UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA DIPARTIMENTO DI AGRONOMIA, ANIMALI, ALIMENTI, RISORSE NATURALI E AMBIENTE

Corso di laurea magistrale in Scienze e Tecnologie agrarie. IL FRUMENTO MONOCOCCO (Triticum monococcum L. ssp. monococcum) IN SARDEGNA: CARATTERISTICHE AGRONOMICHE, REOLOGICHE, TECNOLOGICHE E POSSIBILITÀ DI SVILUPPO Relatore

Prof. ssa Margherita Lucchin

Correlatori

Dott. Norberto Pogna

Dott.ssa Laura Gazza Laureando Lorenzo Moi

2.3.2 Motivi della riscoperta del grano monococco

Negli ultimi decenni si sta assistendo ad una ripresa della coltivazione del grano monococco, e le ragioni alla base di guesto fenomeno sono molteplici

- 1. anzitutto, si tratta di una specie particolarmente adatta ad ambienti marginali, che può ben adattarsi ad un'agricoltura a basso impatto ambientale, poiché è particolarmente rustica (Perrino et al, 1982; 1984);
- 2. è una coltura che ha avuto un bassissimo miglioramento genetico, ma ha rese

- paragonabili a quelle dei frumenti prima del miglioramento genetico degli inizi del 900. (Vallega, 1992; Castagna et al, 1993; Codianni et al, 1996);
- presenta un profilo nutrizionale migliore rispetto al frumento, soprattutto dal punto di vista proteico, degli antiossidanti, dei polifenoli e dei microelementi (Vallega et al, 1979; Brandolini et al, 2008);
- 4. il sapore e il colore dei prodotti è risultato particolarmente gradito ai consumatori (Brandolini et al, 2008)
- 5. recenti studi dimostrano una ridotta tossicità del monococco verso le persone con intolleranze alimentari e addirittura un'azione preventiva verso la celiachia (Brandolini et al, 2008; Vincentini et al, 2007; Pogna et al, 2008; Gazza et al, 2009).



Figura 10: spighe di grano monococco appartenenti alla varietà "Hammurabi"

Prima di addentrarci nella relazione tra grano monococco e celiachia, occorre però esaminare gli usi tecnologici che può subire *Triticum monococcum* e in particolare quali sono nel dettaglio le proprietà nutritive di questo frumento, entrando così nello specifico delle caratteristiche indagate in questo cereale.

2.3.3 Caratteristiche del grano monococco

Il termine farro ha un significato etnobotanico italiano (Szabò & Hammer, 1996) che è stato applicato a tre specie di frumento vestite, o di "non facile svestitura". In particolare *T. monococcum* ssp *monococcum* è stato chiamato farro piccolo, *T. turgidum* ssp.

dicoccum è noto come farro medio o farro dicocco e T. aestivum ssp. spelta come farro grande o spelta (van Slageren & Payne, 2013). Questa nomenclatura appare tuttavia inadeguata per diversi motivi. Storicamente il termine latino farrum (genitivo del termine latino far, cioè grano) fa riferimento al grano coltivato dai Romani costituito prevalentemente dalla specie tetraploide T. turgidum ssp. dicoccum. Dal punto di vista botanico il termine Triticum farrum, ormai in disuso, è stato introdotto per identificare forme tetraploidi appartenenti al genere *T. turgidum*. D'altra parte, non appare opportuno dal punto di vista agronomico, tecnologico e commerciale indicare con lo stesso nome specie di grano molto diverse tra loro per composizione genetica, morfologia, fisiologia, caratteristiche agronomiche, proprietà organolettiche e nutrizionali. Anche la presenza di cariossidi vestite, che accomuna le tre forme di farro, è messa in discussione dal fatto che esiste un'ampia variabilità nel livello di spogliabilità delle diverse accessioni di T. monococcum, T. turgidum ssp. dicoccum e T. aestivum ssp. spelta. Ad esempio, come vedremo nel capitolo 2.3.3.3.3, una varietà di grano monococco oggetto di questo studio è di facile svestibilità, ed essendo interfertile col farro monococco, ricade all'interno della specie Triticum monococcum (Brandolini et al., 2008a; Brandolini et al., 2008b) Il grano monococco, come visto in precedenza, appartiene al genere Triticum, per cui la morfologia, il ciclo della coltura e le caratteristiche sono simili a quelle generali del frumento. Tuttavia le differenze sono marcate: il primo elemento apprezzabile è proprio la spiga. Mentre tutti gli altri frumenti, compresi farro e grano spelta sono polistici, cioè hanno 4 o 6 ranghi di cariossidi per spiga, il grano monococco è distico. Questo poiché al momento della fioritura i fiori laterali di ogni spighetta tendono ad abortire, mentre rimane fertile soltanto il fiore centrale, che è quello nel quale si forma la cariosside. La cariosside inoltre risulta vestita, cioè dopo la raccolta le glumelle rimangono aderenti al seme. Altra caratteristica peculiare del grano monococco è che tra tutti i cereali è quello con maggiore contenuto proteico, con valori medi del 15-18% come percentuale sulla sostanza secca, rispetto ai frumenti che si attestano al 12% circa (Blanco et al, 2007).

