

Nuovi approcci nella difesa delle spaccature dei frutti nel ciliegio

Moritz Knoche*, Andreas Winkler

Istituto per i Sistemi di Produzione Ortofrutticola, Leibniz-University, Hannover, Germania

The mechanism of rain cracking of sweet cherry fruit

Abstract. Sweet cherry (*Prunus avium* L.) cracking is a severe limitation in production worldwide. It is thought to be caused by excessive water uptake and a subsequent increase in turgor. When a critical threshold is exceeded ('critical turgor') the fruit is believed to crack. Experimental evidence supporting this wide spread concept is lacking. Instead, published data question the critical turgor hypothesis and an alternative explanation must be thought of. This mini review summarizes experimental research published in the last two decades that resulted in an alternative explanation of sweet cherry fruit cracking, the so called Zipper hypothesis. According to this hypothesis, cracking is the result of a series of events that ultimately propagate a crack through skin and flesh and 'unzip' the fruit. It is based on the following sequence of events: Tension (stress) develops in the skin during stage III growth and particularly in the cuticle due to a downregulation of genes involved in cutin and wax synthesis. Stress in the skin results in strain and microcracks in the cuticle. Furthermore, surface wetness on and high humidity above the strained cuticle aggravates microcracking. Microcracking impairs the cuticle's barrier function and focuses water uptake in a particular region of the fruit surface. Water bypasses the cuticle, penetrates into the fruit and moves to sites where water potential is most negative. These are the large thin-walled parenchyma cells of the outer mesocarp that have a more negative osmotic potential than the small thick walled epidermal and hypodermal cells. Water uptake causes individual cells to burst. As a consequence, cell content leaks into the apoplast. Major constituents of sweet cherry such as glucose, fructose and malic acid now occur in the apoplast at comparable concentrations as in the symplast. The consequences are several fold: First, cell turgor decreases and is entirely lost when epidermal cells plasmolyse in the juice from the flesh. Second, malic acid extracts cell wall bound Ca, weakens cell walls and increases the permeability of plasma membranes causing a chain reaction of leakage of adjacent cells. The leakage of cells and

the loss of the (low) turgor results in swelling of cell walls, in particular of the pectin middle lamella. Swollen cell walls have decreased stiffness, fracture tension and cell adhesion resulting in the separation of neighbouring cells along their cell walls. The tension generated by the strain of the skin is now sufficient to cause the cells to separate along their swollen walls and to rupture the skin. This process continues at the crack tip where the stress concentrates and causes the crack to elongate. The skin 'unzips' in the same way like a 'zipper' or a 'ladder' that propagates in a piece of knitted fabric.

Keywords: cracking, fruit growth, cherry, *Prunus avium*, fruit water relations

Introduzione

Il fenomeno delle spaccature nei frutti di ciliegio dolce rappresenta un problema importante in tutte le aree di produzione, specialmente dove le precipitazioni si concentrano nella stagione di maturazione e raccolta delle ciliegie. Inoltre, l'esposizione del ciliegio dolce alle piogge compromette la qualità del frutto perfino prima che la spaccatura macroscopica del frutto sia osservata (Borve *et al.*, 2000; Peschel e Knoche, 2005).

Una soglia del 25% di frutti spaccati in un albero è considerata sufficiente per rendere la raccolta non più economicamente conveniente (Looney, 1985). Perfino percentuali più basse portano a frutti con livelli di qualità compromessi e marciumi.

Una spiegazione usata di frequente per spiegare il fenomeno delle spaccature è l'ipotesi del "turgore critico", originariamente proposta per la vite, ma in uso anche per il ciliegio dolce (Considine e Kriedemann, 1972). Sulla base di questa ipotesi, le spaccature dovrebbero essere causate dall'assorbimento di acqua sia attraverso la superficie del frutto che da quello proveniente dal sistema vascolare. Di conseguenza, si pensa che la polpa della ciliegia generi una pressione tale da sottoporre la buccia a forze di tensione, causando stress e sforzo dell'epidermide. La quantità di stress (s) è proporzionale al raggio del frutto (r) ed

* moritz.knoche@obst.uni-hannover.de

alla pressione sull'intera base del frutto (p) ed è inversamente proporzionale allo spessore della buccia (t); (Considine e Brown, 1981).

L'assorbimento dell'acqua durante un fenomeno piovoso potrebbe portare ad un aumento del volume della polpa del frutto e della pressione che stressa e sforza la buccia. Quando la "tensione di frattura" supera la pressione di turgore critico, la buccia si spacca. Questa ipotesi ha dominato la letteratura degli ultimi 50 anni. Ci si riferisce di solito all'ipotesi del "turgore critico" (Considine e Kriedemann, 1972; Andersen e Richardson, 1982; Measham *et al.*, 2009), ma essa potrebbe essere ugualmente chiamata "ipotesi di tensione critica".

L'ipotesi fornisce una spiegazione facilmente comprensibile ed è inoltre ampiamente accettata in quanto si tratta della spiegazione che si trova nei libri di testo universitari. Nell'ultimo decennio, però, l'evidenza sperimentale accumulata ha messo in dubbio la validità dell'ipotesi del turgore critico ed ha portato ad una spiegazione alternativa, la così detta "ipotesi della cerniera lampo" (Winkler *et al.*, 2016). Basandosi su questa ipotesi, le rotture della buccia avvengono in maniera simile ad una cerniera che si apre e si propaga come accade in un pezzo di tessuto lavorato a maglia.

