano chiarire il complesso sistema sociale che sottende l'uso delle risorse naturali (ogni casta ha priorità e/o vincoli diversi) si sono potute individuare 3 aree ben differenziate da una diversa pressione di popolazione:

- l'area 1 molto degradata, vicino ai villaggi, è denominata localmente *Peramboke* ed è caratterizzata dallo sfruttamento maggiore sia per il pascolo che per la raccolta di legna e di altri prodotti. Nella stagione umida è favorito il pascolo dei bovini mentre nel periodo secco sono le capre ad espletare una maggiore pressione d'uso. La vegetazione si presenta a moduli cespugliosi ove dominano piante spinose e a foglie coriacee con un forte polimorfismo dovuto alla notevole pressione di pascolo. La scelta dell'area è stata fatta in un luogo dove non ci fosse ancora invasione di *Prosopis juliflora*, pianta originaria dell'America Latina, diventata ormai un'infestante dei wastelands indiani essendovi stata introdotta con i programmi di rimboschimento.

- l'area 2 mediamente disturbata, è un bosco sacro (*Sacred Grove*) protetto in quanto sottoposto a vincoli religioso-sociali (social fencing) essendo vicina ad un tempio Indù, e a vincoli legislativi perché considerata Reserved forest dal Forest department. Tuttavia la sua vicinanza ad un villaggio è tale da far

si che solo l'asportazione della legna fresca venga impedita.

- l'area 3 è un appezzamento recintato di vegetazione naturale nel campus del Madras Christian College, protetto da circa 60 anni. E' stata scelta come formazione di riferimento, rappresentando il potenziale raggiungibile, in assenza di influenza antropica, per la vegetazione naturale tipica: la *dry evergreen forest*.

In ogni area col metodo random sono stati localizzati dei transect (100x20 metri) per il conteggio e per la misura delle specie arboree, arbustive ed erbacee. L'identificazione delle specie è stata effettuata mediante la costituzione di un erbario e la consulenza dei botanici dell'Università di Madras. Le 136 specie trovate ed identificate sono state elencate e descritte in apposite schede. Le specie citate nelle interviste con il nome locale sono state identificate e raggruppate secondo dodici categorie d'uso (foraggio, erbe medicinali etc.) e secondo la distruttività dell'uso.

I transect sono stati studiati sotto l'aspetto della biodiversità analizzando la ricchezza di specie e la frequenza, l'indice di diversità è stato calcolato secondo Shannon. Sono stati elaborati graficamente per le tre aree: gli spettri di diversità lungo il transect, le curve di abbondanza relativa delle specie, la distribuzione lungo il transect delle prime specie dominanti, la distribuzione delle specie in frequenze assolute e le curve specie-area per ogni transect.

Per la stima della biomassa nell'area 1 con struttura a cespugli isolati, composti da 1 fino a 10 spp., il transect è stato suddiviso in una griglia di 5 mq, nella quale sono stati misurati diametro, altezza e densità dei cespugli. Di un solo cespuglio tipico è stata determinata la biomassa espressa in grammi di sostanza secca. Successivamente, dopo aver trovato che la correlazione maggiore tra i diversi parametri (altezza, diametro e densità) era quella tra il volume e la densità media (numero di contatti tra rametti interni ed un bastone posto verticalmente in tre punti lungo un raggio del cespuglio) è stata stimata per allometria la biomassa.

Nell'area 2 la vegetazione si presentava con alberi isolati e cespugli più o meno continui; sono stati rilevati diametro basale, diametro ad altezza petto, altezza totale e le altezze ed i diametri delle corone di tutti gli alberi; per i cespugli sono stati individuati 3 plot di 50 mq. l'uno, all'interno del transecto e si sono effettuate le misurazioni come nell'area 1.

Nell'area 3 il metodo all'interno del transecto è stato lo stesso usato per l'area 2, limitando agli alberi le misure relative in quanto le corone si presentavano a copertura continua. In tutte le tre aree il peso della lettiera è stato rilevato su tre plot di 1 mq. ciascuno. Per i pesi di alcuni alberi e arbusti sono state usate formule specie-specifiche riportate in letteratura; ove mancanti l'approssimazione è stata fatta utilizzando l'essiccazione all'ombra.

RISULTATI

Dai questionari è risultato che il nucleo familiare medio, composto di 5-6 persone, presenta un consu-

mo pro capite di 3,75 Kg/giorno di biomassa vegetale consistenti, per lo più, in fascine di rametti. La provenienza della legna è per il 76% da piccoli appezzamenti familiari ed il restante 24% dal territorio circostante o, per chi dispone di piccoli redditi, dai commercianti. A questi ultimi viene corrisposto un prezzo di 22Rps/Kg per il foraggio e 26Rps/Kg per la legna da ardere: si deduce, quindi, che solo chi percepisce retribuzioni da lavori extra agricoli può rivolgersi al mercato mentre i lavoratori stagionali non possidenti (caste basse e tribali) dipendono unicamente dall'ambiente. Il loro salario è di sole 900 Rps/mese limitate al periodo massimo di tre mesi. Dagli stessi questionari emerge con evidenza una maggior conoscenza ed uso delle specie forestali da parte della popolazione tribale intervistata. Nelle tre aree l'effetto dei differenti tassi d'uso è evidenziato nelle Tabb. 1 e 2 dai dati sulla biomassa legnosa ed erbacea.

TABELLA 1

Biomassa legnosa Kg/mq.
Woody biomass in Kg squared m.

Area	cespugli	alberi	totale
1	0.05	0	0.05
2	0.63	3.6	4.23
3	4.4	1.7	6.8

TABELLA 2

Pesi medi di lettiera in g/mq.
Mean weight of vegetative residues in g/squared m.

Area	erbe	foglie
1	114.5	0
2	26.3	178.6
3	14.2	616.3

Come appare osservando i valori ponderati della biomassa, l'area 1 registra valori tipici delle zone desertificate, e la copertura del suolo è soltanto del 38,1%. Il transetto dell'area 1 contiene 1618 piante appartenenti a 28 specie diverse e l'indice di *Shannon* è pari a 3,16. Le specie più frequenti nei cespugli sono: *Canthium parviflorum*, *Carissa spinarum*, *Carmona microphylla*, *Flacourtia indica*, *Maytenus emarginata*, *Securinega leucopyrus*, *Azadirachta indica*, *Phoenix* spp., *Opuntia monochanta*, *Cissus quadrangulata*, *Leptadenia reticulata*. Nella vegetazione erbacea sono state riscontrate solo le seguenti specie: *Eragrostis tenella*, *Aristida histrix*, *Alexicarpus* spp., *Hybanthus ennaespermus*, *Indigofera linnaei*, *Lepidaghatia cristata* e *Polycarpaea corymbosa*. E' da notare che il valore dell'indice di diversità all'aumentare della superficie esaminata (spettro di diversità), tende a diminuire fortemente, rappresentando ciò il caso più grave per indicare la regressione della formazione vegetale. Nell'area 2 la copertura è risultata di 38,9%, nel transetto sono state rinvenute 4155 piante appartenenti a 28 specie e l'indice di *Shannon* è risultato pari a 3,12, quindi con una diversità simile a quella regi-

strata per l'area 1, ma con tendenza generale ad aumentare con l'ampiezza della superficie. Ovviamente la biomassa legnosa è maggiore rispetto alla precedente area grazie ai parziali vincoli d'uso cui è soggetta. L'utilizzo della vegetazione è limitato alle sole piante secche e in particolar modo alla frazione cespugliosa; viene perciò favorita la componente arborea, in particolare di *Azadirachta indica* e *Albizia amara*. Queste specie sono state utilizzate nel piano di riforestazione operato dal Forest Department. e la loro dominanza specifica causa l'abbassamento dell'indice di *Shannon* in corrispondenza di alcuni tratti di terreno.

Nell'area 3 sono state rilevate 2992 piante nel transetto, numero inferiore rispetto all'area 2 a causa della presenza di uno strato dominante arboreo che limita lo sviluppo del sottobosco e che è costituito da 45 specie diverse. L'indice di *Shannon* è di 3,53. Si rileva una forte presenza di specie che possono assumere importanza rilevante per il mantenimento delle risorse genetiche del sistema. La frazione erbacea risulta molto ridotta a causa della limitazione di luce per cui la lettiera è costituita principalmente dalle foglie. L'accrescimento degli alberi è penalizzato dalla espansione dei cespugli; poiché il disturbo antropico è limitatissimo, vi si è così sviluppata quella che è la vegetazione tipica di questa fascia vegetazionale: *Scrub-Jungle*. Interessante è la presenza di specie già incontrate nelle precedenti aree come indicatrici del degrado (accrescimento stentato, polimorfismo accentuato e forte presenza di spine) ma con un portamento più naturale, il caso più rappresentativo è dato da *Carissa spinarum*. Molto importante è la specie *Memecylon umbellatum*, un arbusto molto ricercato per la qualità del legno duro, e che è completamente sparito dalle aree 1 e 2. Si tratta di una specie che probabilmente non può essere facilmente introdotta nel restauro dell'ecosistema poiché esige ombra. Potrebbe però essere ripiantata per prova sotto una copertura vegetale artificiale.

E' molto interessante la particolarità dell'area 1, ove, pur essendo così ridotta la biomassa, la biodiversità viene mantenuta mediante la formazione di piccoli rifugi dove è protetta la rigenerazione di specie diverse. Infatti gli ammassi spinosi tipici dell'area 1 assomigliano piuttosto a dei "moduli di resistenza" che ad una vegetazione in primo stadio di successione, e ciò è dovuto alla continua azione antropica.

I rilevamenti effettuati sulla composizione specifica delle tre aree hanno confermato i diversi stadi di degrado riportati sulla biomassa, tuttavia le conoscenze acquisite durante lo studio insieme ai risultati di indagini etnobotaniche e con l'apporto degli stessi Irula, hanno rivelato le notevoli potenzialità economiche ancora presenti in riferimento ai molteplici usi tradizionali di queste piante.

Dal confronto tra quanto emerge da questo lavoro ed i dati della letteratura la foresta "intatta", nell'area studiata, pare collocarsi al limite inferiore di biomassa riportati per l'India nelle foreste tropicali stagionali che variano tra 6 e 10 Kg/mq. Va, inoltre, ricordato che in questo studio la componente erbacea non è

stata considerata.

Per effetto dell'attività umana, nell'area 1 e nell'area 2 sono stati rispettivamente erosi circa 6 e 2 Kg/mq. Tale erosione ha portato l'area 1 a livelli sub-desertici, mentre ha asportato la componente arbustiva e di rinnovazione della frazione arborea nell'area 2.

CONCLUSIONI

In previsione di un possibile recupero della situazione (quale è apparsa nell'area 3 dopo 60 anni di protezione) si può rilevare che esiste un patrimonio genetico, nelle due aree più degradate, che ancora può consentire il "rilancio" della successione. Nell'area più percorsa dall'uomo (tribali o no) sono apparsi meccanismi di forte difesa della biodiversità, negli ammassi di cespugli e di specie spinose che proteggono al loro interno altre specie pronte a diffondersi appena i vincoli cessano. Nell'area mediamente percorsa sono state accolte specie che, anche se non autoctone, esercitano una funzione di spinta verso gli stadi più evoluti della successione. Nella foresta indisturbata restano indicazioni di una stabilità dell'ecosistema. L'analisi dei dati ha evidenziato aspetti interessanti riguardo alle interazioni tra le specie maggiormente minacciate nei processi di degrado dell'ecosistema e quelle più resistenti ai fattori di disturbo. L'importanza della biodiversità nelle zone aride consiste nel rendere più stabile un ecosistema fragile ed esposto a molteplici fattori di degrado. La foresta tropicale arida sempreverde è una vegetazione di "confine", in tutti i sensi considerata marginale vista la quasi completa distruzione delle formazioni naturali, per lo scarso interesse economico e scientifico che hanno suscitato fino ad ora le sue specie caratteristiche.

A tale proposito va stimolato quanto il progetto I.T.W.W.S. sta attuando, ovviamente le stime di produttività primaria netta estrapolabili dalle valutazioni di biomassa effettuate in questo lavoro non portano a valori realisticamente superiori a 1-1,8 Kg/mq, per la produzione legnosa che ci interessa; ciò, tenendo conto delle caratteristiche del clima, che non consente, nel caso più favorevole, di poter contare su una stagione di crescita superiore a 180 giorni.

Ai fini del progetto si potrebbe, perciò, stimare che la biomassa utile potrebbe essere ricostituita in 60 anni per la zona 1 e in 20 anni per la zona 2 (ammettendo che solo il 10 % della produttività primaria fosse accumulabile nella biomassa e che non vi fosse alcun consumo da parte dell'uomo). Ciò, ovviamente, è impossibile, vista la completa assenza di copertura arborea nell'area 1 e, soprattutto, tenendo conto delle imprescindibili necessità di consumo di legna da parte della popolazione.