Il grano monococco presenta inoltre una elevata percentuale di carotenoidi e tocoli (Lachman et al, 2013; Hejmankova et al, 2010; Brandolini et al, 2008a) Le rese, in prove condotte dall'Unità di ricerca per la selezione dei cereali e la valorizzazione delle varietà vegetali del C.R.A., presso Sant'Angelo Lodigiano (CRA-SCV), erano comprese tra le 2,5 e le 3,5 t/ha contro le 6,5 -7,5 t/ha dei frumenti teneri usati come testimone (Blanco et al., 2007). Questi risultati produttivi possono sembrare deludenti, tuttavia nuovi studi su questa specie sono molto incoraggianti e potrebbero dare impulso alla coltivazione di questo cereale.

2.3.3.1 Caratteristiche agronomiche del grano monococco

Il grano monococco è stato oggetto di studi fin dalla metà degli anni 70 dello scorso secolo. Dalle prime prove sperimentali si è notato subito che le rese non erano assolutamente equiparabili a quelle dei frumenti tenero e duro, seppure, nella enorme variabilità di resa, fossero presenti linee che superavano i 3000kg/ha in seme nudo (Vallega, 1978). Condizioni sperimentali particolari hanno permesso di superare i 4500kg/ha sempre di seme nudo. La coltura, per questo motivo, ha stentato a decollare, sebbene nota per l'elevato contenuto proteico (Borghi et al, 1996; Vallega, 1992), oltre che per la sua adattabilità ad ambienti marginali (Castagna et al, 1993). Essendo un frumento, è una coltura facilmente meccanizzabile e che necessita di poco impiego di manodopera, ma allo stesso tempo risponde poco agli elevati input tipici delle varietà di frumento tenero e duro più recenti. Tutte le prove effettuate concordano nell'evidenziare che la coltura risponde poco anche ad alte dosi di azoto. Passando invece alla dose di seme ottimale, nelle prove svolte è stato evidenziato che, in confronto ad altri farri, le rese migliori si esprimono con densità di semina decisamente inferiori, addirittura elevate densità sono controproducenti (Troccoli et al, 2005, riportano che la resa massima di frumento monococco è stata raggiunta con densità di 100 semi/m², mentre quella di farro con 200 semi/m² nelle stesse condizioni sperimentali) o come la competitività del monococco nei confronti delle infestanti fosse migliore rispetto agli altri frumenti (Castagna et al, 1992). Tuttavia le accessioni di frumento monococco utilizzate nelle prove sperimentali risultano molto eterogenee, per cui occorre stabilizzare maggiormente i caratteri varietali.

2.3.3.2 Qualità tecnologiche, reologiche e nutrizionali del grano monococco

Quando si parla di grano monococco si fa riferimento ad un numero di accessioni che supera le migliaia, all'interno delle quali le caratteristiche tecnologiche sono le più disparate. Come già ricordato, il contenuto proteico del grano monococco può attestarsi al 20% contro un 12% di un grano duro coltivato nelle stesse condizioni. Le proteine dei frumenti, quindi anche del grano monococco, si suddividono, secondo la classificazione di Osborne (1924), in 4 classi di solubilità sequenziale: le albumine (solubili in acqua) e le