In questo articolo vengono riassunte le evidenze sperimentali che hanno portato all'ipotesi della "cerniera lampo". Per dettagli esaustivi di questa revisione il lettore può fare riferimento a Balbontin *et al.* (2013) ed a Knoche e Winkler (2017).

La necessità di una nuova ipotesi - I limiti del concetto del turgore critico

Secondo l'ipotesi del "turgore critico", la spaccatura si manifesta quando il turgore del frutto supera una soglia critica in seguito ad un assorbimento osmotico di acqua. Sfortunatamente, manca l'evidenza sperimentale che supporti questo concetto intuitivo.

Primo, il turgore nelle ciliegie mature è costantemente basso e non è influenzato dall'assorbimento dell'acqua. Infatti, in un esperimento in cui frutti di ciliegio sono stati incubati in acqua deionizzata fino a indurre lo spacco, non è stato rilevato alcun aumento di turgore (Knoche *et al.*, 2014). Secondo, l'incisione della buccia turgida non causa alcun effetto, indicando cioè che una ciliegia non è un pallone gonfio d'aria in cui una buccia tesa trattiene la polpa sotto pressione. Terzo, la spaccatura del frutto può essere indotta sperimentalmente in presenza di una netta perdita di acqua. Infatti, ponendo un frutto in acqua le spaccature vengono indotte comunque sebbene l'intero frutto abbia

perso massa attraverso la traspirazione (Winkler *et al.*, 2016). Quarto, la quantità di acqua necessaria per indurre lo spacco è diversa a seconda che il frutto sia stato incubato in acqua (49 μl per 50% di spaccature), inondato attraverso l'iniezione di acqua con una siringa (1840 μl ; Winkler *et al.*, 2016) o irrigato con irrigazione sovrachioma in campo (Winkler, dati non pubblicati). Quinto, le prove svolte per calcolare il turgore critico a partire dal potenziale osmotico (fino a - 4 MPa; Knoche *et al.*, 2014) e dal potenziale idrico prima dell'alba (- 0.1 MPa) superavano fino a 20 volte la pressione di uno pneumatico di un'auto (che è circa 0.2 MPa). Una ciliegia con una pressione di turgore a questi livelli avrebbe una consistenza simile all'acciaio. Sesto, la buccia asportata dal frutto durante i test biassiali elastici mostra una maggiore facilità di spaccatura (da 4.1 a 10.9 %) rispetto alla frutta indotta a spaccarsi attraverso l'incubazione in acqua deionizzata (0.08%) (Brüggenwirth e Knoche, 2016a).

Questi argomenti mettono in dubbio l'ipotesi del turgore critico. E' quindi necessario formulare ipotesi alternative.

Informazioni generali

Nelle sezioni successive, vengono riportate le scoperte chiave descritte dalla letteratura e forniscono gli elementi essenziali a supportare l'ipotesi della cerniera a lampo (Winkler *et al.*, 2016).

L'epidermide della ciliegia dolce

La buccia di una drupa di ciliegio è un materiale composito che comprende una membrana cuticolare polimerica (MC) e gli strati cellulari dell'epidermide e dell'ipodermide.

La membrana cuticolare è formata da un poliestere lipofilo costituito da una matrice di cutina (0.95 g m^{-2} equiv. a 74.2%), cera (0.33 g m^{-2} equiv. a 25.8%), e polisaccaridi in quantità sconosciuta. Paragonata a frutti di altre specie, la membrana cuticolare delle ciliegie è molto sottile (la media di 31 cultivars è di 1.07 μm , con un intervallo tra 0.71 e 1.32 μm). La MC svolge funzioni importanti (Peschel e Knoche, 2012). E' una barriera primaria al trasporto di acqua (assorbimento e traspirazione), alla penetrazione di gas (CO_2 , O_2) e contro le infezioni da parte di agenti patogeni che causano marciumi. A causa del suo limitato spessore, non gioca nessun ruolo nelle proprietà meccaniche dell'epidermide.

L'epidermide delle ciliegie è formata da un singolo strato di piccole cellule collenchimatiche con spesse pareti cellulari. Il rapporto lunghezza-ampiezza delle cellule varia da isodiametrico ad allungato tan-

genzialmente, mano a mano che il frutto si avvicina alla maturità. La superficie della ciliegia porta un numero di stomi specifico per ogni cultivar, ma non ci sono tricomi o peli. Gli stomi sono fissati in uno stato parzialmente aperto e non sono funzionali a maturità (Peschel *et al.*, 2003).

L'ipodermide è formata da numerosi strati di cellule collenchimatiche che gradualmente aumentano in dimensioni quanto più la distanza dalla superficie aumenta. Le cellule dell'epidermide e dell'ipodermide formano la struttura portante della buccia del ciliegio e quindi sono responsabili delle proprietà meccaniche dell'epidermide (Brüggenwirth *et al.*, 2014).

E' importante notare come la buccia delle ciliegie mature abbia un potenziale osmotico negativo, marcatamente inferiore a quello della polpa dello stesso frutto. Infatti, esponendo la buccia del frutto al succo del frutto stesso è stata indotta plasmolisi (Grimm e Knoche, 2015). Poichè il turgore non è significativamente elevato (Knoche *et al.*, 2014), la differenza tra i potenziali osmotici rappresenta la reale differenza nel potenziale idrico tra i due tessuti. Mediamente, tra le diverse cultivar questa differenza è pari a 1.1 MPa, anche se ad oggi le basi di questo gradiente interno non sono state ancora comprese.

