

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA

Dottorato di ricerca in:
PRODUTTIVITÀ DELLE PIANTE COLTIVATE
Curriculum: *Biologia delle specie mediterranee*
(XXIII ciclo: 2007-2010)

SEBASTIANO INTERLANDI

Aspetti agronomici innovativi dello zafferano
(*Crocus sativus* L.) in Sicilia

Dissertazione finale

INDICE

PARTE MONOGRAFICA

1. ORIGINE STORIA E LEGGENDE	PAG. 01
2. IMPORTANZA ECONOMICA	PAG. 08
3. COMPOSIZIONE CHIMICA DELLO ZAFFERANO	PAG. 10
4. PROPRIETA' ED IMPIEGHI DELLO ZAFFERANO	PAG. 12
4.1. INDUSTRIA LIQUORISTICA	PAG. 14
4.2. INDUSTRIA ALIMENTARE	PAG. 15
4.3. IMPIEGHI FARMACOLOGICI	PAG. 19
4.3.1. GLI EFFETTI ANTI TUMORALI DELLO ZAFFERANO	PAG. 26
5. INQUADRAMENTO BOTANICO E DESCRIZIONE	PAG. 27
5.1. I CROCUS IN EUROPA	PAG. 32
5.2. I CROCUS IN ITALIA	PAG. 34
5.3. I CROCUS IN SICILIA	PAG. 39
6. CICLO BIOLOGICO	PAG. 40
7. ESIGENZE	PAG. 43
8. TECNICA DI COLTIVAZIONE	PAG. 48
8.1. AVVICENDAMENTO E CONSOCIAZIONE	PAG. 50
8.2. EPOCA DI SEMINA	PAG. 51
8.3. PREPARAZIONE DEL TERRENO	PAG. 51

8.4.	COLTURA A CICLO ANNUALE (NAVELLI-L'AQUILA)	PAG. 52
8.5.	COLTURA A CICLO POLIENNALE (SPAGNA-GRECIA-INDIA)	PAG. 53
8.6	TECNICA DELLA MICROPROPAGAZIONE O PROPAGAZIONE IN VITRO	PAG. 54
8.6.1.	LA MICROPROPAGAZIONE DELLO ZAFFERANO	PAG. 57
8.7.	PREPARAZIONE E MESSA A DIMORA DEI BULBI	PAG. 61
8.8.	DENSITÀ D'IMPIANTO	PAG. 63
8.9.	CONCIMAZIONE	PAG. 67
8.10.	IRRIGAZIONE	PAG. 70
8.11.	CONTROLLO DELLE ERBE INFESTANTI	PAG. 73
9.	CONTROLLO DEI PARASSITI ANIMALI	PAG. 75
10.	STRESS BIOTICI, ED ALTRE PATOLOGIE DELLO ZAFFERANO	PAG. 76
11.	REGOLATORI DI CRESCITA	PAG. 79
12.	FIORITURA E RACCOLTA	PAG. 80
12.1.	OPERAZIONI PRELIMINARI	PAG. 80
12.2.	DINAMICA DELLA FIORITURA	PAG. 81
12.3.	PRODUTTIVITÀ	PAG. 84
12.4.	PRODUZIONE SECONDARIA DEI METABOLITI	PAG. 87
12.5	TECNOLOGIA POST RACCOLTA	PAG. 88
12.5.1.	SEPARAZIONE DEGLI STIGMI	PAG. 88
12.5.2.	TOSTATURA OD ESSICCAZIONE DEGLI STIGMI	PAG. 89
12.5.3.	PULITURA ED OMOGENEIZZAZIONE	PAG. 93
12.5.4.	DISINFEZIONE	PAG. 93
12.5.5.	CONTROLLO DELL'UMIDITÀ	PAG. 93
12.5.6.	SELEZIONE DELLO ZAFFERANO	PAG. 94
12.5.7.	ZAFFERANO IN POLVERE	PAG. 94
12.5.8.	PROCESSO DI CONFEZIONAMENTO	PAG. 94
12.5.9.	QUALITÀ	PAG. 96

13. PRODUZIONE, RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI BULBI

PAG. 96

PARTE SPERIMENTALE

1. SCOPO DEL LAVORO

PAG. 99

2. MATERIALI E METODI

PAG. 99

2.1. PROVA A: INFLUENZA DELLA GRANULOMETRIA DEL TERRENO

SULLA PRODUTTIVITÀ DELLO ZAFFERANO

PAG. 100

2.2. PROVA B: PERMANENZA POLIENNALE DEI BULBO-TUBERI IN CAMPO

PAG. 101

2.2.1. ANALISI QUALITATIVE

PAG. 103

2.3. PROVA C: PROPAGAZIONE IN VITRO

PAG. 105

2.4. ANDAMENTO TERMICO

PAG. 106

3. RISULTATI E DISCUSSIONI

PAG. 108

3.1. INFLUENZA DELLA GRANULOMETRIA DEL TERRENO

SULLA PRODUTTIVITÀ DELLO ZAFFERANO

PAG. 108

3.2. PERMANENZA POLIENNALE DEI BULBO-TUBERI IN CAMPO

PAG. 110

3.3. PROPAGAZIONE IN VITRO

PAG. 117

4. CONCLUSIONI

PAG. 118

BIBLIOGRAFIA

PARTE MONOGRAFICA

1. ORIGINE STORIA E LEGGENDE

I primi riferimenti storici riguardanti lo zafferano si fanno risalire alle sacre scritture, dove veniva citato con il termine Karkum. Secondo Virgilio il nome della pianta – *Crocus* – deriverebbe dal greco Kroke e starebbe a significare “filo di tessuto”, con riferimento agli stigmi filamentosi che si utilizzano commercialmente (Georgiche libro IV - 182). La specie, o meglio il suo prodotto commerciale, è ricordata in varia maniera nelle civiltà più antiche del mediterraneo: dalle raffigurazioni pittoriche di Knosso, alla citazione nel papiro egizio di Ebers (1500 a.c.) e nel cantico dei cantici del Vecchio Testamento (IV, 14).

Come sempre accade nel mondo classico, la mitologia costruisce le sue storie anche su elementi legati alla botanica. Per lo zafferano – visto col suo secondo nome, quello di croco – le storie mitologiche sono due: Croco, compagno di gare di Mercurio, è ferito a morte da un disco scagliato male, e dalla terra bagnata dal suo sangue nasce la pianta gialla e rossa. Altra versione: la ninfa Smila si innamora di Croco e, per punizione, Diana lo trasforma in pianta di zafferano.

La regione di origine dello zafferano non è del tutto certa anche se molti studiosi la collocano nell'area compresa tra Creta ed il Medio Oriente (Negby, 1999). Da qui si diffuse rapidamente in India e Cina e successivamente, ad opera degli arabi, nell'area mediterranea. E' forse originario della Grecia, Asia Minore e Persia (Vavilov, *et. al.*, 1951; Skrubis, 1989). Lo zafferano venne coltivato intensamente in Oriente e nel bacino del Mediterraneo dalla tarda Età del Bronzo (Zohray 1994; Negbi 1999). In Egitto e nel Medio Oriente lo zafferano venne coltivato come spezie da almeno 3500 anni (Fernandez, 2004). I Romani introdussero lo zafferano in Gran Bretagna, mentre gli Arabi portarono lo zafferano in Spagna (The Royal Horticultural Society 2003).

Non ci sono documenti a disposizione che testimonino quando la coltivazione dello zafferano iniziò in India, in particolare nel Kashmir, che è l'unica area commerciale del paese di produzione dello zafferano. Testimonianze storiche di coltivazione in Kashmir risalgono al 550 d.C. Molti esperti credono che lo zafferano, tra tutte le spezie, si diffuse inizialmente in India per gli sforzi

dei dominatori Persiani di rifornire i loro giardini e parchi recentemente costruiti. Essi realizzarono ciò trapiantando cultivar per tutto l'impero Persiano (Dalby, 2002). Un'altra variante di questa teoria sostiene che, dopo che l'antica Persia conquistò il Kashmir, i bulbi di zafferano persiano furono piantati nei terreni del Kashmir. Il primo raccolto avvenne così intorno al 500 a.C. (McGee, 2004). Lo zafferano che cresce in Kashmir proviene dalla Persia (Singh, *et al.*, 1976). Ci sono leggende che sostengono la teoria che lo zafferano venne coltivato a Padampore (oggi chiamata Pampore), a circa 13 km da Srinagar (Kashmir), India. La coltivazione in Kashmir venne estesa oltre che a Pampore ad altre pianure alluvionali del Budgam, Tsrar e del Kashmir meridionale.

In Italia sembra che l'introduzione debba attribuirsi ad un monaco al seguito del Tribunale dell'Inquisizione, che portò nel proprio paese d'origine, in provincia de L'Aquila, i primi bulbo-tuberi dai quali si originò il primo nucleo produttivo italiano; tuttavia scritti danno notizia della coltivazione dello zafferano in Sicilia già in età greco-romana particolarmente rinomato era quello di Centuripe (*Crocus Centuripinus*). A Centuripe fu incentivata la coltivazione dello zafferano, di una buona qualità, idonea a preparare profumi, esportato fino a Pozzuoli, ed evocato sia da Plinio che da Stazio¹: senza dubbio la coltivazione del *Crocus* ha richiesto l'impiego di molti lavoratori, per la raccolta, al mattino o alla sera, degli stigmi del fiore, assai effimero, che poi dovevano essere essiccati (5 chili di quelli freschi per ottenerne uno secco)² (Manganaro, 2001).

La parola "saffron" (zafferano) deriva dal francese *safran*, che deriva dal latino *safranum*. *Safranum* si riferisce anche all'italiano *zafferano* e allo spagnolo *azafran*. *Safranum* deriva dalla parola araba *asfar* che significa giallo, attraverso l'anonimo *zafran*, il nome della spezie in arabo (In Wikipedia, 2006). Quasi tutte

¹ Nel commento ad una tavoletta cerata da Pozzuoli, che recita : *Theophilus Aphrodisio fratri sal (utem). Accipies de nave Octa(via)amphoras vini VI, aceti LXXVII, cro(ci)na Sicula XVI* — (edita da C. Giordano, Rend. Acc. Arch.Napoli, 47, 1972, p. 312) in *Anné Epigr.* 1974, 269 si richiamano le testimonianze relative al *crocus Siculus* (*Sicanus* in Stat., *Silvae* V 3, 42; 2, 4, 36), *Centuripinus* in Plin., N. H., 21, 31 (cfr. TLL 4, 1906—1909, 1216, 71 s.): vedi le notazioni in, Tra archeologia ed epigrafia, ZPE 137, 2001, p. 192 n. 30.

² Cfr. L. Robert, *Recherches épigraphiques*, REA 1960, pp. 276 ss., p. 335 s. (OMS II, Amsterdam 1969, p. 853 s.).

le lingue europee e diverse non-europee hanno preso in prestito quel nome. *Crocus* deriva dalla parola greca *Corycus*, il nome di un'area in Cilicia nel Mediterraneo orientale. Il nome scientifico *Crocus* deriva del greco *Krokòs* proveniente dall'ebraico *Karkòm* a sua volta derivante dal vocabolo fenicio *Cartamus*, corrispondente ad una specie vegetale che era ritenuta capace di impartire la colorazione gialla.

Le virtù dello zafferano sono note fin dall'antichità e non meraviglia trovarlo fra gli ingredienti più usati nella preparazione dei medicinali contro la peste. Era conosciuto per le sue virtù terapeutiche anche dagli Egiziani; è infatti annoverato nel papiro di Erbers (1600 a.C.). La più antica rappresentazione grafica dello zafferano che è del 1400 a.C. si trova nel museo di Heraklion nell'isola di Creta ed è una pittura murale proveniente dall'antica Cnosso. Ippocrate lo prescrisse in fomenti nei luoghi dolenti della gotta o reumatismi. Questa virtù ha avuto ancora di recente conferma farmacologica.

Nel 1370 circa, Guillaume Tirel, detto Taillevent, primo scudiero di cucina di Carlo VI re di Francia, lo include, nel Viandier, fra gli aromi da tenere sempre in cucina. Probabilmente si trattava ancora di un prodotto di importazione: molti secoli prima, nell'882, gli stupendi Capitulari de villis con cui Carlo Magno (o, secondo altri, l'imperatore Ludovico il Pio) regola le attività dei poderi – appunto le ville – non include lo zafferano fra le piante, oltre cento, che il responsabile del feudo deve far coltivare, affinché il castello e il borgo le abbiano a disposizione.

Ancora nel 1549, Cristoforo da Messisburgo, scalco alla corte del cardinale Ippolito d'Este, a Ferrara, e autore del fondamentale testo Banchetti e composizione di vivande, include il croco intero (probabilmente intende i pistilli) e pesto fra le spezierie essiccate non fra i prodotti delle coltivazioni. Se il conte palatino – Messisburgo lo era - segnala questa insostituibile aroma, lo fa seguendo, a un secolo di distanza, il giudizio espresso dal Platine, nel famoso ricettario umanistico «Della onesta voluttà», che così indica lo zafferano: Col suo colore e sapore, migliora le vivande che difettino di tale qualità. Un pregio che alla corte estense viene esaltato in una delle ricette che ci riportano alla corte Jaipur: il riso in brodo con rossi d'uovo e zafferano detto «alla ciciliana».

Secondo Plinio il vecchio (vedi anche «Istoria naturale tradotta da Ludovico Domenichi» Venezia 1561) giova alle «esulcerazioni dello stomaco,

petto, reni, fegato e polmoni, è utile per la tosse e mal di petto, provoca la lussuria e unito a un'altra erba magica e a vino di palma, serve ai magi e ai re di Persia per far più belli i loro corpi». Inoltre lo zafferano veniva importato soprattutto dalla Cilicia (regione dell'Asia Minore, attualmente facente parte dalla Turchia) perché utilizzato come pianta saporifica ed afrodisiaca.

Apicio lo cita come ingrediente nel vino d'assenzio romano, in qualità di digestivo.

Plinio e Auro Celso lo riportano come principale costituente di uno speciale collirio: "diaciocu", particolarmente efficace.

La scuola salernitana ne parla in questi termini: «lo zafferano conforta allietando e rafforzando le membra e il fegato sanando».

Nel Medio Evo veniva considerato un dispensatore di allegria, tanto da dire che «ha dormito su di un sacco di zafferano» per indicare una persona ilare. È indubbio che l'elevato valore della droga determinò fin dal Medio Evo una specifica disciplina e normativa che ne regolava il commercio, al punto che le Repubbliche marinare avevano fondato dei "Banchi dello zafferano". Dioscoride lo considera un efficace antispasmodico e anticonvulsivo, altri studiosi quali Ippocrate, Teofrasto, Galeno assegnavano allo zafferano proprietà medicinali e voluttuarie, gli arabi lo consideravano un emmenagogo.

Nella Materia Medica di Pedanio Dioscoride (1° secolo d.C.) sono indicati gli effetti terapeutici dello zafferano noti nell'antichità. Nella traduzione di quest'opera fatta dal medico botanico senese Matthioli (1501-1577) nel libro del Discoride, capitolo XXV (del Croco) pag. 76 (ediz. Venezia, 1564) si legge: "Dicono alcuni, che il croco, bevuto con l'acqua al pesi di tre dramme, ammazza d'allegria. Ha virtù di maturare, molliccare e leggermente costringere: provoca l'orina, fa buon colore. Bevuto con vino passo, vale contro l'ubriachezza. Applicato con latte umano, ferma il flusso degli occhi; si mette utilmente nelle bevande per lenire i dolori intestinali; si applicano pezzuole di impiastro di zafferano per lenire i dolori mestruali o su ferite e infiammazioni. Stimola in fine la lussuria. Omero ne parla come profumo e medicamento (Iliade XIV, 348), Nell'epoca rinascimentale lo zafferano era considerato calmante della tosse, miglioratore del metabolismo, abortivo, per quanto attiene le proprietà medicamentose, e digestivo, per le proprietà alimentari.

Lo zafferano si trova in quasi in tutte le ricette, tanto da far pensare che ogni medicamento contro la peste fosse di colore giallo; esiste allora un rapporto fra il colore del medicamento e quello del malato nella cura della peste.

Secondo il principio delle “rassomiglianze” caro a Paracelso e alla sua scuola, si potrebbe dire di sì, se si considera che il medico Giovanni De Albertis nel XV secolo aggiunse alle caratteristiche della peste una nota tratta dalla sua esperienza personale e cioè che il malato di peste ha un colorito “quasi itterico” (cfr. A. Castiglione, “il volto di Ippocrate”, Milano 1925).

Plinio (*Historiae Naturalis*, XXI, 81 e 82) ricorda un unguento (noto come *crocomagna*) che si usava per la cataratta.

La *crocomagna* è tradotta come “feccia di zafferano” e sembra sia stata usata in medicina: questa è l’unica presenza nella letteratura gastronomica; sembra che la *crocomagna* fosse il residuo dell’estrazione dell’olio di zafferano (Marco Gavio Apicio,).

Entra nella preparazione delle pillole di Ruso, o di Tribus (dette «antichissime» dallo stesso Muratori), stimatissime antipestilenziali, nei sacchetti odoriferi preservativi, nei diaforetici che servivano a espellere tramite il sudore i veleni della peste. Anche nella Teriaca, Mitridate, Hiera di Galeno, Elisir Vitae, Pillole magistrali contro la peste (anche nel ricettario fiorentino) entra lo zafferano, nonché nei vescicatori e nei linimenti da applicare sul corpo per favorire la maturazione dei bubboni. Anche nel Ricettario Senese (Siena 1777) vi sono ricette che contengono lo zafferano, come “l’olio da bachi” per bambini e il balsamo del Piccolomini che sana le ferite, incarna e cicatrizza. Il medico sangimignanese Marcantonio Montigiani affermava che lo zafferano giova agli occhi in particolare per la malattia detta dai Greci glaucoma, ma già in un erbario medievale del XIII sec. si trova una miracolosa ricetta per guarire la cataratta nella quale c’è anche l’acqua distillata di zafferano.

Lo zafferano, detto dal Fioravanti “elettuario angelico per la peste” è ingrediente di un “digestivo” secondo la lista di uno speciale di San Gimignano. Tuttora è usato come eupeptico o colorante, comunque la droga può esercitare azioni eccitante o deprimenti del sistema nervoso fino all’ipnosi e questo richiama alla mente che anche un medico scriveva : “l’olio di zafferano fiutato con le narici fa dormire”.

Lo zafferano contiene (0,08) un olio etereo costituito principalmente da Aldeide safranale. Come reazione di riconoscimento, una goccia di acido solforico sulla polvere dà un colore azzurro che poi diviene violetto.

Nel commercio lo zafferano si distingue, secondo la provenienza, in: zafferano italiano, di cui quello dell'Aquila è il più stimato; zafferano francese o di Gatinois, che è pure molto pregiato; zafferano spagnolo, spesso unto, per fargli acquistare bella presenza; zafferano orientale, quest'ultimo è di qualità scadente.

Tra le specie utilizzate per la sofisticazione dello zafferano ci sono il cartamo, una composta di cui il seme è purgativo e che viene chiamato anche zafferano o zafferanone bastardo o di Germania e la curcuma rotonda o lunga secondo il rizoma detta zafferano d'India, che è aperitiva e diuretica.

Il cartamo, la curcuma erano usate anche per le qualità tintorie dai pittori. Il colchico autunnale è una L. Liliacea chiamata anche zafferano silvestre dalla radice mortale che giova esternamente per la gotta. Sono sostanze sofisticate il Croco di marte aperitivo detto "zafferano di Marte aperitivo" che è una preparazione di carbonato ferrico e ossido ferrino idrato e lo "zafferano di Antimonio" che è ossido bruno di antimonio.

Lo zafferano era utilizzato sia come droga sia come colorante per tingere i panni in giallo. Conosciuto fin dall'antichità e coltivato in Italia, vide ridurre la sua coltura in età barbarica ai soli orti dei monasteri. Solo dall'XI secolo ritroviamo fonti che documentano la coltura dello zafferano e la sua commercializzazione nelle città italiane e nel Mediterraneo. Coltivato in Toscana nei dintorni di Siena, San Gimignano e Volterra, lo ritroviamo esportato, in grandi quantità, dai mercati sangimignanesi, che utilizzavano la marineria pisana, nei mercati levantini e quelli dell'Africa settentrionale. Anche i mercanti genovesi commerciavano zafferano toscano oltre che quello francese e quello spagnolo. I Veneziani invece commerciavano soprattutto lo zafferano della Marca e quello abruzzese.

Secondo il Petino la produzione dello zafferano in età medioevale poteva raggiungere le 500 some che corrisponderebbero all'incirca a 850 quintali. L'Italia, la Spagna e la Francia erano i maggiori produttori, ognuno dei quali aveva una produzione di poco meno di un terzo del totale, seguivano minori per importanza, l'Austria, l'Ungheria e la Moravia, per quanto riguarda la Turchia la

qualità del suo zafferano era molto scarsa, ma, dato il basso prezzo, poteva essere considerato come un concorrente.

Nei decenni intorno al 1400, lo zafferano toscano era di gran lunga il migliore (e di particolare rilevanza era quello ottenuto a Montepulciano, Chianciano e Corsignano – l'attuale Pienza -), seguiva il lombardo (era considerato quello di Monferrato, in effetti piemontese, che era più copioso del lombardo), che si avvicinava al primo come prezzo; quello dell'Aquila, eguaglierà solo più tardi i primi due; mentre il marchigiano era scadente. Anche Norcia, Spoleto e Foligno offrivano zafferano che però non raggiungeva il valore di quello Toscano.

Nel 1376 il mercante fiorentino Matteo Tinghi, che fece il suo viaggio verso Buda con Bonaccorso Pitti, acquistava zafferano a Venezia per 1000 fiorini e lo rivendeva nella capitale ungherese, raddoppiando il capitale investito. Venezia riceveva lo zafferano lombardo, come quello toscano, marchigiano ed abruzzese, ed oltre ad esportarlo verso il Levante lo vendeva ai mercanti tedeschi. Questi ultimi sono presenti, numerosi anche in Catalogna, ma lo zafferano italiano è il più richiesto ed essi finiranno per frequentare i mercati dell'Italia meridionale. Dalla fine del XIV secolo si insediava all'Aquila una colonia di mercanti tedeschi. I mercanti fiorentini che agivano nella stessa città, commerciarono lo stesso prodotto: negli anni 1459-1464, l'azienda dei Della Casa-Guadagni, vendeva a Ginevra zafferano inviatole da Pasquale di Santuccio dell'Aquila e Paolo di Saniate di Sulmona; nel 1480 un mercante fiorentino, associato agli Strozzi di Napoli, acquistava a Tagliacozzo, Sulmona, Pettorano, Goriano, Magliano e lo spediva in Lombardia e alle fiere di Lione.

Per l'età moderna le esportazioni dello zafferano dell'Aquila furono controllate dai mercanti tedeschi, le stesse si attestarono su 200 balle l'anno pari a 180 quintali, dal 1560 vi fu un'impennata che raggiunse i 300 quintali annui per un valore di 200.000 ducati. Insieme ai tedeschi continuarono ad operare all'Aquila, i fiorentini che si allontanavano solo alla fine degli anni '30 del Seicento. Nel 1596 l'esportazione declinava scendendo a 150 quintali e, fra alti e bassi, la stessa rimaneva sui 200 quintali fino al 1630. Successivamente, la politica fiscale e la perdita della funzione mercantile che per l'addietro la città

aveva avuto, fecero decadere la coltura dello zafferano e il suo commercio.(Pinto, *et. al.*, 2002).

2. IMPORTANZA ECONOMICA

I dati statistici relativi alle superfici coltivate a zafferano, a causa delle piccole dimensioni degli appezzamenti destinati a questa specie, spesso a conduzione familiare, non sempre corrispondono alla realtà. Infatti, piccole superficie talvolta sfuggono o vengono trascurate nei rilevamenti eseguiti dai rispettivi paesi. Per questa ragione le superfici ufficialmente censite concernenti questa coltura sono certamente inferiore a quelle effettivamente presenti nel territorio. Peraltro essendo una specie di importanza secondaria per alcuni paesi produttori (Austria, Libia e Messico) non è stato possibile recuperare alcun dato statistico. Inoltre, le informazioni sulle aree coltivate a zafferano provenienti da autori diversi per lo stesso paese spesso risultano contrastanti.

I principali paesi produttori sono Spagna, Grecia, India, Albania, Turchia e Iran. L'Iran è il primo paese produttore di zafferano con 47000 ettari di superficie ed una produzione di circa 160 tonnellate (Easanzadeh *et al.*, 2004). L'India contribuisce alla produzione di zafferano con un estensione di circa 2500 ettari coltivate negli stati del Kashmir e di Jammu con produzione di 8-10 tonnellate (Fernandez, 2004). In Europa le principali provincie produttrici di zafferano sono la Castilla-La Mancha (Spagna) con 200 ha coltivati ed una produzione di 300-500 kg annui di prodotto (Fernandez 2004); la Macedonia occidentale (Grecia) dove si coltivano 860 ettari con una produzione di circa 4000-6000 kg annui per larga parte esportati in Germania, Svizzera, Cina, Svezia, Regno Unito e USA e, anche se in misura minore in Italia e Spagna. Superfici di minor estensione coltivate a zafferano sono presenti anche in Turchia, Algeria, Egitto, Francia, Germania, Urss, Svizzera ecc.

In Italia, nonostante un progressivo e significativo incremento del prezzo, le superficie coltivate a zafferano hanno subito una severa riduzione. Oggi la coltivazione dello zafferano è limitata a circa 25 ettari in Sardegna nella piana del Campidano, circa 8 ettari in Abruzzo, nella piana di Navelli e altre piccole superficie coltivate in Toscana, Calabria e Sicilia per un totale di circa 35 ettari su tutta l'Italia. I maggiori paesi importatori di zafferano sono la Germania, l'Italia,

gli USA, la Svizzera, la Francia e il Regno Unito (International Trade Centre, 2006), mentre i paesi maggiori esportatori sono Iran, la Grecia, il Marocco, l'Azerbaijan e la Spagna. La produzione della spezia dello zafferano nell'Unione Europea nel 2004 è stata approssimativamente di 6.800 kg, che corrisponde al 4 % della produzione mondiale stimata in 170 tonnellate. L'elevata domanda di manodopera che ha questo tipo di coltivazione insieme con l'incremento del livello di vita dei paesi produttori mediterranei ha fatto sì che l'estensione coltivata si sia ridotta.

Il più recente dettaglio sulle superfici mondiali è quello riportato da Gresta *et al.*, (2008) nella tab. 1.

Tabella 1. Aree coltivate e quantità prodotte dello zafferano nel mondo per singoli paesi (Gresta *et al.*, 2008)

Paese	Area(Ha)	Produzione (Kg)	
Iran	47000	160.000	Ehsanzadeh et al., 2004
India	—	8.000-10.000	Fernandez,2004
Grecia	860	4.000-6.000	Fernandez,2004
Azerbaijan	675	—	Azizbekova e Milyaeva, 1999
Marocco	500	1.000	Ait-Oubahou e El-Otmani,1999
Spagna	200	300-500	Fernandez,2004
Italia	35	120	Gresta et al., 2008
Francia	1	4	Girard e Navarrete, 2005
Turchia	—	10	Thiercelin, 2004
Svizzera	—	0,4	Negbi,1999

3. COMPOSIZIONE CHIMICA DELLO ZAFFERANO

Lo zafferano contiene oltre 150 componenti volatili che conferiscono l'aroma. Inoltre ha numerosi componenti attivi non volatili molti dei quali sono carotenoidi. I costituenti principali dello zafferano sono la crocetina dei carotenoidi (anche denominato α -crocetina o crocetina I). Le sue forme glicosidiche sono digentiobioside (crocina), gentiobioside, glucoside, gentioglucoside e diglucoside; β - crocetina (estere monoetilico), γ - crocetina (dimethylester), isomero della transcrocetina, isomero cis-crocetina 13; α -carotene, β -carotene, licopene, zeaxantina un coniugato glicosidico del carotenoide di xantone (Fernandez, 2004). Fonti della forte capacità colorante sono gli esteri glicosilici della crocetina che trasportano fino a cinque glucosi, che sono insoliti carotenoidi solubili in acqua (Tarantilis, *et. al.*, 1995). L'estere digentiobiosile della crocetina ($C_{44}H_{64}O_{24}$), è conosciuto come crocina (Tarantilis, *et. al.*, 1997). La crocina, il più abbondante di queste componenti, è presente anche nel frutto della *Gardenia jasminoides*. La picrocrocina delle aldeidi del monoterpene ($C_{16}H_{26}O_7$) ed il relativo safranale derivato deglicosilato ($C_{10}H_{14}O$), che si formano nello zafferano durante l'essiccamento e lo stoccaggio tramite idrolisi della picrocrocina, sono anch'essi componenti importanti dello zafferano, responsabili rispettivamente del suo sapore amaro e dell'aroma (Carmona, *et. al.*, 2007).

I componenti dell'odore (safranale), del gusto (picrocrocina) e dei pigmenti (crocina) (fig. 1) sono localizzati nei lobi stigmatici rossi del fiore dello zafferano. Sono stati descritti nello zafferano anche antociani, flavonoidi, vitamine (riboflavina e tiamina), amminoacidi, proteine, amido, sostanze minerali, gomme ed altri residui chimici (Winterhalter, *et. al.*, 2000; Ingram, 1969).

Gli stimmi secchi dello zafferano conterrebbero non meno del 10-12% d'acqua, il 5-7% di materia minerale, il 5-8% grasso, il 12-13% proteina, il 20% zuccheri ridotti, il 6-7% pentosio, il 9-10% gomme e destrine, e qualche zucchero libero. L'olio essenziale contenuto è circa il 0,3%.

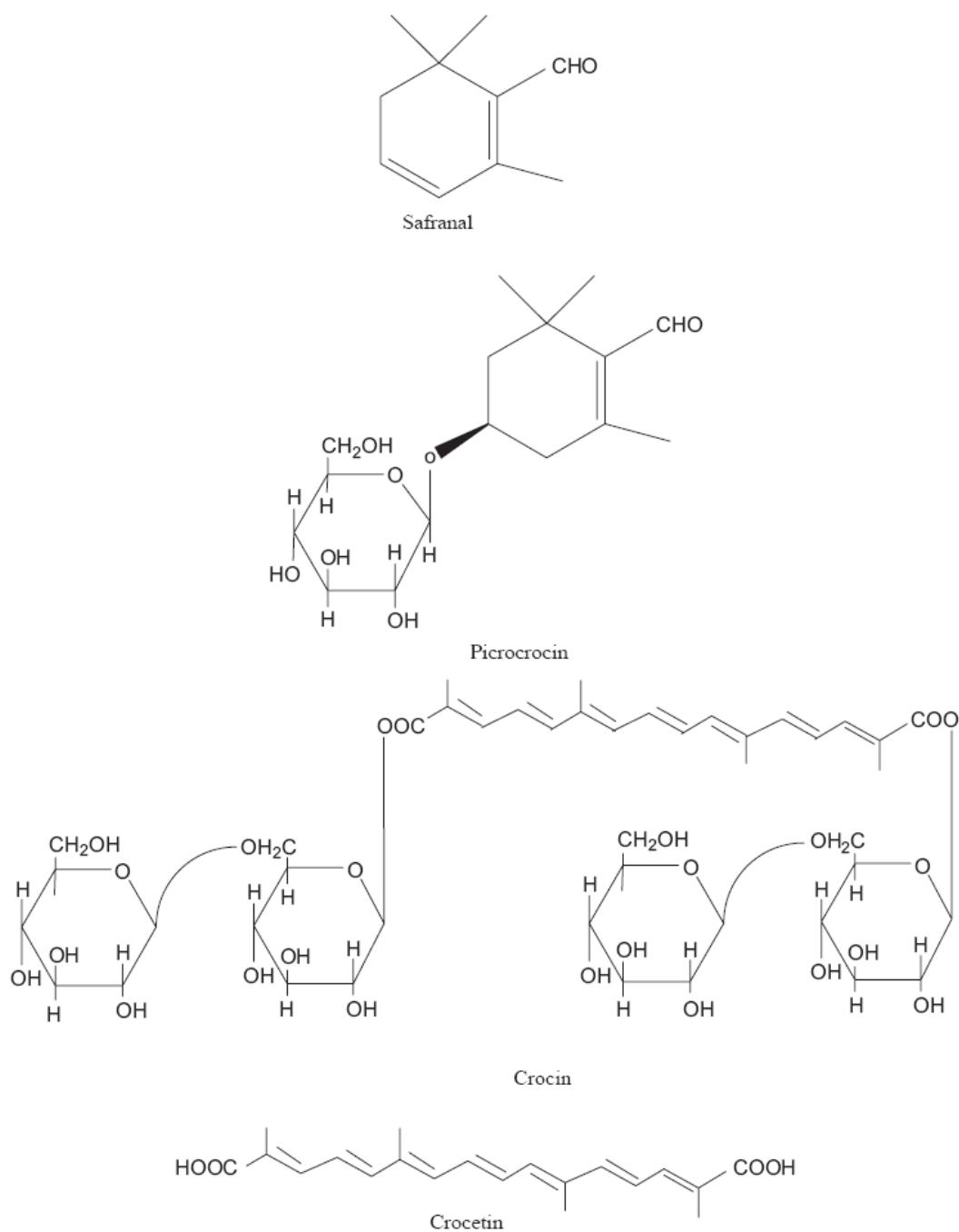


Figura 1. Costituenti chimici importanti dello zafferano

Alcuni componenti minori appartenenti alle differenti classi di sostanze naturali sono state isolate dagli stami e da altre parti della pianta, specialmente dai petali e dai bulbo-tuberi.

I terpenoidi sono i composti più frequenti ritrovati; i crocusatini presenti negli stami e nei petali mostrano una significativa attività antitiroso

rappresentano un gruppo sostanziale (Li e Wu, 2002, 2004); alla stessa classe di sostanze, vale a dire i terpenoidi, appartengono alcuni derivati glicosidici i quali, come menzionato precedentemente, sono considerati i precursori dei componenti volatili dello zafferano alternative alla picrocrocina (Straubinger, *et al.*, 1997, 1998).

Inoltre, una serie di flavonoidi, sono stati recentemente evidenziate negli stimmi dello zafferano; questi polifenoli probabilmente concorrono insieme alle picrocrocine per produrre il gusto amaro dello zafferano (Carmona *et al.*, 2007).

Il piano di azione dei metabolici secondari del *C. sativus* è completato da alcuni antrachinoni (Gao *et al.*, 1999) e da una antocianina (Maroto, 1950; Saito *et al.*, 1960) isolati rispettivamente dai cormi e dai petali.

4. PROPRIETÀ ED IMPIEGHI DELLO ZAFFERANO

Allo zafferano sono riconosciute proprietà terapeutiche, di condimento e di colorazione. Le utilizzazioni principali dello zafferano sono nelle industrie alimentari, lattiero-casearie e dei coloranti ed inoltre in cucina, in medicina, nella cosmesi, nei profumi e nel tabacco aromatizzato. Lo zafferano è largamente utilizzato nelle cucine arabe, dell'Asia centrale, europea, indiana, iraniana e marocchina. Il suo aroma è descritto dagli esperti di cucina e di zafferano come un gusto di miele, con note metalliche, erbose, simili al fieno. Il gusto dello zafferano è simile al fieno ma con tracce di amaro. Lo zafferano, inoltre, conferisce una coloritura luminosa giallo-arancione agli elementi con cui viene a contatto. La recente letteratura mostra che i principi attivi dello zafferano esplicano alcune proprietà specifiche rilevanti. Esse non possono, però, ottenersi con il comune impiego della droga a causa delle piccole quantità che di essa vengono impiegate.

Le principali sostanze attive contenute nello zafferano sono la picrocrocina, il safranale e la crocina. La picrocrocina, conferisce il potere amaricante, durante l'essiccamento e il magazzinaggio del prodotto, si scinde in glucosio ed in safranale, che è il maggiore responsabile dell'aroma. La crocina deriva dalla crocetina, che appartiene alla grande famiglia dei coloranti naturali chiamati caroteni. Vi fanno parte, ad esempio, il licopene (sostanza colorante dei pomodori), la cripsantina (colorante del tuorlo d'uovo e del mais) ecc. Essa è, quindi, responsabile del colore dello zafferano.

Lo zafferano contiene piccoli quantitativi di vitamine: beta-carotene (provitamina A) tiamina (vitamina B1) riboflavina (vitamina B2). Le proprietà farmacologiche attribuibili ai principi attivi dello zafferano conferiscono al prodotto le seguenti proprietà: sedativo, espettorante, eupeptico, analgesico gengivale, eccitante della motilità gastrica, a dosi elevate abortivo. L'unico caso documentato circa le proprietà abortive si riferisce ad una donna di 28 anni che ne ingerì 5 grammi sciolti nel latte. Si ebbe un'abnorme coagulazione con ecchimosi su tutta la pelle, una marcata carenza di piastrine nel sangue. La biopsia addominale rilevò danni istologici severi.

La crocetina fa aumentare l'ossigenazione del sangue in vitro e in vivo; soluzioni di crocetina iniettate per quattro settimane in ratti enfisematosi, riportano il trasporto di ossigeno allo stesso livello dei ratti normali (Giaccio,1989).

La crocina risulta efficace nella dismenorrea dolorosa, in quanto agisce sulla contrattilità del muscolo uterino. Il sale sodico della crocetina, alla dose di 1 mg. per chilogrammo inibisce un microbatterio, che provoca artrite nei ratti. Sembra che la crocetina abbia effetti nella cura dell'arteriosclerosi e delle malattie cardiovascolari.

Il safranale risulta efficace nelle bronchiti croniche in quanto, essendo eliminato attraverso i polmoni, attenua la tosse per un effetto anestetico sulle innervazioni degli alveoli bronchiali.

La recente letteratura mostra che i principi attivi dello zafferano esplicano alcune proprietà specifiche rilevanti. Esse non possono, però, ottenersi con il comune impiego della droga a causa delle piccole quantità che di essa vengono impiegate.

Lo zafferano rimane peraltro, a causa delle sue proprietà aromatiche e coloranti, uno straordinario ed insostituibile additivo alimentare. (Giaccio,1989)

Nel settore dolciario industriale, prima dell'avvento o del sopravvento della chimica, era lo zafferano che veniva usato per dare al prodotto uniformità di colore. Troppe uova, altrimenti, ci sarebbero volute per dare al panettone, al pan di Spagna od al biscotto quel tono tanto piacevole alla vista, e pure usandole copiosamente non si poteva mai avere la certezza della uniformità del colore in tutta la produzione.

Il ricorso ad un colorante naturale, non tossico nelle giuste dosi, e che poteva eventualmente contribuire ad aiutare il profumo, fu da tutte le industrie accettato e seguito, con vantaggio proprio e con gusto del consumatore.

Oggi che siamo accerchiati da una moltitudine di dolci, dolcetti e merendine, basterebbe imporre alle industrie il ricorso allo zafferano per far tornare ad esplodere la coltura. Lo stesso discorso vale per l'industria liquoristica e ancor più per quella delle bevande non alcoliche. Sappiamo tutti quanto sia importante per un prodotto presentarsi bene, come per anni si sia fatto ricorso, in modo indiscriminato, a coloranti chimici, e come ancor oggi il colore abbia notevole importanza, e non ci sembra pertanto, assurdo sperare in un maggior uso dello zafferano al posto dei conosciuti e temuti «E» numerici.

Le principali destinazioni dello zafferano sono nell'ordine :

- industria liquoristica;
- industria alimentare propriamente detta, a distribuzione diretta per uso domestico;
- industria farmaceutica;

Quest'ultimo pare in via di espansione, perché sta recuperando l'impiego dello zafferano come medicamento, riproponendo antiche preparazioni galeniche.

4.1 INDUSTRIA LIQUORISTICA

È la principale utilizzazione del prodotto , che viene usato nella preparazione di aperitivi alcolici (amari, vermouth, fernet, ecc.) e di dolci in virtù delle sue caratteristiche coloranti e aromatizzanti, conferiti dai principi attivi: crocina, crocetina, picrocrocina, safranale e una lunga serie di principi volatili responsabili del caratteristico "bouquet".

Ogni preparazione liquoristica privilegia ovviamente alcuni di questi componenti, operando essenzialmente sulla solubilità, sulla temperatura e sui tempi di contatto. In passato è stato utilizzato anche in profumeria, ma non risulta che tale impiego sia ancora effettuato.

Oggi, è sistema comune di introdurlo nella preparazione del rum, appunto per la sua forza alcolica.

4.2 INDUSTRIA ALIMENTARE

L'utilizzo domestico come condimento nella preparazione di alcuni piatti di derivazione tradizionale (arancini, risotto alla milanese e simili) è consistente, ma ovviamente circoscritte a talune zone del territorio nazionale.



All'estero molti piatti tradizionali prevedono come ingredienti lo zafferano (paella valenciana, couscous di carne e verdura, bouillabaisse, torta di pere).

In questo caso le caratteristiche ricercate sono uno spiccato potere colorante, uno specifico profumo e in fine il gusto.

Per tali ragioni l'industria italiana prepara miscele di zafferano di diversa origine per offrire un prodotto dalle caratteristiche organolettiche costanti, poiché ogni zafferano presenta potere colorante e aromatizzante diversi in ragione della provenienza, delle modalità di preparazione, del periodo e delle modalità di conservazione.

Nel volume di Giuseppe Piccioli, leggiamo: «Si usa, zafferano nella cucina e nell'economia domestica come utile e piacevole ingrediente di cibi e di bevande, assecondando meravigliosamente le igieniche prescrizioni, poiché rende più digeribili i dolci, le paste, il nostro splendido risotto alla milanese, i formaggi, né manca di aggiungere colorito ed odore agli stessi».

In passato era anche utilizzato come colorante delle paste, del burro e dei formaggi : a lungo trascurato, potrebbe avere un ritorno come colorante genuino e naturale in alternativa ai coloranti “artificiali”.

Un grammo di zafferano secco può tingere in giallo circa 500 litri di acqua. Per colorare i formaggi, basta aggiungere grammi 0,20-0,50 di polvere di zafferano per 100 litri di latte.

