



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI PALERMO



Dipartimento DEMETRA

Dottorato in Frutticoltura Mediterranea

(SSD AGR03) XXII ciclo

***Effetti del frutto sul germogliamento e fioritura  
in piante del Nespolo del Giappone  
(Eriobotrya japonica Lindl)***

Dottorando: GIOVANNI LIARDA

Tutor:

---

Prof.ssa Carmina Reig Valor

Co-Tutor:

---

Prof. Vittorio Farina

Coordinatore del Dottorato:

---

Prof.ssa Maria Antonietta Germanà

## SOMMARIO

Riassunto .....	3
Resumen .....	4
1. INTRODUZIONE.....	5
1.1 ORIGINE E STORIA .....	5
1.2 LUOGHI DI PRODUZIONE ED ASPETTI COMMERCIALI .....	6
2. BACKGROUND SCIENTIFICO .....	10
2.1 INQUADRAMENTO BOTANICO.....	10
2.2 CENNI MORFOLOGICI .....	11
2.3 IL NESPOLO ED I FATTORI PEDOCLIMATICI.....	16
2.4 GERMOGLIAMENTO ED ACCRESCIMENTO VEGETATIVO .....	18
2.5 SVILUPPO RADICALE .....	19
2.6 FIORITURA.....	20
2.7 ALLEGAGIONE .....	23
2.8 SVILUPPO DEL FRUTTO .....	25
2.9 MATURAZIONE.....	28
3. MATERIALI E METODI .....	29
3.1MATERIALE VEGETALE.....	29
3.2 ESPERIMENTI.....	29
4. SCOPO DEL LAVORO (OBIETTIVI).....	38
5. RISULTATI .....	39
5.1 INFLUENZA DELLA PRESENZA DEI FRUTTI SUL GERMOGLIAMENTO E SULL'ACCRESCIMENTO VEGETATIVO .....	39
5.2 INFLUENZA DELLA PRESENZA DEI FRUTTI SULL' ALBERO SULLA FIORITURA .....	43
5.3 INFLUENZA DEL FRUTTO NELLA RIPARTIZIONE DEI CARBOIDRATI .....	45
5.4 INFLUENZA DEL FRUTTO NELLA MOBILITAZIONE AZOTATA.....	57
5.5 INFLUENZA DEL FRUTTO NEL BILANCIO ORMONALE.....	60
5.6 EFFETTO DELL'ELIMINAZIONE DEGLI APICI ED EFFETTI SULLA FIORITURA. STUDIO DEL SINGOLO GERMOGLIO .....	65
6. DISCUSSIONE .....	75
7. CONCLUSIONI .....	80
8. CONCLUSION .....	81
BIBLIOGRAFIA.....	82

## *Riassunto*

*Il seguente lavoro, svolto in Italia ed in Spagna, nel biennio 2009 e 2010 ha avuto come obiettivo lo studio degli effetti che il frutto esercita nei confronti della fioritura e del germogliamento del Nespolo del Giappone (*Eryobotrya japonica* Lindl.), in condizioni di clima mediterraneo. Al fine di valutare gli effetti del frutto sulla fioritura e sul germogliamento nel sistema "albero" si è realizzato un primo esperimento nel quale alcune piante, dove i frutti sono stati rimossi nelle primissime fasi di accrescimento post-allegagione, sono state confrontate con altre dove i frutti sono stati rilasciati fino alla raccolta. Allo stesso tempo per valutare gli effetti del frutto all'interno del sistema "germoglio", si è realizzato un secondo esperimento che ha previsto l'eliminazione degli apici su un numero determinato di germogli in due epoche fenologiche differenti, la prima in corrispondenza dell'induzione fiorale e la seconda in corrispondenza della differenziazione. In entrambi gli esperimenti accanto alle rilevazioni dei parametri vegeto-produttivi, realizzate dal post-allegagione fino alla piena antesi, sono state eseguite delle procedure analitiche (carboidrati, frazione azotata, ormoni) atte ad approfondire il ruolo del metabolismo dei carboidrati, dell'azoto e degli ormoni vegetali sulla fioritura ed il germogliamento del Nespolo del Giappone.*

## Resumen

*El presente trabajo, realizado durante los años 2009 y 2010, en Italia y en España, ha tenido como objetivo estudiar el papel que el fruto de níspero japonés (*Eriobotrya japonica* Lindl.), ejerce sobre la brotación y floración de esta especie en condiciones de clima mediterráneo. Para ello se diseñó un experimento en el que se eligieron árboles adultos a los que se les eliminaron todos sus frutos en las primeras fechas después del cuajado y otros a los que se les mantuvieron todos hasta el momento de la recolección. Se evaluó, por una parte, las todas las características de los brotes desarrollados y, por otra, el número de flores de cada uno de ellos. Paralelamente se diseñó otro experimento en el que se eliminaron los ápices indiferenciados de un determinado número de brotes en dos épocas diferentes, la primera en el momento de la inducción floral y la segunda, aproximadamente un mes más tarde, coincidiendo con el inicio de la diferenciación. En ambos experimentos y para distintos estados fenológicos se determinó el contenido en azúcares, nitrógeno y hormonas de los diferentes órganos del árbol, con el fin de estudiar su posible relación con el proceso de brotación y floración de esta especie.*

# 1.INTRODUZIONE

## 1.1 ORIGINE E STORIA

L'origine e l'evoluzione del Nespolo del Giappone, secondo il botanico russo Vavilov (1951) si è avuta in nel "centro d'origine cinese", culla di molte piante di interesse agrario. In particolare tale origine ha avuto luogo nella valle del fiume Daduhe, nella Cina sud-orientale (Vavilov, 1951).

Le prime testimonianze scritte sulla esistenza di questa specie risalgono ad un libro cinese del 502-506 d.C. secondo il quale, un frutto, con i caratteri morfologici tipici della nespola, si otteneva in Tedote, una località della Cina. Il passaggio al Giappone si ebbe probabilmente negli anni a seguire grazie ai commerci tra i due paesi. Nelle altre parti del mondo il nespolo del Giappone arrivò molto più tardi ; infatti, fino al 1854, a causa di una politica di isolamento nazionale, il Giappone era rimasto "chiuso" al resto del Mondo (Calabrese, 1993). I nespoli giapponesi probabilmente erano popolazioni, ottenute da seme, a frutto piccolo, ben diverse dalle attuali varietà selezionate e coltivate in Spagna, Nord America e Giappone. In Giappone lo sviluppo industriale della coltura prese l'avvio nel 1868 con l'introduzione dalla Cina della cultivar "Toubiwa" (che letteralmente significa "nespolo cinese"), da cui si sono originate le cultivar "Mogi" (selezionata nel 1865) e "Tanaka" (selezionata nel 1875), varietà che ancora oggi dominano il panorama varietale giapponese (Calabrese, 1993).

L'Europa conobbe il nespolo nel 1784, quando alcuni esemplari arrivarono all'orto botanico di Parigi, dopo essere stati sbarcati sulle coste francesi da navi mercantili provenienti dalle lontane Isole Mauritius. Si ritiene, infatti, che i monaci di quei luoghi coltivassero i nespoli negli orti per la loro bellezza e per i loro frutti. Nel 1787 si ebbe l'introduzione di alcuni esemplari nel giardino botanico di Kew (Inghilterra) e, finalmente, nel 1812, si ha menzione di nespoli nell'orto botanico di Napoli. Qui la pianta trovò condizioni ambientali favorevoli e cominciò a diffondersi, oltre che nel Sud Italia, anche nella Riviera Ligure, in Turchia, in Libano, in Israele, nel Nord Africa e nell'isola di Malta. In Spagna il nespolo fu introdotto nella cittadina di Sagunto, dal comandante di una nave

mercantile spagnola. In duecento anni la coltura si è espansa in tutto il Sud-Est della penisola iberica incontrando condizioni ottimali a Callosa d' Ensarria e dintorni (Calabrese, 1993).

In America il nespolo giunse nella seconda metà del 1800 e si diffuse nelle aree più propizie sia del Nord (California e Florida) che del Sud (Brasile ed Argentina). Alle isole Hawaii si pensa che sia stato introdotto da parte di immigrati cinesi.

La data di introduzione in India è sconosciuta. Certo è che in alcune aree di questo paese la specie si è naturalizzata (Uttar Pradesh, Punjab e Assam).

Il Giappone è stato a lungo il principale paese produttore di nespole, ma oggi, con poco meno di 3000 ettari, è stato superato dalla Spagna. In Giappone i 3/4 della produzione provengono dalle prefetture di Nagasaki Chiba, Ehime e Kagoshima, mentre in Spagna i luoghi di coltura si trovano attorno ad Alicante, Malaga e Valencia.

Nel Mediterraneo, un'altra area a coltivazione specializzata, ma di più assai modeste dimensioni, si trova in Sicilia, nel territorio di Trabia, vicino a Palermo. A Trabia l'introduzione di questo fruttifero, a parere degli agricoltori, è stata effettuata da un certo Sanfilippo, che portò le piante dagli Stati Uniti d'America e che ha dato il nome alla varietà omonima.

## 1.2 LUOGHI DI PRODUZIONE ED ASPETTI COMMERCIALI

Il nespolo attualmente si coltiva in un'area localizzata tra il 25° ed il 38° parallelo Nord e Sud. Pertanto in un'area del mondo relativamente ristretta

La produzione è concentrata soprattutto in tre grossi poli: Cina, Giappone ed in diversi paesi del bacino del Mediterraneo (Spagna, Italia, Grecia, Turchia, Israele e Algeria). Il nespolo è coltivato anche in India, Pakistan, Madagascar, Isole della Riunione, Isole Mauritius, Stati Uniti (principalmente Florida e California), Brasile (soprattutto vicino a San Paolo), Argentina, Venezuela e Australia. La Cina è il principale paese produttore, per superficie investita (67%) e, per produzione (64%) totale mondiale. Un posto di rilievo

merita la Spagna che raggiunge il 13% della produzione totale e l'84% per l'esportazione (FAO-Istat, 2008).

Il bacino del Mediterraneo è divenuto il baricentro della produzione nespolicola mondiale, ma, solo in Spagna la coltivazione assume notevole importanza economica; la Spagna in pochi anni è passata da una nespolicoltura familiare e hobbistica ad una coltivazione d'avanguardia e di grande importanza commerciale.

Oggi la massima parte della coltura specializzata spagnola (2.836 ettari) si trova alle spalle di Alicante, con epicentro nelle campagne attorno a Callosa d'En Sarria. Altre minori zone nespolicole esistono a Valencia, Malaga e Granada. La raccolta nelle varie province è differenziata nel tempo : ad Alicante è concentrata nel mese di maggio, in Andalusia cade prevalentemente in aprile e nel Valenciano nei mesi di maggio-giugno. I dati produttivi degli ultimi anni indicano una produzione di 36.467 tonnellate di frutti all'anno ma si prevede, nell'immediato futuro, un ulteriore aumento (dati MAPA, 2007). In Italia la coltivazione del nespolo del Giappone è poco diffusa. In coltura specializzata si rinviene soltanto nel comune di Trabia (Palermo); in particolare nella fascia litoranea ad ovest dell'abitato e sulle pendici delle colline prospicienti il mare, mentre in coltura promiscua si rinviene sulla Riviera ligure (ove è considerata al tempo stesso pianta da frutto e pianta ornamentale) e in numerosi comuni del Palermitano; in questo caso si tratta prevalentemente di piante sparse all'interno di agrumeti che si giovano delle operazioni colturali rivolte a questi ultimi (Calabrese, 1993).

Durante la seconda metà degli anni '80 la produzione italiana, sia in coltura specializzata che in coltura promiscua, era stimata tra i 60.000 e i 70.000 quintali. La superficie occupata in Italia dalla coltivazione del nespolo del Giappone era di 250 ettari in coltura specializzata e di poco meno di 500 ettari in coltura promiscua. Dati più recenti sulle superfici e sulle produzioni di nespole in Italia evidenziano che rispetto alla situazione precedente, sia in termini di produzioni che di superfici, i valori sono molto diminuiti: gli ettari sono scesi a poco più di 620, le produzioni di conseguenza sono diminuite fino a 4.400 tonnellate (Tab.1).

E' opportuno segnalare che tra i fattori concorrenti a determinare tale situazione, maggiore importanza riveste il cambiamento del contesto economico e sociale. Il

territorio del nespolo, in passato preminentemente agricolo, si configura come zona di espansione turistico-edilizia. L'attesa del cambiamento di destinazione dei suoli ha indotto gli imprenditori ad una scarsissima propensione all'investimento, e all'ammodernamento dell'attività agricola.

*Tab. 1.1 Superfici e quantità di nespole prodotte nel mondo nel 2002 (Dati P. Caballero, M.L. Fernandez, 2001).*

PAESE	Superficie (Ha)	Produzioni (T)
Cina	42.000	200.000
Giappone	2.420	10.245
Pakistan	11.000	12.800
Israele	330	16.000
Egitto	33	3.000
Grecia	300	440
Marocco	385	2.750
Portogallo	243	6.400
Italia	663	950
Turchia	1.470	4.412
Cile	138	13.500
Brasile	300	2.400
Spagna	2.836	36.467
<b>Totale</b>	<b>62.196</b>	<b>314.384</b>



Il prodotto spagnolo non è qualitativamente superiore a quello italiano, ma è molto meglio presentato e si avvale di una adeguata azione promozionale sui mercati. Uno dei fatti più significativi nell'evoluzione della coltura del nespolo in provincia di Palermo, è rappresentato dal cambiamento della situazione commerciale. Da alcuni anni la collocazione sul mercato delle nespole è divenuta assai problematica per la competizione crescente esercitata dalla produzione proveniente dalla Spagna. Fino ad alcuni anni addietro la vendita del prodotto avveniva in azienda a commercianti che si approvvigionavano direttamente alla produzione. Gli stessi produttori talora, a piccoli gruppi, effettuavano delle spedizioni congiunte verso i mercati più distanti; iniziative di questo tipo oggi non trovano più convenienza poiché spesso le valutazioni spuntate sui mercati non compensano i costi sostenuti. Il prodotto, viene pertanto immesso sui mercati locali singolarmente dai diversi produttori. Le nespole italiane, ad eccezione della produzione di Trabia, ove esiste una certa qualificazione del prodotto, pur essendo ancora rappresentate da materiale eterogeneo, per pezzatura, colore e caratteristiche qualitative (Calabrese, 1993), si avviano ad una più specifica qualificazione.