AUTORI

Carlo Lenzi-Grillini, Ariella Glinni, Roberto Vignola, Dipartimento di Biologia Vegetale, Università di Firenze, Piazzale delle Cascine 28, 50144 Firenze

Per soddisfare le esigenze dei due villaggi con le loro 160 famiglie (circa 800 persone) il progetto dovrebbe destinare, nella superficie disponibile (2,5 Km²), una superficie al minimo di 2,4 ha sulla quale ottenere una biomassa stabile di 6 Kg/mq. Poiché la produzione primaria legnosa di 1 Kg/mq può essere solo in parte utilizzabile da parte dell'uomo per non compromettere la funzionalità dell'ecosistema, è necessario prevedere una superficie doppia, cioè di circa 5 ha.

Diversi progetti analoghi, in varie realtà rurali dell'India, hanno sviluppato dei sistemi di gestione delle Risorse di Proprietà Comune (CPR) che prevedono la partecipazione degli abitanti dei villaggi nella rigenerazione delle "wasteland". Uno dei sistemi adottati prevede la suddivisione delle CPR in zone utilizzate a rotazione per permettere un periodo di ripristino ("fallow") grazie alla "protezione" garantita dai vari gruppi sociali ("social fencing"). Una difficoltà, non secondaria, che questo sistema incontra è legata alla non facile attitudine alla cooperazione fra i membri delle diverse caste. Nel caso specifico i rapporti conflittuali tra le comunità Irula e le caste basse non permettono di prevedere in un futuro prossimo una fattiva collaborazione. A questo si aggiunge il difficile rapporto con il principale gestore delle aree studiate: il Forest Department, che finora ha considerato, le CPR, e dunque le risorse da cui traggono sostentamento coloro che non possiedono terreno, come zone con poco interesse economico.

LETTERATURA CITATA

- CHAMPION H.G., 1964 - *Forest Types of India*; Institut Français, Pondichery.
- GADGIL M., GUHA R., 1993 - *This fissured land - An ecological history of India*. Oxford University Press, Delhi.
- GAUSSEN H., LÈGRIS P., VIART M., 1963a - *Carte Internationale du Tapis végétal et des Conditions Ecologiques - 1/1.000.000*. Notice de la feuille de Madras. Extrait travaux section scientifique. (Draft-copy), Bangalore.
- , 1963b - *L'action de l'homme sur la végétation naturelle dans le sud de l'Inde*. Publ. Institute Français - Pondichery.
- SAHANI D., 1993 - *Fuelwood famine in India*. Advances Forestry Res. India, VIII: 12-25.

RIASSUNTO - Si riportano i risultati di uno studio sul monitoraggio di alcune aree con diversa vegetazione riferiti dalla popolazione locale. Lo studio è stato condotto raccogliendo informazioni per mezzo di interviste sulle aree e per mezzo di transect per misurare i parametri ecologici (biodiversità e biomassa del bosco). Il livello di degradazione è collegato con in vari vincoli di protezione nelle varie aree con riferimento alla base culturale della popolazione.

Preliminari osservazioni ultrastrutturali sull'epitelio interno del tubo fiorale di *Selenicereus grandiflorus* (L.) Britton & Rose

L. BRIGHIGNA, A. PAPINI e S. MOSTI

ABSTRACT - *Ultrastructural investigation of the hyphanthial epithelium of Selenicereus grandiflorus flower. Preliminary observations* - Ultrastructural investigation of the hyphanthial epithelium of *Selenicereus grandiflorus* flower indicate the involvement of the tissue in the production of a lipidic material which accumulates in the vacuole. Other aspects (the numerous symplastic connections with the underlying parenchyma, the utilization of the starch reserves, the high number of active dictyosomes, the subcuticular spaces) indicate the extrusion of hydrophilic substances. The tissue degenerates through a holocrine secretion.

Key words: hyphanthial epithelium, *Selenicereus grandiflorus*, ultrastructure

INTRODUZIONE

Selenicereus grandiflorus (L.) Britton & Rose è una Cactacea epifita che fa parte della flora xerica messicana anche se la strategia di vita ne permette la presenza in ambienti non poveri di acqua (al suolo).

I nettari sono un tessuto secernente caratteristico delle *Angiospermae* la cui funzione è quella di attirare e nutrire gli animali e gli insetti i quali agiscono da involontari vettori di polline.

I nettari possono essere intra o extrafiorali (CASPARY, 1848) a seconda se dislocati all'interno del fiore o su parti vegetative della pianta. In questo secondo caso essi non sono direttamente associati con l'impollinazione (FAHN, 1988) ma attirano le formiche che difenderebbero la pianta dall'attacco degli erbivori (KEELER, KAUL, 1984).

All'interno del fiore i nettari hanno diverse dislocazioni. Nelle *Cactaceae* i nettari intrafiorali sono localizzati sulla parete interna del tubo fiorale, subito al di sopra dell'ovario, cioè al di sotto degli stami primari. Gli impollinatori sono così costretti a raggiungere il fondo del fiore per trovare il nettare.

A livello ultrastrutturale i tessuti nettariiferi sono caratterizzati dalla presenza di numerosi plasmodesmi che seguono la via del flusso prenettariifero dal floema alle cellule secernenti (FAHN, 1988) e da un'estrusione mediata da caratteristiche transfer delle cellule ghiandolari. Anche i dittiosomi sono compartimenti molto attivi.

MATERIALI, METODI E RISULTATI

L'indagine ultrastrutturale è stata fatta su preparati provenienti da fiori di *Selenicereus* a diverso stadio di

maturazione. Le metodiche di laboratorio seguite sono quelle impiegate da BRIGHIGNA, PAPINI (1997). L'epitelio indagato si trova nel tratto del tubo fiorale (ipanzio).

Particolari dell'epitelio di fiore chiuso di circa un decimo delle dimensioni finali (Fig. 1).

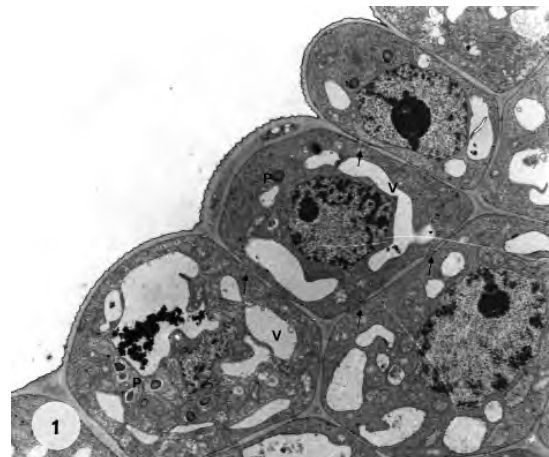


Fig. 1.

Epitelio ipanziale nel fiore chiuso di 2 cm. Le cellule dell'epitelio hanno forma a cupola; il nucleo è vistoso; plasmodesmi sono visibili tra le cellule dell'epitelio e fra le cellule dell'epitelio e le cellule sottostanti (freccie). Il vacuoma appare frazionato. I plastidi contengono vistosi granuli di amido (x 3460).

Hyphanthial epithelium of 2 cm long flower. Epithelial cells have a convex shape. The nucleus is big; plasmodesmata (arrows) link the epithelial cells with the underlying parenchymatic cells; the vacuome is subdivided. The plastids contain big starch granules (x 3460).

Le cellule epiteliali sono dotate di: un grosso nucleo, citoplasma ricco, vacuoma frazionato, numerose punteggiature attraversate da plasmodesmi che sono anche presenti nelle pareti radiali, ma soprattutto in quelle che le separano dal parenchima sottostante, contenuto amilifero dei plastidi consistente in grossi granuli. Sono presenti plasmodesmi fra le cellule epiteliali.

Le cellule dello strato sottostante non hanno caratteristiche strutturali molto diverse da quelle epiteliali. **Particolari dell'epitelio di fiore chiuso di circa un mezzo delle dimensioni finali, a tre giorni dall'antesi (Fig. 2, 3).**

Le cellule epiteliali presentano ora un unico grosso vacuolo. All'interno di quest'ultimo compare del materiale elettrondenso a diverso grado di aggrega-

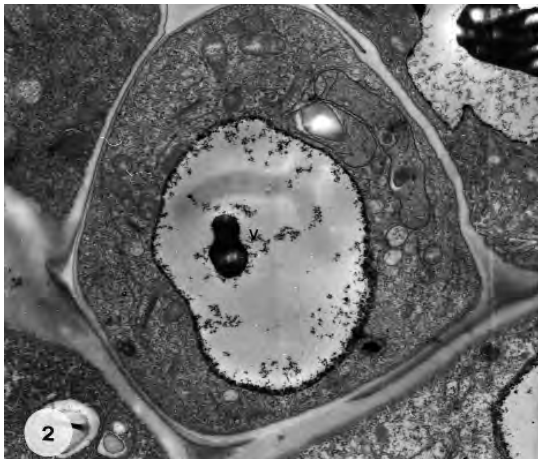


Fig. 2

Epitelio ipanziale di fiore chiuso di 7 cm. Nelle cellule epiteliali è presente adesso un unico vacuolo (x 7500).
Hypanthial epithelium of 7 cm long flower. The cells show one big vacuole (x 7500).

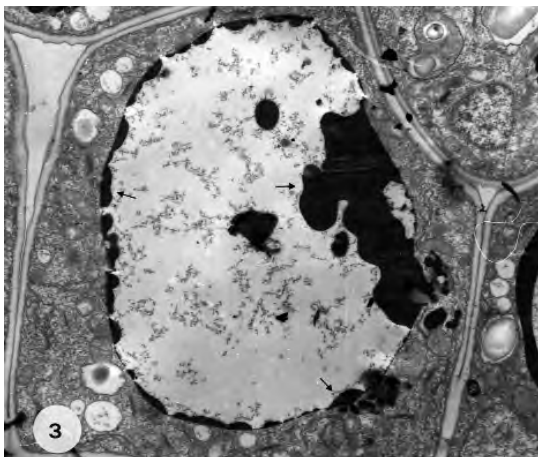


Fig. 3

Stadio come Fig. 2. Materiale elettrondenso (freccie) si addensa alla periferia del vacuolo e forma aggregati progressivamente maggiori all'interno del vacuolo (x 4950).
Hypanthial epithelium of 7 cm long flower. An electron-dense material (arrows) is localized along the inner side of the tonoplast (x 4950).

zione principalmente aderente al tonoplasto dal lato interno. Qualche altro aggregato dello stesso materiale si può trovare, internamente al vacuolo, distaccato dal tonoplasto. Numerosi sono i dittiosomi ed abbondanti i profili di RER. I plastidi contengono amido.

Le cellule del parenchima sottostante differiscono dalle precedenti soprattutto per la presenza di un vacuoma tutto frammentato e di un nucleo sempre evidente.

Particolari dell'epitelio di fiore chiuso due terzi delle dimensioni finali, ad un giorno dall'antesi (Fig. 4).

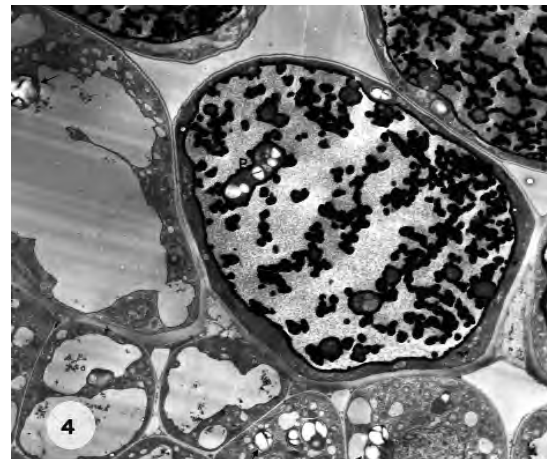


Fig. 4

Epitelio ipanziale di fiore di circa 10 cm. Il vacuolo occupa adesso quasi la totalità della massa cellulare. Residui plastidiali sono visibili all'interno del vacuolo. Il citoplasma appare periferico e molto ridotto. Il parenchima sotto l'epitelio mostra accumuli di amido a livello dei plastidi (freccie) (x 1960).

Hypanthial epithelium of 10 cm long flower. The central vacuole takes a large part of the cell volume. The cytoplasm is very reduced. The underlying parenchymatic cells accumulate starch stores (arrows) (x 1960).