Vuole la leggenda sull'origine del risotto alla milanese che un pittore inavvertitamente urtasse il contenitore del giallo (ottenuto utilizzando zafferano), rovesciandolo nella pentola in cui stava cuocendo del riso. Per queste caratteristiche lo zafferano viene utilizzato in alimenti cotti al forno, formaggi, pasticceria, curry, liquori, pietanze di carne e minestre.

Lo zafferano viene utilizzato in India, Iran, Spagna ed in altri paesi come condimento per il riso. Inoltre, è utilizzato in dolci a base di latte indiani (McGee, 2004) quale il gulab jamun, kulfi, double ka meetha e nel "lassi di zafferano" che è una bevanda Jodhpuri piccante a base di yogurt. Lo zafferano è usato per dare colore e sapore a molti piatti mediterranei ed orientali, specialmente riso, carne, pesci e pane scandinavo e dei Balcani. E' anche utilizzato nei profumi e nelle tinture (Ingram, 1969, Liakopoulou-Kyriakides, *et al.*, 1998).

Inoltre, viene usato per migliorare il colore e il sapore, oltre che per dare un aroma particolare e un bel colore dorato al gelato, alle salse e ai condimenti. Nella trasformazione dei prodotti alimentari, lo zafferano viene utilizzato come colorante nelle salsicce, burro, formaggi, pudding, pasticceria, riso cotto al curry, prodotti caseari, bevande alcoliche e non alcoliche (Greenberg, *et al.*, 1983; Sen, *et al.*, 1994).

Come colorante ha avuto anche altri svariati impieghi. Una soluzione per rendere il miele più colorato e odoroso è quello di effettuare gli impianti di zafferano nelle vicinanze degli alveari, così come veniva praticato dai Romani. Lo zafferano è usato principalmente come spezie e colorante alimentare e in misura inferiore come tintura tessile o profumo (Fernandez, 2004).

Per le stoffe è noto che il problema risiede nella fissazione del colore, essendo l'acqua uno dei solventi più efficaci. In passato invece è stato molto utilizzato per tingere anche veli, bende, fili da ricamo, vele, cuoi, vetri, ceramiche : un trattamento con allume permetteva la fissazione del colore. È usato come tintura per i vestiti (Bamford, 2006) e conferisce colore e sapore agli additivi alimentari (Sampathu, *et al.*, 1984).

Oggi soprattutto a causa del suo elevato costo, viene impiegato quasi esclusivamente come droga nell'alimentazione per colorare ed aromatizzare piatti tipici. Ad esempio in Sicilia centrale tra gli usi alimentari va certamente ricordato l'impiego dello zafferano nella caseificazione del "Piacentinu ennese", formaggio dalle antiche origini prodotto nelle aree interne siciliane a cui lo zafferano conferisce un aroma e un colore caratteristici (Horne *et al.*, 2005). Il Piacentino ennese è un formaggio a pasta compatta pressata, prodotto con latte di pecora intero ad acidità naturale di fermentazione tipico del territorio della provincia ennese il quale vanta tra i suoi ingredienti lo zafferano.

La qualità e le caratteristiche del "Piacentinu Ennese" sono dovute essenzialmente all'ambiente geografico di produzione; ambiente inteso come insieme di fattori umani e naturali. Infatti, anche limitando l'analisi ad alcuni aspetti: la produzione del latte; il tipo di caglio; la tecnica di produzione, l'influenza dei fattori umani e naturali sulle caratteristiche del prodotto è evidente. Sul nome del "Piacentinu", formaggio tipico di Enna, c'è una confusione di ipotesi; tre le più accreditate. Secondo alcuni "piacentinu" ha una sua origine idiomatica: si riferisce, cioè, alla piacevolezza del gusto, non del tutto piccante, dovuta alla presenza dello zafferano. Secondo altri "piagentinu", come alternativamente, viene chiamato il prodotto fa riferimento all'umidore che può formarsi all'interno: il formaggio è piagentinu, ha la lacrima. Esiste una terza ipotesi, la meno amata dagli ennesi, ma la più acclamata dagli storici: benché prodotto nel cuore della Sicilia, il "piacentinu" ha le sue origini a Piacenza, almeno nel nome.

Una leggenda vuole che Ruggero il Normanno, intorno al 1090, preoccupato per la salute psichica della consorte, afflitta da una grave depressione, ma altrettanto ghiotta di formaggi, pregasse i casari di preparare un formaggio che avesse doti taumaturgiche. Da ciò nacque l'idea di aggiungere al caglio d'agnello una manciata di "*Crocus sativus*" specie nota nell'antichità per le sue qualità stimolanti ed energizzanti.

Al di là della leggenda, il "piacentinu" è ricco di riferimenti storici che risalgono al IV secolo d.c., quando lo storico Gallo in una pubblicazione fa cenno all'aggiunta dello zafferano al formaggio.

Notizie inconfutabili sul prodotto si individuano anche in un libro scritto tra 1681 ed il 1682 da Francesco Maja da titolo “Sicilia passeggiata” rimasto manoscritto fino ad alcuni anni fa. L’antica origine del formaggio, dimostrata dai testi citati, fa ritenere veritiera e più aderente alla realtà la spiegazione che i vecchi produttori hanno dato al termine “piacentinu”, cioè semplicemente riferito alla piacevolezza del prodotto. L’origine sarebbe quindi idiomatica: “piacentinu” dal siciliano “piacenti” ovvero che piace.

Il “piacentinu” è ottenuto, in massima parte dal latte di pecora comisana al quale viene aggiunto lo zafferano e il pepe nero in grani che influiscono sul gusto e sull’aroma. Il piacentino viene ancora prodotto con tecniche tradizionali utilizzando antichi utensili. Il latte con aggiunta di zafferano coagula in una tina di legno a 32-35°C con caglio in pasta di agnello o capretto in circa 40-60’. La cagliata viene fatta spurgare con le mani dopo essere stata posta in canestri di giunco “fascedde” che lasciano sulla superficie del formaggio una particolare modellatura. All’atto dell’incanestratura viene aggiunto pepe nero in grani. Viene poi scottata, posta su tavoliere di legno ad asciugare e poi salata.

Il giorno successivo alla produzione viene praticata a mano la salatura a secco sull’intera superficie della forma. Tale operazione viene ripetuto per almeno due volte a distanza di circa 10 giorni l’una dall’altra e spalmando poi sulla forma tutti i liquidi espulsi dal formaggio.

Il particolare gusto di questo formaggio, dovuto allo zafferano, si apprezza maggiormente nei due diversi stadi di maturazione.

- *semistagionato*: formaggio da tavola a maturazione media compresa tra 45 e 90 giorni a seconda della grandezza della forma, presenta un gusto lievemente piccante e aroma tipico dello zafferano;
- *stagionato*: formaggio sia da tavola che da grattugia con una maturazione superiore ai 90 giorni.

4.3 IMPIEGHI FARMACOLOGICI

Ai nostri giorni sta aumentando l'interesse dell'effetto biologico dello zafferano e delle relative applicazioni mediche.

Solo gli stigmi del fiore e la parte superiore dello stilo sono utilizzati in medicina, anche se alti dosaggi (> 30 g) possono essere tossici e abortivi (Azafrán 2006). Allo zafferano sono attribuite varie proprietà medicinali. In piccole dosi, funge da stimolante delicato e in grandi dosi come afrodisiaco e narcotico. Da tempo immemorabile, lo zafferano è stato usato come medicina per trattare vari disturbi umani quali la tosse, la flatulenza, le coliche, l'insonnia, l'emorragia uterina cronica, l'amenorrea, il vaiolo, l'asma ed i disturbi cardiovascolari (Winterhalter, *et al.*, 2000; Basker, *et al.*, 1983; Kirtikar, *et al.*, 1933).

Inoltre, è usato per regolare i disturbi mestruali delle donne. Lo zafferano viene usato in caso di debolezza per il ringiovanimento. Quando viene applicato sulla fronte un impacco di zafferano, si dice che curi le emicranie. Alcuni suoi componenti hanno proprietà citotossiche, anticancerogene ed antitumorali (Abdullaev, *et al.*, 1999; Escribano, *et al.*, 1999). Lo zafferano è utilizzato nel trattamento delicato per alleviare casi di depressione ed epilessia (Akhondzadeh, *et al.*, 2005). Inoltre è stato testato nei disturbi gastrici (Al-Mofleh, *et al.* 2006), dei ratti ed usato come agente pro-memoria. (Saito, H. 2004). Lo zafferano è conosciuto per le sue proprietà anti-mutagene (prevenendo le mutazioni), immuno-modulanti e antiossidanti (Chang, *et al.*, 1964; Assimopoulou, *et al.*, 2005). Lo zafferano ha proprietà anticonvulsive (Zhang, *et al.*, 1994).

Nella medicina tradizionale cinese, lo zafferano è stato usato per le relative proprietà tranquillizzanti ed ematiche. Inoltre è stato usato nel trattamento dei disturbi mestruali, delle malattie dell'embolo e di altre malattie relative all'alta viscosità del sangue. Ha trovato le applicazioni nei disturbi nervosi: per acquietare le ansie, curare lo stato ipnotico e nel trattamento degli stessi disturbi del sistema nervoso centrale.

Il relativo valore medico è stato registrato in “YI-LIN-JI-YAO”, un libro medico cinese scritto durante la dinastia MING (sedicesimo secolo); fra gli effetti descritti vi era “la circolazione del sangue per rimuovere le impurità”. Nel libro

YINSHANZHENG YAO (l'importanza della dieta) dove sono contenute 136 ricette che includono lo zafferano per trattare una varietà di circostanze. Lo zafferano inoltre compare in parecchi manuali farmaceutici tradizionali cinesi. Inoltre è stato usato nella medicina tradizionale dell'Azerbaijan e dell'India per trattare varie malattie compreso cancro, malattie del cuore, malattie dell'occhio, malattie del sangue, paralisi del muscolo.

Alcuni trattati scientifici farmacologici rivelano l'importanza dello zafferano e dei relativi composti. Miwa (1954) ha segnalato un effetto inibitore sull'aumento di bilirubina nel sangue, Gainer e Joines (1975) hanno segnalato una diminuzione dei livelli di colesterolo e dei trigliceridi nel sangue indotta dalla crocina e dalla crocetina. Ci sono state parecchie indagini sugli effetti dello zafferano e dei relativi componenti sul sistema nervoso centrale che hanno portato alla scoperta di un'interazione apparente con etanolo. In uno studio, Zhang (1994) ha esaminato gli effetti dell'estratto di zafferano sui topi. Una singola somministrazione per via orale dell'estratto di zafferano ha ridotto il danno indotto dall'etanolo sulla memoria. L'estratto inoltre ha fatto diminuire l'attività motoria ed ha prolungato il tempo di sonno indotto da hexobarbital. L'autore ha suggerito quattro possibili meccanismi:

- 1) lo zafferano facilita la disintossicazione di alcool facendo diminuire il relativo assorbimento del tratto gastrointestinale;
- 2) lo zafferano accelera l'eliminazione dell'alcool dal cervello promuovendo il relativo metabolismo del fegato;
- 3) promuove la circolazione del sangue;
- 4) si contrappone all'effetto farmacologico di etanolo nel sistema nervoso centrale.

In un secondo studio, fatto su topi anestetizzati è stato osservato che l'effetto dell'estratto dello zafferano a lungo termine aumenta lo stimolo di una parte del cervello (Sugiura 1995). Quindi lo zafferano è stato un'antagonista a lunga azione dell'etanolo, bloccando, alle dosi contrapposte a quelle che alterano la memoria, l'effetto dell'etanolo. Gli autori hanno concluso che i loro risultati forniscono la prova diretta dell'azione di contrapposizione specifica dell'estratto di zafferano contro etanolo, anche se non hanno chiarito il meccanismo di fondo di questo effetto.

Numerosi studi sono stati fatti sui componenti dello zafferano, questi hanno indicato che un residuo, in particolare, la crocina, è un'antagonista dell'etanolo e quindi potrebbe essere il più attivo responsabile di questa attività (Morimoto 1994).

Lo zafferano e i suoi costituenti sono capaci di aumentare la tonicità uterina agendo come regolarizzatore del flusso uterino, ad alte dosi, provoca emorragia uterina e quindi aborto. Altri studi hanno per contro dimostrato, che lo zafferano ha proprietà rilassanti per l'utero, infatti, questo è utilizzato nella dismenorrea e nella sindrome premestruale (Leclerc, 1983). Studi sperimentali di vari estratti di zafferano hanno dimostrato azioni stimolanti su uteri gravidi e non gravidi nei maiali di guinea, conigli e cani. Il meccanismo di questi effetti appare essere sia miogenico e neurogenico (Chang et al., 1964, Tang e Eisembrand, 1992).

L'estratto dello zafferano inoltre è stato indicato per possedere attività antitumorale (cioè un effetto inibitore sull'induzione del cancro dagli agenti cancerogeni). Il primo rapporto dell'effetto antitumorale dell'estratto dello zafferano è stato pubblicato nel 1991. Questo studio ha indicato che nei topi, la somministrazione per via orale dell'estratto dello zafferano induce una inibizione dello sviluppo intraperitoneali del tumore di ascite nei topi derivati dal sarcoma - 180 (s-180) , ascite carcinoma di Erlich (EAC) e ascite da linfoma del Dalton (DLA). Topi ammalati di tumore che avevano ricevuto 200 mg di estratto per kg di peso corporeo hanno avuto un'aspettativa di vita più lunga di 2 o 3 volte rispetto ad animali non trattati.

In uno studio successivo Nair, (1994) ha scoperto che la somministrazione per via orale dell'estratto dello zafferano nei topi inibisce significativamente lo sviluppo dei tumori solidi derivati dalle cellule DLA e s-180, ma non ha nessuno effetto sulle cellule del tumore di EAC. Inoltre ha osservato un aumento dei livelli di β -carotene e di vitamina A nel siero degli animali che hanno ricevuto lo zafferano, suggerendo questo come un possibile meccanismo antitumorale.

Interessante, quando il liposoma-incapsulato estratto dallo zafferano era iniettato nei topi, è stato osservato l'aumento dell'effetto antitumorale di questo estratto verso parecchie cellule solide, compreso le cellule del tumore di EAC, che erano insensibili alla somministrazione orale dell'estratto. Questo aumento

dell'attività antitumorale potrebbe essere dovuta alla consegna diretta della droga o all'aumento della solubilità. Di interesse particolare sono gli studi fatti sull'estratto di zafferano insieme agli agenti chemio terapeutici standard per far diminuire la loro tossicità.

Nair (1991) ha dimostrato che il trattamento con l'estratto di zafferano prolunga la vita dei topi rispetto a quelli trattati solo con cisplatino noto antitumorale. Inoltre l'estratto ha impedito la diminuzione del peso corporeo, dell'emoglobina e dei leucociti causato da cisplatino.

Similmente, Salomi (1991) ha segnalato che l'estratto dello zafferano aumenta la durata di vita dei topi trattati con la dose mortale di ciclofosfamide.

Recentemente, è stato segnalato (Garcia-Olmo et al., 1999) che la crocina, aumenta il tempo di sopravvivenza e diminuisce lo sviluppo del tumore (adenocarcinoma del colon) nei topi femminili senza alcun effetto significativo negli animali maschili. Gli autori hanno suggerito che l'azione antitumorale selettiva della crocina nei topi femminili è collegata a fattori ormonali. I carotenoidi sono bene tollerati, ad alti dosaggi, ma l'insolubilità all'acqua rendono difficoltosa la loro somministrazione, e danneggia il loro uso terapeutico.

Comunque, a causa della sua alta glicosilazione la crocina è un inusuale carotenoide solubile all'acqua. La crocetina, carotenoide (8,8' - diapo-8,8' - acido carotenoico) presente nello zafferano e caratterizzata da una struttura diterpenica e simmetrica con sette legami doppi e quattro gruppi metilici.

È stato trovato che questo composto aumenta la diffusività dell'ossigeno attraverso i liquidi, quale il plasma. In conseguenza di questa proprietà, è stato osservato che la crocetina aumenta il trasporto alveolare dell'ossigeno e fa crescere l'ossigenazione polmonare. Migliora l'ossigenazione in ratti con emorragia cerebrale e agisce positivamente nel trattamento di artrite e di aterosclerosi.

Inibisce la comparsa del tumore della pelle nei topi (cioè, con benzoapirene); ha un effetto inibitorio sull'acido nucleico intracellulare e sulla sintesi della proteina nelle cellule maligne, così come sulla proteina-chinasi-c e il protooncogene nelle cellule INNIH13T3. Ciò è molto probabilmente dovuto alla sua attività antiossidante.

Il trattamento a lungo termine con crocina non ha dato risultati deleteri nelle alterazioni metaboliche dei topi. L'unico potenziale effetto nocivo scoperto fu una lieve diminuzione dei livelli di glucosio nel siero, in accordo con i risultati di el Daly (1998), il quale osservò una grande diminuzione di glucosio nel sangue dei topi trattati con estratto di zafferano e cisplatino, rispetto ai topi trattati solo con cisplatino.

Il meccanismo di questa alterazione rimane sconosciuta, si pensa potrebbe essere dovuta a un aumento dei livelli di insulina a seguito di una disfunzione del pancreas.

In altri studi (Chang , Lin et al., 1996), la crocetina alle dosi non tossiche ha inibito l'effetto genotossico e la trasformazione neoplastica in cellule C3H10T1/2 indotte da benzo(a)pirene (BP).

Abdullaev (1994) ha studiato l'effetto della crocetina su tre linee di cellule maligne umane (Hela, A549 e VA13). L'incubazione di queste cellule con la crocetina per 3 ore ha causato una inibizione della sintesi delle proteine. La crocina inoltre ha avuto un effetto inibitore sulla sintesi del RNA e del DNA e soppresso l'attività della polimerasi purificata II del RNA.

Inoltre, la crocetina protegge dai danni ossidativi negli epatociti primari del ratto. Arresta anche le lesioni epatotossiche indotte dall'aflatossina B1 ed ha un effetto modulatore su aflatossina, citotossicità B1 e sulla formazione dell'addotto del DNA nelle cellule del fibroblasto C3H10/T1/12. Ha, anche, un effetto protettivo sulla tossicità della vescica, indotta da ciclofosfoammide.

Gli esperimenti riportati dalla letteratura scientifica e gli interessanti risultati ottenuti sono stati effettuati in vitro o su animali da laboratorio, ma non ancora sull'uomo.

Quindi, gli studi in vivo hanno indicato che l'estratto di zafferano ed i relativi costituenti purificati hanno aumentato significativamente la durata di vita degli animali con differenti tipi di tumore, ma il meccanismo dell'effetto anticarcinoma dello zafferano non è stato chiarito.

Studi in vitro hanno dimostrato un effetto citotossico dell'estratto di zafferano sulle cellule tumorali.

Usando il trypan-blu come tintura per la verifica del test, LD50 estratto dallo zafferano è stato trovato variare da 7µg /ml a 30µg/ml, dipendendo dal tipo

di cellula tumorale mentre non aveva avuto effetto significativo sulle cellule normali della milza dei topi.

Inoltre, utilizzando il metodo di formazione delle colonie come misura di attuabilità delle cellule, ha indicato che il pretrattamento di differenti tipi di cellule tumorali con l'estratto di zafferano provoca una diminuzione della formazione delle colonie, senza avere effetto sulle cellule normali (Salomi 1990, Nair 1991, 1994).

L'esposizione delle cellule tumorali all'estratto di zafferano provoca l'inibizione della sintesi degli acidi nucleici (Abdullaev e Frenkel, 1992).

Lo zafferano è stato indicato per stimolare o sostenere la proliferazione dei linfociti maturi e non.

È stato pure osservato che lo zafferano ha aumentato i livelli intracellulare di glutazione e gli enzimi relativi, questo ha suggerito una possibile attività antiossidante dello zafferano.

Gli stigmi, gli stami ed i sepali di *Crocus sativus* L, di due aree geografiche differenti, sono stati analizzati per il loro contenuto di flavonolo e crocina. L'identificazione delle crocine, del safranal, delle picrocrocine e dei flavonoli è stata effettuata dall'analisi HPLC/MS e HPLC/DAD. Entrambi i campioni di stigmi, sviluppatasi in ambienti naturali, hanno mostrato elevati contenuti di crocina (fra 342 e 231 mg/g), mentre gli stami ed i sepali erano ricchi di flavonoidi (fra 6 e 10 mg/g). Gli stami contengono principalmente il kaempferol-3-O-sophoroside, mentre i sepali contengono principalmente i glicosidi della metilico-quercetina e della quercetina. Questi dati possono servire a trovare una possibile utilizzazione dei sottoprodotti della produzione di zafferano, nei quali sono disponibili grandi quantità di fiori di *C sativus*.

Dall'estratto metanolico dei petali di *Crocus sativus* sono stati isolati ed identificati nove flavonoidi noti, compreso i derivati glicosidici di quercetina e di kaempferol come componenti maggiori (1-2) ed i loro derivati metossilati ed acetilati. Inoltre, sono stati effettuati studi qualitativi LC-ESI-MS e quantitativi LC-ESI-MS/MS dei componenti principali dell'estratto metanolico. Il contenuto elevato di flavonoidi glicosilati potrebbe valorizzare i petali di *C. sativus*, che sono un'ampia parte della produzione della spezie di zafferano.

È stato indicato che l'estratto dello zafferano e la relativa crocina, safranale, picrocrocina, e β -carotene purificati dai residui hanno inibito lo sviluppo di differenti tipi di cellule tumorali (Abdullaev e Gonzales 1997).

In uno studio recente Abdullaev e Gonzales (1995/1996) hanno segnalato che il trattamento delle cellule tumorali con estratto di zafferano in combinazione con gli agenti antitumorali come il selenio ha causato un'inibizione più efficace sulla formazione delle colonie e sulla sintesi dell'acido nucleico.

Morjani et al.,(1990), hanno descritto l'effetto della crocina, dei carotenoidi e dei relativi derivati dimethylcrocin sulle cellule tumorali K562. L'incubazione con questi composti per tre giorni determina una significativa inibizione dello sviluppo e della differenziazione delle cellule tumorali.

Tarantilis et al.,(1994) hanno studiato la potenza di una varietà di carotenoidi naturali e semi-sintetici, rispetto all'acido retinoico. Fu osservato che questi residui erano altamente efficaci nell'inibizione della proliferazione e della differenziazione delle cellule di HL-60 Leukemic. Gli autori hanno suggerito che anche se i carotenoidi erano meno efficaci rispetto all'acido retinoico, risultavano essere anche meno tossici e quindi potevano risultare utili nella chemio prevenzione del cancro.

Escribano et al. (1999) hanno segnalato che un glicoconjugato isolato dalle radici e dal callo dello zafferano possiede attività citotossiche contro differenti cellule tumorali. Questi autori hanno dimostrato che il glicoconjugato estratto dalle radici dello zafferano possedeva un'attività citotossica sulle cellule umane del tumore derivate dal fibrosarcoma, dal carcinoma cervicale dell'epitelio e dal carcinoma del seno. Questo composto era circa otto volte più citotossico per le cellule maligne e in queste cellule ha causato danni alla membrana plasmatica.

Studi di laboratorio hanno dimostrato che lo zafferano e i relativi costituenti non presentavano alcuna tossicità, non erano mutagenici e neanche antimutagenetici (Abdullaev et al., 2000).

Quindi lo zafferano e i relativi costituenti sono indicati come agenti anticancro alternativi, da soli o coniugate ad alte sostanze sintetiche, sia per la prevenzione che per il trattamento.

4.3.1 GLI EFFETTI ANTI TUMORALI DELLO ZAFFERANO.

Differenti ipotesi sono state proposte per spiegare gli effetti anti carcinogenici e antitumorali dello zafferano e dei suoi costituenti.

Uno dei meccanismi proposti è l'effetto inibitore sulla sintesi del DNA e del RNA cellulare (Nair 1995, Abdulaev 1996).

Di interesse particolare è l'osservazione che l'estratto di zafferano ha inibito la sintesi del RNA e del DNA in cellule umane maligne (indipendentemente se si trasformavano in cellule tumorali o in cellule normali in vitro), mentre non ha avuto alcun effetto inibitore rilevabile sulla sintesi delle cellule umane non maligne.

Un secondo meccanismo di azione antitumorale dello zafferano e dei suoi costituenti legato all'inibizione è l'effetto inibitore su reazione a catena dei radicali liberi, perché la maggior parte dei carotenoidi sono liposolubili e si comporterebbero come animali saprofagi di radicali liberi, connesso all'attività antiossidante (Nair 1995, Abdulaev 1999, Molnar 2000, Palozza 1992).

Un terzo effetto ipotizzato è la conversione naturale da carotenoidi a retinoidi (Tarantilis *et al.*, 1994, Dufresne *et al.*, 1991), anche se recentemente, è stato riportato che la conversione dei carotenoidi a vitamina A non è un requisito indispensabile per l'attività anticancro (Smith, 1998).

Un quarto meccanismo di azione riguarda l'effetto citotossico connesso con l'interazione dei carotenoidi con topoisomerasi II, un enzima preposto alla replica cellulare del DNA (Morjani 1993, Nair, 1996, Smith, 1998). Questa idea è sostenuta dalla localizzazione nucleare di alcuni carotenoidi (Manfait 1991), come pure dal loro effetto inibitore sulla sintesi cellulare del DNA.

Si riteneva anche che lo zafferano contenesse lecitina (Escribano 2000, Oda e Tatsumi 1993) ed è probabile che l'attività antitumorale dello zafferano è mediata dalla lecitina.

La letteratura contiene rapporti anche sull'estratto di zafferano e/o dei suoi componenti che inibivano l'attività di diversi enzimi cellulari, e si pensò che l'effetto antitumorale di questi agenti fosse associato all'effetto sulle funzioni enzimatiche (Abdulaev 1997, Nair 1991).

Trattamenti di cellule tumorali con zafferano determinavano un aumento dei livelli intracellulari dei composti sulfidrinici (Abdulaev *et al.*, 1995/1996) e questo potrebbe essere un chiarimento per capire la citotossicità dello zafferano.

Un altro meccanismo suggerito è che l'effetto citotossico dei carotenoidi dello zafferano è mediato dall'apoptosi che consiste in una morte cellulare programmata (Morjani *et al.*, 1990).

Interessanti studi (Nair 1992, Selim *et al.*, 2000) hanno indicato che l'incapsulamento in matrici amorfe di polimeri estratti da zafferano o da carotenoidi dello zafferano migliorano la loro stabilità e i loro effetti antitumorali.

Più recentemente, fu mostrato che le radiazioni- γ non hanno prodotto cambiamenti significativi sulla qualità degli oli volatili dello zafferano, ma ha prodotto un calo glicosidico e un aumento aglicolico nel carotene dello zafferano (Zareena *et al.*, 2001).

Questa stabilità relativa dello zafferano ad irradiazioni dovrebbe essere considerata anche per spiegare la chemio-prevenzione potenziale di questa spezia.

5. INQUADRAMENTO BOTANICO E DESCRIZIONE



La pianta dello zafferano appartiene al genere *Crocus*, specie *Crocus sativus* L. E' una pianta erbacea, perenne con un'altezza da 10 a 25 cm che si sviluppa a partire dai cormi, formazioni bulbo-tuberose comunemente dette bulbi. Il bulbo dello zafferano è un gambo sotterraneo schiacciato alla base (corto e grosso), simile al bulbo della cipolla, costituito da una massa compatta di amido che assomiglia a foglie squamose coperte da una guaina strettamente reticolare chiamata tunica (fig. 3). Il bulbo dello zafferano è identico a quello del gladiolo. La forma del bulbo varia dal piatto all'ovoidale o al sub-sferico. Esteriormente dà l'idea di una riserva di materiale nutritivo (Srivastava, 1963). Ogni bulbo appena formato ha 1 o 2 germogli apicali (dai quali vengono prodotte foglie, asse floreale e da 1 o 2 bulbi figli nuovi) e 4-7 germogli secondari, disposti irregolarmente in forma a spirale nella parte più bassa. I germogli secondari

producono un asse caulinare e un ciuffo di foglie che ricavano le sostanze nutritive attraverso la fotosintesi e si sviluppano.

Le radici sono avventizie e crescono a partire dalla parte inferiore del bulbo (Srivastava, 1963). Le radici sono fini, numerose e di lunghezza variabile (5-10 cm). I bulbi dello zafferano producono tre tipi di radici cioè, radici assorbenti (fibrose), radici contrattili, radici contrattili-assorbenti che sono differenti per struttura e funzione (Negbi, 1990). Le radici fibrose provengono da un singolo anello alla base del bulbo. Queste radici sono dritte e sottili (spesse circa 1 millimetro), assorbono l'acqua e le sostanze nutritive. Le radici contrattili hanno l'apparenza di un tubero, molto grande e biancastro, che all'inizio veniva chiamato contagocce (fig. 4). L'attività di trazione e spinta delle radici contrattili permette al bulbo di entrare dentro il terreno, di modo che il bulbo si trovi a una profondità e posizione ottimali nel terreno (Chio Sang, *et.al.*, 1996). I residui fenolici, in particolare l'acido p-cumarico, hanno un'effetto positivo sulla loro formazione, sviluppo e contrazione (Khalesi, *et.al.*, 2004). Gli altri tipi di radici sono radici assorbenti contrattili, che sono più sottili e più lunghe di quelle contrattili e si sviluppano sul bulbo vicino ai germogli che ospitano le radici contrattili. Queste radici compaiono dopo quelle contrattili (Greenberg *et.al.*, 1991).

Le foglie dello zafferano sono radicali, lunghe, simili ad erba sottile, scanalate, con i margini curvi e sfrangiati; sono di colore verde grigio con una tonalità bianca sulla superficie inferiore e hanno una foglia più bassa circondata da guaine di sottile tessuto traslucido e biancastro (Srivastava, 1963). Le foglie di zafferano raggiungono una lunghezza di 50 cm; sono molto strette tra 1,5 e 2,5 mm, (fig. 4). La comparsa delle foglie coincide o si presenta subito dopo la fioritura. Ogni bulbo produce 6-15 foglie (Fernandez, 2004).

La forma dei fiori è eretta e regolare. Ogni bulbo produce 1-3 fiori che hanno insieme tre sepal viola e tre petali simili (fig. 5). Il pistillo è centrale con un ovario tubolare che ha uno stilo sottile. Lo stilo parte dall'apice dell'ovario sotterraneo attraversando il tubo del perigonio e termina in un unico stilo formato da tre filamenti di colore rosso vivo, denominati stigmi. Ci sono da uno a tre fiori per gambo e fino a 12 gambi per pianta. Il fiore solitamente compare in autunno (Settembre-Novembre) insieme alle foglie ed è contrassegnato dal suo grande

perianzio, che ha la forma di un tubo e di un piccolo imbuto. Il lembo del perianzio è sotto lobato egualmente 6 volte in due serie. I sei segmenti sono quasi uguali nella forma e nella grandezza, benché quelli interni siano costantemente un po' più corti di quelli esterni e siano concavi, stretti ed oblunghi. La gola del tubo è barbata. Nei bulbi formati alla base del germoglio non in fiore, la formazione del fiore è limitata solitamente al germoglio apicale e dominante. In quei bulbi formati alla base dei germogli in fiore, la formazione del fiore può avvenire in due o tre dei germogli più vicini all'apice (Molina, *et.al.*, 2004).

L'androceo è costituito da tre stami che sono attaccati alla base dei segmenti esterni, cioè, sulla gola del perianzio (fig. 5). I filamenti sono corti e liberi e le antere sono di colore giallo, lunghe e fissate alla base (Khan, 1996).

Il gineceo comprende l'ovario, lo stilo e lo stigma (Khan, 1996). Lo stilo è simile a un filo e si ramifica in tre rami, cioè, gli stigmi, che sono estesi e sporgono dal perianzio; sono tubolari, dal caratteristico colore rossastro o rosso arancio e rigonfi in basso (Fernandez, 2004). Gli stigmi costituiscono lo zafferano commerciale e la lunghezza varia da 2.0 a 3.2 cm formando un tubo più stretto alla base, in cui si unisce allo stilo ma si estende verso l'estremità superiore, dove vi è una fessura sul lato interno (fig. 5). Uno stigma di zafferano pesa circa 2 mg, ogni fiore ha tre stigmi e per produrre 1 kg di stimmi servono 150.000 fiori (Fernandez, 2004). L'ovario è a tre celle, a forma di uovo e nascosto fra le basi delle foglie. La capsula è fusiforme ed i semi sono rotondi.

Lo zafferano è una specie triploide ($x = 8$; $2n = 3x = 24$) (Mathew, 1977; Ghaffari, 1986) sterile che si riproduce solo per via vegetativa (Grilli Caiola, 2005).

La sua sterilità dipende da una meiosi triploide irregolare, derivata da molte anomalie nello sviluppo sporogenico e gametofitico (Chichiriccò, 1999; Grilli Caiola, 2004) ed anche in una produzione eccessiva di polline. In effetti, nella maturità, circa il 70% degli ovuli del *Crocus sativus* contengono una normale sacca poligonale (Battaglia, 1963; Chichiriccò, 1984; Grilli Caiola, e Chichiriccò, 1991), mentre è stata scoperta un'alta incidenza di bassa vitabilità e germinazione del polline dovute alle anomalie meiotiche (Chichiriccò, e Grilli Caiola, 1984; Grilli Caiola, 2004). Per queste ragioni lo zafferano presenta impollinazione autosterile. Nel passato i semi in campo sono stati riportati solo

una volta (Piccioli, 1932), mentre l'impollinazione incrociata in vitro dell'ovaio del *Crocus sativus* con polline del *Crocus cartwrightianus* (Grilli Caiola, 1999, 2005) e *Crocus thomasii* Ten. (un'auto incompatibile ma specie fertile incrociato) (Chichiriccò, 1999), risultò nella produzione delle capsule e semi vitali. Anche il *Crocus hadriaticus* è capace di fertilizzare il *Crocus sativus* (Grilli Caiola, *et al.*, 2001). Al contrario l'impollinazione di altre specie di *Crocus* con polline di *Crocus sativus* non risultò nella produzione di nessun seme (Grilli Caiola, 2005). Anche se le Angiosperme possono anche produrre embrioni apodittici, questo non è mai avvenuto nello zafferano (Chichiriccò, 1996; Grilli Caiola, 2005). L'origine genetica del *Crocus sativus* non è chiara: potrebbe avere origine da un'autotriploide di un *Crocus* spontaneo probabilmente da una fertilizzazione di una cellula uovo diploide che non si è ridotta, con una cellula sperma aploide oppure con una cellula uovo aploide con due spermatozoi aploidi (Chichiriccò, 1984e Grilli Caiola, 2004, 2005), oppure con un allo poliploide attraverso l'ibridazione del *Crocus cartwrightianus* e *Crocus hadriaticus* (Castillo *et al.*, 2005). Le informazioni sugli antenati dello zafferano non sono univoche: Bighton (1977) in uno studio citogenetico suggerisce che gli antenati possibili del *Crocus sativus* sono il *Crocus cartwrightianus* o il *Crocus thomasii*. Recenti analisi APFLP (Amplifier Fragment Length Polymorphisms) confermano che quantità e qualità dei tratti dei loro DNA sono compatibili con il *Crocus sativus* (Zubor *et al.*, 2004). Tra questi alcuni autori indicano il *Crocus cartwrightianus* come il probabile antenato (Mathew, 1999; Brandizzi e Grilli Caiola, 1998; Grilli Caiola, *et al.*, 2004). Inoltre la fioritura del *Crocus cartwrightianus* è simile al *Crocus sativus*.

Bighton (1977) afferma che lo zafferano possiede equamente tratti biologici stabili ed omogenei in tutto il mondo e differisce soltanto nelle caratteristiche morfologiche e biochimiche minori come in alcune caratteristiche morfometriche (Tammaro, 1990). Questa osservazione è stata confermata da un recente studio del DNA dello zafferano in 5 posti diversi (Europa e Israele) con il metodo RAPD (Random Amplifier Polymorphic DNA) che non ha identificato nessuna differenza genomica (Grilli Caiola, *et al.*, 2004) tuttavia i campioni delle differenti regioni mostrano chiaramente delle differenze morfologiche.

Lo zafferano, un membro della famiglia delle *Iridaceae*. Circa 85 specie di *Crocus* sono diffuse nel mondo ma soltanto il *C. sativus* ha ricevuto una certa attenzione ed è coltivato in parecchi paesi. Lo zafferano è una pianta a bassa crescita con un bulbo globulare sotterraneo. La pianta è considerata possedere isterantia (Dhar, 1991), poiché i fiori sorgono direttamente dai bulbi (gambo).

Il genere *Crocus* appartiene al phylum delle Angiosperme, classe Monocotiledoni, ordine Asparagales, famiglia Iridaceae.

➤ Famiglia delle Iridaceae

Sono piante erbacee perenni dotate di rizomi, bulbi o bulbo-tuberi, con fusti semplici o ramificati, le foglie sono lineari o appuntite all'estremità, inguainanti, a margine intero, parallelinervie, fiori vistosi, avvolti da giovani in una spatula con 2 o più brattee, con perigonio a 6 tepali saldati nella parte inferiore o formanti un tubo più o meno lungo allargato nella parte terminale, ovario costituito da tre logge contenenti molti ovuli, a volte sono solitari (ad es. *Crocus*) o più frequentemente raccolti in infiorescenze terminali, a forma di spighe, racemi, o cime, frutti a capsula con molti semi solitamente di forma allungata.

➤ Genere *Crocus*

Al genere *Crocus* appartengono circa 80 specie (Tutin *et al.*, 1980). La maggior parte della specie del genere *Crocus* sono distribuite nell'area del mediterraneo, poche sono diffuse sino all'Europa centrale ed Asia centrale.

Questo genere mostra estrema variabilità citologica, con una serie quasi continua di numeri cromosomici da $2n = 6$ a $2n = 30$ e più, frequenti cromosomi B, aneuploidia e serie poliploidi; probabilmente in relazione a ciò sta la frequente segregazione di specie locali, forse ancora incompletamente analizzate nel territorio italiano (Pignatti, 1982).

Il genere *Crocus* presenta molte specie (Tab.2) che differiscono dal *C. sativus* o per il colore dei fiori, o per la lunghezza degli stigmi rispetto agli stami: solitamente sono piante ornamentali, il cui impiego è di scarso interesse economico, talvolta impiegate nella sofisticazione dello zafferano commerciale.

Tab. 2. Specie primaverili e autunnali del genere *Crocus*

Specie primaverili	Specie autunnali
- <i>C. imperati</i>	- <i>C. thomasii</i>
- <i>C. suaveolens</i>	- <i>C. medium</i>
- <i>C. versicolor</i>	- <i>C. longiflorus</i>
- <i>C. minimum</i>	- <i>C. reticulatus</i>
- <i>C. corsicus</i>	- <i>C. biflorus</i>
- <i>C. albiflorus</i>	- <i>C. weldeni</i>
- <i>C. napolitanus</i>	
- <i>C. etruscus</i>	

5.1. I CROCUS IN EUROPA

In Europa vi è una grande variabilità di specie di *Crocus* riportate in letteratura. In questo paragrafo ci limiteremo ad elencare tali specie ed indicarne lo stato in cui è stata accertata la loro presenza, riservandoci la descrizione dell'habitus, delle regioni di ritrovamento e dei caratteri botanici delle specie di *Crocus* presenti in Italia ad un altro capitolo.

