



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

DALLA TRADIZIONE DEI PACCASASSI  
ALLE NUOVE POSSIBILITÀ INDUSTRIALI  
DEL *CRITHMUM MARITIMUM L.*

Proprietà, utilizzi tradizionali e germinabilità dei semi

*CRITHMUM MARITIMUM L.*: FROM THE  
TRADITION TO THE NEW INDUSTRIAL  
PRODUCTION

Properties, traditional uses and germinability

TIPO TESI: sperimentale

Studente:  
MARTINA BALLARINI

Relatore:  
PROF. SILVIA ZITTI

Correlatore:  
DOTT. LARA LUCCHETTI

ANNO ACCADEMICO 2018-2019

“Tutto è fatto per il futuro,  
andate avanti con coraggio.”

Pietro Barilla

# SOMMARIO

SOMMARIO .....	3
ELENCO DELLE TABELLE.....	5
ELENCO DELLE FIGURE .....	6
ACRONIMI E ABBREVIAZIONI .....	7
INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI .....	8
CAPITOLO 1 UTILIZZI TRADIZIONALI E NUOVE APPLICAZIONI .....	9
1.1 Usi alimentari tradizionali.....	9
1.2 Usi officinali.....	10
1.3 Utilizzo come insetticida.....	12
1.4 Utilizzo come antimicrobico .....	13
1.5 Utilizzo cosmetico.....	13
1.6 Utilizzo decorativo .....	13
1.7 Nuovi usi alimentari.....	14
CAPITOLO 2 DESCRIZIONE FISILOGICA E MORFOLOGICA .....	17
2.1 Classificazione tassonomica.....	17
2.2 Distribuzione e adattamento all’habitat .....	17
2.3 Descrizione botanica .....	20
2.3.1 Radice .....	20
2.3.2 Fusto .....	21
2.3.3 Foglie.....	21
2.3.4 Fiori .....	22
2.3.5 Frutti .....	23
2.3.6 Semi.....	23
2.4 Riproduzione e condizioni per la produzione .....	24
2.5 Germinazione .....	25
CAPITOLO 3 SOSTANZE CHIMICHE E PRINCIPI ATTIVI .....	28

3.1 Acidi grassi .....	28
3.2 Vitamina C .....	30
3.3 Terpeni .....	30
3.3.1 Inibizione dell'attività dei colinesterasi .....	31
3.3.2 Effetto vasodilatatore .....	31
3.4 Componenti fenolici.....	32
3.4.1 Nelle foglie .....	32
3.4.2 Nei fiori .....	34
3.4.3 Nello stelo.....	34
<b>CAPITOLO 4 STUDIO DELLA GERMINABILITÀ E PRODUZIONE DI PIANTINE IN VIVO..</b>	<b>35</b>
4.1 Studio della germinabilità .....	35
4.1.1 Raccolta dei semi.....	37
4.1.2 Conservazione temporanea dei semi prima della pulizia .....	37
4.1.3 Pulizia dei semi .....	38
4.1.4 Deidratazione in dry room.....	38
4.1.5 Semina in laboratorio .....	39
4.1.6 Caratteristiche del test .....	40
4.1.7 Risultati del test.....	41
4.2 Coltivazione in vivo .....	43
4.2.1 Semina del 23 aprile 2019 .....	44
4.2.2 Semina dell'8 maggio 2019.....	45
<b>CONCLUSIONI .....</b>	<b>46</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>47</b>

## ELENCO DELLE TABELLE

Tabella 1-1: Attività dell'acqua e tempo impiegato per ogni tipo di trattamento (Renna, et al., 2017). .....	15
Tabella 1-2: Differenza del colore totale rispetto alla crema di riso non colorata (Renna et al. 2017). .....	16
Tabella 2-1: Composizione chimica dei terreni. ....	18
Tabella 3-1: Contenuto in percentuale di acidi grassi saturi nei semi.....	28
Tabella 3-2: Contenuto in percentuale di acidi grassi monoinsaturi nei semi. ....	28
Tabella 3-3: Contenuto in percentuale di acidi grassi polinsaturi nei semi. ....	29
Tabella 3-4: Contenuto in percentuale di acidi grassi essenziali nell'olio di oliva. ....	29
Tabella 3-5: Confronto composizione oli. ....	30
Tabella 3-6: Quantità dei principali terpeni rilevati nell' olio essenziale. ....	31
Tabella 3-7: Contenuto fenoli totali. * .....	32
Tabella 4-1: Suddivisione semi in categorie. ....	41
Tabella 4-2: Percentuale di germinazione.....	42
Tabella 4-3: Percentuale di germinazione finale.....	42

## ELENCO DELLE FIGURE

Figura 1-1: Esempio di uso alimentare. ....	10
Figura 1-2: Libro “Herbario novo” di Castore Durante. ....	11
Figura 1-3: Naviganti che trasportano l’erba di San Pietro.....	12
Figura 1-4: Polvere di finocchio marino ottenuta tramite liofilizzazione (a sinistra) e con flusso d’aria (a destra).....	14
Figura 2-1: Distribuzione del <i>Crithmum maritimum</i> L.....	18
Figura 2-2: <i>Crithmum maritimum</i> L. sulla scogliera (a sinistra) e sulla sabbia (a destra).20	
Figura 2-3: Visione dettagliata delle foglie.....	21
Figura 2-4: Visione dettagliata dei fiori. ....	22
Figura 2-5: Visione dettagliata dei fiori durante e dopo la maturazione dei frutti. ....	22
Figura 2-6: Visione dettagliata dei frutti ancora prematuri.....	23
Figura 2-7: Visione dettagliata dei frutti a maturazione. ....	23
Figura 2-8: Visione dettagliata dei semi. ....	24
Figura 2-9: Aspetto della pianta coltivata in vaso.....	25
Figura 4-1: Cappa sterile per la semina in laboratorio. ....	39
Figura 4-2: Esempio di semi germinati. ....	40
Figura 4-3: Seme con muffa. ....	41
Figura 4-4: Velocità di germinazione. ....	43
Figura 4-5: Controllo del 30 aprile. ....	44
Figura 4-6: Controllo del 9 maggio.....	44
Figura 4-7: Controllo dell'8 giugno.....	45
Figura 4-8: Controllo dell'8 giugno.....	45

## ACRONIMI E ABBREVIAZIONI

AChE	Acetilcolinesterasi
BuChE	Butirilcolinesterasi
ROS	Specie reattive dell'ossigeno
CGA	Acido clorogenico
GAE	Acido gallico
UV	Ultravioletto
ABA	Acido abscisico
GA	Acido gibbellerico
SID	Seed Information Database

## INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI

Il presente lavoro di tesi si inserisce tra le attività svolte dal Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali dell'Università Politecnica delle Marche per il Programma di Sviluppo Rurale della Regione Marche. Il PSR fa riferimento alla produzione di nuove conserve vegetali biologiche da varietà autoctone di finocchio marino (*Crithmum maritimum L.*) coltivato in biologico.

Parte di questo progetto consiste nella sperimentazione delle condizioni ottimali di germinazione per il *Crithmum maritimum L.* che permettono di esaminare tecniche di coltivazione innovative. La germinazione costituisce un momento delicato della coltivazione per cui si è prestata molta attenzione ai valori ambientali soprattutto nella fase di protrusione della radichetta in modo da garantire buoni risultati.

La prima parte della tesi presenta la raccolta di informazioni bibliografiche sul *Crithmum maritimum L.* relative al suo uso tradizionale, alle nuove applicazioni, alla fisiologia e alla morfologia della pianta. Si forniscono inoltre nozioni sull' habitat e le modalità di adattamento ad ambienti particolari; e si elencano costituenti e principi attivi che si trovano nelle varie porzioni della pianta.

Oggetto della seconda parte del lavoro di tesi è lo studio della germinabilità dei semi presenti presso la banca del germoplasma dell'Orto Botanico Selva di Galignano.

L'interesse per il *Crithmum maritimum L.* è legato all'importanza che questa specie riveste nelle tradizioni culinarie fin da tempi antichi; i molteplici utilizzi tradizionali del paccasassi e le molteplici proprietà dei suoi metaboliti secondari, ampiamente documentate in letteratura, suscitano, oggi, un rinnovato interesse verso questo alimento tradizionale da parte dell'industria alimentare.



# Capitolo 1

## UTILIZZI TRADIZIONALI E NUOVE APPLICAZIONI

*Crithmum maritimum* L. deriva dalle parole “krithe” e “maritimum”. La prima, di origine greca, significa orzo, in quanto c’è una somiglianza tra il suo frutto ed un chicco d’orzo; la seconda, di origine latina, si riferisce all’habitat della specie.

In italiano questa specie è identificata con differenti nomi spesso caratteristici delle diverse aree geografiche o dialettali, finocchio marino, bacicci, cretamo, frangisassi, erba di San Pietro o critamo; nelle Marche, è chiamato Spaccasassi (Piterà, s.d.) e soprattutto nella zona di Ancona Paccasassi.

Numerosi studi etnobotanici, cioè studi e ricerche che riguardano gli utilizzi tradizionali delle piante, documentano molteplici usi tradizionali del *Crithmum maritimum*, soprattutto alimentari ed officinali. Le numerose proprietà attribuite alla pianta dalla tradizione, hanno suscitato l’interesse scientifico per i componenti e principi attivi presenti nelle sue diverse parti anatomiche, come dimostra la numerosa produzione bibliografica volta alla caratterizzazione dei metaboliti secondari presenti e all’individuazione dei possibili utilizzi in campo medico, veterinario, officinale, culinario ecc.

### 1.1 Usi alimentari tradizionali

Molte ricerche riportano utilizzi tradizionali del *Crithmum maritimum* L. per scopi alimentari. Già dal XVI secolo, le foglie erano raccolte e mangiate dato che hanno un sapore gradevole, fortemente aromatico e salato. Sono cucinati come gli asparagi, li troviamo come ingrediente in insalate, in salse aromatiche piccanti, nelle minestre d’erbe e cotti nel burro come guarnizioni a piatti di carne. I frutti sono usati come spezie, mentre le radici cotte con vino e bevute. Numerose sono le ricette tipiche: in Britannia, ad esempio, il finocchio marino è mescolato con cetrioli sottaceto e capperi e cotto in brodo, il tutto poi legato con il tuorlo d’uovo.

Nel 1990, Guarrera, etnobotanico italiano, scrive: «i pescatori del Conero usano porre la pianta in conserva d'aceto; contorno assai prelibato (“Guarrera”).»