Stress e sforzo della cuticola

La crescita delle ciliegie segue il modello a doppia sigmoide tipico delle drupacee, caratterizzato da tre stadi. Durante lo stadio I, la divisione cellulare del pericarpo partecipa solo in piccola parte all'aumento della massa, che varia da 1.5 a 2.5 g per frutto. Durante lo stadio II, la massa rimane essenzialmente costante, l'endocarpo lignifica e l'embrione si sviluppa. Lo stadio III rappresenta la fase finale di rapida crescita e consiste nella distensione delle cellule della polpa. Generalmente, la suscettibilità alle spaccature aumenta durante questo stadio dove la crescita del frutto è più rapida e l'area di superficie del frutto aumenta velocemente con dei picchi di $1 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$.

Durante lo stadio III, la buccia sviluppa un considerevole stato di sforzo, come indicato dalle seguenti osservazioni: (i) tagliando il frutto, ne risultano diverse fessurazioni (Grimm *et al.*, 2012); (ii) i segmenti di esocarpo incisi con un taglio tangenziale sotto la superficie diminuiscono rapidamente la loro area (Grimm *et al.*, 2012); (iii) la superficie del frutto sviluppa un'apparenza maculata a causa dei danni causati dalla tensione dell'epidermide, in maniera analoga alle smagliature che si manifestano sulla pelle umana nei soggetti in maternità e con obesità (Grimm *et al.*, 2013); (iv) nella cuticola si sviluppano micro-fessurazioni orientate perpendicolarmente alla dimensione

maggiore delle cellule dell'epidermide sottostanti, suggerendo una relazione causa-effetto (Peschel e Knoche, 2005); (v) il rapporto lunghezza-larghezza delle cellule dell'epidermide e dell'ipodermide aumenta e la forma delle cellule cambia tra lo stadio II e la maturità, il che è indicativo della tensione.

Esiste inoltre una considerevole tensione elastica nella membrana cuticolare. Questa aumenta da circa zero, alla fine dello stadio II, all'80% in corrispondenza della maturazione. Evidenze recenti (a seguito dell'estrazione di cere) indicano che la tensione elastica totale può arrivare al 150% (Lai *et al.*, 2016). Nello stesso stadio di sviluppo, la tensione elastica della buccia nella sua totalità (cuticola, epidermide e ipodermide) è solo il 40% (Grimm *et al.*, 2012). Tuttavia, è interessante notare che la cuticola di una ciliegia non può sostenere una grande tensione senza il supporto degli strati cellulari sottostanti (Peschel and Knoche, 2005).

La tensione della cuticola deriva da una cessione nella deposizione di cuticola e cere durante lo stadio II ed avviene dalle 2 alle 3 settimane dopo la piena fioritura. Da lì in poi, la massa di cuticola e cera rimane immutata e la crescita del frutto distribuisce una quantità costante di cuticola sulla superficie in crescita (Knoche *et al.*, 2004; Peschel e Knoche, 2005; Peschel *et al.*, 2007). Questo processo è simile in tutte le 32 cultivar studiate (Peschel e Knoche, 2012). La cessazione della deposizione della cuticola è dovuta ad una sottoregolazione dei geni coinvolti nella sintesi del monomero della cutina e della cera (Alkio *et al.*, 2012, 2014).

Formazione di microfessure

Le fessurazioni microscopiche sono rotture limitate alla cuticola e non si estendono negli strati dell'epidermide e dell'ipodermide. Le micro-spaccature derivano dallo stress e dalle tensioni sulla buccia del frutto e sono orientate perpendicolarmente alla direzione di maggiore tensione.

Nei frutti cresciuti in pieno campo le rotture si formano più frequentemente nelle regioni dei fasci vascolari e nell'area peduncolare (Peschel e Knoche, 2005). La formazione delle microfessure è aggravata da elevata umidità dell'aria e della superficie del frutto (Knoche e Peschel, 2006). Le microfessure compromettono la funzionalità della cuticola come barriera, permettendo un rapido assorbimento di acqua verso l'interno ed una più elevata traspirazione verso l'esterno del frutto. Le microfessure inoltre influiscono sull'attacco di patogeni alla base di marciumi, e sono causa dell'alta suscettibilità delle ciliegie dolci a questi problemi (Borve *et al.*, 2000).

Vie e meccanismi dell'assorbimento dell'acqua

L'assorbimento dell'acqua può avvenire attraverso il sistema vascolare del frutto e del picciolo o attraverso la superficie del frutto.

Le informazioni sui flussi vascolari del ciliegio dolce sono state derivate grazie ad una tecnica basata su impulsi di calore (Measham *et al.*, 2014) e su sensori (trasduttori lineari) capaci di quantificare le variazioni diametrali del frutto in campo, in maniera non distruttiva (Brüggenwirth *et al.*, 2016). Manipolando il peduncolo del frutto con calore o semplicemente con il distacco del frutto è possibile separare i flussi in xilema, floema e traspirazione del frutto (per dettagli vedere la procedura sviluppata da Lang, 1990).