Le varie specie di *Crocus* riportate in Flora Europaea vol. 5 (Tutin *et al.*, 1980), con i paesi in cui è stata accertata la loro presenza, sono qui di seguito riportate:

<i>Crocus angustifolius</i> Weston	Russia (Crimea)
<i>Crocus banaticus</i> Gay	Jugoslavia, Romania, Russia (sud-ovest)
<i>Crocus biflorus</i> Miller	Bulgaria, Italia, Grecia, Jugoslavia, Russia, divisioni sud-ovest, Crimea), Sicilia, Turchia
<i>Crocus boryi</i> Gay	Creta, Grecia
<i>Crocus cambessedesii</i> Gay	Isola Baleares
<i>Crocus cancellatus</i> Herbert	Grecia, Jugoslavia
<i>Crocus carpetanus</i> Boiss. & Reuter	Spagna, Portogallo
<i>Crocus cartwrightianu</i> Herbert	Creta, Grecia
<i>Crocus chrysanthus</i> (Herbert) Herbert	Albania, Bulgaria, Grecia, Jugoslavia, Romania, Turchia[Czechoslovakia]

<i>Crocus corsicus</i> Vanucci ex Maw	Corsica, Sardegna
<i>Crocus crewei</i> Hooker fil	Grecia
<i>Crocus cvijicii</i> Kosanin	Albania Grecia Jugoslavia
<i>Crocus dalmaticus</i> Vis.	Albania, Jugoslavia
<i>Crocus etruscus</i> Parl.	Italia
<i>Crocus flavus</i> Weston	Bulgaria, Grecia, Jugoslavia, Romania Russia (Crimea), Turchia
<i>Crocus goulimyi</i> Turril	
<i>Crocus hadriaticus</i> Herbert	Grecia
<i>Crocus imperati</i> Ten.	Italia
<i>Crocus imperati</i> Ten. subsp. <i>imperati</i>	
<i>Crocus imperati</i> Ten. subsp. <i>Suaveolens</i> Bertol.	
<i>Crocus Kosaninii</i> Pulevic'	Jugoslavia
<i>Crocus laevigatus</i> Bory & chaub.in Bory	Creta, Grecia
<i>Crocus longiflorus</i> Rafin.	Italia, Sicilia
<i>Crocus malyi</i> Vis.	
<i>Crocus medius</i> Balbis	Jugoslavia Francia Italia
<i>Crocus minimus</i> DC.	Corsica Sardegna
<i>Crocus montenegrius</i> A. Kerner ex Maw	
<i>Crocus nevadensis</i> Amo	Spagna (nord Africa)
<i>Crocus niveus</i> Bowles	
<i>Crocus nudiflorus</i> Sm. in Sowerby	Grecia Francia, Spagna [Inghilterra]
<i>Crocus olivieri</i> Gay	Albania, Bulgaria, Creta, Grecia, Jugoslavia, Turchia
<i>Crocus pallasii</i> Goldb.	Bulgaria, Romania, Russia (Crimea), Turchia
<i>Crocus pelistericus</i> Pulevic	Jugoslavia
<i>Crocus pulchellus</i> Herbert	Bulgaria, Grecia Jugoslavia, Turchia
<i>Crocus reticulatus</i> Steven ex Adams in Weber fil. & Mohr	Bulgaria, Ungaria, Italia, Jugoslavia, Romania, Russia (Divisioni centrale, Sud-ovest, Crimea, Sud-est)
<i>Crocus robertianus</i> C.D. Brickell	Grecia
<i>Crocus sativus</i> L.	
<i>Crocus scardicus</i> Kosanin	Jugoslavia
<i>Crocus serotinus</i> Salisb.	
<i>Crocus serotinus</i> Salisb. subsp. <i>clusii</i>	Spagna, Portogallo
<i>Crocus serotinus</i> Salisb. subsp. <i>salzmannii</i>	
Albania, Creta, Grecia, Jugoslavia	Albania, Creta, Grecia, Jugoslavia
<i>Crocus speciosus</i> Bieb.	Russia (Crimea)? Turchia
<i>Crocus thomasi</i> Ten.	Italia, Jugoslavia

<i>Crocus tommasinianu</i> Herbert s	Bulgaria, Ungaria, Jugoslavia[Inghilterra, Olanda]
<i>Crocus tournefortii</i> Gay	Creta Grecia
<i>Crocus veluchensis</i> Herbert	Albania, Bulgaria, Grecia, Jugoslavia
<i>Crocus vernus</i> (L.) Hill	Albania, Austria, Czechoslovakia, Francia, Germania, Svizzera, Spagna, Ungaria, Italia, Jugoslavia, Polonia, Romania, Russia (divisione di sud- ovest) Sicilia [Inghilterra]
<i>Crocus vernus</i> (L.) Hill subsp. <i>vernus</i>	
<i>Crocus vernus</i> (L.) Hill subsp. <i>albiflorus</i>	
<i>Crocus versicolor</i> Ker- Gawler	Francia, Italia

5.2 I CROCUS IN ITALIA

Il genere *Crocus* sul territorio italiano è stato documentato nel tempo da Autori diversi; nelle varie ricerche della documentazione più attendibile, l'attenzione si è soffermata soprattutto ad alcuni autori di notevole fama, che hanno pubblicato i loro lavori in un arco di tempo di 165 anni, essi sono: Joanne Gussone (1842), Adriano Fiori (1929) Pietro Zàngheri (1976), Sandro Pignatti (1982). Per avere una documentazione più aggiornata riguardo alle specie di *Crocus* presenti in Italia, si è fatto riferimento alla checklist di Conti et al (2005) in cui si riportano le specie e la distribuzione regionale dei *Crocus* in Italia e, relativamente alla Sicilia, alla checklist di Giardina *et al.*, (2007).

In questo capitolo, vengono elencate le 15 specie di *Crocus* presenti in Italia riportate nella checklist di Conti *et al.* (2005), e per ciascuna si fornisce la descrizione dell'habitus della pianta. Le specie di *Crocus* presenti in Italia sono:

- *Crocus biflorus* Miller: Zafferano selvatico – Geofita bulbosa-Pianta perenne, 12-20 cm; perigonio con fauce gialla e lacinie violacee, spesso più o meno ingiallite, generalmente con 3-5 vene longitudinali più scure; stami con filamenti pelosi; stimmi rosso-aranciati, generalmente lobati;

Periodo di fioritura: dicembre–aprile

Habitat: pascoli aridi, prati. (0-1200 m.).

Distribuzione in Italia: Piemonte, Lombardia, Trentino Alto Adige, Veneto, Liguria, Emilia Romagna, Toscana, Marche, Umbria, Lazio, Abruzzo, Molise, Campania, Puglia, Basilicata, Calabria, Sicilia.

- *Crocus corsicus* Vanucci ex Maw: Zafferano di Corsica – Geofita bulbosa – Pianta perenne, 12-18 cm; foglie larghe 0,5-1 mm, alla fioritura generalmente assai più brevi dei fiori; perigonio violaceo con lacinie esterne acute, con 3 vene più scure, fauce del perigonio glabra; filamenti più brevi delle antere.

Periodo di fioritura: febbraio–aprile

Habitat: Pendii aridi, pascoli pietrosi. (600-2600 m.).

Distribuzione in Italia: registrato nel passato in modo errato, in Sardegna.

- *Crocus etruscus* Parl.: Zafferano di Toscana – Geofita bulbosa – Pianta perenne, 15-30 cm; bulbo con fibre più grosse; foglie alla fioritura lunghe 1,3-1,5 volte il fiore; lacinie perigonali esterne di 7-9 X 33-37 mm, violacee con tre vene longitudinali più scure.

Periodo di fioritura: marzo–aprile

Habitat: Macchie, leccete, castagneti. (100-1000 m.).

Distribuzione in Italia: Emilia Romagna, Toscana.

- *Crocus imperati* Ten.: Zafferano d'Imperato- – Geofita bulbosa – Pianta perenne, 8-15 cm; Bulbo piriforme (1,5-2 cm), scuro, avvolto da fibre sottili (0,1mm o meno), sfilacciate e non reticolate. Foglie inferiori (2-3) ridotte alla guaina, le altre (3-5) lineari, larghe 1-1,2 mm e lunghe almeno 1,3-1,5 volte i fiori, lamina percorsa da una linea bianca. Fiore 1(2-3), inodori; spathe 2, strette, membranose; perigonio con tubo di 6-8 cm, fauce gialla, lacinie violacee, ellittiche (5-7 X 16-20 mm); antere (9mm) lunghe il doppio dei filamenti; stimma rosso aranciato, allargato ad imbuto, papilloso, lungo circa quanto gli stami.

Periodo di fioritura: gennaio–marzo

Habitat: Pascoli aridi, boscaglie, macchie (0-1400 m.).

Distribuzione in Italia: Abruzzo, Campania; è dubbia la presenza in Umbria, Lazio, Basilicata, Calabria.

- *Crocus ligusticus* Mariotti: Zafferano ligure – Geofita bulbosa – Pianta perenne, bulbo-tubero subsferico, leggermente schiacciato ai poli, di diametro

compreso tra i 15 e i 25 mm, avvolto da tuniche dissolte in fibre di colore bruno-ferrugineo, sottili e non reticolate; fiore solitario, avvolto da una sola spata imbutiforme, membranacea, di colore bianco, sfumato di verde; perigonio di colore violetto chiaro, fauce perigoniale viola molto pallido, con numerose sottili striature longitudinali di colore violaceo più scuro, tubo perigoniale lungo 12-30 cm, di colore bianco, lacinie con contorno ovato-lanceolato, le interne più brevi e strette delle esterne (12-20 X 30 40 mm contro 15-25 X 40-45), stimma sfrangiato, rosso scarlatta, lungo 1,5 volte gli stami, antere lunghe circa il doppio dei filamenti con polline giallo-aranciato, fiori del tutto inodori; foglie inferiori in numero di 3-4 ridotte alle sole guaine, foglie superiori generalmente in numero di 2 (raramente 3 o 4), formantisi solo a inizio primavera e completamente sviluppate in aprile –maggio, lunghe fino a 30 cm e larghe 3-5 mm, con una stria longitudinale bianca che percorre l'intera lamina; frutto a capsula ovoidale (8-12 mm), inserito come l'ovario a livello del terreno, con numerosi semi di colore bruno rossastro.

Periodo di fioritura: settembre–novembre

Habitat: boschi chiari, prati a sfalcio, radure e ambienti prativi collinari e montani, su substrati carbonatici o ultrabasici, limiti altitudinali compresi tra i 600 e i 1300 m (estremi 100-1700 m.).

Distribuzione in Italia: Piemonte, Liguria

- *Crocus longiflorus* Raf.: Zafferano autunnale- – Geofita bulbosa – Pianta perenne, 15-25 cm. Foglie presenti all'antesi, ulteriormente allungate dopo di questa: lamina larga 2-4 mm; perigonio con fauce gialla, glabra o scarsamente pubescente; lacinie esterne ed interne poco differenti tra loro; antere poco più lunghe dei filamenti.

Periodo di fioritura: ottobre–novembre

Habitat: Pascoli aridi e pietrosi, cedui.(0-1500 m.).

Distribuzione in Italia: Lazio, Campania, Basilicata, Calabria, Sicilia.

- *Crocus minimum* DC.: Zafferano minore- – Geofita bulbosa – Pianta perenne, 8-15 cm. Foglie alla fioritura generalmente più brevi dei fiori; spata

generalmente unica; perigonio bianco alla fauce, con lacinie spatolate, arrotondate all'apice; filamenti lunghi quanto le antere.

Periodo di fioritura: dicembre–marzo

Habitat: Pascoli aridi, formazione ad arbusti spinosi.(0-1300 m.).

Distribuzione in Italia: Sardegna; non più presente in Toscana

- *Crocus reticulatus* Steven ex Adams subsp. Reticulatu: Zafferano triestino- – Geofita bulbosa – Pianta perenne, 12-18 cm; bulbo subsferico (1-1,5 cm), con fibre brune saldate a rete, grosse 0,3 mm lungo le maglie e fino a 0,5 mm nei punti di saldatura tra fibra e fibra. Foglie erette ed un po' rigide, strettamente lineari, larghe 1,2 mm e lunghe generalmente un po' meno dei fiori. Spate 2; fiore generalmente singolo, non profumato; perigonio bianco con venature violacee più o meno irregolari; lacinie ellittiche 7-9 X 28-33 mm, acute; antere (8 mm) lunghe il doppio dei filamenti; stimmi aranciati, denicolati.

Periodo di fioritura: febbraio–marzo

Habitat: Pascoli aridi.(0-600 m.).

Distribuzione in Italia: Friuli Venezia Giulia, Abruzzo

- *Crocus siculus* Tineo:– Pianta perenne. Crocus con stigma trifido e rinchiuso più corto degli stami, con lobi cuneiformi–lanceolati, corolle oblunghie ottuse, fauce glabra, con foglie erette strettamente lineari e striate di bianco, con tunica radicale fibrosa e reticolata. Bulbi piccoli e doppi. Fodere radicali scariose, 2-3, deboli. Foglia allegramente verdeggianti, glabra, bisolcata di sotto, ripiegata ai margini. Spate 1- foglie, 1- fiore. Fiori piccoli; orli appena ripiegati 5-lin. Lunghe, con base bianca, cerulee, di uguale colore (da essiccato). Il pistillo non sempre raggiunge la metà dell'altezza delle antere.

Periodo di fioritura: marzo–aprile

Habitat: Terre da pascolo in montagna , radure di boschi decidui

Distribuzione in Italia: Lazio, Sicilia

- *Crocus suaveolens* Bertol: Zafferano profumato- Geofita bulbosa- Pianta perenne, 8-20 cm; foglie erette, lunghe circa quanto il fiore; spata unica, spesso bifida; fiori profumati.

Periodo di fioritura: febbraio – marzo

Habitat: Boscaglie, uliveti, incolti aridi. (0-800 m)

Distribuzione in Italia: Campania; è dubbia la presenza in Umbria

- *Crocus thomasi* Ten.: Zafferano di Thomas- Geofita bulbosa- Pianta perenne, 10-30 cm; foglie presenti all'antesi, densamente cigliate sul bordo; 2 spathe; perigonio con fauce gialla o aranciata, pelosa; lacinie poco differenti tra loro; stimmi interi.

Periodo di fioritura: ottobre– novembre

Habitat: Pascoli aridi con grossi sassi.

Distribuzione in Italia: Puglia, Basilicata, Calabria

- *Crocus vernus* (L.) Hill subsp. *albiflorus* (Kit.) Ces.: Usualmente gli stili sono più corti degli stami. Fiori spesso bianchi. Segmenti 1,5- 3,5(-5) X 0,4-1,2 cm

Periodo di fioritura: Marzo– Luglio

Distribuzione in Italia: Valle D'Aosta, Piemonte, Lombardia, Trentino Alto Adige, Veneto, Friuli Venezia Giulia, Liguria, Emilia Romagna, Toscana, Abruzzo, Basilicata, Calabria, Sicilia; è dubbia la presenza in Umbria, Lazio, Molise; registrato erroneamente nelle Marche

- *Crocus vernus* (L.) Hill subsp. *Vernus*: Gli stili usualmente sono uguali o superano gli stami. Fiori spesso viola, lilla, o a strisce.

Segmenti (2,5-)3-5,5*0,9-2 cm.

Periodo di fioritura: marzo-luglio

Distribuzione in Italia: Valle D'Aosta, Piemonte, Friuli Venezia Giulia, Liguria, Emilia Romagna, Toscana, Marche, Umbria, Lazio, Abruzzo, Molise, Basilicata

- *Crocus versicolor* KerGawl.: Zafferano della Riviera- Geofita bulbosa- Pianta perenne, 10-20 cm; foglie più brevi dei fiori, che sono spesso 2-4 e profumati; perigonio bianco alla fauce;lacinie esterne violacee, con 3 vene più scure; filamenti lunghi quanto le antere.

Periodo di fioritura: febbraio- marzo

Distribuzione in Italia: Piemonte, Liguria, registrato erroneamente nel passato in Sardegna

- *Crocus weldeni* Hoppe & Fumr: Zafferano di Welden - Geofita bulbosa- Pianta perenne, 12-20 cm; bulbo ovale (1,5-2 cm) interamente avvolto da guaine cartacee bruno –ferruginee. Foglie basali ridotte alle guaine, le superiori erette, con lamina larga 1-2 mm e lunga quanto i fiori o superantili di 1/4 -1/3. Fiori 1-2, inodori; spathe 2, allargate (6-9 mm), avvolgenti molto bassamente la base dei fiori; perigonio con tubo bianco e lacinie regolarmente ellittiche (15-17 X 30-35 mm), ottuse all’apice, bianche all’interno, violacee all’esterno e spesso sul bordo, senza chiazze gialle né vene scure; antere 8-10 mm, lunghe il doppio dei filamenti, che sono bianchi e glabri; stimmi giallo brunastri, interi.

Periodo di fioritura: marzo-aprile

Distribuzione in Italia: Friuli Venezia Giulia

5.3 I CROCUS IN SICILIA

Nel passato, in Sicilia, esistevano diverse specie di *Crocus* spontanei. Notizie sulla loro presenza sono giunte a noi attraverso vari autori, tra cui: Gussone con “*Florae Siculae Synopsis* (1842) e Lojacono Pojero con “*Flora Sicula*” del 1908.

Gussone riporta per la Sicilia: *Crocus longiflorus* Raf., *Crocus pusillus* Ten. e *Crocus siculus* Tineo.

Lojacono Pojero riporta *Crocus biflorus* Mill., *Crocus longiflorus* Raf., *Crocus pygmaeus* Lojac., *Crocus serotinus* Salisb. e *Crocus siculus* Tin..

Secondo Giardina *et al.* (2007), in Sicilia vi sono solamente 3 specie di *Crocus*: *Crocus siculus* Tineo, *Crocus longiflorus* Raf. e *Crocus biflorus* Mill.

Crocus siculus viene riportato per: Madonie al Ferro, Montesoro fra Troina e Sanfratello, Madonie, Madonie Gorgo della Serra Soglio, Etna, M. Lando presso Barcellona, Madonie a Catagidebbi, San Guglielmo, Floresta, M. Soro, Madonie: Quacella;

Crocus biflorus viene indicato per Caronia, Sanfratello, Montalbano, Floresta, Colline di S. Caterina, Madonie ai Mandarinini, Colla, Ferro di

Castelbuono, M. Soro, Troina, Ficuzza, Nicosia: Monte Campanito, Madonie: Quacella + P.Colla + Pietà;

Crocus longiflorus Raf. invece sembra essersi adattato a tutte, o quasi, le condizioni pedo-climatiche della Sicilia insediandosi stabilmente in tutta l'isola. Nelle varie ricerche sui *Crocus*, non si può far a meno di notare come alcuni di essi sono sempre presenti, nel tempo, sul suolo siciliano; ci si riferisce al *C. siculus* ed al *C. longiflorus* che hanno fatto registrare la loro presenza già dal 1842 e che, ad oggi, sono ancora presenti, mentre alcuni dei *Crocus* sono andati scomparendo.

Tra i *Crocus* di cui non si registra la loro presenza in Sicilia già dal 1908, vi è: il *C. pusillus*. In questo stesso periodo vengono riportate altre specie insediate in Sicilia, quali: il *Crocus biflorus*, *Crocus pygmaeus* ed il *Crocus serotinus*.

Di queste specie menzionate solamente il *Crocus. siculus* insieme al *Crocus longiflorus* ed al *Crocus biflorus* si sono riprodotti nel tempo e giunti fino ai nostri giorni in modo spontaneo, diventando quindi i *Crocus* spontanei sul suolo Siciliano.

6. CICLO BIOLOGICO

Lo zafferano si caratterizza per un ciclo biologico con una lunga pausa estiva ed un'attiva ripresa vegetativa autunnale (epoca in cui si formano anche i fiori), e primaverile ed una più modesta attività invernale. La pianta, infatti, supera l'avversa stagione (l'estate), perdendo le foglie e conservandosi in forma quiescente come bulbo-tubero. Questo è compatto, privo di squame e di brattee, ha forma subovoidale, appiattito, leggermente concavo alla base, convesso nella sua parte distale. Ha dimensioni variabili da 1 a 5 cm di diametro e si ritrova ricoperto da residui fibrosi, debolmente reticolati, delle basi delle foglie. Il bulbo tubero si rinnova annualmente per lo sviluppo della parte basale del fusto fiorifero.

La differenziazione nell'apice del germoglio dei fiori si attua entro il periodo compreso che va dalla fine dell'inverno alla primavera, l'inizio coincide con le prime riduzioni dei rigori invernali. Quindi questo periodo è fondamentale

perché influenza in modo determinante la produzione dell'anno successivo. Questa fase termina con l'arresto dell'attività vegetativa che si ha in concomitanza con il disseccamento fogliare. A questo punto lo sviluppo è completato e le sue gemme, a partire dalla principale e in un gradiente decrescente quelle secondarie, hanno ormai attuato la formazione delle bozze dei germogli e quindi dei fiori, che verranno emessi alla ripresa vegetativa nell'autunno successivo. Il ciclo di vita dello zafferano è simile in tutti i paesi produttori, ma ci sono ampie differenze nella tempistica degli eventi (Molina, *et.al.*, 1968, Wilkins, *et.al.*, 1985). Il modello di crescita dello zafferano è differente da altre specie e può essere diviso in tre fasi cioè, fioritura, fase vegetativa e formazione dei bulbi. In India, la fioritura avviene durante l'autunno (da ottobre fino a novembre), seguito dalla fase vegetativa durante l'inverno e dalla formazione di bulbi da ricollocare alla base dei germogli. All'inizio del periodo di siccità (da aprile fino a maggio), le foglie invecchiano ed appassiscono e i bulbi entrano nel periodo di dormienza. La transizione dalla fase vegetativa a quella riproduttiva avviene poco tempo dopo nell'apice dei germogli dei bulbi sotterranei (Molina, *et.al.*, 2005). Questa transizione avviene nel mese di marzo in Azerbaijan, (Milyaeva, *et.al.*, 1978; Azizbekova, *et.al.*, 1999) da marzo ad aprile in Israele, (Greenberg *et.al.*, 1991) e nel mese di luglio in Kashmir (Koul, *et.al.*, 1984).

Le differenze nelle dimensioni del bulbo o le variazioni stagionali sono considerate la causa di queste differenze nelle date di transizione (Negbi, 1999).

Per tale ragione i tuberi possono essere spiantati nel mese di maggio (pratica attuata in molte regioni della Sardegna), o alla prime piogge di agosto o ancora nel periodo che va dai primi giorni di settembre ai primi di ottobre. Effettuando questa operazione i bulbo-tuberi possono essere tenuti fuori dalla terra da un minimo di pochi giorni ad un massimo di tre mesi.

Passata l'estate la pianta riprende la crescita vegetativa con l'emissione di un ciuffo di foglie e l'emersione di un asse florale avvolto da guaine biancastre. La fioritura è autunnale e va da fine ottobre a metà novembre. I fiori sono vistosi, di 6 tepali color roseo violacei come riportato in precedenza. Attraverso essi fuoriesce, di un rosso scarlatto, lo stamma, suddiviso in 3 rami, ciascuno dei quali termina a trombetta. Essi sono ancorati, nella parte basale, attraverso un lungo

stilo, all'ovario. La crescita delle foglie, che si allungano fino a 40 cm. dura da settembre fino a maggio.

In questo stesso periodo autunno-primaverile si ha l'emissione delle radici, il riassorbimento del bulbo madre e la neoformazione e l'accrescimento dei bulbi figli.

Ciascun bulbo-tubero neoformato, contenuto tra le tuniche del bulbo che lo ha prodotto, porta all'apice uno o due gemme principali (da cui origineranno nuove foglie, l'asse florale ed uno o due bulbo-tuberi figli) e nella porzione sottostante 4-5 gemme secondarie, disposte irregolarmente a spirale. Da queste si svilupperà un germoglio con un asse caulinare ed un mazzetto di foglie, germoglio alla cui base vi è un bulbo-tubero che attraverso la fotosintesi delle foglie trae nutrimento e si accresce. Per la presenza sia di gemme apicali (carattere proprio dei bulbi) che di gemme secondarie in varie porzioni del fusto sotterraneo (tipico del tubero) sembra più appropriato, per lo zafferano, il termine di bulbo-tubero. Il bulbo-tubero derivato dalle gemme secondarie risulta alquanto più piccolo ($1/4 - 1/6$) di quelli prodotti dalle gemme apicali. In tal modo pertanto da ciascun bulbo «madre» originano 2-3 bulbi principali dall'attività della gemma apicale, e numerosi bulbi secondari dalle gemme laterali. La riproduzione dello zafferano avviene pertanto per via vegetativa, cioè dal bulbo madre per accrescimento e differenziamento delle gemme principali (apicali) e secondarie.

L'andamento del ciclo di accrescimento e sviluppo dello zafferano - che secca totalmente la parte epigea in estate e rimane in questa stagione solo come geofita quiescente - evidenzia che la pianta è ecologicamente compatibile con territori ove in estate esiste una soglia termica non inferiore a 25°C (media stagionale mensile) ed idrica non superiore a 20-40 mm di precipitazioni stagionali estive.

L'emissione delle foglie, nelle piante a ciclo poliennale, inizia fin dall'autunno, con un anticipo di circa due settimane rispetto alle piante a ciclo annuale; il maggior sviluppo in lunghezza dell'apparato fogliare si manifesta nei mesi di marzo-aprile, quando le foglie possono raggiungere fino a 40 cm di lunghezza: già nel mese di maggio si osserva l'avvizzimento progressivo dell'apparato fogliare. È perciò nel periodo marzo-aprile che l'attività vegetativa consente di accumulare materiali di riserva nei nuovi bulbo-tuberi formati dal

bulbo-tubero che ha fiorito l'anno precedente, determinando il loro ingrossamento che cesserà alla soglia dell'estate, quando entrano in riposo dopo aver perso completamente foglie e radici.

7. ESIGENZE

Lo zafferano è poco esigente in fatto di clima: esso infatti può essere coltivato con buoni risultati a varie altitudini, temperature ed umidità. Si coltiva, apparentemente con successo, in diverse località geografiche del mondo. Il raggio di distribuzione della specie *Crocus* è fra 10° Ovest e 80° Est di longitudine, 30° e 50° di latitudine nord (Mathew, 1982). Anche se lo zafferano è originario dei paesi mediterranei, è coltivato in Italia ad un'altitudine di 650-1100 m., (Tammaro, 1999) e fiorisce a 2140 m. s.l.m. in Kashmir, India (Dhar, 1990); esso può essere coltivato a 1500-2800 m. s.l.m. nelle zone temperate, semiaride ed aride. Panwar *et al.*, (1995) parlano di una coltivazione di zafferano produttiva fra i 1500 e i 2000 m. s.l.m.; mentre Mathur (1973) indica di 1300-2500 m. sul livello del mare, e di 2000 m. sul livello del mare come migliore altitudine per la fioritura.

Tuttavia, la pianta attecchisce meglio nel clima subtropicale caldo, dove gelo e piogge sono assenti durante la fioritura; riuscendo tuttavia a sopportare bene le basse temperature invernali. Temperature troppo rigide, unite ad una eccessiva umidità, durante il breve periodo di fioritura; possono essere pregiudizievoli sulla produzione di fiori. Infatti temperature di -10-15 °C possono provocare spaccature nei bulbo-tuberi e di conseguenza determinare la marcescenza in breve tempo (J. Alarcon Molina *et al.*, 1968). Nonostante questo sono riportate in bibliografia produzioni, ovviamente molto ridotte, ottenute con temperature invernali che raggiungevano i - 18°C, e con nevicate al momento della fioritura (Tammaro, 1990; Mollafilabi, 2004).

La temperatura è il più importante fattore ambientale che regola lo sviluppo e la fioritura della specie *Crocus* (Benschop 1993). L'influenza di una temperatura costante sulla formazione del fiore di zafferano è di considerevole importanza. Duke, (1979) ha segnalato che la temperatura annuale media in 16 luoghi di coltivazione dello zafferano nel mondo varia da 5,9 a 18.6° C e le piogge da 420-1.370 mm. L'induzione alla fioritura avviene quando la temperatura

arriva al di sopra di 20°C durante la tarda primavera, mentre, la comparsa del fiore avviene quando la temperatura scende sotto i 16° C. Plessner *et al.*, (1989) hanno dimostrato che era possibile indurre la fioritura dello zafferano prima della comparsa delle foglie lasciando i bulbi nella vermiculite asciutta a 15° C per 35 giorni e dopo trasferendoli in condizioni controllate nel fitotrone (mezzo umido di crescita, fotoperiodo di 16 ore, 17°C di giorno/12°C di notte).

La temperatura ottimale per la comparsa del fiore dovrebbe essere più bassa di quella per la formazione del fiore (Molina *et al.*, 2004). Molina *et al.*, (2005) hanno dimostrato la temperatura ottimale per la formazione del fiore è stata tra 23 e 27° C, ma una temperatura di 23° C è risultata leggermente più favorevole. Per assicurare la formazione del massimo numero di fiori, l'incubazione a queste temperature dovrebbe superare i 50 giorni, anche se un'incubazione superiore a 150 giorni ha provocato la perdita dei fiori. La comparsa dei fiori ha richiesto il trasferimento dei bulbi dalle condizioni di formazione del fiore ad una temperatura segnatamente più bassa (17° C). L'incubazione dei bulbi dopo la raccolta ad una temperatura più alta (30° C), ha ridotto la comparsa dei fiori ed ha causato la perdita di alcuni dei fiori già spuntati. Nessun fiore si è formato in bulbi incubati a 9° C. Una parte variabile (20-100%) di bulbi forzati direttamente a 17° C senza un'incubazione precedente a 23-27° C ha formato un singolo fiore. Le ampie differenze nei tempi delle fasi fenologiche nelle differenti località riscontrate in questo studio sono sembrate una relazione alla temperatura ambientale. La temperatura ottimale per l'inizio della fioritura e lo sviluppo dei bulbi è tra 23 e 27° C, e che 23° C è un po' meglio per la formazione del massimo numero di fiori.

Le condizioni atmosferiche, soprattutto in dicembre, hanno avuto un effetto maggiore sulla produzione di bulbi che sulle dimensioni degli stessi. (Szlachetka, *et al.*, 1990).

La regione temperata asciutta di Himachal Pradesh, India, dove la temperatura si mantiene tra 12 e 18° C e le temperature notturne tra 4 e 5° C durante i mesi di settembre e ottobre, è ideale per la coltivazione dello zafferano (Rana *et al.*, 2003). Una notte nuvolosa provoca la produzione massima di fiori la mattina seguente. La pioggia durante il mese di agosto e settembre è utile a stimolare la fioritura precoce per una produzione più elevata. Il tempo asciutto e

moderatamente umido durante la fioritura è considerato ideale. Il gelo durante il periodo di fioritura la ostacola notevolmente ed influisce negativamente sulla produttività. In Palampur, la temperatura media durante i mesi di settembre e ottobre varia tra 19 e 23° C e durante i mesi di novembre e dicembre, scende a 8-13°C (una media di 30 anni) che è ideale per la coltura dello zafferano (Kumar, comunicazione personale).

Le alte temperature estive non pregiudicano la coltivazione, mentre sono da temere le brinate autunnali e le nevicate precoci, quando la coltivazione è in piena fioritura. Se i fiori gelano, il bulbo-tubero marcisce e si decompone con facilità.

In Spagna la coltivazione dello zafferano si effettua in zone asciutte, con precipitazioni piovose che raramente superano i 400 mm/anno (Tammaro, 1990); le temperature vanno dai 3-5 °C in inverno ai 25 °C in estate. In Sardegna il clima mediterraneo è più mite e le piogge si concentrano soprattutto nel periodo autunno inverno, gli inverni sono poco rigidi, le estati secche e calde, le precipitazioni si calcolano sui 560 mm circa; le temperature medie vanno dai 10°C in inverno ai 25 in estate. A Navelli si trovano coltivazioni localizzate su altitudini che vanno dai 650 m ai 1100 m s.l.m. e le precipitazioni sono di circa 700 mm; le temperature medie si aggirano dagli 11 °C in inverno ai 20-22 in estate (Lombardo *et al.* 2007). In Macedonia il clima è più simile a quello della Spagna, anche se bisogna segnalare che le precipitazioni sono quasi raddoppiate (700 mm). Per quanto riguarda le precipitazioni piovose, le più favorevoli a tale coltivazione sono quelle del mese di marzo, durante la formazione degli steli all'interno dei bulbo-tuberi o quelle settembrine, purché il terreno abbia un sufficiente drenaggio, permettendo così ai fiori di germogliare rapidamente, anticipando la fioritura.

Lo zafferano ha un periodo di sviluppo di 220 giorni. La produzione dello zafferano è migliore in climi simili a quello della regione mediterranea, dove brezze estive calde e secche soffiano su terre aride e semiaride. Tuttavia, la pianta può tollerare gli inverni freddi, sopravvivendo a gelate di - 10° C e a brevi periodi di neve (Deo, 2003; Willard, 2001).

In conclusione si può affermare che le migliori condizioni climatiche per lo sviluppo e la resa dello zafferano sono : un autunno piovoso, un'estate calda e asciutta, e un inverno mite (Fernandez 2004, Mollafilabi 2004). Il fotoperiodo ha

una considerevole influenza sulla fioritura dello zafferano ed è auspicabile un periodo ottimale di illuminazione di 10-11 ore (Dhar, 1990). Le piante dello zafferano si sviluppano male in ambienti ombrosi e si sviluppano meglio sotto la luce solare diretta. Quindi, l'impianto riesce bene nei campi che sono esposti alla luce solare (cioè, rivolti a sud, nell'emisfero nord. Bryan (1995) ha segnalato che i *crocus* fioriscono in pieno sole e parziale ombra e che le zone ombrose devono avere almeno 4 ore di sole al giorno).

Nello zafferano l'inizio della fioritura sembra essere influenzato dalla combinazione di temperatura ed umidità del terreno, mentre il suo calendario di fioritura dimostra l'indipendenza dalla provenienza del bulbo, dall'ambiente e dalla densità delle piante. Al contrario, i fattori studiati esercitano un forte effetto sia sulla resa totale degli stigmi che sulle caratteristiche qualitative: un ambiente più freddo ha provocato una più alta produzione di fiori, ma una qualità più bassa degli stigmi.

Sono state descritte le condizioni per la conservazione in celle frigorifere dei bulbi del *crocus* di zafferano (*Crocus sativus* L.) allo scopo di ritardare la fioritura. La conservazione dei bulbi a 2° C dopo che l'inizio della fioritura ha provocato la perdita dei fiori già emessi. Più avanzata è la fase di avvio della fioritura all'inizio della conservazione in celle frigorifere, più veloce è il tasso di perdita dei fiori. In generale, nessun beneficio è derivato dalla conservazione dei bulbi dopo l'inizio della fioritura. Il numero ed il formato dei fiori formati per bulbo, dipendeva sia dalla durata che dalle condizioni di conservazione. La conservazione a temperature di congelamento (0° o -1°C) danneggiavano i bulbi. La fioritura è stata indotta in bulbi conservati tra 0.5° -25° C. Tra questi due valori, la temperatura ha avuto scarso effetto sul comportamento successivo dei bulbi. Il numero e le dimensioni del fiore diminuivano gradualmente con l'aumentare della durata di conservazione. Questa diminuzione è stata più lenta quando la conservazione è stata effettuata in ossigeno all'1% rispetto ad un'atmosfera normale (ossigeno al 21%). I bulbi raccolti dopo l'appassimento delle foglie e conservati a 2°C in ossigeno all'1% per 70 giorni, sono stati indotti alla fioritura a partire dall'inizio di dicembre fino alla fine di gennaio con la stessa resa dei bulbi non conservati in celle frigorifere. Questi risultati insieme ad altri ottenuti precedentemente, permettono una fioritura dello zafferano senza perdita di resa

dall'inizio di settembre fino alla fine di gennaio. La fioritura potrebbe essere ulteriormente ritardata fino a maggio estendendo la durata della conservazione in celle frigorifere, anche se questa fioritura ritardata provocherebbe una riduzione significativa nella produzione di stimmi secchi.

Sono state definite le condizioni termiche per lo sviluppo delle gemme e per la formazione del fiore nello zafferano (*Crocus sativus L.*). L'appassimento delle foglie è avvenuto durante il tardo inverno o la primavera in base alla località ed è coinciso con un aumento della temperatura. Non c'è stato nessuno sviluppo rilevabile nei germogli durante i primi 30 giorni dopo l'appassimento delle foglie, né nei bulbi sotterranei né in quelli già raccolti e in incubazione in laboratorio in condizioni controllate. L'appassimento delle foglie è stato seguito presto dall'inizio della fioritura, che è avvenuta durante la tarda primavera o l'inizio dell'estate quando la temperatura è aumentata fino a raggiungere i 20° C. Una lunga estate calda ha fatto ritardare la comparsa dei fiori che è avvenuta nel tardo autunno quando la temperatura è scesa a 15-17°C (Molina *et.al.*, 2005).

Le proprietà fisiche del suolo sono ampiamente riconosciute per il loro ruolo importante nel sostenere la crescita delle piante. Queste proprietà influenzano i rapporti pianta terreno in termini di assorbimento di acqua e nutrienti, l'aerazione, la facilità di penetrazione per le radici, ed inoltre condizionano la temperatura del terreno, attivano i microrganismi, (Cellier *et al*, 1996;. Wuebker *et al.* 2001;. Garbeva *et al*, 2004; Gregory, 2006). Tra le proprietà fisiche del terreno individuate in letteratura, la costituzione influenza la struttura del terreno, e più in particolare, la porosità e permeabilità del suolo, che la ritenuta idrica e la capacità di drenaggio del terreno. Di conseguenza, essa rappresenta la principale caratteristica per la regolazione della crescita e la produttività delle piante, soprattutto nelle piante bulbose e nello zafferano (*Crocus sativus L.*) in particolare (Mollafilabi, 2004;. Turhan *et al*, 2007;. Gresta *et al*, 2008b). In questa specie, infatti, non solo i bulbi rappresentano la fonte esclusiva per la propagazione, ma anche la loro dimensione influisce notevolmente sulla produzione dei fiori per pianta (De Mastro e Ruta, 1993; Lombardo *et al*, 2005; Gresta *et al*, 2008). La coltivazione dello zafferano richiede un terreno sabbioso limoso, leggero, di facile drenaggio, in quanto terreni freddi e umidi impediscono la riproduzione dei bulbos-tuberi e facilitano la loro putrefazione. È preferibile un terreno ad esposizione

soleggiata, arieggiata, non alberata e pianeggiante. Si sviluppa meglio in terreni calcarei, friabili, sciolti, che hanno un elevato contenuto organico. Un terreno molto compatto e torboso aumenta lo sviluppo vegetativo a scapito dell'apparato riproduttivo, con conseguenti prodotti di qualità merceologica inferiore. Il terreno alcalino è considerato il migliore per dare più alti livelli di raccolto (Jalali, 1962).

(Dhar, 1990) sostiene che lo zafferano esige terreni da sabbioso a sabbioso-argilloso. Sampathu *et al.* (1984) riferiscono che lo zafferano richiede un terreno sabbioso-limoso o un terreno argilloso e con un buon drenaggio. Lo zafferano è anche coltivato su terreno sabbioso in Azerbaigian (Azizbekova e Milyaeva, 1999). Skrubis (1990) indica che le “performance” migliori si ottengono su suoli ben drenati terreni argillosi-calcarei e profondi. Fernandez (2004) suggerisce che l'argilla è un buon terreno per lo zafferano.

Dhar (2000) afferma che il terreno siliceo ed altamente alcalino è inadatto, mentre il pH tra 6.8 e 7.8 è considerato ottimale. Il pH del terreno dovrebbe oscillare dal neutro al debolmente alcalino (Sampathu *et al.*, 1982). Secondo alcuni autori (Madan *et al.*, 1966), lo zafferano preferisce terreni siliceo-argillosi-ferruginosi-gessosi. Secondo altri, lo zafferano può crescere su qualsiasi terreno, purché sia assicurato un buon drenaggio ed una opportuna lavorazione.

Nei terreni umidi avviene la decomposizione del bulbo. Ganai *et al* (2000). hanno studiato le caratteristiche morfologiche e fisico-chimiche dei terreni di Jammu e del Kashmir, in India, dove cresce lo zafferano ed hanno messo in evidenza che i terreni sono a grana fina o finissima argilloso -limosi negli orizzonti superiori e argilloso limoso in quelli inferiori. Il contenuto medio di carbonio organico e carbonato di calcio era rispettivamente 0.35 e 4.61%. Un'elevata presenza di carbonato di calcio è preferibile per un buon raccolto (Barshad, *et al.* 1956; Madan, *et al.* 1966)

8. TECNICA DI COLTIVAZIONE

La coltivazione dello zafferano può avere un ciclo annuale, come avviene in Italia, più precisamente a Navelli, oppure può essere poliennale, come in quasi tutti i paesi tradizionalmente produttori di zafferano. La poliennalità può essere la più diversa: 3-4 anni in Spagna, 4-5 anni in Sardegna, 6-8 anni in India e Grecia (Currelli, 1984). Le vecchie piantagioni vengono sostituite quando la resa dello

zafferano comincia a diminuire a causa dell'eccesso di bulbi e la coltivazione diventa poco economica. ed in Francia è espantato dopo 3 anni (Negbi, 1999) In Spagna, i bulbi sono espantati ogni quattro anni (Sastri, 1950).

Souret e Weathers, (2000) confrontando i 3 sistemi di coltura cioè coltivazione aeroponica, idroponica e su terreno hanno accertato segnalato che la crescita del bulbo in termini di peso secco era maggiore nelle colture aeroponiche ed idroponiche, ma la produzione di stigmi e la concentrazione dei costituenti principali di zafferano negli stigmi erano simile in tutti i tre sistemi di coltura. Omidbaigi *et al.*,(2001) hanno studiato l'effetto dei luoghi di coltivazione sulla qualità dello zafferano in Iran ed hanno segnalato che la quantità e la qualità di zafferano (tranne la proprietà dell'aroma) della regione di Neishabor (Khorasan del nord) erano migliori di quelle dello zafferano prodotto nella regione di Ferdows (Khorasan del sud). In Iran, Keyhani *et al.*,(2004) hanno coltivato lo zafferano in varie condizioni ambientali, in vaso, usando terreno di coltura di campo; in un ambiente di agar-agar semiliquido; e in un ambiente liquido ed hanno dimostrato che l'allungamento della radice era quattro volte maggiore nel terreno che nell'ambiente liquido. Cavusoglu e Erkel (2005) hanno studiato la possibilità di coltivare lo zafferano sotto tunnel di plastica e in campo, nelle condizioni della provincia di Kocaeli in Turchia ed hanno ottenuto dimensioni più elevate dei bulbi e tempo di fioritura più lungo con il tunnel di plastica ma più alta resa di stigmi (freschi e secchi) in campo. Maggio *et al.* (2006) hanno confermato che i sistemi fuori suolo possono essere utilizzati efficientemente per la produzione dello zafferano. Gli stessi autori hanno verificato l'effetto di differenti substrati (torba e perlite) e le condizioni ambientali (serra fredda e camera climatizzata) e hanno ottenuto una più alta resa di zafferano nella perlite rispetto alla miscela di torba/perlite. Le produzioni ottenute in serra fredda e camera climatizzata sono raddoppiate rispetto alla coltura tradizionale in campo. Yau *et al.*, (2006) hanno segnalato che lo zafferano prodotto nelle località costiere aveva colore più intenso e gusto più amaro di quello prodotto in luoghi ad altitudine maggiore in Libano.

8.1 AVVICENDAMENTO E CONSOCIAZIONE

La coltivazione dello zafferano non deve essere ripetuta sullo stesso terreno in tempi ravvicinati: tale pratica è in uso nei diversi paesi di produzione (Spagna, India, Grecia, Italia).

Nell'Altopiano di Navelli (L'Aquila), dove la coltura ha una tradizione ultrasecolare, è consuetudine non impiantarla sul medesimo appezzamento se non dopo un decennio, in quanto è stata rilevata una diminuzione della produzione. Per spiegare tale fenomeno sono state formulate diverse ipotesi, quali la presenza di tossine nel terreno, che ne determinerebbero il fenomeno della "stanchezza". È anche da tenere presente che la monocoltura ripetuta può essere fonte di infezioni dovute ad agenti diversi (fusarium, virosi, ecc). Nella rotazione è consuetudine far precedere lo zafferano da sarchiate, la cui coltivazione richiede lavorazione profonda, oppure dal grano o dalla senape (India). In alcuni paesi (India) si usa consociare allo zafferano il mandorlo, in quanto tale pianta subisce la defogliazione nel mese di agosto, favorendo così l'esposizione alla luce solare (Sampathu *et al.*, 1982).