globuline (solubili in soluzioni saline), che insieme formano le proteine solubili, le glutenine (solubili in soluzioni acide o alcaline) e le gliadine (solubili in soluzioni alcoliche), che insieme formano le prolamine. Le proteine solubili sono contenute soprattutto nell'aleurone e nel germe, e comprendono molti enzimi che, all'atto della germinazione, permettono la degradazione dell'endosperma e delle proteine di riserva (le prolamine). La maggior parte di queste proteine vengono allontanate dalla farina al momento della macinazione o della setacciatura del macinato integrale mentre rimangono in toto nella farina integrale. Le prolamine sono le proteine di riserva, il cui nome deriva dal loro elevato contenuto in prolina e glutamina. Vengono anche chiamate proteine del glutine, poiché polimerizzano e formano un ammasso elastico chiamato glutine molto simile ad una gomma da masticare (chewing gum), quando si aggiunge acqua alla farina e si produce energia meccanica in presenza di ossigeno. Il glutine, come si vedrà più avanti, è una componente peculiare del frumento, quella che più ne influenza gli utilizzi tecnologici. Per comprendere bene le differenze del grano monococco rispetto agli altri frumenti, occorre analizzare proprio queste due classi di proteine non idrosolubili.

- Le glutenine rappresentano circa il 40% delle proteine dei frumenti, comprendono circa 50 molecole diverse, specifiche per ogni cultivar, quindi è possibile distinguere le varietà di frumento in base al tipo di glutenine che posseggono (Blanco et al, 2007)
- Le gliadine rappresentano sempre una percentuale prossima al 40% delle proteine totali dei frumenti (Blanco et al, 2007)

I primi studi sulla qualità panificatoria indicavano una qualità scadente delle farine per usi che andassero oltre la qualità biscottiera, seppure a queste conclusioni si fosse arrivati analizzando uno scarso numero di accessioni (D'Egidio et al, 1993). Successivamente, aumentando il numero di accessioni analizzate, è stato evidenziato che, accanto ad accessioni poco adatte agli utilizzi tecnologici tipici dei frumenti teneri e duri, vi sono altre accessioni adatte alla produzione di pane e pasta (Borghi et al, 1996). L'attitudine panificatoria o pastificatoria dei frumenti dipende, in misura preponderante, dalla quantità e dalla qualità delle proteine che essi contengono, in particolare dalle proteine del glutine (le prolamine). Un test chiave per valutare in tempi rapidi un gran numero di accessioni e individuare quelle migliori per l'attitudine alla panificazione e pastificazione è il volume di sedimentazione in SDS (Sodio DodecilSolfato) Alla fine si ha uno screening di tutte

quante le accessioni, e si individuano quelle più interessanti, che sono quelle con un volume maggiore. In genere valori superiori a 60 ml indicano la presenza di materiale adatto alla panificazione, su cui andranno poi eseguite analisi più approfondite e specifiche. Esistono diverse linee con volumi di sedimentazione superiori a questo valore, che costituiscono un ottimo materiale per il miglioramento genetico. Quindi, diverse linee di grano monococco hanno qualità tecnologiche paragonabili, o talvolta superiori a quelle dei frumenti tenero e duro. Gli studi dimostrano inoltre che il contenuto di microelementi come Zinco, Magnesio e Potassio, i quali sono fondamentali nella dieta e il cui apporto risulta molto spesso una criticità, è sensibilmente superiore in grano monococco rispetto al frumento tenero coltivato nelle stesse condizioni (Erba et al, 2011).

Rispetto ai frumenti moderni inoltre, il grano monococco presenta livelli decisamente molto alti di sostanze antiossidanti, come ad esempio i carotenoidi, e i tocoli.

I carotenoidi, che appartengono alla categoria delle xantofille idrossilate, sono responsabili della colorazione gialla delle farine e sono localizzati soprattutto nel germe e in piccola misura, nell'endosperma. Nel grano monococco il carotenoide più rappresentato è la luteina, con un contenuto che spesso supera il 90% dei carotenoidi totali. Le ricerche effettuate finora suggeriscono contenuti di luteina nel grano monococco dalle 4 alle 7 volte superiori rispetto ai grani coltivati nelle stesse condizioni.