I dati mostrano come nel corso dello stadio III di sviluppo, il flusso in entrata nel frutto attraverso lo xilema diminuisce da un'iniziale 85% (equivalente a $11.6 \mu\text{l h}^{-1}$) della linfa totale in entrata ($12.4 \mu\text{l h}^{-1}$) a circa zero a maturità ($0.6 \mu\text{l h}^{-1}$ su un totale di $11.9 \mu\text{l h}^{-1}$).

Nello stesso intervallo di tempo, il flusso floematico aumenta da 0.8 a $11.3 \mu\text{l h}^{-1}$ a maturazione (Brüggenwirth *et al.*, 2016). Per cui si può concludere che un frutto maturo non sia sostenuto da flusso xilematico. Inoltre, le immagini da risonanza magnetica e gli studi basati sulla traslocazione di colorante hanno rivelato una perdita progressiva della funzionalità dello xilema iniziando dalla regione stilare e proseguendo verso il fusto. La ragione della perdita di funzionalità è una rottura fisica dei fasci vascolari (Grimm *et al.*, 2017).

Il trasferimento di acqua attraverso la superficie del frutto avviene lungo diverse vie parallele. Queste sono: la cuticola, la giunzione tra peduncolo e frutto e le microfessure. Riguardo gli stomi, non ci sono evidenze circa il ruolo che giocano nel trasferimento dell'acqua, a meno che non sia usato un surfatante di silice o una pressione idrostatica (Peschel *et al.*, 2003; Peschel e Knoche, 2012). Anche il periderma della cicatrice stilare non ha ruolo nel trasporto di acqua (Beyer *et al.*, 2002).

La cuticola rappresenta la barriera primaria al trasporto di acqua. Abradendo la cuticola aumenta l'assorbimento di acqua di 33 volte e la traspirazione di 4 volte (Knoche e Winkler, 2017). L'assorbimento di acqua attraverso la cuticola avviene lungo un continuo di domini polari nella matrice di cutina, che risulta dall'idratazione e dall'orientamento dei gruppi funzionali polari. Questi domini polari sono pori acquosi o vie polari (Schönherr, 2006; Weichert e Knoche, 2006). Essi sono responsabili dell'alta permeabilità della cuticola del ciliegio nell'assorbimento osmotico di acqua.

La giuntura picciolo-frutto rappresenta un sito di assorbimento preferenziale di acqua verso il frutto (Beyer *et al.*, 2002) che incide fino al 70% dell'assorbimento totale di un frutto maturo sommerso in acqua (Beyer *et al.*, 2002). Dato che l'acqua si raccoglie nella cavità del peduncolo durante un evento piovoso, la giuntura piccolo-frutto rimane umida per un lungo periodo di tempo e questo porta ad un assorbimento prolungato di acqua dopo la precipitazione.

Le microfessure danneggiano la funzione di barriera della cuticola e quindi aumentano la permeabilità della buccia del frutto, in particolare l'assorbimento di acqua, e in misura minore, anche la traspirazione (Knoche e Peschel, 2006). E' stato suggerito che le microfessure si propaghino a formare microfessure (Glenn e Poovaiah, 1989).

Proprietà meccaniche dell'epidermide

Le proprietà meccaniche del frutto sono state oggetto di interesse in un certo numero di articoli recentemente pubblicati (Brüggenwirth *et al.*, 2014; Brüggenwirth e Knoche, 2016a-c, 2017). Gli autori hanno usato un test elastico biassiale dove un pezzo di buccia incisa è stata pressurizzata dalla superficie interiore. La pressione e l'entità di riempimento sono state monitorate e sono state quantificate le tensioni di frattura, le pressioni di frattura ed i moduli di elasticità. Usando questo test, è stato stabilito che: l'epidermide e l'ipodermide rappresentano la struttura portante dell'epidermide (Brüggenwirth *et al.*, 2014). Le pressioni di frattura della buccia sono dello stesso ordine di grandezza del turgore riportato per le cellule del mesocarpo esteriore e sull'intero frutto (Knoche *et al.*, 2014; Brüggenwirth e Knoche, 2016b). Comunque, le tensioni di frattura di solito eccedono quelle stimate di numerosi ordini di grandezza (Brüggenwirth *et al.*, 2014; Brüggenwirth e Knoche, 2016a). Solo dove i tassi di tensione sono comparabili a quelli che si registrano durante l'assorbimento di acqua, le tensioni di frattura della buccia incisa sono diminuiti marcatamente, così che i valori fossero approssimati a quelli calcolati per i frutti interi (Brüggenwirth e Knoche, 2016a). La cultivar meno suscettibile alle fessurazioni è "Regina", che ha una buccia più rigida ed una pressione maggiore alla rottura rispetto alla cv. "Burlat". Le differenze tra "Regina" e "Burlat" sono da attribuire in gran parte alle differenze nelle proprietà chimiche e fisiche delle pareti cellulari dell'epidermide e dell'ipodermide (Brüggenwirth e Knoche, 2016c).

Le fratture microscopiche della superficie hanno rivelato che sia le spaccature naturali sia quelle derivanti da incisione nell'ambito del test elastico biassiale

le (a bassi tassi di tensione) sono dovute dalla separazione delle cellule adiacenti lungo la lamella mediana. Inoltre, si è visto come la separazione delle cellule era stata preceduta da una perdita in vitalità delle stesse e dal contemporaneo ingrossamento delle pareti cellulari. Variando l'ingrossamento delle pareti cellulari nella buccia incisa nel test elastico biassiale si è stabilita una relazione lineare negativa tra la pressione nel punto di frattura e l'entità di ingrossamento della parete cellulare. Quindi, le pareti cellulari ingrossate hanno offerto un po' di resistenza alla separazione delle cellule (Brüggenwirth e Knoche, 2017).