In Kashmir (India) è stata studiata con successo la consociazione rosa di Damasco-zafferano rispetto ad altri sistemi di consociazione e la rosa in purezza (Tajuddin, *et. al.*, 1993). Nelle condizioni temperate asciutte di Sangla (HP), India, la consociazione zafferano-kalazira la spezie (*Bunium persicum*) ha superato tutte le altre consociazioni con il fagiolino, il fagiolo, la senape poiché non c'è competizione fra lo zafferano e la spezia (Rana, *et. al.*, 2003). Viene riferito inoltre che la coltura dello zafferano può avvenire con successo in prossimità con albicocco o mandorlo. Le piante del mandorlo perdono le foglie prima del periodo di sviluppo attivo dello zafferano, cosa che aiuta la penetrazione della luce sulle piante coltivate in quantità sufficiente. A Sangla, la coltivazione dello zafferano nel meleto si può avere soltanto durante le fasi iniziali di accrescimento dell'arborea.

Avvicendato in Kashmir, India, la rotazione dello zafferano con cereali come frumento e senape è eseguita generalmente dai coltivatori. Lo zafferano è coltivato in maniera continuativa per 8-10 anni nello stesso campo quindi è seguito da frumento-orzo-oleaginose-frumento (cioè, lo zafferano viene posto a dimora dopo un intervallo di 4 anni) (Srivastava, 1963; Jalali, 1962). In Italia, lo

zafferano viene posto in avvicendamento con erba medica e frumento (Tammaro, 1999).

8.2 EPOCA DI SEMINA

Il periodo di impianto dello zafferano varia da regione a regione secondo la durata del ciclo produttivo e le caratteristiche climatiche e pedologiche dell'ambiente in cui si coltiva. Srivastava (1963) ha accertato che metà luglio era il periodo migliore per piantare i bulbi ad Almora (U.P.), India, piuttosto che agosto o settembre. Koltsova (1976) ha osservato che per le piante con fioritura autunnale, da fine agosto a metà-settembre era il periodo migliore in Crimea, URSS. Rehman e Lodhi (1977) hanno segnalato che le rese erano maggiori piantando a partire da metà luglio, più bassi da agosto e da giugno nella regione del Baluchistan in Pakistan. In Iran, Sadeghi (1993) ha concluso che il momento migliore per piantare e spostare i bulbi dello zafferano in nuove aziende agricole è a partire da metà maggio e in particolare all'inizio di giugno. In Italia, lo zafferano si pianta nella seconda quindicina d'agosto, in Spagna dal 15-30 giugno, in Grecia prima della metà di settembre ed in India dalla metà di luglio ad agosto (Tammaro, 1999). Piantare il 15 novembre e il 1° dicembre produce molti più bulbilli per bulbo madre rispetto al 16 dicembre nelle condizioni di Varanasi U.P. (India), (Siddique, , *et. al.*, 1999).

Si può osservare perciò che, laddove il ciclo delle colture è poliennale, si tende ad anticipare l'epoca di impianto rispetto al periodo adottato nella coltura annuale.

8.3 PREPARAZIONE DEL TERRENO

Una buona preparazione del terreno è necessaria per ripristinare struttura e sofficità. A seconda delle condizioni pedoclimatiche, il terreno viene lavorato più volte nei mesi estivo-autunnali dell'anno precedente l'impianto, ad una profondità di 30-35 cm. In Spagna ad esempio (Castilla La Mancha) è consigliabile effettuare le lavorazioni a marzo-aprile per immagazzinare le piogge primaverili. Tuttavia, può essere effettuata anche a maggio-giugno, durante il periodo precedente alla messa a dimora dei bulbi (Pérez, 1995).

Alla lavorazione principale segue l'ammendamento, e l'eliminazione delle malerbe. In alcune zone viene effettuata la sistemazione a "porche" preferibilmente 1,2-1,5 m di larghezza e 15-20 cm di altezza. Tra le porche si possono realizzare vialetti larghi 30 cm, che fungano anche da fossi di scolo. Ciò impedisce il ristagno idrico nei 15-20 cm superiori del terreno. Nei terreni da sabbioso a sabbiosi-argilloso e nelle regioni temperate secche dove le piogge sono di bassa intensità, la sistemazione a porche può non essere necessaria.

A fine inverno è bene effettuare una concimazione organica interrandola a media profondità (150-200 q/ha preferibilmente ovino), mediante erpicatura o con una seconda aratura più superficiale, che inoltre consente il controllo delle malerbe eventualmente presenti. Nella primavera avanzata, nel caso si ripresentino infestanti, è opportuno effettuare una o più erpicature

8.4 COLTURA A CICLO ANNUALE (NAVELLI-L'AQUILA)

Il letto di semina viene modellato per la formazione delle "porche". Quattro solchi ortogonali e paralleli tra loro, a due a due, delimitano l'appezzamento predisposto per la coltivazione, che viene chiamato "aiuola" (localmente detta rasa). Ogni aiuola - la cui superficie può variare da 150 a 1.000 m² - è suddivisa in numerose "porche" larghe circa 80-85 cm, parallele tra loro ed intervallate da un vialetto di servizio largo 30 cm. Una dimensione ottimale dell'aiuola può essere quella di una larghezza complessiva di 20 m ed una lunghezza di 50 m: è indubbio che le dimensioni si devono adattare alle caratteristiche dell'appezzamento a disposizione.

La sistemazione del terreno viene di solito effettuata poco prima della messa a dimora. Il vialetto di servizio si ricava effettuando uno scavo e riportando il terreno sulla superficie della "porca" in modo da elevarne il livello rispetto al fondo del vialetto di servizio. La baulatura del terreno così ottenuta deve assicurare una profondità tra superficie della "porca" e vialetto di almeno 25 cm; quanto sopra è assai importante per favorire il drenaggio del terreno, avuto sempre presente che lo zafferano rifugge dall'umidità. Se l'appezzamento destinato alla coltura è in lieve o medio pendio, le "porche" vengono effettuate lungo la linea di massima pendenza al fine di favorire lo sgrondo delle acque piovane ed il deflusso delle piogge persistenti.

Nelle “porche” si aprono dei solchetti a sezione trapezia, alla profondità di 10-15 cm, entro cui verranno collocati i bulbo-tuberi di zafferano. Il numero dei solchetti varia da un minimo di due ad un massimo di quattro: nel caso di due solchi la distanza è di circa 30 cm da solco a solco; quando i solchi sono tre, la distanza tra essi si riduce a 20 cm; se l’impianto è a quattro solchi, la distanza scende a 15 cm. Nella zona dove la coltura è tradizionale, l’apertura dei vialetti di servizio e dei solchi per la piantagione di norma viene effettuata manualmente; la terra che viene rimossa per l’apertura di un solchetto serve per ricoprire quello adiacente, dopo che i bulbo-tuberi sono stati messi a dimora.

Per facilitare gli allineamenti si usa stendere due fili di corda fissandoli su paletti di legno alle testate delle “porche”. Le operazioni di baulatura, di formazione delle “porche” e dei vialetti di servizio, nonché dei solchi per l’impianto dei bulbo-tuberi, che nel passato ed ancor oggi vengono effettuate a mano con costi elevati, per rendere redditizia la coltura possono essere eseguite meccanicamente.

8.5 COLTURA A CICLO POLIENNALE (SPAGNA-GRECIA-INDIA).

In Spagna si procede all’impianto nel modo seguente. Nell’appezzamento si aprono solchi profondi circa 20 cm e larghi 10-15 cm in modo tale che i bulbi non vengano in superficie quando si moltiplicano negli anni successivi di coltivazione. I risultati ottenuti mostrano che quando i bulbi vengono messi a dimora a 20 cm di profondità, si ottengono circa 3 kg/ha/anno, cifra ben superiore a quella di una coltivazione effettuata ad una profondità di soli 10 cm. In effetti, nel corso dei primi due anni di coltivazione (anno zero e anno 1), la resa a 10 cm di profondità è superiore a quella ottenuta a 20 cm di profondità. È con la terza fioritura (anno 2) che si ottiene la parità di resa. A partire dall’anno successivo, i risultati si invertono.

La distanza tra i solchi varia da 30 a 40 cm, spazio che è ritenuto sufficiente per effettuare l’impianto successivo e per favorire la raccolta del prodotto. Lo scavo del solco è effettuato a mano od anche con un piccolo vomere; in quest’ultimo caso occorre modellare il solco per dargli una sezione rettangolare.

In Grecia le operazioni colturali sono simili, ma i solchi sono più ravvicinati tra loro (20-25 cm), anche se la loro profondità non differisce rispetto a quella spagnola. In entrambi i paesi non si effettua la baulatura, segno evidente che la piovosità ridotta non richiede particolari attenzioni per lo sgrondo delle acque.

In India, dove la coltura è poliennale le precipitazioni possono essere abbondanti, viene praticata la baulatura con fossetti di scolo tutt'attorno a "porche" di piccola dimensione (circa 2,5 m²) e all'interno di esse vengono aperti solchetti paralleli larghi 12-14 cm e profondi 10 cm, con conseguente diverso rapporto tra superficie produttiva e tare di coltivazione. Quando, nella coltura poliennale, l'apertura dei solchi avviene con l'aratro, la terra di un solco serve a ricoprire quello precedentemente aperto: alla fine dell'impianto, il terreno viene livellato operando in senso trasversale rispetto alla direzione dei solchi.

Di recente sono state sperimentate macchine agrarie del tipo piantapate modificate (Galigani, 1987), con risultati abbastanza soddisfacenti: due organi rincalzatori posteriori provvedono alla copertura dei solchi. Una macchina baulotrapiantaince permetterebbe un notevole risparmio di manodopera, diminuendo i costi di produzione.

8.6 TECNICA DELLA MICROPROPAGAZIONE O PROPAGAZIONE IN VITRO

Per micropropagazione o propagazione in vitro si intende la propagazione vegetativa di specie vegetali in una forma miniaturizzata, in condizioni di illuminazione e temperature controllate. Le micropiante vengono coltivate in un gel ricco di tutte le sostanze nutritive di cui necessitano: sali minerali, vitamine, saccarosio, sostanze ormonali.

Il mantenimento della sterilità è uno dei requisiti fondamentali per tutti i tipi di coltura *in vitro* in quanto i mezzi di coltura utilizzati rappresentano un ottimo habitat anche per batteri e funghi.

I principali vantaggi della micropropagazione consistono nella possibilità di produrre in tempi brevi, in spazi limitati e controllati, grandi quantità di materiale omogeneo (CLONE) che conserva le caratteristiche genetiche delle piante madri. Le piantine inoltre possono essere riprodotte con continuità lungo

tutti i mesi dell'anno, svincolando i laboratori commerciali dalla stagionalità tradizionale della propagazione per talea o per innesto. Con la coltura *in vitro* inoltre, è possibile pervenire a un risanamento del materiale di base e alla conservazione nei cicli di moltiplicazione successivi delle caratteristiche sanitarie di quest'ultimo. Grazie a questa tecnica si è inoltre, in grado di moltiplicare piante difficili da propagare con i metodi tradizionali. La coltura *in vitro* rappresenta pertanto un potente mezzo al servizio del vivaismo e della certificazione genetico-sanitaria.

Oltre a rappresentare una tecnica di moltiplicazione altamente efficiente, il *vitro* rappresenta anche un importante strumento per la conservazione della biodiversità, la valorizzazione delle produzioni e la protezione del territorio.

Una importante applicazione della micropropagazione è l'uso di micro-gemme per la crioconservazione, tecnica innovativa per contenere la perdita di risorse genetiche. Lo stoccaggio di gemme, meristemi, semi interi o embrioni, alla temperatura dell'azoto liquido (-196°C), permette il mantenimento del materiale vegetale in assoluta sicurezza genetico-sanitaria e per tempi praticamente illimitati.

La micropropagazione potrebbe essere anche impiegata per la riproduzione di piante medicinali, per la produzione di biomasse o di piante micorizzate, con il duplice obiettivo di proteggere il territorio e di integrare il reddito.

Nel processo di micropropagazione distinguiamo le seguenti fasi:

1. Induzione e stabilizzazione delle colture in ambiente asettico.
2. Promozione dell'attività rigenerativa e moltiplicazione dei nuovi germogli.
3. Induzione e sviluppo di nuove radici alla base dei germogli.
4. Trapianto ed acclimatazione.

La micropropagazione ha inizio con la selezione del materiale vegetale che deve essere propagato. La scelta e la pulizia dei materiali vegetali di partenza sono importanti per la produzione di piante sane. Spesso le piante sono testate per garantirne la "pulizia", cioè l'esenzione da virus, funghi e batteri contaminanti.

La totipotenza cellulare è il presupposto di base per lo sviluppo di questa tecnica. Gli espianti principalmente utilizzati per la coltura *in vitro* si possono classificare in due categorie:

1. nella prima, vengono raggruppati gli espianti che contengono strutture meristematiche preformate come apici, germogli e nodi;
2. nella seconda vengono raggruppati gli espianti costituiti da tessuti differenziati come porzioni di foglie, di stelo, di radici o di fiori.

Nella prima categoria solo in taluni casi le piante ottenute non sono geneticamente identiche all'originale, nella seconda categoria si possono verificare con maggior frequenza mutazioni (variabilità somaclonale) soprattutto quando le piante provengono da callo (cellule indifferenziate). Questa variabilità viene utilizzata nel miglioramento genetico in quanto è uno strumento per aumentare la variabilità genetica.

Una volta selezionato il materiale di base da utilizzare, può iniziare la raccolta dei diversi tipi di espianto dalla pianta madre a secondo della tecnica di micropropagazione scelta.

Prima dell'inizio della coltura *in vitro* è necessaria un'accurata ripulitura esterna del materiale per la rimozione dei parassiti macroscopici e la rimozione mediante sterilizzazione con diversi agenti (alcool, candeggina ecc.) di tutti i parassiti microscopici (soprattutto funghi e batteri) che possono essere presenti sull'epidermide vegetale.

La piccola porzione di tessuto vegetale utilizzata, a volte solo una singola cellula, si trasferisce successivamente in condizioni sterili su un terreno di coltura. I mezzi di coltura rappresentano la fonte principale dalla quale gli espianti traggono tutto il loro nutrimento. Essi consistono in soluzioni acquose o solidificate con agar o altri gelificanti per permettere l'ancoraggio dell'espianto e contengono comunemente saccarosio come fonte di energia, i macro (N, P, K, Ca, Mg, S) e microelementi minerali essenziali per l'accrescimento (Fe, Cu, Zn, Mn, Co, Ni, Al, Na, Mo, I, Cl), uno o più regolatori di crescita (ormoni vegetali), in taluni casi vitamine e amminoacidi e sostanze varie (antiossidanti quali l'acido citrico, acido ascorbico, composti adsorbenti quali il carbone attivo, il PVP polimero che assorbe i fenoli. Per quanto riguarda gli agenti solidificanti, il più comunemente utilizzato e il più costoso è l'agar (polisaccaride di origine vegetale) seguito da altri agenti solidificanti più economici quali le pectine e la gelrite (attiva già a dosi dimezzate rispetto all'agar). I terreni possono anche essere liquidi tal quali o mantenuti in apparecchiature a semi-immersione (RITA®).

I terreni di coltura sono inoltre sterilizzati durante la preparazione per prevenire le contaminazioni di funghi e batteri, che possono prevalere e soffocare l'espanto. Autoclavi e sterilizzazione per filtrazione sono comunemente usati per rimuovere i contaminanti potenziali. Il tessuto vegetale cresce e si differenzia in nuovi tessuti in funzione delle variazioni soprattutto nei fitoregolatori nel terreno di coltura utilizzato. Le principali categorie di fitoregolatori sono: le AUXINE (IAA , IBA, NAA, 2,4D) che sono in grado di differenziare radici avventizie, di indurre la callogenesi, e l'embriogenesi somatica); le CITOCHININE (K, 2iP, Zeatina, BAP, Thidiazuron); le GIBBERELLINE (favoriscono la distensione cellulare, l'allungamento internodi e la crescita degli apici gemmari). Acido gibberellico sensibile alle alte temperature;

I germogli "in vitro" sono eterotrofi, traggono zuccheri direttamente dal substrato e fissano solo in minima parte la CO₂.

8.6.1 LA MICROPROPAGAZIONE DELLO ZAFFERANO

La micropropagazione è la tecnica di coltura *in vitro* più sfruttata commercialmente.

Attualmente sono prodotte in Italia 24 milioni di piantine.

Le specie per le quali si fa il maggior ricorso alla micropropagazione sono:

- fruttiferi (portainnesti di pesco -11milioni 31% e ciliegio 2 milioni),
- alcune ornamentali (da fiore reciso)
- alcune ortive: fragola (30000) e carciofo (oltre 500000 piante).

Le principali specie ornamentali micro propagate sono:

Alocasia, Anthurium, Azalea, Betulla, Bouganvillea, Callistemon, Chamaelaucium, Cordyline, Cotinus, Dieffenbachia, Ficus specie varie, Gardenia, Gerbera, Gipsosila, Grevillea, Haemerocallis, Hosta, Hydrangea, Maratha, Nandina, Nephrolepis e altre felci, Oleandro, Orchidea, Photinia, Ranuncoli, Rododendro, Spathiphyllum, Syringa, Viburno.

Lo zafferano è un triploide sterile ($2n = 3x = 24$) che non riesce a riprodursi spontaneamente o per incrocio, pertanto si riproduce per bulbo-tuberi che si formano annualmente dalla pianta madre nel periodo primaverile. Il bulbo-tubero è a forma di cipolla, un po' schiacciato, bianco e carnoso, rivestito di

membrane fibrose di colore marrone, denominate tuniche o brattee, che solitamente si sovrappongono in tre strati. Dopo la fioritura il bulbo-tubero genera altri bulbi-tuberi (4-10 bulbi figli) appassisce e successivamente marcisce. Un bulbo tubero sopravvive solo per una stagione, producendo al massimo fino a dieci "bulbilli" che alla fine danno luogo a nuovi impianti (Deo, 2003). Il materiale neoformato può essere raccolto in fase di riposo e, se non viene utilizzato a breve termine, è opportuno che venga conservato in ambiente asciutto ed in locali non illuminati. Durante la conservazione inoltre, si possono registrare ulteriori perdite di materiale di propagazione, per cui spesso necessita un'ulteriore selezione consistente nell'eliminare i bulbo-tubero marcescenti, quelli danneggiati dai roditori o dalle operazioni di estirpo. Di quelli sani si utilizzano, per il nuovo impianto, quelli che presentano dimensioni dei diametri superiori ai 2,5 cm. Il materiale che risulta essere al di sotto della dimensione su citata non è in grado di fiorire: pertanto viene messo a dimora in vivaio fino al raggiungimento della misura minima ai fini della produttività.

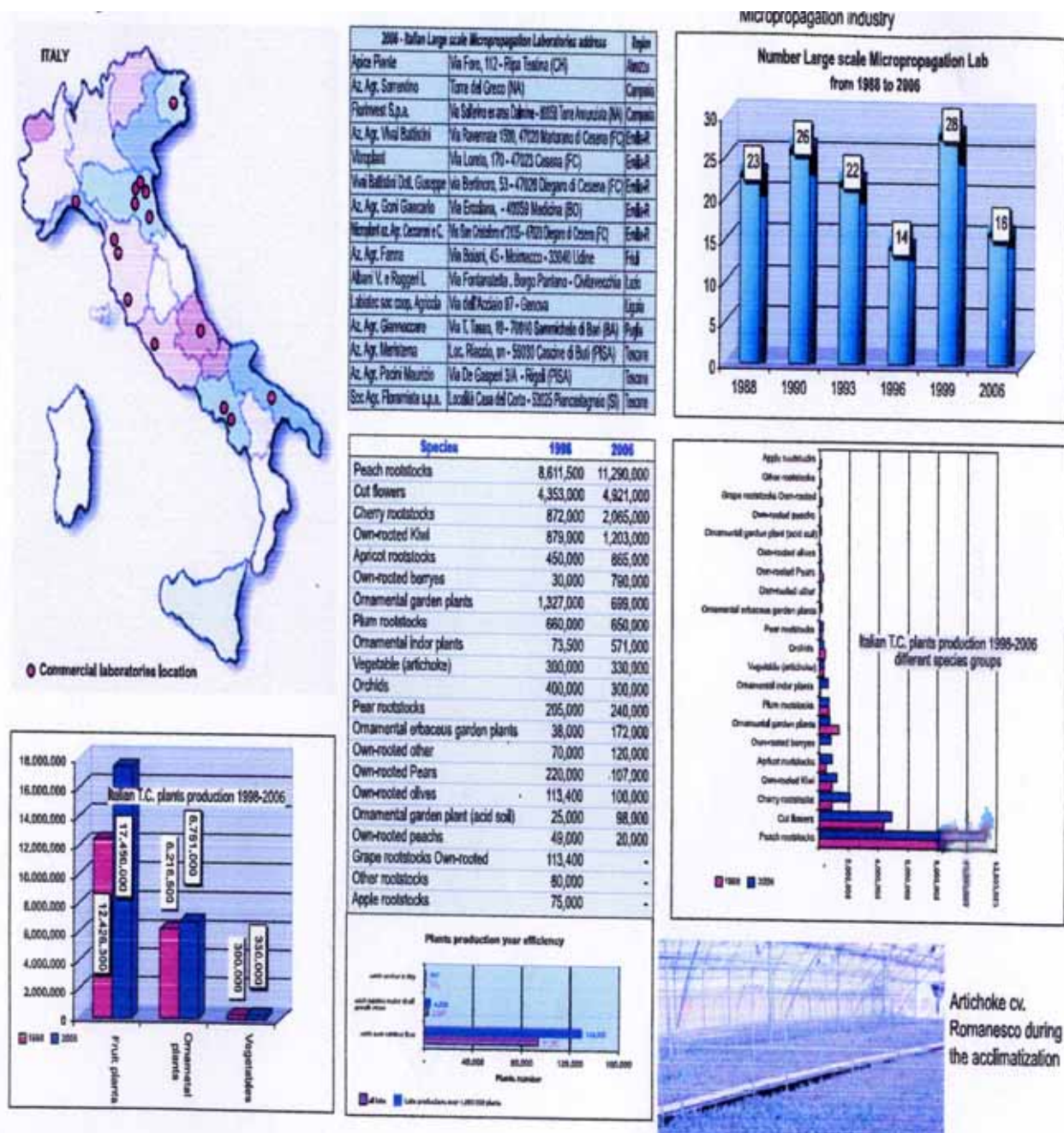


Fig. 2 I laboratori di micropropagazione w principali specie micropropagate in Italia nel 2006 (Carminio *et al.*, 2006)

Considerato il basso tasso di moltiplicazione della specie, la coltura dei tessuti può rappresentare una grande potenzialità per la diffusione su larga scala dello zafferano. L' applicazione di tecniche di coltura di tessuti per la moltiplicazione e genetica miglioramento dello zafferano è stata sottolineata a partire dagli anni' 80 (Ilahi *et al.*, 1987; Isa e Ogasawara, 1988). Nel 1981, Ding

et al. (1979) hanno presentato una ricerca preliminare sulla coltura dei tessuti di zafferano seguita da un altro lavoro sull'induzione di callo e sulla rigenerazione di piantine (Ding *et al.*, 1981).

Huang (1987) ha segnalato la formazione di callo alla base delle foglie che successivamente evidenziavano la formazione di gemme. La temperatura ottimale per la crescita e la differenziazione dei germogli è risultata 15°C. Il tipo di risposta in differenti espianti dipendeva dalla composizione media e dai fitoregolatori di crescita usati. Il lavoro finora svolto *in vitro* nello zafferano è sintetizzato nella tabella 4. Successivamente Plessner e Ziv (1999) hanno esaminato la propagazione *in vitro* e la produzione secondaria di metaboliti nello zafferano.

Yang *et al.*, (1996) hanno classificato 4 tipi di callo da vari espianti, cioè, a) gialla opaca, compatta, granulare ed embriogenica con la capacità di formare sia radici che gemme; b) viola, compatta e nodulare con un'alta differenziazione della radice ma a bassa frequenza di formazione di gemme; c) callosità friabile bianca con bassa frequenza di formazione di gemme e di radici; e d) grumi friabili bianchi opachi che proliferano facilmente ma non hanno potenziale morfogenetico. Fra tutti gli espianti usati, i bulbi e le foglie formavano abbastanza frequentemente il primo tipo di callosità, e ciò implicava che questi erano gli espianti più adatti per una rapida selezione di callo embriogenico. Milyaeva *et al.*, (1995) hanno dato risalto al fatto che i cicli di sviluppo stagionale tipici dello zafferano in ambienti naturali rimanevano uguali durante la coltura *in vitro* ed il periodo tra il mese di aprile e quello di maggio era il più favorevole per la rigenerazione di bulbi. Spesse radici dei bulbi sono state osservate sul mezzo di Murashige e Skoog (1962) addizionato con 2.26 µM di acido dichlorophenoxy acetico (2.4D) e 41.80 µM di chinetina (K). I composti fenolici, in particolare l'acido p-cumarico, hanno avuto un effetto positivo sulla loro formazione, sviluppo e ispessimento (Maryam, *et. al.*, 2004).

Gli studi sul potenziale morfogenetico degli espianti floreali hanno rivelato che strutture simili agli stigmi sono stati indotte su quasi tutti gli organi floreali compresi metà ovari (Himeno, *et. al.*, 1987; Sano, *et. al.*, 1987; Loskutovet, *et. al.*, 1999), stigmi (Koyama, *et. al.*, 1988; Sarma *et. al.*, 1990), petali (Otsuka, *et. al.*, 1992; Jia, *et. al.*, 1996), antere (Sarma, *et. al.*, 1990) e stami (Zhao, *et. al.*, 2001).

Tuttavia, sia la frequenza di induzione di strutture simili agli stigmi che la relativa concentrazione di metaboliti secondari era piuttosto bassa. Tuttavia, i migliori risultati sono stati raggiunti su ovari dimezzati coltivati sul mezzo MS addizionato con 21.48 μM di acido naftalen-acetico (NAA) e 18.20 μM di zeatina (Fakhrai, *et. al.*, 1990).

L'embriogenesi somatica è stata osservata sul mezzo Skoog e Linsmaier addizionato con feniladenina (BA) e NAA (Ahuja, *et. al.*, 1994). Anche l'aggiunta di acido giasmonico (0.5 mg/l) ha mostrato una positiva influenza nell'embriogenesi somatica (Blazquez, *et. al.*, 2004).

Si conosce al momento attuale solo una ricerca riguardante l'isolamento e la coltura dei protoplasti. I protoplasti sono stati immobilizzati nell'alginato di calcio e hanno rigenerato gemme e radici da callo nel mezzo MS addizionato con gli ormoni NAA e BA.

8.7 PREPARAZIONE E MESSA A DIMORA DEI BULBI

I bulbo-tuberi che verranno utilizzati vengono prelevati da altri terreni, che non potranno comunque essere riutilizzati prima di 8-10 anni come detto in precedenza. L'operazione di estirpazione in genere viene eseguita solcando il terreno lateralmente al vecchio impianto ad una profondità adeguata a quella in cui giacciono i bulbo-tuberi (circa 15-20 cm), per evitare di essere lesi dal vomere. I tuberi emergono avvolti in guaine fibrose, fulvo brunastre e rilucenti dei residui basali dei fasci vascolari delle foglie. Sono in gruppi ben saldi di tre o più bulbo-tuberi di diversa dimensione, che si trovano strettamente connessi con il bulbo madre, indicando così la loro provenienza. Dall'attività vegetativa quindi della coltura si potranno raccogliere un numero molto grande di bulbo-tuberi a seconda del tempo di permanenza della coltivazione nel terreno. I bulbo-tuberi verranno prelevati, grossolanamente privati della terra e conservati pronti per essere mondati. La monda dei bulbo-tuberi consiste nell'eliminazione accurata dei residui dei vecchi tuberi, della terra, delle parti che presentino malformazioni o attacchi parassitari, sia animali che vegetali, e nel separare i bulbo-tuberi stessi in ordine di grandezza, separandone soprattutto quelli con un diametro inferiore ai 3 cm che verranno poi piantati a parte. L'ambiente di conservazione deve essere

asciutto, areato, al buio, e verranno disposti in strati sottili fino al momento del reimpianto.

Prima di procedere al reimpianto, i bulbo-tuberi possono venire spogliati delle tuniche più esterne. Poiché detta operazione richiede tempo e manodopera, di solito non viene effettuata. È altresì necessario assicurarsi che i bulbo-tuberi siano sani, non presentino macchie o ferite e soprattutto marcescenze.

Al fine di evitare il diffondersi di malattie fungine, i bulbo-tuberi possono venire trattati con un prodotto fungicida a base di benomyl, lasciandoli in immersione per 15-20' in soluzione al 5-10%. Per la disinfestazione si può usare anche una soluzione al 5% di solfato di rame (Spagna e India).

A Navelli i bulbo-tuberi non subiscono trattamenti di disinfestazione, mentre esperienze nel Parmense la consigliano. (Zanzucchi, 1987).

Completato l'impianto, la superficie dovrà essere livellata con uno spianatoio consistente in una pesante tavola o un rullo leggero, oppure con un semplice rastrello per le superfici più piccole. Questa è un'operazione raccomandata per consentire la migliore adesione del terreno ai bulbo-tuberi, e per eliminare le tracce dei solchi che potrebbero essere causa di accumuli anomali o ristagni d'acqua in caso di piogge abbondanti; la coltura è infatti particolarmente sensibile all'umidità prolungata.

In Spagna (Castilla-La Mancha) alcuni studi confermano che la dimensione del bulbo ha un'influenza decisiva sulla produzione nel corso dell'anno di messa a dimora, a causa delle sue ripercussioni sulla quantità di germogli florali. Negli anni successivi questo fattore perde gradatamente importanza con la comparsa dei relativi bulbilli. A partire dal tredicesimo anno di fioritura, non si osserva più alcuna differenza in relazione alla resa in stimmi secchi ottenuti a partire da bulbi di dimensioni differenti. In Macedonia occidentale non esiste una dimensione ben definita, ma in generale i bulbi molto piccoli non sono utilizzati. Per quanto riguarda le tecniche in uso in Italia, si procede alla selezione dei bulbo-tuberi separando quelli di diametro all'incirca superiore ai 2,5 cm dai restanti: questi ultimi infatti, non sono in grado di fiorire nell'anno, ma produrranno solo foglie. Considerando l'alto costo dei bulbo-tuberi, è opportuno utilizzare anche quelli di diametro piccolo (mezzanelle), collocandoli in un vivaio per l'accrescimento che avverrà al secondo o terzo anno. Infatti In

Sardegna, per quanto concerne la dimensione dei bulbi utilizzati, il diametro è superiore a 2,5-3 cm. I bulbi più piccoli vengono piantati a spaglio in un solco scavato al confine del campo.

8.8 DENSITÀ D'IMPIANTO

La densità di messa a dimora influisce notevolmente sulla resa del primo anno. Questa influenza diminuisce nel corso degli anni. Nel primo anno di coltivazione, la resa degli stocchi ha un evidente rapporto con la quantità di germogli florali, il che dipende, da un lato, dalla densità dei bulbi piantati e, dall'altro, dal numero di germogli per bulbo (che dipende anche dal calibro dei bulbi).

La distanza è un parametro deciso dall'estensione della produzione così da non interferire con lo sviluppo dei bulbi contigui. Per quanto riguarda i sesti di impianto le tecniche sono diverse, sia in Italia che all'estero. Munshi e Baba (1991) hanno registrato i numeri massimi e minimi di fiori/ m² con una distanza rispettivamente di 15 × 5 cm e 20 × 15 cm. Nelle condizioni temperate, asciutte di Sangla, Himachal Pradesh (India) una distanza di 20 × 20 cm è considerata ideale (Panwar, *et. al.*, 1995) quando la produzione deve essere continuativa per 10 anni. Tuttavia, Badiyala e Saroch (1997) hanno osservato che una distanza di file più vicine di 10 × 7.5 cm. rende di più nei primi anni di coltura rispetto a 15 × 10 e 20 × 15 cm a Sangla (Kinnaur), India. In Marocco sono state fatte porche di 2 × 2 m. con file distanti 20 cm l'una dall'altra e con 2 - 3 bulbi piantati a 10-15 cm di distanza l'uno dall'altra all'interno delle file (Ait-Oubahou, *et. al.*, 1999) Tuttavia, in Grecia i bulbi sono piantati in solchi formati con un aratro ad una distanza di 25 × 12 cm (Skrubis, 1989).

In Italia, dove lo zafferano è piantato annualmente, le migliori produzioni di bulbi e fiori sono state ottenute con distanze di 2-3 cm dentro i solchi. Una distanza di 20 × 5 cm è considerata ottimale in Kishtwar (J & K), India (Ram, *et al.*, 1999).

Tradizionalmente nell'altopiano di Navelli si preferisce la formazione di tre solchi per ogni "porca", all'interno dei quali i bulbo-tuberi vengono disposti allineati l'uno a fianco dell'altro, a distanza molto ravvicinata, distanziandoli di 1-

1,5 cm, a seconda delle dimensioni del bulbo-tubero: se è grosso, quasi a contatto; se è piccolo, a distanza di 1,5 cm. Se, viceversa, vengono praticati quattro solchi, si preferisce distanziare i bulbo-tuberi lungo i solchi di 4-5 cm. Da prove eseguite a Navelli e Albareto è emerso che migliori risultati produttivi si hanno con un distanziamento di 5,5 cm tra un bulbo-tubero ed il successivo, lungo il solco e con quattro solchi per “porca”. I bulbo-tuberi necessari per ettaro sono circa 600-700 mila. La profondità di collocamento nei solchi del bulbo-tubero varia dagli 8 ai 10-12 cm. Il solco viene quindi ricoperto dal terreno proveniente dallo scavo del solco adiacente. Il quantitativo di bulbo-tuberi che normalmente si impiegano nell’aquilano per un ettaro è di 13-15 t (peso medio di un bulbo-tubero è di 20-22 g, in un kg il numero oscilla da 45 a 55).

La distanza ha il peso maggiore sulle rese e la conseguente produzione di bulbi. Dhar (1991) ha segnalato che i bulbi di grandi dimensioni vengono prodotti a bassa densità, mentre a più alte densità vengono prodotti bulbi di dimensioni inferiori. Confrontando 10 densità di semina di impianti di bulbi tra 49 e 256 bulbi/m², la disposizione 14 × 14 cm ha determinato maggiori fioriture e peso dei bulbi figli rispetto ad altre densità in Kashmir, India (Dhar, 1992). Bullitta *et al.*, (1996) hanno registrato una alta produzione di zafferano a densità di 67/m² rispetto a 33, 40, e 50/m², mentre, Juan *et al.*, (2003) ha riferito che bulbi di grosse dimensioni piantati a 200 e 300/m² hanno permesso di ottenere l’alta resa in bulbi (rispettivamente 28.4 e 36.3 tonnellate/ettaro) ad Albacete in Spagna.

La densità di messa a dimora in Spagna è di 60 bulbi/ m². Si ottiene tuttavia una resa degli stimmi superiore (in media di 3,0 kg/ha/ anno) con una densità di 120/m². Le rese ottenute con densità più elevate sono superiori nei due primi anni di coltivazione (fino alla fioritura del secondo anno), ma diminuiscono a partire dal terzo anno. In Macedonia occidentale i bulbi vengono piantati a una distanza di 10-15 cm l’uno dall’altro, sulla stessa linea. In Sardegna la densità di messa a dimora varia da un minimo di 10 bulbi a m² a più di 50 bulbi a m².

Con la coltura poliennale l’impianto si effettua con le seguenti modalità:

a) in Spagna, i bulbo-tuberi sono collocati in file binate distanti 8-10cm, lungo la fila la distanza è di 3-4 cm; la profondità di 20 cm circa;

b) in Grecia, i bulbo-tuberi sono distanziati di 15 cm sulla fila, mentre la profondità d’impianto oscilla dai 12 ai 18 cm;

c) in India, i bulbo-tuberi sono piantati in file binate distanti 10 cm l'una dall'altra, mentre lungo la fila sono distanziati di 6 cm. La profondità di messa a dimora è di 10 cm. Quando, nella coltura poliennale, l'apertura dei solchi avviene con l'aratro, la terra di un solco serve a ricoprire quello precedentemente aperto: alla fine il terreno viene livellato operando in senso trasversale rispetto alla direzione dei solchi.

La dimensione del bulbo è un fattore importante per determinare la capacità delle piante bulbose a fiorire (Dhar, 1991; Le Nard, *et al.*, 1993; Kaushal, *et al.*, 2002). La dimensione del bulbo ha un effetto significativo sulla produzione dei bulbi figli, dei fiori e della resa di zafferano in stigmi. Più grande è il bulbo madre, più numerosi sono i bulbi figli che vengono prodotti nel ciclo annuale, cosa che influenza la produzione di fiori/pianta, in quanto si forma un più alto numero di germogli sui bulbi più grandi (DeMastro, *et al.*, 1993). Una relazione positiva fra dimensioni del bulbo e la fioritura nel *C. sativus* è stata dimostrata da Negbi *et al.*, (1989) e da Singh *et al.*, (1994).

Sotto la dimensione minima (sotto 10 g.), i bulbi non danno fiori né durante lo stesso anno né in quelli seguenti. Quindi, piantare bulbi grandi (4-5 cm di diametro) permette migliori produzioni (Picci, 1986; Marzi, 1994/96). Tuttavia, Badiyala e Saroch (1997) e Ram *et al.*, (1999) hanno segnalato che anche bulbi con un diametro di 2.5 cm hanno prodotto fiori oltre a produrre bulbilli. I bulbi che misurano 3.5 cm e che pesano 20 g hanno prodotto quattro volte più fiori dei bulbi che pesavano solo 10 g (Budhiraja, 1942). Similmente, Bullita *et al.*, (1996) Cavusoglu ed Erkel, (2005) Pandey *et al.*, (1974) e Zaffer *et al.*, (1999) hanno anch'essi segnalato che bulbi di 3.5 cm di diametro o più hanno dato i migliori risultati. Yattoo *et al.*, (1999) hanno riferito che bulbi più grandi (>3 cm di diametro) hanno prodotto il 7.9% di stimmi secchi/ettaro rispetto a bulbi di dimensioni inferiori (1.5-2.5-cm di diametro) in Kashmir, India. Allo stesso modo, Juan *et al.*, 2003 hanno registrato le più alte produzioni di fiori da bulbi di grandi dimensioni in Spagna. Munshi *et al.* (2003) hanno sostenuto che grandi bulbi (3.25-3.75 cm) hanno determinato la maggiore lunghezza degli stigmi ($\pm 4.93 \pm 0.95$ cm), il più alto numero di fiori/bulbo (2.45 ± 0.40), la maggiore lunghezza delle foglie (47.00 ± 1.78 cm) e il maggior numero di bulbi figli/bulbi madre (8.50 ± 0.98) in Kargil, India.

Un aumento nel peso del bulbo al di sopra di un valore specifico ha causato una riduzione del numero di fiori per bulbo dovuto probabilmente all'invecchiamento (Mashayekhi, *et. al.*, 1997). De Mastro e Ruta (1993) hanno registrato il numero massimo di fiori/pianta (10-12) con bulbi di dimensioni maggiori (40-50 g) delle dimensioni frequenti (20-30 g) in Italia. La semina di bulbi grandi ha un effetto benefico ben documentato sulla successiva fioritura e produzione di stimmi secchi nell'anno di semina (Negbi, *et al.*, 1989; Pandey, *et. al.*, 1974; Rees, 1988); tuttavia, McGimpsey *et al.* (1997) hanno segnalato che l'effetto significativo delle dimensioni del bulbo sulla fioritura non diventava evidente fino alla seconda stagione in Nuova Zelanda. Omidbaigi (2005), ha ottenuto stigmi di zafferano di alta qualità piantando bulbi di 15 g in Iran. Nelle condizioni di Palampur, sono stati ottenuti 3 fiori/bulbo con stigmi di 3.2 cm di lunghezza e bulbo di 16.5 g di peso e 3.5 cm di diametro (fig. 8).

La densità di semina dipende dalla dimensione /peso del bulbo, dalla durata della coltura. Circa 25-30 quintali di bulbi di zafferano o circa 500.000 bulbi di diametro medio di 2.5 cm devono essere piantati in 1 ettaro, mentre Ram *et al.*, (1999) sostengono che circa 40 q di bulbi del formato adatto (diametro di 2.5 cm) con un peso medio di 10 g sono necessari per la semina di 1 ettaro di terra in Kishtwar, India. In Italia, dove si ha un raccolto annuale, la quantità ottimale di bulbi/ettaro è 130-150 q cioè circa 600.000 – 700.000 bulbi con un peso medio di 20-22 g ciascuno (Tammaro, 1999). In Marocco, sono usati 30 q di bulbi/ettaro (Ait-Oubahou, *et. al.*, 1999). In Grecia, vengono usati 20-30 q di bulbi di zafferano o circa 230.000-250.000 bulbi di diametro medio di 2.2-2.5 cm/ettaro (Goliaris, 1999).

Prove condotte nell'Italia centrale presso la stazione sperimentale ARSIAL di (Frosinone) che avevano per obiettivo lo studio della produttività dello zafferano in ciclo poliennale e sull'influenza dell'investimento unitario sulla produzione di stimmi secchi hanno permesso di accertare quanto segue.

Il ciclo poliennale di produzione ha permesso di ottenere le produzioni più elevate via via decrescenti fino al 4° anno di produzione

Tranne che nei casi in cui i bulbi possano essere comprati a prezzi segnatamente bassi, è consigliabile piantare bulbi a media densità (tra 111 e 116

g/m²) poiché in confronto ai trattamenti ad alta densità la resa in stigmi secchi è simile e il numero di bulbi figli prodotti più alto.