Riferimenti al *Crithmum* sono presenti anche in opere letterarie, nel 1605, Shakespeare cita il Critmo nella tragedia “Re Lear” (atto IV. vi 15) scrivendo: «Half-way down Hangs one that gathers samphire; dreadful trade! (“Shakespeare”).» (A metà strada cade colui che raccoglie l'erba di San Pietro, lavoro terribile!).

A causa dell'utilizzo così intenso nel secolo scorso, in alcune zone si è verificata quasi una scomparsa della specie suscitando l'allarme dei botanici del tempo. Non è una specie protetta, ma nelle aree protette, come ad esempio il Parco Regionale del Conero, dove è localmente abbondante, ne è impedita la raccolta.



**Figura 1-1: Esempio di uso alimentare.**

## 1.2 Usi officinali

Risultano per il *Crithmum maritimum L.* usi officinali e curativi: per curare disturbi al fegato, ai reni, alla vescica e come antinfiammatorio.

Le proprietà attribuite al *Crithmum maritimum L.* sono varie: vermifida (per via del timolo, un fenolo monoterpenco, presente nell'olio essenziale); antisettica (presenza di carvacolo, un monoterpene fenolico); carminativa, coleretica (grazie al pinene che agisce contro la litasi biliare e renale), diuretica (a causa della presenza del fellandrene, un terpene), digestiva e antiscorbutica (Ballelli & Bellomaria, 2005).

In particolare, nell'uso popolare, il succo estratto della pianta fresca senza radici è depurativo, diuretico e carminativo; l'infuso dei frutti stimola l'appetito e i processi digestivi, attenua le fermentazioni e gli spasmi intestinali; le radici cotte con vino e bevute sono utili per la ritenzione urinaria, l'itterizia e provocano il mestruo. Dai giovani getti, i

germogli, si ottiene il gemmoderivato: un preparato floriterapico da utilizzare per il benessere del corpo e per la risoluzione di vari disturbi di tipo fisico, valido tonico e stimolante delle funzioni digestive, provoca un'eccitazione generale con aumento del tono della muscolatura gastrica. Inoltre il gemmoderivato è un riequilibrante ghiandola e renale, riduce l'eccessivo appetito, calma le coliche e stimola processi digestivi e la diuresi. (Ballelli & Bellomaria, 2005).

L'utilizzo curativo del finocchio marino è sfruttato anche in ambito veterinario: le parti aeree e le foglie sono somministrate ai conigli come integratore con scopo preventivo oppure come galattagogo, permettendo, quindi, un aumento della secrezione del latte nelle femmine. Le potenzialità officinali sono riportate da numerosi autori, tra cui Castore Durante (1529-1590), medico, botanico e poeta del Rinascimento nel suo "Herbario novo". Questo libro racchiude una collezione di piante medicinali e di rimedi di medicina popolare con regole pratiche e suggerimenti dietetici.



**Figura 1-2: Libro "Herbario novo" di Castore Durante.**

Durante l'Impero romano, il medico-botanico Discoride, indica il finocchio di mare come una pianta utile nella cura della ritenzione, dell'itterizia ed emmenagoga. Grazie al naturalista francese Bosc (1821) siamo venuti a conoscenza di una curiosità: i naviganti lo utilizzavano a bordo delle navi contro lo scorbuto, malattia dovuta a carenza di acido ascorbico per la presenza di quantità rilevanti di vitamina C nelle foglie. Il finocchio marino era trasportato fresco nei viaggi corti e sotto aceto in quelli più lunghi. A questo utilizzo da parte dei marinai, probabilmente, si deve il nome volgare di erba di San Pietro: San Pietro è, infatti, il patrono dei pescatori e questa pianta predilige ambienti di mare, soprattutto rocce soleggiate e spruzzi salmastri del clima marino.



**Figura 1-3: Naviganti che trasportano l'erba di San Pietro.**

### 1.3 Utilizzo come insetticida

Con l'aumentare dei problemi ambientali la sicurezza alimentare richiesta è sempre maggiore. Per questa ragione, molti paesi adottano nuovi regolamenti per la gestione dei parassiti che prevedono la sostituzione di insetticidi sintetici perché questi possono essere dannosi per il suolo, per l'acqua e per la biodiversità ed avere effetti negativi anche sulla salute di chi li utilizza e si alimenta con i prodotti agricoli contaminati.

L'interesse per l'utilizzo di agenti naturali sta incrementando molto anche grazie ad al regolamento europeo "New Pesticide Regulation (EC) No.1107/2009" che supporta l'uso di insetticidi meno negativi per l'ambiente e la salute.

Un valido sostituto degli insetticidi sintetici è l'olio essenziale estratto dalle foglie del *Crithmum maritimum L.* che ha un duplice meccanismo di azione, a seconda dell'insetto preso in considerazione: infatti può agire sia per contatto che per fumigazione.

Dallo studio svolto da Kaan Polatoğlu *et al.* nel 2016 emergono risultati positivi in merito all'azione insetticida dell'olio essenziale verso le seguenti specie di insetti: *Sitophilus granarius*, *Sitophilus oryzae*, *Tribolium Castaneum*, *Tribolium Confusum*, *Rhyzopertha dominica* e *Oryzaephilus surinamensis* (Polatoğlu, et al., 2016).

La più alta tossicità per contatto si è verificata nei confronti di *S. oryzae* producendo il 46,65%, 83,64% e 93,30% di mortalità dopo 24, 48, 72 ore di applicazione. Una considerevole azione tossica avviene anche contro *R. dominica* e *O. surinamensis*. Nei riguardi di *S. granarius*, *T. castaneum* e *T. confusum*, l'azione tossica è bassa: dopo 72 si verifica una mortalità del 50% di *S. granarius*, del 22,16% di *T. castaneum* e del 33,26% di *T. confusum*.

Una situazione differente si verifica quando l'olio essenziale è usato con un'azione fumigante. Si ha il 100% di mortalità dopo 48 ore per *S. granarius* e *S. oryzae* e del 90,75% per *O. surinamensis*. Con l'applicazione fumigante l'olio essenziale produce una mortalità

molto bassa per *R. dominica* (4,53% dopo 48 ore) e non produce mortalità per *T. castaneum* e *T. confusum*.

$\gamma$ -terpinene e  $\beta$ -fellandrene sono i componenti dell'olio essenziale responsabili della tossicità.

#### 1.4 Utilizzo come antimicrobico

L'azione antimicrobica dell'olio essenziale estratto dal *Crithmum maritimum L.* è decisamente debole rispetto a due microrganismi Gram negativi (*Escherichia coli* NRRL B-3008 e *Salmonella typhimurium* ATCC 13311) e tre Gram positivi (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus cereus* NRRL B-3711 e *Bacillus subtilis* NRRL B-4378) analizzati dallo studio di Kaan Polatoğlu *et al.* (Polatoğlu, et al., 2016).

Tuttavia la variabilità di queste analisi è molto elevata in quanto non è possibile avere campioni omogenei: un altro studio riscontra infatti una forte attività antimicrobica contro l'*Escherichia coli*. Ciò è giustificato sostenendo la tesi che gli oli essenziali, da cui si procedeva per l'analisi contenevano sostanze diverse dall'olio usato da altre sperimentazioni.

Inoltre, il *Crithmum maritimum L.* non mostra un'attività antimicrobica contro la *Listeria monocytogenes* ATCC 19112. Tale risultato è correlato alla predominanza dell'acido clorogenico perché questo fenolo non ha attività antilisteriale (Meot-Duros, et al., 2008).

Se si prendono in considerazione i lieviti piuttosto che i batteri, il finocchio di mare ha una buona attività contro di essi; in particolare Meot-Duros *et al.* hanno analizzato la specie *Candida albicans* BCC riscontrando risultati positivi.

#### 1.5 Utilizzo cosmetico

Dal *Crithmum maritimum L.* si può ricavare un olio essenziale che è utilizzato in profumi, saponi, creme. L'olio essenziale è apprezzato per la fragranza e per le proprietà rigenerative cellulari dell'epidermide.

#### 1.6 Utilizzo decorativo

Nei luoghi con climi temperati, il *Crithmum maritimum L.* è adoperato per decorare giardini rocciosi nei pressi del mare.

## 1.7 Nuovi usi alimentari

Attualmente, il *Crithmum maritimum L.* viene per lo più conservato sotto aceto anche se è possibile trovarlo in salamoia. Se mantenuti in questo modo, ha luogo una fermentazione che sviluppa nel prodotto finale un colore, un odore e un sapore caratteristico in circa 15 e 25 giorni. Con precisione, la salamoia più adatta che permette di diminuire il tempo di fermentazione, l'acidità e l'attività dei batteri dell'acido lattico, è composta da 8% di sale, 1% di yogurt e 1% di zucchero (saccarosio). Il rapporto tra salamoia e foglie deve essere 1:1 (Özcan, 2000).

Al momento, non esiste un mercato che richiede ingredienti secchi derivanti dal *Crithmum maritimum L.* perciò è stato indicato un uso culinario alternativo presentando due metodi per ottenere una spezia-colorante, non di sintesi, da impiegare come ingrediente secco (Renna & Gonnella, 2012). Una procedura sfrutta un flusso di aria calda: la temperatura non è molto bassa in quanto il tempo che sarebbe necessario per disidratare le parti aeree della pianta, favorirebbe le alterazioni da parte dei microrganismi. Il secondo procedimento consiste nella liofilizzazione delle foglie.

A seconda del metodo utilizzato, si ottengono diversi risultati rispetto a colore, odore e sapore. Il colore ottenuto con la liofilizzazione è un verde acceso, molto simile alla pianta fresca, mentre procedendo all'essiccazione attraverso il flusso di aria calda si raggiunge un verde decisamente più scuro. Il cambiamento di colore è dovuto a reazioni che avvengono durante la deidratazione (es. conversione dei terpenoidi) con alte temperature e la presenza d'ossigeno; oppure ad una riduzione del contenuto di clorofilla determinata da un danneggiamento termico del pigmento.



**Figura 1-4: Polvere di finocchio marino ottenuta tramite liofilizzazione (a sinistra) e con flusso d'aria (a destra).**

Per quanto riguarda l'odore, con la liofilizzazione si ottiene un aroma simile a erba fresca mentre nel caso di utilizzo del flusso d'aria la fragranza è analoga a quella del tabacco. Un

sapore più salato si ottiene con il flusso di aria calda ma, solo con la liofilizzazione, si riesce a percepire la freschezza che ricorda il sapore del sedano.