## 2. BACKGROUND SCIENTIFICO

### 2.1. INQUADRAMENTO BOTANICO

Il nespolo del Giappone è conosciuto in diversi paesi del mondo e gode pertanto di molti sinonimi. Gli spagnoli lo chiamano *Nispero de japon*, per i francesi è *il Neflier* o *Bibace*, in Inghilterra è noto come *Loquat tree*, per i Giapponesi è *il Biwa*, in Portogallo lo chiamano *Ameixa amarela*, in Germania *Japanische mispel*.

In tutto il mondo scientifico, il nespolo del Giappone è indicato col binomio di *Eriobotrya japonica* Lindl, specie appartenente alla famiglia delle *Rosaceae*.

La classificazione botanica accettata dalla maggior parte dei tassonomi è la seguente:

Regnum: *Plantae*

Phylum: *Anthophita*

Subphylum: *Angiosperme* Classis: *Dicotyledonae*

Subclassis: *Rosidae* Superordo: *Rosanae* Ordo: *Rosales*

Familia: *Rosaceae*

Subfamilia: *Maloideae*; Genus: *Eriobotrya*; Species: *Eriobotrya japonica* Lindl.

Il nespolo appartiene alla sottofamiglia delle *Maloideae*. Fu descritto per la prima volta da Thunberg nel 1784 e fu classificato inizialmente nel genere *Mespilus*. Tuttavia la sua tassonomia fu revisionata nel 1822 da Lindley che lo incluse nel genere *Eriobotrya* (Lin *et al.*, 1999; Yang *et al.*, 2003). Le principali caratteristiche del genere *Eriobotrya* furono descritte da Huxley (1992). Le foglie delle specie di questo genere sono coriacee, dentate e pubescenti. I fiori bianchi sono raggruppati in pannocchie. Il frutto è carnoso e presenta un numero di semi variabili fino a 10.

Allo stesso genere appartengono una dozzina di specie, tra cui la *Eriobotrya bengalensis* (Hook) Fil. con la varietà botanica *deflexa*, che cresce bene in Italia e che matura frutti di un certo interesse in autunno.

Altre specie, originarie della Cina, dove si trovano allo stato semiselvatico (soprattutto nello Yunnan), sono: *E. delavayi* Schn., *E. henryi* Nakai, *E. indica* (Wall) Dene, *E. malipoensis* Kuan, *E. salwinensis* Hand-Mazz., *E. sequinu* (Levl) Cardot, *E. tengyuehensis* W. W. Smith.

Il numero di specie che appartengono a questo genere è tuttavia in fase di discussione (Zhang et al., 1990). Lin et al., (1999) hanno distinto botanicamente 16 specie e hanno revisato la loro area di diffusione.

## 2.2 CENNI MORFOLOGICI

Il nespolo del Giappone è un albero vigoroso, produttivo e dal portamento molto decorativo di taglia medio alta (5-6 m) e con una rapida entrata in produzione (2-3 anni), con chioma di forma piramidale con tendenza all'assurgenza e la verticalità. Per il portamento regale e per la regolarità delle forme il nespolo trova impiego nell'addobbo di parchi e giardini, non solo in Estremo Oriente, ma anche in molte località del Mediterraneo. Le foglie sono perenni, grandi, coriacee e con i bordi seghettati. I fiori si distribuiscono in pannocchie terminali: sono piccoli, con petali bianchi e calice marrone pubescente. L'epoca di fioritura varia secondo le condizioni climatiche e la varietà. Il frutto è ovale e piriforme, di pezzatura media e colorazione giallo-arancio; contiene fra 2-4 semi di dimensioni grandi e colorazione marrone oscuro. L'epoca di raccolta, come per la fioritura varia in funzione delle condizioni climatiche della zona e della varietà.

Le piante hanno un fusto diritto che comincia a ramificarsi già a 30-50 cm dal colletto, ma, nelle varietà a portamento assurgente, l'inserzione delle prime branche comincia a 75-125 cm. Presenta una corteccia rugosa di colore grigiastra e con desquamazione annuale.

I rami principali sono grossi e corti, con internodi relativamente larghi e di colore grigio chiaro. Generalmente sono sprovvisti di foglie. I rami nuovi germogliano dalle gemme laterali e dalla gemma terminale, originando i rami fruttificanti. I rami secondari sono molto fini e larghi, e originano gemme a legno.

- L'apparato radicale

Nel nespolo giapponese la radice principale è fittonante fino ai 4-5 anni di età e raggiunge una profondità di 2,5 m. Dopo questa prima fase, la radice principale perde di importanza a favore delle radici secondarie che costituiranno il sistema radicale assorbente, concentrate soprattutto nei primi 30 cm di profondità.

- Le gemme

Le gemme del nespolo sono di pezzatura media, forma conica e aspetto pubescente. L'apice è protetto da foglie modificate con aspetto squamoso (stipole) disposte strettamente. Generalmente le stipole sono di colorazione marrone e presentano una pubescenza biancastra su entrambe le facce.

La gemma è l'estremo giovane di un'asta, pertanto, oltre al meristema apicale porta foglie immature o primordi fogliari.

Secondo la posizione, le gemme si classificano in terminali-apicali, che si posizionano nel punto più distale del germoglio, o in ausiliari-laterali, che al contrario si localizzano nell'ascelle delle foglie. Secondo la struttura possono essere miste, quando originano germogli vegetativi o riproduttivi, vegetative (a legno), quando originano unicamente germogli vegetativi o riproduttive (a fiore) quando originano solo infiorescenze.

Secondo l'evoluzione è possibile distinguere gemme normali, che presentano uno sviluppo normale, dalle gemme latenti che permangono inibite per molto tempo sopra il legno vecchio, il cui risveglio è favorito dalle potature.

La gemma può permanere in uno stato di latenza durante un periodo di tempo determinato, talvolta anche anni. Mentre le cellule del meristema apicale o della gemma terminale mantengono la propria capacità di dividersi, la maggior parte delle cellule delle gemme ausiliari sono a crescita limitata. Il grado di accrescimento dei rami laterali e la latenza delle gemme laterali sono controllati dalla gemma terminale. Diversi ricercatori (Popham e Chan, 1952; Wetmore et al., 1959; Fahn et al., 1963) hanno dimostrato che l'evoluzione dell'apice vegetativo ad apice riproduttivo si realizza gradualmente e che,

pertanto, la funzione basica dell'apice vegetativo è quella di facilitare il crescimento longitudinale dell'asse, mentre quella dell'apice riproduttivo è la produzione di un involucro meristemico con una grande superficie, dal quale si svilupperanno gli organi fiorali.

- Le foglie

Nel nespolo le foglie hanno una vita media di 3 anni e si dispongono in modo alterno sui rami; sono obovato-lanceolate o ellittico-oblunghe, hanno una consistenza coriacea e una lunghezza tra 18-45 cm, ed una larghezza di 8-10 cm a secondo della varietà. La larghezza e lo spessore hanno una stretta relazione con le dimensioni del racemo e il volume dei suoi frutti. Presentano una colorazione verde scura e brillante nella pagina superiore, e una colorazione grigio cenere con un aspetto cotonoso nella pagina inferiore. Durante il germogliamento presentano una pubescenza biancastra su entrambe le pagine, che tende a diradarsi con il tempo nella pagina superiore, facendo assumere a questa una colorazione più brillante, mentre permane nella pagina inferiore, anche nelle nervature. I bordi sono seghettati, e a seconda della varietà cambiano la profondità del dente come anche la lunghezza dello spazio seghettato. Il picciolo è corto e rivestito di peli. Per quel che riguarda le nervature si ha una nervatura centrale molto pronunciato, mentre le nervature laterali hanno una disposizione a spina di pesce.

Nonostante si tratta di un albero a foglia perenne, l'attività fisiologica delle foglie non dura più di una stagione, ragione per la quale i rami di 2-3 anni sono sprovvisti di foglie.

- Infiorescenza e fiori

Nel nespolo l'apice riproduttivo che produce un fiore o un'infiorescenza, rimpiazza l'apice vegetativo. Secondo il concetto classico di Goethe, l'asse florale è omologo a quello vegetativo, e nel momento della fioritura è soggetto a diversi cambi fisiologici e si trasforma in riproduttivo, potendo così differenziare un fiore o un infiorescenza.

Philipson (1947, 1949) arrivò alla conclusione che la funzione basica dell'apice riproduttivo è facilitare l'accrescimento longitudinale dell'asse, mentre quella dell'apice riproduttivo è la produzione di un involucro meristemato che originerà una parte di uno o più fiori. Durante la conversione in bottone fiorale si ha incremento generale delle proteine basiche (istoni) nel citoplasma, così come anche un aumento dell'RNA e delle proteine totali.

L'infiorescenza del nespolo è una pannocchia di 18-40 cm di lunghezza e forma piramidale. Essa è costituita da un asse principale nel quale si inseriscono da 5 a 10 bracci consistenti non legnosi, che contengono un numero variabile di fiori raggruppati in racemi. Normalmente si hanno tra 60 e 70 fiori per pannocchia, a secondo delle condizioni climatiche e altri fattori. Per le condizioni climatiche mediterranee, le pannocchie si originano tra la fine dell'estate e l'inizio dell'autunno.

Dentro la pannocchia, sono i bracci collocati più in basso rispetto all'apice ad iniziare a fiorire. Pertanto, l'ordine di antesi dei bracci che compongono la pannocchia è ascendente. In ogni braccio, i racemi più vicini all'asse principale sono i primi a fiorire, ed infine i fiori individuali più apicali di ogni racemo sono i primi a fiorire, producendo così i frutti di maggior pezzatura e colore.

Il periodo di tempo necessario alla fioritura dell'intera pannocchia varia tra 2 e 4 settimane approssimativamente, a secondo delle condizioni climatiche, e i fiori rimangono recettivi per 5-7 giorni (Rodriguez, 1983).

L'epoca di fioritura varia secondo la zona. In Spagna si ha tra settembre e dicembre a secondo della varietà e delle condizioni climatiche. La durata della fioritura è anche influenzata dal numero di rami fiorali, dalle dimensioni del racemo e dalla posizione del ramo nell'albero. I racemi dei rami principali (quelli che si sviluppano dopo la raccolta) fioriscono prima dei racemi dei rami secondari (che provengono dal germogliamento dei rami principali). Le ultime infiorescenze che si sviluppano sono quelle situate nei rami basali più ombreggiati.

I fiori sono ermafroditi, odorosi, bianchi e piccoli (12-20mm). Il calice è persistente ed è formato da 5 sepali saldati di colore verde-marrone; la corolla è formata da 5 petali liberi

di colore bianco; gli stami sono 20-40, liberi e ci sono da 2 a 4 stigmi e stili che si uniscono alla base ad un ovario infero con 5 carpelli, ciascuno dei quali può ospitare 2 ovuli. L'ovario è aderente al calice, tanto che quando si forma il frutto si notano, più o meno, secondo la varietà i resti del calice.

- Frutti e semi

Il frutto si sviluppa dopo la fecondazione del fiore a partire da diversi carpelli saldati in un ovario infero, e si sviluppa inoltre dal pericarpo, la parte del ricettacolo che circonda l'ovario, che diventa carnosa costituendo così la parte più sviluppata del frutto. Quando nella sua formazione intervengono in maniera decisiva organi ausiliari extra-carpellari, prende il nome di falso frutto, come nel caso del melo.

Il frutto è un pomo di forma normalmente ovale o piriforme, raggiungendo nelle migliori cultivar una lunghezza di 7 cm. Nell'apice stilare presenta una depressione pronunciata con resti del calice. Il colore dell'epidermide varia dal giallo pallido all'aranciato e la polpa varia dal bianco all'aranciato secondo la varietà (Tous e Ferguson, 1996). Il cambio di colore avanza dalla zona stilare a quella pedunculare. L'epicarpo è coriaceo e sottile, ed è coperto da una pubescenza grigiastra, che tende al bianco alla maturazione. A questa caratteristica è legata la pelabilità del frutto al momento del consumo. La polpa è carnosa e succulenta.

Il frutto porta tra 1 e 5 semi grandi di colore marrone, anche se in casi eccezionali può averne fino a 10.

Il periodo di maturazione ha luogo durante la primavera e si estende, approssimativamente, per un mese e mezzo, anche se in alcune aree può prolungarsi per più tempo.

Il seme si sviluppa a partire dal primordio seminale, e a maturità si possono distinguere la testa che rappresenta la coperta del seme ed è formata da diversi tegumenti, e l'embrione, che è lo sporofito giovane sviluppato.

I semi sono grandi, brillanti e marroni e sono raggruppati fortemente all'interno del frutto formando un nucleo voluminoso che rappresenta il 20-30% del peso totale (Insero *et al.*, 1990).

La testa è succosa ed è costituita da un'epidermide interna e uno strato di cuticola che si localizza tra l'epidermide ed i resti della nocella o dell'endosperma.

### 2.3 IL NESPOLO ED I FATTORI PEDOCLIMATICI

- Radiazione solare e fotosintesi

Ruan e Wu (1991) studiarono aspetti relazionati alla fotosintesi nel nespolo e stabilirono il suo punto di saturazione luminosa in 18 Klx e il punto di compensazione luminosa in 360 mmol/mq/s.

È piuttosto complicato determinare il massimo del potenziale fotosintetico. Nel nespolo il tasso fotosintetico è basso durante l'inverno, inferiore a 15 mg di CO<sub>2</sub> dm<sup>2</sup>/h, e presenta il suo massimo valore durante la fioritura nelle foglie adiacenti alle infiorescenze, in comparazione alle foglie basali del germoglio (Ruan e Wu, 1991), sottolineando l'alta necessità energetica dei fiori in via di sviluppo. In Cina sono state osservate le caratteristiche fotosintetiche di 5 cultivar di nespolo del Giappone in primavera e in inverno (Jiang *et al.*, 2005) e si è visto che il tasso di fotosintesi netta, la conduttanza stomatica e il tasso di traspirazione delle foglie erano più bassi in inverno, mentre l'efficienza di utilizzo dell'acqua era più alta in inverno che in primavera.