Le cellule che rivestono il lume del tubo fiorale sono ora quasi interamente occupate dal vacuolo ricco di agglomerati fortemente elettrondensi, più o meno rotondeggianti e più o meno confluenti l'uno con l'altro. Sono presenti all'interno del tonoplasto alcuni plastidi con amido. Caratteristico di questo stadio è il distacco, dalle pareti rivolte verso il lume, di porzioni della pellicola cuticolare che formano delle vere e proprie sacche estroflesse (Fig. 5).

Particolari dell'epitelio di fiore aperto, lungo circa quindici centimetri (Fig. 6).

In questo stadio terminale il citoplasma perivacuolare è oramai degenerato. Nel vacuolo, le cui dimensioni corrispondono praticamente a quelle dell'intera cellula, i corpi lipofili si sono condensati in masse più grosse, molto spesso di forma rotondeggianti. Identificativa per questo stadio è la scomparsa dell'amido nei plastidi delle cellule sottostanti.

CONCLUSIONI

Dalle immagini non si può con certezza affermare

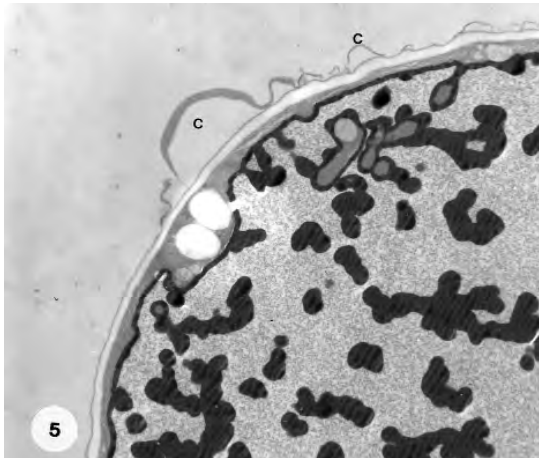


Fig. 5

Epitelio ipanziale di fiore chiuso di 12 cm. Porzioni della cuticola dell'epitelio appaiono distaccate dalla parete verso il lume del tubo florale (x 5100).

Hypanthial epithelium of 12 cm long flower before anthesis. The cuticle of the cells rises forming subcuticular spaces (x 5100).

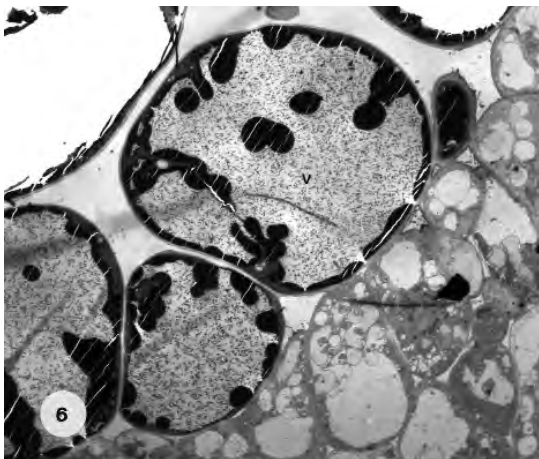


Fig. 6

Epitelio ipanziale del fiore aperto (15 cm). Il vacuolo occupa ora tutto il lume cellulare. Nelle cellule del parenchima sono scomparse le riserve d'amido (x 1310).

Hypanthial epithelium of 15 cm long flower. Anthesis time. The vacuole takes almost all the cellular volume. In the parenchymatic cells the starch is lost (x 1310).

che l'epitelio osservato abbia funzione nettariana sebbene la localizzazione nel fiore corrisponda alle indicazioni della bibliografia (BARTHLOTT, HUNT,

1993). Tuttavia non è presente una vera e propria camera nettarifera come in altri generi di *Cactaceae*. Data la posizione alla base del lungo (15 cm all'antesi) tubo florale e l'apertura notturna dei fiori di *Selenicereus grandiflorus* è probabile una impollinazione da parte di farfalle notturne (di tipo sfingofilo) come in *Selenicereus wittii* (BARTHLOTT, HUNT, 1993; BARTHLOTT *et al.*, 1997). Le caratteristiche ultrastrutturali esibite sembrerebbero indicare un'attività secretoria non ghiandolare perché si assiste all'accumulo di materiale (osmiofilo) all'interno della cellula, più esattamente nel vacuolo. Va però osservato che il distacco della cuticola che porta alla formazione delle tasche in una collocazione all'interno del tubo florale dove non manca l'umidità lascia spazio alla possibilità di un'estrusione di sostanze (non elettrondense). A suffragare questa ipotesi ci sono altri aspetti significativi: la presenza delle aree di trasfusione che stanno ad indicare un cammino rapido di flusso dal parenchima verso l'esterno; la scomparsa nelle cellule del parenchima delle riserve amilifere; l'abbondanza di dittiosomi nella fase intermedia. Non è da escludere che lo stadio finale del tessuto prevede una secrezione olocrina visto che il vacuolo finisce per occupare l'intero volume cellulare.

LETTERATURA CITATA

- BARTHLOTT W., HUNT D.R., 1993 - *Cactaceae*. In: *Families and genera of vascular plants*. Vol. 2. K. KUBITZKI. Ed. Springer Verlag, Berlin.
- BARTHLOTT W., POREMBSKI S., KLUGE M., HOPKE J., SCHMIDT L., 1997 - *Selenicereus wittii* (Cactaceae): *an epiphyte adapted to Amazonian Igapò inundation forests*. *Pl. Syst. Evol.*, 206: 175-185.
- BRIGHIGNA L., PAPINI A., 1997 - *Plastidial dynamics during pollen development in Tillandsia albida Mez and Purpus* (Bromeliaceae) *before anthesis*. *Phytomorphology*, 47(1): 59-65.
- CASPARY R. D.E., 1848 - *De nectariis*. Elberfeld.
- FAHN A., 1988 - *Secretory tissues in vascular plants*. *New Phytol.*, 108: 229-257.
- KEELER K. H., KAUL R.B., 1984 - *Distribution of defense nectaries in Ipomea* (Convolvulaceae). *Am. J. Bot.*, 71: 1364-1372.

RIASSUNTO - Indagini ultrastrutturali condotte sull'epitelio ipanziale dei fiori di *Selenicereus grandiflorus* indica il coinvolgimento del tessuto nella produzione di materiale lipidico che si accumula dentro il vacuolo. Altri aspetti (i numerosi collegamenti simplastici con il sottostante parenchima, l'utilizzazione delle riserve di amido, l'alto numero di dittiosomi attivi, la presenza di spazi sottocuticolari) sono segnali di un'estrusione di sostanze idrofile. La fine del tessuto consiste in una secrezione olocrina.

AUTORI

Luigi Brighigna, Alessio Papini, Stefano Mosti, Dipartimento di Biologia Vegetale, Università di Firenze, via G. La Pira 4, 50121 Firenze

Aspetti biologici e floristici delle *Cactaceae* di Zapotitlan (Messico)

S. MOSTI, L. BRIGHIGNA e A. PAPINI

ABSTRACT - *Biology and floristic observations on the Cactaceae of Zapotitlan (Mexico)* - The Authors make biological, floristic and systematic observations about the *Cactaceae* of the Zapotitlan zone (Mexico). These observations regard both the numerous columnar species, which are very closely planted, and the barrel or globular cacti. In particular the Authors point out and analyse the studies dealing with the reproductive biology of *Neobuxbaumia* and, in general, the *Pachicereae* tribe. These taxa have their centre of diversity in Tehuacan Valley.

Key words: biology, *Cactaceae*, Zapotitlan

Spostandoci dalla città di Jalapa (stato di Vera Cruz) in direzione di Città del Messico si incontra, all'interno della ampia valle di Tehuacan (stato di Puebla), l'area collinare circostante alla cittadina di Zapotitlan caratterizzata da una ricca vegetazione succulenta. E' questa una zona semiarida tropicale (si trova all'altezza del 19° parallelo nord), con una piovosità di 380 mm di pioggia annui (concentrati in primavera ed autunno) ed una temperatura media di 21 °C, senza sbalzi termici frequenti e rare, se non assenti, gelate (GARCIA, 1973).

La vegetazione che vi si riscontra è definita un "matorral (macchia) crassicaule" (RZEDOWSKI, 1978). In essa gli elementi fisiognomici dominanti sono le *Cactaceae* colonnari (VALIENTE-BANUET, EZCURRA, 1991) appartenenti ai generi *Neobuxbaumia*, *Cephalocereus*, *Pachocereus*, *Stenocereus* e *Myrtillocactus* (Fig. 1). Tehuacan Valley, è infatti considerata il più ricco centro di diversità e di endemismi della tribù delle *Pachicereae* (VALIENTE-BANUET *et al.*, 1996): una suddivisione che annovera *Cactaceae* colonnari di grosse dimensioni. In zona si trovano comunque anche *Cactaceae* dal diverso habitus ed altre succulente dei generi *Echeveria* (*Crassulaceae*), *Euphorbia* (*Euphorbiaceae*), *Yucca* (*Yuccaceae*) e varie specie di Agavi fra le quali, sicuramente, *Agave lecheguilla*.

Le prime associazioni di cerei che abbiamo qui osservato comprendevano quasi esclusivamente individui del genere *Neobuxbaumia*, istituito da C. Backeberg nel 1938 in onore di Buxbaum, studioso di queste piante. La specie tipo del genere è *N. tetetzo* (Weber) Backeberg (VALIENTE-BANUET *et al.*, 1996). Avendo avuto la possibilità di confrontare i matorral

crassicauli di una zona tropicale come questa, situata nel Messico centro-meridionale, con gli ambienti dello stesso tipo nel Messico centro-settentrionale, si può sottolineare una differenza: la maggiore ricchezza che si rileva nei secondi riguardo alla varietà di *Cactaceae* presenti, in particolare di quelle "globose" medio-piccole. Il Messico centro-settentrionale è infatti considerato il maggior centro di differenziazione delle *Cactaceae*, e ciò è dimostrato da una percentuale di endemismi che supera il cinquanta per cento (RZEDOWSKI, 1978). Tuttavia, aree come quella di Zapotitlan sono, come detto, ricche di endemismi riguardanti le *Cactaceae* colonnari; inoltre



Fig. 1

Zapotitlan: matorral crassicaule. In primo piano *Neobuxbaumia tetetzo* ed *Acacia luisiana*.
Zapotitlan: crassicaulis scrub. In front *Neobuxbaumia tetetzo* and *Acacia luisiana*.

mostrano la peculiare caratteristica che i cactus di questo tipo presentano qui una densità di crescita estremamente elevata (Fig. 2). Le associazioni di *Neobuxbaumia* e di *Cephalocereus* arrivano tranquillamente ad una densità media di circa 1200 esemplari per ha (VALIENTE-BANUET, EZCURRA, 1991; VALIENTE-BANUET *et al.*, 1996). Per questo motivo, ma anche per l'altezza raggiunta dai singoli individui, non esitiamo a definire veri e propri "bosques (boschi) crassicaulos" queste comunità vegetali. Una delle cause di questo successo, almeno per quanto riguarda *Neobuxbaumia tetetzo* (Weber ex Coulter) Backeberg., è dovuta all'azione protettiva nei confronti delle giovani piantine svolta dalla leguminosa *Mimosa luisana* (VALIENTE-BANUET, EZCURRA, 1991). Questo arbusto o alberello, il più diffuso in questa regione, fornirebbe un riparo dall'irradiazione solare diretta alle giovani *Cactaceae* colonnari, con una conseguente diminuzione di temperatura a livello del suolo che può raggiungere anche i 16 °C (VALIENTE-BANUET, EZCURRA, 1991).

Ci sembra poi interessante far notare che tutta la zona di Tehuacan è stata il fulcro di studi rivolti alla biologia dei meccanismi riproduttivi delle *Cactaceae* colonnari ed in particolare di quelle del genere *Neobuxbaumia*. Dati interessanti sono emersi dal lavoro di VALIENTE-BANUET *et al.*, (1997) che analizza la biologia florale e gli agenti impollinatori delle specie locali di *Neobuxbaumia*. *N. tetetzo* e *N. macrocephala* (Weber ex Schumann) Dawson, la prima poco ramificata con esemplari adulti alti da otto a quindici metri, la seconda più ramificata alta fino a dieci metri. Entrambe sono monoiche, con fiori ermafroditi autoincompatibili. *Neobuxbaumia mezcalsensis* (Bravo) Backeberg, pianta colonnare non ramificata che raggiunge i quattordici metri di altezza e può crescere con una densità media di 1680 individui per ha, presenta androdioicismo: cioè esistono sia esemplari ermafroditi che esemplari con fiori soltanto maschili (uguali morfologicamente ai fiori ermafroditi tranne che per l'atrofizzazione del gineceo).