Le caratteristiche organolettiche raggiunte con il metodo della liofilizzazione sono indubbiamente migliori: le basse temperature e l'assenza di ossigeno preservano i composti nativi della pianta e minimizzano perdite di sapori e di composti aromatici. Nonostante ciò la liofilizzazione è il metodo più costoso di disidratazione quindi non sempre è conveniente utilizzarla.

È noto che la qualità dei vegetali diminuisce se questi sono disidratati. È necessario, quindi, ricercare una giusta combinazione per riunire i vantaggi di ogni metodo di disidratazione e ottenere prodotti di alta qualità.

In questo studio, Renna & Gonnella (2012) non hanno preso in considerazione l'essiccazione con microonde: procedimento rapido ed energicamente efficiente, in grado di fornire prodotti disidratati di alta qualità.

Difatti, il prodotto finale è necessario che abbia un'attività dell'acqua ( $a_w$ ) minore di 0,6 per garantire la sua stabilità. Questo valore è accettato come limite sotto il quale non si verifica una crescita microbica poiché il minimo di attività dell'acqua per i batteri è di 0.87. In realtà, esistono alcune specie di batteri alofitici, di muffe e di lieviti che riescono a svilupparsi anche ad  $a_w$  di 0,6 - 0,7. Se si vuole raggiungere un'attività dell'acqua di 0,6 in breve tempo, solo il metodo di essiccazione con microonde è efficace (Renna, et al., 2017).

**Tabella 1-1: Attività dell'acqua e tempo impiegato per ogni tipo di trattamento (Renna, et al., 2017).**

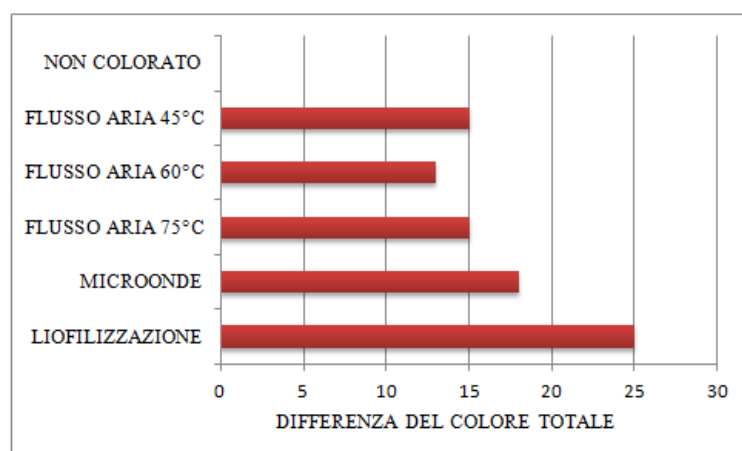
METODO	TEMPO	ATTIVITÀ DELL'ACQUA
Flusso di aria a 45°C	72 h	0,325
Flusso di aria a 60°C	48h	0,166
Flusso di aria a 75°C	24h	0,147
<b>Microonde</b>	<b>15 min</b>	<b>0,516</b>
Microonde e flusso di aria a 45°C	7,5min 24h	0,537
Liofilizzazione	72h	0,326

La polvere ottenuta può trovare impiego nell'industria alimentare come colorante naturale andando a conferire proprietà funzionali agli alimenti assicurando, quindi, la soddisfazione del cliente. Grazie a questo ingrediente, i prodotti sono considerati come promotori di salute, potenziatori dei valori nutrizionali e portatori di un miglioramento organolettico.

Questa possibilità è confermata da Renna nell'articolo "The use of the sea fennel as a new spice-colorant in culinary preparations", un nuovo studio, nel quale è stata applicata l'idea di utilizzare in questo modo la polvere di finocchio marino ottenuta tramite il metodo della liofilizzazione (Renna & Gonnella, 2012).

In questo caso è necessario valutare il potere colorante della polvere che sarà differente a seconda del processo utilizzato per ottenere la polvere stessa.

**Tabella 1-2: Differenza del colore totale rispetto alla crema di riso non colorata (Renna et al. 2017).**



Come è possibile notare in tabella, se si prendono in considerazione i tre metodi precedentemente descritti (liofilizzazione, flusso d'aria e microonde), per ottenere il più alto potere colorante si dovrebbe procedere tramite liofilizzazione o, in alternativa, con una deidratazione con microonde (Renna, et al., 2017).



## Capitolo 2

### DESCRIZIONE FISIOLÓGICA E MORFOLOGICA

#### 2.1 Classificazione tassonomica

Il *Crithmum maritimum* L. è l'unica specie del genere *Crithmum* presente in Italia. Esistono citazioni di altre specie che però sono considerate sinonimi di altre specie appartenenti a generi diversi: *C. latifolium* L.f., sinonimo di *Astydamia latifolia* (L.f.) Baill; *C. mediterraneum* M. Bieb., sinonimo di *Cenolophium denudatum* (Fisch. Ex Homem.) Tutin; *C. pyrenaicum* Forssk. ex Delile sinonimo di *Seseli libanotis* (L.) W.D.J. Koch.

Il genere *Crithmum* appartiene alla famiglia delle *Apiaceae* (o *Umbelliferae*) dell'ordine *Apiales*, classificato secondo la APGII (Angiosperm Phylogeny Group 2003) nel clade *Asteridi*, uno dei due clade principali in cui si sono suddivise le Angiosperme eudicotiledoni.

#### 2.2 Distribuzione e adattamento all'habitat

Il *Crithmum maritimum* L. si sviluppa nelle fenditure delle scogliere, su rupi, muri e luoghi ghiaiosi; ma anche sulla sabbia e nei moli. Importante per il suo sviluppo sono spruzzi salmastri e suoli impregnati di sale marino. Il critmo forma associazioni con altre piante alofile, come ad esempio quelle del genere *Limonium*.

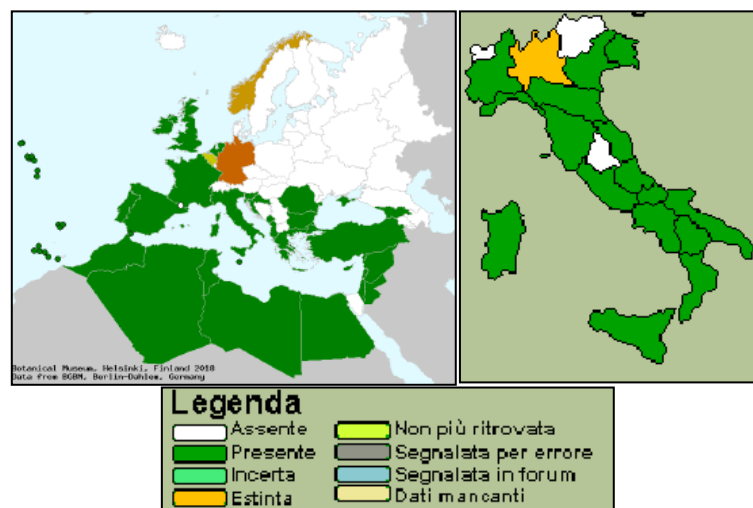
Le scogliere sono caratterizzate da un terreno più ricco in materiale organico, in azoto totale e in carbonio organico. Inoltre, anche il livello di sodio, potassio e magnesio è più elevato rispetto alle colline di sabbia dove la presenza elevata di calcio, è dovuta probabilmente per l'accumulo di gusci e conchiglie in decomposizione.

**Tabella 2-1: Composizione chimica dei terreni.**

	SABBIA	SCOGLIERA	
Carbonio organico	0,33	1,13	% terreno secco
Azoto totale	0,21	0,48	% terreno secco
Materia organica	0,58	1,94	% terreno secco
pH	9,4	7,6	
Na	500	991	mg / kg terreno secco
K	215	321	mg / kg terreno secco
Ca	5134	4232	mg / kg terreno secco
Mg	286	806	mg / kg terreno secco

Il finocchio marino è una specie Euri-Mediterranea, con areale centrato sulle coste mediterranee, ma con prolungamenti verso nord e verso est (areale della vite). Distribuito nelle coste del Mar Nero, del Mediterraneo e dell'Atlantico, arriva a nord fino in Scozia. Presente come specie neutralizzata anche in altri paesi extra-europei, come il Canada. In Italia è comune su tutte le coste, dall'Istria alla Liguria e nelle isole (Abdallah, et al., 2011).

In particolare, nella regione Marche è una specie protetta nel territorio del Parco del Conero secondo l'articolo 8.14 del Regolamento Ente Parco Regionale del Conero del 22 Agosto 2009. È presente come specie neutralizzata anche in paesi extraeuropei come il Canada.



**Figura 2-1: Distribuzione del *Crithmum maritimum* L.**

Le piante in grado di sopravvivere in presenza di elevata salinità si dicono alofite. Con precisione, il finocchio marino è un alofita facoltativo, cioè è in grado di tollerare un certo grado di salinità ma riesce a portare a termine il suo ciclo vitale anche in ambienti non salati.

È dimostrato che il tasso di crescita massimo si ottiene in assenza di NaCl ma la pianta mostra una moderata tolleranza al NaCl in quanto la velocità di crescita diminuisce all'aumentare del livello di NaCl nel substrato di crescita. All'aumentare della concentrazione di sale diminuisce il peso secco dei germogli, la superficie fogliare e il numero delle foglie (Ben Hamed, et al., 2004).

A causa della presenza del sale nell'ambiente in cui vivono, le piante sono soggette: a stress osmotico con conseguenze simili a quelle indotte dal deficit idrico; a stress nutrizionale per compromissione dell'assorbimento di altri elementi; ad una ridotta assunzione di CO<sub>2</sub> e ad una diminuzione della fotosintesi per chiusura degli stomi dovuta all'eccessiva salinità.

Infine, manifestano stress da tossicità ionica dovuto ad alte concentrazioni di Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> che compromettono le funzioni di membrana (per esempio può avvenire la denaturazione proteine) e che producono radicali liberi tossici per la cellula.

La cellula sintetizza specie attive dell'ossigeno (AOS), come l'ossigeno singoletto, l'anione superossido, il perossido di idrogeno e il radicale idrossile.

Generalmente, i meccanismi che sfruttano le piante alofite per tollerare gli ambienti salati, sono due: il primo consiste nel minimizzare l'entrata del sale nella pianta; il secondo meccanismo si basa sulla riduzione della concentrazione del sale nel citoplasma. In particolare, per superare le difficoltà dovute all'eccesso di sale nell'ambiente, il *Crithmum maritimum* L. sfrutta entrambi i meccanismi.