L'ipotesi della cerniera lampo

Alla luce della mancanza di supporto sperimentale e delle predizioni non realistiche del concetto del "turgore critico", è stata sviluppata una nuova ipotesi per giustificare le spaccature che avvengono nel frutto di ciliegio. Questa ipotesi è descritta come l'ipotesi della "cerniera lampo" ed è in accordo con tutte le scoperte sperimentali aggiornate (fig. 1).

L'ipotesi della cerniera lampo comprende una serie di eventi che, nel loro insieme, portano alla propagazione di una spaccatura attraverso la buccia e la polpa e, di conseguenza, ad un frutto spaccato. Il fenomeno, si basa sulla seguente sequenza di eventi:

la tensione (stress) si sviluppa nella buccia durante lo stadio III di crescita, in particolare a livello della cuticola, a causa di una sotto-regolazione dei geni coinvolti nella sintesi della cutina e delle cere (Alkio *et al.*, 2012, 2014). Lo stress sfocia in tensioni e microfessurazioni della cuticola (Knoche *et al.*, 2004; Peschel e Knoche, 2005). Inoltre, l'umidità della superficie e della cuticola tesa aggrava le microspaccature (Knoche e Peschel, 2006), le quali danneggiano la funzionalità della barriera della cuticola e concentrano l'assorbimento dell'acqua in una regione della superficie del frutto. L'acqua a questo punto attraversa la cuticola, penetra dentro il frutto e si muove fino ai punti con potenziale idrico più negativo, ossia le grandi cellule parenchimatice con parete sottile del mesocarpo esterno che hanno un potenziale osmotico più negativo delle cellule dell'epidermide e dell'ipodermide, dotate di parete cellulare più spessa (Grimm e Knoche, 2015). L'assorbimento di acqua causa la rottura delle singole cellule. Di conseguenza, il contenuto cellulare si disperde nell'apoplasto. I costituenti maggiori del ciliegio dolce come glucosio, fruttosio e acido malico fuoriescono nell'apoplasto a concentrazioni comparabili a quelle nel simplasto determinando molteplici conseguenze: primo, il turgore cellulare diminuisce e viene completamente annullato quando le cellule dell'epidermide sono pla-

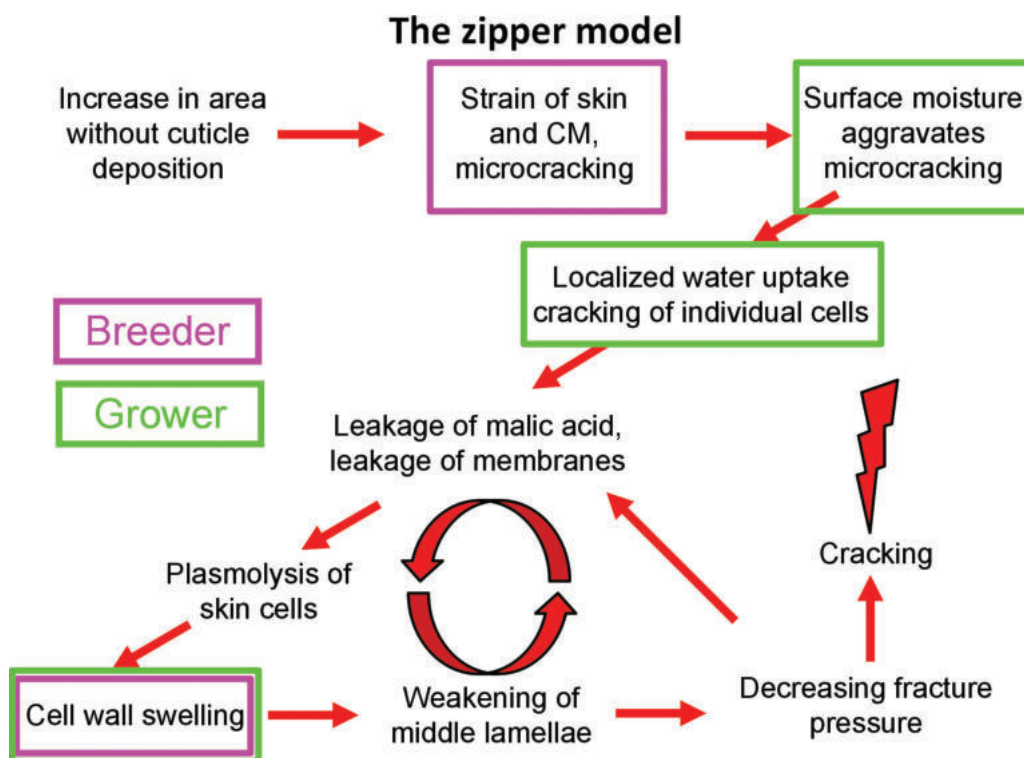


Fig. 1. Schizzo del modello cerniera lampo che spiega i processi coinvolti nel meccanismo delle spaccature dei frutti di ciliegio. I processi nel riquadro verde sono quelli che potrebbero essere manipolati dai frutticoltori, quelli in rosa dai genetisti. Per dettagli si rimanda al testo.
Fig. 1 - Sketch of zipper model that explains processes involved in rain cracking of sweet cherry fruit. Processes in green boxes are those that may be manipulated by growers, those in pink boxes by breeders. For details see text.