Fig. 2
Un'area densamente popolata da individui di *Neobuxbaumia* sp.
An area densely populated by *Neobuxbaumia* sp.

Dalle conclusioni di VALIENTE-BANUET *et al.* (1997), *N. mezcalsensis* risulterebbe essere la specie più evoluta, vuoi per la maggiore densità media che, rispetto alle altre due specie, può raggiungere, vuoi per la mancanza di ramificazioni laterali (CORNEJO, SIMPSON, 1997), vuoi infine per la possibilità di risparmio di acqua negli individui maschili i quali, non andando a frutto, risparmiano le loro riserve per una maggiore produzione di fiori e quindi di polline (BAWA, 1980; SOLOMON, 1986). L'androdioicismo di questa specie è quindi da considerarsi come un passo verso la condizione dioica (BAWA, 1980).

Dati interessanti sono emersi anche sugli agenti impollinatori delle *Neobuxbaumie*. Sembra che questi e gli altri cactus colonnari delle zone tropicali messicane dipendano principalmente dai Chiropteri per quanto riguarda l'impollinazione dei loro fiori ad antesi notturna (SOSA, SORIANO, 1992; VALIENTE-BANUET *et al.*, 1996), mentre i cerei colonnari delle aree extratropicali del paese hanno un range di impollinatori equamente suddiviso tra i pipistrelli, gli insetti e gli uccelli (colibrì) (FLEMING, 1993; VALIENTE-BANUET *et al.*, 1996). Quindi i fiori dei cactus colonnari delle zone aride tropicali messicane presentano un maggior grado di specializzazione scegliendo i pipistrelli come unico agente impollinatore, non eccessivamente efficace, ma sicuramente molto assiduo (SOSA, SORIANO, 1992; VALIENTE-BANUET *et al.*, 1996). Al contrario, come possiamo facilmente dedurre, i cerei delle aree messicane dove gli sbalzi termici sono più frequenti hanno probabilmente sviluppato fiori meno specializzati e con un periodo di antesi più variabile per poter meglio ovviare ad eventi climatici imprevedibili, spesso tali da far venire a mancare in poco tempo uno o più tipi di agenti impollinatori.

Tornando alle osservazioni di tipo floristico, durante il nostro itinerario attraverso l'area di Zapotitlan, abbiamo rilevato che sui versanti esposti a nord e nord-ovest gli insediamenti di *Neobuxbaumia* cedono il posto a quelli di *Cephalocereus hoppestendtii* (Weber) Schumann (Fig. 3). Questi ultimi sono



Fig. 3
Cephalocereus hoppestendtii a diversi stadi di crescita ed alcuni individui di *Echinocactus platyacanthus*.
Cephalocereus hoppestendtii at different stages of growth and several specimens of *Echinocactus platyacanthus*.

piante colonnari semplici, alte fino ad otto-dieci metri, con un diametro che a metà fusto raggiunge i quaranta centimetri, diminuendo alla base e soprattutto all'apice. Negli esemplari adulti il tratto apicale risulta sempre inclinato verso la medesima direzione. I *Cephalocereus* sono cactus colonnari messicani dal fusto non ramificato, aventi la caratteristica di emettere i fiori da una zona circoscritta della pianta chiamata cephalium. Il cephalium esprime un particolare e molto specializzato (peculiare di alcuni generi di *Cactaceae*) tipo di crescita consistente in una concentrazione di tutte le areole fiorifere, le quali si autoproteggono (dagli agenti atmosferici e dagli animali) con una iperproduzione di peli, setole e più raramente spine (GIBSON, NOBEL, 1980).

Fra le *Cactaceae* cereiformi di questa zona deve essere menzionata anche la presenza di *Myrtillocactus geometrizans* (Martius) Console qui rappresentato dalla sua varietà *grandiareolatus* (Bravo) Backeberg (Fig. 4). I *Myrtillocactus* sono cactus cereiformi alti fino a quattro metri, spesso molto ramificati come in particolare lo sono a Zapotitlan. Questa abnorme ramificazione (anche centinaia di rami dopo un breve tratto di tronco libero) della forma locale evidenzia le conclusioni di CORNEJO, SIMPSON (1997) secondo le quali l'entità delle ramificazioni dei cactus colonnari è direttamente proporzionale all'aumento della temperatura media del sito di crescita. Il taxon citato precedentemente è comune in quest'area, sia pure in maniera nettamente inferiore rispetto alle piante di



Fig. 4

Al centro *Echinocactus platyacanthus*. Sul retro *Myrtillocactus geometrizans*. In primo piano *Agave lechequilla*. In the middle, *Echinocactus platyacanthus*. Behind, *Myrtillocactus geometrizans*. In front, *Agave lechequilla*.

Neobuxbaumia e *Cephalocereus* ed appartiene ad un genere caratterizzato da areole fiorifere molto grandi, capaci di emettere da quattro a nove fiori bianchi di piccole dimensioni (fino a tre centimetri). I suoi frutti, bacche bluastre simili a mirtilli, commestibili, sono commerciati nei mercati locali. Caratteristica di *Myrtillocactus* è anche l'elevata pruinosità bluastro, dovuta a cere, abbondante sulle epidermidi delle nuove vegetazioni.

Per quanto riguarda le *Cactaceae* "bariliformi" segnaliamo la presenza in questa area di una vasta popolazione di *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto (Fig. 3), specie che può raggiungere ragguardevoli dimensioni (un metro di diametro per due metri di altezza) (Fig. 4). Il genere *Echinocactus* ("cactus a forma di riccio") quando fu istituito nel lontano 1827 da Link & Otto comprendeva tutte le *Cactaceae* globose o debolmente cilindriche allora conosciute. In seguito, quasi tutte queste specie sono state inserite in altri raggruppamenti ed attualmente il genere *Echinocactus* comprende soltanto cinque specie di grosse dimensioni distribuite in Messico e nel sud degli Stati Uniti. *E. platyacanthus* è una specie piuttosto comune in tutto il Messico ed estremamente variabile per forma dei fiori, disposizione, numero e colore delle spine, aspetto generale dei fusti, numero di costolature e colorazione dell'epidermide. Per questo motivo, fino a pochi anni fa, la specie era frammentata in vari taxa a rango sottospecifico o addirittura considerati come specie distinte (*E. ingens*, *E. visnaga*, *E. grandis*, *E. palmeri* ecc.). Attualmente è prevalsa la tendenza ad attribuire a tutti questi taxa solo il rango di varietà o di forma. All'interno della colonia di *Echinocactus* da noi osservata la variabilità fra i vari individui era abbastanza elevata, anche se sempre riconducibile nell'ambito delle caratteristiche della specie che viene descritta come: "semplice o poco accestente alla base; fino a quaranta costolature molto sporgenti; areole delle piante adulte congiunte da un solco lanoso; fiori invernali sessili, gialli, di circa quattro centimetri di diametro, spine presenti in numero variabile nell'areola, nerastre da giovani, appiattite e lunghe fino a sei centimetri".

Il buono stato di salute di questa popolazione è dimostrato dalla presenza sul territorio di esemplari di tutte le età a partire da quelli giovanissimi aventi un diametro inferiore al centimetro (Fig. 5).

Caratteristica era poi la presenza di alcuni individui giovanili (da trenta, cinquanta centimetri di diametro) che mostravano una epidermide striata da bande orizzontali violacee. Questo fenomeno, tuttavia, scompare negli esemplari più grandi, ed inoltre non si manifesta in tutte le popolazioni di questa specie. Le altre *Cactaceae* dalla morfologia bariliforme da noi osservate a Zapotitlan sono il non frequente *Ferocactus recurvus* P. Miller, probabilmente soltanto una varietà di *Ferocactus latispinus* (Haworth) Britton & Rose che TAYLOR (1984) chiama *F. latispinus* ssp. *spiralis* (Karwinsky ex Pfeiffer) Taylor, caratterizzato da robuste spine uncinatate di colore rosso intenso e *Ferocactus robustus* (Pfeiffer) Britton & Rose, una



Fig. 5
Giovane pianta di *Echinocactus platyacanthus* con l'epidermide abbondantemente rivestita da cere.
A young plant of *Echinocactus platyacanthus* its epidermid is strongly covered by waxes.

specie di non grosse dimensioni, ma con una forte tendenza alla ramificazione basale (i singoli fusti hanno un diametro di quindici-venti centimetri, ma possono formare "gruppi" larghi fino a cinque metri). *Ferocactus* è un genere molto affine ad *Echinocactus* e con distribuzione geografica simile. Se ne distingue principalmente per la morfologia dei frutti che in *Ferocactus* sono privi di peluria e squamosi (LODI, 1979).

Altri elementi floristici da noi osservati nella valle di Zapotitlan, oltre ad una *Opuntia* sp. a cladodi piatti con fiori rosso vino non meglio identificata, sono stati: *Mammillaria haageana* Pfeiffer, *Mammillaria carnea* Zuccarini ex Pfeiffer e *Mammillaria napina* J. Purpus. *Mammillaria* è il genere di *Cactaceae* che, dopo *Opuntia*, comprende il maggior numero di specie (circa duecentocinquanta), diffuso in tutte le zone aride del Nordamerica con alcuni esigui sconfinamenti nell'America Centrale e Meridionale. Trattasi di piante dalle dimensioni medie o piccole, caratterizzate da peculiari escrescenze del fusto, chiamate podaria, portanti all'apice le areole con le spine. Producono fiori, spesso piccoli, disposti a corona ed emessi in prossimità dell'ascella dei podaria stessi e non dall'areola come avviene nelle altre *Cactaceae*. Ciò è reso possibile da una proiezione della zona meristemica al di fuori dell'areola.

M. haageana era osservabile attraverso numerosi esemplari sia con il fusto semplice che notevolmente ramificato alla base, tanto da formare "cespi" con numerose teste dalle dimensioni pressoché identiche (circa due-tre centimetri di diametro per quattro-cinque di altezza). Molti esemplari di questa specie, caratterizzata da fusti cilindrici, da podaria molto ravvicinati e da corte (da sei ad otto millimetri), ma molto appuntite spine centrali (da due a quattro), esibivano il caratteristico frutto delle *Mammillaria*, cioè una bacca rossastra di forma allungata (Fig. 6). *M. carnea* è una specie dai podaria piramidali, portanti alla sommità quattro spine (ciò spiega il vecchio



Fig. 6
Mammillaria haageana con frutti.
Mammillaria haageana with fruits.

nome della pianta: *Mammillaria subtetragona*) di un colore spesso rosa carnacino. Anche i fiori, piccoli (circa un centimetro e mezzo di diametro), sono pressappoco della stessa tonalità. La popolazione di questa pianta risultava piuttosto numerosa e tendente ad alternarsi senza motivi apparenti a quella di *M. haageana*. Caratteristica di *M. carnea* era anche l'estrema variabilità esibita e che si manifestava soprattutto per quanto riguarda la lunghezza delle spine, ma anche attraverso la colorazione delle epidermidi, oscillante nei vari esemplari, indipendentemente dall'esposizione ad una luce solare più o meno diretta, dal verde brillante al rosso-bronzato.

Della molto meno frequente *M. napina*, specie caratterizzata da una radice napiforme e da fiori rosa di grandi dimensioni (da quattro a cinque centimetri di diametro), abbiamo potuto osservare un unico esemplare dalle misure modeste (circa un centimetro e mezzo di diametro).

Infine segnaliamo in zona anche la presenza di *Coryphantha pallida* Britton & Rose, specie endemica di Zapotitlan (Fig. 7) appartenente ad un genere di *Cactaceae* molto affine a *Mammillaria* e che se ne



Fig. 7
L'endemica *Coryphantha pallida*.
The endemic *Coryphantha pallida*.



Fig. 8

Tillandsia dasyliiriifolia, *Tillandsia recurvata* e *Tillandsia califani* epifite su una *Cephalocereus hoppestendtii*.
The epiphytes *Tillandsia dasyliiriifolia*, *T. recurvata* and *T. califani* on a *Cephalocereus hoppestendtii*.

distingue principalmente per la caratteristica di emettere fiori dalla sommità (da qui il nome; dal greco: koryphè = cima, anthos = fiore) e quindi a livello dei podaria più giovani. In *Coryphanta* i fiori sono quasi sempre piuttosto grandi (mediamente hanno un diametro di quattro-sei centimetri) e le spine quasi sempre più robuste rispetto a quelle di *Mammillaria*. *C. pallida*, un cactus globoso a fiore giallo con spine centrali leggermente uncinata e spine radiali biancastre, era in quest'area ben rappresentata, sia da esemplari a fusto semplice che da esemplari ramificati raggiungenti, con le singole teste, i sette, otto centimetri di diametro.