8.9 CONCIMAZIONE

Sia concimi che fertilizzante giocano ruoli importanti nella coltura dello zafferano, anche se lo zafferano è una coltura a bassi input. Se oltre ai fiori, vengono raccolte le foglie dello zafferano, per ogni tonnellata di foglie, vengono asportati dal terreno 10.2 kg di azoto (N), 3.2 kg di fosforo (P) e 22.8 kg di potassio (K) (Kianmehr, 1984). L'uso dei concimi organici migliora generalmente la condizione fisica e la struttura del terreno e la sua capacità di trattenere l'acqua. La concimazione di fondo con letame viene attuata con 15-22 tonnellate/ettaro a Ranikhet (Tarantilis, *et. al.*, 1995; Wani *et. al.*, 2003), 20 tonnellate in Grecia, (Skrubis, 1982) 15-20 tonnellate nel Kashmir, (Yatoo, *et. al.*, 1999; Munshi, 1990) 30 tonnellate a Sangla, India (Rana, *et. al.*, 1999), ed in Italia (Picci, 1986), 40 tonnellate in Iran (Behnia, *et. al.*, 1999). La concimazione organica da sola non può far fronte alle esigenze nutrizionali dello zafferano; tuttavia, la combinazione di N, di P e di K (NPK) più i concimi organici migliora la produzione di fiori la resa e la qualità degli stimmi (Picci, 1986/87). Il concime organico è importante per la promozione della produzione dello zafferano in terreni poveri. È, quindi, indispensabile integrare i concimi organici e minerali per ottenere più alte rese. L'aggiunta di 30 tonnellate di letame bovino più 50 kg di fosfato di ammonio/ettaro ha fatto registrare un'importante crescita nella produzione di zafferano dovuta alla bassa dotazione organica del terreno, mentre, in un'altra località 100 kg di urea/ettaro da soli hanno dato la più alta resa in fiori secondo uno studio di 8 anni condotto in Iran (Behzad, *et. al.*, 1992). Il fertilizzante era stato somministrato dopo la raccolta dei fiori ed appena prima della seconda irrigazione. Inoltre, Behzad *et al.*, (1992) hanno confrontato gli effetti delle combinazioni differenti di NPK e di letame bovino su una produzione di zafferano nel corso di 8 anni di prova ed hanno riferito che l'N ha avuto il massimo effetto nell'aumentare la produzione di fiori. In terreni sabbiosi, l'aggiunta di 20 tonnellate di materiale organico con 100 kg di concime a base di N+ P+ K/ettaro ha dato la più alta produzione di zafferano (Bullitta, *et al.*, 1996).

Ricerche nei Paesi Bassi hanno dimostrato che la resa più alta di bulbi su terreni sabbiosi o tendenzialmente sabbiosi sono stati ottenuti con un'applicazione annuale frazionata di 150 kg N/ha (Hof, *et al.*, 1988). Invece, in ambienti piovosi, Munshi *et al.*, (1989) caldeggiavano l'applicazione di 20 kg di N, 80 kg di P e 20 kg di K al momento della “semina” o prima della erpicatura finale (cioè la prima settimana di settembre) e dopo la fine della fioritura (cioè, terza settimana di novembre) con 20 tonnellate di sostanza organica. In ambienti piovosi nel Kashmir, N e K a 30 chilogrammi e P a 40 kg/ettaro si sono rivelati ideali (Ram *et al.*, 1999; Munshi, 1994). I fertilizzanti sono stati applicati in due parti uguali, una durante la prima settimana di settembre ed un'altra durante la terza settimana di novembre. Dosi più elevate di N, P e K ($N_{90}-P_{60}-K_{60}$ Kg/ettaro) hanno fatto aumentare significativamente la produzione dello zafferano a Sangla (Kinnaur), India (Badiyala, *et al.*, 1993; Rana, 2000). Tuttavia, un significativo incremento nella produzione dello zafferano è stato registrato con l'applicazione di un livello medio di sostanze nutritive (45-50-30 kg/ettaro) di N, P e K e con un'elevata quantità di sostanza organica (20 tonnellate/ettaro) in Kashmir, India (Yatoo, *et al.*, 1999). Singh *et al.*, (1997) hanno studiato l'effetto dell'interazione di P e di K ed hanno ottenuto un aumento del 125.64% nella produzione controllata dello zafferano applicando 35 chilogrammi P e 30 chilogrammi K /ettaro a Kishtwar (J& K), India.

In Iran la resa dello zafferano è aumentato del 33% applicando 46 chilogrammi N/ettaro sotto forma d'urea e 30 tonnellate di letame/ettaro (Rezaian, *et al.*, 2004). Inoltre, Hosseini *et al.* (2004) hanno anche segnalato che applicazioni fogliari hanno in marzo ha aumentato il numero di fiori del 33%. Boynton (1954) ha sottolineato l'influenza della fertilizzazione fogliare per l'eliminazione della carenza di sostanze nutritive nei prodotti e nelle piante orticole. L'applicazione di potassio aumenta il contenuto di K e di clorofilla, il relativo contenuto di ATP (tri-fosfato dell'adenosina) e il tasso foto-sintetico netto nelle foglie (Yun, *et al.*, 2004). Unal e Cavusoglu (2005) hanno studiato l'effetto di vari fertilizzanti a base di azoto sullo zafferano in Turchia ed hanno segnalato che l'urea ha contribuito ad ottenere il più alto numero di fiori e il maggior peso di zafferano fresco e secco ed asciutto mentre il nitrato di ammonio ha influenzato l'altezza massima della pianta.

In Sardegna, gran parte delle aziende aggiunge stallatico maturo (ovino – bovino – equino) nell'autunno precedente a quello della messa a dimora, in quantità pari a 20–40 t/ha. Oltre all'apporto organico, parte delle aziende aggiunge concimi minerali fosfatici e potassici in ragione di 120 unità di P_2O_5 e 80 unità di K_2O .

In Spagna, nella regione della Castilla–La Mancha, durante l'anno zero della coltivazione (precedente alla messa a dimora), raccomandano di interrare, tre mesi prima della messa a dimora, 20 - 30 (t/ha) di stallatico. Questa operazione viene effettuata attraverso una lavorazione a profondità media, con l'aggiunta di concime minerale nel periodo maggio-giugno. Le quantità medie di concime minerale consigliate sono pari a 40–50 kg/ha di azoto sotto forma di solfato di ammonio (21% N_2), 80–100 kg/ha di fosforo sotto forma di superfosfato di calcio (18% P_2O_5) e 100–120 kg/ha di potassio sotto forma di solfato di potassio (60% K_2O_5) (Muñoz, 1987; Pérez, 1995; I.T.AP., 1998). Al secondo anno di coltivazione, la concimazione minerale viene praticata circa 20 giorni prima della germogliazione, in concomitanza con le piogge autunnali: le dosi consigliate sono perfosfato di calcio 1,5-2 q/ha; nel terzo anno non viene praticata alcuna concimazione.

In Francia, alcuni autori consigliano prima dell'impianto, in aggiunta alla concimazione organica, una somministrazione di un concime ternario (50-50-50) di N - P - K, una ulteriore concimazione azotata in copertura nei mesi tardo-invernali ed una concimazione ternaria nel mese di settembre (Gillj, 1986). Il concime organico è interrato con un'aratura, mentre quello minerale può essere somministrato contestualmente alla letamazione o può essere localizzato in presemina, almeno un mese prima dell'impianto.

8.10 IRRIGAZIONE

Di norma la coltura non viene irrigata, perché nel periodo di maggiori carenze idriche i bulbo-tuberi sono in riposo. Non sono stati fatti molti studi sul fabbisogno idrico dello zafferano perché l'esigenze erano basse e la coltivazione avveniva in ambienti irrigati o piovosi (Fernandez, 2004).

Nel Kashmir, lo zafferano è coltivato solo con l'ausilio della pioggia (1000-1500 mm/anno). A causa della penuria d'acqua, la produzione di zafferano nel Kashmir sta diminuendo.

L'irrigazione con 350-500 m³ di acqua/ettaro è realizzata di solito una volta alla settimana da settembre a novembre ed ogni due settimane a partire da dicembre fino a marzo. Nessuna irrigazione viene fatta durante i mesi di aprile-agosto che corrispondono al periodo di dormienza dei bulbi in Marocco (Ait-Oubahou, *et. al.*, 1999). Altri autori (Koocheki, 2004; Mosaferi, 2001) ritengono che siano necessarie irrigazioni di circa 3000 m³ annui per ettaro in Iran e di circa 500 m³ in Marocco (El-Otmani, 1999). L'umidità all'inizio della primavera è necessaria per lo sviluppo dei bulbi, (Rees, 1988) mentre la pioggia immediatamente prima della fioritura aumenta la produzione di fiori. È forse l'umidità nel terreno che stimola l'allungamento florale. L'irrigazione contenuta durante i primi mesi dell'autunno contribuisce ad accelerare la fioritura e l'aumento della produzione del prodotto. In Spagna, lo zafferano è coltivato in ambienti temperati asciutti con una pioggia annuale di circa 400 millimetri, tuttavia il prodotto viene irrigato. In Grecia, le zone produttrici dello zafferano dispongono di 500 millimetri di pioggia annuale. I periodi critici per l'acqua sono comprendono marzo ed aprile, quando i bulbi si sviluppano, seguiti da settembre per il miglioramento quantitativo e qualitativo del raccolto (Goliaris, 1999).

Srivastava (1963) ha segnalato che l'irrigazione a metà-settembre incide sullo sviluppo dei bulbi e sulla produzione di fiori poiché l'irrigazione durante questo periodo equivale a tre irrigazioni. Tre irrigazioni ad un intervallo dei 15 giorni durante il mese di agosto e settembre hanno contribuito ad accelerare la fioritura e quindi hanno aumentato la resa dello zafferano a Sangla (Kinnaur) India (Rana, *et al.*, 2003). Le porche possono essere irrigate una volta o due volte, durante Marzo-Aprile a seconda del terreno e delle circostanze climatiche.

In India (Kashmir) si pratica una irrigazione con piccoli volumi d'acqua, ad infiltrazione laterale, che si ritiene possa anticipare la fioritura ed aumentare la produzione. Si riferisce anche (Fontana, 1934) che l'irrigazione vale ad assicurare una produzione più regolare ed abbondante, a discapito del colore e dell'aroma. È stato constatato infatti che, nella Macedonia occidentale, con l'irrigazione artificiale la crescita del fogliame aumentava molto rapidamente a discapito del numero e della qualità dei fiori, ostacolando al contempo la raccolta dei fiori. In Macedonia occidentale l'irrigazione non viene praticata (Tammaro, 1990; Skubris, 1990). In Sardegna la coltivazione dello zafferano viene praticata interamente a secco.

Il clima mediterraneo temperato della tarda estate e primo autunno, che caratterizza l'appennino italiano, riesce ad assicurare una sufficiente umidità al terreno e la coltura dello zafferano non viene assoggettata alla pratica irrigua.

Tradizionalmente, la qualità dell'acqua utilizzata per l'irrigazione dello zafferano non è mai stata un fattore di cui si sia tenuto conto. La pianta presenta un'elevata tolleranza alla salinità.

Generalmente, per quanto riguarda i sistemi di irrigazione, ne vengono impiegati principalmente tre: per scorrimento, per aspersione, a goccia. Questi vengono scelti in base alle condizioni climatiche e al tipo di terreno. I diversi effetti di questi sistemi vengono illustrati in tabella 4.

Tabella. 4. Effetti della salinità sulla produzione dei bulbi dello zafferano

Conduttività elettrica a 25° ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Produzione dei bulbi (%)
Fino a 1.200	100
Tra 1.200 e 2.200	85
Tra 2.200 e 3.700	70
Tra 3.700 e 4.500	50
Tra 4-500 e 7.000	35
Più di 7.000	Sopravvivenza

Tabella 5. Effetti dei vari sistemi di irrigazione

Sistema d'irrigazione	Irrigazione per scorrimento	Irrigazione per aspersione	Irrigazione a goccia
Particolarmente indicato per :	Climi freschi che richiedono solo un'irrigazione di soccorso	Terreni argillosi con drenaggio insufficiente	Colture intensive o estensive con investimento unitario elevato (>di 200 bulbi/m ²)
Sconsigliato per :	superfici superiori ad un ettaro e che richiedono meccanizzazione	Quando le acque sono di cattiva qualità	Colture a ciclo lungo e di bassa densità
Infestanti	Dopo l'irrigazione questo sistema facilita l'insorgenza delle infestanti	Sistema efficace per scoprire le infestanti e valutare i trattamenti da utilizzare	Sistema meno conveniente rispetto agli altri due
Estrazione dei bulbi	Agevola l'estrazione ma è difficile da controllare	E' il sistema migliore per questa operazione, poiché si ottiene un'umidità ottimale in ciascun appezzamento	Il sistema non può essere utilizzato per questa operazione
Meccanizzazione della raccolta dei fiori	Non è molto efficace	Con densità elevate, la formazione di croste viene contrastata con irrigazioni frequenti.	Il sistema non può essere usato
Crescita dei bulbi	Sistema meno adatto	Aumento significativo rispetto all'irrigazione per scorrimento	Il sistema consente di ottenerle maggiori dimensioni dei bulbi,poiché grazie all'umidità costante si amplia il periodo vegetativo
Dissodamento del suolo	Non pone alcun problema	Il metodo migliore per realizzare le lavorazioni	Questo sistema non permette il controllo delle infestanti con mezzi meccanici

8.11 CONTROLLO DELLE ERBE INFESTANTI

Le piante infestanti determinano perdite nella coltivazione dello zafferano, stimate fra il 5 e il 20% (Pérez, 1995). Il problema delle infestanti è particolarmente legato al ciclo produttivo. Quando la coltura è annuale la competizione delle infestanti non è eccessiva; infatti lo zafferano raggiunge il massimo sviluppo vegetativo in marzo-aprile, quando la vegetazione infestante è contenuta. Quest'ultima raggiunge il suo massimo rigoglio nel periodo maggio-luglio, quando lo zafferano è in vita latente sotterranea.

Nell'altopiano di Navelli, dove tradizionalmente la coltura è annuale, il controllo delle infestanti è trascurato, tant'è che a fine maggio-primi giugno lo zafferaneto viene falciato. Il problema delle infestanti è viceversa presente quando la coltura è poliennale, perché è necessario allontanare le erbe estranee prima delle germogliazioni autunnali. Se il terreno non è baulato, come in Spagna, si praticano delle fresature od erpicature incrociate, superficiali, in modo da non lesionare i bulbo-tuberi ed al contempo estirpare le infestanti. Lo stallatico viene incorporato nel corso del preimpianto, nel momento in cui le piante infestanti vengono eliminate. Questa sarchiatura pre-impianto, seguita da quelle di aprile e maggio, sono sufficienti per il controllo delle infestanti. In caso di presenza di piante infestanti, è raccomandato realizzare una lavorazione a 10 - 12 cm di profondità un mese dopo la messa a dimora, facendo ben attenzione a non danneggiare i bulbi (Pérez, 1995) le lavorazioni, che esercitano anche la funzione di mantenere fresco il terreno, sono ripetute e vengono praticate fino al mese di settembre. Se viceversa il terreno è baulato, occorre effettuare delle fresature con motocoltivatori, facendo lavorazioni superficiali per non rovinare la coltura.

Per ridurre gli interventi manuali o meccanici si sono studiate pacciamature (film di polietilene, chips di legno, segatura, trucioli, foglie e steli di felci, paglia di segala) o coperture verdi (graminacee, senape con successivo sovescio). I risultati migliori si sono ottenuti per le pacciamature con derivati del legno, in particolare chips, segatura e trucioli, (Bianchi, 1982; Zanzucchi, 1986).

In Grecia era consuetudine effettuare la rimozione del terreno, e la conseguente distruzione delle infestanti, mediante calpestii animali (muli ed asini), in modo ripetuto (fino a tre volte) entro i primi di settembre, con un'aratura

leggera o un trattamento con la fresa, prima e dopo la messa a dimora dei bulbi. La profondità di lavorazione dopo l'impianto non deve superare gli 8 - 10 cm, affinché i bulbi non emergano dal terreno o non vengano danneggiati. In Sardegna, gli strumenti utilizzati per il controllo delle erbe infestanti sono la zappa per gli interventi sulla linea, cui si aggiungono l'utilizzo di motocoltivatori per la sarchiatura, la fresatura o la rincalzatura negli spazi tra le file.

Il *Crocus sativus* L. essendo una pianta a crescita lenta; affronta un'infestazione severa da parte di un grande numero di erbacce. I campi che sono invasi dalle erbacce mostrano scarsa fioritura o addirittura muoiono. Parecchie infestanti come *Anagalis arvensis*, *Avena fatua*, *Digitaria sanguinalis*, *Equisetum* sp., *Cyperus aristatus*, *Malva rotundifolia*, *Malva verticillata*, *Portulaca oleracea*, *Gallinsoga parviflora*, *Chenopodium album*, *Chenopodium amranticolor*, *Stellaria media*, *Echinochloa crusgalli*, *Poa annua*, *Allium wallichii*, e *Medicago falcata* sono presenti nelle colture di zafferano (Goliaris, 1999; Hetman, 1992; Rana, et al.,1999). Le erbacce sono in genere controllate con mezzi meccanici; questo è il metodo il più efficace il più rispettoso dell'ambiente, ma anche il più costoso. Anche se c'è un'esigenza crescente per produrre zafferano biologico, si ritiene di fondamentale importanza il controllo delle infestanti con mezzi chimici. Pochissimo lavoro è stato fatto su questo aspetto. Hetman e Laskowska (1992) hanno segnalato in Polonia che i principi efficaci per il controllo delle malerbe fino alla conclusione del periodo vegetativo erano fluorochloridon e la simazina applicati in autunno e la cynazine, il matamitron applicati in primavera. Bullitta et al.,(1996) hanno osservato che chlorthal e glyphosate hanno dato un controllo efficace delle infestanti fra le file di *Crocus* fino a che lo spazio tra le fila diventa troppo stretto in Sardegna. Studi condotti a Sangla in Himachal Pradesh (India), rivelarono paraquat @ 0.6 kg/ettaro o sarchiatura manuale seguita dal pendimethalin 1.5 kg/ettaro o metolachlor 1.5 kg/ettaro o fluchloralin 1.0 kg/ettaro sono risultati efficaci nel controllo delle malerbe nello zafferano. L'atrazina si è rivelata tossica per le piante dello zafferano (Rana, et al.,1999). In Grecia, Goliaris (1999) ha realizzato il migliore controllo delle erbacce con i diserbanti simazina ed atrazina a 1.0 kg/ettaro.

Vafabakhsh (2001), ha osservato che il metribuzin applicato sia prima che dopo la nascita ha dato un migliore controllo rispetto ad altri trattamenti in Torbat,

Iran. Fusilade ed betanale inoltre sono considerati efficaci nel controllo delle erbacce e delle piante infestanti a foglia larga dello zafferano (Pruthi, 2001).

In Spagna i prodotti chimici più utilizzati sono due carbammati (erbicidi per contatto) a bassa persistenza nel suolo: il diquat e il paraquat, che vengono applicati fra giugno e agosto nel periodo di dormienza vegetativa, generalmente a dosi da 2 a 4 l/ha (I.T.A.P., 1998). L'ITAP ha realizzato studi basati sull'apporto di diversi diserbanti quali il glifosate, il linuron, il metribuzin, il pendimetalin e il bentazon alla coltura dello zafferano. Tali diserbanti venivano applicati da soli o in combinazione fra di loro fra dicembre o febbraio, in funzione della loro modalità d'azione. Per quanto concerne le applicazioni individuali, il metribuzin 70% (1 kg/ha) risulta essere il miglior trattamento contro le piante infestanti, senza intaccare la resa dei fiori. Il glifosate 20% (8,5 l/ha) sembra sia responsabile della comparsa di fiori anomali.

Rispetto al testimone, i risultati migliori in termini di aumento del numero e del peso dei fiori, oltre che di peso degli stammi, si sono ottenuti a partire da miscele di metribuzin 70% (1 kg/ha) e pendimetalina 33% (3 l/ha) o miscele di metribuzin 70% (0,75 kg/ha), pendimetalin 33% (3 l/ha) e bentazon 48% (3 l/ha). In Sardegna, vengono utilizzati diserbanti chimici.

9. CONTROLLO DEI PARASSITI ANIMALI

La coltivazione può anche subire danni causati da roditori (ratti e arvicole) che si nutrono di tuberi. I roditori che arrecano i maggiori danni sono le talpe, le lepri e i topi campagnoli. Le prime scavano gallerie nel terreno e si cibano dei bulbo-tuberi, di cui sono molto ghiotte, mentre le lepri ed i topi arrecano danni soprattutto alla parte vegetativa, superficiale. Inoltre topi e talpe causano considerevoli danni al raccolto dello zafferano eliminando i bulbi e anche i corvi provocano danni alla fioritura causando una grande perdita di fiori (Dhar, 1990). Un parassita insolito del *C. sativus* è la cantaride che attacca il fiore di mattina presto alla ricerca di miele, danneggiando lo stigma (Rees, 1988). Chandel *et al.* (1996) hanno segnalato come nuovo parassita dello zafferano lo scarabeo delle bolle (*Mylabris macilenta*).

La lotta consigliata contro questi predatori consiste nella preparazione di esche avvelenate e, nel caso di roditori che scavano gallerie, nella introduzione di

sostanze tossiche gassose all'interno di queste. Nella preparazione delle esche vengono utilizzati diversi prodotti tossici, tra i quali i più diffusi sono l'arsenito sodico, l'anidrite di arsenico, la stricnina e il fosforo di zinco. Tali prodotti vengono somministrati mescolandoli a granaglie (avena pestata, frumento, mais) o ad erba medica tritata oppure cospargendoli su alcuni frutti (grappoli di uva). È opportuno ricordare che questi preparati sono altamente pericolosi e quindi vanno usati con molta cautela. Per combattere le talpe e i topi che vivono in gallerie sotterranee si introducono all'interno di queste delle micce accese che producono gas tossici (zolfo bruciato o paglia incendiata mescolata con zolfo). In Spagna, gli agricoltori, per uccidere questi animali, utilizzano i gas di scarico provenienti dai tubi di scappamento di motor-scooter lasciati accesi per alcune ore. Affinché i gas sprigionati si diffondano lungo tutta la galleria, si può intervenire con piccoli mantici, avendo cura di chiudere l'apertura della galleria subito dopo per impedire la fuoriuscita del fumo e la fuga degli animali prima che il gas tossico li aggredisca.

10. STRESS BIOTICI, ED ALTRE PATOLOGIE DELLO ZAFFERANO

I problemi più gravi cui sono soggetti i bulbi sono generalmente i funghi *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladioli*, *Rhizoctonia croccorum* e *Rhizoctonia violacea* Tul, nonché l'acaro *Rhizoglyphus*. La produzione dello zafferano è influenzata da parecchi agenti biotici. Il marciume dei bulbi è la malattia più seria dello zafferano, causata da funghi che crescono nel terreno, cioè *Rhizoctonia* sp., *Fusarium Solani* sp., *Phoma Crocophila*, *Macrophomina phaseolina* e una specie di Basidiomycotina (Dhar, 1990; Thakur, 1997). I bulbi infetti sviluppano macchie di colore rosso, marrone, nero e bianco. L'infezione causata dalla *Macrophomina phaseolina* è stato segnalato da Carta *et al.* (1982) per la prima volta in Italia. In India, Thakur *et al.*, (1992) hanno segnalato il marciume dei bulbi di zafferano causata dalla *Macrophomina phaseolina* con sintomi sul 30-40% di bulbi. La malattia è stata notata durante la semina. L'insorgenza di *Fusarium oxysporum* f. sp. *Gladioli* sullo zafferano in Italia è stata segnalata da Cappelli (1994). In Italia, Francesconi (1974) ha citato il marciume dei bulbi di zafferano causata da *Penicillium cyclopium* nel periodo compreso tra luglio e agosto con condizioni ambientali caldo umide. I bulbi danneggiati erano più sensibili alle malattie. I

sintomi primari di decomposizione compaiono durante la fase di fioritura causando l'ingiallirsi e l'appassire delle gemme dovuto alla marcescenza della parte basale del fusto ed allo sviluppo di macchie bianche e rotonde sul bulbo (Hassan, *et. al.*, 2003). Un aspetto polveroso nero si crea sotto lo strato esterno del bulbo.

Shah e Srivastava (1984) sono riusciti a controllare con successo il marciume dei bulbi di zafferano causata dal *Fusarium oxysporum* f. sp. *Gladioli* con captafol 80%, carbendazim o benomile ciascuno a 0,2%, tenendo a bagno i bulbi per 20 minuti prima della semina. Chlorpyrifos o forate 10 G o quinalphos 5 G, kg/ettaro, 25-30 kg/ettaro al momento della semina aiutano efficacemente a controllare l'attacco delle larve di coleotteri (Mondal, *et. al.*, 2002).

Secondo Benschop (1993), le principali malattie fungine che possono colpire il genere *Crocus* durante l'immagazzinamento sono *Penicillium verrucosum* var. *Corymbiferum*, *Uromyces croci* Pass e *Fusarium* sp. Nello specifico facendo qualche esempio possiamo dire che il maggior danno è attribuibile al fungo *Rhizoctonia violacea* o *Sclerotinium crocorum*. Questo fungo, nella prima fase, si manifesta con l'apparire sul bulbo-tubero di un sottile micelio bluastrò, il quale rapidamente si diffonde da un bulbo-tubero all'altro, formando a poco a poco piccole verruche carnose di color violaceo. Questa patologia è conosciuta dagli agricoltori con il nome di "mal vinato". Il bulbo-tubero colpito da questa infezione, se estratto dal terreno, si presenta raggrinzito e marcescente ed emana un forte odore di muffa.

La malattia ha carattere epidemico e si diffonde con estrema rapidità, specialmente se il terreno è umido. Attualmente non si conoscono dei trattamenti diretti per combattere efficacemente tale malattia; l'unico sistema di difesa è quello di impedirne la diffusione circoscrivendo la zona infetta. Nei casi più gravi, nei quali non è stata repentinamente circoscritta l'infezione, ogni mezzo di lotta risulta inutile e pertanto non rimane altro che destinare il terreno, per almeno 10-12 anni, ad altre colture resistenti all'attacco di questo fungo.

Un'altra grave malattia, conosciuta come "carie" o "fumaggine", è dovuta all'azione dei funghi *Phoma crocophila* (Mont) Sac. e *Perisporium cromophilum* (Mont). L'infezione si manifesta con placche irregolari di color nero opaco, riscontrabili in prossimità delle radici al di sotto delle tuniche che rivestono i

bulbo-tuberi. Sotto queste placche, il parenchima amilifero si necrotizza gradualmente, trasformandosi in una massa secca, brunastra e quasi polverulenta. La parte ipogea della pianta colpita presenta una vegetazione stentata caratterizzata dalle foglie che non si aprono. Tale malattia è più temuta nei terreni argillosi ed umidi, dove si manifesta più frequentemente. Un fattore predisponente è la cattiva conservazione dei bulbo-tuberi, specie se questa avviene in luoghi umidi, male aerati, o in cumuli eccessivi. Anche per questa malattia è importante la lotta preventiva. Queste due micosi non hanno mai rappresentato un serio pericolo in Italia, dove invece da una quindicina di anni è stata riscontrata un'altra pericolosissima micosi messa in evidenza dal Francesconi nel 1973, causata dal *Penicillium cyclopium*.

Tale micosi determina un marciume violaceo-nerastro nel bulbo-tubero e si manifesta di massima quando i bulbo-tuberi sono lesionati o indeboliti per altre cause (insetti) e soprattutto quando la stagione decorre calda e umida. La malattia si previene immergendo i bulbo-tuberi, prima della semina, in soluzioni acquose di sostanze mercurio-organiche o fitalmidiche. Sempre nell'Aquilano, è apparsa da alcuni anni una gravissima infezione, segnalata da Tammaro, che determina un abnorme sviluppo delle foglie e delle guaine (anche fino a 50 cm). La pianta si mostra sfilata e bianca per le guaine che non lasciano uscire né le foglie né il fiore regolarmente conformato. Nel bulbo-tubero si ha deliquescenza delle cellule, che gradualmente si svuotano del materiale amilaceo. L'agente che causa questa malattia sembra essere un *Fusarium* Sp., il quale probabilmente produce ormoni gibberellici a cui si deve l'abnorme crescita delle foglie e guaine.

Lo zafferano è infestato da tipi differenti di virus: virus a mosaico del fagiolo giallo (BYMV), virus di crepitio del tabacco e virus del mosaico dell'arabis (In <http> 2007). Kaneshige et al. (1991) hanno segnalato BYMV sulle foglie di zafferano in Giappone. Miglino et al. (2005) hanno segnalato il virus a mosaico del Narcissus (NMV) infettare le cultivar nei Paesi Bassi.

In Castilla-La Mancha (Spagna) la disinfezione dei bulbi si esegue con diverse modalità come misura di profilassi o a seguito dell'insorgenza di alcuni sintomi. I bulbi vengono immersi in una soluzione disinfettante o si effettua l'essiccazione degli stessi con aerazione forzata; in tal modo, gli eventuali agenti patogeni non trovino condizioni favorevoli per proliferare.

In Grecia, spesso poco prima della messa a dimora, si effettua la disinfezione dei bulbi con dei fungicidi, quali il Brassicol o il solfato di rame. Per quanto concerne la profilassi fitosanitaria della coltura in Sardegna, il solo intervento praticato si limita a un trattamento del materiale di propagazione con prodotti a base di rame. Più precisamente, la difesa dei patogeni si basa sulla prevenzione della loro diffusione mediante la selezione del materiale da impiantare e l'estirpazione e distruzione delle piante colpite da malattie nel corso del ciclo di coltura.

11. REGOLATORI DI CRESCITA

La crescita delle piante è controllata ed integrata da diversi ormoni. Il meccanismo che controlla l'inizio della crescita dei nuovi germogli e dello sviluppo florale primordiale nei bulbi di zafferano sembra essere controllato da diversi segnali biochimici/fisiologici, ognuno dei quali deve permettere lo sviluppo di nuovi germogli (Chrungoo, *et.al.*, 1999). Sono molti gli studi sui regolatori di crescita esogenamente applicati in relazione allo sviluppo floreale.

L'immersione notturna dei bulbi di zafferano in una soluzione acida di diclorofenossiacetica-2,4 (50 ppm) aumenta considerevolmente lo sviluppo in termini di altezza della pianta, numero di foglie/bulbo e numero dei bulbi figli/bulbi madre (Kabdal, *et.al.*, 1978). L'acido gibberallico (GA) 0.001-0.01% o la cinetina (Kn) 0.005 - o 0.001% ha stimolato lo sviluppo e la formazione di germogli supplementari (Azizbekova, *et.al.*, 1978). Ciò ha condotto alla formazione di più fiori e di una maggiore resa. Il GA ha aumentato la resa di stigmi secchi del 130-150%. I migliori risultati sono stati ottenuti tenendo in immersione i bulbi in luglio (Azizbekova, *et.al.*, 1983). Una singola applicazione di GA (100 o 500 mg /bulbo) su bulbi dormienti sotto forma di microgocce concentrate nella zona apicale, ha favorito la comparsa e lo sviluppo dei germogli, incrementato il numero dei fiori formati, la resa ed il peso dei bulbi figli/pianta. L'acido naftalenacetico (NaF) 100 mg/bulbo ha impedito la crescita dei germogli e la fioritura ma ha interrotto la dominanza apicale nei germogli (Chrungoo, *et.al.*, 1984).

Picci (1987) ha registrato numerose nuove produzioni di bulbi dopo applicazioni con acido indolacetico (IAA) e il trattamento di GA, ma i bulbi erano

troppo piccoli per usarli come materiale vegetale nella stagione successiva in Italia. Tuttavia, Chrungoo e Farooq (1989) hanno applicato GA e NAA su bulbi dormienti dello zafferano ed hanno osservato la formazione precoce di germogli per accumulo di zuccheri riducenti, con conseguente pregermogliazione della pianta. Gli stessi autori asseriscono il trattamento di NAA contribuisce all'accumulo di pentosio totale e sopprime l'accumulo di chetoni. L'applicazione di GA e di NAA su bulbi dormienti di *Crocus* 100 mg/bulbo ha stimolato la degradazione dell'amido e l'accumulo di zuccheri solubili nei tessuti dei bulbi subito dopo il trattamento (Farooq, *et al.* 1990). Greenberg-Kasalasi (1991) ha trattato i bulbi con gibberellins 4+7 prima della semina ed ha ottenuto minor numero di germogli, con conseguenti pochi bulbi figli, anche se quelli apicali erano diventati di maggiori dimensioni. Chahota *et al.* (2003) hanno segnalato che applicazioni di GA sulle piante nel mese di ottobre era più efficace al fine di produrre un più alto numero di bulbi figli. Kaushal e Rana (2003) hanno osservato che la concentrazione di GA a 100 ppm era più efficace nell'incrementare la crescita e la resa dello zafferano a Palampur (HP), India. Inoltre, hanno dichiarato che quando i bulbi sono stati conservati a 3° C per 1 mese e quindi trattati con GA (100 ppm) per 1 ora, la produzione si raddoppia rispetto al trattamento con GA.

12. FIORITURA E RACCOLTA

12.1 OPERAZIONI PRELIMINARI

In Spagna (Castilla-La Mancha) un mese prima della fioritura (a settembre) il terreno viene preparato per la fioritura. Nella coltivazione tradizionale, era consuetudine effettuare una vangatura superficiale fra i solchi per rompere la crosta, ammorbidire e aerare il terreno, oltre che eliminare le infestanti (Pérez, 1995). Con il diserbo chimico, la lavorazione effettuata per rompere la crosta deve essere fatta utilizzando rastrelli a mano in caso di piccole superfici o tirati da trattori, in caso di superfici di maggior estensione. In Grecia (Macedonia occidentale), all'inizio di ottobre i bulbi vengono esaminati dai produttori in vari punti del campo. Una volta emerse le foglie, la fioritura comincia solitamente nei 6-7 giorni successivi. In Sardegna, prima della fioritura e immediatamente dopo l'arrivo delle prime piogge di fine estate, vengono effettuate due o tre sarchiature.

12.2 DINAMICA DELLA FIORITURA

Lo zafferano fiorisce in autunno nell'intervallo compreso tra la fine di ottobre e la fine di novembre. Generalmente all'inizio di ottobre spuntano i getti avvolti da una delicatissima spata bianca che si lacera in punta facendo emergere il mazzetto di foglie, e verso la fine del mese appaiono i primi fiori. Ma l'epoca di fioritura è molto variabile in rapporto a diversi fattori, tra i quali in particolare si ricordano: l'andamento termopluviometrico; l'epoca di impianto; la provenienza e le dimensioni dei bulbo-tuberi.

Piogge moderate nella tarda estate o all'inizio dell'autunno favoriscono la fioritura anticipata; normalmente nell'Appennino la fioritura si concentra tra l'ultima decade di ottobre e la prima decade di novembre. La fioritura è condizionata notevolmente dalla temperatura e dall'umidità dell'ambiente; durante questo periodo: giornate calde, o umide, favoriscono il concentrarsi del periodo di antesi, mentre il gelo, la neve ed il freddo ostacolano la fioritura, che può prolungarsi di molti giorni rispetto alla durata media (che si può valutare all'incirca in 20 giorni). Durante l'epoca della raccolta si osserva un periodo dove più intensa e concentrata è la produzione fiorale, periodo che in Spagna viene denominato "giorni del manto", in Sardegna questo periodo si ripete due o tre volte e viene detto "su groffu" (colpo grosso). Infatti si può affermare che l'andamento grafico della fioritura è senz'altro di tipo gaussiano, e quindi la raccolta inizia e continua rispettivamente prima e ben oltre questo periodo. Essendo un tipo di fioritura scalare ha bisogno di un impegno costante e notevole soprattutto in manodopera.

Anche l'epoca di impianto ha la sua influenza sulla fioritura: generalmente più si ritarda la messa a dimora dei bulbo-tuberi, più viene ritardata l'antesi. Pertanto, negli ambienti in cui l'autunno è freddo, è preferibile anticipare l'impianto dello zafferaneto.

Per quanto riguarda l'influenza delle dimensioni e delle provenienze dei bulbo-tuberi sulla fioritura, si osserva che quelli a dimensioni maggiori sono precoci nell'antesi, mentre si è notato, da un confronto tra provenienze spagnole ed italiane (Tammaro, 1982), che queste ultime anticipano la fioritura di circa 20 giorni.

La raccolta dei fiori viene effettuata nei paesi produttori di zafferano alle prime ore del mattino, possibilmente prima che il fiore si apra per effetto dell'azione del sole: la raccolta a fiore chiuso è più rapida, consente più agevolmente di procedere alla successiva operazione di “mondatura” dello stigma dai tepali e stami ed assicura una maggiore resistenza nei confronti dei processi degenerativi degli organi fiorali. La raccolta dei fiori e la separazione dello stigma dal fiore è un'operazione molto difficile. Richiede tempo, è laboriosa e rende lo zafferano la spezie più costosa al mondo. Un raccolto di 1000 fiori richiede 45-55 minuti e altri 100-130 per togliere gli stigmi da essiccare. Quindi, sono necessarie 370-470 ore per produrre 1 chilogrammo di zafferano secco (Winterhalter, *et. al.*, 2000). La raccolta deve cominciare subito dopo l'alba. Se lasciato esposto al sole, lo zafferano perde rapidamente colore e sapore ed appassisce sotto la luce del sole. L'operazione include la raccolta dei fiori e la separazione degli stigmi dai petali e dagli stami. I fiori vengono raccolti alla base dei segmenti e messi dentro cesti in strati sottili per evitare una pressione eccessiva e la deformazione degli organi dei fiori, in particolare degli stigmi.

Subito dopo la raccolta, i fiori sono portati all'interno per la separazione. Durante il processo, gli stigmi dallo stilo di oltre 2 mm. vengono separati dal resto degli organi. Se la porzione di stilo è più lunga di 2 mm., lo zafferano viene considerato di qualità inferiore (Ait-Oubahou, *et. al.*, 1999).

Si è voluto confortare questo criterio della raccolta a fiore chiuso, che presso i coltivatori di zafferano è collegato ad una migliore qualità del prodotto, con un riscontro di analisi qualitativa, atta ad accertare le caratteristiche del potere colorante e di quello amaricante di stigmi provenienti da fiori chiusi e fiori aperti. L'indagine, condotta dall'Istituto di chimica agraria dell'Università degli Studi di Milano, ha permesso di constatare l'effettiva differenza, con le migliori caratteristiche per lo zafferano proveniente da stigmi di fiori chiusi, a piena conferma della tradizione popolare

Tab. 5. Potere colorante ed amaricante dei fiori raccolti chiusi e aperti

	Fiori chiusi	Fiori aperti
Potere colorante (assorbimento spettrofotometrico)	251	222
Potere amaricante (percentuale di safranale sulla s.s. dello stigma)	5,8	3,6

Tuttavia, nelle giornate di intensa fioritura non sempre è possibile completare la raccolta prima che il sole riscaldi il terreno; in questo caso, è preferibile continuare fino ad ultimare il raccolto, oppure anticipare la raccolta alla sera precedente. Quando il cielo è nuvoloso, la raccolta può essere prolungata nella mattinata, mentre, se la giornata è fredda ed il terreno è coperto dalla brina, è necessario attendere che si riscaldi l'atmosfera, perché il fiore perda la fragilità provocata dall'abbassamento di temperatura.

Quando il tempo è piovoso o con alto grado di umidità, è necessario che il fiore sia asciutto per agevolare la successiva separazione degli stigmi.

La raccolta del fiore avviene manualmente (non essendo ancora stato possibile meccanizzarla), raccogliendo i fiori con tecniche e modalità diverse. In Italia, dove il terreno di coltura è baulato e suddiviso in "porche", l'operatore procede alla raccolta di due file per volta, operando alternativamente nel vialetto di servizio di sinistra e di destra. In Spagna, dove la coltura non è baulata, il raccoglitore, con uno sbraccio unico, riesce a raccogliere i fiori di tre file abbinate. La resa della raccolta varia in funzione del fattore umano e delle condizioni di coltivazione e meteorologiche. Galigani e Garbati (1999) stimano una resa fra 8 e 16 kg di fiori al giorno e a persona. Il fiore deve essere colto stringendolo tra pollice ed indice di una mano e recidendolo con l'unghia del pollice a poco più di un cm sotto la fauce, cioè il punto in cui c'è l'inizio della campana del fiore; successivamente va disposto in cesti di vimini in modo da non essere pressato. In caso di raccolta abbondante, il cesto viene scaricato su un telo o su un sacco e trasferito all'azienda per la successiva operazione di "mondatura". Differente è invece il metodo adottato in Grecia, infatti la raccolta di fiori viene effettuata tutti

i giorni (tra le 9.00 e le 17.00). I fiori sono tagliati con molta cura all'altezza della base dei petali. La raccolta si fa a mano quando il fiore è completamente aperto.

In Sardegna in genere la raccolta si attua nel periodo compreso tra la seconda metà di ottobre e la prima metà di novembre, in Spagna il periodo più o meno coincide con quello della Sardegna, in Grecia dal 15 al 30 ottobre, in India (Kashmir) nel tardo autunno.

Per quanto riguarda la produzione fiorale, ogni bulbo-tubero di diametro superiore ai 2,5 cm produce da 2 a 5 fiori; la produzione fiorale ovviamente dipende da diversi fattori, in primo luogo le condizioni climatiche e pedologiche, nonché il sesto di impianto. In linea di massima, da un ettaro di zafferaneto si raccolgono 4-5 t di fiori freschi, da cui si ricavano 50 kg di stigmi da essiccare. La meccanizzazione della raccolta dei fiori non è possibile se non quando il terreno è stato preparato adeguatamente dopo l'impianto o alla fine dell'estate, se si tratta di una coltura degli anni precedenti. In questo caso, i macchinari necessari sono frese che lavorano il terreno da 3 a 10 cm di profondità, in funzione della posizione dei germogli. Dopo aver rivoltato la terra, si livella e si compatta il suolo con un rullo a motore. Il terreno deve essere preventivamente liberato da piante infestanti e resti vegetali in genere.

12.3 PRODUTTIVITÀ

Lo zafferano può avere un ciclo poliennale che a seconda delle località dura fino a 10 anni, oppure un ciclo annuale come avviene in Italia. La produzione fiorale è dipendente da diverse variabili, quali le condizioni climatiche e pedologiche, le caratteristiche e la densità di impianto, la durata del ciclo produttivo e, per la coltura poliennale, l'anno di produzione.