Le foglie sono di piccole dimensioni con una cuticola spessa e hanno l'epidermide ricoperto di cere, gli stomi sono affondati nell'epidermide e la pianta ha sviluppato semi con una dormienza esogena dovuta al sale. La dormienza esogena dovuta al sale nella superficie esterna dei tegumenti del seme è un meccanismo di protezione che assicura che il processo di germinazione si avvii solo quando il sale esterno al seme è stato eliminato da abbondante acqua dolce, quindi dopo una pioggia, quando il terreno sarà bagnato ed idoneo per accogliere ed idratare la radichetta che spunterà dal seme.

Per limitare l'effetto tossico del sale, le cellule stoccano il sale nel vacuolo, per renderlo meno pericoloso per la cellula e, grazie all'abbondante acqua nel parenchima acquifero, lo

diluiscono. Inoltre la pianta stimola l'aumento della quantità di tessuto fotosintetico in modo da assicurarsi la fotosintesi. Infine, la pianta, per evitare o minimizzare gli effetti tossici, produce sostanze con effetto antiossidante: queste sono i metaboliti secondari, in particolare i fenoli e degli enzimi specifici per le specie attive dell'ossigeno. Gli enzimi esistenti sono: la catalasi (agisce contro il perossido d'idrogeno), la perossidasi e il superossido dismutasi (converte l'anione superossido in  $H_2O_2$ ).

I metaboliti secondari, prodotti dalla pianta per contrastare l'effetto tossico dell'ossigeno, hanno molte proprietà utili per la salute umana, ampiamente riconosciute dall'industria cosmetica, medicinale ed agroalimentare.



**Figura 2-2: *Crithmum maritimum* L. sulla scogliera (a sinistra) e sulla sabbia (a destra).**

### **2.3 Descrizione botanica**

Il *Crithmum maritimum* L. è una pianta suffruticosa perenne, lignificata alla base, cespitosa, alta 20-40 (50) cm, glabra e cerosa, con un forte odore aromatico, odorante come di un misto finocchio-mentato, dal sapore amarognolo, salato e leggermente piccante.

#### *2.3.1 Radice*

La radice è rizomatosa, lignificata e si insinua tenacemente nelle fenditure delle rocce, allungandosi fino a 5 metri. Spesso sono presenti tre o quattro ramificazioni radicali dall'odore gradevole. Quando la pianta fiorisce, la radice principale scompare.

### 2.3.2 Fusto

Il fusto è zigzagante, legnoso alla base, ramificato, con scapi erbacei ascendenti e zigzaganti di colore verde glauco, striato longitudinalmente con portamento flessuoso e prostrato.

### 2.3.3 Foglie

Le foglie sono persistenti, con contorno triangolare, bi-tri pennate e di consistenza carnosa (simile a quelle di una pianta grassa). Sono lunghe da 1 a 7 cm, di forma lanceolata e con estremi appuntiti.

Ha stomi distribuiti nella parte superiore e inferiore delle foglie e sono immersi nell'epidermide.

Per quanto riguarda i tessuti della foglia, essa esternamente ha l'epidermide ricoperta di una spessa cuticola e cere. Questo rivestimento limita le perdite d'acqua, per resistere all'aridità e all'eccesso di salinità; l'aria salmastra, infatti, nonostante contenga un'abbondante quantità di vapore acqueo, tende a riassorbire l'acqua dalle piante non protette da un'epidermide cutinizzata. Proseguendo verso l'interno, è presente un altro tessuto, il mesofillo, che consiste di un tessuto a palizzata di due o tre strati di cellule e di un parenchima in grado di accumulare acqua. Nel mesofillo si trovano i vasi del tessuto vascolare e i canali secretori con cellule epiteliali specializzate. In aggiunta, sono visibili aggregati di cristalli entro i vasi vascolari e nelle cellule del parenchima attorno ai vasi e ai dotti secretori. I cristalli rilevati nel *Crithmum maritimum* L. sono carbonio e ossigeno; stranamente non sono stati individuate tracce di calcio e silicio che generalmente sono comuni nei cristalli delle piante (Cornara, et al., 2009).



**Figura 2-3: Visione dettagliata delle foglie.**

#### 2.3.4 Fiori

I fiori sono molto piccoli, tra 2 e 5 mm di diametro. Sono formati da un piccolo calice a 5 petali arrotondati all'apice di colore bianco o verdastro, raramente rosei. I fiori sono disposti in infiorescenze ad ampie ombrelle. Ogni ombrella è formata da numerose ombrellette, ciascuna circondata da un involucreto composto di brattee. Le ombrelle fiorali sono portate da un breve e robusto peduncolo carnososo.

Il finocchio marino fiorisce da Luglio a Settembre, quando la radice principale è ormai scomparsa. Lo sviluppo di ogni ombrella di fiori avviene ogni 2-3 anni. Si verifica una separazione dal fusto madre, dando vita ad una moltiplicazione agamica.



*Figura 2-4: Visione dettagliata dei fiori.*



*Figura 2-5: Visione dettagliata dei fiori durante e dopo la maturazione dei frutti.*

### 2.3.5 Frutti

Il frutto è un diachenio ovoide di 5-6 mm, è formato da un tessuto spugnoso ed è di colore giallastro. A maturità diventa color porpora scuro e si apre. All'interno contiene un minuscolo nocciolo.

La maturazione del frutto è scalare da Agosto a Novembre.



***Figura 2-6: Visione dettagliata dei frutti ancora prematuri.***



***Figura 2-7: Visione dettagliata dei frutti a maturazione.***

### 2.3.6 Semi

I semi sono molto leggeri: 3000 semi pesano circa 3,2 grammi. Sono dotati di un tessuto spugnoso (parenchima aerifero) che gli consente di galleggiare nell'acqua; proprietà che gli garantisce una maggiore distribuzione nel territorio. Non appena il seme si trova su un substrato adatto, questo germina.

Si semina annualmente da Settembre in un terriccio leggero mescolato a sabbia.



**Figura 2-8: Visione dettagliata dei semi.**

#### **2.4 Riproduzione e condizioni per la produzione**

Il *Crithmum maritimum L.* si riproduce per seme o con le barbatelle. Le barbatelle sono frammenti di germoglio gemmifero che viene separato da un individuo vegetale e posizionato in un terreno o in un altro mezzo adatto dove, se le condizioni sono favorevoli, sviluppa come individuo autonomo. Questo metodo di moltiplicazione ha minori possibilità di successo rispetto alla riproduzione per seme in quanto le talee sono attaccate da micosi molto facilmente.

Per quanto riguarda la riproduzione per seme, si semina annualmente da Settembre su un terriccio leggero miscelato a sabbia in parti uguali. I nitrati ed altri composti azotati promuovono ed accelerano significativamente la germinazione. In questo caso, la pianta richiede solamente qualche rimescolamento dello strato superficiale del terreno e di essere annaffiata frequentemente durante l'estate. A germinazione, è bene coprire le piante con uno strato di foglie o paglia in modo da permettergli di superare l'inverno e da consentire il primo raccolto a primavera (Piterà, s.d.).

È possibile la coltivazione del *Crithmum maritimum L.* in vasi ma è assolutamente sconsigliato il ristagno di acqua e una posizione in pieno sole. Il finocchio marino non tollera le basse temperature quindi è preferibile ritirare le piante in un locale asciutto e luminoso durante gli inverni se si trova in luoghi a clima molto freddo perché rischia il congelamento del fogliame.





**Figura 2-9: Aspetto della pianta coltivata in vaso.**

Come tecnica utile per la moltiplicazione della massa e la conservazione del germoplasma, è consigliata una propagazione in laboratorio. Il *Crithmum maritimum* L. è coltivato su un substrato con il terreno composto dall'1% di agar. Questa tipologia di terreno sembrerebbe il più efficace in quanto porta ad un numero elevato di germogli. Secondo i dati del Seed Information Database del Kew Garden di Londra, si hanno risultati del 100% con una temperatura di 16°C e un fotoperiodo di 12/12.

Infine, non è da sottovalutare l'eventualità di produrre il finocchio di mare attraverso tecniche intensive per la produzione industriale. Per ogni ettaro di terreno coltivato, si può raggiungere un rendimento di 3,5 tonnellate (Clark, 2014).

Se questi fossero i risultati reali, sarebbe assolutamente possibile una coltivazione con successo su scala commerciale. È stata valutata la possibilità di effettuare un'irrigazione con acqua di mare su grande scala utilizzando pivot controllati da computer (Clark, 2014) e, per incrementare la produzione industriale, è stato osservato che la diminuzione della densità della semina permette di ottenere piante più grandi, anche se in numero minore, l'aggiunta di fosforo promuove la crescita del raccolto.

## **2.5 Germinazione**

La germinazione è definita come la rottura dei tegumenti del seme determinata dall'allungamento della radichetta.

Il processo di germinazione può essere influenzato da numerosi fattori ambientali.

Di fondamentale importanza è la presenza dell'acqua allo stato liquido e in una quantità precisa per lo sviluppo della specie. La reidratazione dei semi determina la rottura dei tegumenti favorendo la fuoriuscita della radichetta.

L'ossigeno è disciolto in acqua ed è utilizzato dall'embrione per i suoi processi metabolici.

La temperatura ideale e la quantità di luce desiderata dipendono dalla specie e sono elementi rilevanti per quanto riguarda la velocità di germinazione.

Essendo il *Crithmum maritimum* L. un alofita facoltativo, può sopravvivere anche in ambienti non salati ma l'habitat ideale è caratterizzato dalla presenza di sale, in precise concentrazioni: 50 mM di NaCl è la quantità ottimale di sale per lo sviluppo della pianta. La germinazione dei semi tende ad essere inibita da un'eccessiva concentrazione salina del substrato, non deve eccedere i 50 mM di NaCl (Abdallah, et al., 2011). Inoltre, anche la crescita delle foglie diminuisce con l'aumentare della salinità: è ridotta a partire da 300 mM di NaCl (Ben Hamed, et al., 2004).

L'inibizione della germinazione della pianta è comprensibile poiché una quantità di sale in eccesso aumenta il contenuto di acido abscisico (ABA) nei semi. Difatti, il fluridone, un inibitore della sintesi di ABA, allevia la restrizione alla germinazione indotta dal sale.