I tocoli sono antiossidanti liposolubili che vengono suddivisi in tocoferoli $(\alpha,\beta,\gamma \ e \ \omega)$ e tocotrienoli $(\alpha,\beta,\gamma \ e \ \omega)$. Tutti i tocoli sono associati inoltre alla riduzione del rischio di cancro, di malattie cardiovascolari e all'abbassamento dei livelli di colesterolo LDL (Tiwari et al,2009). I tocotrienoli inoltre hanno anche capacità neuroprotettiva (Frank et al, 2012) Nel grano monococco i livelli di tocoli totali sono significativamente più elevati rispetto ai frumenti e addirittura al farro dicocco coltivati nelle stesse condizioni. Gli alfa tocotrienoli contenuti nel monococco sono cinque volte superiori rispetto a quelli del frumento di controllo (Lachman et al, 2013)

Un'ultima peculiarità, importante per la comprensione di questo lavoro risiede nella sofficità delle cariossidi di grano monococco, maggiore rispetto alle cariossidi di grano tenero e duro. In questa caratteristica sono coinvolti l'amido e le puroindoline. Le puroindoline sono proteine ricche di triptofano e cisteina, appartenenti alla famiglia 2S delle proteine del seme, pesanti circa 13 KDa, che si trovano associate all'amido. Il grano monococco è particolarmente ricco di questa classe proteica (Taddei et al, 2009). L'amido dei frumenti invece è formato da granuli di tipo A (diametro 10 µm) e di tipo B e

C (diametro 10 µm). Si è visto che i granuli di amido di grano monococco sono più numerosi e più piccoli rispetto a quelli di frumento tenero. Inoltre le puroindoline si dispongono sulla superficie esterna dei granuli di amido, fungendo, durante la molitura, da linee di frattura. Ne consegue quindi che i granuli di amido di grano monococco vengono danneggiati mediamente meno dalla molitura rispetto a quelli di frumento tenero, caratteristica che influenza molte proprietà reologiche e tecnologiche di monococco, tra le quali l'assorbimento idrico.

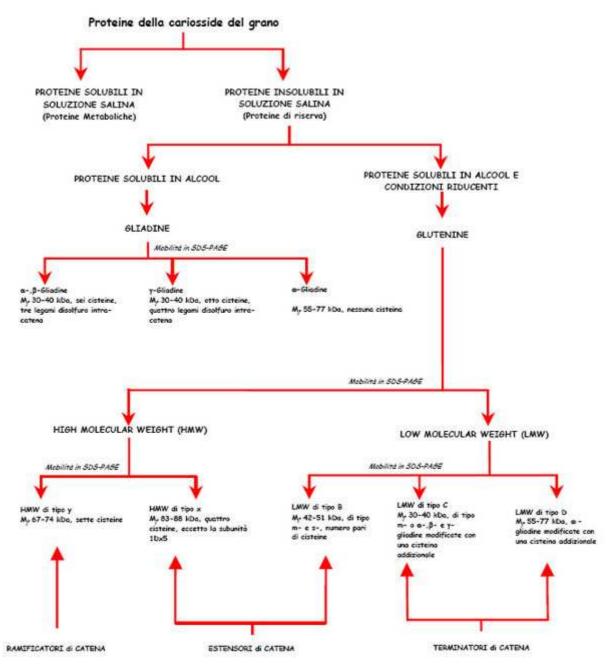


Figura 11: le proteine di riserva dei cereali (Fonte: CRA-SCV)

2.3.3.3 Il miglioramento genetico del grano monococco

Il grano monococco è una specie che presenta una variabilità genetica enorme. In Italia, soltanto presso l'unità di ricerca per la Selezione e la Valorizzazione delle Varietà vegetali (SCV) del CRA ne sono conservate oltre 1000 accessioni. Altre importanti collezioni sono presenti presso l'Istituto di Genetica Vegetale del CNR a Bari e presso il Vavilov Institut a S.Pietroburgo in Russia.

In molti casi le accessioni sono "popolazioni", nel senso che la variabilità all'interno di esse è percepibile anche dai caratteri morfologici.

Sono queste le caratteristiche tipiche di una specie che ha avuto uno scarso interesse per il miglioramento genetico.