Quindi esiste una relazione diretta tra la disponibilità di carboidrati e la produzione. Tuttavia, salvo fattori di stress biotici o abiotici, negli alberi da frutto questa disponibilità è garantita. Per tanto stabilire se la fotosintesi possa essere un fattore limitante per la produzione bisogna relazionarla ad eventuali fattori di stress. In condizioni di stress idrico, il contenuto di pigmenti fotosintetici nelle foglie si riduce, la clorofilla B risulta danneggiata più della clorofilla A o dei carotenoidi; il punto di compensazione in luce aumenta mentre il punto di saturazione luminosa si riduce; si riducono la conduttanza stomatica, la traspirazione ed il tasso di fotosintesi netta (Huajian L. e Xinghui L., 1999).



- Fattori climatici

Il nespolo è una specie subtropicale che ben si adatta ai climi temperato-caldi con lunghi inverni freddi e uggiosi.

La sua resistenza alle basse temperature è notevole; infatti in Giappone, lo si coltiva in ambienti, come quello di Kagoshima, in cui la media delle massime in gennaio è di 12,2 °C e la minima di appena 2,4 °C. Anche i fiori posseggono una grande tolleranza ai freddi; infatti la temperatura minima al di sotto della quale si producono seri danni è di -5 °C. Nell'ambiente mediterraneo tipico della Sicilia e della Comunità Valenciana, inoltre, la temperatura di -1°C non danneggia i frutti già ingrossati, ma soltanto quelli appena allegati. La tolleranza del nespolo alle alte temperature, magari associate a stress idrico, è elevata in assenza di frutti, ma quando i frutti sono pendenti, il loro verificarsi produce su di essi vistose "bruciature".

Il nespolo è originario di luoghi con precipitazioni comprese tra i 1200 ed i 2000 mm all'anno, ma la sua coltivazione è possibile anche in ambienti con 500-800 mm all'anno, purché si ricorra alla pratica irrigua durante i periodi aridi. Si ricordi comunque che le piogge prossime alla maturazione inducono la perdita di sapore dei frutti, mentre la loro carenza produce frutti più piccoli e più suscettibili al colpo di sole.

Il nespolo ha un apparato radicale superficiale. Per questo motivo i venti, soprattutto se caldi, sono nocivi. I danni dovuti ai venti assumono intensità variabile in base al modo con cui questi spirano ed in funzione dello stadio fenologico della pianta. I venti gelidi invernali sono dannosi perché mortificano l'apparato fogliare del nespolo e, se di forte intensità, riescono a stroncare intere branche. I venti sciroccali primaverili, da parte loro, producono un grave danno sui frutti (rugginosità), i quali, difficilmente riescono ad imporsi sui mercati.

La pianta per produrre regolarmente, e con un buon livello qualitativo, ha bisogno di stagioni ben distinte; inoltre, per ottenere una fioritura concentrata occorre una adeguata stasi vegetativa che solo una estate piena e la sospensione delle irrigazioni possono garantire.

- Fattori pedologici

Il nespolo del Giappone si adatta a varie situazioni pedologiche. Sono utilizzabili perfino i suoli calcarei con un pH prossimo alla saturazione calcica (fino ad 8), così come i terreni ricchi di limo e di argilla, purché sia garantito, il drenaggio delle acque in eccesso. In particolare, nei suoli troppo sabbiosi, che si seccano più rapidamente, le raccolte sono più precoci e di buona qualità, ma i frutti risultano spesso più piccoli. D'altra parte, i suoli troppo fertili stimolano la crescita vegetativa, ritardano le raccolte inducono la produzione di frutti più grossi e più consistenti ma meno saporiti. Allo stato attuale, il vero nemico pedologico del nespolo è la salinità; infatti già valori di 200 p.p.m. di ione cloro sono sufficienti a compromettere seriamente il metabolismo delle piante. Ciò spiega perché, in certi ambienti, si preferisce l'impiego del cotogno, (*Cydonia oblonga*) in sostituzione del franco, nonostante la sua bassa resistenza al calcare attivo e la affinità col gentile non sempre ottimale.

#### 2.4 GERMOGLIAMENTO E ACCRESCIMENTO VEGETATIVO

L'albero adulto di nespolo, nei climi temperati, presenta tre germogliamenti nel corso dell'anno ed un periodo di latenza durante l'inverno, anche se è in questa stagione che si ha l'allegagione dei frutti. Il germogliamento più importante è quello primaverile, che può iniziare prima della raccolta, ma che raggiunge il suo picco una volta che la pianta si è completamente liberata dei frutti. Questo germogliamento si origina dalle gemme terminali dei germogli vegetativi o dalle gemme laterali dei germogli riproduttivi, in ambedue i casi dell'anno precedente, e l'accrescimento ha luogo durante l'estate e l'autunno, calando in intensità durante l'inverno. Lo segue, per importanza, il germogliamento estivo, che inizia a partire dalle gemme laterali dei germogli cresciuti nello stesso anno, ovvero gli anticipati che crescono molto rapidamente durante l'estate e con meno intensità durante l'autunno e l'inverno. Il germogliamento autunnale è di minore importanza ai fini della produzione. Il germogliamento primaverile origina germogli lunghi e consistenti, così come foglie grandi. Il suo apporto alla produzione non è soltanto riconducibile alle pannocchie che sviluppa, ma anche per il contributo in sostanze di riserva, carboidrati e sostanze azotate, così come per la formazione di nuove

gemme per il germogliamento dell'anno successivo. Il germogliamento estivo e la velocità di crescita dei germogli fa sì che difficilmente le gemme raggiungano la maturità sufficiente per sviluppare germogli di qualità l'anno successivo. Il germogliamento estivo è più consistente di quello autunnale, ed è meno rilevante ai fini colturali.

Nei climi caldi, come in altre specie, il numero di germogliamenti annui è multiplo, e nonostante tutte le gemme soffrono un periodo più o meno lungo di latenza, l'attività vegetativa della pianta non cessa. Alcuni mutanti del nespolo del Giappone come la cv "Piera" possono comportarsi in questa maniera anche se coltivati in condizioni di clima temperato (Reig e Agusti, 2006).

L'accrescimento delle foglie del nespolo del Giappone, nei climi temperati, fino alla maturità ha una durata di 3-4 mesi, in funzione della temperatura. Inizialmente presentano una tomentosità diffusa su entrambe le pagine, però con il tempo permane solo nella pagina inferiore. Le loro dimensioni e la densità sono proprie di ciascuna cultivar e vanno relazionate alle dimensioni del frutto e alla capacità di allegagione dello stesso. Lo zucchero più rappresentativo nelle foglie adulte di nespolo è il sorbitolo, rappresentando il 60-75% del totale degli zuccheri. Questi livelli si raggiungono in inverno prima che il frutto inizi la sua fase di sviluppo lineare in primavera, quando raggiunge le dimensioni definitive, e all'inizio della primavera in piena fase di accrescimento. Il contenuto totale degli zuccheri segue la stessa tendenza del sorbitolo. Il secondo zucchero in ordine di importanza è il saccarosio (18-36% del totale). I valori estremi del saccarosio seguono temporalmente quelli del sorbitolo, anche se la fase di calo è meno pronunciata e prolungata nel tempo. Il fruttosio presenta valori relativamente bassi durante il periodo di accrescimento del frutto, e inoltre non se ne rileva la presenza durante le tre settimane prossime al cambio di colore del frutto. Altresì nella settimana successiva al cambio di colore si registra il contenuto massimo (12,1% sul totale).

## 2.5 SVILUPPO RADICALE

Le radici del nespolo presentano tre periodi di attività ben differenziati. Iniziano il proprio sviluppo allo stesso tempo del germogliamento primaverile, momento in cui il frutto si

trova in pieno sviluppo. Quando inizia il cambio di colore nel frutto, le radici bloccano il loro accrescimento e lo riprendono quando si completa la maturazione, ovvero, approssimativamente, un mese prima dell'inizio del germogliamento estivo (Agusti *et al.*, 2006).

In estate ed in coincidenza con la fine del germogliamento estivo, le radici bloccano un'altra volta il proprio accrescimento, parallelamente alla fermata estiva, e lo riprendono in coincidenza con l'inizio del germogliamento autunnale.

Alla fine dell'autunno, l'accrescimento delle radici cessa e queste si mantengono inattive durante tutto l'inverno fino a riprendere il ciclo con il germogliamento dell'anno successivo.

Contrariamente a ciò che succede nelle altre specie arboree da frutto, lo sviluppo radicale del nespolo è coincidente con lo sviluppo vegetativo, ed in particolare durante i germogliamenti estivi ed autunnali (UPOV, 1995). Durante il germogliamento primaverile questa situazione non è ancora chiara, probabilmente perchè il frutto si trova in pieno sviluppo, e rappresenta un sink più potente della radice.

## 2.6 FIORITURA

### Induzione e differenziazione fiorale

Sotto il termine di induzione fiorale rientrano tutti i cambi che si hanno nel meristema primario che portano alla formazione di un fiore o di una infiorescenza. Nelle specie legnose si è studiato questo fenomeno sotto il punto di vista nutrizionale, però non si sono incontrate delle relazioni convincenti tra la fioritura con il livello di riserve, con il metabolismo degli zuccheri e con la nutrizione minerale. Alcuni studi suggeriscono un'alterazione del meccanismo della riduzione di nitrati in piante incapaci di fiorire e con un'intensità di fioritura bassa, però non sono ancora confermati. D'altro canto si è suggerito che il processo è regolato ormonalmente e nel mango (*Mangifera indica* L.) esiste qualche evidenza dell'esistenza di uno stimolo fiorale prodotto dalle foglie e trasmissibile per innesto, ma realmente non si conosce nessuna sostanza chimica che

funge da messaggero nello sviluppo dei fiori; tuttavia, si conoscono ormoni capaci di impedirlo. Sotto questo punto di vista, attualmente il processo della fioritura si considera più come un processo inibitorio che inibente, ovvero passato il periodo giovanile, tutte le gemme hanno le informazioni sufficienti per sviluppare fiori e sono costantemente indotte; se non fioriscono è perchè alcuni fattori inibitori lo impediscono, e questo aspetto incide in maniera quantitativa (Martinez-Fuentes et al., 2004).

Nel melo (*Malus domestica* Borkh), affinché il meristema terminale di un ramo sviluppi fiori è necessario che si formino un numero critico di nodi, nel caso specifico 20. Dato che il periodo di accrescimento è limitato nel tempo, il ritmo di produzione di nodi è un fattore determinante dell'induzione fiorale. Il tempo che intercorre tra l'iniziazione dei due primordi fogliari prende il nome di plastocrono; quando questo è molto corto le gemme si sviluppano vegetativamente nello stesso anno, mentre quando questo è superiore a 9 giorni la gemma non raggiunge mai lo stato necessario per essere recettiva all'induzione fiorale. In questo senso, si è suggerito che le giberelline possono allungare il plastocrono e inibire indirettamente la fioritura (Agusti et al., 2006).

Basandosi sull'idea che la fioritura è un processo inibitorio, attualmente si conosce con relativa precisione il momento del ciclo vegetativo nel quale entrano in azione i fattori inibitori con maggiore efficacia, e pertanto quelli che possono impedire volontariamente la fioritura. Si conosce da un lato l'influenza dei frutti, in termini di quantità e permanenza sull'albero, e da un altro l'azione inibente dovuta alla somministrazione di acido giberellico, inibizione questa che si riscontra nella maggior parte dei fruttiferi delle Rosacee. In piena primavera si sono raggiunte le correlazioni più alte tra intensità di fioritura e numero di frutti per albero o i giorni di permanenza di frutto nell'albero, e con la concentrazione di acido giberellico applicate. Nel nespolo, tuttavia, l'applicazione di 200 mg/l di acido giberellico tra la metà di luglio e la metà di agosto, a seconda della varietà, inibisce significativamente la fioritura dell'anno successivo, secondo quanto si è visto da un esperimento condotto in Cina (Yang et al., 2006); allo stesso modo, l'applicazione di 1 g/mq di pacobutrazolo (un inibitore della sintesi di giberelline) al suolo è risultata efficace per aumentare la fioritura (Liu et al., 2006).

Nelle zone temperate il germogliamento primaverile differenzia l'asse principale delle pannocchie a metà dell'estate e gli assi secondari approssimativamente 15 giorni dopo. A fine estate si differenziano i sepalì e i petalì; gli stami e i pistilli all'inizio dell'autunno e i nuclei spermatici e gli ovuli in pieno autunno (Li, 1982). Dal momento della differenziazione piena fino all'antesi trascorrono mediamente tre mesi. I germogli estivi differenziano le proprie infiorescenze circa un mese dopo che quelli primaverili, però l'antesi si ha nella stessa epoca; i fiori sono pertanto più piccoli e producono frutti di minor qualità. L'antesi dei fiori in una pannocchia segue un ordine rigido. La fioritura del nespolo si estende per 1,5 e 2,5 mesi, eccezionalmente 3, nei climi temperati.

### Fenologia

Nelle Pomacee come in altre specie frutticole, gli stadi fenologici sono stati descritti secondo le caratteristiche morfologiche ed anatomiche, legandole all'area di coltivazione delle specie, senza però analizzare gli aspetti fisiologici dello sviluppo. Quasi tutti i lavori si basano sull'esperienza di Fleckinger (1948), che ha determinato delle scale di classificazione fenologiche individuando degli stadio-tipo per ciascuna specie frutticola; queste scale permettono di identificare le differenze tra le specie, ma non permettono una comparazione durante lo sviluppo.

Per la classificazione degli stadi fenologi del nespolo, Espinosa *et al.* (1997) si sono basati sui lavori di Fleckinger, mantenendo quindi le limitazioni descritte. La scala di classificazione BBCH (Bleholder, van den Boom, Langeluddeke & Stauss, 1991; Lancashire *et al.*, 1991) è attualmente quella più utilizzata per la classificazione di una vasta gamma di piante ed erbe spontanee. Si tratta di una scala decimale a due codici numerici, dove il primo codice identifica lo stadio principale, ed il secondo uno stadio secondario all'interno di un determinato stadio principale.

La scala BBCH è stata adattata da Martinez-Calvo *et al.* (1999) alla descrizione degli stadi fenologici del nespolo. In questa specie la fase vegetativa si estende dall'autunno fino all'estate successiva e la fase riproduttiva dall'autunno all'inverno. Non è ben identificabile un periodo di caduta delle foglie e la senescenza di queste si manifesta nel corso di tutto l'anno. Per distinguere i differenti eventi che hanno luogo durante la fase

vegetativa, gli autori utilizzano tre mesostadi (1-3), corrispondenti all'accrescimento autunnale, primaverile ed estivo. Per la fase riproduttiva si utilizza il mesostadio 0.