Su tutte le *Cactaceae* colonnari sopraccitate, oltre che su *Acacia* e su *Yucca*, è talvolta possibile la presenza delle seguenti epifite: *Tillandsia recurvata* L.,

Tillandsia circinnatoides Baker, *Tillandsia califani* W. Rauh e *Tillandsia dasyliiriipholia* Baker (Fig. 8).

LETTERATURA CITATA

- BAWA K. S., 1980 - *Evolution of dioecy in flowering plants*. Ann. Rev. Ecol. Syst., 11: 15-39
- CORNEJO D. O., SIMPSON B. B., 1997 - *Analysis of form and function in North American columnar cacti (tribe Pachycereae)*. Am. J. Bot., 84(11): 1482-1501.
- FLEMING T. H., 1993 - *Plant-visiting bats*. Amer. Scient., 81: 460-467.
- GARCIA E., 1973 - *Modificaciones al sistema de clasificacion climatica de Koepfer*. Instituto de Geografia, Universidad Autonoma de Mexico.
- GIBSON A. C., NOBEL P. S., 1980 - *The Cactus Primer*, 114-116. U.S.A., First Harvard University Press.
- LODI G., 1979 - *Le mie piante grasse*. Bologna, Edagricole.
- RZEDOWSKI J., 1978 - *Vegetation de Mexico*. Editorial Limusa, Mexico.
- SOLOMON B. P., 1986 - *Sexual allocation and andromonoecy: resource investment in male and hermaphrodite flowers of Solanum carolinense (Solanaceae)*. Am. J. Bot., 73: 1215-1221.
- SOSA M., SORIANO P., 1992 - *Los murcielagos y los cactus: una relacion muy estrecha*. Carta Ecologica, 61: 7-10.
- TAYLOR N. P., 1984 - *A review of Ferocactus Britton & Rose*. Bradleya, 2: 19-38.
- VALIENTE-BANUET A., EZCURRA E., 1991 - *shade as a cause of the association between the cactus Neobuxbaumia tetetzo and the nurse plant Mimosa luisana in the Tehuacan Valley, Mexico*. J. Ecol., 79: 961-971.
- VALIENTE-BANUET A., ARIZMENDI M. C., ROJAS-MARTINEZ A., DOMINGUEZ-CONSECO L., 1996 - *Ecological relationship between columnar cacti and nectar feeding bats in Mexico*. J. Tropical Ecol., 12: 103-119.
- VALIENTE-BANUET A., ROJAS-MARTINEZ A., ARIZMENDI M. C., DAVILA P., 1997 - *Pollination biology of two columnar cacti (Neobuxbaumia metzcalensis and Neobuxbaumia macrocephala) in the Tehuacan Valley, central Mexico*. Am. J. Bot., 84(4): 452-455.

RIASSUNTO – Gli Autori fanno alcune osservazioni biologiche, sistematiche e floristiche sulle *Cactaceae* del territorio di Zapotitlan (Messico). Tali osservazioni riguardano sia le specie colonnari, qui estremamente abbondanti in densità e per numero di specie, sia le specie barilliformi o globose. Vengono segnalati ed analizzati i lavori sulla biologia riproduttiva di *Neobuxbaumia* in particolare e quelli relativi alla tribù delle *Pachycereae*. Questo raggruppamento sistematico ha nella Valle di Tehuacan il suo centro di biodiversità.

AUTORI

Stefano Mosti, Luigi Brighigna, Alessio Papini, Dipartimento di Biologia Vegetale, Università di Firenze, via G. La Pira 4, 50121 Firenze

Osservazioni su varie specie di *Tillandsia* appartenenti a diversi tipi ecologici

A. PAPINI, S. MOSTI e L. BRIGHIGNA

ABSTRACT - *Observation of several species of the genus Tillandsia belonging to different ecological types* - In 1997, during a scientific mission in Mexico, the Authors collected eighteen species of *Tillandsia* genus (*Bromeliaceae*). These species were preliminarily subdivided according to some parameters: localities of collection, habitats (dry, semi-humid, humid), traditional ecological types proposed in literature. The Authors stress the need to build a new biological classification of the *Tillandsia* species based on the number and the morphology of their typical absorbing trichomes.

Key words: absorbing trichome, ecological type, *Tillandsia*

L'epidermide delle *Bromeliaceae* è costellata di un peculiare tricoma pluricellulare che si è andato via via perfezionando morfologicamente e funzionalmente fino a divenire un apparato capace di assorbire efficacemente le soluzioni nutritive, sostituendosi, in questa fondamentale funzione, al sistema radicale. Grazie a questa struttura numerose specie, soprattutto quelle appartenenti al genere *Tillandsia*, hanno potuto adattarsi ad una vita epifita che è talmente rigorosa da rappresentare un esempio unico in natura.

Il conseguente svincolamento dal suolo fa dipendere le *Tillandsie* non più dalla litosfera, ma dall'atmosfera e ciò costituisce un fattore in base al quale la distribuzione dei membri di questo numeroso raggruppamento sistematico avviene in ambienti che al suolo risultano anche fundamentalmente diversi, fino ad essere opposti (le foreste pluviali rispetto ai deserti). Questo perché nell'ambiente desertico, dove il suolo è senza acqua, l'atmosfera mantiene comunque una certa percentuale di vapor acqueo che si deposita sulle superfici in conseguenza dell'escursione termica giorno-notte (condensa).

Il successo delle *Bromeliaceae* anche negli ambienti xerici è tale che spesso tali piante rappresentano la principale o l'unica risorsa idrica per gli animali che vivono nei deserti nei mesi più secchi dell'anno (BENZING, 1980).

Se la diversità di ambiente non costituisce un fattore limitante, tuttavia diversi adattamenti morfologici si manifestano nelle *Bromeliaceae* rendendo necessario suddividerle in tipi ecologici.

PITTENDRIGH (1948) ne identifica ben quattro:

1. terrestri con radici assorbenti
2. a serbatoio con radici assorbenti
3. a serbatoio con tricomi assorbenti
4. atmosferiche con tricomi assorbenti

Le *Tillandsie*, che sono tutte epifite e confluiscono nel genere biologicamente più evoluto, si distribuiscono esclusivamente fra il terzo ed il quarto tipo, avvalendosi per l'assunzione di acqua e nutrienti esclusivamente dei tricomi assorbenti. In esse questa struttura epidermica raggiunge il massimo grado di complessità morfologica e funzionale (MEZ, 1904; BRIGHIGNA *et al.*, 1988; SMITH, TILL, 1988). Le *Tillandsie* sono quindi classificabili tra le oloepifite (SCHIMPER, 1888; BENZING, 1990).

I quattro raggruppamenti di PITTENDRIGH esprimono altrettante diverse forme di rapporto tra le *Bromeliaceae* e l'ambiente.

Tentativi di tipizzazione successivamente sono stati proposti da BENZING (1980) con l'introduzione dei termini mesico e xerico da GILMARTIN (1973) con la descrizione di un terzo tipo, il semimesico.

Già nel 1888 SCHIMPER descrisse il tipo 'atmosferico' riferendosi alle specie di ambiente arido classificate da Linneo. Con questo termine si intende indicare le *Tillandsie* di ambiente fondamentalmente xerico che si sono svincolate anche dall'ospite arboreo. Esse, non possedendo un serbatoio, si avvalgono solo dell'acqua e dei nutrienti che cadono sulle loro superfici fogliari fittamente ricoperte dai tricomi.

I vari tipi si distinguono, da un punto di vista mor-

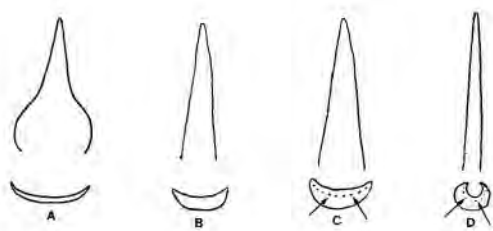


Fig. 1

A: foglia di *Tillandsia* di tipo tank (*T. heterophylla*);
 B: foglia di *Tillandsia* di tipo intermedio (*T. bourgaei*);
 C: foglia di *Tillandsia* di tipo atmosferico (*T. schiedeana*);
 D: foglia di *Tillandsia* di tipo bulboso (*T. caput-medusae*).
 A: leaf of *T. heterophylla* (tank type); B: leaf of *T. bourgaei*
 (intermediate type); C: leaf of *T. schiedeana* (atmospheric
 type); D: leaf of *T. caput-medusae* (bulbous type).

fologico, principalmente per l'habitus generale della pianta e per la sezione della foglia (Fig. 1).

Tutti i tentativi di soddisfare con la definizione di tipi la comprensione delle varie morfologie assunte nell'ambito del genere *Tillandsia* e i conseguenti rapporti con l'ambiente non sono esaustivi, neanche quello di PITTENDRIGH (1948) che stimiamo il più accettabile e il più completo riferendosi all'intera famiglia.

I tentativi successivi di tipizzazione indicano le difficoltà riscontrate nel separare nettamente i tipi ecologici a causa dell'elevata variabilità intragenerica morfologica ed ecologica delle *Tillandsie*.

Nell'ambito del 1997 abbiamo portato a termine una spedizione in Messico per raccogliere materiale vegetale atto a proseguire i nostri studi sulla biologia del

genere *Tillandsia*, avendo per obiettivi primari lo studio ultrastrutturale dell'ontogenesi del tricoma assorbente e lo screening dell'epidermide delle singole specie di *Tillandsia*, quest'ultimo rivolto al superamento delle tipizzazioni della bibliografia con metodo omogeneo.

I dati di raccolta degli esemplari sono schematizzati nella Tab. 1.

Di *Tillandsie* bulbose parla già BENZING (1980) che ne mette in evidenza lo stretto rapporto di dipendenza ecologica, chiamandole mirmecofite. Noi abbiamo ritenuto opportuno considerare questo gruppo come un tipo ecologico distinto in quanto il rapporto simbiotico con le formiche va considerato del tutto preminente nell'ambito della biologia di queste specie e le abbiamo chiamate bulbose in riferimento al costante aspetto morfologico esibito.

In totale, nelle 6 località sono state raccolte 19 specie di *Tillandsia*, di cui 4 appartenenti al tipo atmosferico, 9 al tipo intermedio, 4 al tipo tank, le rimanenti 2 del tipo bulboso.

Nel tipo intermedio la bibliografia inserisce le specie che non rientrano efficacemente nelle atmosferiche o nelle tank. Il termine intermedio risulta però piuttosto vago.

Dal momento che fra le intermedie sono classificabili quasi la metà delle specie raccolte è emersa la necessità di ricercare parametri ecologici nuovi quali le caratteristiche morfologiche, la frequenza dei tricomi fogliari e le loro dimensioni. I risultati preliminari di questa ricerca su larga scala (circa 50 specie), relativa ad oltre il 10% della consistenza del genere, intrapresa da uno degli autori sulla morfologia e la frequenza fogliare dei tricomi nel genere *Tillandsia* indicano l'importanza di tale struttura al fine di risolvere problemi di tipo sistematico e tassonomico e per

TABELLA 1

Dati di raccolta.

Collection data.

A (I) Cuernavaca. (II) altopiano medio-umido (2500 m alt.). (III) bosco mesofilo di *Quercus* spp., *Pinus montezumae* e *P. leiophylla*. (IV) *T. prodigiosa* (I), *T. violacea* (I).

B (I) Tra Cuernavaca e Città del Messico a circa 10 Km da quest'ultima lungo la carretera di Oaxtepec. (II) altopiano medio umido (2.500 m alt.). (III) bosco basso caducifolio. (IV) *T. bourgaei* (I), *T. plumosa* (Atm).

C (I) El Rodeo (tra Puebla e Jalapa). (II) altopiano umido (circa 700 m alt.). (III) bosco mesofilo con *Quercus* e *Pinus*. (IV) *T. prodigiosa* (I), *T. ghiesbreghtii* (I).

D (I) Jalapa. (II) pianura. (III) bosco umido degradato (antropizzato). (IV) *T. usneoides* (Atm), *T. fasciculata* (I), *T. utriculata* (Tk), *T. foliosa* (Tk), *T. heterophylla* (Tk), *T. juncea* (I), *T. ionantha* (I), *T. schiedeana* (Atm), *T. caput-medusae* (Bl).

E (I) Nogales. (II) altopiano. (III) sopra parete rocciosa umida. (IV) *T. grandis* (Tk).

F (I) Zapotitlan (Tehuacan). (II) colline aride. (III) matorral crassicaule. (IV) *T. recurvata* (Atm), *T. circinnatoides* (Bl), *T. achyrostachys* (I), *T. dasyliirifolia* (I).

(I) = Località di raccolta. (II) = Ambiente. (III) = Tipo di vegetazione. (IV) = Specie raccolte.