Il finocchio marino, in condizioni naturali, è continuamente esposto a numerosi ioni come  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$  e  $\text{SO}_4^-$ .

I sali di magnesio ( $\text{MgCl}_2$  e  $\text{MgSO}_4$ ) diminuiscono la germinazione a causa degli effetti ionici:  $\text{Mg}^{2+}$  esercita un forte effetto tossico che si spiega con la perdita di nutrienti dai semi, specialmente di fosforo, nitrato, solfato e calcio.

I sali del sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e  $\text{NaCl}$ ), invece, influenzano la germinazione principalmente con effetti osmotici: per questo motivo se si trasferiscono dei semi in acqua distillata, si può osservare un elevato aumento della germinazione. Ciò suggerisce che in condizioni naturali, la pianta produce semi che rimangono vitali e germinano dopo le piogge invernali, in modo che la pianta si possa stabilire con successo.

Per superare questo stato di dormienza dei semi che è dovuta dal sale, si può favorire la germinazione applicando sostanze che la promuovano come: nitrati, ammonio o l'acido gibbellerico (GA) oppure utilizzando luce rossa (Abdallah, et al., 2011).

Il sale di sodio, NaCl, è principalmente accumulato nel tegumento esterno dei frutti in modo da preservare la vitalità dell'embrione anche se la salinità dell'ambiente aumenta.

Grazie alle piogge o ad un'irrigazione con acqua non salina, avviene la lisciviazione del sale, i semi iniziano ad assorbire l'acqua e avviene la germinazione che consente alla pianta di stabilirsi.

## Capitolo 3

### SOSTANZE CHIMICHE E PRINCIPI ATTIVI

Il *Crithmum maritimum L.* contiene una quantità significativa di acido ascorbico (vitamina C). Inoltre, sono presenti elementi minerali (principalmente sodio), composti iodati, pectine, lipidi e polifenoli.

#### 3.1 Acidi grassi

I semi del *Crithmum maritimum L.* presentano numerosi globuli di olio che si accumulano nell'endosperma. La quantità di olio è molto elevata infatti rappresenta il 44,4% del peso secco dei semi.

L'olio contiene l'acido palmitico (C16:0), palmitoleico (C16:1), stearico (C18:0), oleico (C18:1), linoleico (C18:2) e linolenico (C18:3). In particolare, l'acido oleico rappresenta il 78% quindi è il componente principale (Abdallah, et al., 2010).

**Tabella 3-1: Contenuto in percentuale di acidi grassi saturi nei semi.**

ACIDI GRASSI SATURI	5,5%
acido palmitico	4,8%
acido stearico	0,7%
acido arachidico	tracce

**Tabella 3-2: Contenuto in percentuale di acidi grassi monoinsaturi nei semi.**

ACIDI GRASSI MONOINSATURI	78,8%
acido palmitoleico	0,2%
acido oleico	78,6%

**Tabella 3-3: Contenuto in percentuale di acidi grassi polinsaturi nei semi.**

<b>ACIDI GRASSI POLINSATURI</b>	<b>15,7%</b>
acido linoleico	15,4%
acido linolenico	0,3%

Questa composizione è simile all'olio d'oliva: sono presenti, infatti, gli acidi grassi essenziali (acido linoleico e acido linolenico) che rappresentano il 15,7% del totale. Gli acidi grassi essenziali per loro natura, pur essendo richiesti dall'organismo, non possono essere sintetizzati perciò è necessaria la loro introduzione attraverso l'alimentazione.

**Tabella 3-4: Contenuto in percentuale di acidi grassi essenziali nell'olio di oliva.**

<b>ACIDI GRASSI POLINSATURI olio d'oliva</b>	
acido linoleico ( $\omega 6$ )	7-10%
acido linolenico ( $\omega 3$ )	0,3-0,5%

Inoltre, la composizione dell'olio di *Crithmum maritimum L.* è analoga all'olio di colza in quanto il livello di acido oleico è elevato (78,6%) ma la quantità di acido palmitico è molto bassa (4,8%).

Nella tabella sottostante è riportato un confronto tra la composizione in acidi grassi dei tre oli citati in modo da fornire una visione completa. I dati relativi all'olio di critmo sono gli stessi citati precedentemente (Abdallah, et al., 2010) mentre i valori dell'olio di colza e di oliva sono stati estrapolati dall'articolo "Fatty acid composition of commercial vegetable oils from the French market analysed using a long highly polar column" (Vingering, et al., 2010).

**Tabella 3-5: Confronto composizione oli.**

	<b>OLIO DI COLZA</b>	<b>OLIO DI OLIVA</b>	<b>OLIO DI CRITMO</b>
<b>AC. GRASSI SATURI</b>	7,3%	11,9%	5,5%
<b>tra cui:</b>			
C16:0 ac. palmitico	<b>4,5%</b>	8,3%	<b>4,8%</b>
C18:0 ac. stearico	1,6%	3,0%	0,7%
C20:0 ac. arachidico	0,6%	0,4%	tracce
<b>AC. GRASSI MONOINSATURI</b>	59,7%	75,2%	78,8%
<b>tra cui:</b>			
C16:1 ac. palmitoleico	0,2%	0,8%	0,2%
C18:1 cis ac. oleico	<b>55,2%</b>	71,0%	<b>78,6%</b>
C18:1 trans	/	/	
C20:1	1,1%	0,4%	
<b>AC. GRASSI POLINSATURI</b>	26,9%	7,4%	15,7%
<b>tra cui</b>			
C18:2 ac. linoleico	19,4%	<b>6,7%</b>	<b>15,4%</b>
C18:3 (n-3) ac. $\alpha$ -linolenico	7,8%	<b>0,7%</b>	<b>0,3%</b>

### 3.2 Vitamina C

Uno degli utilizzi tradizionali del *Crithmum maritimum L.* era quello di contrastare la carenza di acido ascorbico (scorbuto), cui erano soggetti i marinai durante i loro viaggi in mare. Il finocchio marino veniva quindi portato durante i viaggi per integrare la dieta dei marinai.

La quantità di vitamina C presente è molto elevata: circa 76,6 mg per 100 g di materiale fresco. Da questo valore si deduce che 100 g di foglie di finocchio marino al giorno forniscono una dose sufficiente per raggiungere quella giornalmente raccomandata di 75 mg a persona (Wolfgang, 1982).

### 3.3 Terpeni

I terpeni sono idrocarburi ottenuti dalla condensazione di molecole di isoprene. Nell'olio essenziale estratto da differenti porzioni del finocchio marino, la quantità e la varietà di terpeni è molto variabile.

I tre principali terpeni che compongono l'olio essenziale estratto sono il limonene, il sabinene e il  $\gamma$ -terpinene (Generalić Mekinić, et al., 2016).

**Tabella 3-6: Quantità dei principali terpeni rilevati nell'olio essenziale.**

COMPONENTE	FIORI	STELO	FOGLIE
Limonene	62,2 %	74,2%	57,5%
Sabinene	12,0%	8,1%	13,4%
$\gamma$ -Terpinene	13,8%	4,6%	12,0%

### 3.3.1 Inibizione dell'attività dei colinesterasi

I terpeni sono molto importanti in quanto sono utilizzati, ad esempio, per il trattamento dell'Alzheimer.

I responsabili delle prime e delle ultime fasi della malattia neurodegenerativa sono due enzimi: l'acetilcolinesterasi (AChE) e il butirrilcolinesterasi (BuChE); perciò la terapia più promettente è basata sull'inibizione di questi due enzimi.

Generalić Mekinić, et al. (2016), attraverso i loro studi, hanno sempre ottenuto, per tutti i campioni analizzati, una migliore inibizione su AChE piuttosto che su BuChE. I campioni analizzati sono stati gli estratti etanolici e gli oli essenziali di fiori, stelo e foglie.

La più forte inibizione è conseguita dall'olio essenziale estratto dallo stelo e la più debole dall'olio essenziale estratto dalle foglie. Le foglie hanno un contenuto elevato di monoterpeni (es. limonene) che possono creare delle interazioni idrofobiche tra il sito attivo dell'AChE (anch'esso idrofobico) e il loro scheletro carbonioso.

Se questa interazione si verificasse, si procederebbe con l'inibizione dell'enzima.

### 3.3.2 Effetto vasodilatatore

L'effetto vasodilatatore dell'olio essenziale è stato valutato nei ratti misurando e amplificando la forza isometrica degli anelli aortici (Generalić Mekinić, et al., 2016).

L'effetto vasodilatatore dell'olio essenziale è debole e simile all'attività del suo principale componente, il limonene (70 $\mu$ M). Nonostante ciò, altri composti monoterpenici come il carvacrolo e il timolo, hanno un'attività vasodilatatoria in concentrazione molto maggiore: fino a 6000 $\mu$ M.

### 3.4 Componenti fenolici

I composti fenolici sono metaboliti secondari, antiossidanti, e contribuiscono al colore e alle caratteristiche sensoriali di frutta e verdura. Forniscono inoltre protezione contro i patogeni e i predatori e prendono parte ai processi di crescita e di riproduzione.

A livello cellulare, proteggono la cellula dall'azione dannosa dei specie reattive dell'ossigeno (ROS), principalmente dai radicali liberi prodotti in risposta a stress ambientali (es. salinità). I ROS possono disgregare il normale metabolismo attraverso l'ossidazione dei lipidi, delle proteine e degli acidi nucleici. Le piante, quando si trovano in condizioni di stress, quindi, producono più ROS.

Di conseguenza, si attiva la sintesi di antiossidanti come l'acido clorogenico (CGA) o altri sistemi anti-radicali che prevengono la morte della cellula. Si può dedurre che esiste un collegamento diretto tra un elevato livello di CGA e la tolleranza allo stress ossidativo.

Pertanto, il contenuto totale di fenoli estratto da fiori, foglie e stelo è molto variabile perché influenzato da fattori biotici e abiotici.

**Tabella 3-7: Contenuto fenoli totali del *Crithmum maritimum* L. \***

PARTE DELLA PIANTA	FENOLI TOT. (mg GAE / g ESTRATTO)	REFERENZE
Foglie	7,16 - 35,1	Petropoulos S.A <i>et al.</i>
Fiori	32,6	Petropoulos S.A <i>et al.</i>
Stelo	7,16	Petropoulos S.A <i>et al.</i>

\*la quantità totale di fenoli è espressa come acido gallico (GAE) equivalente (mg GAE / g del peso secco).