- Stadio principale 0: "sviluppo della gemma" (es. 011 "Latenza autunnale)
- Stadio principale 1: "sviluppo della foglia"
- Stadio principale 3: "Sviluppo del germoglio"
- Stadio principale 5: "Sviluppo dell'infiorescenza"
- Stadio principale 6: "Fioritura"
- Stadio principale 7: "Sviluppo del frutto"
- Stadio principale 8: "Maturazione del frutto"

Nel caso del nespolo esistono variazioni temporali rilevanti tra le differenti cultivar. Martinez-Calvo *et al.* (1999) hanno studiato l'inizio e la durata degli stadi fenologici della cv più precoce ("Cardona") e della più tardiva ("Sanfilippo"). Sono state evidenziate differenze tra 2 e 6 settimane sia nell'inizio del rigonfiamento delle gemme (stadio 501), sia nell'inizio della fioritura (stadio 601) tra le due cultivar in questione. Inoltre, l'inizio dello sviluppo del frutto si ha 11 settimane prima nella "Cardona" rispetto alla "Sanfilippo", ed i frutti maturano quattro settimane prima. Allo stesso modo, lo sviluppo delle foglie della cv "Cardona" avviene in anticipo di 8 giorni in autunno, di 25 in primavera e di 21 in estate.

## 2.7 ALLEGAGIONE

Nonostante il nespolo sia una specie autocompatibile, esistono alcune varietà parzialmente auto incompatibili ed altre auto incompatibili. In ogni caso, si è osservato che l'impollinazione incrociata migliora la produzione tra il 15 ed il 20%, nonostante non si conosca il periodo di impollinazione effettiva di questa specie (Cuevas *et al.*, 2003). L'impollinazione incrociata è garantita da pronubi della famiglia Apidae. In condizioni ottimali di impollinazione la percentuale di allegazione non è molto elevata, tra il 10 ed il 15% dei fiori formati inizialmente; dopo l'allegazione non esiste una abscissione naturale dei frutti in sviluppo, come nelle altre specie delle Rosacee.

Durante l'allegazione dei fiori e l'accrescimento iniziale dell'ovario, il contenuto ormonale in acido indolacetico (IAA), acido abscissico (ABA) e citochinine raggiunge il livello massimo, e si ha anche la produzione di una piccola quantità di etilene (Ding e Zangh, 1988). È stata anche confermata la presenza di giberelline nei semi immaturi (Koshioka *et al.*, 1988). L'applicazione di acido giberellico (AG) ad una concentrazione di 60 mg/l, nel momento in cui i fiori cominciano a mostrare i petali (stadio 505-507) aumenta significativamente la percentuale di fiori che allegano. Anche l'acido naftalenacetico e l'acido 2,4,5-triclofenossiacetico, applicati in concentrazioni tra 10 e 40 mg/l si sono mostrati efficaci (Agusti *et al.*, 2006).

L'AG è stato utilizzato per indurre partenocarpia nel nespolo (Muranishi 1983). Trattamenti con 250-500 mg/l negli stadi precoci dello sviluppo dei fiori (504-507) si sono dimostrati efficaci (Agusti *et al.*, 2010). I frutti senza semi sono più piccoli, allungati e maturano tra 4 e 5 settimane prima rispetto ai frutti con semi. L'applicazione congiunta di AG e kinetina (citochinina) permette di aumentare la pezzatura finale dei frutti, rispetto a quelli trattati solo con AG. Da un'esperienza in Cile, si è visto che trattando i frutti con citochinine nella fase secondaria dell'accrescimento del frutto, si ottengono frutti di pezzatura normale, nonostante il permanere della forma allungata. Gioca un ruolo favorevole all'aumento della pezzatura finale anche l'applicazione di auxine di sintesi (Agusti *et al.*, 2006).

Nel nespolo sono stati osservati casi di partenocarpia naturale. Si tratta, in genere, di piante triploidi ( $3n=51$ ) quindi sterili, e spontanee e che sono state selezionate come nuove varietà. In queste, i frutti sono di pezzatura ridotta, di forma allungata e a maturazione precoce. Alla base dei triploidi naturali nel nespolo ci sono l'autoimpollinazione o l'ovogenesi in assenza di meiosi (Liang *et al.*, 2006). Guo *et al.* (2006) hanno studiato la ploidia di più di 45.000 semi appartenenti a 21 varietà di nespolo e hanno identificato 311 piante poliploidi stabili, delle quali il 73% erano triploidi, il 16% tetraploidi ed il resto pentaploidi o mixoploidi.



## 2.8 SVILUPPO DEL FRUTTO

In condizioni di clima mediterraneo, l'accrescimento del frutto di questa specie inizia agli inizi di dicembre e la raccolta alla fine di aprile (Gariglio, 2002).

Secondo alcuni autori (Ateyyeh y Qrunfleh, 1998) è possibile suddividere la curva di accrescimento del nespolo in tre fasi distinte:

- una prima fase, che inizia subito dopo l'allegagione e perdura per circa sei settimane, nella quale il tasso di accrescimento del frutto del nespolo del Giappone è molto lento;
- una seconda fase di divisione cellulare che dura circa 4 settimane;
- una terza fase nella quale il tasso di accrescimento aumenta notevolmente ed il frutto cresce con grande velocità fino al raggiungimento delle sue dimensioni finali.

In meno di 60 giorni, dall'inizio di marzo alla fine di aprile, il frutto aumenta di due volte il suo peso. In questo modo, la curva di accrescimento non è paragonabile alla curva sigmoide delle Pomacee, né tantomeno alla curva a doppia sigmoide delle Drupacee ma presenta un andamento per lo più esponenziale, con un rapido tasso di accrescimento in primavera, fino alla fine dello sviluppo del frutto (Blumfieldd, 1980). Risulta evidente che l'epoca dell'anno nella quale cresce il frutto condiziona il tipo di curva di accrescimento e che il tasso di accrescimento risponde positivamente ai cambi termici tipici della fine dell'inverno/inizio primavera. Tuttavia, alcuni autori sostengono che i frutti crescono seguendo un modello sigmoide semplice tipico delle pomacee (Rodriguez, 1983; Cuevas *et al*, 2003).

- Evoluzione delle componenti del frutto

I diversi componenti del frutto seguono un'evoluzione differente. Nella prima fase di accrescimento il peso secco della polpa è superiore al peso secco del seme; successivamente però si ha un'inversione di quanto esposto, e durante la maturazione il peso secco del seme è superiore a quello della polpa. Durante la maturazione la sostanza

secca è ripartita tra polpa e seme nel rapporto 45%/55%. Il rapporto polpa/seme è sempre a vantaggio della polpa se ci si riferisce al peso fresco, soprattutto dall'invasatura in poi, dove i processi di distensione cellulare e di accumulo d'acqua nelle cellule portano ad un accrescimento repentino e notevole della polpa, che a maturazione rappresenta circa l'80% del peso fresco del frutto (Gariglio *et al.*, 2002).

A partire dall'invasatura del frutto, negli ultimi 45 giorni di accrescimento del frutto avvengono i principali cambiamenti quantitativi. Il frutto accumula l'80% del suo peso secco e l'85% del suo peso fresco. La ripartizione della sostanza secca prodotta in questo periodo è di un 63% per il seme e di un 37% per la polpa, mentre l'acqua si accumula quasi esclusivamente nella polpa (90%). Come conseguenza di questo comportamento, il seme duplica la sua percentuale di sostanza secca in questo periodo, mentre nella polpa si riduce della metà (Gariglio *et al.*, 2002).

- Evoluzione ormonale nell'accrescimento del frutto

Nella prima fase di accrescimento, durante la quale l'ovario inizia la divisione cellulare, nonostante il tasso di accrescimento sia molto basso, si riscontrano i livelli più alti di acido indolacetico (IAA), acido abscissico (ABA), e di citochinine. Durante la fase di distensione cellulare si assiste ad un calo dell'ABA, che raggiunge il suo livello minimo, ed un incremento progressivo nella produzione dell'etilene, che raggiunge il suo livello massimo, e che in seguito inizia a calare gradualmente. Alla fine della distensione cellulare si assiste ad un secondo picco nel contenuto in IAA e citochinine. Durante la fase di rapido accrescimento del frutto, l'IAA raggiunge la sua concentrazione minima, l'ABA cresce nuovamente, e si registra un secondo picco nella produzione di etilene (Ding e Zangh, 1988; Ye, 1988).

Alcuni autori (Yuda, 1987 e 1992; Koshioka *et al.*, 1992; Kraft-Klaunzer e Mander, 1992) hanno studiato la produzione di giberelline ( $GA_3$ ) nei semi immaturi e nel pericarpo del nespolo, rinvenendo 20 diverse giberelline, identificandone 14 delle quali le più abbondanti risultarono essere la  $GA_{35}$ .

- Evoluzione degli zuccheri

Lo zucchero più abbondante nella polpa durante l'accrescimento del frutto è il sorbitolo (60%), seguito da fruttosio e glucosio (15-35%) e dal saccarosio, il cui contenuto è molto fluttuante secondo l'epoca (4-45%) (Gariglio *et al.*,2002). Il cambiamento nel contenuto in zuccheri nel frutto non corrisponde a quello delle foglie, anche se nel momento in cui si registra il massimo contenuto in zuccheri nel frutto, il livello di zuccheri nelle foglie comincia a salire. A livello temporale si osserva uno sfasamento nelle risposte, per cui la diminuzione nel contenuto di zuccheri osservata nelle foglie in pieno inverno si ha 2 settimane prima della comparsa del primo picco di aumento del tasso di accrescimento del frutto. Inoltre, si assiste ad una diminuzione della concentrazione di zuccheri nelle foglie 15 giorni dopo l'invasatura del frutto. E' possibile quindi correlare la diminuzione del contenuto di zuccheri nelle foglie come risposta ad un aumento della domanda di fotoassimilati nel frutto, con un ritardo nella risposta di circa 15 giorni (Gariglio *et al.*,2002). A conferma di ciò, Hirai (1980) ha osservato che negli ultimi 15 giorni di accrescimento il frutto accumula il 90% dei suoi zuccheri. Nei semi, la concentrazione di zuccheri si mantiene costante fino a quando inizia la fase di rapido accrescimento; in tale fase la concentrazione aumenta notevolmente per diminuire progressivamente dopo fino a che il frutto non cambia colore. Anche in questo caso, lo zucchero più rappresentativo è il sorbitolo (40-60%). Nel frutto del nespolo l'accumulo di amido si osserva solo nel seme (Gariglio *et al.*,2002).

- Elementi minerali nel frutto

La concentrazione di elementi minerali nella polpa scende durante lo sviluppo del frutto raggiungendo valori più bassi in corrispondenza della maturazione. Dopo l'allegagione, l'azoto è l'elemento macronutriente presente in maggiore concentrazione nella polpa, seguito dal potassio, dal calcio, dal magnesio e dal fosforo. Ferro e rame sono invece i macronutrienti più abbondanti, seguiti dallo zinco e dal manganese (Gariglio e Agusti, 2005). L'abbassamento nella concentrazione degli elementi minerali osservati nella polpa del frutto durante l'accrescimento sono in gran parte dovuti ad un processo di diluizione più che di metabolizzazione.

## 2.9 MATURAZIONE

Alcuni autori classificano il nespolo come frutto non climaterico, perché individuano l'assenza di attività respiratoria e di un picco nella produzione di etilene sia quando ci sono i frutti che dopo la raccolta (Blumenfeld, 1980; Zheng *et al*, 1993; Hamauzu *et al*, 1997; Ding *et al*, 1998; Kader, 2002; Gonzales *et al*, 2004), altri che lo classificano come frutto climaterico poiché hanno individuato produzioni di etilene durante tutto il periodo di sviluppo del frutto (Gariglio *et al*, 2002) e picchi di produzione di etilene e del tasso di respirazione nelle fasi iniziali della maturazione (Hirai, 1980; Chanchin *et al*, 1990; Gariglio *et al*, 2002; Amoros *et al*, 2003). Nessuno dei lavori sopracitati, però, ha studiato l'evoluzione degli enzimi pectinmetilaserasi e poligalatturonasi che rendono blandi i tessuti rompendo le catene pectiniche, ed in dipendenza di questi la produzione di etilene: questo è un passaggio fondamentale per stabilire il tipo di maturazione del frutto.

Nel nespolo la colorazione dell'epicarpo avanza dalla zona stilare verso quella peduncolare. La curva acidi/zuccheri invece non segue un andamento inversamente proporzionale. Infatti mentre l'acidità libera inizia a scendere dopo il cambio di colore del frutto, l'incremento in solidi solubili totali (STT) inizia solamente dopo che l'epicarpo ha perso tutta la clorofilla (Gonzales *et al*, 2004). Questa mancanza di coordinazione tra maturazione interna ed esterna non è tipica del nespolo ma è riscontrabile anche in altre specie frutticole.

A maturazione, lo zucchero più rappresentativo è il saccarosio (37%), seguito da fruttosio e glucosio (30%) ciascuno, mentre la concentrazione del sorbitolo scende sotto il 15% (Gariglio *et al*, 2002).

Tra gli acidi contenuti nella polpa del frutto, il più abbondante è l'acido malico (0,5-2,7% del peso fresco, a secondo della cultivar), seguito dall'acido succinico (0,05-0,30%), dall'acido citrico (0,01-0,14%) e dall'acido ascorbico (<0,01-0,08%).

## 3. MATERIALI E METODI

### 3.1 MATERIALE VEGETALE

Gli esperimenti sono stati condotti su piantagioni commerciali di Nespolo del Giappone (*Eryobotrya japonica* (Thumb) Lindl.), sulle cultivar *Algerie*, *Golden Nuggets* e *San Filipparo*, in condizioni normali di coltivazione, con irrigazione e fertirrigazione localizzate.

I campi sperimentali erano siti in Callosa d'En Serria (Alicante, Spagna 38°39'; 00°07'W, alt. 162 msm), Palermo (Sicilia, Italia, 38°04'N; 13°25'E, alt. 95 msm) e Trapani (Sicilia, Italia 37° 41N; 12°47E, alt. 60 msm). Gli alberi adulti di 20-25 anni erano innestati su portainnesto franco, e allevati a forma di vaso con un franco di coltivazione variabile tra 4 x 3 m e 4 x 5 m.

### 3.2 ESPERIMENTI

- Presenza o assenza del frutto. Studio dell'albero.