Il nome della specie è seguito da una sigla (all'interno di una parentesi tonda) indicante la tipizzazione attribuita seguendo le indicazioni della bibliografia: (Atm) = atmosferica. (I) = intermedia. (Tk) = tank. (Bl) = bulbosa.

superare le tipizzazioni già note.

LETTERATURA CITATA

- BENZING D. H., 1980 - *The biology of the Bromeliads*. Mad River Press Inc, Eureka, Ca, USA.
- , 1990 - *Vascular epiphytes*. Cambridge University Press. USA
- BRIGHIGNA L., PALANDRI M.R., GIUFFRIDA M., MACCHI C., TANI G., 1988 - *Ultrastructural features of the Tillandsia usneoides L. absorbing trichome during conditions moisture and aridity*. *Caryologia*, 41(2): 111-129.
- GILMARTIN A. J. 1973 - *Transandesan distribution of Bromeliaceae in Ecuador*. *Ecology*, 54(6): 1389-1393
- MEZ C., 1904 - *Physiologische Bromeliaceen. Studien I. Die wasser-oekonomie der extrematmosphärische Tillandsien*. *Pringsheims Jahrb. Wiss. Bot.*, 40: 157-229.
- PITTENDRIGH C. S. 1948 - *The bromeliad-Anopheles-malaria complex in Trinidad. I. The Bromeliad Flora*. *Evolution*, 2: 58-89.
- SCHIMPER A. F. W., 1888 - *Die epiphytische Vegetation Amerikas*. In: *Botan. Mitteilungen Aus den Tropen. II*. Fischer, Jena.
- SMITH L. B., TILL W., 1998 - *Bromeliaceae*. In: KUBITZKI K. (Ed.): *Families and genera of vascular plants. IV*. Springer Verlag, Berlin.

RIASSUNTO - Nel 1997, durante una missione scientifica in Messico, gli Autori raccolsero 18 specie, appartenenti al genere *Tillandsia* (*Bromeliaceae*). Queste specie furono suddivise sulla base di alcuni parametri: località di raccolta, tipo di habitat (secco, semi-umido, umido), tipo ecologico secondo i tradizionali raggruppamenti proposti in letteratura. Gli Autori sottolineano la necessità di costruire una classificazione biologica delle *Tillandsie* che si rifaccia al numero e alla morfologia dei tricomi assorbenti tipici di questo genere.

AUTORI

Alessio Papini, Stefano Mosti, Luigi Brighigna, Dipartimento di Biologia vegetale, Università di Firenze, Via La Pira 4, 50121 Firenze

Il genere *Medicago* L. nei sistemi culturali e nella salvaguardia dell'ambiente: il ruolo delle annuali

R. TORRICELLI, L. RUSSI e M. FALCINELLI

ABSTRACT - *The genus Medicago in agricultural systems and in safeguarding the environment: the role of annuals* - Species of the genus *Medicago* could have a role as cover crops in orchards, where they could limit cultivations in hilly lands and protect soils from erosion. Annuals and *M. polymorpha* in particular, a species widely present in the Mediterranean Basin, could be less competitive than perennials against the tree crop during the dry season. Nineteen Italian natural populations of *M. polymorpha* were collected from 1992-1995 and evaluated in 1995-96. The populations were divided in 3 groups according to morphological and physiological characters. The variability found in all of them allowed the selection of 28 single plant progenies, all tolerant to low temperatures and capable of high seed production, 14 of them characterised by low vegetative growth, and 14 by high growth.

Key words: annual medics, germplasm evaluation, *Medicago polymorpha*, orchards

INTRODUZIONE

Il genere *Medicago* L. comprende circa 70 specie che si diversificano per caratteristiche morfologiche, ciclo vegetativo, habitus e sistema riproduttivo (FALISTOCCO, 1993). L'ampio raggruppamento è composto per due terzi da specie annuali e per un terzo da specie perenni (QUIROS, BAUCHAN, 1988). Durante il Periodo Terziario, nelle aree attualmente corrispondenti alla regione del Caucaso, al Nord dell'Iran e della Turchia comparvero prima le specie perenni. Le specie annuali hanno poi permesso la diffusione del genere nel bacino del Mediterraneo, dove si diffusero grazie al corto ciclo vegetativo, alla dormienza dei semi e all'autofecondazione (LESINS, LESINS, 1979), caratteristiche che permettono il superamento di stress termici e idrici estivi.

Le specie perenni sono caratterizzate da tre livelli di ploidia: diploide ($2n=16$), tetraploide ($2n=32$) ed esaploide ($2n=48$), hanno un ciclo vegetativo primaverile-autunnale, superano gli stress idrici estivi grazie ad un profondo apparato radicale, ma sono caratterizzate da dormienza vegetativa dall'autunno alla primavera. L'esistenza della fecondazione incrociata e interfertilità tra le specie hanno permesso notevoli vantaggi evolutivi (MICHAUD *et al.*, 1988).

Ad eccezione di *M. rugosa* Desr. e *M. scutellata* Mill. ($2n=30$), che si ritiene derivino dall'incrocio tra specie con 16 e 14 cromosomi (BAUCHAN, ELGIN, 1984; MARIANI, FALISTOCCO, 1991), le specie annuali sono prevalentemente diploidi. Iniziano il loro ciclo vege-

tativo con le prime piogge autunnali in settembre-ottobre; mostrano un limitato sviluppo invernale e una forte crescita vegetativa primaverile. Grazie alle abbondanti produzioni di seme e a particolari meccanismi fisiologici, quali dormienza embrionale e durezza del seme, sono capaci di rigenerare spontaneamente il cotico erboso alle prime piogge autunnali. E' soprattutto la durezza, meccanismo consistente nell'impermeabilità dei semi all'acqua, che regola la costituzione di riserve di seme vitale nel terreno (seed bank) e la sua germinazione scalare nel tempo (RUSSI *et al.*, 1992).

Le mediche annuali inoltre presentano una vasta adattabilità nei confronti del clima, pH e caratteristiche fisico-chimiche del terreno. Specie come *M. rigidula* All. e *M. minima* Bart. tollerano bene il freddo; *M. scutellata* Mill. e *M. rugosa* Desr. sono invece suscettibili. *M. arabica* Huds., *M. polymorpha* e *M. murex* colonizzano terreni acidi, *M. minima*, *M. rigidula* e *M. scutellata* invece preferiscono terreni alcalini e sub-alcalini. *M. truncatula* e *M. orbicularis* sono più adatte ai terreni calcarei, mentre *M. murex* a suoli basaltici, granitici. Inoltre diverse mediche annuali preferiscono terreni argillosi mentre *M. littoralis* e *M. tornata*, sono più comuni in terreni sabbiosi. *M. murex*, *M. minima*, *M. tornata* e *M. littoralis* colonizzano suoli poveri in fosforo mentre *M. scutellata* predilige terreni più ricchi (PIANO, 1995).

Per inerbimenti controllati e per la protezione del

terreno dall'erosione particolare attenzione deve essere rivolta nella scelta della specie da utilizzare. Questa, infatti, deve formare durante l'autunno una buona copertura erbosa, crescere in misura non eccessiva in primavera da non competere per acqua e sostanze nutritive, produrre seme sufficiente per una buona rigenerazione spontanea nell'autunno successivo senza necessità di risemina. Tra le specie annue *M. polymorpha* sembra essere quella più idonea.

Le leguminose annue autoriseminanti hanno assunto una notevole importanza ai fini foraggeri in un sistema integrato di produzione cerealicola e produzione animale "ley farming system", ampiamente diffuso in Australia (PUCKRIDGE, FRENCH, 1983).

Nel bacino del Mediterraneo e in aree simili, caratterizzate da alte temperature estive e da una carenza idrica che si protrae nei mesi più caldi, le mediche annue possono essere utilizzate oltre che nei sistemi a pascolo permanente, per inerbimenti tecnici e per la salvaguardia ambientale (OLEA *et al.*, 1986).

Le uniche varietà di *M. polymorpha* reperibili sul mercato sono australiane, e sono poco adatte ad essere utilizzate per inerbimenti nei nostri ambienti. Per tali ragioni l'obiettivo della presente ricerca è stato quello di reperire e valutare popolazioni naturali di *M. polymorpha* autoctone.

MATERIALI E METODI

Durante il 1992-1995 sono state effettuate diverse missioni di collezione allo scopo di reperire germoplasma. Sono state collezionate 19 popolazioni raccogliendo almeno 100 frutti per sito. I semi sono poi

stati archiviati nella Banca di Germoplasma del Dipartimento. Queste accessioni e 3 fornite dal CNR di Sassari (Tab. 1) sono state valutate a piante spaziate utilizzando 60 individui per popolazione. Le piante sono state allevate in parcelle di 15 individui, replicate 4 volte secondo un disegno sperimentale a blocchi randomizzati, con piante distanti 80x60cm. La prova è stata realizzata presso il campo sperimentale del Dipartimento (220 m s.l.m.). La semina è avvenuta in jiffy pot in serra alla fine di agosto, trapiantando in pieno campo le giovani piantine alla fine di settembre.

Molti dei caratteri presi in considerazione durante la stagione vegetativa 1995/96 hanno tenuto conto dei descriptors del genere *Medicago* (IBPGR 1991): sviluppo vegetativo (rilevato mediante un punteggio 1-9 durante l'autunno, e misurando il diametro del cespo da dicembre ad aprile), tolleranza alle basse temperature (punteggio 0-5, con 0=assenza di danno), epoca e lunghezza del periodo di fioritura, habitus di crescita (prostrato, semieretto, cespuglioso), area fogliare, fiori per infiorescenza, frutti per infruttescenza, ovuli per fiore, produzione di legumi e di seme (numero di legumi e di seme per pianta e relativo peso), numero di semi per legume, peso di 1000 semi.

Durante l'anno di valutazione la piovosità totale è stata di 692 mm, ma la pioggia utilizzata dalla coltura in pieno campo (da ottobre a giugno) è stata di 457mm. Sia a novembre (con 9 giorni di temperature al di sotto di 0°C) che a febbraio (10 giorni con minima di -8°C) si sono verificati abbassamenti ter-

TABELLA 1

Sito di collezione (e provincia) e relativi dati geografici e termopluviometrici (dati trentennali di T. massime medie del mese di luglio e minime medie del mese di gennaio).

Collection site (and province) and geographical and climatic data (average of 30 yrs of mean maximum temperatures of July and mean minimum temperatures of January).

Sito di collezione	Altitudine (m s.l.m.)	Latitudine (°N)	Longitudine (°E)	T. Max. (°C)	T. Min. (°C)	Piovosità (mm)
Pizzo (VV)	58	38° 41'	16° 07'	28.8	7.9	671
Villa Salto (CA)	502	39° 30'	09° 24'	30.0	5.6	790
Aritzo (NU)	900	39° 57'	09° 12'	30.0	2.8	1112
Sapri (SA)	5	40° 05'	15° 38'	31.3	7.2	1490
Agropoli (SA)	45	40° 21'	15° 60'	31.3	7.2	1299
Maiori (SA)	5	40° 39'	14° 38'	27.9	3.9	1176
Sorso (SS)	50	40° 48'	08° 35'	29.8	5.6	547
S. Felice Circeo (LT)	98	41° 15'	13° 06'	29.9	3.9	963
Tarquinia (VT)	133	42° 15'	11° 45'	30.4	4.7	724
Bisenti (TE)	274	42° 32'	13° 48'	29.9	2.4	812
Talamone (GR)	10	42° 33'	11° 08'	30.4	3.2	611
Sgrilla Manc. (GR)	444	42° 35'	11° 31'	27.8	1.5	902
Pitigliano (GR)	313	42° 38'	11° 40'	27.8	1.5	902
Principina (GR)	5	42° 42'	11° 00'	30.4	3.2	611
Capoliveri (LI)	167	42° 45'	10° 23'	29.6	2.5	925
Grosseto (GR)	10	42° 46'	11° 07'	30.4	3.2	611
Rocca Strada (GR)	475	43° 01'	11° 10'	28.8	0.5	846
Asciano (SI)	200	43° 14'	11° 35'	31.5	3.9	854
Poggiarello (SI)	450	43° 27'	11° 10'	31.7	1.2	771

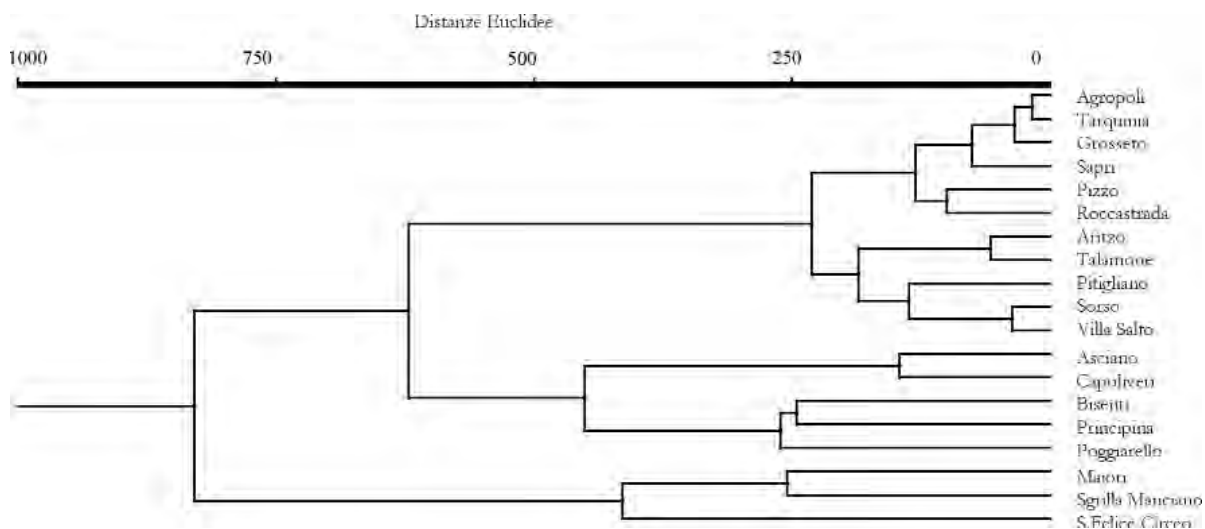


Fig. 1

Dendrogramma dell'analisi cluster (metodo UPGMA).