smolizzate dal succo dalla polpa. Secondo, l'acido malico estrae il calcio dalla parete cellulare, le indebolisce ed aumenta la permeabilità delle membrane plasmatiche causando una reazione a catena di svuotamento delle cellule adiacenti (Winkler *et al.*, 2015, 2016). La fuoriuscita del contenuto cellulare e la diminuzione del loro (già basso) turgore causa un ingrossamento delle pareti cellulari, in particolare delle pectine della lamella mediana. Le pareti cellulari ingrossate diminuiscono la rigidità, la tensione alla frattura e l'adesione cellulare causando la separazione delle cellule adiacenti lungo le loro pareti cellulari (Brüggenwirth e Knoche, 2017). La tensione generata dallo sforzo della buccia è ora sufficiente per causare la separazione delle cellule lungo le loro pareti ingrossate e rompere la buccia. Questo processo continua all'estremità della fessurazione dove lo stress si concentra e causa l'allargamento della spaccatura, allo stesso modo in cui lo fa una cerniera o una smagliatura, che si propaga in un pezzo di tessuto lavorato a maglia.

Possibili contromisure

Il modello “cerniera lampo” permette di stimare le possibili contromisure per la riduzione delle spaccature. Queste includono le seguenti. Primo, esistono differenze nella suscettibilità alle spaccature tra le diverse cultivar. Queste devono essere prese in considerazione nella fase di selezione della cultivar per la produzione in pieno campo senza le protezioni anti-pioggia, in regioni dove le precipitazioni estive sono normali, anche se, in base alla nostra esperienza, i frutti di tutte le cultivar tendono a spaccarsi. Secondo, le protezioni anti-pioggia sono un mezzo efficace, anche se costoso, per prevenire/ridurre l'umidità della superficie del frutto. Questo elimina l'assorbimento osmotico di acqua, riduce le micro-spaccature e riduce marcatamente il fenomeno delle spaccature del frutto. Terzo, la fornitura di Ca al frutto è un fattore importante nella formazione delle pareti cellulari che a sua volta influenza le proprietà meccaniche della buccia del frutto. L'aumento delle concentrazioni di Ca richiede applicazioni frequenti con alti dosaggi di sali a base di Ca durante lo sviluppo del frutto. Quarto, i tentativi di ridurre l'energia dell'assorbimento osmotico dell'acqua con l'applicazione di soluzioni contenenti osmoliti è improbabile che abbia successo. Questi osmoliti devono essere idrosolubili per le applicazioni nebulizzate, ma allo stesso tempo insolubili all'acqua per fornire resistenza alla pioggia. Queste due condizioni si escludono a vicenda. Inoltre, la concentrazione di osmoliti deve essere alta per

bilanciare un potenziale idrico del frutto che può raggiungere i -4 MPa. Infine, dovrebbe essere segnalato che la “panacea” che ridurrà le spaccature dei frutti non è sul mercato, al momento. Le sostanze ed i film autotraspiranti, a meno che non vengano applicati selettivamente solo sui frutti, bloccheranno gli scambi gassosi della foglia compromettendo quindi la fotosintesi e la respirazione. Inoltre, la resistenza di questi film alla penetrazione dell'acqua di solito non è sufficiente. Perciò, strati spessi di depositi sono necessari sulla superficie del frutto che dal punto di vista del consumatore, sono inaccettabili. In aggiunta, la copertura è incompleta e la formazione del film richiede un modo d'azione per contatto.

Nel lungo periodo, il miglioramento genetico dovrebbe valorizzare la sincronizzazione di depositi di cutina e l'espansione della superficie durante lo sviluppo. Inoltre, variazioni genetiche nelle caratteristiche della parete cellulare, finalizzate a migliorare l'adesione cellula-cellula, potrebbero contribuire a ridurre il fenomeno delle spaccature. Ulteriori analisi sono necessarie su quest'ultimo aspetto per identificare i fattori limitanti.

Conclusioni

L'ipotesi della cerniera lampo offre una spiegazione plausibile per la spaccatura del frutto, coerente con tutte le scoperte sperimentali attuali. L'idea di vedere una ciliegia come un pallone contenente una soluzione zuccherina circondata da una buccia tesa è una semplificazione eccessiva e non realistica. Al contrario, le spaccature devono essere viste come un fenomeno localizzato. Questa ipotesi spiega anche il fatto che le relazioni tra assorbimento di acqua e spaccature siano altamente variabili e che l'applicazione di agenti formanti barriere di copertura del frutto, con l'obiettivo di ridurre l'assorbimento di acqua, non hanno particolare successo nel ridurre le spaccature.

Riassunto

Le spaccature che si formano nelle ciliegie (*Prunus avium* L.) rappresentano un problema molto serio per la produzione mondiale. Si pensa che esse siano causate da un eccessivo assorbimento di acqua e da un successivo aumento del turgore cellulare, tale per cui quando viene superata una soglia critica (“turgore critico”) il frutto si spacca. Tuttavia, mancano evidenze sperimentali a supporto di questo concetto ampiamente diffuso mentre i dati pubblicati mettono in dubbio l'ipotesi del “turgore critico” ed una spiegazione alternativa deve ancora essere confermata.