Sono stati selezionati 8 alberi adulti della cv *Algerie* con produzione e volume della chioma pressoché uguali. In 4 di essi sono stati eliminati manualmente tutti i frutti nello stadio fenologico 702 della scala BBCH, mentre nei restanti 4 alberi si sono mantenuti i frutti fino alla data della raccolta. Il trattamento effettuato sul primo gruppo di alberi è stato definito 'senza frutto' (SF) mentre il secondo 'con frutto' (CF). All'inizio dell'esperimento sono stati selezionati 4 germogli per albero, nei quali sono stati misurati regolarmente il numero di germogli principali e anticipati, così come la lunghezza degli stessi ed il numero di foglie, il numero dei fiori per pannocchia principale o anticipata.

- Influenza del frutto nella ripartizione dei carboidrati

Di tutti i germogli etichettati degli alberi CF e SF sono stati prelevati regolarmente campioni di foglie, floema, frutti e di radici per l'analisi dei carboidrati. Inoltre sui campioni di foglie e radici è stato determinato anche il contenuto in amido.

I campioni sono stati prelevati periodicamente seguendo stadi fenologici ben precisi dei germogli e nello specifico:

- ✓ *Stadio fenologico 703 della scala BBCH*: approssimativamente quando il frutto raggiunge circa il 30% delle sue dimensioni finali.
- ✓ *Stadio fenologico 705 della scala BBCH*: approssimativamente quando il frutto raggiunge circa il 50% delle sue dimensioni finali.
- ✓ *Stadio fenologico 707 della scala BBCH*: pieno accrescimento esponenziale del frutto.
- ✓ *Stadio fenologico 709 della scala BBCH*: approssimativamente quando il frutto raggiunge circa il 90% delle sue dimensioni finali.
- ✓ *Stadio fenologico 801 della scala BBCH*: in corrispondenza del cambio di colore del frutto.
- ✓ *Stadio fenologico 809 della scala BBCH*: in corrispondenza della maturazione fisiologia del frutto. Quando il frutto è pronto per la raccolta ed il consumo.
- ✓ *Stadio fenologico 325 della scala BBCH*: pieno sviluppo vegetativo. Il germoglio ha raggiunto circa il 50% del suo sviluppo finale.

- *Determinazione analitica dei carboidrati*

Dei campioni prelevati in campo sono stati separati i vari tessuti (foglie, floema, xilema, frutti, foglie e radici) e congelati immediatamente con azoto liquido, trasportati in laboratorio a bassa temperatura (più o meno 5 °C) e successivamente liofilizzati.

Partendo da 100 mg di tessuto vegetale liofilizzato e triturato finemente, si è proceduto con l'estrazione degli zuccheri. A ciascun campione è stato aggiunto 1 ml di etanolo all'80% e 100 µl di una soluzione composta da 60 mg/l di D-mannitolo (Sigma-Aldrich) che è stato usato come standard interno, perchè non esistente nei tessuti vegetali del

nespolo, per correggere le possibili perdite di zuccheri durante i processi di estrazione purificazione degli stessi.

Dopo l'omogeneizzazione il campione è stato riscaldato in un bagno termostatico a 85°C per 5 minuti. L'omogeneizzato è stato successivamente centrifugato a 12.000 rpm per 10 minuti in una centrifuga Pselecta meditronic –BL e il supernatante raccolto posto in un tubo eppendorf. L'estrazione è stata ripetuta in totale tre volte. Il supernatante risultante è stato evaporato in condizioni di vuoto in uno Speed-vac (Savant ®) a 40°C, fino ad ottenere un volume di 0,5 ml.

L'estratto vegetale è stato purificato con un filtraggio attraverso una colonna di resina. La resina cationica "Dowex" 50Wx8-100 (Acros organics) disciolta in HCl 2N, e l'anionica "Dowex" 1x4-100 (Fluke chemie GMBH) mesh, disciolta in Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1M. Prima dell'uso, le resine sono state portate ad un pH tra 4,5-5 (Mehouachi et al, 1995) per la resina cationica ed un pH tra 7,5-8 per la resina anionica mediante successivi lavaggi con acqua Milli-Q.

Il campione è stato fatto passare per dei filtri di nylon di 0,45 µm ed un filtro C-18. Il campione purificato è stato successivamente evaporato in uno Speed-Vac fino ad ottenere un residuo solido di zuccheri che, in seguito si è disciolto in 100 µl di acqua mQ.

Per la determinazione dei carboidrati presenti nel materiale vegetale, sono stati iniettati 20 µl di questa soluzione in un HPLC (High Performance Liquid Chromatography) Spectra Sistem®, dotato di un rifrattometro differenziale R150, una pompa da vuoto P2000 e un sistema di elaborazione dei dati Chrom Quest per Windows NT. La colonna utilizzata era del tipo Waters<sup>TM</sup> Sugar-Pak<sup>TM</sup> e adattata ad una pre-colonna del tipo Sugar-Pak<sup>TM</sup> II Guard- Pak<sup>TM</sup>. Il sistema aveva incorporato un fornello riscaldatore del tipo CROCO-CIL® che avvolgeva la colonna dell'HPLC e raggiungeva una temperatura di 85°C. Il solvente utilizzato era acqua Milli-Q, ad un flusso di 0,5ml/min.

Gli zuccheri ottenuti sono stati identificati per comparazione con il tempo di ritenzione dei campioni di standard puro e concentrato, per estrapolazione con la curva di calibrazione elaborata con concentrazioni conosciute di ciascuno zucchero. Si è utilizzato

un fattore di correzione dipendente dal recupero del D-Mannitolo e i risultati sono stati espressi in grammi di zucchero per 100g di materia secca.

Per la determinazione dell'amido si è diluito con acqua Milli-Q, fino ad un volume di 6 ml, il residuo solido dei campioni vegetali ottenuto dopo l'estrazione degli zuccheri con etanolo. Il campione così diluito è stato successivamente sterilizzato in autoclave (P selecta) per 2 ore a 130°C e ad una pressione tra 1.2 e 1.5 bar. I tubi autoclavati sono stati centrifugati a 4500 rpm in una centrifuga P Selecta Meditronic BL e si portato il volume di acqua di ogni tubo fino a 2 ml approssimativamente.

Successivamente sono stati aggiunti 0,2 ml di fucosio a concentrazione pari a 30 mg/ml, 0,5 ml di una soluzione tampone di acetato sodico a pH 4.5 (40% acido acetico 0.2 M e 60% acetato sodico 0.2 M) e 1 ml di soluzione di enzima amiloglucosidasi di *Rhizopus mold* (Sigma Quimica) di concentrazione pari a 60 mg/ml. Si è lasciato agire l'enzima per 2 ore in un bagno a 55°C, per idrolizzare l'amido in glucosio, agitando ogni tanto con l'agitatore del bagno. Si è poi centrifugato per 30 min a 4500 rpm per raccogliere il sovrantante in tubi di vetro Pirex-18. Poi è stata fatta evaporare l'acqua in uno Speed Vac (Savant Holbrook, NY) fino a ad avere un residuo secco. In seguito è stato aggiunto 1 ml di acqua Milli-Q a ciascun tubo, ed infine si è centrifugato ogni campione per 20 minuti a 12000 rpm in una centrifuga P-selecta Meditronic-BL. In ultimo si è filtrato tutto con un filtro C-18 e con uno da 0,45 µm. Sono stati iniettati 20 µl di questa soluzione nel HPLC per quantificare il glucosio liberato. I risultati sono stati espressi in mg di glucosio liberato per g di materia secca.

- L'influenza del frutto nella mobilitazione della frazione azotata

Gli stessi germogli utilizzati per prelevare campioni negli alberi con tutti i frutti (CF) e senza frutti (SF) per la determinazione dei carboidrati, sono stati utilizzati per l'analisi della frazione azotata.

- *Determinazione analitica dell'azoto proteico e dell'azoto ammoniacale (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>).*



L'estrazione della frazione di azoto proteico e di azoto ammoniacale si è basata sulla metodologia proposta da Maquiera *et al.* (1980). Sono stati pesati 0,5 g di campione liofilizzato e tritato finemente, e sono stati aggiunti 10 ml di acido tricloroacetico freddo al 5% (TCA 5%-T6399 SIGMA-ALDRICH) per far precipitare la frazione proteica. La sospensione è stata agitata per 15 minuti in un agitatore magnetico multiplo (RO5-IKA WERKE), e di seguito sono stati aggiunti 30 ml di TCA 5%, ed il campione posto in un frigo a 4°C per 15 minuti.

Di seguito, si è proceduto al filtraggio mediante un imbuto con carta da filtro (Schleicher y Shvell, di 90 mm), raccogliendo il filtrato in un matraccio per sottoporlo successivamente all'estrazione della frazione ammoniacale. Si è inoltre realizzato un lavaggio del recipiente dove era contenuto il campione prima del filtraggio con 10 ml di Acido tricloro acetico (TCA) 5% freddo, passandolo anche attraverso il filtro ed in seguito si è lavato l'imbuto per 3 volte con 10 ml di TCA 5% freddo. Dopo l'ultimo lavaggio si è lasciato percolare il residuo per circa 15 minuti.

L'insieme del residuo solido e della carta da filtro è stato introdotto in un tubo da digestore Tecator® (Foss, Hoagans, Svezia). Nel tubo sono stati aggiunti 3 g di una miscela di catalizzatore composta da solfato di potassio ( $K_2SO_4$ ) (SIGMA), solfato di rame ( $CuSO_4$ ) 99% (SIGMA) e selenio (Se) metallico, in polvere purissima (Panreac), in una proporzione 10:1:0,1, rispettivamente; inoltre sono stati aggiunti 10 ml di acido solforico 96% (Panreac 131058) e 10 ml di perossido di idrogeno 35% (Scharlau HI 0138, Reagent grade). Il tubo Tecator® si è poi introdotto in un digestore a 450°C per 30 minuti. Successivamente si sono aggiunti 50 ml di acqua distillata a ciascun tubo e si è distillato il tutto in un distillatore Foss Kjeltac 2200 Auto Distillation®, in una corrente di vapore per 4 minuti, utilizzando NaOH 4% come alcalinizzante, acqua distillata ed una soluzione di acido borico+indicatore (acido borico 2%, rosso di metile, verde di bromo cresolo; laboratorio MALAB). Il distillato è stato titolato con acido cloridrico 0,1N, fattore 1. Parallelamente si è realizzato un campione da utilizzare come "bianco".

La percentuale di azoto proteico (AP) si è calcolata con la seguente equazione:

$$\% AP = \frac{\text{ml HCl} \times \text{fattore dell'HCl} \times \text{la normalità dell'HCl} \times 1000 \times 14}{1000 \times \text{peso campione originale (g)}}$$

Si è prelevata un'aliquota di 10 ml dei campioni conservati in frigo e usando un campionatore automatico 5027 Sampler dell'apparecchio Fastar 5000 Analyzer® munito di una cassetta di ioni ammonio ( $\text{N-NH}_4^+$ ), seguendo la metodologia proposta da Raigon *et al.* (1992) e Foss Tecator AB (2000) si è determinata la concentrazione di  $\text{N-NH}_4^+$ .

L'ammoniaca ottenuta e disciolta per mezzo del 'reattivo 2' (Sulfanilammide), con il quale reagisce producendo un cambio di colore si quantifica per spettrofotometria ad una lunghezza d'onda di 590 nm,

I reattivi utilizzati sono stati:

Solvente: acqua mQ;

Reagenti: NaOH (Reattivo 1) e soluzione indicatrice (Reattivo 2). La soluzione indicatrice si è preparata diluendo 10 ml della soluzione madre indicatrice (Indicator Stock Solution) in 500 ml di acqua mQ. La soluzione madre indicatrice si è preparata dissolvendo 1 g dell'ammonio indicatore in 10 ml di NaOH 0,01 M e 10 ml di etanolo 95% e alla fine portato a volume fino a 200 ml con acqua mQ.

L'apparecchio richiedeva una calibrazione, prima di ciascun analisi, per la quale si sono preparati i seguenti standard di calibrazione a differente concentrazione in mg/l: 0-0.1-0,3-0,7-1-1,5-2-4, della Standard Stock Solution 1000 mg/l di  $\text{NH}_4^+$  (SSS) e della Interim Stock Solution 20 mg/l di  $\text{NH}_4^+$  (ISS).

- *Determinazione analitica dei Nitrati ( $\text{N-NO}_3^-$  e  $\text{N-NO}_2^-$ ).*

L'estrazione dei nitrati e dei nitriti si è basata sulla metodologia proposta da Belijaars *et al.* (1994) e FOSS Tecator AB (2001). Sono stati pesati 0,5 g di campione precedentemente liofilizzato e tritato di foglie, xilema, frutti, radici e successivamente sono stati aggiunti ad esso 50 ml di acqua mQ. La sospensione è stata agitata per 30 minuti in un agitatore magnetico multiplo (RO5-IKA WERKE) ed è stata filtrata mediante un imbuto con carta da filtro da 90 mm (Schleicher y Shvell). Il filtrato è stato raccolto in un matraccio dal quale si

è prelevata una aliquota di 10 ml, posta in una provetta di plastica e inserito nel campionatore automatico 5027 Sampler dell'apparecchio Fiastar 5000 Analyzer® munito di una cassetta corrispondente alla determinazione dello ione ( $\text{N-NO}_3^-$ ) e ( $\text{N-NO}_2^-$ ) seguendo la metodologia proposta da Foss Tecator (2001). Le cassette di  $\text{NO}_3^-$  e di  $\text{NO}_2^-$  includono una colonna di riduzione di cadmio, il cui scopo è ridurre tutti i nitrati a nitriti, e una membrana di dialisi per purificare il campione. I nitriti reagendo con il sulfanilammide (Reattivo 2) e con il NED (Reattivo 3) generavano una colorazione rosso porpora che si è misurata con uno spettrofotometro ad una lunghezza d'onda di 540 nm. I reattivi utilizzati sono i seguenti:

Mezzo: Acqua mQ.

Reagenti:  $\text{NH}_4\text{Cl}$  a pH 8.5 (Reattivo 1), sulfanilammide (Reattivo 2) e NED (Reattivo 3).

L'apparecchio richiedeva una calibrazione, prima di ciascuna analisi, per la quale sono stati preparati degli standard di calibrazione a differente concentrazione in mg/l: 0-0.1-0,3-0,7-1-1,5-2-4, della Standard Stock Solution 1000 mg/l di  $\text{NH}_4^+$  (SSS) e della Interim Stock Solution 20 mg/l di  $\text{NH}_4^+$  (ISS).