#### 3.4.1 Nelle foglie

Nelle foglie del *Crithmum maritimum* L., il contenuto totale di fenoli, non varia significativamente tra le piante sviluppate sulla sabbia o sulla scogliera.

Il livello di fenoli aumenta tra la primavera e l'estate. In autunno avviene una diminuzione per le piante che vivono sulle scogliere; e una simile decrescita si presenta durante inverno per le piante sulla sabbia (Meot Duros & Magné, 2009).



#### 3.4.1.1 Attività antiossidante

Tra i fenoli, l'acido clorogenico (CGA) è il polifenolo più diffuso. Se si prende in considerazione solo la sua quantità, vi è una differenza tra le piante sviluppate nelle scogliere e nella sabbia: le prime producono molto meno CGA rispetto alle seconde per tutta la durata della stagione di crescita.

Questa condizione è correlata a fattori ambientali in quanto i due habitat sono differenti: le piante che vivono sulla sabbia sono molto più stressate rispetto a quelle sulle scogliere perché scarseggiano di alcuni nutrienti (boro e azoto). Inoltre, sulla sabbia le piante soffrono stress idrico e ionico al contrario di quelle sulle scogliere. Perciò, le piante che si trovano sulla sabbia hanno un sistema più potente di eliminazione dei radicali.

Per quanto riguarda la capacità antiossidante totale nelle foglie di *Crithmum maritimum* L., l'attività è massima in primavera e in estate per le piante che si sviluppano sulle scogliere. L'autunno, invece, rappresenta la stagione con la minor capacità antiossidante per le piante sulle scogliere e il periodo di massima attività per le piante sulla sabbia.

#### 3.4.1.2 Inibizione dell'attività dei colinesterasi

Come i terpeni, l'acido clorogenico ha un'attività inibitoria dell'acetilcolinesterasi (AChE) e del butirrilcolinesterasi (BuChE). L'azione più forte è data dall'estratto delle foglie su AChE piuttosto che su BuChE ed è più potente anche rispetto all'estratto di fiori o dello stelo perché la concentrazione di CGA è alta.

L'attività inibitoria dell'acetilcolinesterasi è dimostrabile in quanto il peso molecolare e le frazioni idrofobiche nelle strutture chimiche dei fenoli sono molto simili ai conosciuti inibitori anti-colinesterasi: tacrina, donepezil, galantamina (Generalic Mekinić, et al., 2016).

La categoria di composti fenolici più ampia è rappresentata dai flavonoidi, particolari per la loro struttura di riferimento: il flavonone. I flavonoidi nelle foglie del *Crithmum maritimum* L. si trovano sotto forma di cristalli costituiti da esperidina e diosmina; ed, in aggiunta, nella stessa concentrazione: circa 0,6% p/p (Cornara, et al., 2009).

La quantità presente nelle foglie è variabile ed è relativa allo stadio di sviluppo delle piante esaminate.

La diosmina è visibile come un'aggregazione sferica di cristalli giallastri ed ha un'attività biologica simile all'esperidina: sono utilizzate per migliorare la resistenza dei vasi sanguigni, per ottenere un effetto diuretico, anti-ipertensivo e lipolipemizzante. Inoltre, sono state proposte come agenti preventivi del cancro al colon e alla vescica.

### 3.4.2 *Nei fiori*

Gli estratti di fiori contengono un'alta concentrazione di fenoli totali: 32,6 mg di acido gallico/g di materiale vegetale secco (mg GAE/g di d.p.m.). In particolare, la quantità di acido clorogenico corrisponde a 7,7 mg/g di d.p.m. (Petropoulos, et al., 2018).

#### 3.4.2.1 Effetto vasodilatatore

L'attività vasodilatatrice di numerosi estratti di finocchio di mare è strettamente correlata al suo contenuto di fenoli totali. Più precisamente, l'estratto dei fiori di *Crithmum maritimum L.* è ricco di acido clorogenico quindi si può attribuire l'attività vasodilatatoria a questo composto fenolico. L'effetto complessivo, però, è determinato dalla presenza di una miscela di diversi fenoli in quanto non vi è una correlazione precisa con il contenuto di un composto fenolico in particolare: l'acido gallico è un perfetto antiossidante ma non ha effetti vasodilatatori; l'acido caffeico, al contrario, è il più forte vasodilatatore; mentre, l'acido clorogenico (un estere dell'acido caffeico e dell'acido chinico) ha un effetto vasodilatatore massimo due volte più alto dell'acido caffeico (Generalic Mekinić, et al., 2016).

### 3.4.3 *Nello stelo*

Gli estratti ottenuti dallo stelo contengono, al contrario di fiori e foglie, una concentrazione molto bassa: il valore è circa 4 volte più basso. Nello stelo la quantità di acido clorogenico è inferiore rispetto alle altre parti della pianta e raggiunge solamente 0,7 mg/g di p.d.m. (Petropoulos, et al., 2018).

## Capitolo 4

# STUDIO DELLA GERMINABILITÀ E PRODUZIONE DI PIANTINE IN VIVO

Questo lavoro di tesi si inserisce nell'ambito delle attività svolte dal Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali dell'Università Politecnica delle Marche per il Programma di Sviluppo Rurale (PSR) della Regione Marche 2014/2020. Il PSR è uno strumento di programmazione comunitaria basato su fondi strutturali e di investimento europei; ai finanziamenti europei si aggiungono quelli nazionali e regionali con lo scopo di sostenere le operazioni in ambito agricolo e forestale.

Il titolo del progetto PSR a cui si fa riferimento è: “Nuove conserve vegetali biologiche da varietà autoctone di finocchio marino (*Crithmum maritimum L.*) coltivato in biologico” e parte di questo progetto è la sperimentazione di tecniche di coltivazione del *Crithmum maritimum L.* in linea con i principi dell'agricoltura biologica in modo da raggiungere il massimo risultato produttivo possibile tutelando la biodiversità.

La parte di progetto di interesse botanica, riguarda tutta la fase che va dalla raccolta del seme, alla sua conservazione in dry-room, alle prove di germinabilità e alla produzione di piantine da dedicare, poi, alle prove agronomiche.

### 4.1 Studio della germinabilità

L'obiettivo di questo studio è la predisposizione di un protocollo di germinazione per dei semi di *Crithmum maritimum L.*

La temperatura ricercata, ovviamente, è quella che permette la fuoriuscita della radichetta nel più breve tempo possibile in quanto, per la lavorazione industriale, è richiesta una produzione regolare e abbondante.

Le informazioni che verranno trasferite hanno lo scopo di dare suggerimenti per migliorare la coltivazione dei paccasassi da parte dell'azienda partner del progetto.

In una prima fase sono stati osservati i risultati dei test di germinabilità di alcuni studi ritrovati in letteratura, prendendo particolarmente in considerazione il “Seed Information Database” del Kew Garden (Royal Botanic Garden, s.d.). Tale banca dati mette a disposizione una raccolta di informazioni e caratteristiche biologiche di circa 52.564 taxa di piante da seme: i semi sono archiviati presso la Millennium Seed Bank (MSB), ideata e sviluppata dal Royal Botanic Garden (Kew Garden, UK) stesso. I dati riportano il comportamento durante la conservazione, il peso dei semi, la germinazione, il contenuto di olio e di proteine, la morfologia, la tolleranza al sale e la vitalità dei semi.

Le condizioni di germinazione elencate nel SID per il *Crithmum maritimum L.* sono numerose: le semine sono avvenute su piastre Petri contenenti un terreno di coltura composto di agar all' 1% mentre le condizioni di germinazioni sono state variabili in quanto fototipo e temperatura hanno subito modificazioni ad ogni prova.

Degni di particolare attenzione sono i seguenti test:

- 100% di germinazione (semi seminati: 20); condizioni di germinazione: luce 8/16, 10°C, 28 giorni;
- 95% di germinazione (semi seminati: 20); condizioni di germinazione: luce 8/16, 20°C, 28 giorni;
- 100% di germinazione (semi seminati: 13); condizioni di germinazione: luce 12/12, 16°C;
- 83% di germinazione (semi seminati: 46); condizioni di germinazione: luce 12/12, 25/10°C, 42 giorni;

A partire da questi risultati, è stato pianificato un studio della germinabilità seguendo i metodi e le fasi del Manuale proposto dall'Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i servizi Tecnici (APAT, 2006).

Tale testo è predisposto per operare secondo delle linee guida in modo da tutelare la biodiversità, il territorio e la cultura che ne deriva. Queste metodologie facilitano i lavori e assicurano il rispetto di procedure e standard nazionali ed internazionali.

#### 4.1.1 *Raccolta dei semi*

Per valutare il periodo migliore per la raccolta dei semi si deve prendere in considerazione il tempo di maturazione dei frutti. È molto importante prelevarli al momento ideale per assicurare i risultati dei test di germinazione e la capacità di superare eventuali dormienze.

Una raccolta anticipata fornisce semi a bassa germinabilità; al contrario, una raccolta posticipata causa delle perdite dovute alla normale dispersione, ai predatori o parassiti (es. insetti) e a fenomeni meteorologici (es. piogge e venti).

Per essere sicuri di prelevare i semi nel periodo adeguato, è necessario effettuare la “prova del taglio” che consiste nel tagliare a metà il seme con un bisturi ed osservare, con una lente d’ingrandimento, l’eventuale presenza di patogeni o insetti e l’adeguatezza del colore e della consistenza dei tessuti.

Occorre porre attenzione alla conservazione dei semi in quanto un errato mantenimento può andare a pregiudicare la vitalità di esso e la successiva germinazione.

Il protocollo APAT, infatti, si raccomanda di:

- conservare i semi maturi e asciutti in sacchetti di carta o cotone;
- conservare i semi interi, contenuti ancora nei frutti, in buste di carta;
- la quantità ideale di semi vitali da raccogliere deve essere tale da consentire che un campione rappresentativo possa essere conservato a lungo termine, che ci siano semi sufficienti per i test di germinazione e che una parte della collezione possa essere destinata alla produzione di lotti per la duplicazione delle collezioni.

Questi accorgimenti si mettono in atto per garantire l’areazione: in assenza di aria i semi si decompongono molto facilmente.

Nel nostro caso, i semi sono stati raccolti sulle coste del Mar Mediterraneo nell’area di Marcelli e Porto Recanati (provincia di Ancona) il 17 Novembre del 2013.