La coltivazione del grano monococco in Italia inizia con lo scopo di reperire geni di resistenza a malattie da utilizzare per migliorare i caratteri dei frumenti tenero e duro (Sharma et al, 1981; Vallega, 1979). Infatti si è notata la resistenza di questo frumento a patogeni, tra cui ruggine bruna, ruggine nera, ruggine gialla e oidio (Vallega, 1977) a cui i frumenti coltivati erano generalmente suscettibili, per cui, oltre a studiare i geni di resistenza alle malattie e tentare di trasferirli ai frumenti, se ne è incoraggiata la coltivazione nelle aree marginali (Castagna et al, 1992). Nonostante quindi rese nettamente inferiori rispetto ai frumenti tenero e duro, si sono evidenziati caratteri di interesse per il miglioramento genetico dei frumenti. In alcune aree, tuttavia, la coltivazione del grano monococco ha preso piede, spesso di pari passo con la disponibilità di varietà migliorate. La variabilità della specie monococcum in termini di precocità di maturazione, resistenza al freddo, sofficità delle glumette, numero di cariossidi per spighetta, qualità panificatoria è eccezionale. In questo studio sono state prese in esame tre varietà: Monlis, Hammurabi e ID 331.

2.3.3.3.1 Monlis

Monlis è l'unica delle varietà di monococco ad essere iscritta al Registro Nazionale delle Varietà (D.M.09/11/2006). È a cariosside vestita ed è caratterizzata da buone rese e da ottime qualità panificatorie. Inoltre è priva di omega gliadine, come dimostrato dal frazionamento elettroforetico A-PAGE delle gliadine.

2.3.3.3.2 ID331

ID331 è una varietà di grano monococco di prossima iscrizione al registro nazionale delle varietà. È a cariosside vestita, agronomicamente simile a Monlis, ma leggermente inferiore tecnologicamente. Possiede un'unica omega gliadina, che è possibile rilevare tramite A-PAGE delle gliadine.

2.3.3.3.3 Hammurabi

Hammurabi, come ID331, è una varietà di prossima iscrizione al registro nazionale delle varietà. Il nome utilizzato in precedenza per questa linea era Stendhal. Le grandissime particolarità di questa varietà sono che presenta cariossidi nude, che vengono svestite all'80% con mietitrebbia regolata per ridurre le perdite a meno del 5% (dati CRA-QCE), le cariossidi nude pesano mediamente come quelle di ID331 e Monlis vestite, quindi, la resa in seme nudo è circa il 30% superiore rispetto alle altre 2 varietà vestite, risulta precoce quanto l'orzo confrontato con ID331 e Monlis che vengono raccolti assieme al frumento. Hammurabi è una selezione della linea SAL 98-38-8-2-1, ottenuta dal dott. A. Brandolini presso il CRA-SCV di S. Angelo Lodigiano. A sua volta SAL 98-38-8-2-1 deriva dall'incrocio delle linee ID3 x Mono95-2, di cui l'una dà il carattere di precocità, l'altra deriva direttamente dal *T. monococcum sinskaje*, accessione di monococco caratterizzata dalla nudità delle cariossidi. Hammurabi è caratterizzato dalla presenza, di 12-13 omega gliadine, per cui può essere facilmente distinto da altre varietà tramite A-PAGE.

2.3.4 Il rapporto tra grano monococco e celiachia

Un'importante caratteristica del grano monococco, quella che può suscitare particolare interesse in particolari aree geografiche è stata messa in luce dagli studi effettuati in campo medico, in particolare, il rapporto tra grano monococco e celiachia.

La celiachia è una condizione sistemica autoimmune, che colpisce individui geneticamente predisposti in seguito all'ingestione di alimenti contenenti farine di alcuni cereali microtermi, tra cui frumento, orzo, segale e triticale. La celiachia si può manifestare con quadri clinici silenti, con sintomi deboli fino a gravi malassorbimenti nutrizionali capaci di mettere a rischio la vita del paziente (Volta & Ubaldi, 2009). Responsabili della risposta immunitaria sono alcuni epitopi derivanti dalla incompleta digestione delle prolamine di frumento.

Studi effettuati su cellule di mieloma umano K562S hanno dimostrato che, messe a contatto con proteine estratte da grano, agglutinano (Auricchio et al, 1982) Tuttavia, non si riusciva a cogliere ancora il legame tra questa reazione e la celiachia. Tutto diventa più chiaro nel 1995, quando emerge che le prolamine di grano monococco, digerite con un pool enzimatico che simula la digestione gastrica, non provocano agglutinazione delle cellule K562S anche a concentrazioni molto elevate (oltre 4000mg/l)(De Vincenzi et al, 1995). Si è quindi ipotizzato che potessero esserci dei collegamenti tra agglutinazione