#### - L'influenza del frutto nel bilancio ormonale

A partire da 100 mg di campione liofilizzato e tritato finemente si è realizzata l'estrazione dell'acido abscissico (ABA), acido indolacetico (IAA) e della zeatina, con 2 ml di metanolo all'80%. Si è agitato varie volte e si è lasciato in agitazione per 24 ore a 4°C. Successivamente si è eseguita una centrifugazione a freddo (4°C) a 13000 RPM per 10 minuti e si è raccolto il supernatante in un tubo di prova silanizzato.

Il residuo solido si è diluito in un ml di metanolo al 100%, si è agitato varie volte e si è lasciato riposare per 60 minuti. Si è ricentrifugato a freddo (4°C) a 13000 rpm per 10 minuti ed il supernatante si è aggiunto al precedente.

Si è filtrato il tutto in una nuova provetta mediante filtri da 0,45  $\mu$  e 0,22  $\mu$  e si è fatto evaporare nello Speed Vac fino ad ottenere un residuo solido. Il residuo è stato riportato in sospensione con metanolo per purificarlo con filtri C-18 e con l'HPLC (Agusti *et al*,

2007). Le frazioni dell'HPLC sono state previamente metilate e sono stati iniettati 1-2 µl di campione in un cromatografo a gas Varian Star 3400 CX accoppiandolo ad uno spettrofotometro di massa Varian Saturn da 85 Kpa di pressione e 200°C di temperatura per permettere la separazione. L'ABA, l'IAA e la zeatina sono state quantificate in base a gli standard interni che sono stati aggiunti agli estratti secondo al contenuto endogeno che si è riscontrato nella maggior parte dei campioni. Sono state aggiunte differenti quantità di [<sup>2</sup>H<sub>6</sub>]-ABA, di [<sup>2</sup>H<sub>6</sub>]-IAA e [<sup>2</sup>H<sub>5</sub>]-zeatina ai campioni come standard interni e ciascuno degli ormoni sono stati identificati in base agli ioni monitorati per reazione multipla seguendo le masse molecolari ed il metodo descritto da Agusti *et al.* (2007) e Domingo *et al.* (2009). La quantificazione di ciascun ormone è stata fatta per comparazione alla curva di calibrazione elaborata a concentrazioni conosciute.

- Eliminazione degli apici. Studio del singolo germoglio

In un altro esperimento sono stati selezionati 75 germogli in 5 alberi adulti della cv Algerie e ed in 5 della cv Golden Nugget nella parcella di Callosa d'En Sarria' (Alicante, Comunidad Valenciana, Spagna), ed in 5 alberi adulti della cv Algerie e della cv San Filipparo nella parcella di Castelvetrano (Trapani,) e Santa Maria di Gesù (Palermo, Sicilia, Italia). A 25 germogli sono stati rimossi gli apici nell'epoca dell'induzione fiorale (metà giugno), in altri 25 sono stati eliminati più avanti, in prossimità della differenziazione (fine di agosto) ed i 25 restanti sono serviti da controllo.

E' stato inoltre eseguita un'altra rimozione in 25 germogli di 5 alberi della cv Algerie in uno stadio fenologico più avanzato, ovvero quando i frutti allegati avevano raggiunto le dimensioni del 10% circa rispetto alle dimensioni finali (stadio fenologico 701 della scala BBCH).

Nel momento dell'antesi di ciascuno degli apici è stato valutato il numero di germogli sviluppati e la loro attività (riproduttivi o vegetativi), il numero di foglie e fiori di ciascun germoglio ed il numero di foglie vecchie, ovvero quelle del germoglio al quale si era rimosso l'apice. A partire da questi valori si è determinata la percentuale di germogli vegetativi e riproduttivi per ciascuno dei trattamenti di cui sopra.

Sono stati inoltre prelevati campioni degli apici e del floema dei 5 nuovi germogli vegetativi e riproduttivi sviluppatasi dal germoglio principale dopo la rimozione dell'apice in giugno o agosto, immediatamente prima del completamento della differenziazione fiorale, per l'analisi dell'ABA, dell'IAA, con il protocollo precedentemente descritto.

- Analisi statistica dei risultati

Ai risultati ottenuti si è applicata l'analisi della varianza o della regressione, con un livello di confidenza  $P \leq 0,05$ . Per la separazione delle medie si è applicato il test di Student-Newmann-Keuls. Ai valori percentuali si è applicata la trasformazione arcsen ( $\sqrt{p}$ ) per normalizzare il campione

#### 4. SCOPO DEL LAVORO (OBIETTIVI)

L'obiettivo della tesi è quello di studiare l'effetto che il frutto esercita nei confronti del germogliamento e della fioritura del Nespolo del Giappone (*Eriobotrya japonica* Lindl.) e di come i cambiamenti nutrizionali ed ormonali influenzano il processo.

## 5. RISULTATI

### 5.1 INFLUENZA DELLA PRESENZA DEI FRUTTI SUL GERMOGLIAMENTO E L'ACCRESIMENTO VEGETATIVO

L'eliminazione di tutti i frutti nelle piante (SF) ha anticipato significativamente il germogliamento delle gemme di circa 35 giorni rispetto alle piante dove i frutti sono stati mantenuti fino alla raccolta (CF). La risposta è stata immediata e a 30 giorni dall'eliminazione, approssimativamente l'80% delle gemme dei primi avevano iniziato a schiudersi, mentre nei secondi si è avuto un ritardo, approssimativamente 15 giorni prima della raccolta, quando il frutto già aveva completato l'accrescimento, con appena il 5 % delle gemme schiuse (Fig 5.1). Nel momento della raccolta, quando tutte le gemme degli alberi SF già avevano germogliato, negli alberi CF solo il 18% lo avevano fatto. Così, mentre nei primi il germogliamento si è mantenuto stabile durante lo sviluppo vegetativo e fino al momento dell'antesi, nei secondi è aumentato progressivamente durante il primo periodo fino, praticamente, ad uguagliarsi con i primi nel momento dell'antesi.

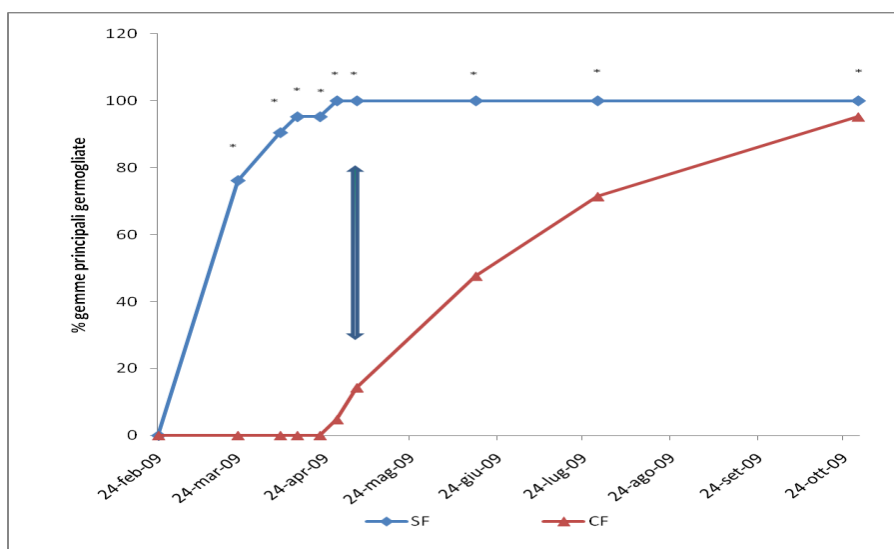


Fig. 5.1 *Influenza della presenza del frutto nel percentuale di germogliamento delle gemme principali del Nespolo del Giappone, cv Algerie. Ciascun valore è la media di 20 germogli ripartiti tra 5 alberi. Le barre verticali indicano l'errore standard. La freccia indica il momento della raccolta. CF: alberi con tutti i frutti fino al momento della raccolta. SF: alberi dove i frutti sono stati rimossi allo stadio 701 della scala BBCH. \* indica differenze significative ( $P \leq 0,05$ ) per uno stesso stadio fenologico.*

Il crecimiento dei germogli è stato influenzato anche dalla presenza dei frutti. I germogli degli alberi che hanno mantenuto tutti i frutti fino alla raccolta hanno presentato un tasso di accrescimento significativamente minore di quelli nei quali i frutti sono stati eliminati all'inizio dello sviluppo, per tutto il periodo studiato (Fig. 5.2). Così, a 30 giorni dall'eliminazione dei frutti, i germogli delle piante SF avevano già iniziato il loro accrescimento, a differenza delle piante CF dove tale inizio è stato posticipato fino al momento nel quale l'accrescimento dei frutti si era completato. Come conseguenza di ciò, approssimativamente 15 giorni prima della raccolta, il tasso di accrescimento dei primi (SF) è risultato significativamente maggiore (0,68 mm/g) rispetto ai secondi (CF; 0,26 mm/g). In entrambi i casi, i germogli hanno raggiunto il loro massimo tasso di accrescimento nel momento della raccolta. Il tasso ha subito, poi, un brusco calo nel momento del pieno accrescimento vegetativo, per poi mantenersi stabile fino al momento dell'antesi (Fig. 5.2). È da sottolineare che le maggiori differenze nell'evoluzione dell'accrescimento dei germogli di questi alberi si sono concentrate nelle prime date studiate, ovvero da quando sono stati eliminati i frutti nelle piante SF, fino a quando i frutti hanno completato i frutti nelle piante CF. Durante questo periodo il tasso di accrescimento dei germogli dei primi è risultato sempre maggiore e, a 60 giorni era di 0,52 mm/g, mentre nei secondi era ancora nullo (Fig 5.2). Ciò mette in rilievo la competizione esistente tra l'accrescimento dei frutti e la schiusura delle gemme con conseguente accrescimento iniziale degli stessi, a favore dei primi. In sintesi, l'evoluzione del tasso di accrescimento dei germogli di entrambe le piante (SF e CF) è risultata parallela, anche se ritardata nel tempo e marcatamente inferiore nelle piante CF (Fig. 5.2).



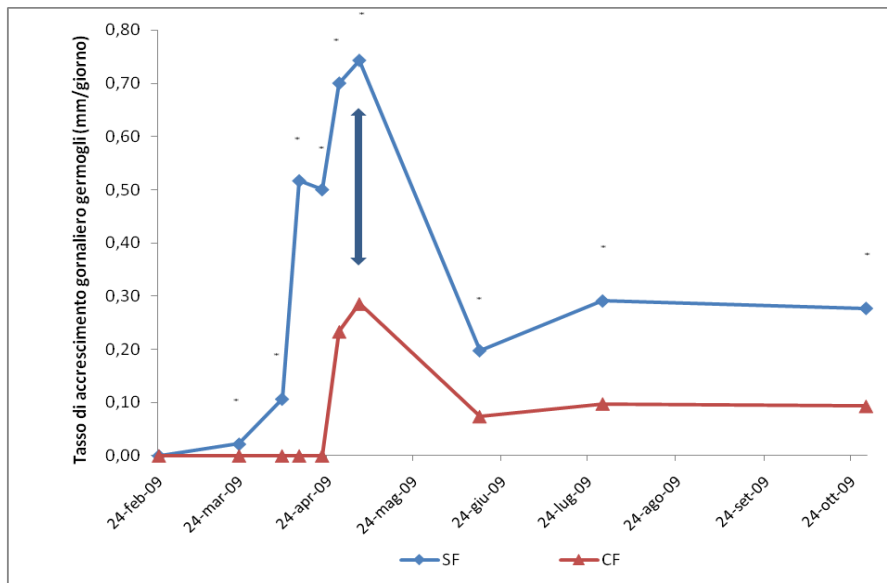


Fig. 5.2 *Influenza della presenza del frutto nel tasso di accrescimento giornaliero (mm/g) dei germogli principali del Nespolo del Giappone cv Algerie. Ciascun valore è la media di 20 germogli ripartiti tra 5 alberi.. La freccia indica il momento della raccolta. Chiave di trattamento come nella Fig 5.1. \* indica differenze significative ( $P \leq 0,05$ ) per uno stesso stadio fenologico*

Anche l'emissione di foglie ha risentito della presenza del frutto. Infatti le piante dove sono stati rimossi i frutti all'inizio dell'accrescimento (SF), oltre a un maggiore sviluppo dei germogli, hanno emesso un numero maggiore di foglie per tutto il periodo studiato, eccetto nel momento dell'antesi, dove il numero di foglie emesse è stato praticamente lo stesso (Fig. 5.3). Inoltre, l'assenza di frutti ha anche anticipato l'emissione delle foglie. Così, a 30 giorni dalla l'eliminazione dei frutti, i germogli delle piante SF già presentavano 2 foglie a differenza delle piante CF che ancora non avevano germogliato. Quarantacinque giorni dopo, ovvero quando i frutti avevano praticamente completato il loro accrescimento, si sono osservate le prime foglie nei germogli delle piante CF. Nello stesso momento nelle piante SF il numero di foglie era di 5 volte superiore (Fig 5.3). Le piante CF, di contro, hanno aumentato tanto l'intensità di emissione che nel momento dell'antesi il numero di foglie emesso dalle SF è risultato poco superiore (13,6) a quello emesso dalle CF (12,3) senza però raggiungere la significatività statistica (Fig 5.3).

L'effetto del frutto ha anche interessato la lunghezza degli internodi. Così, mentre l'intensità di emissione delle foglie nei germogli di entrambe le tesi nel momento della

piena antesi non è stato modificato dalla presenza del frutto, al contrario la lunghezza è risultata significativamente minore nelle piante CF. Come conseguenza di ciò, anche se i germogli presentavano lo stesso numero di nodi, la lunghezza degli internodi degli alberi CF è risultata molto più corta rispetto agli alberi SF (Fig. 5.3).