La resa massima si ha nel primo e nel secondo anno (ossia la seconda e la terza fioritura); a partire dal terzo anno la resa comincia a diminuire. In Macedonia occidentale la produzione annua di zafferano è in media di 10 Kg/ha e dipende in gran parte dalle condizioni meteorologiche predominanti in autunno. Il raccolto dello zafferano può variare da 1,5 a 15,0 kg/ettaro, in base alla densità di semina, all'età della piantagione ed alle condizioni climatiche durante la stagione del raccolto (Negbi, 1999). I dati produttivi sono generalmente riferiti alla resa per ettaro della coltura in prodotto essiccato (stigmi).

In India (Kashmir) la produzione massima realizzata è stata di 6,8 kg/ha (Sampathu *et al.*, 1982): questo basso valore è da ritenersi dovuto all'alta incidenza delle tare (fossetta di sgrondo acque e di servizio) rispetto alla superficie produttiva. Badiyala e Saroch (1997) hanno ottenuto un raccolto di zafferano essiccato di 3.8 kg/ettaro in condizioni climatiche temperate, mentre, un rendimento registrato da Singh *et al.* (1997) ha riportato un raccolto di 2.9 kg/ettaro nei climi pluviali a Kishtwar, India.

In Grecia nel corso degli anni il valore della resa in fiori varia da 3 ai 15 kg/ha. In Grecia, è stata registrata una resa di zafferano pari a 3.0 kg/ettaro il primo anno, 10.0 kg/ettaro il secondo, 15.0 kg il terzo e il quarto anno e la diminuzione a 10.0 kg/ha durante il quinto e sesto anno Goliaris, (1999). In media, un ettaro in 6 anni produce 60.0 kg di zafferano rosso (stigma e stili) o 20.0 kg di zafferano giallo (stami). In Spagna, il raccolto medio di zafferano è intorno a 10.0-12.5 kg/ettaro, mentre la produzione in condizioni pluviali e di mancata concimazione in Kashmir raggiunge soltanto 1.5-3.0 kg/ettaro (Negbi, 1999). In Spagna (nella regione della Mancha) dove la coltura è poliennale, la produzione viene calcolata in circa 3 kg/ha nell'anno zero, 13-14 kg/ha nel primo anno, 13-14 kg/ha nel secondo anno, 10 kg/ha nel terzo e circa 7 kg/ha nel quarto anno (Alarcon Molina, 1968).

Il rendimento medio in Marocco varia da 2.0 a 2.5 kg/ettaro, che è basso rispetto alle piantagioni moderne di zafferano in Spagna o in Italia, perchè la pioggia e l'irrigazione durante la formazione dei bulbi e lo sviluppo della pianta riducono significativamente la produttività (Ait-Oubahou, *et. al.*, 1999). Un chilogrammo di fiori intatti rende 72 g. di zafferano fresco (stigmi), che a sua volta rende 12 g. di stimmi secchi. Il prodotto finale mantiene un'umidità di circa 5-20%.

La resa media dello zafferano dei campi commerciali nella provincia di Khorasan (Iran) è di 4.4 kg/ettaro (Behnia, *et. al.*, 1999). A Navelli (Italia), la produzione media del prodotto secco/ettaro è di 10-16 kg. La produzione dello zafferano nella zona di Navelli in Italia ha il più alto tasso di produzione/ettaro registrato al mondo (Tammaro, 1999).

I Paesi Bassi ed il Giappone producono ed esportano bulbi (Szita, 1987). De Juan *et al.* (2003) hanno registrato una produzione di bulbi 28.4-36.3 tonnellate/ettaro in Spagna.

In Italia, dove la coltura è annuale, la produzione viene valutata tra i 10 e i 15 kg/ha (Angelici, 1965; Crescini, 1969). Gli agricoltori dell'Aquilano considerano una resa media di 16 kg/ha. Secondo agenti dell' Extension agraria della provincia di Albacete, le produzioni per ettaro sono state indicate in 6 kg al primo anno, 12 kg al secondo anno, 10 kg al terzo anno. In Sardegna il primo anno si ottiene una produzione di 650.000–700.000 fiori/ha (5 kg/ha di stimmi secchi), il secondo anno di circa 1.300.000–1.400.000 fiori/ha (10 kg/ha di stimmi secchi), il terzo anno di 1.950.000–2.100.000 fiori/ha (15 kg/ha di stimmi secchi), il quarto anno ridiminuisce a 1.300.000–1.400.000 fiori/ha (10 kg/ha di stimmi secchi). Per comprendere l'onerosità della raccolta si deve ricordare che per ottenere un chilogrammo di stigmi essiccati occorre raccogliere 140.000 fiori, corrispondenti a 75 kg in peso fresco.

La produzione riferita ad ettaro può essere mediamente valutata come segue:

produzione fiori in numero: 1.400.000;

produzione fiori in peso: 750 kg;

produzione in stigmi freschi: 50 kg;

produzione in stigmi essiccati: 10 kg.

La resa in zafferano “crudo”, cioè in stigmi allo stato fresco, è di 5 kg ogni 75 kg di fiori raccolti, mentre con la tostatura gli stigmi freschi diminuiscono in peso di 4/5 e perciò da 5 kg di stigmi freschi si ottiene 1 kg di stigmi essiccati.

Oltre allo stigma vengono utilizzati come produzioni secondarie le foglie e i bulbo.tuberi questi possono venire utilizzati nell'alimentazione del bestiame, soprattutto pecore e vacche poiché aumenta e migliora la secrezione latte.

12.4 PRODUZIONE SECONDARIA DEI METABOLITI

I componenti principali dello zafferano responsabili del colore, gusto e sapore sono rispettivamente crocina, picrocrocina e safranale. La quantità e qualità di questi composti dipendeva dal tipo di tessuto o dagli organi che si differenziano nelle colture. Strutture simili agli stigmi indotte in vitro dagli organi fiorali del *C. sativus* sono conosciute per essere una fonte ricca di queste componenti (Himeno, *et. al.*, 1987; Sarma, *et. al.*, 1991; Loskutovet, *et. al.*, 1999). Una vasta gamma di mezzi di coltura con differenti combinazioni di regolatori di crescita ha prodotto a vari espianti di strutture simili agli stigmi (Otsuka, *et. al.*, 1992; Loskutovet, *et. al.* 1999; Kohda, *et. al.* 1993).

E' stata registrata la possibilità di produrre pigmenti dello zafferano in strutture simili agli stigmi indotte dall'ovario (Himeno, *et. al.* 1987; Gui, *et. al.* 1988), dove la quantità di crocina e di picrocrocina era più bassa rispettivamente di 8 e 6 volte, che negli stigmi naturali (Visvanath, *et. al.* 1990). Gli stigmi prodotti dagli ovari sviluppavano costituenti simili a quelli dello zafferano coltivato *in vivo* (Sarma, *et. al.* 1990). D'altro canto, Visvanath *et al.* (1990) hanno osservato che le quantità di corcetina e crocina erano più elevate nelle strutture filamentose rosse ottenute dai germogli fiorali coltivati, mentre la quantità di safranale era paragonabile a quella degli stigmi naturali. Sarma *et al.*(1991) hanno osservato che le strutture simili agli stigmi prodotte da espianti di ovari sul mezzo MS addizionato con NAA (5.4 μ M) e BA (44.4 μ M) contenevano quantità inferiori di picrocrocina e crocina (cioè, rispettivamente, 6 e 11 volte), rispetto agli stigmi naturali. È stata effettuata, inoltre, l'analisi sensoriale, che ha compreso test di identificazione, soglia e profilo. I dati sensoriali hanno indicato che i pigmenti dello zafferano nelle colture dei tessuti erano un decimo di quelli degli stigmi naturali.

E' stato dimostrato che i bulbi di zafferano contengono determinati proteoglicani che inibiscono lo sviluppo delle cellule tumorali umane. Escribano *et al.* (1999) hanno dimostrato che anche le colture delle callosità del bulbo dello zafferano hanno sintetizzato tali glucoconiugati. Questo composto è citotossico verso le cellule del carcinoma epitelioide cervicale umano e consiste in circa il 90% di carboidrato e il 10% di proteine.

Inoltre è stato provato che regolatori di crescita della pianta, quale l'acetato di sodio e il polivinilpirrolidone (PVP), sono efficaci nell'aumentare la produzione secondaria del metabolita. Zeng *et al.* (2003) hanno scoperto che l'aggiunta di acetato di sodio (SA) nel mezzo aumentava la produzione di crocina di oltre due volte in strutture simili agli stigmi formate dagli espianti di petalo. In base alla loro osservazione che la sintesi di crocina era considerevolmente più bassa nella callosità rossa rispetto alle strutture simili agli stigmi, essi hanno concluso che la sintesi e l'accumulo di questi metaboliti secondari sono collegate al livello di differenziazione di determinati tessuti ed organi.

12.5 TECNOLOGIA POST RACCOLTA

Dopo il trasferimento del fiore dal campo al centro aziendale si effettua la separazione degli stigmi dalle restanti parti del fiore e la loro tostatura od essiccazione.

12.5.1 SEPARAZIONE DEGLI STIGMI

Viene chiamata volgarmente “mondatura” o “sfioratura” (in Spagna è chiamata “monda de la rosa”). Si effettua manualmente e consiste nella recisione del fiore che deve avvenire al di sotto del punto di separazione dei tre stigmi, evitando per quanto possibile di includere lo stilo di colore gialliccio, che fa deprezzare il prodotto. È una operazione semplice ma che richiede esperienza, specialmente per individuare il punto ottimale per la separazione tra stilo e stigmi. La “sfioratura” deve essere compiuta nella stessa giornata di raccolta del fiore, per evitare che gli stigmi appassiscano, e viene di norma effettuata su tavoli da lavoro. Questa attività fino ad oggi si poteva effettuare solo manualmente, ma recentemente in Macedonia è stato messo a punto un macchinario semiautomatico il cui funzionamento consiste nel separare gli stimmi e gli stami, il cui peso è superiore a quello dei petali, attraverso l'azione di una corrente d'aria generata da una ventola. Il processo manuale viene comunque utilizzato quando si vuole ottenere un prodotto d'eccellenza.

In genere, 1 kg di fiori produce 72 g di stimmi freschi, che equivalgono a 12 g di stimmi secchi. Per produrre quindi 1 kg di zafferano possono anche servire fino a 200.000 fiori.

In Sardegna invece si usa il metodo esclusivamente manuale, che consiste nel taglio del fiore nel tubo del perianzio, senza aprire i petali con l'unghia oppure con un paio di forbicine, solo successivamente separare gli stigmi dal resto del fiore che viene gettato. Una mondatrice esperta può lavorare su 600-700 fiori l'ora che corrispondono a circa 4 g di prodotto secco.

12.5.2 TOSTATURA OD ESSICCAZIONE DEGLI STIGMI

La disidratazione è un trattamento post raccolto necessario per convertire gli stigmi nella spezie dello zafferano. Durante il processo di disidratazione, gli stigmi perdono l'80% del loro peso. Il colore, il sapore e la buona qualità generale dipendono dal metodo con cui gli stigmi sono essiccati, poiché durante questo processo avviene l'idrolisi della crocina e dei pigmenti alleati. I cambiamenti chimici negli stigmi durante l'essiccamento influenzano il sapore e la forza della spezie finale. Lo zafferano di qualità migliore ha un sapore piacevole, marcatamente floreale e dolcemente speziato e una nota acre un po' forte. (Dhar, 2000) Un basso contenuto di umidità, almeno al di sotto del valore di 12% stabilito dal ISO3632 (2003), mantiene la qualità del prodotto per un tempo maggiore. L'umidità dello zafferano durante il tempo di stoccaggio influenza la qualità del colore. (Alonso, *et. al.*, 1993)

Il processo di essiccamento differisce da paese a paese. Ci sono due modi di disidratare lo zafferano in termini di temperatura. Un processo è effettuato a temperatura ambiente direttamente sotto la luce solare o in ambienti arieggiati, come viene fatto in India, in Marocco e in Iran. In India, gli stigmi sono essiccati al sole per 3 - 5 giorni fino a ridurre il loro contenuto d'acqua a 8-10% (Nauriyal, *et. al.*, 1977; Tarantilis, *et. al.*, 1995). Ciò costituisce lo zafferano di primo grado (zafferano di sahi). Le parti restanti del fiore vengono essiccate al sole per 3 - 5 giorni, sono battute leggermente con bastoni ed il materiale viene passato attraverso setacci e poi messo nell'acqua. Le parti che galleggiano vengono scartate e quelle che affondano verso il basso vengono raccolte ed ulteriormente essiccate. Ciò costituisce il secondo grado (zafferano mogra). Le parti scartate del fiore trattate come detto sopra costituiscono il terzo grado (zafferano lachha) (Dhar, 1990). In Marocco, gli stigmi sono sparsi su un panno in un strato molto sottile e asciugati al sole per parecchie ore o all'ombra per 7-10 giorni (Ait-

Oubahou, et. al.,1999). Il secondo processo di essiccamento, praticato in Spagna, Grecia e Italia, è effettuato a più alte temperature usando aria calda o qualunque altra fonte di calore.

Nell'Altopiano di Navelli gli stimmi sono sistemati in un setaccio ben stesi e messi ad asciugare sopra la brace viva di legna di quercia roverella, a circa 20 cm di distanza. Il setaccio è collegato da 3 corde ad un unico punto di sostegno e può essere facilmente fatto ruotare. In tal modo la tostatura è uniforme. Quando la parte inferiore è tostata gli stimmi si rivoltano per avere un'essiccazione uniforme. La tostatura dura 15-20 minuti. Il disseccamento è al punto giusto quando lo stimma premuto fra le dita non si frantuma e mantiene una certa elasticità. Con l'essiccazione alla brace lo zafferano conserva il colore rosso porpora, la fragranza e l'aroma. Prove di tostatura in essiccatoi elettrici confermano che gli stimmi essiccati su brace secondo il metodo tradizionale, conservano migliori qualità organolettiche (Zanzucchi, 1987). Con la tostatura gli stimmi perdono 4/5 del peso; da 500 g di stimmi freschi se ne ricavano 100 secchi. Il prodotto finale mantiene il 5-20% di umidità. Con la triturazione degli stimmi mediante una macinacaffè elettrico il prodotto può essere ridotto in polvere.

In Spagna è consuetudine sovrapporre al setaccio un secondo setaccio, con il quale effettuare il rovesciamento degli stigmi (senza una loro movimentazione diretta che potrebbe determinare la frammentazione degli stessi) non appena la parte a contatto con il calore sia sufficientemente essiccata. Quest'ultimo procedimento è preferibile al primo, perché assicura risultati migliori per l'integrità del prodotto. L'essiccazione in Spagna viene effettuata su stufe a legna, braciere o caminetto rustico, ma la sorgente di calore è sempre rappresentata dalla legna.

In Grecia si usano diversi modi quali: l'essiccazione all'ombra per circa 5-10 giorni, stendendo i filamenti per terra o su reti; l'essiccazione al sole per 3-4 giorni, lasciando lo zafferano all'aria aperta; l'essiccazione a forno di legna con durata di 10 minuti. . In Sardegna, prima del processo di essiccazione si realizza l'umettamento (feidadura) che consiste nell'impregnare leggermente gli stimmi con olio d'oliva vergine (la quantità di olio che si utilizza corrisponde a un quarto di un cucchiaino da caffè per 100 g di zafferano fresco). Attraverso questa

operazione si pensa di migliorare l'aspetto dello zafferano e si prolunga la sua conservazione.

Tutti i produttori sono comunque d'accordo sul fatto che l'ideale sia sempre effettuare la mondatura lo stesso giorno della raccolta. Quando ciò non è possibile, i fiori in genere vengono disposti su teli di plastica, distesi per terra in locali ben areati in strati non superiori ai 10 cm per evitare che si incollino o che gli stimmi si danneggino sotto un peso eccessivo. Si determina se lo zafferano è ben essiccato secondo i seguenti parametri: esame al tatto, esame visivo (colore), all'aroma e all'aspetto generale. Il punto ottimale di essiccazione si situa sul 10% di umidità residua, per evitare che in seguito l'operazione di confezionamento non sia troppo delicata. Si può affermare che in base ai metodi di essiccamento si possono ottenere dimensioni del prodotto finale variabili, infatti a temperature più alte e tempi più lunghi corrisponde un accorciamento della lunghezza e un minor volume.

Sampathu *et al.* (1984) hanno confermato che il tradizionale metodo di essiccamento al sole effettuato in India richiede circa 27-53 ore, cosa che potrebbe essere responsabile della degradazione enzimatica della crocina. Quindi, può essere logico che un più breve periodo di essiccamento ed una temperatura controllata possano dare zafferano della qualità desiderata. Raina *et. al.*, (1996) hanno confrontato i diversi metodi di essiccamento cioè, essiccamento all'ombra, essiccamento al sole, essiccamento solare, essiccamento al forno elettrico, essiccamento a flussi incrociati, essiccamento al forno vuoto ed essiccamento deumidificato e hanno osservato variazioni significative nella concentrazione del pigmento (10.0-17.0%) a seconda delle differenti tecnologie post raccolto. I loro studi hanno indicato che il metodo che impiega $40 \pm 5^{\circ}\text{C}$ (essiccatore solare/forno essiccatore) è il migliore per mantenere un'alta qualità dello zafferano, risparmiando una grande quantità di tempo rispetto l'essiccamento tradizionale al sole. Bolandi *et. al.*, (2004) hanno usato tre metodi di essiccamento cioè, tradizionale (25°C), spagnolo modificato (55°C) e forno a microonde (300 watt) ed hanno riferito che lo zafferano essiccato in un forno a microonde aveva una più alta resistenza del colore, aroma e gusto amaro.

Carmona *et al.* (2005) hanno valutato 3 differenti trattamenti di disidratazione (disidratazione a temperatura ambiente; disidratazione con aria

calda a temperature differenti (70, 90 e 110°C); e disidratazione che segue il procedimento tradizionale con 3 fonti di calore (carbone di sarmenti, fornello a gas e bobina elettrica) in Spagna ed hanno segnalato che si era ottenuta una più alta resistenza del colore quando lo zafferano era stato sottoposto a una temperatura più alta per un tempo inferiore. Gregory *et al.*, (2005) hanno osservato che un breve (20 minuti) periodo iniziale ad una temperatura relativamente elevata (fra 80 e 92°C) seguito da un essiccamento continuativo ad una temperatura più bassa (43°C) produceva zafferano con un contenuto di safranale fino a 25 volte maggiore dello zafferano asciugato soltanto a temperature più basse. Ciò ha indicato che il trattamento a temperatura elevata ha permesso una maggiore ritenzione dei pigmenti di crocina rispetto allo zafferano seccato a temperature intermedie (46-58°C).

Sono stati valutati tre trattamenti differenti di disidratazione: disidratazione a temperatura ambiente; disidratazione con aria calda a diverse temperature (70, 90 e 110° C); e disidratazione secondo il procedimento tradizionale della Castilla-La Mancha (Spagna) con tre differenti fonti di calore (carbone di sarmenti, fornello di gas e bobina elettrica). I tempi (fra 28 e 55 min.) e la temperatura media (fra 54 e 83° C) per questa disidratazione tradizionale sono stati fissati per la prima volta. Il più alto potere colorante è stato ottenuto quando lo zafferano è stato sottoposto a temperature più alte per periodi di tempo più bassi. Questi risultati possono essere supportati dal fatto che i campioni disidratati a temperatura elevata erano più porosi di quelli disidratati a temperatura ambiente, come osservato con il microscopio elettronico (SEM) e la calorimetria a scansione differenziale (DSC). Più alta è la temperatura durante il processo, più alta è la quantità di di-estere (β -D-gentibiosyl) di trans-crocetina, anche se la trans-crocetin (β -D-glucosilica)-(β -D- gentibiosyl) e il di-estere (β -D- glucosilici) diminuiscono mentre le cis-crocetine non cambiano significativamente. Un processo termico di invecchiamento rivela che il di-estere (β -D-gentibiosyl)) aumenta quando lo zafferano è risottoposto ad un trattamento di calore. L'estinzione della picrocrocina durante il processo di invecchiamento non implica una consistente generazione di safranale.

12.5.3 PULITURA ED OMOGENEIZZAZIONE

Prima di confezionare lo zafferano, si pulisce, si controlla la sua umidità, si omogeneizza la partita di merce e si porta a termine il processo di macinazione (nel caso in cui lo zafferano si somministra in polvere). La pulizia consiste nell'eliminare tutte le componenti estranee come foglie, gambi dei fiori, stami. In Sardegna la pulitura si realizza durante la mondatura. In Macedonia occidentale si dispone di un banco specifico per controllare la presenza di materie estranee, dopo si passa per filtro a setaccio per eliminare il polline. In Spagna, la pulitura praticamente non si porta a termine poiché durante la mondatura si ottengono degli stimmi liberi dagli avanzzi florali. Se si realizza si esegue manualmente prestando attenzione a non danneggiare i filamenti.

12.5.4 DISINFEZIONE.

In Spagna numerosi confezionatori applicano prodotti disinfettanti autorizzati, lo scopo è quello di prevenire proliferazioni di insetti. L'attuale normativa vieta comunque di applicare sostanze come il bromuro di etile o l'ossido di etilene. Ne Sardegna ne in Macedonia si eseguono trattamenti di questo genere.

12.5.5 CONTROLLO DELL'UMIDITÀ.

E' necessario controllare il livello medio di umidità del prodotto prima del confezionamento, poiché se la percentuale igroscopica diventa eccessiva potrebbe eccedere i limiti imposti dalle leggi o non venire incontro alle esigenze di un eventuale compratore, oltre ovviamente a favorire l'insorgenza di muffe e lieviti, alla perdita di potere colorante (dovuto alla dissoluzione delle crocine). I valori di umidità del prodotto in filamenti in genere è più alto di quello in polvere.

In Sardegna raramente si eseguono controlli sull'umidità poiché risultati di analisi confermano che l'umidità del prodotto non raggiunge mai il 10%.

In Macedonia occidentale lo zafferano viene accettato dalla "cooperativa dello zafferano" solo se l'umidità non supera l'11.5%. In caso contrario il prodotto torna ad essere seccato in specifici forni.

12.5.6 SELEZIONE DELLO ZAFFERANO

In Sardegna non viene effettuata prima del confezionamento perché viene fatta già durante la mondatura.

In Macedonia occidentale lo zafferano viene posto su una grande tavola, ivi si effettua una miscelazione di prodotto proveniente da diversi produttori in quantità che vanno dai 20 ai 50 kg, al fine di rendere omogeneo il prodotto.

In Spagna (Castilla-la Mancha), i confezionatori selezionano lo zafferano in base a numerose caratteristiche, da loro ritenute importanti ai fini qualitativi e commerciali; come il profilo analitico, la pulizia (residui florali, capelli, granella, pelucchi, pietruzze ecc), l'assenza di insetti, il colore, il potere colorante, la lunghezza dei filamenti e l'integrità dei filamenti.

E' opportuno citare anche la setacciatura, che ha lo scopo di ottenere stock di prodotto con la medesima lunghezza del filamento.

12.5.7 ZAFFERANO IN POLVERE

In Sardegna lo zafferano venduto in polvere viene macinato dopo la tostatura con macinini da caffè o nelle grandi aziende da macchinari preposti a questa funzione (macchine dosatrici-confezionatrici). In Grecia si utilizza una particolare macchina studiata appositamente a questo scopo. In Spagna tutto il processo è completamente automatico o semiautomatico, in funzione dell'impianto di alimentazione della macina. Nel processo si potrà selezionare la granulometria desiderata con una fase di setacciatura (a mano o automatica). Lo zafferano secco è più facile da macinare.

12.5.8 PROCESSO DI CONFEZIONAMENTO

Lo zafferano in fili o polvere in ambiente umido è fortemente igroscopico e va facilmente incontro a processi fermentativi, con cambiamento di colore ed odore sgradevole. È inoltre sensibile alla luce e nel tempo va incontro ad una perdita notevole delle sue proprietà. È perciò preferibile che venga conservato in contenitori di vetro colorato, ben chiusi e posti in luoghi asciutti e temperati, avendo cura che la chiusura non sia dotata di dischi di gomma, perché possono indurre alterazioni nel profumo dello zafferano.

In Grecia lo zafferano viene conservato anche in contenitori di plastica, mentre In Spagna, i produttori utilizzano materiali alimentari che corrispondono alle domande di mercato come recipienti di celluloidi, di plastica (polietilene, PVC, polipropilene, cellophane, ecc.), di vetro, di alluminio e altri materiali, ecc.. Successivamente, come imballaggio secondario, utilizzano scatole di cartone o metalliche. In Spagna, per opera del produttore commerciante, il processo di conservazione è totalmente manuale, dal riempimento delle confezioni fino all'applicazione delle etichette. Il confezionatore utilizza un processo automatico per il riempimento delle confezioni monodose di zafferano in polvere; inoltre utilizza diversi tipi di recipienti, tra i quali il più diffuso è quello da 1g di zafferano. Attualmente alcune imprese dispongono di macchine confezionatrici il cui rendimento e l'affidabilità del dosaggio è molto elevata, esse hanno anche la funzione di apporre le etichette. In alcune zone della Spagna si ricorre ai gas inerti durante il processo di confezionamento, pratica che volge la sua attenzione al prolungamento delle caratteristiche chimiche e organolettiche del prodotto, rallentandone il deterioramento dovuto ai processi di ossidazione.

Anche in Sardegna il confezionamento si realizza in modo manuale nella maggior parte dei casi, solo due grandi imprese dispongono di macinatori e dosatori. In Sardegna lo zafferano si confeziona in recipienti di vetro, carta o plastica per alimenti. Si utilizzano anche recipienti di argilla o sughero che sono materiali tipici sardi. La quantità di zafferano delle confezioni per la commercializzazione varia da 1 a 5g. In Macedonia Occidentale si confeziona e si etichetta manualmente. Nel caso in cui lo zafferano sia in polvere, si dispone di una macchina che realizza automaticamente il confezionamento. In Macedonia Occidentale lo zafferano si conserva in recipienti metallici di 28g, in scatole o buste di plastica in quantità da 1 a 4g propri per alimenti. Mentre lo zafferano biologico si conserva in recipienti di vetro da 1g, in buste di plastica con una capienza di 0,5g e lo zafferano in polvere in sacchi di quantità di 0,125 g, 0,25 g, 0,5g o 1g.

12.5.9 QUALITÀ

Dopo il completo essiccamento, lo zafferano deve essere immediatamente conservato, preferibilmente in contenitori perfettamente coperti o sigillati e protetti dalla luce per evitare l'imbianchimento. Il prodotto finale è una massa compressa, altamente organica e opaca di fili stretti, da arancione scuro a bruno-rossastro di lunghezza di circa 1 pollice (fig. 9). Il vero zafferano ha un gusto piacevolmente piccante, pungente, amaro e un odore tenace (Stephens, 2003). Lo zafferano è disponibile sia in filamenti che sotto forma di polvere sebbene i lunghi filamenti rosso-cupo siano solitamente preferibili alla polvere poiché questi ultimi possono essere facilmente adulterati.

La qualità dello zafferano dipende dal suo colore (concentrazione di crocina), dal gusto (picrocrocina) e dall'odore (safranale). Lo zafferano di migliore qualità ha un'alta capacità di assorbimento della crocina (> 190) a 440 nm, una capacità di assorbimento di picrocrocina (25-30) a 330 nm ed una capacità di assorbimento di safranale (100) a una lunghezza d'onda di 257 nm (ISO 3632., 2003) (tabella 6). Lo zafferano è lucido e grasso al tocco quando essiccato di recente, e si trasforma in opaco e friabile con il tempo. Sbianca facilmente se non è conservato al buio ed inoltre si conserva meglio in ambienti a temperatura bassa ed umidità relativa bassa. Il prezzo elevato di questa spezie è causa di frequenti adulterazioni. Si dice che venga aggiunta molto spesso acqua per aumentarne il peso. Anche petrolio o glicerina vengono aggiunti per lo stesso scopo o per migliorarne l'aspetto. A volte i fiori di altre piante, cioè, *Carthamus tinctorius*, *Calendula officinalis* e l'arnica sono aggiunti in maniera fraudolenta agli stigmi genuini (Zope, 2005).

13. PRODUZIONE, RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI BULBI

L'emissione delle foglie, nelle piante a ciclo poliennale, inizia fin dall'autunno, con un anticipo di circa due settimane rispetto alle piante a ciclo annuale; il maggior sviluppo in lunghezza dell'apparato fogliare si manifesta nei mesi di marzo-aprile, quando le foglie possono raggiungere fino a 40 cm di lunghezza: già nel mese di maggio si osserva l'avvizzimento progressivo dell'apparato fogliare. È perciò nel periodo marzo-aprile che l'attività vegetativa consente di accumulare materiali di riserva nei nuovi bulbo-tuberi formati dal

bulbo-tubero che ha fiorito l'anno precedente, determinando il loro ingrossamento che cesserà alla soglia dell'estate, quando entrano in riposo dopo aver perso completamente foglie e radici. La produzione dei bulbo-tuberi è variabile per quantità e numero: un bulbo-tubero può produrne fino a un numero che oscilla tra 10-11, ma normalmente la media si aggira attorno a 3-4 bulbo-tuberi. È da tenere presente che i bulbo-tuberi meno produttivi danno materiale di dimensioni atte a produrre fiori nell'annata stessa dell'estirpo o della ripresa del ciclo produttivo. La formazione dei bulbo-tuberi nuovi avviene superiormente a quello di impianto, che gradualmente diminuisce di volume e si appiattisce: con la riproduzione, i neo bulbo-tuberi si sono gradualmente innalzati verso le superfici del terreno, sovrapponendosi la produzione di un anno a quella dell'anno precedente. Questa modalità del processo riproduttivo giustifica, nella coltura poliennale, l'adozione di una profondità di impianto maggiore rispetto alla coltura annuale (circa il doppio) e la necessità di procedere dopo alcuni anni all'estirpo dei bulbo-tuberi, che, portandosi troppo in superficie, diminuiscono la loro produttività.

L'estirpazione viene effettuata quando il fogliame si essicca: In Italia è consuetudine procedere all'estirpo nel mese di luglio, mentre in Spagna si preferisce estirpare nel mese di maggio o ai primi di giugno, perché in tale epoca il terreno è meno duro e l'estirpo viene facilitato ed inoltre si viene a disporre di più tempo per la selezione dei tuberi da reimpiegare per i nuovi impianti, che sono anticipati rispetto all'epoca di impianto che si effettua in Italia. L'estirpazione, nel passato, veniva fatta esclusivamente a mano, con la zappa che scopriva i bulbo-tuberi; questi venivano raccolti sempre a mano e rimessi in ceste. Oggi si procede con un piccolo vomere, trainato dal trattore, si apre un solco profondo 20 cm, ribaltando la terra e scoprendo i bulbo-tuberi che, raccolti, vengono riposti in ceste o sacchi di canapa.

Di recente si è sperimentato, ad opera dell'istituto di meccanica agraria dell'Università di Firenze, uno scavapatate adattato alle esigenze proprie dei bulbo-tuberi di zafferano, ottenendo risultati economicamente e tecnicamente validi, specialmente nei terreni più sciolti e meno compatti.

Dopo la raccolta dei bulbi, la loro conservazione in ambienti adatti è piuttosto importante per evitare la germogliazione. Koltsova (1974) ha segnalato che i bulbi raccolti in maggio e conservati in scatole coperte di terra a 19-23°C ed

umidità relativa del 65-75% per 4 mesi, germogliano e fioriscono molto prima di quelli conservati a 23-27°C e di quelli lasciati nella terra. Benschop (1993) ha detto che i bulbi del *Crocus* possono essere conservati a 25°C e ad un'umidità di 80% fino a 8 mesi, facendo così ritardare la fioritura, mentre, Munoz-Gomez *et al.*, (2002) hanno dichiarato che la conservazione dei bulbi a 30°C per 45 giorni ha incrementato il numero dei fiori rispetto ai bulbi costretti a germogliare direttamente a 17/10°C dopo l'appassimento delle foglie. Tuttavia, il numero dei fiori formati era molto basso (< 0.3 bulbo/fiori). Molina *et al.* (2004) hanno segnalato che il fiore primordiale moriva quando l'incubazione dei bulbi a 25°C era estesa per più di 5 mesi. Essi hanno inoltre dichiarato che le sementi possono essere immagazzinate a 25°C per 90-115 giorni. Molina *et. al.* (2005) hanno osservato che i bulbi raccolti dopo che le foglie appassiscono e conservati a 2°C in ossigeno all'1% per 70 giorni potrebbero essere costretti a fiorire dall'inizio di dicembre fino alla fine di gennaio con lo stesso rendimento di zafferano dei bulbi conservati a temperature normali in Spagna. La conservazione dei bulbi a 2°C dopo l'inizio della fioritura ha provocato la perdita di questi fiori già iniziati. La conservazione a temperature di congelamento (0 o - 1°C) ha danneggiato i bulbi.

PARTE SPERIMENTALE

1. SCOPO DEL LAVORO

La coltivazione dello zafferano in Sicilia, assente da molti secoli, è stata promossa dalla richiesta di DOP per il formaggio pecorino “Piacentinu” prodotto nella provincia di Enna che annovera tra gli ingredienti lo zafferano.

Con il contributo della provincia Regionale di Enna ed il supporto scientifico e sperimentale del DACPA dell’Università degli Studi di Catania, sono stati studiati aspetti diversi della tecnica colturale dello zafferano quali ad esempio l’influenza sulla produttività delle dimensioni dei cormi e dell’epoca della messa a dimora degli stessi (Gresta *et al.*, 2008 a), della zona di origine del bulbo–madre dell’investimento unitario (Gresta *et al.*, 2008 b), e della precessione colturale (Lombardo *et al.*, 2008).

Scopo della presente ricerca è stato quello di indagare su alcuni aspetti di tecnica colturale relativi a:

- scelta del terreno su cui porre a dimora i bulbo-tuberi,
- permanenza in campo dei bulbo-tuberi (coltura poliennale)
- tecnica di propagazione quale quella in vitro, considerato il contributo che la coltivazione in vitro potrebbe offrire in termini di moltiplicazione su larga scala di cloni selezionati ed esenti dai principali patogeni.

2. MATERIALI E METODI

Le prove in campo sono state condotte presso l’Azienda Agraria Sperimentale dell’Università degli Studi di Catania sita in contrada Primosole (CT) 10 m s.l.m. per ciò che concerne la prova relativa all’adattamento dello zafferano a terreno di



Figura 1 “Torretta dei Lombardi” Assoro

differente costituzione; presso l’azienda “Torretta dei Lombardi” sita in territorio di Assoro (EN) contrada “Montagna” a 721 m s.l.m. (Fig.1) per la prova di coltivazione poliennale; presso i laboratori dell’Istituto per i Sistemi Agricoli e Forestali del Mediterraneo (ISAFOM) di Catania, per le tecniche di propagazione *in vitro*.

2.1 Prova A: Influenza della granulometria del terreno sulla produttività dello zafferano

Per ciò che concerne la prima tematica di ricerca la prova è stata effettuata nel corso del 2008 nel campo sperimentale dell'Università degli Studi di Catania (10 m s.l.m., piana di Catania). Bulbi di una popolazione sarda sono stati posti a



dimora sullo stesso appezzamento di terreno in cui erano presenti tre diverse classi dimensionali di particelle ottenute mescolando una quantità crescente di sabbia al terreno

limoso-argilloso originale: 1) sabbioso (65% di sabbia), 2) intermedio (58% di sabbia) e 3) argilloso (43% di sabbia). Sono state studiati anche due investimenti unitari 55 e 33 bulbi/m². Campioni di terreno sono stati prelevati da ogni parcella e analizzati per la determinazione delle componenti del suolo. Bulbi di diametro orizzontale 3,0-3,5 cm e peso di 14,0-19,0 g sono stati posti a dimora su porche, di 80 cm di larghezza e 30 cm di altezza dal livello del suolo, con 3 file di bulbi in ogni porca posti a 10 cm di profondità, 20 cm tra file e 5 o 6,7 centimetri all'interno delle file in rapporto al n° di bulbi/ m². Schema sperimentale a blocchi randomizzati con 4 repliche e parcelle di 3,6 m² (1,2 m-3.0 m). Le infestanti sono state controllate mediante scerbatura manuale. I fiori sono stati raccolti manualmente e quotidianamente alle prime ore del mattino, prima che il fiore si aprisse. Immediatamente dopo la raccolta dei fiori, gli stigmi sono stati separati manualmente ed essiccati in un forno ad aria forzata a 30 ° C per circa 12 ore. Sono stati oggetto di rilievo il calendario di fioritura il numero di fiori giornaliero e la resa in stimmi. E' stata misurata la temperatura del suolo.

2.2 Prova B: Permanenza poliennale dei bulbo-tuberi in campo

Per ciò che concerne la seconda linea di ricerca, il terreno su cui è stata effettuata la prova di coltivazione poliennale era di natura sabbiosa con scarsa dotazione di azoto e potassio mediamente dotato di fosforo e pH alcalino (tab.2).

Tabella 2. Analisi chimico-fisica del terreno (C.da Montagna – Assoro)

Granulometria	%				
sabbia	92,50	limo	4,10	argilla	3,40

Parametri	Simboli	Unità di misura	Valori ottenuti	Valori di riferimento
Reazione del terreno	pH	-	8,67	6,8-7,2
Humus	-	%		1,8-2,2
Calcare totale	CaCO ₃	%	2,90	<10
Calcare attivo	CaCO ₃	%		<1
Macroelementi				
Azoto org. + amm.	N	%	0,49	1-2
Fosforo ass.	P ₂ O ₅	p.p.m.	27,95	15-30
Potassio scambi.	K ₂ O	p.p.m.	96,97	150-300
Microelementi				
Ferro	Fe	p.p.m.	4,60	>2
Zinco	Zn	p.p.m.	2,76	>3,3
Manganese	Mn	p.p.m.	8,92	>20
Estratto saturo				
Conducibilità specifica	-	uS/cm 25°C	574	<2000

Nel primo anno di prova la messa a dimora dei cormi di dimensioni superiori a 2,5 cm di diametro, con una densità pari a 120 kg è stata effettuata nella prima decade di settembre. Prima della “semina” i bulbi sono stati immersi per 5 minuti in ossicloruro di rame in proporzione di 60-70 g in 10 l di acqua. E’ stata somministrata sostanza organica in quantità pari a 0,3 t/ha. Considerata la natura del terreno non sono state realizzate le porche che sono tipiche della coltivazione in altre zone d’Italia. Sono state invece realizzate 20 file distanti 1 m per facilitare il controllo delle infestanti con mezzi meccanici e lunghe m 50 per una superficie totale di 1000 m². Per ogni fila sono stati messi a dimora 350 bulbi alla distanza di 14cm ed ad una profondità di 25 cm. Pertanto l’investimento

unitario è risultato di gran lunga più basso di quello riportato in letteratura (40- 50 piante m²) e pari a 7 piante per m².

Non è stato eseguito alcun intervento irriguo. E' stata rilevata la temperatura minima media e massima giornaliera dell'aria durante il periodo di fioritura.

La raccolta dei fiori è stata eseguita giornalmente a mano nelle prime ore del mattino. Una volta raccolti i fiori sono stati mondati cioè è stata effettuata la separazione degli stammi dal fiore e gli stammi sono stati essiccati a bassa temperatura (35-40°C) mediante fornello Biosec B6 Tauro.

E' stato rilevato il numero dei fiori giornaliero, il peso secco degli stammi ed il numero degli stammi in un grammo di prodotto. Tra i prelievi è stata calcolata la deviazione standard. La produzione cumulata è stata descritta mediante la funzione di Weibull (Dumur *et al.*, 1990):

$$y = M[1 - \exp(-k(t-z)^c)]$$

dove y= produzione cumulata tempo t, M= produzione massima, k= tasso di crescita, z= fase lag, c= parametro di curvatura.

Al fine di accertare l'incremento ponderale dei bulbi dopo due stagioni di crescita nel maggio 2010 è stato eseguito un saggio con la tecnica fitosociologica di Raunkiaer lanciando il cerchietto di fil di ferro più volte sulla fila ed estirpando campioni di cormi, poi rimessi a dimora dopo averli pesati.



Figura 2 Areale in cui è stata svolta la prova di coltivazione poliennale

La determinazione delle caratteristiche qualitative è stata effettuata presso il laboratorio di chimica biomolecolare del CNR di Catania secondo la normativa ISO. Cinque mg di stimmi per ciascun campione di zafferano sono stati triturati e la polvere ottenuta posta in una fiala ambrata da 8 ml. A ciascun campione sono stati aggiunti 5 mL di acqua distillata e la sospensione ottenuta posta sotto agitazione per 1 ora, al riparo dalla luce, a 350 rpm. Tali condizioni sono state determinate come ottimali per avere la massima dissoluzione dei pigmenti contenuti nei campioni. La sospensione finale è stata successivamente filtrata, ottenendo una soluzione acquosa di colore arancione priva di residui solidi.

2.2.1 Analisi qualitativa

Analisi secondo la normativa iso dei campioni di zafferano

Preparazione del campione: 5 mg di stimmi per ciascun campione di zafferano sono stati triturati e la polvere ottenuta posta in una fiala ambrata da 8 ml. A ciascun campione sono stati aggiunti 5 mL di acqua distillata e la sospensione ottenuta posta sotto agitazione per 1 ora, al riparo dalla luce, a 350 rpm. Tali condizioni sono state determinate come ottimali per avere la massima dissoluzione dei pigmenti contenuti nei campioni. La sospensione finale è stata successivamente filtrata, ottenendo una soluzione acquosa di colore arancione priva di residui solidi.

Analisi spettrofotometrica: un volume di 50 μL della soluzione ottenuta è stato diluito con 950 μL di acqua per HPLC fino ad ottenere una soluzione a concentrazione 0.05 mg mL^{-1} (peso stimmi/volume). La soluzione è stata posta in una cuvetta di quarzo da 1 mL per poter effettuare l'analisi allo spettrofotometro UV-vis.