Questo articolo riassume le ricerche sperimentali che, negli ultimi due decenni, hanno portato allo sviluppo di un'ipotesi alternativa delle cause dello spacco nel ciliegio: la così detta ipotesi della “cerniera lampo”. Secondo quest'ultima, la spaccatura del frutto è il risultato di una serie di eventi che portano alla propagazione di una fessurazione attraverso la buccia e la polpa “aprendo” il frutto. Questa ipotesi si basa sulla seguente sequenza di eventi: nella buccia, ed in particolare nella cuticola, si sviluppa una tensione (stress) durante la fase III di crescita, a causa di una regolazione negativa dei geni coinvolti nella sintesi della cutina e delle cere. Lo stress nella buccia determina tensioni e microfessurazioni nella cuticola. Inoltre, l'umidità della superficie e della cuticola in tensione aggrava le micro-spaccature, le quali a loro volta compromettono le funzioni di barriera della cuticola e concentrano l'assorbimento dell'acqua in una particolare regione della superficie del frutto. L'acqua passa la cuticola, penetra nel frutto e si muove in zone dove il potenziale idrico è più negativo, ossia nelle grandi cellule del parenchima del mesocarpo (dotate di pareti cellulari sottili) che hanno un potenziale osmotico più negativo delle piccole cellule dell'epidermide e dell'ipoderma (aventi una parete cellulare più spessa). L'assorbimento di acqua da parte di queste cellule ne causa la rottura. Di conseguenza, il contenuto cellulare fuoriesce nell'apoplasto. I principali costituenti del ciliegio dolce, come il glucosio, il fruttosio e l'acido malico si riversano nell'apoplasto in concentrazioni comparabili a quelle del simplasto e le conseguenze sono molteplici: i) il turgore cellulare diminuisce ed è interamente perso quando le cellule dell'epidermide sono soggette a plasmolisi; ii) l'acido malico estrae il calcio legato alle pareti cellulari, le indebolisce ed aumenta la permeabilità delle membrane plasmatiche causando una reazione a catena di perdita di adesione tra cellule adiacenti. Il distacco tra le cellule ed il crollo del (già basso) turgore cellulare porta al rigonfiamento delle pareti cellulari, in particolare delle pectine della lamella mediana. Le pareti cellulari gonfie hanno una rigidità inferiore ed una maggior tensione alle fratture ed adesione cellulare che portano alla separazione delle cellule adiacenti lungo la parete cellulare. La tensione generata dallo sforzo dell'epidermide è ora sufficiente per causare la separazione delle cellule lungo le loro pareti rigonfiate e rompere la buccia. Questo processo continua agli estremi della spaccatura dove si concentra lo stress, causando l'estensione della spaccatura stessa. L'epidermide si rompe nello stesso modo con cui una cerniera o una smagliatura si apre e si propaga in un pezzo di tessuto lavorato a maglia.

Parole chiave: spaccature del frutto, ciliegio, *Prunus avium*, relazioni idriche del frutto.

Bibliografia

- ALKIO M., JONAS U., SPRINK T., VAN NOCKER S., KNOCHE M., 2012. *Identification of putative candidate genes involved in cuticle formation in Prunus avium (sweet cherry) fruit*. Ann Bot-London 110: 101-112.
- ALKIO M., JONAS U., DECLERCQ M., VAN NOCKER S., KNOCHE M., 2014. *Transcriptional dynamics of the developing sweet cherry (Prunus avium L.) fruit: Sequencing, annotation and expression profiling of exocarp-associated genes*. Horticulture Res 1: 11 DOI: 10.1038/hortres.2014.11.
- ANDERSEN P.C., RICHARDSON D.G., 1982. *A rapid method to estimate fruit water status with special reference to rain cracking of sweet cherries*. J Am Soc Hortic Sci 107: 441-444.
- BALBONTIN C., AYALA H., BASTIAS R.M., TAPIA G., ELLENA M., TORRES C., YURI J.A., QUERO-GARCÍA J., RÍOS J.C., SILVA H. 2013. *Cracking in sweet cherries: A comprehensive review from a physiological, molecular, and genomic perspective*. Chil J Agr Res 73: 66-72.
- BEYER M., PESCHEL S., KNOCHE M., KNÖRGEN M., 2002. *Studies on water transport through the sweet cherry fruit surface: IV. Regions of preferential uptake*. HortScience 37: 637-641.
- BORVE J., SEKSE L., STENSVAND A., 2000. *Cuticular fractures promote postharvest fruit rot in sweet cherries*. Plant Dis 84: 1180-1184.
- BRÜGGENWIRTH M., FRICKE H., KNOCHE M., 2014. *Biaxial tensile tests identify epidermis and hypodermis as the main structural elements of sweet cherry skin*. Ann Bot – Plants doi: 10.1093/aobpla/plu019.
- BRÜGGENWIRTH M., KNOCHE M., 2016A. *Time to fracture and fracture strain are negatively related in sweet cherry fruit skin*. J Am Soc Hortic Sci 141, 1-5.
- BRÜGGENWIRTH M., KNOCHE M., 2016b. *Factors affecting mechanical properties of the skin of sweet cherry fruit*. J Am Soc Hortic Sci 141: 45-53.
- BRÜGGENWIRTH M., KNOCHE M., (2016c) *Mechanical properties of skins of sweet cherry fruit of differing susceptibilities to cracking*. J Am Soc Hortic Sci 141: 162-168.
- BRÜGGENWIRTH M., WINKLER A., KNOCHE M., 2016. *Xylem, phloem, and transpiration flows in developing sweet cherry fruit*. Trees 30: 1821-1830.
- BRÜGGENWIRTH M., KNOCHE M., 2017. *Cell wall swelling, fracture mode, and the mechanical properties of cherry fruit skins are closely related*. Planta 245: 765-777.
- CONSIDINE J.A., KRIEDEMANN P.E., 1972. *Fruit splitting in grapes. Determination of the critical turgor pressure*. Aust J Agr Res 23:17-24.
- CONSIDINE J., BROWN K., 1981. *Physical aspects of fruit growth - theoretical analysis of distribution of surface growth forces in fruit in relation to cracking and splitting*. Plant Physiol 68: 371-376.
- GLENN G.M., POOVAIAH B.W., 1989. *Cuticular properties and postharvest calcium applications influence cracking of sweet cherries*. J Am Soc Hortic Sci 114:781-788.
- GRIMM E., PESCHEL S., BECKER T., KNOCHE M., 2012. *Stress and strain in the sweet cherry fruit skin*. J Am Soc Hortic Sci 137:383-390.
- GRIMM E., PESCHEL S., KNOCHE M., 2013. *Mottling on sweet cherry fruit is caused by exocarp strain*. J Am Soc Hortic Sci 138: 18-23.
- GRIMM E., KNOCHE M., 2015. *Sweet cherry skin has a less negative osmotic potential than the flesh*. J Am Soc Hortic Sci 140: 472-479.
- GRIMM E., PFLUGFELDER D., VAN DUSSCHOTEN D., WINKLER A.,