Dendrogram based on cluster-analysis (UPGMA method).

TABELLA 2

Parametri statistici relativi ai caratteri rilevati nel 1995/96 in 19 popolazioni di *M. polymorpha*.
 Statistics of the characters recorded in 1995/1996 in 19 populations of *M. polymorpha*.

Caratteri	N° piante	Media	Dev. St.	Min	Max
Sviluppo vegetativo 1-9 (09nov95)	1050	4,3	1,3528	1	9
Sviluppo vegetativo 1-9 (28nov95)	1028	3,7	1,4516	1	9
Danni da freddo 0-5 (05dic95)	1032	2,5	1,1818	0	5
Sviluppo vegetativo 1-9 (21dic95)	1010	4,5	1,5315	1	9
Diametro cespo (cm) (10gen96)	982	8,0	3,4887	1	22
Dimensione fogliare 1-9 (17gen96)	917	3,7	2,3697	1	9
Diametro cespo (cm) (26gen96)	974	9,1	4,2090	1	28
Diametro cespo (cm) (14feb96)	922	11,0	5,2998	1	49
Dimensione fogliare 1-9 (14feb96)	861	5,1	1,4354	1	9
Danni da freddo 0-5 (23feb96)	919	1,8	2,0377	0	5
Diametro cespo (cm) (06mar96)	664	14,0	5,4111	2	35
Dimensione fogliare 1-9 (08mar96)	672	3,7	1,5986	1	9
Diametro cespo (cm) (21mar96)	681	17,5	6,8954	3	34
Diametro cespo (cm) (16apr96)	632	45,0	16,5305	5	90
Epoca di fioritura (giorni dal 1°marzo)	611	43,0	9,7516	21	68
Portamento (1-3)	608	1,8	0,7455	1	3
Inizio-fine fioritura (giorni dal 1°marzo)	252	52,5	8,8359	28	77
Allegagione frutti (%)	509	78,5	17,8991	27	100
Produzione legumi/pianta (g)	539	76,6	55,1665	0	285
Numero di legumi/pianta	538	3507,7	2614,1255	38	14795
Produzione di semi/pianta (g)	538	17,7	17,7781	0	7
Numero di semi/pianta	538	6841,6	6391,1255	0	37727
Numero di semi/legume	538	1,8	1,1355	0	8
Peso di 1000 semi (g)	538	2,3	1,1355	0	8

TABELLA 3

Medie e deviazioni standard relative ai caratteri più importanti ai fini della selezione.
Mean and standard deviation of the most important characters used for selection.

Caratteri	Sviluppo consistente		Sviluppo limitato	
	Media	Dev. Stand.	Media	Dev. Stand.
Danni da freddo (0-5) (05dic95)	1,7	1,27	2,1	1,14
Danni da freddo (0-5) (23feb96)	0,4	0,85	0,1	0,36
Sviluppo (1-9) (21dic95)	6,7	0,99	3,5	0,65
Diametro cespo (cm) (10gen96)	12,9	2,30	5,9	1,38
Diametro cespo (cm) (16apr96)	69,3	4,32	35,4	2,37
Fioritura (giorni dal 1° marzo)	31,2	9,42	45,6	6,90
Portamento (1-3)	2,2	0,43	1,5	0,52
Numero semi/pianta	21650,0	7067,0	12017,0	4815,0
Numero di semi/legume	2,65	0,600	3,13	0,965
Peso di 1000 semi (g)	2,862	0,475	3,107	1,012

mici che hanno prodotto danni sulle singole piante, e ne hanno permesso uno screening per la tolleranza alle basse temperature. I dati rilevati durante la stagione vegetativa sono stati analizzati mediante analisi cluster.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Le 19 popolazioni hanno mostrato differenze significative per la maggior parte dei caratteri rilevati. L'analisi cluster ha permesso di raggrupparle in 3 sottogruppi (Fig. 1).

Il primo cluster comprende Maiori, Sgrilla Manciano e S. Felice Circeo ed è caratterizzato da piante con sviluppo vegetativo elevato, fioritura precoce e lunga (57 giorni), elevate produzioni di seme per pianta, seme di piccole dimensioni e da elevata allegazione (sia come frutti/fiore che come semi/ovulo). Le popolazioni appartenenti a questo cluster provengono da siti con la più elevata piovosità e le più basse temperature massime del mese più caldo. Il secondo cluster raggruppa Asciano, Capoliveri, Bisenti, Principina e Poggiarello, ed è invece caratterizzato da piante con portamento semieretto tendente al cespuglioso e da un numero elevato di ovuli/fiore, che ha dato origine a un numero elevato di semi per legume. Tuttavia le popolazioni di questo cluster, pur provenendo da siti con le massime escursioni termiche (massima estiva più elevata e minima invernale più bassa) e ridotte piovosità, hanno mostrato una minore tolleranza agli stress termici invernali. Il terzo cluster raggruppa tutte le altre popolazioni ed è caratterizzato soprattutto da piante con habitus tendenzialmente prostrato provenienti da siti con inverni miti.

La variabilità osservata nel suo complesso (Tab. 2) è stata particolarmente consistente per sviluppo vegetativo, tolleranza a basse temperature e produzione di seme. Dalla Tabella è possibile osservare che il numero totale degli individui in prova si è progressivamente ridotto, soprattutto a seguito degli abbassamenti termici avvenuti a novembre e a febbraio.

L'ampia variabilità ha permesso una selezione rivolta ad un ideotipo che sia resistente agli stress termici invernali e produca quantità di seme sufficienti per una rigenerazione spontanea di anno in anno, senza necessità di risemina e sfruttando la durezza del seme. La selezione ha inoltre preso in esame la possibilità di diversificare per il carattere sviluppo vegetativo. Infatti, accanto a 14 linee con un limitato sviluppo sono state individuate altre 14 linee con un elevato sviluppo (Tab. 3). Nel ricoprimento di arboreti, mentre le prime limiterebbero il numero di sfalci necessari per ridurre i consumi idrici da parte della foraggera (minore competizione), le seconde potrebbero avere un ruolo in zone in cui il pascolamento con ovini è più diffuso e la produzione di biomassa può essere sfruttata anche a questo scopo.

Ringraziamenti - Il Presente lavoro è stato realizzato con fondi MURST (ex 60% - progetto di Ateneo "Agricoltura per la protezione del suolo e del Paesaggio: salvaguardia e valorizzazione dei pascoli ed inerbimento controllato degli oliveti") e della Regione Lazio ("Inerbimento controllato per l'aumento della compatibilità ambientale dell'olivicoltura nel Reatino").

LETTERATURA CITATA

- BAUCHAN G. R., ELGIN J. H. JR., 1984 - *A new chromosome number for genus Medicago*. Crop Sci., 24: 193-195.
- FALISTOCCO E. 1993 - *Citogenetica ed evoluzione nel genere Medicago L.* Inform. Bot. Ital., 25: 81-85.
- IBPGR, 1991. *Descriptors for annual Medicago*. IBPGR, Roma, pp. 33
- LESINS K. A., LESINS I., 1979 - *Genus Medicago (Leguminosae). A taxogenetic study*. Dr. W. Junk. The Hague. The Netherlands.
- MARIANI A., FALISTOCCO E. 1991 - *Cytogenetic analysis of Medicago rugosa and Medicago scutellata*. J. Genet. Breed., 45: 111-116.
- MICHAUD R., LEHMAN W. F., RUMBAUGH M. D., 1988 - *World Distribution and Historical Development*. In:

- HANSON A. A. *et al.* (Eds.), *Alfalfa and Alfalfa Improvement*. Agronomy, 29: 25-91. Madison, Wisconsin, USA.
- OLEA L., PAREDES J., VERDASCO P., 1986 - *Influence of the varietal characteristic on the persistence of pastures improved with subterranean clover*. In: BORBA F. M., ABREU J. M. (Eds), *Grassland facing the energy crisis*: 322-328. Soc. Port. Past. Forrag., Elvas, Portugal.
- PIANO E., 1995 - *Le leguminose annuali autoriseminanti. Caratteristiche ecologico-adattative e implicazioni sul lavoro di introduzione agronomica e sulla selezione*. Atti seminario "Leguminose annuali autoriseminanti: prospettive d'impiego in ambiente mediterraneo", 9-36 Univ. Studi Tuscia, Viterbo.
- PUCKRIDGE, D.W., FRENCH R.J., 1983 - *The annual legume pasture in cereal-ley farming system of Southern Australia: a review*. *Agricult., Ecosyst. Environm.*: 9: 229-267.
- QUIROS C. F., BAUCHAN, G. R., 1988 - *The Genus Medicago and the Origin of the Medicago sativa Complex*. In: HANSON A. A. *et al.* (Eds.), *Alfalfa and Alfalfa Improvement*. Agronomy, 29: 93-124.
- Madison, Wisconsin, USA.
- RUSSI L., COCKS P. S., ROBERTS E. H., 1992 - *Hardseedness and seed bank dynamics in six pastures legumes*. *Seed Sci. Res.*, 2: 231-241.
- RIASSUNTO - Le specie annuali del genere *Medicago* potrebbero avere un ruolo importante nella salvaguardia ambientale e contribuire alla realizzazione degli inerbimenti controllati. *M. polymorpha* è ritenuta idonea per inerbire gli arborei di zone collinari dell'Italia centro-meridionale. Diciannove accessioni di *M. polymorpha* sono state collezionate e valutate a piante spaziate a Perugia nel 1995/96. Le popolazioni naturali di *M. polymorpha* hanno evidenziato per i caratteri esaminati un'ampia variabilità, l'analisi dei cluster mostra che esistono raggruppamenti ben delineati in base ai caratteri morfo-fisiologici e questi sono collegati alle variabili geografiche dei siti di collezione. L'ampia variabilità riscontrata in tutte le popolazioni ha permesso l'individuazione di 28 progenie superiori per tolleranza a basse temperature e produzione di seme, di queste 14 sono caratterizzate da uno sviluppo vegetativo limitato e 14 elevato.

AUTORI

Renzo Torricelli, Luigi Russi, Mario Falcinelli, Dipartimento di Biologia Vegetale e Biotecnologie Agroambientali, Università di Perugia, Borgo XX Giugno 74, 06121 Perugia

Biorisorse tropicali da valorizzare: coloranti ed edulcoranti alimentari di origine vegetale

E. MINIATI

ABSTRACT - *Underexploited vegetable resources: food colorants and sweeteners* - A large number of plants may be exploited for the extraction of colorants and of non-nutritive sweeteners for the food industry. The total world value of this production is estimated to about 500 million US\$. Particularly, plants containing anthocyanins and carotenoids, are among the crops cultivated to obtain these safe colorants. This is of interest for some developing countries for which these cultivations may contribute an additional income. Perù and Kenya, as an example, with the help of some worldwide institutions, have developed successfully colorant crop cultivations. Several crops containing sweeteners and colorants are at present underexploited.

Key words: anthocyanins, carotenoids, colorants, sweeteners, tropical plants

INTRODUZIONE

L'industria alimentare richiede coloranti naturali ed edulcoranti non nutritivi per soddisfare le esigenze del consumatore.