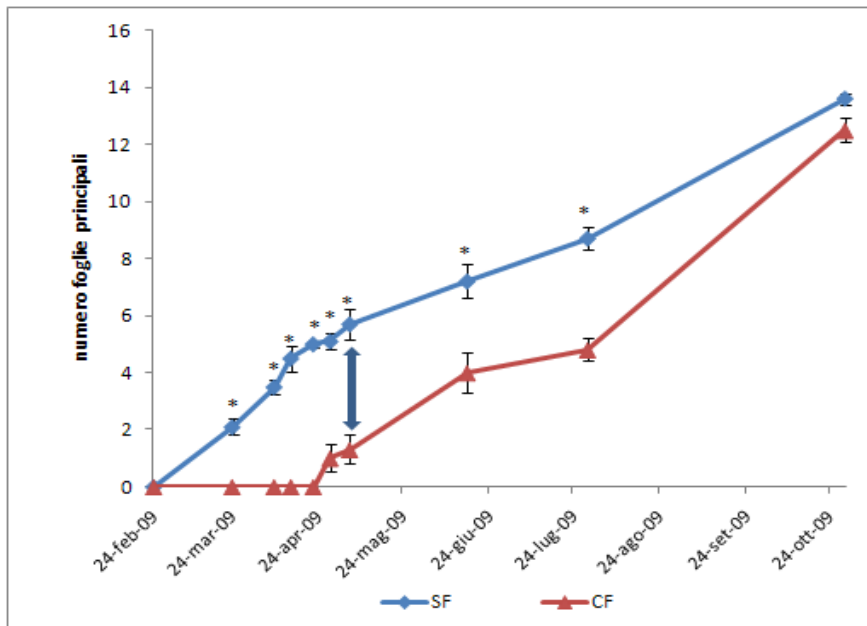


Fig. 5.3 *Influenza della presenza del frutto nel numero di foglie dei germogli principali del Nespolo del Giappone cv Algerie. Ciascun valore è la media di 20 germogli ripartiti tra 5 alberi. Le barre verticali indicano l'errore standard. La freccia indica il momento della raccolta. Chiave di trattamento come nella Fig 5.1. \* indica differenze significative ( $P \leq 0,05$ ) per uno stesso stadio fenologico.*

La presenza dei frutti fino alla raccolta ha ritardato significativamente la schiusura delle gemme anticipate o laterali dei germogli principali fino approssimativamente a 45 giorni prima dell'antesi. Negli alberi SF, al contrario, la schiusura di queste gemme è iniziata 130 giorni prima, durante il pieno sviluppo vegetativo dell'albero (Tab. 5.1). Come conseguenza di ciò, la lunghezza dei germogli anticipati ed il numero delle foglie sono

risultati più bassi e, nel momento dell'antesi, si sono misurati 13,5 cm meno che nelle SF e 6,8 foglie in meno (Tab. 5.1).

Tab. 5.1 *Influenza della presenza del frutto nel germogliamento anticipato delle gemme e nelle caratteristiche dei suoi germogli, dall'accrescimento vegetativo (325 BBCH) fino alla data di piena antesi (605 BBCH). Ciascun valore risulta dalla media di 20 germogli ripartiti in 5 alberi. La presenza di differenti lettere all'interno degli stessi stadi fenologici è indice di differenza statistica ( $P \leq 0,05$ ).*

DATA	STADIO FENOLOGICO (BBCH)	TRATTAMENTO	N° Germogli anticipati	Lunghezza germ antic (cm)	N° foglie germ anticipati
16/06/2009	325	CF	0 b	0 b	0 b
	325	SF	0,2 a	6,3 a	3 a
29/07/2009	339	CF	0 b	0 b	2,6 b
	339	SF	0,2 a	8,8 a	6,5 a
29/10/2009	605	CF	1,3 b	4,5 b	5,9 b
	605	SF	2,7 a	18 a	14,7 a

Contrariamente a quello osservato nei germogli principali, la presenza del frutto, in questo caso ha alterato il numero di germogli anticipati riducendoli del 52%. In più ha anche ridotto la lunghezza di questi ed il numero e la lunghezza degli internodi (Tab. 5.1). L'effetto del frutto sopra lo sviluppo vegetativo è quindi decisivo.

## 5.2 INFLUENZA DELLA PRESENZA DEI FRUTTI SULL'ALBERO SULLA FIORITURA

Per quel che riguarda la fioritura, la rimozione dei frutti ha influenzato in positivo l'emissione di fiori per pannocchie, siano esse principali che appartenenti a germogli anticipati.

Tab. 5.2 *Influenza della presenza sull'intensità di fioritura nel momento della piena antesi(29/10/09). Vengono riportati i giorni trascorsi dall'eliminazione , ed il numero dei fiori nelle pannocchie principali ed anticipate. La presenza di differenti lettere all'interno è indice di differenza statistica ( $P \leq 0,05$ ). Ciascun valore è la media di 20 germogli ripartiti in 5 alberi.*

TRATTAMENTO	Giorni dopo l'eliminazione	N° fiori/panicola principale	N° Fiori/panicola anticipata
<b>CF</b>	135	141,4 <b>b</b>	78,8 <b>b</b>
<b>SF</b>	240	160,2 <b>a</b>	103,7 <b>a</b>

La presenza del frutto nell'albero per più tempo, ovvero fino alla raccolta, ha ridotto significativamente il numero di fiori totali nell'albero al momento dell'antesi. L'effetto è risultato essere doppio: da un lato si è ridotto il numero di fiori delle pannocchie principali, e dall'altro il numero di fiori delle pannocchie anticipate (Tab. 5.2). La permanenza del frutto nell'albero approssimativamente 3,5 mesi in più negli alberi CF ha determinato, nel momento dell'antesi, pannocchie principali ed anticipate con 11,7% ed un 24% in meno di fiori rispetto agli alberi SF.

In definitiva, quindi, la presenza del frutto non ha modificato il numero di germogli principali, però ha influito notevolmente sulla lunghezza degli internodi, riducendola di tre volte, ha ridotto di circa la metà il numero di germogli anticipati e di quattro volte la lunghezza degli internodi, e seppur in minori misura ha ridotto il numero di fiori per pannocchia sia nei germogli principali che in quelli anticipati, con un effetto più marcato su questi ultimi.

Anche in questo caso le gemme anticipate sono risultate più sensibili all'effetto del frutto rispetto alle principali, di modo che mentre nelle prime si è ridotto il numero dei fiori di un 24%, nelle seconde la riduzione è stata appena del 11,7% (Tab 5.2). I risultati ottenuti indicano che la presenza del frutto riduce significativamente il numero di fiori totali dell'albero riducendo tanto il numero dei germogli quanto il numero di fiori dei germogli prodotti.

### 5.3 INFLUENZA DEL FRUTTO NELLA RIPARTIZIONE DEI CARBOIDRATI

La presenza del frutto negli alberi non ha determinato grosse differenze nel contenuto di zuccheri riduttori delle foglie di entrambi gli alberi, che è risultato praticamente uguale per tutto il ciclo vegetativo. Solo nello stadio fenologico 709 della scala BBCH, alla fine dell'accrescimento del frutto, si sono incontrate differenze significative tra i due trattamenti. Nello stesso stadio fenologico le foglie degli alberi SF avevano 2 mg di glucosio e fruttosio in più rispetto agli alberi CF (Fig 5.4 A). Infatti comparando gli alberi con frutto e senza frutto nelle ultime due fasi fenologiche prese in questione (809 e 325 della scala BBCH), quando nessuno dei due aveva frutti, si è osservato un contenuto pressoché uguale di glucosio e fruttosio nelle foglie (Fig 5.4 A). Tuttavia, l'effetto del frutto ha, invece, alterato significativamente il contenuto di questi zuccheri nel floema di questi alberi. L'effetto è stato così rapido che 15 giorni dopo l'eliminazione si sono incontrate le prime differenze importanti. La concentrazione degli zuccheri riduttori nel floema degli alberi CF si è mantenuta maggiore rispetto agli alberi CF fino al momento nel quale i frutti hanno raggiunto praticamente le loro dimensioni finali, abbassandosi gradualmente. Dal momento del cambio di colore, la tendenza è risultata chiaramente divergente. Mentre nelle CF la concentrazione del glucosio e del fruttosio è diminuita fino a valori minimi (11,3 mg), nelle SF al contrario si è avuto un brusco aumento fino a valori massimi di 26,78 mg. Successivamente alla raccolta, tale contenuto è diminuito significativamente fino ad uguagliarsi, praticamente, con gli alberi CF (Fig. 5.4 B).

Il calo più significativo negli alberi CF ha avuto luogo quando il frutto è passato dal 30% della sua pezzatura finale al 50%, i cui valori furono rispettivamente di 32 e 18,3 mg. Negli alberi SF, al contrario, il calo più significativo si è registrato più tardi, concretamente da quando i frutti dei CF stavano cambiando colore fino a quando hanno completato la loro maturazione (Fig. 5.4 B). Come conseguenza di ciò, nel momento del cambio di colore si è avuto un picco massimo negli alberi SF, assente nelle CF, nelle quali, al contrario, la concentrazione ha continuato ad abbassarsi (Fig 5.4 B).

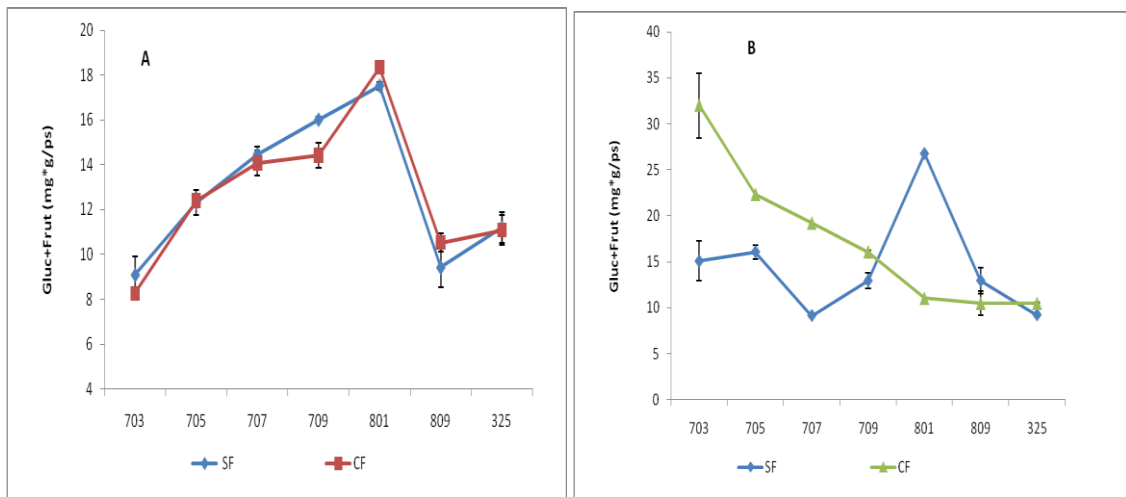


Fig. 5.4 *Influenza del frutto nell'evoluzione della concentrazione degli zuccheri riduttori (glucosio+fruttosio) nelle foglie (A) e nel floema dei germogli misti del Nespolo de Giappone cv Algerie dalle prime fasi di accrescimento del frutto fino all'inizio dell'accrescimento vegetativo. Ciascun valore è la media di 4 alberi. Le barre verticali indicano l'errore standard. L'asse delle ascisse rappresenta gli stadi fenologici della scala BBCH. Il simbolo \* indica differenza statisticamente rilevante per uno stesso stadio fenologico.*

Nelle foglie sia nel caso di piante CF che nel caso di piante SF si assiste ad un andamento pressoché simile e parallelo nella concentrazione degli zuccheri riduttori. Nelle fasi di accrescimento del frutto si assiste ad un aumento della concentrazione pressoché costante, fino al cambio di colore del frutto, momento nel quale si assiste ad un abbassamento notevole della concentrazione fino al momento della raccolta. In seguito alla raccolta la concentrazione si mantiene pressoché costante.

Analizzando la concentrazione degli zuccheri riduttori nei frutti è possibile notare una correlazione con quanto avviene nelle foglie. In entrambi i casi si è osservato un aumento progressivo della concentrazione di questi zuccheri fino al momento del cambio di colore, nel quale sono diminuiti significativamente fino a valori minimi nelle foglie mentre sono aumentati, al contrario, nel frutto fino a valori massimi (Fig. 5.5).

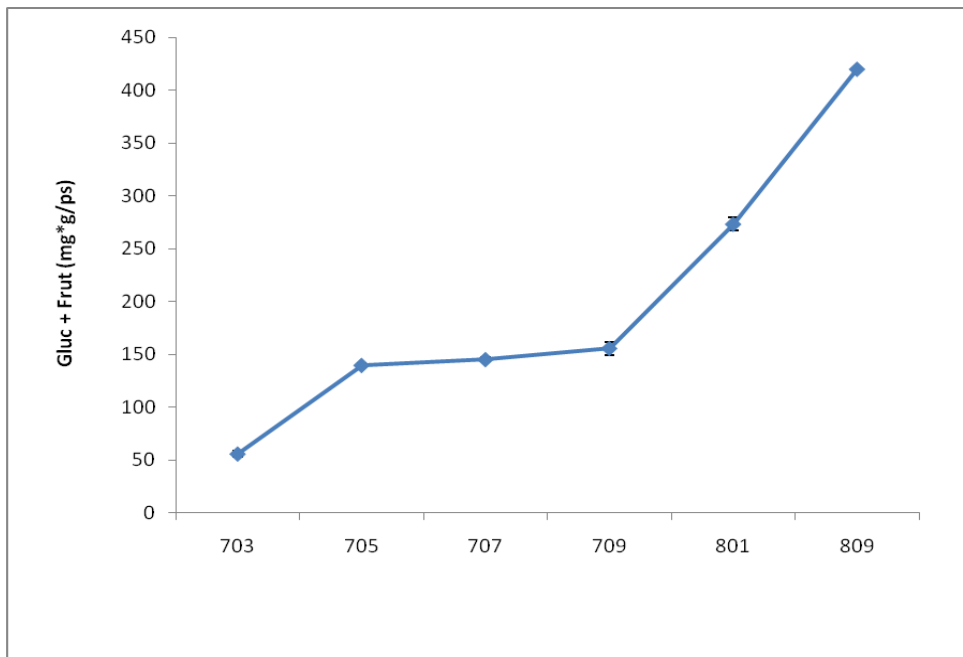


Fig. 5.5 *Evoluzione della concentrazione degli zuccheri riduttori (glucosio e fruttosio) nei frutti dalle prime fasi di accrescimento del frutto fino alla raccolta. L'asse delle ascisse rappresenta gli stadi fenologici della scala BBCH.*

La rimozione di tutti i frutti dell'albero all'inizio dell'accrescimento ha alterato il contenuto dei zuccheri di trasporto.