#### 4.1.2 *Conservazione temporanea dei semi prima della pulizia*

I semi, come tutti i materiali raccolti in campo, sono conservati in strutture chiamate banche del germoplasma o banche del seme e tecnicamente questi campioni prendono il

nome di “accesioni”. Il germoplasma, infatti, è il corredo genetico di una determinata specie, costituito dall’insieme dei suoi differenti genotipi, di cui rappresenta quindi la variabilità genetica. Esempi di germoplasma sono le spore, il polline, i tessuti, parti di pianta, cellule, DNA, RNA e, ovviamente, i semi, principali per la riproduzione e delle piante superiori.

Prima di conferire i campioni alla banca del germoplasma, i semi devono essere conservati su carta assorbente e in condizioni ambientali controllate: temperatura e umidità relativa costanti in modo da massimizzare la ventilazione e permettere la disidratazione. La temperatura non deve essere esageratamente elevata e i semi non possono essere irraggiati dal sole; ciò danneggerebbe il seme compromettendo la sua germinazione. In ultimo, non per importanza, è necessario evitare perdite e/o contaminazioni del germoplasma raccolto.

#### 4.1.3 Pulizia dei semi

Introdotta il materiale all’interno della Banca del Germoplasma, si procede alla pulizia dei semi. I semi sono allontanati da parassiti, polveri e residui resinosi e quelli vuoti sono rimossi.

Questo procedimento può essere svolto manualmente o meccanicamente. Per l’estrazione manuale sono utilizzati, per esempio, setacci di maglia variabile o strumenti da laboratorio come pinzette o puntali, mentre, per quanto riguarda le operazioni meccaniche, esistono piccoli strumenti che, grazie ad un flusso d’aria, separano le impurità dalle sementi e i semi vuoti dai vitali sfruttando il diverso peso e dimensione.

In base alle caratteristiche della specie e dei semi si applicano tecniche di pulizia diverse.

In questo caso, la procedura consiste nella rimozione delle strutture vegetali su cui i semi di *Crithmum maritimum* L. sono inseriti. Per il finocchio marino la pulizia è manuale perché il pericarpo è spugnoso e molto facile da allontanare.

#### 4.1.4 Deidratazione in dry room

I semi sono posizionati in una camera di disidratazione chiamata dry room nella quale la temperatura è mantenuta tra i 10 e 25°C e l’umidità al di sotto del 10-15%. Queste condizioni sono possibili grazie alla presenza di deumidificatori e condizionatori.

Il materiale è stoccato all’interno in buste di carta, sacchetti o vaschette traspiranti.

Lo scopo principale è la deidratazione dei semi per permettere una conservazione a lungo termine in congelatore o frigorifero. Infatti, mantenendo costanti le condizioni all'interno di questa camera, la deidratazione avviene in modo continuo, così da evitare la formazione di cristalli di ghiaccio una volta che il seme sarà messo in congelatore.

Verificata la giusta percentuale di umidità (tra 3,5% e 6,5%), i semi sono pronti alle basse temperature del congelatore (-15°C circa) o del frigorifero (tra -5 e 5°C).

Nel nostro caso i semi sono stati prelevati dalla dry room e sottoposti direttamente ad analisi.

#### 4.1.5 *Semina in laboratorio*

La semina è avvenuta in laboratorio e si sono utilizzate piastre Petri contenenti un substrato di agar all'1%, conservate in frigorifero fino al momento della semina.

Poco prima di iniziare la semina stessa, le piastre sono state sterilizzate sotto una cappa sterile ai raggi UV per 10 minuti per evitare la contaminazione del materiale di semina.

I semi sono stati prelevati direttamente dalla dry room e seminati sotto cappa sterile.

Sono stati posizionati i semi per ogni piastra con una pinzetta, disinfettata con alcol tra una serie e l'altra di semina.



**Figura 4-1: Cappa sterile per la semina in laboratorio.**

#### 4.1.6 Caratteristiche del test

Il test è stato svolto presso la Banca del Germoplasma per le specie anfiadriatiche, del Centro Interdipartimentale di servizi dell'Orto Botanico dell'Università Politecnica delle Marche.

Per le prove di germinabilità, sono state preparate 4 piastre Petri contenenti ciascuna 25 semi e sono state posizionate in un germinatoio a 20°C. Per quanto riguarda l'esigenza di luce, le prove sono state condotte con un fotoperiodo di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Per 30 giorni, ogni mattina sono stati contati i semi germogliati. Si sono considerati tali quei semi da cui fuoriusciva una radichetta di almeno 1 mm in lunghezza (limite minimo di osservazione macroscopia dell'osservatore) perché questa condizione indica la capacità di svilupparsi ulteriormente in una pianta normale, in condizioni che lo permettono (ISTA, 2004).

La visualizzazione della radichetta è avvenuta attraverso un'osservazione al microscopio.

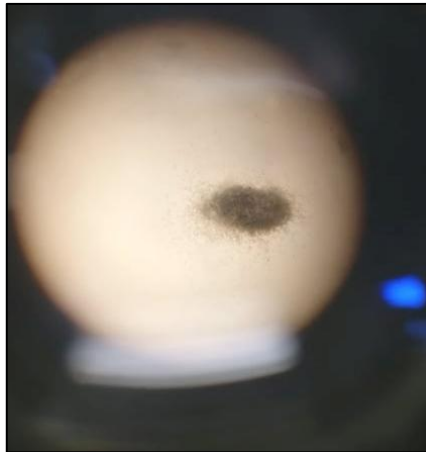


***Figura 4-2: Esempio di semi germinati.***

Durante lo svolgimento del test, si sono verificate delle contaminazioni che hanno determinato lo sviluppo di muffe sulla superficie di alcuni semi.

Questi, sono stati eliminati dalla piastra Petri in modo da ridurre la possibilità di diffusione della muffa sui semi limitrofi.





*Figura 4-3: Seme con muffa.*

#### 4.1.7 Risultati del test

Dall'osservazione dell'analisi è possibile dedurre ed elaborare dei risultati.

Di seguito sono riportati i passaggi che hanno permesso di ottenere una percentuale di germinazione specifica per l'esperimento in questione e una visione generale che consente il paragone con altri test di germinazione già realizzati.

##### 4.1.7.1 Categorie di valutazione

Al termine del test è importante identificare e suddividere i semi in categorie per una migliore comprensione dello svolgimento dell'esperimento.

Il numero totale per ogni piastra Petri deve corrispondere al numero di semi posti a germinare all'inizio del test, cioè 25.

*Tabella 4-1: Suddivisione semi in categorie.*

CAMPIONI	GERMINATI	AMMUFFITI	NON GERMINATI
Piastra A	20	4	1
Piastra B	24	1	/
Piastra C	22	2	1
Piastra D	21	4	/

#### 4.1.7.2 Percentuale di germinazione

La capacità germinativa si indica con la percentuale di semi germinati (normali ed anormali) e non deve essere confusa con la vitalità: possono esserci semi vitali ma dormienti che, quindi, non germinano. Un seme è vitale quando presenta le caratteristiche morfologiche, fisiologiche e biochimiche essenziali per la sua germinazione.

La percentuale di germinazione è il rapporto fra il numero dei semi germinati e il numero totale dei semi, moltiplicato per 100.

La percentuale finale del test è data dalla media di tutte le repliche sottoposte a stesse condizioni.

**Tabella 4-2: Percentuale di germinazione.**

CAMPIONI	PERCENTUALE DI GERMINAZIONE
Piastra A	80%
Piastra B	96%
Piastra C	88%
Piastra D	84%

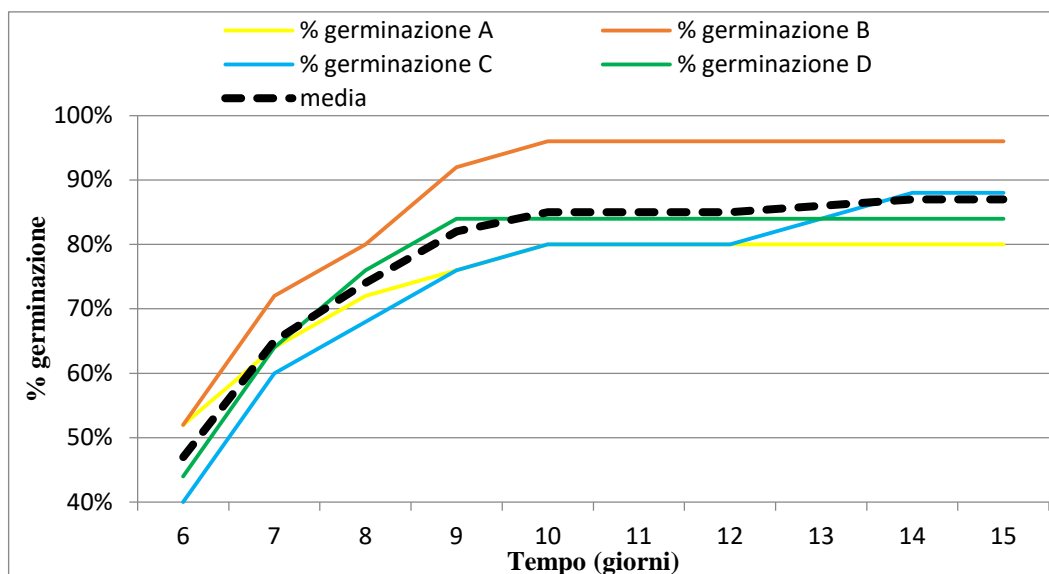
**Tabella 4-3: Percentuale di germinazione finale.**

% GERMINAZIONE FINALE
87%

#### 4.1.7.3 Velocità di germinazione

La velocità di germinazione è un aspetto importante perché può fornire informazioni riguardo la qualità del seme.

Con i risultati ottenuti è possibile tracciare una curva che rappresenta l'andamento della germinazione (espressa in percentuale) nel tempo. Le 4 curve colorate raffigurano l'andamento di ogni piastra Petri analizzata mentre la linea tratteggiata la media delle 4 prove. Come si può osservare nel grafico sottostante, le curve si sviluppano a partire dal giorno 6 perché nei giorni precedenti non c'è stata alcuna germinazione (0% di germinazione).



**Figura 4-4: Velocità di germinazione.**

#### 4.1.7.4 Commenti

I risultati ottenuti sono del tutto in linea con gli esperimenti già effettuati dal Kew Garden. Infatti, una percentuale di germinazione finale dell'87% a 20°C in 15 giorni con un fototipo di 12 ore di buio e 12 di giorno, non è bassa.