Lo spettrofotometro utilizzato è stato un Perkin-Elmer Lambda 25 con celle al quarzo di spessore 1 cm, e per ciascun campione è stato registrato uno spettro di assorbimento nel range da 200 e 700 nm da cui sono stati ricavati i valori di assorbimento a 257 nm (determinazione picrocrocina) e 440 nm (determinazione crocine).

I valori di assorbanza ottenuti sono relativi alla precedente soluzione a concentrazione 0.05 mg mL^{-1} ed espressi come $E^{1\%}$ (257 nm) e $E^{1\%}$ (440 nm) rispettando la procedura ISO 3632-2-1993 per standardizzare il metodo di misura del gusto amaro e del potere colorante dello zafferano, rispettivamente.

Analisi SPME (solid phase micro extraction) – GC-MS (gas chromatography/mass spectrometry) del profilo dei componenti volatili.

Preparazione del campione: sono stati triturati 30 mg di stimmi di zafferano e posti in una vial per SPME con tappo perforabile, immersa in un bagno d'acqua a 50 °C, sotto agitazione per 10 min. mediante ancoretta magnetica. E' stato quindi inserito l'ago della siringa SPME (precedentemente condizionata al GC), esponendolo per 2 cm nello spazio di testa all'interno della vial permettendone l'adsorbimento per 30 min. La fibra utilizzata è stata una fibra blu della Supelco costituita da 65 µm Polydimethylsiloxane- 35 µm Divinylbenzene.

Analisi GC-MS : successivamente la fibra è stata inserita a desorbire per 5 min nel liner di un gas cromatografo Hewlett-Packard mod. 5890 dotato di un rivelatore a ionizzazione di fiamma (FID) e connesso con uno spettrometro di massa Hewlett-Packard mod. 5971A.

Le analisi GC-FID e GC-MS sono eseguite nelle seguenti condizioni analitiche: colonna capillare SPB-5 (15 m × 0.1 mm d.i. × 0.1 µm spessore film); gas di trasporto utilizzato elio; iniezione in modalità splitless; temperatura dell'iniettore e del rivelatore, rispettivamente, 250 e 280°C. La temperatura del forno è stata programmata nel seguente modo: temperatura iniziale di 40 °C poi da 40°C a 60°C a 10°C/min e rimane costante per 1 min. da 60°C a 140°C a 4°C/min, da 140°C fino a 240°C a 20°C/min e rimane costante per 5 min.

2.3 Prova C: Propagazione in vitro

Per ciò che concerne la micropropagazione dello zafferano, gli esperimenti sono stati condotti presso i laboratori dell'Istituto per i Sistemi Agricoli e Forestali del Mediterraneo (ISAFOM) di Catania, utilizzando bulbi e bulbilli di un ecotipo Sardo di *Crocus sativus* L. ottenuti dopo due anni consecutivi di coltivazione ad Assaro (En 750 m s.l.m.). In uno schema completamente randomizzato, sono state studiati gli effetti di: 2 epoche di iniziazione della coltura *in vitro* (15 luglio e 19 ottobre) e 5 tipi di espianto: gemme principali e gemme laterali con o senza porzione di bulbo, bulbilli interi.

Prima del passaggio *in vitro*, la procedura di disinfezione prevedeva:

- la rimozione degli involucri esterni, il lavaggio sotto acqua corrente per eliminare eventuali residui di terra
- il taglio degli espianti previsti dal piano sperimentale e la loro immersione per 5 minuti in una soluzione contenente 5 g L⁻¹ di cloruro di mercurio
- l'immersione per 20 min. in una soluzione di ipoclorito (NaClO) al 2,5 di cloro attivo (50% della candeggina commerciale).

Dopo la disinfezione, gli espianti sono stati lavati per tre volte sotto cappa in H₂O sterile e quindi trasferiti in camera di crescita a 25±1°C con fotoperiodo 16h luce 8 h buio. Il substrato che ha ospitato la coltura è stato il seguente: MS (Murashige and Skoog, 1962) vit. Morel, 2 mg L⁻¹ BAP, 0.5 mg L⁻¹ NAA, 0.05 mg L⁻¹ Ga₃, 30 g L⁻¹ saccarosio, 7 g L⁻¹ agar, 2 mg L⁻¹ di Plant Preservative Mixture™ (PPM).

Per ogni tesi sperimentale, replicata tre volte, sono stati impiegati 5 espianti.

A dieci giorni dall'inizio della prova sono stati rilevati il numero di espianti che avevano differenziato germogli normali, imbruniti, inquinati.

I dati biometrici sono stati sottoposti ad analisi della varianza (ANOVA). Quando il test 'F' era significativo le medie erano separate sulla base della Differenza Minima Significativa (DMS) al livello 5% di probabilità (Snedecor and Cochran, 1989). I dati percentuali sono stati trasformati in arcoseno prima dell'analisi statistica

2.4 Andamento termico

L'andamento delle temperature è stato differente nel corso dei tre anni di prova. In particolare nel primo anno quando sono stati messi a dimora dei cormi, le temperature nel mese di settembre hanno superato i 25 °C le massime e 15 °C le minime. Le temperature si sono mantenute elevate fino alla prima decade di novembre. Una situazione abbastanza simile a quella appena descritta ma con valori sia delle minime che delle massime tendenzialmente più elevati è stata registrata 2010. Nel secondo anno invece è stato rilevato un andamento termico più favorevole allo zafferano con ripetuti abbassamenti termici al di sotto di 10°C che hanno sostenuto una cospicua produzione di fiori (Fig.3).



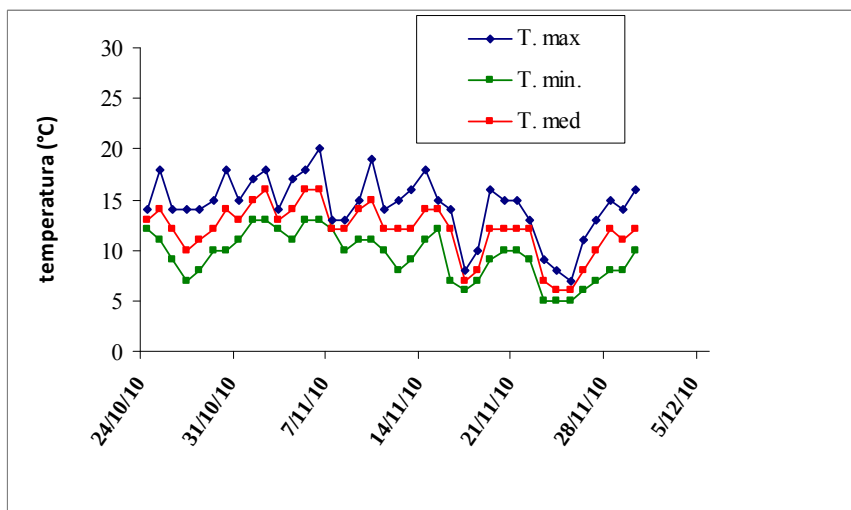
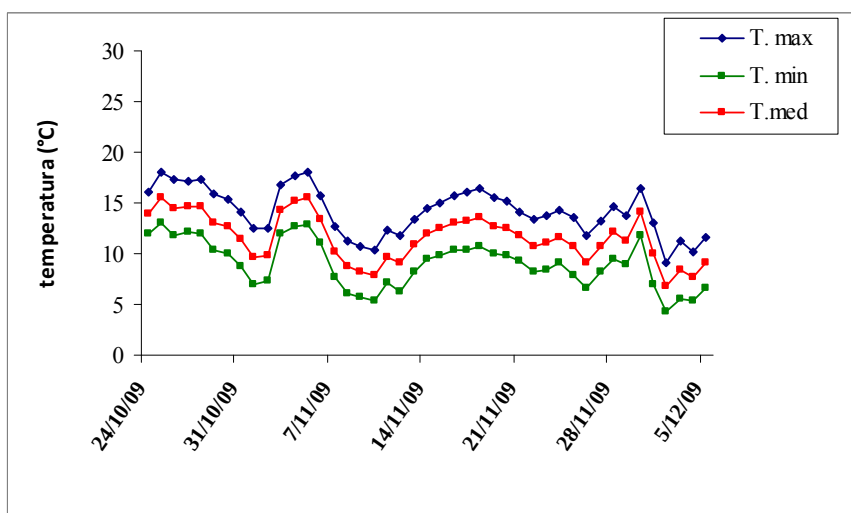
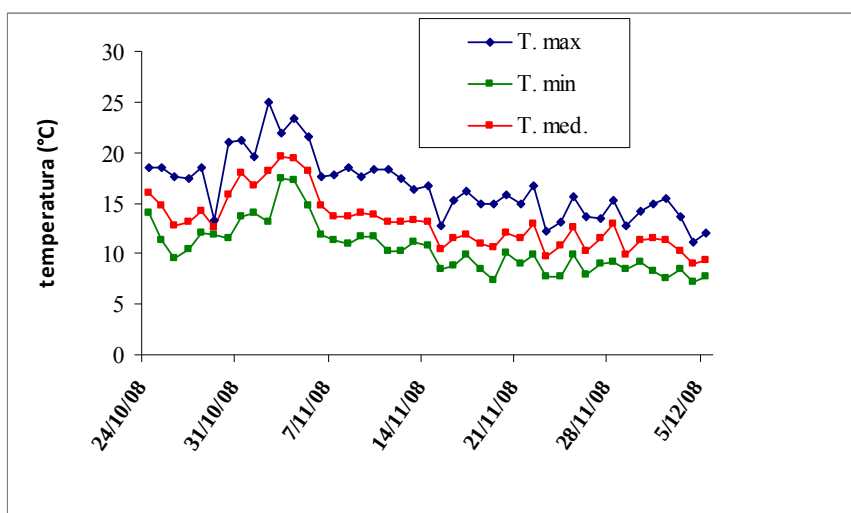


Figura 3. Decorso delle temperature minime medie e massime nei tre anni di prova.

3. RISULTATI E DISCUSSIONI

3.1 Prova A) Influenza della granulometria del terreno sulla produttività dello zafferano

La fioritura è stata in parte influenzata dalla costituzione del terreno essa è infatti iniziata lo stesso giorno per tutti i trattamenti, ma nel terreno sabbioso è finita 3-5 giorni più tardi rispetto al terreno di medio impasto e argilloso, rispettivamente (Fig.4). La diversa durata della fioritura non è facile da spiegare in quanto molti fattori sono coinvolti in questo processo ma qualche ipotesi può essere formulata. Uno dei fattori influenzati dalla costituzione del suolo è la temperatura: il terreno sabbioso è caratterizzato da escursioni termiche maggiori rispetto a quelle del terreno argilloso, con temperature notevolmente inferiori durante la notte e più alte durante il giorno (dati non mostrati). La tessitura del suolo è in relazione anche con il contenuto idrico del suolo. Non siamo in grado di individuare quali di questi fattori abbiano svolto un ruolo chiave, ma certamente è stato accertato un effetto sulla durata della fioritura. Il numero dei fiori e il peso per metro quadrato di stimmi è risultato significativamente condizionato dalla tessitura del suolo e dal numero dei bulbi/m²: il maggior numero di fiori e la più alta resa in stimmi sono stati registrati in terreni sabbiosi e a tessitura intermedia e densità di impianto con valori più elevati (44%). Ciò può essere dovuto al fatto che il terreno argilloso non consente una agevole fuoriuscita dei fiori. L'aumento della resistenza di penetrazione del terreno per effetto della costituzione e del contenuto idrico riduce fortemente il tasso di crescita delle radici in molte specie (Bengough e Mullis, 1990; Bengough *et al*, 1997). L'elevata presenza di bulbi nel terreno argilloso, non ha consentito un incremento della produzione di zafferano rispetto all'investimento più basso. Il più alto peso unitario stigmi è stato ottenuto in corrispondenza del "terreno argilloso ad alta densità " mentre il substrato sabbioso ha presentato il più basso. Questo comportamento, osservato nello zafferano è stato spiegato da (Gresta *et al.*, 2009), in tema di bilanciamento d'energia. I bulbi infatti hanno un preciso, potenziale predeterminato che può essere espresso sia come numero che come peso di stimmi.

In definitiva con la più alta densità di bulbi, sono state ottenute alte produzioni di fiori e di stimmi, e le migliori “performance” produttive sia nel terreno sabbioso che in quello a tessitura intermedia. Terreni sabbiosi e sabbiosi-limosi sono certamente i più adatti per una maggiore produzione di stimmi e di bulbi. Al contrario il terreno argilloso non sembra si adatti bene alla produzione di zafferano.

Tabella 2. Principali caratteristiche di stimmi in relazione alla tessitura del suolo.

Tipo di terreno	Densità	Numero di fiori (n m ⁻²)	Resa stimmi (g m ⁻²)	Peso unitario stigmi (mg)
Sabbia	Bassa	74.3 b	0.45 b	6.03 c
	Alta	125.1 a	0.77 a	6.16 c
Intermedio	Bassa	63.3 bc	0.42 b	6.66 b
	Alta	107.5 a	0.70 a	6.49 b
Argilloso	Bassa	52.5 c	0.34 b	6.54 b
	Alta	64.1 bc	0.44 b	6.91 a

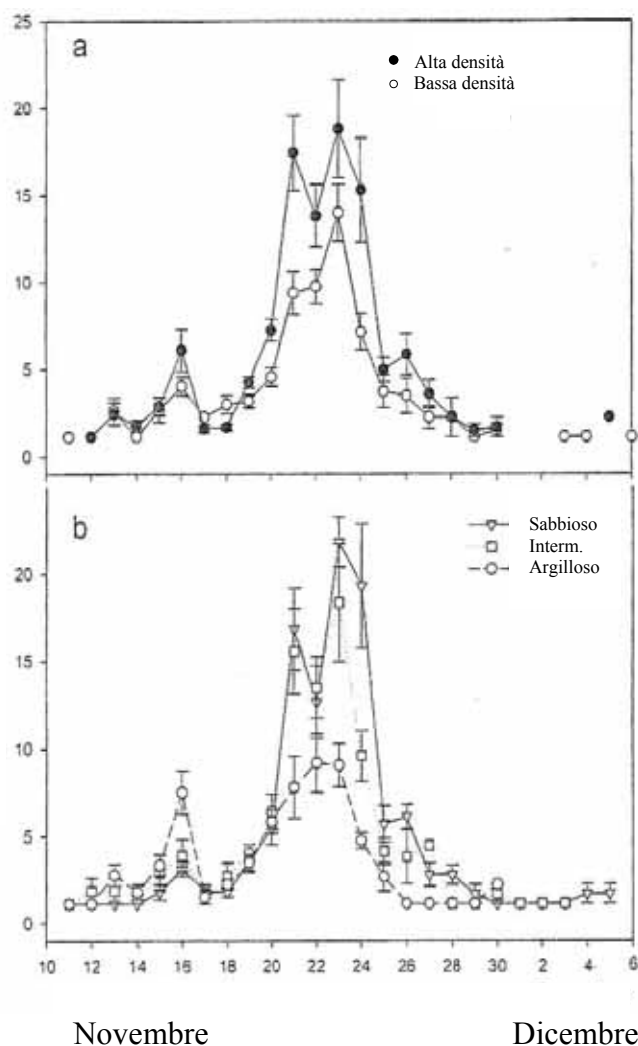


Figura 4. Numero di fiori in relazione alla densità (a) e alla grana del terreno (b).

3.2 Prova B: *Permanenza dei bulbo-tuberi in campo* (coltura poliennale)

La durata del periodo della fioritura è risultato variabile in rapporto all'annata considerata .

Nel primo anno, come d'altra parte ci si aspettava a causa della messa a dimora piuttosto tardiva, la fioritura è iniziata nei primi giorni di novembre e si è conclusa nella prima decade di dicembre. Come emerso dalle ricerche condotte da Gresta *et al.*, (2008) per l'ambiente siciliano l'epoca di semina precoce è uno dei fattori che maggiormente incidono sul determinismo della resa in stimmi. Complessivamente sono stati raccolti 4679 fiori con un solo picco di 1420 fiori in una sola giornata in corrispondenza della quale come accennato in precedenza le temperature minime erano scese a circa 10 °C dopo che nei giorni precedenti le

minime avevano superato i 17°C. Il peso secco totale degli stimmi è stato pari a 42 g.

Nel secondo anno 2009 la fioritura è iniziata il 21 ottobre e si è conclusa il 29 novembre. Durante questo periodo l'andamento termico è risultato particolarmente favorevole alla coltura; sono stati infatti raccolti complessivamente 60442 fiori con il valore più elevato il cosiddetto "picco" rilevato il 29 ottobre (Fig.5) Anche in questo caso il valore della temperatura minima era di poco superiore ai 10°C. Occorre comunque sottolineare che a causa dei continui abbassamenti termici nel periodo compreso tra il 28 ottobre ed il giorno 8 novembre è stato prodotto il 91,5 % dei fiori. La produzione complessiva di stimmi secchi è stata pari a 336 g (Tab.3).

Nel 2010 l'inizio della fioritura si colloca tra la fine di ottobre ed i primissimi giorni di novembre; le alte temperature registrate nel periodo in oggetto e nei giorni precedenti hanno determinato una emergenza dei germogli scalare ed una percentuale di isterantia ben più elevata rispetto agli anni precedenti quando il fenomeno era stato rilevato sporadicamente. Nel terzo anno di prova sono stati rilevati due valori massimi ciascuno con oltre 10.000 fiori. Tra il 7 novembre ed il 23 dello stesso mese è stato raccolto l'87% dei fiori. La produzione di stimmi secchi è stata pari a 286 g con un decremento pari al 16 % che appare inconsueto in quanto il calo produttivo si rileva dal quarto anno in poi come riportato anche da Goliaris (1999) per la coltura poliennale in Grecia (Tab.3). Come più volte sottolineato l'andamento termico ha influenzato la produzione dei fiori. In accordo con Fernadez (2004) e Mollafilabi (2004) si può affermare che a condizionare negativamente la produzione ha contribuito anche l'assenza di precipitazioni nel periodo antecedente la fioritura che i due autori citati ritengono importanti ai fini della produttività

Il numero di fiori per ettaro è stato circa metà di quello riportato in letteratura ma rimane comunque elevato se si considera che l'investimento unitario è circa un quinto rispetto a quello indicato per lo zafferano.

La produzione cumulata del peso secco giornaliero degli stigmi ha mostrato un buon adattamento alla funzione di Weibull con R^2 che variava da 0,98 a 0,99. (Fig. 6)

L'andamento del peso secco degli stigmi ha mostrato così come il numero di fiori, un andamento pressoché crescente nelle diverse raccolte fino a una settimana dopo l'inizio fioritura che si è verificata il 21 ottobre il II anno di prova e il 29 ottobre il III anno per poi rimanere pressoché invariato successivamente (fig.5).

Il peso unitario degli stimmi nel secondo e nel terzo anno non ha mostrato differenze significative; in un grammo di prodotto sono stati rilevati in media 612 stimmi nel 2009 e 604 nel 2010.

Infine il peso dei bulbi stimato con il metodo Raunkiaer ha messo in evidenza come a fronte di una densità di impianto pari a 120 kg nel 2008 si sia arrivati al terzo anno a 364 kg.

Tabella 3. Costanti che descrivono la produzione cumulata (M, K, z e c) derivati dalla funzione Weibull in rapporto a due differenti annate agrarie.

Annata agraria	M	K (1/h)	z (h)	c
2008-2009	336,52 $\pm$ 2,55	0,08 $\pm$ 0,01	1,00 $\pm$ 2,01	2,79 $\pm$ 0,58
2009-2010	267,19 $\pm$ 5,30	0,07 $\pm$ 0,02	0,99 $\pm$ 4,06	3,29 $\pm$ 1,16

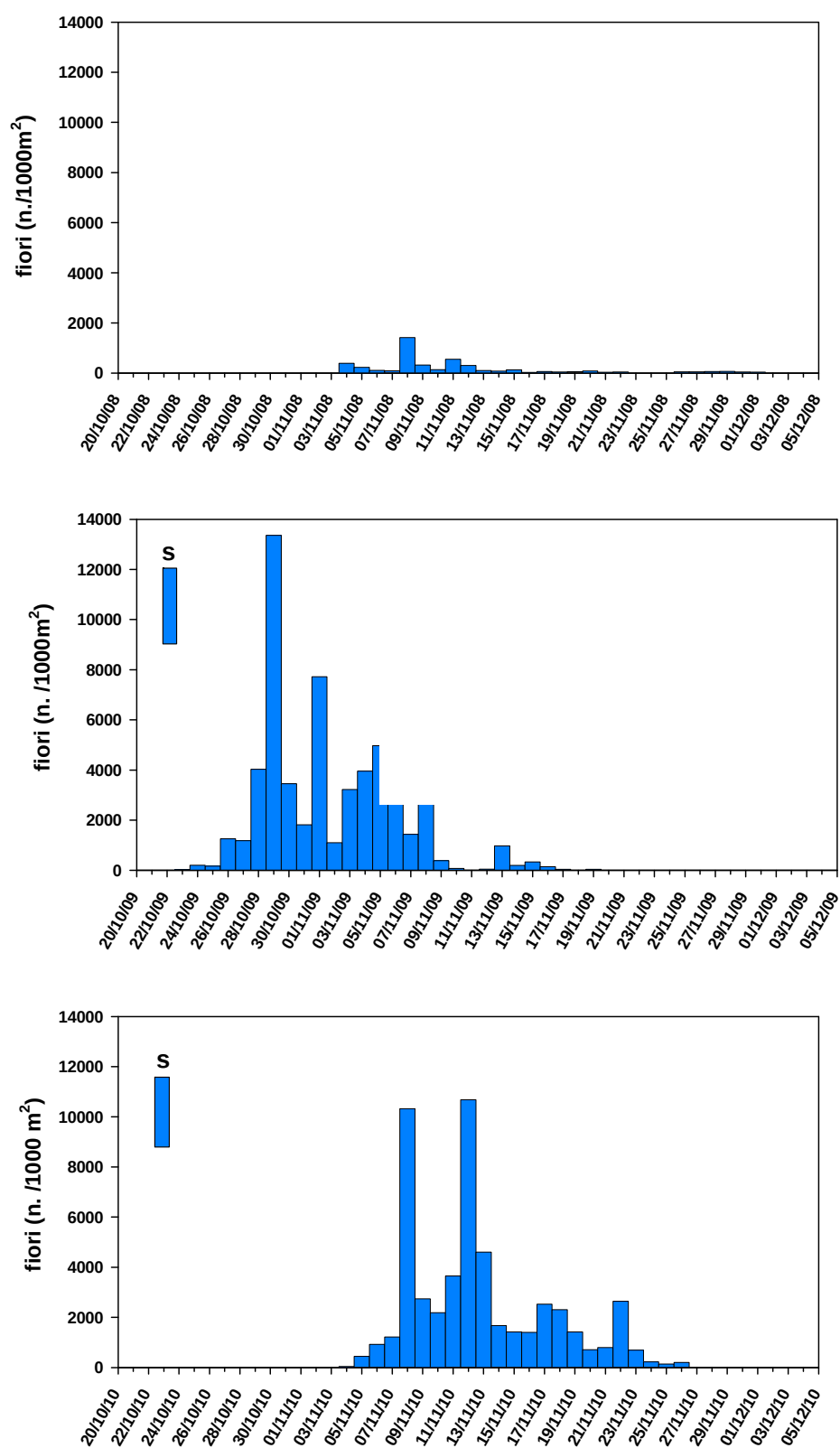


Figura 5. Numero di fiori in relazione alla data di raccolta. s = Deviazione Standard dei dati.

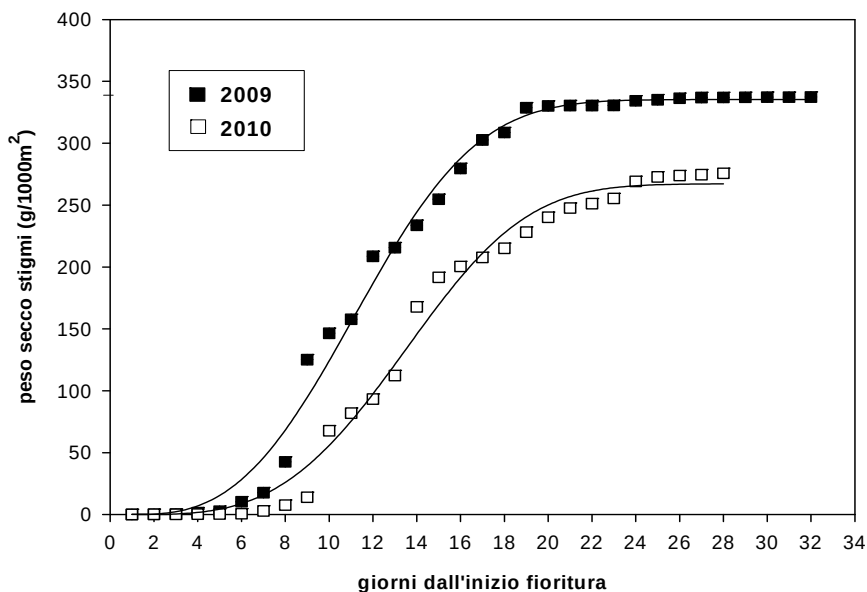


Figura 6 Andamento del peso secco (g) degli stigmi nei due anni di prova.

Per ciò che concerne le caratteristiche qualitative degli stimmi essiccati relativi al 2009 ed al 2010 è stato possibile mettere in evidenza quanto segue.

Sulla base dei risultati ottenuti entrambi i campioni, sono da inserire nella prima categoria ISO per entrambe le misure. Tuttavia analizzando nel dettaglio i valori ottenuti appare evidente, come era da aspettarsi, una migliore qualità del campione 2010 rispetto a quello 2009.

Il profilo dei componenti volatili dei due campioni (Tab. 4) rientra nella norma di quello tipico di un ottimo zafferano. Qualitativamente i due profili sono molto simili presentando, da un punto di vista biomolecolare, la classica sequenza di componenti caratteristici di questa specie

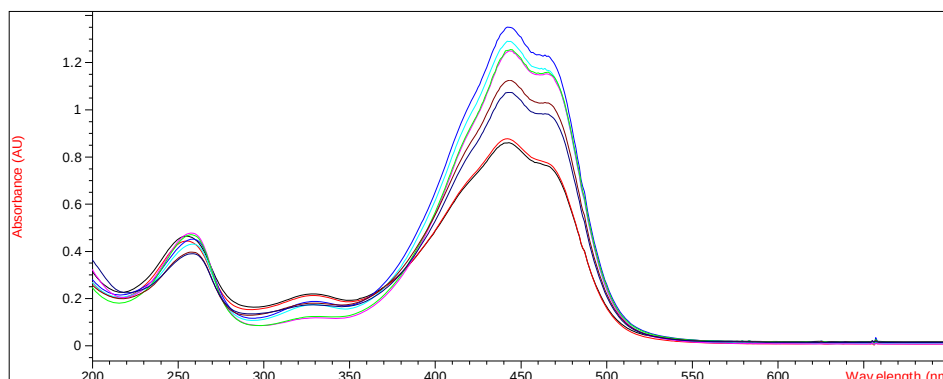


Figura 7 . Sequenza di spettri UV-Vis dei campioni di zafferano

Tabella 4. Valori degli spettri UV-Vis dei campioni di zafferano

Campione	E ^{1%} (440 nm)	Categoria ISO (crocine)	E ^{1%} (257 nm)	Categoria ISO (picrocrocina)
2010	246.5 (0.7)	I	94.5 (0.7)	I
2009	218.0 (7.1)	I	78.5 (0.7)	I

La più consistente differenza che emerge da queste analisi è il diverso contenuto del principale e caratteristico componente volatile dello zafferano, il safranale, che si attesta intorno al 75 % nel campione 2009 e al 45 % in quello 2010 con ogni probabilità dovuta alle trasformazioni della picrocrocina come accertata da altri autori (Rana *et al.*, 1996) durante la conservazione.

Altre differenze quantitative si osservano per alcuni componenti minori

Tabella 5. Profilo dei componenti volatili dei due campioni di zafferano

Composto	Campioni	
	2009	2010
1-Hydroxy-2-ethylbenzene	0,06	
1-Hydroxy-3-ethylbenzene	0,17	0,21
-Isophorone		2,27
Linalool		0,21
1-Carbocaldehyde-5,5-dimethyl-2-methylene-3-cyclohexene	0,68	1,25
Phenyl ethyl alcohol	0,39	
-Isophorone	3,58	10,49
1,3,3-Trimethyl-7-oxabicyclo-[4.1.0]-heptan-2,5-dione		0,95
4-Ketoisophorone	1,45	2,39
2-Hydroxyisophorone	0,22	
Benzene, 1-etoxy-4-methoxy	0,15	0,56
2,2,6-trimethyl- 1,4-Cyclohexanedione	1,71	11,92
<i>p</i> -Ethylbenzaldehyde	0,16	0,21
Safranal	74,28	45,27
Eucarvone	0,62	0,20
4-methylene- Isophorone	0,98	0,18
4-hydroxy-2,6,6-trimethyl-2-Cyclohexen-1-one	0,18	
5-Phenylbicyclo[2,2,1]-2-heptene	0,05	
1-(2,4,6-trihydroxyphenyl)-1-propanone		0,54
6-(2-butenyldine)-1,5,5-trimethyl-cyclohexene	0,09	0,10
2,4,4-Trimethyl-3-carboxaldehyde-5-hydroxy-2,5-cyclohexadien-1-one	3,67	10,02
N.I. (MW 168)	5,66	8,62
Dihydro- -Ionone	0,09	0,81
Dihydro- -Ionol	0,05	0,34
Geranyl acetone	0,07	0,12
-Ionone	0,11	0,59

3.3 Prova C: Propagazione in vitro

La procedura di disinfezione adottata ha consentito l'ottenimento del 100% di germogli sterili senza danni evidenti alle gemme. La fase di sterilizzazione della coltura è stata descritta da Karaoğlu *et al.* (2006) come una delle fasi più difficili della coltura in vitro. Gli stessi autori, infatti, hanno rilevato la persistenza delle contaminazioni dopo il lavaggio con candeggina, la morte degli espianti a seguito dell'adozione di procedure più drastiche di disinfezione (pre-lavaggio in acido solforico o in altre sostanze) o la ricomparsa delle contaminazioni anche dopo l'aggiunta del PPM. Nel corso delle nostre prove non sono stati osservati contaminanti anche a quattro mesi dall'impianto della coltura. Per quanto riguarda lo sviluppo dei germogli, qualunque sia stato l'espianto utilizzato, non sono stati ottenuti germogli normali in corrispondenza della prima epoca d'impianto. Per quanto riguarda la seconda epoca, sono stati osservati elevati indici di imbrunimento (50% degli espianti) mentre si è in attesa dei risultati relativi allo sviluppo dei germogli considerati i lunghi tempi di differenziazione degli stessi rilevati da altri autori (Karaoğlu *et al.*, 2006).



4. CONCLUSIONI

Lo studio di aspetti diversi, alcuni dei quali innovativi, relativi alla tecnica colturale dello zafferano sono da ritenere degni di nota in vista della possibile diffusione di questa specie in Sicilia.

Malgrado lo zafferano sia considerato ad elevata adattabilità, particolare cura deve essere posta nella scelta dell'ambiente inteso nel duplice aspetto di terreno ed atmosfera.

Per ciò che concerne la costituzione, terreni sabbiosi e sabbiosi-limosi sono certamente i più adatti per una maggiore produzione di stimmi e di bulbi. Al contrario il terreno argilloso non sembra si adatti bene per la produzione di zafferano.

La scelta di effettuare la coltura poliennale ad altimetria elevata è risultata valida poiché la fioritura della specie in esame è risultata fortemente dipendente dai cali termici che nel terzo anno sono stati di entità limitata determinando produzioni più basse di quanto ci si attendeva.

Alte densità d'impianto, hanno influenzato positivamente le produzioni di fiori e di stimmi ed hanno determinato le migliori "performance" produttive sia nel terreno sabbioso che in quello a tessitura intermedia. Tuttavia, nella prova, poliennale, con un investimento unitario di sole 7 piante m², circa un quinto rispetto a quello utilizzato nelle aree di coltivazione per lo zafferano, è stato ottenuto un numero di fiori per ettaro pari alla metà di quello riportato in letteratura. Una densità d'impianto contenuta è scaturita dalla considerazione che realizzando interfila ampie si poteva effettuare una scerbatura con mezzi meccanici in modo tale da abbassare i costi di produzione sia per ciò che concerne la manodopera che l'acquisto dei cormi. Il peso di questi ultimi, stimato con il metodo Raunkiaer è risultato triplicato nel terzo anno di prove rispetto all'impianto.

Ancora una volta è stata confermata l'ottima qualità del prodotto siciliano ascrivibile alla categoria ISO I

Per ciò che concerne la possibilità di effettuare una propagazione in vitro i primi risultati ottenuti nel breve tempo dello stage del dottorando, hanno consentito il superamento della prima fase dell'impianto della coltura *in vitro*.

In definitiva le caratteristiche biologiche ed agronomiche quali la fioritura autunnale il superamento della stagione avversa sotto forma di corno, le limitate esigenze nutrizionali, l'adattamento a terreni sciolti e poveri, rendono lo zafferano adatto ad un'agricoltura sostenibile. Esso potrebbe essere una valida alternativa colturale nelle aree marginali della collina interna siciliana specialmente dove la difficoltà a reperire acqua d'irrigazione pone seri limiti alla diffusione di altre specie e costituire una significativa integrazione al reddito dei produttori di grano duro.

BIBLIOGRAFIA

- Abdullaev, F.I.; Frankel, G.D. Saffron in biological and medical research. In Saffron: *Crocus sativus L.*; Negbi, M.; Ed.; Harwood Academic Publishers: Amsterdam, The Netherlands, 1999; 103–113.
- Abdullaev, F.I. Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron (*Crocus sativus L.*). *Exp. Biol. Med.* 2002, 227, 20–25.
- Abdullaev, F.I. Antitumour effect of saffron (*Crocus sativus L.*): overview and prospectives. *Acta Hort.* 2004, 650, 491–499.
- Abdullaev, J.F.; Espinosa, A.J.J. Biomedical properties of saffron and its potential use in cancer therapy and chemoprevention trials. *Cancer Detect. Prev.* 2004, 28, 426–432.
- Aguero, C.; Tizio, R. In vitro mass bulbification as a preliminary contribution to saffron (*Crocus sativus L.*). *Biocell.* 1994, 18, 55–63.
- Ahuja, A.; Koul, S.; Kaul, B.L. Saffron (*Crocus sativus L.*) II. In vitro corm formation in shoot regenerated from callus cultures. *Indian Performer.* 1993, 37, 151–154.
- Ahuja, A.; Koul, S.; Ram, G.; Kaul, B.L. Somatic embryogenesis and regeneration of plantlets in saffron, *Crocus sativus L.* *Indian J. Exp. Biol.* 1994, 32, 135–140.
- Ait-Oubahou, A.; El-Otamani, M. Saffron cultivation in Morocco. In Saffron: *Crocus sativus L.*; Negbi, M.; Ed.; Harwood Academic Publishers: Amsterdam, The Netherlands, 1999; 87–94.
- Akhondzadeh, S.; Tahmacebi-Pour, N.; Noorbala, A.A.; Amini, H.; Fallah-Pour, H.; Jamshidi, A.H.; Khani, M. *Crocus sativus L.* in the treatment of mild to moderate depression: A doubleblind, randomized and placebo-controlled trial. *Phytother. Res.* 2005, 19, 148–151.
- Alonso, G.L.; Varon, R.; Salinas, M.R.; Navarro, F. Auto-oxidation of crocin and picrocrocin in saffron under different storage conditions. *Boll. chim.-farm.* 1993, 132, 116–120.
- Al-Mofleh, I.A.; Alhaider, A.A.; Mossa, J.S.; Al-Sohaibani, M.O.; Qureshi, S.; Rafatullah, S. Antigastric ulcer studies on ‘saffron’ *Crocus sativus L.* in rats. *Pakistan J. Biol. Sci.* 2006, 9, 1009–1013.

- Assimopoulou, A.N.; Sinakos, Z.; Papageorgiou, V.P. Radical scavenging activity of *Crocus sativus* L. extract and its bioactive constituents. *Phytother. Res.* 2005, 19, 997–1000.
- Azafrán. <http://www.herbotecnia.com.ar/exo-azafran.html>. 2002 (accessed 18 December 2006).
- Azizbekova, N.Sh.; Milyaeva, E.L.; Lobova, N.V.; Chailakhyan, M.Kh. Effect of gibberellins and kinetin on formation of floral organs of saffron crocus (*Crocus sativus* L.). *Soviet Plant Physiol.* 1978, 25, 471–476.
- Azizbekova, N.Sh.; Milyaeva, E.L.; Chailakhyan, M.Kh. Effect of gibberellin on functional activity of dormant saffron buds. *Soviet Plant Physiol.* 1983, 29, 895–900.
- Azizbekova, N.Sh.; Milyaeva, E.L. Saffron cultivation in Azerbaijan. In *Saffron: Crocus sativus* L.; Negbi, M.; Ed.; Harwood Academic Publishers: Amsterdam, The Netherlands, 1999; 63–71.
- Badiyala, D.; Saroch, K.; Panwar, K.S. Fertilizers management in saffron (*Crocus sativus* L.) under high hill temperate conditions of Himachal Pradesh. *Indian Perfumer* 1993, 37, 253–255.
- Badiyala, D.; Saroch, K. Effect of seed corm size and planting geometry on saffron (*Crocus sativus* L.) under dry temperate conditions of Himachal Pradesh. *Indian Perfumer* 1997, 41, 167–169.
- Bamford, D. Dyeing for a king. *Journal for Weavers, Spinners and Dyers* 2006, 218, 24–25.
- Barshad, I.; Halevy, E.; Gold, H.A.; Hagin, G. Clay minerals in some limestone soils from Israel. *Soil Sci.* 1956, 81, 423–437.
- Basker, D.; Negbi, M. Uses of saffron. *Econ. Bot.* 1983, 37, 228–236.
- Bhagyalakshmi, N. Factors influencing direct shoot regeneration from ovary explants of saffron. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 1999, 58, 205–211.
- Blazquez, S.; Piqueras, A.; Serna, M.D.; Casas, J.L.; Fernandez, J.A. Somatic embryogenesis in saffron: optimisation through temporary immersion and polyamine metabolism. *Acta Hort.* 2004, 650, 269–276.
- Behnia, M.R.; Estilai, A.; Ehdaie, B. Application of fertilizers for increased saffron yield. *J. Agron. Crop Sci.* 1999, 182, 9–15.

- Behzad, S.; Razavi, M.; Mahajeri, M. The effect of various amounts of ammonium phosphate and urea on saffron production. *Acta Hort.* 1992, 306, 337–339.
- Behzad, S.; Razavi, M.; Mahajeri, M. The effect of mineral nutrients (NPK) on saffron production. *Acta Hort.* 1992, 306, 426–430.
- Benschop, M. Crocus. In *The physiology of flower bulbs*; Chap. 19. de Hertog, A.; Le Nard, M.; Eds.; Elsevier Publishers: Amsterdam, The Netherlands, 1993; 257–272.
- Bolandi, M.; Aminlari, M.; Karbassi, A.; Ghoddusi, H.B.; Mesbahi, G. Effect of drying methods and light on the chemical characteristics of saffron (*Crocus sativus* L.) during storage. *Agric. Sci. Tech.* 2004, 18, 197–204.
- Bowels, E.A., Ed. *A handbook of Crocus and Colchicum for gardeners*; Bodley Head, London, 1952; 222.
- Boynton, D. Nutrition by foliar application. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 1954, 5, 31–54.
- Budhiraja, K.L. Kashmir saffron with methods for testing its purity. *J. Ind. Chem. Soc.* 1942, 25, 135.
- Bullitta, P.; Milia, M.; Pinna, M.E.; Satta, M.; Scarpa, G.M. Sowing density and corm growth: two fundamental aspects of the cultivation of saffron. *Rivista Italiana EPPOS* 1996, 19, 139–145.
- Bullitta, P.; Milia, M.; Pinna, M.E.; Satta, M.; Scarpa, G.M. Initial results of the effects of different agronomic treatments on *Crocus sativus* L. in Sardinia. *Rivista Italiana EPPOS* 1996, 19, 131–137.
- Cappelli, C. Occurrence of *Fusarium oxysporum* f sp. *gladioli* on saffron in Italy. *Phytopath. Med.* 1994, 33, 93–94.
- Carmona, M.; Zalacain, A.; Pardo, J.E.; Lopez, E.; Alavarruiz, A.; Alonso, G.L. Influence of different drying and aging conditions on saffron constituents. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 3974–3979.
- Carmona, M.; Zalacain, A.; Salinas, M.R.; Alonso, G.L. A new approach to saffron aroma. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2007, 47, 145–159.
- Carta, C.; Fiori, M.; Francesconi, A. Charcoal rot of saffron (*Crocus sativus* L.). *Sturdi Sassaresi* 1982, 29, 193–197.