Motivi etici, sociali ed economici (stili di vita) spingono ad una diversificazione ed un incremento della produzione di questi additivi alimentari, che hanno in alcuni casi anche una rilevanza nutrizionale senza alcuna remora di tipo tossicologico (LIPPARINI, LAGHI, 1977).

ASPETTO ECONOMICO

Il giro d'affari complessivo del mercato globale di coloranti naturali è stimato attualmente superiore ai 500 milioni di US\$, con un incremento annuo del 10% annuo. Nel 1987 era stimato in 320 milioni di \$, con un incremento del 4% annuo. Di questi oltre 50 erano attribuibili al solo caramello (ILKER, 1987; MARCOZZI, VITALI, 1994).

Sono note numerose fonti tropicali di coloranti naturali, in particolare, di interesse economico per molti P.V.S. di Sud America, Asia e Africa. Un sommario è rappresentato nella Tab. 1 (NATIONAL ACADEMY OF SCIENZE, 1974; CESTAAT, s.d.; FAO, 1990).

Nella Tab. 2 sono elencate le specie botaniche per l'estrazione di coloranti alimentari naturali proposte dalla letteratura originarie dei paesi tropicali e subtropicali (PEROTTI, 1975; HUMPHREY, 1980; MAZZA, MINIATI, 1993; NOLTENIUS, 1994; KATO, 1994).

Accanto ai coloranti si possono sfruttare anche piante da cui estrarre dolcificanti ipocalorici.

Questo settore ha una rilevanza economica molto elevata, ma non quantificabile per quello che concerne i prodotti d'origine naturale, riportati nella Tab. 3 (INGLETT, 1974; GIESE, 1993).

Vorrei infine suggerire ulteriori possibilità, come lo sfruttamento dei semi di *Abrus precatorius*, o *jequiriti*, diffuso nell'Africa Sudorientale, per esempio, utilizzabile sia come fonte di edulcorante, in quanto analogo della liquirizia, che come colorante per il suo contenuto di antociani; oppure la possibilità di sfruttare un sottoprodotto della lavorazione della Jojoba, *Simmondsia chinensis*, la simmondsina, un composto di tipo fenolico che conferisce senso di sazietà e quindi si può ritenere un simil-ipocalorico (SHANI, 1995).

CONCLUSIONI

I coloranti naturali e gli edulcoranti ipocalorici:

- 1) sono una biorisorsa *rinnovabile*, disponibile, diffusa e tipica dei paesi tropicali;
- 2) sono inseriti in una *tradizione culturale autoctona* (alimentare, medicinale, artigianale, religiosa, ecc.);
- 3) richiedono un *basso livello tecnologico* e modesti investimenti;
- 4) queste risorse possono trovare altre collocazioni anche *non alimentari* (farmaceutiche, integratori, vitamine, coloranti vegetali naturali per fibre tessili, ecc.);
- 5) occorre una *politica di valorizzazione*, sviluppo, coordinamento, pianificazione (sull'esempio di

TABELLA 1

*Dati economici sulla produzione mondiale di coloranti alimentari.
Economic data on food colorants world production.*

Colorante	Fonte	Prod. tonn/anno	Principali paesi produttori	\$x1000
Antociani				
Enocianina	Vitis vinifera	10000	Italia, Spagna, Francia	100000
Cavolo rosso	Brassica oleracea rubra		Giappone	
Maiz morado	Zea mays	4	Perù	200
Roselle	Hibiscus Sabdariffa		Africa centrale	
Aronia	Aronia melanocarpa		Europa centro-orientale	
Mirtillo	Vaccinium spp.		Europa	
Ribes	Ribes nigrum		Europa	
Betalaine	Beta vulgaris	20000	Europa, USA	200000
Curcumina	Curcuma longa	300000 (solo 30 tonn colore puro)	India, Cina, Perù, Haiti	
Clorofilla	Urtica dioica Medicago sativa	0,4	Gran Bretagna	
Carotenoidi				
Annatto	Bixa Orellana	7000	Perù, Bolivia, Ecuador Rep. Dominicana, Kenia Giamaica, Filippine, Brasile (8000 x consumo diretto)	350
β -Carotene	carota (Daucus sp.) pomodoro olio di palma	2000		100000
Capsantina	paprika (Capsicum sp.)	400 (30000 come spezia)		
β -Citraurina	tangerina	non disponibile		
Luteina	Tagetes erecta Medicago sativa	1000	Perù, Messico	20000
Crocina	Crocus sativus	non disponibile		
Chinoni	Coccus cacti (cocciniglia)	500	Perù (400), Isole Canarie Messico, Honduras	15000
	Totale			450000

TABELLA 2

*Coloranti alimentari minori e specie botaniche tropicali di provenienza.
Food colorants of minor importance and tropical species of origin.*

Colorante	Specie	Droga	Note
Antociani	Hibiscus Sabdariffa	fiore	Roselle o Bissap Africa centrale
	Perilla frutescens var. crispa	foglie	
	Camellia spp.	foglie	
	Zea mays	seme	Maiz morado, Maiz kulli Chicha morada
	Basella rubra		
	Clitoria ternatea	fiore	
	Synsepalum dulcificum	seme	

(segue)

(segue Tab. 2)

Colorante	Specie	Droga	Note
	<i>Aristotelia chilensis</i>	frutto	
Betalaine	<i>Phytolacca</i> spp. <i>Beta vulgaris</i> <i>Myrtillocactus geometrizans</i> <i>Essontria chiotilla</i>	frutto tubero frutto frutto	Garambullo Jistilla
Carotenoidi	<i>Crocus</i> spp. <i>Gardenia jasminoides</i> <i>Cedrela Toona</i> <i>Nyctanthes Arbor-tristis</i> <i>Verbascum phlomoydes</i>	stemma fiore	Malaysia Asia sudorientale Nordafrica, Abissinia
	<i>Bixa orellana</i> <i>Tagetes erecta</i> <i>Citrus</i> spp. <i>Lycopersicon esculentum</i> Paprika <i>Elaeis guineensis</i>	fiore frutto frutto frutto frutto	Perù Perù, Messico Israele olio
Flavonoli	<i>Maclura pomifera</i> <i>Artocarpus integrifolia</i> <i>Chlorophora tinctoria</i> <i>Coreopsis tinctoria</i> <i>Coreopsis grandiflora</i> <i>Plantago</i> spp. <i>Caesalpinia crista</i> <i>Cesalpinia brasiliensis</i> <i>Gardenia lucida</i> <i>Butyrospermum Parkii</i> <i>Butyrospermum paradoxum</i>	seme seme	grasso di karitè
Clorofilla	<i>Medicago sativa</i> <i>Spinacia oleracea</i> <i>Urtica dioica</i>	foglie foglie foglie	
Cocciniglia	<i>Schleichera oleosa</i> <i>Ziziphus mauritiana</i> <i>Butea monosperma</i>		Malesia, India
Alcanna	<i>Alkanna tinctoria</i>		
Curcuma	<i>Curcuma longa</i>		India, Cina , Perù, Haiti
Cartamina	<i>Carthamus tinctorius</i>		India, Egitto, Cina Iran, Pakistan
Pigmenti vari	<i>Theobroma Cacao</i> <i>Thea sinensis</i> <i>Diospyros kaki</i> <i>Tamarindus indica</i> <i>Chenopodium ambrosioides</i> <i>Mauritia vinifera</i> <i>Euterpe edulis</i> <i>Euterpe oleracea</i> <i>Eugenia Jambolana</i> <i>Geranium nepalense</i> <i>Plantago asiatica</i> s.l.	semi	Messico (epazote) pigmento blu pigmento blu

TABELLA 3
Edulcoranti non nutritivi da fonti naturali tropicali e subtropicali.
Non-food sweeteners from tropical and subtropical natural sources.

Edulcorante	Natura chimica	Fonte naturale	Nome comune	Provenienza	Caratteristiche	Intensità dolcificante saccarosio =1
Acido glicirrizico	Triterpenoide	Glycirrhiza glabra var. β -violacea	Liquirizia	Iran, Iraq	dolcificante ipocalorico	50
Taumatina	Proteina	Thaumatococcus Danielli	Katemfe	Africa occidentale	dolcificante ipocalorico	nd
Miracolina	Glicoproteina	Synsepalum dulcificum	Miracle fruit	Sudan	modificante del gusto da acido a dolce	nd
Acido Gimnemico	Triterpenoide	Gymnema sylvestre		India, Africa, Australia	bloccante della percezione del dolce	nd
Monellina	Proteina	Dioscoreophyllum cumminsii	Serendipity berry	Africa tropicale	dolcificante ipocalorico	nd
Stevioside	Glicoside diterpenico	Stevia rebaudiana	Yerba dulce	Paraguay	dolcificante ipocalorico	300
nd	nd	Eucalyptus perriniana	nd	nd	dolcificante ipocalorico	nd
Acido glicirrizico	Triterpenoide	Abrus precatorius	Jequiriti	Africa orientale	dolcificante ipocalorico	50

quanto avvenuto in Perù/Kenia per l'annatto da parte di organismi internazionali (UN, EEC);

- possono *integrare altre colture*: nel caso dell'annatto, nella regione andina esso è complementare alla coltura del caffè e a quella del cacao essendo il periodo di raccolta dell'annatto intermedio tra quello delle altre due colture;
- possono costituire una coltura alternativa per reddito a quella della cocaina (come per esempio in Colombia e Perù);
- esiste un potenziale *mercato globale* di sicuro interesse ed in continuo sviluppo;
- costituiscono una *materia prima genuina* (es.: sono privi delle remore e dei limiti dei prodotti simil-naturali ottenuti dalle biotecnologie, come è avvenuto nel caso della vanillina).

LETTERATURA CITATA

- CESTAAT. *Impieghi dei sottoprodotti agricoli e agroindustriali*. Coloranti naturali, 3, 11: 176-178. Dolcificanti ipocalorici. 13: 183-185 (s.d.).
- FAO, 1990 - *Utilization of Tropical Foods: Fruits and Leaves*. Food & Nutrition Paper 47/7 FAO, Roma.FU, T.J., 1998 - *Why are the products of cell suspension culture different?* Chemtech, 28(1): 40-46.
- GIESE J.H., 1993 - *Alternative sweeteners and bulking agents*. Food Technol. 47(1): 114-125.
- HUMPHREY A.M., 1980 - *Chlorophyll*. Food Chem. 5: 57-

67.

- ILKER R., 1987 - *In-vitro pigment production: an alternative to color synthesis*. Food Technol. 41(4): 70-72.
- INGLETT G.E., 1974 - *Symposium: Sweeteners*. The AVI Pub. Co., Westport, USA
- KATO D.N., 1994 - *Cochineal and derivatives from Peru (1983-1993): present situation and future outlook*. Proc. 2nd. INFCOL, Acapulco, Mexico, s.p.
- LIPPARINI L., LAGHI L., 1977 - *Considerazioni sull'impiego di coloranti naturali*. Industrie alimentari, 16(144): 81-88.
- MARCOZZI G., VITALI F., 1994 - *Coloranti naturali per uso alimentare*. Agricoltura & Innovazione, (28/29): 78-84.
- MAZZA G., MINIATI E., 1993 - *Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains*, CRC Press, Boca raton, Fl., USA
- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, 1974 - *Food Science in Developing Countries. A Selection of Unsolved Problems*. National Research Council, Washington, USA.
- NOLTENIUS J.E., 1994 - *Annatto: factors affecting its future*. Proc. 2nd. INFCOL, Acapulco, Mexico, s.p.
- PEROTTI A., 1975 - *La curcumina, un utile colorante vegetale poco noto*. Industrie alimentari, 14(118): 66-68.
- SHANI A., 1995 - *The struggles of jojoba*. Chemtech, 49-54.
- RIASSUNTO - Un grande numero di piante tropicali e subtropicali può essere sfruttato per l'estrazione di coloranti e dolcificanti non nutritivi per l'industria alimenta-

re. Il valore economico mondiale di questa produzione è stimato a circa 500 milioni di US\$. In particolare, piante che contengono antociani e carotenoidi sono coltivate per l'ottenimento di questi coloranti sicuri. Questo interessa alcuni paesi in via di sviluppo a cui queste coltivazioni

possono fornire un reddito aggiuntivo. Perù e Kenia, ad esempio, con l'aiuto di alcune organizzazioni mondiali hanno sviluppato con successo le coltivazioni di piante coloranti. Numerose piante contenenti dolcificanti e coloranti sono allo stato attuale poco conosciute.

AUTORE

Enrico Miniati, Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università di Perugia, via S. Costanzo 1, 06127 Perugia