Perciò si può dedurre che il discostamento del risultato da altri esperimenti è dovuto principalmente ai diversi luoghi di raccolta del seme e alla condizioni di conservazione del seme prima del test stesso.

Nel proseguo della ricerca verranno, comunque, valutate altre temperature di germinazione, al fine di individuare il range di temperatura ottimale per la semina in campo. Sarà altresì utile fare le stesse prove su un seme raccolto il prossimo autunno al fine di valutare l'incidenza dell'invecchiamento del seme sulla germinabilità; tali indicazioni saranno utili per l'azienda partner del progetto che potrà, in base a queste decidere la quantità di semi, raccolti nei diversi anni, da mettere in campo o in vaso.

## 4.2 Coltivazione in vivo

Per le future prove agronomiche sono stati seminati diversi vasetti di *Crithmum maritimum* L. al fine di ottenere un numero congruo di piante su cui svolgere gli studi.

I semi, prelevati direttamente dalla dry-room, sono stati piantati in diversi periodi dell'anno conferendo risultati di germinabilità differenti. Gli esiti ottenuti si riferiscono

principalmente alle temperature estremamente diverse alla semina e durante il periodo di germinazione.

Sono state eseguite due semine: la prima il 23 aprile 2019 e la seconda l'8 maggio 2019.

Per ogni vasetto (10 cm di diametro circa) sono stati disposti 4 semi a croce. Entrambe le coltivazioni sono state fatte in serra.

#### 4.2.1 Semina del 23 aprile 2019

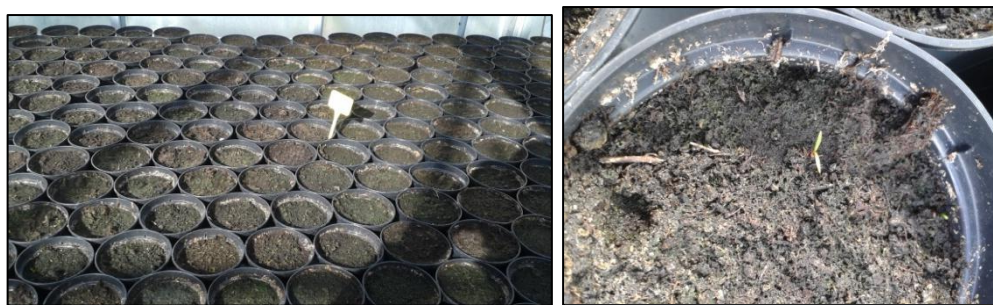
Il 23 aprile 2019 sono stati piantati 752 semi suddivisi in 188 vasetti (4 semi per vaso).

Grazie alle temperature favorevoli per il *Crithmum maritimum L.* (circa 20°C) dal mese di aprile la percentuale di germinazione, dopo un mese, è stata del 70%.

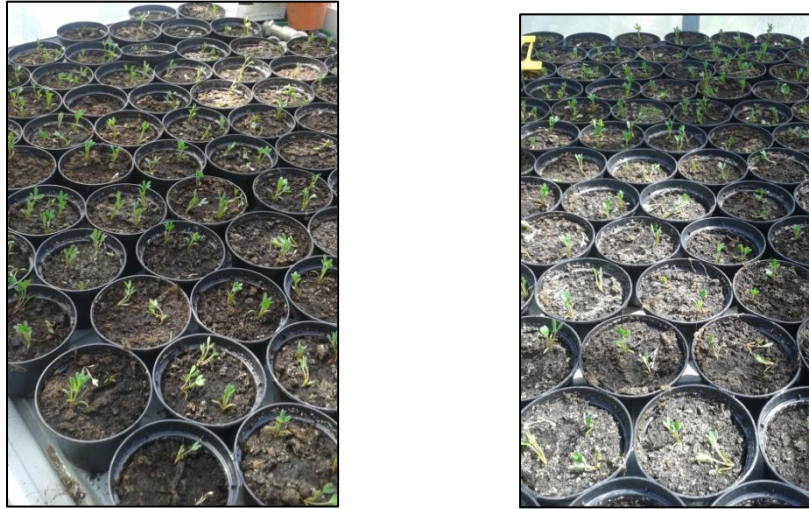
Le piantine sono state controllate periodicamente.



**Figura 4-5: Controllo del 30 aprile.**



**Figura 4-6: Controllo del 9 maggio.**



**Figura 4-7: Controllo dell'8 giugno.**

#### 4.2.2 Semina dell'8 maggio 2019

L'8 maggio sono stati piantati 140 semi ripartiti in 35 vasetti.

A causa delle temperature troppo elevate di questo periodo dell'anno, il *Crithmum maritimum L.* non germina facilmente. Più precisamente la percentuale di germinazione dei semi è molto bassa e si aggira intorno al 31%.

Come è possibile osservare nella foto sottostante, è stato effettuato un solo controllo a distanza di un mese e i vasetti con la piantina emersa sono limitati.



**Figura 4-8: Controllo dell'8 giugno.**

## CONCLUSIONI

La presenza di sostanze come i flavonoidi, gli acidi grassi essenziali e la vitamina C fanno del *Crithmum maritimum L.* un'interessante risorsa per le proprietà benefiche e i molteplici possibili utilizzi in svariati campi.

Il recupero del suo utilizzo tradizionale partecipa alla custodia della ricchezza culturale del nostro territorio; l'UNESCO nel 2003, adottando la Convenzione per la salvaguardia del Patrimonio Culturale Intangibile, stabilisce che “saperi e pratiche relativi alla natura e all'universo” sono parte di questo patrimonio.

Il recupero della cultura tradizionale, può, inoltre, offrire lo spunto per attività produttive ed innovative. Nel caso specifico, le caratteristiche organolettiche, le proprietà benefiche e la grande capacità di adattamento a condizioni ambientali proibitive, come l'aridità e l'ipersalinità, per altre specie più esigenti, fanno del paccassassi un “novel food”, molto interessante per l'industria alimentare che sta studiando la possibilità di realizzare prodotti o ingredienti innovativi a partire dal *Crithmum maritimum L.* come spezie o coloranti naturali.

La coltivazione di questa pianta, inoltre, vista la sua capacità di sopravvivenza in condizioni di scarsità d'acqua ed elevata salinità, consente di sfruttare quei terreni aridi ed ipersalini che sono attualmente in forte aumento e che non potrebbero essere destinati ad altre produzioni agricole.

Ad ogni modo, è necessario promuovere la conoscenza della pianta stessa, degli effetti positivi sulla salute, il consumo e la produzione di questa specie sottoutilizzata stimolando l'ampliamento del mercato (attualmente orientato ad un mercato locale) e incrementando la produzione tramite la valutazione di tecniche di coltivazioni migliori.

## BIBLIOGRAFIA

- Abdallah, A. et al., 2010. Localization and composition of seed oils of *Crithmum maritimum* L. (Apiaceae). *African Journal of Biotechnology*.
- Abdallah, A. et al., 2011. Environmental eco-physiology and economical potential of the halophyte *Crithmum maritimum* L.(Apiaceae). *Journal of Medicinal Plants Research*.
- Anon., s.d. [Online].
- APAT, 2006. *Manuale per la raccolta, studio, conservazione e gestione ex situ del germoplasma..* s.l., s.n.
- Ballelli, S. & Bellomaria, B., 2005. La flora officinale delle Marche. *L'uomo e l'ambiente*, 1(43).
- Ben Hamed, K., Ahmed, D., Farhat, C. & Chedly, A., 2004. Salt response of *Crithmum maritimum*, an oleagineous halophyte.. *Tropical Ecology*.
- Clark, A., 2014. From Sea to Shining Seed. *Saudi Aramco World*.
- Cornara, L. et al., 2009. Micromorphological investigation on the leaves of the rock samphire (*Crithmum maritimum* L.): Occurrence of hesperidin and diosmin crystals.. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*.
- Cornara, L., La Rocca, A., Marsili, S. & Mariotti, M. G., 2009. Traditional uses of plants in the Eastern Riviera (Liguria, Italy). *Journal of Ethnopharmacology*.
- Generalić Mekinić, I. et al., 2016. Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.): phytochemical profile, antioxidative, cholinesterase inhibitory and vasodilatory activity. *J Food Sci Technol*.
- Grigore, M.-N. & Toma, C., 2010. Halophytes, between the fall of civilizations and biosaline agriculture. Ecological disturbances over time.. *Journal for Studies in Natural Sciences*.
- ISTA, 2004. *Activity report of the International seed testing association..* s.l.: s.n.
- Meot Duros, L. & Magné, C., 2009. Antioxidant activity and phenol content of *Crithmum maritimum* L. leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*.

- Meot-Duros, L., Le Floch, G. & Magné, C., 2008. Radical scavenging, antioxidant and antimicrobial activities of halophytic species.. *Journal of Ethnopharmacology*.
- Özcan, M., 2000. The use of yogurt as starter in rock samphire (*Crithmum maritimum* L.) fermentation. *Eur Food Res Technol*.
- Petropoulos, S., Karkanis, A., Martins, N. & Ferreira, I., 2018. Edible halophytes of the Mediterranean basin: Potential candidates for novel.. *Trends in Food Science & Technology*.
- Piterà, F., s.d. *Crithmum Maritimum* L. *l'erba di San Pietro: dalla fitoterapia dimenticata un nuovo gemmoderivato*. s.l.:s.n.
- Polatoğlu, K. et al., 2016. Insecticidal activity of edible *Crithmum maritimum* L. essential oil against Coleopteran and Lepidopteran insects.. *Industrial Crops and Products*.
- Renna M., G. M., 2012. The use of the sea fennel as a new spice-colorant in culinary preparations.. *International Journal of Gastronomy and Food Science*.
- Renna, M. & Gonnella, M., 2012. The use of the sea fennel as a new spice-colorant. *International Journal of Gastronomy and Food Science*.
- Renna, M. & Gonnella, M., 2012. The use of the sea fennel as a new spice-colorant in culinary preparations. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, Volume 1.
- Renna, M. et al., 2017. Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.): from underutilized crop to a new dried product for food use.. *Genet Resour Crop Evol*.
- Royal Botanic Garden, s.d. *Kew Database*. [Online]  
Available at: <https://data.kew.org/sid/sidsearch.html>
- Vingering, N. et al., 2010. Fatty acid composition of commercial vegetable oils from the French market analysed using a long highly polar column. *Fondamental*, Volume 17.
- Wolfgang, F., 1982. Vitamin C in Sea Fennel (*Crithmum maritimum*), an Edible Wild Plant. *Economic Botany*.