- Castellar, M.R.; Iborra, J.L. Callus induction from explants of *Crocus sativus*. J. Plant Biochem. Biotechnol. 1997, 6, 97–100.
- Cavusoglu, A.; Erkel, E.I. The effect of different planting areas and corm size on yield and harvest period of saffron (*Crocus sativus* L.) in Kocaeli province. Akdeniz Universitesi Ziraat Fakultesi Dergisi 2005, 18, 179–184.
- Chahota, R.K.; Dhiman, K.C.; Rana, S.S.; Singh, M. Efficacy of different propagating methods for higher daughter corm production in saffron (*Crocus sativus* L.). Indian Perfumer 2003, 47, 155–158.
- Chaloushi, B.; Zarghami, R.; Mishani, C.A.; Omid, M.; Agayev, Y.M.; Sardood, B.P. Effect of different hormonal treatments on the callus production and planlet regeneration in saffron (*Crocus sativus* L.). Pakistan J. Biotech. 2007, 10, 1625–1631.
- Chandel, R.S.; Kumar, J.; Mehta, P.K. Saffron *Crocus sativus* Linn. – a new host of blister beetle, *Mylabris malicenta* (Marsh.) (Meloidae: Coleoptera). J. Insect Sci. 1996, 9, 79.
- Chang, P.Y.; Wang, C.K.; Liang, C.T.; Kuo, W. The pharmacological action of Zang Hong Hua (*Crocus sativus* L.): effect on the uterus and /or estrous cycle. Yao Hsueh Hsueh Pao 1964, 11, 94–100.
- Chauhan, R.S.; Sharma, T.R.; Chahota, R.K.; Singh, B.M. In vitro cormlet production from micropropagated shoots of saffron (*Crocus sativus* L.). Indian Perfumer 1999, 43, 150–155.
- Chichiricco, G.; Grilli Caiola, M. In vitro development of parthenocarpic fruits of *Crocus sativus* L. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 1987, 11, 75–78.
- Chio Sang, T.; Park, I.H.; Ahn, H.G. Effect of planting depth and existence of tunic on growth and flowering in freesia forcing. J. Korean Soc. Hort. Sci. 1996, 37, 577–581.
- Chrungoo, N.K.; Farooq, S. Influence of gibberellic acid and naphthalene acetic acid on the yield of saffron and on growth in saffron crocus (*Crocus sativus* L.). Indian J. Pl. Physiol. 1984, 27, 201–205.
- Chrungoo, N.K.; Farooq, S. Influence of GA₃ and NAA on certain carbohydrates fraction in corms of saffron (*Crocus sativus* L.) during development. Acta Soc. Bot. Pol. 1989, 58, 237–246.

- Chrungoo, N.K.; Farooq, S. In Regulation of dormancy in saffron crocus (*Crocus sativus* L.), Proceedings of National Symposium on saffron, Regional Research Laboratory, Jammu, India, 25–26 November 1999; 36.
- Dalby, A., Ed. *Dangerous Tastes: The Story of Spices*; University of California Press: Berkely, CA; 2002; 256.
- Darvishi, E.; Zarghami, R.; Mishani, C.A.; Omid, M.; Sarkhosh, A. In vitro production of pathogen-free plantlets via meristem culture in Saffron (*Crocus sativus* L.) *Biotechnol.* 2006, 5, 292–295.
- De Juan, J.A.; Moya, A.; Lopez, S.; Botella, O.; Lopez, H.; Munoz, R. Influence of the corm size and the density of plantation in the yield and the quality of the production of corms of *Crocus sativus* L. *ITEA Production Vegetal* 2003, 99, 169–180.
- De Mastro, G.; Ruta, C. Relation between corm size and saffron (*Crocus sativus* L.) flowering. *Acta Hort.* 1993, 344, 512–517.
- Deo, B. Growing saffron—The world's most expensive spice. *Crop Food Res.* 2003, 20, 1–4.
- De Paoli G. *et al.* Micropropagazione delle piante ortoflorofrutticole 1994. *Agricoltura moderna*.
- Dhar, A.K.; Sapru, R.; Rekha, K. Studies on saffron in Kashmir-I. Variation in natural population and its cytological behavior. *Crop Improvement* 1988, 15, 48–52.
- Dhar, A.K. Saffron breeding and agrotechnology—A status report. *PAFAI J.* 1990, 12, 18–22.
- Dhar, A.K. Studies on saffron in Kashmir-IV. Variation in corm size and its effect on cormel production and flowering. *Indian Perfumer* 1991, 35, 173–176.
- Dhar, A.K. Studies on saffron in Kashmir - V: Variation in planting density in relation to flower yield and cormel production. *Indian Perfumer* 1992, 36, 192–195.
- Dhar, A.K.; Sapru, R. Studies on saffron in Kashmir III. In vitro production of corm and shoot like structures. *Indian J. Gen. Pl. Breed.* 1993, 53, 193–196.
- Dhar, A.K.; Mir, G.M. Saffron in Kashmir-VI: A review of distribution and production. *J. Herbs Spices Med. Pl.* 1997, 4, 83–90.

- Dhar, A.K. Saffron: biology, utilization, agriculture, production and quality. J. Med. Arom. Pl. Sci. 2000, 22, 355–360.
- Ding, B.Z.; Bai, S.H.; Wu, Y.; Wang B.K. Preliminary report on tissue culture of *C. sativus* L. corms. Acta Bot. Sin. 1979, 21, 387.
- Ding, B.Z.; Bai, S.H.; Wu, Y.; Fan, X.P. Induction of callus and regeneration of plantlets from corm of *C. sativus* L. Acta Bot. Sin. 1981, 23, 419–420.
- Duke, J.A. Ecosystematic data on economic plants. Quarterly J. Crude Drug Res. 1979, 17, 91–110.
- Dumur D., Pilbeam C. J., Craigon J. Use of the weibull function to calculate cardinal temperatures in faba bean. Journal of experimental botany 1990, vol. 41, no. 232 pp 1423-1430
- Ehsanzadeh, P.; Yadollahi, A.A.; Maibodi, A.M.M. Productivity, growth and quality attributes of 10 Iranian saffron accessions under climatic conditions of Chahar-Mahal Bakhtiari, Central Iran. Acta Hort. 2004, 650, 183–188.
- Escribano, J.; Rios, I.; Fernandez, J.A. Isolation and cytotoxic properties of a novel glycoconjugate from corms of saffron plant (*Crocus sativus* L.). Bichim. Biophys. Acta 1999, 1426, 217–222.
- Escribano, J.; Piqueras, A.; Medina, J.; Rubio, A.; Alvarez-Orti, M.; Fernandez, J.A. Production of cytotoxic proteoglycan using callus culture of saffron corms (*Crocus sativus* L.). J. Biotechnol. 1999, 73, 53–59.
- Fakhrai, F.; Evans, P.K. Morphogenic potential of cultured floral explants of *Crocus sativus* L. for the in vitro production of saffron. J. Exp. Bot. 1990, 41, 47–52.
- Farooq, S.; Chrungoo, N.K. In Effect of GA3 and NAA on carbohydrate degradation in corms of saffron crocus (*Crocus sativus* L.) during development, Proceedings of the International Congress of Plant Physiology, Vol. 2; Indian Society for Plant Physiology and Biochemistry, New Delhi, India, 1990; 1008–1013.
- Fernandez, J.A.; Escribano, M.J. Biotecnología del azafran; Ediciones de la Universidad de Castilla La Mancha: Cuenca, 2000.
- Fernandez, J.A. Biology, biotechnology and biomedicine of saffron. Recent Res. Dev. Pl. Sci. 2004, 2, 127–159.

- Francesconi, A. The rotting of bulbs of *Crocus sativus* L. by *Penicillium cyclopium* Westling. *Annali di Botanica* 1974, 32, 63–70.
- Gamborg, O.L.; Eveleigh, D.E. Culture methods and detection of glucanases in suspension culture of wheat and barley. *Can. J. Biochem.* 1968, 46, 417–421.
- Ganai, M.R.; Wani, M.A.; Zargar, G.H. Characterization of saffron growing soils of Kashmir. *Appl. Biol. Res.* 2000, 2, 27–30.
- George, P.S.; Visvanath, S.; Ravishankar, G.A.; Venkataraman, L.V. Tissue culture of saffron (*Crocus sativus* L.): Somatic embryogenesis and shoot regeneration. *Food Biotechnol.* 1992, 6, 217–223.
- Goliaris, A.H. Saffron cultivation in Greece. In *Saffron Crocus sativus* L.; Negbi, M.; Ed.; Harwood Academic Publishers: Amsterdam, The Netherlands, 1999; 73–85.
- Greenberg, S.; Lambert Ortiz, E., Eds. *The spice of life*; Michael Joseph Rainbird Press: London, 1983; 192.
- Greenberg- Kaslasi, D. Vegetative and reproductive development in the saffron crocus (*Crocus sativus* L.), M.Sc. thesis, the Hebrew University of Jerusalem, Israel. 1991.
- Gregory, M.J.; Menary, R.C.; Davies, N.W. Effect of drying temperature and air flow on the production and retention of secondary metabolites in saffron. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 5969–5975.
- Gresta F., Lombardo G.M., Siracusa L., Ruberto G. 2008. Effect of mother corm dimension and sowing time on stigmas yield, daughter corms and qualitative aspects of saffron (*Crocus sativus* L.) in a Mediterranean environment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88 1144-1150.
- Gresta F. Lombardo G.M., Ruberto G., Siracusa L. 2008. Saffron, an alternative crop for sustainable agricultural systems: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 28, 1, 95-112.
- Gresta F. Siracusa L., Avola G., Lombardo G.M., Ruberto G., 2009. Analysis of flowering, stigmas yield and qualitative traits of saffron (*Crocus sativus* L.) as affected by environmental conditions. *Scientia Horticulturae*, 119, 320-324.
- Gresta F. Lombardo G.M., Avola G., 2010. Saffron stigma and corm production as affected by soil texture. *Acta Horticulturae*, 850, 153-159.

- Gresta F. Lombardo G.M., Scoto A. 2006. Parliamo di zafferano: il formaggio giallo. *Caseus*, 2, 24-26.
- Gresta F., Avola G., Lombardo G.M., 2009. Ampliamento del calendario di fioritura nello zafferano (*Crocus sativus* L.) mediante trattamenti termici ai cormi. Atti del XXXVIII convegno della Società Italiana di Agronomia, Firenze, 20-23 settembre, pg.183-184.
- Grilli Caiola, M. Saffron reproductive biology. *Acta Hort.* 2004, 650, 25–37.
- Gui, Y.L.; Xu, T.Y.; Gu, S.R.; Liu, S.Q. Corm formation of saffron crocus (*Crocus sativus*) in vitro. *Acta Bot. Sin.* 1988, 30, 338–340.
- Hagiladi, A.; Umiel, N.; Ozeri, Y.; Elyasi, R.; Abramsky, S.; Levy, A.; Lobovsky, O.; Matan, E. The effect of planting depth on emergence and development of some geophytic plants. *Acta Hort.* 1992, 325, 131–138.
- Halappa, G.; Khan, T.A.; Mahadevappa, M.; Venkataraman, M.N. Optimum time of planting for high yielding varieties of paddy in kharif season of tank fed tracts of Karnatka. *Mysore J. Agric. Sci.* 1974, 8, 488–492.
- Han, L.L.; Zhang, X.Y. Morphogenesis of style stigma like structures from floral explants of *Crocus sativus* L. and identification of pigments. *Acta Bot. Sin.* 1993, 35, 157–160.
- Hassan, M.G.; Devi, L.S. Corm rot diseases of saffron in Kashmir valley. *Indian Phtopathol.* 2003, 56, 122.
- Hetman, J.; Laskowska, H. An evaluation of herbicides for field cultivation of *Crocus*. *Acta Hort.* 1992, 325, 815–819.
- Himeno, H.; Sano, K. Synthesis of crocin, picrocrocin and safranal by saffron stigma-like structure proliferated in vitro. *Agric. and Biol. Chem.* 1987, 51, 395–400.
- Hof, N.A.A.; Slangen, J.H.G. The effect of nitrogen on crocus growth is researched. *Bloembollencultuur* 1988, 99, 18–19.
- Homes, J.; Legros, M.; Jaziri, M. In vitro multiplication of *Crocus sativus* L. *Acta Hort.* 1987, 212, 675–676.
- Hosseini, M.; Sadeghiand, B.; Aghamiri, S.A. Influence of foliar fertilization on yield of saffron (*Crocus sativus* L.). *Acta Hort.* 2004, 650, 207–209.
- Huang, S.Y. A study on the tissue culture of *Crocus sativus*. *Pl. Physiol. Commu.* 1987, 6, 17–19.

Hussey G.. Propagation of some members of Liliaceae, Iridaceae and Amaryllidaceae by tissue culture. In: Birkell CD, Cutler DF, Gregory M (Eds) *Petaloid Monocotyledons* (1980) (pp 33-42) Academic Press, London

Ilahi, I.; Jabeen, M.; Firdous, N. Morphogenesis with saffron tissue culture. *J. Plant Physiol.* 1987, 128, 227–232.

Ingram, J.S. Saffron (*Crocus sativus* L). *Trop. Sci.* 1969, 11, 177–184.

In http://www.mapsofworld.com/lat_long/spain-lat-long.html. (accessed 23 May 2007).

Isa, T.; Ogasawara, T. Efficient regeneration from the callus of saffron (*Crocus sativus*). *Jap. J. Breed.* 1988, 38, 371–374.

Isa, T.; Ogasawara, T.; Kaneko, H. Regeneration of saffron protoplasts immobilized in Ca-alginate beads. *Japanese J. Breed.* 1990, 40, 153–157.

ISO 3632. Saffron (*Crocus sativus* L)—Part 1: Specification and Part 2: Test Methods; International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2003.

In Wikipedia, <http://en.wikipedia.org/wiki/saffron> (accessed 15 November 2006).

Jalali, A.K. Saffron in Kashmir. *Prajna* 1962, 7, 205–211.

Jia, Y.J.; Chen, F.; Lin, H.H.; Cao, Y.L.; Li, Y.; Wang, S. Induction of style-stigma like structure and regeneration of plantlets from corm of *Crocus sativus* in vitro. *J. Sichuan University* (Natural Science Edition) 1996, 33, 747–750.

Kabdal, P.B.; Joshi, P. Effect of 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) on development and corm formation in *Crocus sativus* Linn. *Ind. J. Pharma. Sci.* 1978, 40, 165–166.

Kanakis, C.D., Daferera, D.J., Tarantilis, P.A. and Polissiou, M.G. Qualitative determination of volatile compounds and qualitative evaluation of safranal and 4-hydroxy-2,6,6-trimethyl-1-cyclohexene-1-carboxaldehyde (HTCC) in Greek saffron. *J. Agric. Food Chem.* 2004, 52, 4515–4521.

Kaneshige, H.; Maeda, T.; Inouye, N. Host range and properties of bean yellow mosaic virus (BYMV) infecting *Crocus* and serological relationships among three strains of BYMV. *Nogaku Kenkyu* 1991, 62, 225–240.

- Karaoğlu C., Çöcü S., İpek A., Parmaksız I., Uranbey S., Sarıhan E., Arslan N., Kaya M.D., Sancak C., Özcan S., Gürbüz B., Mirici S., Er C., Khawar K.M.,. In vitro micropropagation of saffron 2006. *Acta Horticulturae*, 739
- Kaushal, S.K.; Upadhyay, R.G. Studies on variation in corm size and its effect on cormel production and flowering in *Crocus sativus* L. under mid hill conditions of H.P. *Research on Crops* 2002, 3, 126–128.
- Kaushal, S.K.; Rana U. Influence of pre chilling and GA3 on the growth rate, biomass partitioning and yield of saffron (*Crocus sativus* L.). *Indian J. Hort.* 2003, 60, 290–295.
- Keyhani, E.; Keyhani, J.; Hadizadeh, M.; Ghamsari, L.; Attar, F. Cultivation techniques, morphology and enzymatic properties of *Crocus sativus* L. *Acta Hort.* 2004, 650, 227–246.
- Khalesi, M.; Behboodi, B.; Ebrahimzadeh. H. Modality of the contractile root formation in cultivated saffron, in field condition and in tissue culture. *Acta Hort.* 2004, 650, 247–251.
- Khan, I.A. Cytomorphological studies of saffron (*Crocus sativus* L.). *Indian J. Agric. Res.* 1996, 30, 48–52.
- Kianmehr, H. In Endotrophic michorriza of saffron in Khorasan and possibility of its application, *Proceeding of 2nd Seminar on Saffron and Cultivation of Medicinal Plants*. Gonabad, Iran, 1984.
- Kirtikar, K.R.; Basu, B.D., Eds. *Indian Medicinal Plants*, Vol. IV; M/s Lalit Mohan Basu, Leader road: Allahabad, India, 1933; 2462 pp.
- Kohda, H.; Yamasaki, K.; Koyama, A.; Miyagawa, H.; Fujioka, N.; Omori, Y.; Ohta, Y.; Itoh, H.; Hosono, T. Process for culturing saffron stigma tissues. *United States Patent N 5217897*, 1993.
- Koltsova, A.S. The effect of the storage temperature of crocus corms on subsequent plant development. *Byulletin-Gosudarstvennogo-Nikitskogo-Botanicheskogo-Sada* 1974, 25, 13–17.
- Koltsova, A.S. The effect of planting date on crocus growth, development and flowering. *Byulletin-Gosudarstvennogo-Nikitskogo-Botanicheskogo-Sada* 1976, 29, 11–16.
- Koul, K.K.; Farooq, S. Growth and differentiation in the shoot apical meristem of the saffron plant (*Crocus sativus* L.). *J. Indian Bot. Soc.* 1984, 63, 153–160.

- Koul, A.K. In Saffron present status and propagation, Proceedings of National symposium on Saffron, Regional Research Laboratory, Jammu, India, 25–26 November, 1999; 21–23.
- Koyama, A.; Ohmori, Y.; Fujioka, N.; Miyagawa, H.; Yamasaki, K.; Kohda, H. Formation of stigma-like structures and pigment in cultured tissue of *Crocus sativus*. *Planta Medica* 1988, 54, 375–376.
- Lattoo, S.K.; Dhar, R.S.; Dhar, A.K. Temporal variation in saffron (*Crocus sativus* L.). *J. Spice Arom. Crops* 1997, 6, 57.
- Le Nard, M.; De Hertog, A. Bulb growth, development and flowering. In *The Physiology of Flower Bulbs*; De Hertog, A.; Le Nard, M.; Eds.; Elsevier: Amsterdam, 1993; 29–43.
- Leung, A.Y., Ed. *Encyclopedia of common natural ingredients used in food drugs and cosmetics*; John Wiley and Sons: New York, 1980.
- Liakopoulou-Kyriakides, M.; Tsatsaroni, E.; Laderos, P.; Georgiadou, K. Dyeing of cotton and wool fibres with pigments from *Crocus Sativus*—Effect of Enzymatic Treatment. *Dyes and Pigments* 1998, 36, 215–221.
- Linsmaier, E.M.; Skoog, F. Organic growth factor requirement of tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 1965, 18, 100–127.
- Lombardo G.M., Gresta F., La Malfa G., Siracusa L., Ruberto G., Scoto A., *Diffusione della coltivazione dello zafferano nel territorio ennese*. 2008
- Loskutovet, A.V.; Beninger, C.W.; Ball, T.M.; Hosfield, G.L.; Nair, M.; Sink, K.C.
- Optimization of in vitro conditions for stigma-like-structure production from half-ovary explants of *Crocus sativus* L. *In Vitro Cell. and Develop. Biol. Plant* 1999, 35, 200–205.
- Lu, W.L.; Tong, X.R.; Zhang, Q.; Gao, W.W. Study on in vitro regeneration of style-stigma like structure in *Crocus sativus* L. *Acta Bot. Sin.* 1992, 34, 251–252.
- Madan, C.L.; Kapar, B.M.; Gupta, U.S. Saffron. *Econ. Bot.* 1966, 20, 377–385.
- Maggio, A.; Raimondi, G.; Martino, A.; De Pascale, S. Soilless cultivation of saffron in Mediterranean environment. *Acta Hort.* 2006, 718, 515–522.
- Maryam, K.; Behboodi, B.S.; Hassan, E. Modality of the contractile root formation in cultivated saffron, in field condition and in tissue culture. *Acta Hort.* 2004, 650, 247–251.

- Marzi, V. Trial results on saffron (*Crocus sativus* L.) cultivation. Atti-convegno-internazionale:-Coltivazione-e-miglioramento-di-piante-officinali,-Trento, Italy,-2-3-giugno-1994, 1996;189–200.
- Mashayekhi, K.; Latifi, N. Investigation of the effect of corm weight on saffron flowering. Iranian J. Agric. Sci. 1997, 28, 97–105.
- Mathew, B. The crocuses: A revision of genus *Crocus* (Iridaceae); B.T. Batsford: London, 1982; 11–12.
- Mathur, S.C. Saffron cultivation in Himachal Pradesh. Indian Farming 1973, 23, 29–31.
- McGee, H.J., Ed. *On Food and Cooking: The Science and Lore of the Kitchen*; Press Scribner: New York, NY, 2004; 896.
- McGimpsey, J.A.; Douglas, M.H.; Wallace, A.R. Evaluation of saffron (*Crocus sativus* L.) production in New Zealand. New Zealand J. Crop Hort. Sci. 1997, 25, 159–168.
- Miglino, R.; Jodlowska, A.; Schadewijk, A.R. First report of Narcissus mosaic virus infecting *Crocus* spp. cultivars in the Netherlands. Plant Disease 2005, 89, 342.
- Milyaeva, E.L.; Azizbekova, N.S. Cytophysiological changes in the course of development of stem apices of saffron crocus. Soviet Plant Physiol. 1978, 25, 227–233.
- Milyaeva, E.L.; Komarova, E.N.; Azizbekovas, N.Sh.; Akhundova, D.D.; Butenko, R.G. Features of morphogenesis in *Crocus sativus* in vitro culture. Biol. kultiviruemykh kletok ibiotekhnologiya 1988, 1, 146.
- Milyaeva, E.L.; Azizbekovas, N.Sh.; Komarova, E.N.; Akhundova, D.D. In vitro formation of regenerant corms of saffron crocus (*Crocus sativus* L.). Russian J. Pl. Physiol. 1995, 42, 112–119.
- Molina, J.A.; Requena, S.A. El Azafran: Hoja divulgadora 13-68-H; Ministerio de Agricultura: Madrid, 1968.
- Molina, R.V.; Garcia-Luis, A.; Coll, V.; Ferrer, C.; Valero, M.; Navarro, Y.; Guardiola, J.L. Flower formation in the saffron crocus (*Crocus sativus* L.). The role of temperature. Acta Hort. 2004, 650, 39–47.
- Molina, R.V.; Valero, M.; Navarro, Y.; Garcia-Luis, A.; Guardiola, J.L. The effect of time of corm lifting and duration of incubation at inductive temperature

on flowering in the saffron plant (*Crocus sativus* L.). Sci. Hortic. 2004, 103, 79–91.

Molina, R.V.; Valero, M.; Navarro, Y.; Guardiola, J.L.; Garcia-Luis, A. Temperature effects on flower formation in saffron (*Crocus sativus* L.). Sci. Hortic. 2005, 103, 361–379.

Molina, R.V.; Valero, M.; Navarro, Y.; Garcia-Luis, A.; Guardiola, J.L. Low temperature storage of corms extends the flowering season of saffron (*Crocus sativus* L.). J. Hortic. Sci. Biotec. 2005, 80, 319–326.

Mondal, K.K.; Rana, S.S.; Sood, P.; Singh, Y. Himachal Pradesh main kesar. Phal Phool 2002, 24, 28–29 (in Hindi).

Moshiri, E.; Akhondzadeh, A.B.; Noorbala, A.A.; Jamshidi, A.H.; Abbasi, S.H.; Akhondzadeh, S. *Crocus sativus* L. (petal) in the treatment of mild-to-moderate depression: A double-blind, randomized, and placebo-controlled trial. Phytomedicine 2006, 13, 607–611.

Munoz-Gomez, R.M.; de Juan Valero, A.; Botella-Miralles, O.; Moya Aparicio, A. The effects of high temperatures and ethephon on vegetative growth stage and the production of flowers and daughter corms in saffron (*Crocus sativus* L.). ITEA Produccion Vegetal 2002, 98, 200–212.

Munshi, A.M. Economic analysis of saffron under rainfed conditions of Kashmir. Agricultural Situation in India 1989, 44, 379–381.

Munshi, A.M.; Sindhu, J.S.; Baba, G.H. Improved cultivation practices for saffron. Indian Farming 1989, 39, 27–30.

Munshi, A.M. Production and development of saffron in India. Farmer and Parliament 1990, 25, 15–16.

Munshi, A.M.; Baba, G.H. Effect of plant density and depth of planting on the floral yield and corm multiplication in saffron under rainfed conditions of Kashmir. Indian Cocoa Arecanut Spice J. 1991, 14, 160–162.

Munshi, A.M. Effect of N, P and K on the floral yield and corm production in saffron (*Crocus sativus* L.) under rainfed conditions. Indian Cocoa Arecanut Spice J. 1994, 18, 41–44.

Munshi, A.M.; Zaffar, G.; Zargar, G H. Prospects of saffron cultivation in the cold arid zone of Kargil (Ladakh). Human impact on desert environment 2003, 95, 434–436.

- Murashige, T.; Skoog, F. A medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 1962, 15, 340–344.
- Nauriyal, J.P.; Gupta, R.; George, C.K. Saffron in India. *Areca nut and Spice Bulletin*, 1977, 8, 59–72.
- Nazir, M.M.; Nasir, M.A.; Allah- Bakhsh, Khan, M.N.; Summrah, M.A.; Nawaj, M.Z. Effect of different planting depth of corms on the yield of saffron under Soan valley climatic conditions. *Sarhad J. Agric.* 2000, 16, 485–487.
- Noorbala, A.A.; Akhondzadeh, S.; Tahmacebi-Pour, N.; Jamshidi, A.H. Hydro-alcoholic extract of *Crocus sativus* L. versus fluoxetine in the treatment of mild to moderate depression: a double blind randomized pilot trial. *J. Ethnopharmacol.* 2005, 97, 281–284.
- Negbi, M.; Dagan, D.; Dror, A.; Basker, D. Growth, flowering, vegetative reproduction and dormancy in the saffron crocus (*Crocus sativus* L.). *Israel J. Bot.* 1989, 38, 95–113.
- Negbi, M. Physiological research on the saffron crocus (*Crocus sativus*). *Proceeding of the International conference on Saffron (Crocus sativus L.)*; Tamarro, F.; Marra, L.; Eds.; L Aquila University publication: L Aquila, Italy, 1990; 183–207.
- Negbi, M. *Saffron cultivation: past, present and future prospects*. In *Saffron: Crocus sativus L.*; Negbi, M.; Ed.; Harwood Academic Publishers: Amsterdam, The Netherlands, 1999; 1–18.
- Nitsch, J.P.; Nitsch, C. Haploid plants from pollen grains. *Science*. 1969, 163, 85–87.
- Omidbaigi, R.; Sadeghi, B.; Ramezani, A. Effects of cultivation site on quality of saffron (*Crocus sativus* L.). *Iranian J. Hortic. Sci. Technol.* 2001, 1, 167–178.
- Omidbaigi, R. Effect of corms weight on quality of saffron (*Crocus sativus* L.). *Natural Product Radiance* 2005, 4, 193–194.
- Otsuka, M.; Saimoto, H.; Murata, Y.; Kawashima, M. Method for producing saffron stigma like tissue and method for producing useful components from saffron stigma-like tissue. U.S. Patent., US 5085995, 1992; 8 pp.; A 28.08.89-US-399037, P 04.02.92.

- Pandey, D.; Pandey, V.S.; Srivastava, A.P. A note on the effect of the size of corms on the sprouting and flowering of saffron. *Progressive Horticulture* 1974, 6, 89–92.
- Panwar, K.S.; Saroch, K.; Vashist, G.D. Potential and prospects of saffron in temperate hills of Himachal Pradesh. *Agricultural Situation in India* 1995, 49, 13–16.
- Picci, V. A summary of experiments on the cultivation of *Crocus sativus* L. in Italy. *Atti convegno Sulla Coltivazione Della Pianta officinali*, Trentino 9–10, 196 c.f. *Horticulture Abstract* 1986, 58, 6861.
- Picci, V. In A summary of experiments on the cultivation of *Crocus sativus* L. in Italy, *Atti Convegno sulla Coltivazione Della Pianta officinali*, Trentino 9–10, Ottobre, 1986, 1987; 119–157.
- Piqueras, A.; Han, B.; Escribano, J.; Rubio, C.; Hellin, E.; Fernandez, J.A. Development of cormogenic nodules and microcorms by tissue culture, a new tool for the multiplication and genetic improvement of saffron. *Agronomie* 1999, 19, 603–610.
- Plessner, O.; Negbi, M.; Ziv, M.; Basker, D. Effects of temperature on the flowering of the saffron (*Crocus sativus* L.): induction of hysteranth. *Israel J. Bot.* 1989, 38, 1–7.
- Plessner, O.; Ziv, M.; Negbi, M. In vitro corm production in the saffron crocus (*Crocus sativus* L.). *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 1990, 20, 89–94.
- Plessner, O.; Ziv, M. In vitro propagation and secondary metabolite production in *Crocus sativus* L. In *Saffron: Crocus sativus* L.; Negbi, M.; Ed.; Harwood Academic Publishers: Amsterdam, The Netherlands, 1999; 137–148.
- Pruthi, J.S., Ed. Minor species and condiments—crop management and post harvest technology; Indian Council of Agricultural Research Publication: New Delhi, 2001; 782.
- Raina, B.L.; Agarwal, S.G.; Bhatia, A.K.; Gaur, G.S. Changes in pigments and volatiles of saffron (*Crocus sativus* L.) during processing and storage. *J. Sci. Food Agric.* 1996, 71, 27–32.
- Raja, W.; Zaffer, G.; Wani, S.A. In In vitro microcorm formation in saffron (*Crocus sativus* L.), Paper presented at the 2nd International symposium on

saffron biology and biotechnology. (ISHS 2007) Masshad, Iran, 28–30 October 2006 Act Hort, 2007.

Ram, G.; Singh, C.; Jolly, R.L.; Kaul, B.L. In Cultivation of saffron in Kishtwar, Proceedings of National Symposium on Saffron, Regional Research Laboratory, Jammu, India, 1999; 34.

Rana, S.S.; Chahota, R.K.; Bhangalia, S.K.; Dhiman, K.C.; Jangpo, B. In Effect of FYM doses and fertility level on yield of saffron (*Crocus sativus* L.) under Sangla valley conditions of Himachal Pradesh, Proceedings of National Symposium on Saffron, Regional Research Laboratory, Jammu, India, 25–26 November 1999; 37.

Rana, R.S.; Rana, S.S.; Jangpo, B.; Angiras, N.N. Integrated weed management in saffron (*Crocus sativus* L.). Indian J. Weed Sci. 1999, 31, 269–270.

Rana, R.S.; Rana, S.S. Susk shitoshan kshetron main kesar ki kheti ke unnat tarike. Pahari Khetibari 2000, 8, 48–51(in Hindi).

Rana, S.S.; Sood, P.; Mondal, K.K.; Thakur, K.S., Eds. Technology for saffron cultivation; Mountain Agricultural Research and Extension Centre publication: Sangla (Kinnaur), HP, India, 2003; 20.

Ranchan, R.N. Saffron blossom—a boon. Agricultural Situation in India 1993, 48, 671–672.

Rees, A. R. Saffron—an expensive plant product. Plantsman 1988, 9, 210–217.

Rehman, S.; Lodhi, F. Trials of introduction of saffron crocus in Baluchistan. J. Sci. Technol. 1977, 1, 6–10.

Rezaian, S.; Forouhar, M. The effect of nitrogen fertilizers (Urea, sulfur coated urea) with manure on the saffron yield. Acta Hort. 2004, 650, 201–205.

Rios, J.L.; Recio, M.C.; Giner, R.M.; Manez, S. An update review of saffron and its active constituents. Phytother. Res. 1996, 10, 189–193.

Roya, K. Plantlet regeneration via somatic embryogenesis in four species of *Crocus*. Acta Hort. 2004, 650, 253–259.

Sadeghi, B. Effect of corm weight on saffron flowering; I.R.O.S.T. Mashhad Center: Mashad, Iran, 1993.

Saito, H. The therapeutic and prophylactic effects of *Crocus sativus* L. (saffron) in senile dementia. Acta Hort. 2004, 650, 407–422.

- Sampathu, S.R.; Shivshankar, S.; Lewis, Y.S. Saffron (*Crocus sativus* Linn.) cultivation, processing, chemistry and standardization. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1984, 20, 123–157.
- Sano, K.; Himeno, H. In vitro proliferation of saffron (*Crocus sativus* L.) stigma. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 1987, 11, 159–166.
- Sarma, K.S.; Maesato, K.; Hara, T.; Sonoda, Y. In vitro production of stigma-like structures from stigma explants of *Crocus sativus* L. *J. Exp. Bot.* 1990, 41, 745–748.
- Sarma, K.S.; Sharada, K.; Maesato, K.; Hara, T.; Sonoda, Y. Chemical and sensory analysis of saffron produced through tissue cultures of *Crocus sativus*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 1991, 26, 11–16.
- Sarma, K.S.; Ravishanker, G.A.; Venkatraman, L.V.; Sreenath, H.L. Chromosome stability of callus culture of *Crocus sativus*. *J. Spice and Aromatic Crops* 1992, 1, 157–159.
- Saxena, R.B. A review on cultivation of saffron (*Crocus sativus* L.). In *Recent Progress in Medicinal Plants: Crop improvement, production technology, trade and commerce*; Govil, J.N.; Singh, V.K.; Eds.; SCI Tech Publishing LLC: Houston, TX, 2002; 295–319.
- Saxena, R.B. A review on harvesting, processing and yield of saffron (*Crocus sativus* L.). In *Recent Progress in medicinal Plants: Crop improvement, production technology, trade and commerce*; Govil, J.N.; Singh, V.K.; Eds.; SCI Tech Publishing LLC: Houston, TX, 2002; 321–348.
29. Sen, D.C.; Rajorhia, G.S. Role of saffron in improving storage quality of sandesh. *Indian J. Dairy Sci.* 1994, 47, 198–202.
- Shah, A.; Srivastava, K.K. Control of corm rot of saffron. *Progressive Horticulture* 1984, 16, 141–143.
- Shinde, D.A.; Talib, A.R.; Gorantiwar, S.M. Composition and classification of some typical soils of saffron growing areas of Jammu and Kashmir. *J. Indian Soc. Soil Sci.* 1984, 32, 473–477.
- Siddique, M.; Singh, R.A.; Zargar, R.A.; Munshi, A.M. In Growth and corm multiplication of saffron under sub tropical climate of Varanasi (UP). *Proceedings of National Symposium on Saffron, Regional Research Laboratory, Jammu, India, 25–26 November 1999*; 29–30.

- Singh, C.; Ram, G.; Kaul, B.L. Saffron studies in Kishtwar: Effect of corm size at planting on cormel production and flower yield in *Crocus sativus*. *Indian Perfumer* 1994, 38, 82–84.
- Singh, G.C.; Dhar, U. Origin of Kashmir saffron- a possible clue from weeds. *Science and Culture* **1976**, 42, 485–487.
- Singh, C.; Ram, G.; Bhan, M.K.; Pal, S.; Kaul, B.L. Response of saffron (*Crocus sativus* L.) to fertilizer application in Kishtwar. *Indian Perfumer* 1997, 41, 102–105.
- Singh, S.; Govil, J.N.; Singh, V.K. A review on saffron (*Crocus sativus* Linn.). *Phytochem. Pharmacol.* 2003, 295–306.
- Siracusa L., Gresta F. Napoli E M., Lombardo G.M., Ruberto G., 2010. Effect of corms storage conditions on quantitative and qualitative traits of saffron: an agrochemical study. *Acta Horticulturae*. 850, 185-189.
- Skrubis, B. Cultivation of *Crocus sativus* Linn. In *Flavours and their industrial application*; Chadha, Y.R.; Ed.; Shri Padam Kishore Seth Publisher: New Delhi, India, 1982.
- Skrubis, B. In *The cultivation in Greece of Crocus sativus L*, Proceedings of the international conference on saffron (*Crocus sativus* L.) L' Aquila, Italy, 27–29 October, 1989; Tammaro, F.; Marra, L.; Eds.; Università Degli Studi L' Aquila e Accademia Italiana della Cucina, L' Aquila: Italy, 1990; 171–182.
- Souret, F.F.; Weathers, P.J. The growth of saffron (*Crocus sativus* L.) in aeroponics and hydroponics. *J. Herbs Spices Med. Pl.* 2000, 7, 25–35.
- Srivastava, R.P. Cultivation of saffron in India. *Fertilizer News* 1963, 8, 9–16.
- Srivastava, V. Kesar Kashmir ka. *Vigyan Pragati*, 2006, 55, 23–24 (in Hindi).
- Stephens, J.M. Saffron *Crocus sativus* L. University of Florida web page, 2003, <http://edis.ifas.ufl.edu/MV128> (accessed 18 December 2006).
- Szita, E., Ed. Wild about saffron: a contemporary guide to an ancient spice; Saffron Rose Publishers: Daly City, CA, 1987.
- Szlachetka, W.I.; Drozd, J.; Drozd, W. Effect of metrological conditions on crocus corm yield in commercial production. *Prace-instytutu-Sadownictwa-i-Kwiaciarnictwa- w-Skierniewicach-Seria-B,-Rosliny-Ozdobne* 1990, 15, 35–40.

- Tajuddin, Saproo, M.L.; Yaseen, M.; Husain, A. Productivity of rose (*Rosa damascena* Mill) with intercrops under temperate conditions. *J. Essent. Oil Res.* 1993, 5, 191–198.
- Tammaro, F. Saffron (*Crocus sativus* L.) in Italy. In *Saffron: Crocus sativus* L.; Negbi, M.; Ed.; Harwood Academic Publishers: Amsterdam, The Netherlands, 1999; 53–61.
- Tarantilis, P.A.; Tsoupras G.; Polissiou, M.G. Determination of saffron (*Crocus sativus* L.) components in crude plant extract using high-performance liquid chromatography-UV-visible photodiode-array detection-mass spectrometry. *J. Chromatogr.* 1995, 699, 107–118.
- Tarantilis, P.A.; Polissiou, M.G. Isolation and Identification of the Aroma Components from Saffron (*Crocus sativus*). *J. Agric. Food Chem.* 1997, 45, 459–462.
- Thakur, R.N.; Singh, C.; Koul, B.L. First report of corms rot in *Crocus sativus*. *Indian Phytopathol.* 1992, 45, 278.
- Thakur, R.N. Corm rot in saffron and its control. In *Supplement to cultivation and utilization of aromatic plants*; Handa, S.S.; Koul, M.K.; Eds.; Regional Research Laboratory: Jammu, India, 1997; 447–458.
- The Royal Horticultural Society. Plants of current interest. 2003. <http://212.78.71.150/gardens/wisley/archive/wisleypcisept.asp>. (accessed 6 December 2006).
- The Wealth of India, Raw materials, Vol. II-C; Sastri, B.N.; Ed. Council of Scientific and Industrial Research Publication: New Delhi, India. 1950; 370–372 pp.
- Trigiano R., Gray D. La coltura dei tessuti vegetali - Edagricole.
- Unal, M.; Cavusoglu, A. The effect of various nitrogen fertilizers on saffron (*Crocus sativus* L.) yield. *Akdeniz Universitesi Ziraat Fakultesi Dergisi* 2005, 18, 257–260.
- Vafabakhsh, K. In The effects of chemical and mechanical control of weeds in saffron fields on dynamics and productivity of weeds and saffron, *Proceedings of an International conference held at the Brighton, Hilton Metropole hotel Brighton, UK, 12–15 November 2001*, 329–332.

- Vavilov, N.I., Ed. The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants, Translated from Russian by Chester, K.S.; The Ronald Press Company: New York. 1951; 364.
- Visvanath, S.; Ravishankar, G.A.; Venkatraman, L.V. Induction of crocin, crocetin, picrocrocin, and safranal synthesis in callus cultures of saffron (*Crocus sativus* L.) Biotechnol Appl. Biochem. 1990, 12, 336–340.
- Wani, S.A.; Zaffar, G.; Anjum, T.; Shikari, A.B. Sustainable production of saffron through organic farming. National Seminar on Organic Products and their future Prospects, Shere Kashmir University of Agriculture Science and Technology (Kashmir), Srinagar (India), 21–22 October 2003, 104.
- White, P.R. The cultivation of animal and plant cells, 2nd ed.; Ronald Press: New York, 1963; 228 pp.
- Wilkins, H.F. *Crocus vernus*: *Crocus sativus*. In Handbook of Flowering, Vol. 2; Halevy, A.H.; Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL. 1985; 350–355.
- Willard, P. (Ed.), In Secrets of saffron: The Vagabonds Life of the Worlds Most Seductive Spice; Boston, MA: Beacon Press, 2001; 240.
- Winterhalter, P.; Straubinger, M. Saffron- renewed interest in an ancient spice. Food Rev. Int. 2000, 16, 39–59.
- Yang, Y.; Guo, Z.; Xiao, F. Differences on organogenesis of callus types in saffron. J. Pl. Res. Emt. 1996, 5, 63–64.
- Yattoo, A.R.; Hasan, B.; Shah, M.H.; Bali, A.S. In Growth and productive performance of saffron (*Crocus sativus* L.) as influenced by corm size, FYM and fertility levels, Proceedings of National symposium on Saffron, Regional Research Laboratory, Jammu, India, 25–26 November 1999; 35.
- Yau, S.K.; Nimah, M.; Toufeili, I. Yield and quality of red stigmas from different saffron strains at contrasting Mediterranean sites. Expl. Agric. 2006, 42, 399–409.
- Yun, L.; LiQuan, Z.; Yun, L.; GuoXing, C.; ZhangCheng, Z. Effect of potassium nutrition on corm expansion of saffron (*Crocus sativus* L.). Pl. Nutri. Fert. Sci. 2004, 10, 96–100.
- Zaffar, G.; Sofi, A.A.; Mir, M.S; Zargar, G.H. In Cultivation of saffron under cold arid conditions of Kargil (Ladakh), Proceedings of National Symposium on Saffron, Regional Research Laboratory, Jammu, India, 25–26 November 1999; 31.

- Zeng, Y.; Yan, F.; Tang, L.; Chen, F. Increased crocin production and induction frequency of stigma-like-structure from floral organs of *Crocus sativus* by precursor feeding. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 2003, 72, 185–191.
- Zhang, Y.; Shoyama, Y.; Sugiura, M.; Saito, H. Effect of *Crocus sativus* L. on the ethanol induced impairment of passive avoidance performances in mice. *Biol. Pharm. Bull.* 1994, 17, 217–221
- Zhao, J.; Chen, F.; Yan, F.; Tang L.; Xu, Y. In vitro regeneration of style-stigma like structure from stamens of *Crocus sativus*. *Acta Bot. Sin.* 2001, 43, 475–479.
- Zohray, D.; Hopf, M., Eds. *Domestication of plants in old world*, 2nd ed.; Clarendon Press: Oxford, 1994.
- Zope, D.D. Saffron-The ultimate taste. *FAFAI J.* 2005, 7, 43–49.