- KNOCHE, M., 2017. *Physical rupture of the xylem in developing sweet cherry fruit causes progressive decline in xylem sap inflow rate*. *Planta* 246: 659–672.
- KNOCHE M., BEYER M., PESCHEL S., OPARLAKOV B., BUKOVAC M.J., 2004. *Changes in strain and deposition of cuticle in developing sweet cherry fruit*. *Physiol Plantarum* 120, 667-677.
- KNOCHE M., PESCHEL S., 2006. *Water on the surface aggravates microscopic cracking of the sweet cherry fruit cuticle*. *J Am Soc Hortic Sci* 131, 192-200.
- KNOCHE M., GRIMM E., SCHLEGEL H.J. 2014. *Mature sweet cherries have low turgor*. *J Am Soc Hortic* 139, 3-12.
- KNOCHE M., WINKLER A., 2017. *Rain-induced cracking of sweet cherries*. In: Quero-García, Iezzoni, Puławska, Lang (eds) *Cherries: Botany, Production and Uses*. CAB International, Wallingford: 140-165.
- LAI X., KHANAL B.P., KNOCHE M., 2016. *Mismatch between cuticle deposition and area expansion in fruit skins allows potentially catastrophic buildup of elastic strain*. *Planta* 244: 1145-1156
- LANG A., 1990. *Xylem, phloem and transpiration flows in developing apple fruits*. *J Exp Bot* 41: 645-651.
- LOONEY N.E., 1985. *Benefits of calcium sprays below expectations in B.C. tests*. *Goodfruit Grower* 36: 7-8.
- MEASHAM P.F., BOUND S.A., GRACIE A.J., WILSON S.J., 2009. *Incidence and type of cracking in sweet cherry (*Prunus avium* L.) are affected by genotype and season*. *Crop Pasture Sci* 60:1002-1008.
- MEASHAM P.F., WILSON S.J., GRACIE A.J., BOUND S.A., 2014. *Tree water relations: flow and fruit*. *Agr Water Manage* 137: 59-67.
- PESCHEL S., BEYER M., KNOCHE M., 2003. *Surface characteristics of sweet cherry fruit: stomata number, distribution, functionality and surface wetting*. *Sci Hortic* 97: 265-278.
- PESCHEL S., KNOCHE M., 2005. *Characterization of microcracks in the cuticle of developing sweet cherry fruit*. *J Am Soc Hortic Sci* 130: 487-495.
- PESCHEL S., KNOCHE M., 2012. *Studies on water transport through the sweet cherry fruit surface: XII. Variation in cuticle properties among cultivars*. *J Am Soc Hortic Sci* 137: 367-375.
- PESCHEL S., FRANKE R., SCHREIBER L., KNOCHE M., 2007. *Composition of the cuticle of developing sweet cherry fruit*. *Phytochemistry* 68: 1017-1025
- SCHÖNHERR J., 2006. *Characterization of aqueous pores in plant cuticles and permeation of ionic solutes*. *J Exp Bot* 57: 2471-2491.
- WEICHERT H., KNOCHE M., 2006. *Studies on water transport through the sweet cherry fruit surface: 10. Evidence for polar pathways across the exocarp*. *J Agr Food Chem* 54: 3951-3958.
- WINKLER A., OSSENBRINK M., KNOCHE M., 2015. *Malic acid promotes cracking of sweet cherry fruit*. *J Am Soc Hortic Sci* 140: 280-287.
- WINKLER A., PESCHEL S., KOHRS K., KNOCHE M., 2016. *Rain cracking in sweet cherries is not due to excess water uptake but to localized skin phenomena*. *J Am Soc Hortic Sci* 141:653–660.