La presenza del frutto ha determinato una maggiore concentrazione degli zuccheri di trasporto nelle foglie degli alberi CF rispetto alle piante SF nello stadio di massimo accrescimento del frutto e dei germogli, secondo il caso (Fig 5.6 A). Tenendo conto di ciò, la completa eliminazione dei frutti degli alberi SF ha modificato appena l'evoluzione del contenuto in zuccheri di trasporto, eccetto nell'ultimo stadio fenologico studiato.

Dopo la rimozione dei frutti nelle piante CF si assiste ad un aumento molto più marcato nella concentrazione di zuccheri di trasporto rispetto alle piante SF. L'aumento di questi zuccheri osservato nelle prime date come conseguenza dell'accrescimento dei frutti, da quando questi avevano raggiunto il 30% delle loro dimensioni finali fino al completamento dell'accrescimento, è risultato significativamente superiore (48,5%) rispetto a quello registrato per l'accrescimento dei nuovi germogli (29,5%), risaltando un'altra volta la maggiore capacità "sink" del frutto rispetto ai germogli giovani. (Fig 5.6 A)

In corrispondenza delle prime fasi di accrescimento del frutto, si assiste ad una concentrazione di zuccheri di trasporto nel floema molto più elevata, circa il doppio, nelle piante CF rispetto alle SF (Fig 5.6 B). Tale concentrazione nelle piante CF tende ad abbassarsi costantemente, per poi abbassarsi repentinamente in corrispondenza di cambio di colore, per poi risalire altrettanto rapidamente nelle fasi precedenti la raccolta. Nelle piante SF l'andamento della concentrazione è completamente differente: la concentrazione tende ad aumentare leggermente fino allo stadio fenologico corrispondente alla raccolta (809 della scala BBCH) per poi abbassarsi notevolmente nelle prime fasi di accrescimento vegetativo (Fig 5.6 B).

Nelle fasi "chiave" per l'induzione fiorale è possibile notare come nelle piante dove i frutti sono rimasti sull'albero fino alla raccolta (CF), il contenuto degli zuccheri di trasporto nel floema aumenta sensibilmente in corrispondenza del cambio di colore e fino alla raccolta (801-809 scala BBCH) ed in maniera meno sensibile subito dopo la raccolta, fino alla fase di accrescimento vegetativo (325 della scala BBCH). Nelle piante SF invece avviene l'esatto contrario, ovvero inizia un leggero declino subito dopo la fase fenologica 801 e segue fino alla fase 809; dalla fase 809 fino alla fase 325 il calo nella concentrazione degli zuccheri di trasporto è più marcato.

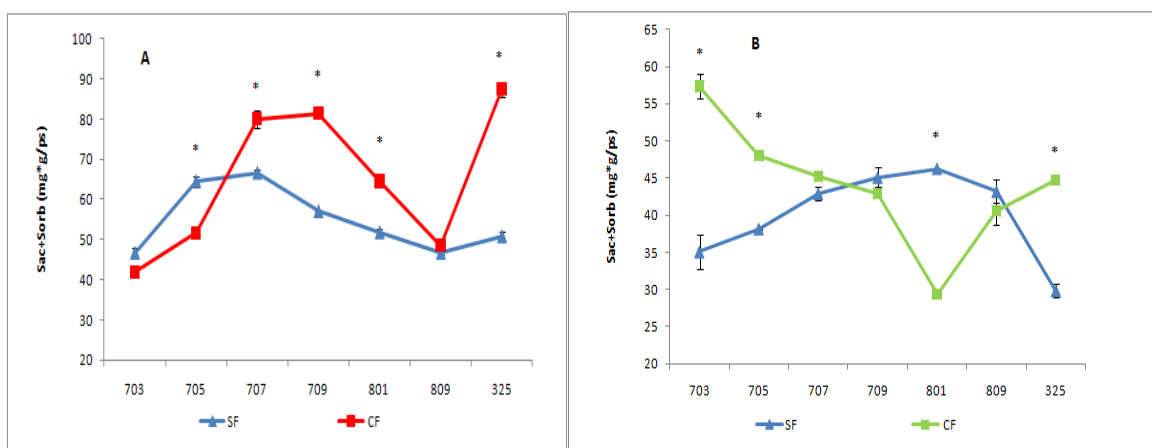


Fig. 5.6 Evoluzione della concentrazione degli zuccheri di trasporto (saccarosio + sorbitolo) nelle foglie e nel floema dei germogli misti del Nespolo del Giappone cv Algerie dalle prime fasi di accrescimento del frutto fino all'inizio dell'accrescimento vegetativo. Ciascun valore è la media di 4 alberi. Le barre verticali indicano l'errore standard.



Nei frutti, gli zuccheri di trasporto hanno seguito dinamiche esattamente opposte. Infatti mentre la concentrazione di sorbitolo si è abbassata in maniera pressoché lineare durante tutte le fasi di accrescimento del frutto sino al giorno della raccolta, le concentrazioni di saccarosio al contrario è aumentata da quando il frutto ha raggiunto il 50% delle sue dimensioni finali (stadio fenologico 705 della scala BBCH) fino alla maturazione

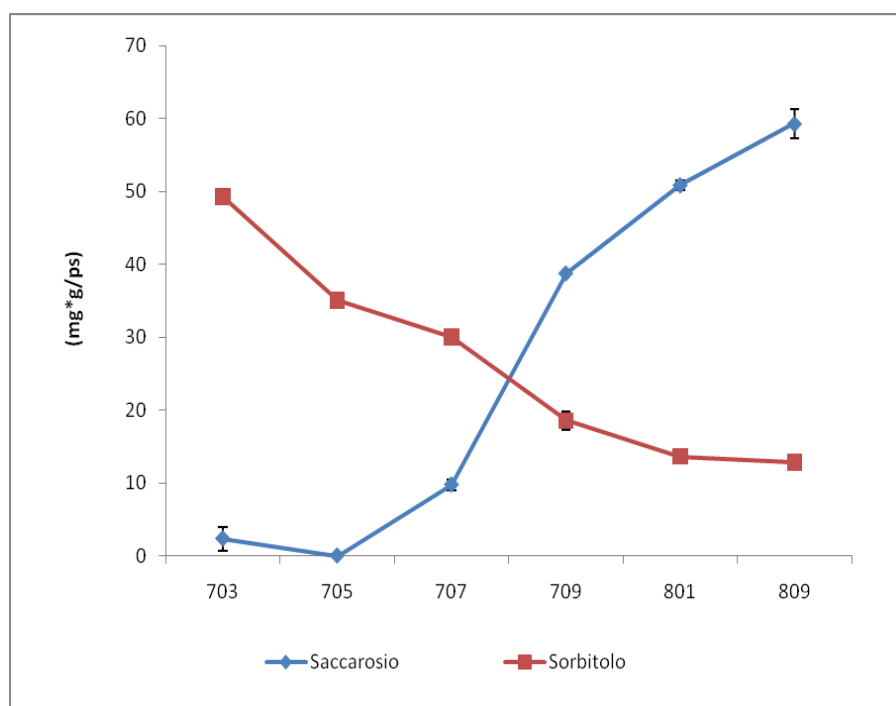


Fig. 5.7 *Evoluzione della concentrazione degli zuccheri di trasporto (saccarosio e sorbitolo) nei frutti del Nespolo del Giappone cv Algerie dalle prime fasi dell' accrescimento fino alla raccolta. Ciascun valore è la media di 4 alberi. Le barre verticali indicano l'errore standard. Chiave di lettura del grafico come nella Fig 5.4.*

Dalla concentrazione totale degli zuccheri nel floema delle piante CF alla data della raccolta (55 mg) è risultato che la maggiore concentrazione era dovuta agli zuccheri di trasporto: 47,2 % in sorbitolo, seguito dal saccarosio con un 26,6% (Fig. 5.8 A). E' interessante notare come 40 giorni dopo la raccolta la percentuale di sorbitolo è salita al 65,1%, quindi di quasi la metà, a scapito del saccarosio che si è dimezzato dal 26,6% al

12,4%. Gli zuccheri riduttori invece presentavano più o meno la stessa concentrazione nelle due date, ovvero in corrispondenza della raccolta ed in corrispondenza dell'accrescimento vegetativo. La variazione notevole di sorbitolo nel floema delle piante CF al momento della raccolta è da legare al venir meno della presenza del frutto. Come conseguenza di ciò, il floema di questi alberi ha avuto un 13,2% meno di sorbitolo che in seguito, con l'accrescimento dei gemogli, ha superato di un 2,5% quello degli alberi SF (Fig 5.8).

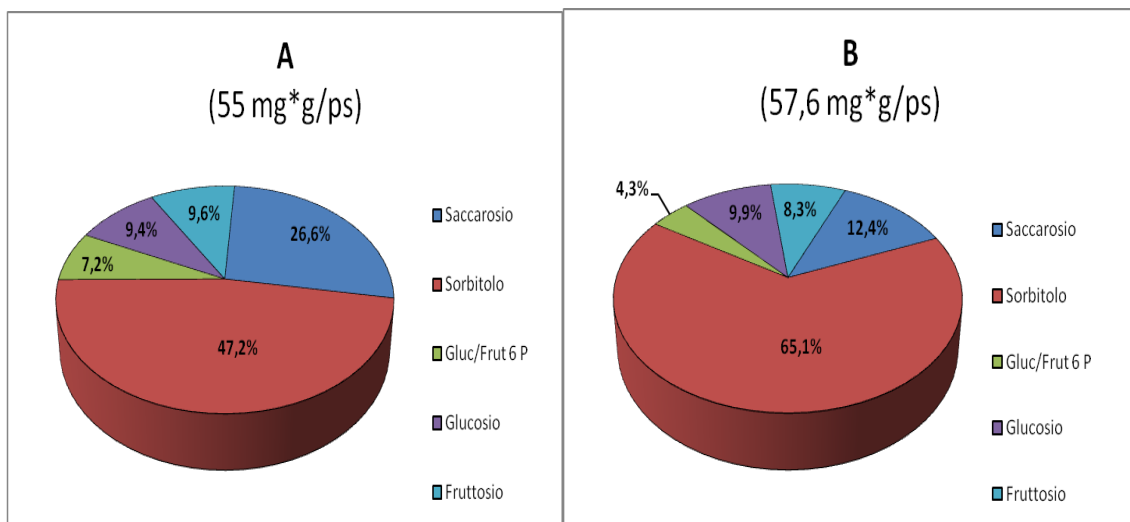


Fig 5.8 Distribuzione percentuale della concentrazione degli zuccheri nel floema degli alberi che hanno mantenuto tutti i frutti fino alla raccolta (CF) nel momento della stessa e nel pieno accrescimento vegetativo, stadi fenologici 809 (A) e 325 (B) della scala BBCH, rispettivamente.

Nelle piante dove erano stati rimossi i frutti inizialmente (SF) invece la concentrazione di sorbitolo al momento della raccolta allo stadio fenologico 809 della scala BBCH è risultata superiore del 60,4% e si è mantenuta praticamente stabile in pieno sviluppo dei germogli, ovvero nello stadio fenologico 325 della stessa scala. Questi risultati possono essere collegati al fatto che nelle piante SF l'emissione dei germogli era già in uno stadio più avanzato per l'assenza dei frutti (Fig 5.9).

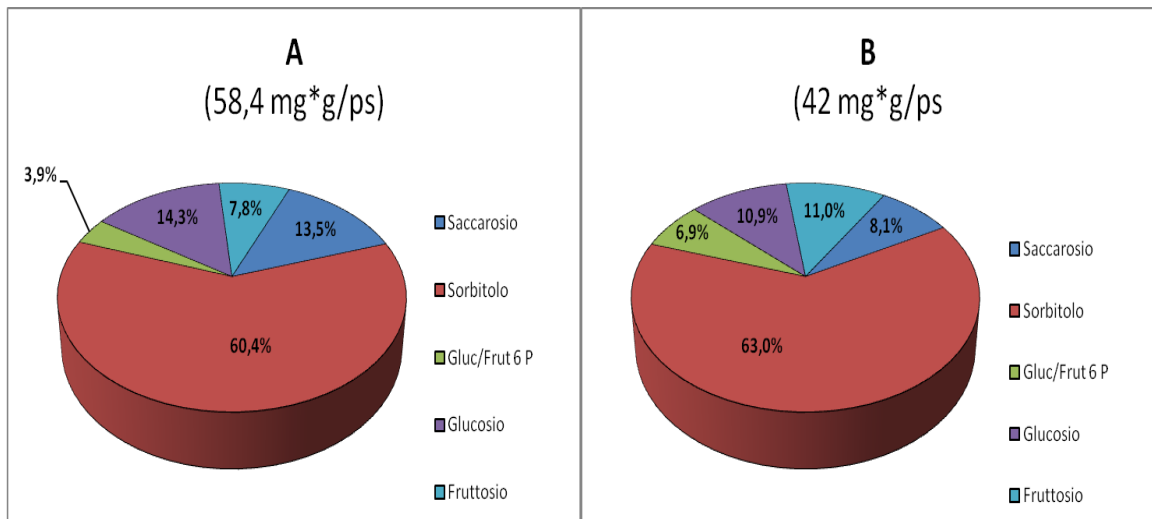


Fig. 5.9 Distribuzione percentuale della concentrazione degli zuccheri nel floema degli alberi dove tutti i frutti sono stati rimossi all'inizio dell'accrescimento (SF) nel momento della raccolta e nel pieno accrescimento vegetativo, stadi fenologici 809( A)e 325 (B) della scala BBCH, rispettivamente.

Il 49,1% degli zuccheri totali presenti nelle foglie degli alberi CF (65,2 mg) corrisponde al sorbitolo, che è risultato essere praticamente il doppio rispetto all'altro zucchero di trasporto, ovvero il saccarosio con un 25,2%. Anche gli zuccheri riduttori hanno presentato differenze nella loro concentrazione. Infatti, la concentrazione di glucosio è risultata significativamente maggiore, e superiore di un 2,4% rispetto al fruttosio. Allo stadio fenologico successivo studiato, 325 della scala BBCH, non si sono osservate grosse variazioni nella concentrazione di questi zuccheri se non un leggero aumento del sorbitolo e del glucosio-6-fosfato ed un leggero calo nella concentrazione del resto degli zuccheri studiati (Fig. 10 B). E' da notare come 40 giorni dopo la raccolta la concentrazione totale di zuccheri nelle foglie è pari quasi al doppio (112,7 mg\*g/ps) rispetto al momento della raccolta (65,2 mg\*g/ps)(Fig. 5.10).

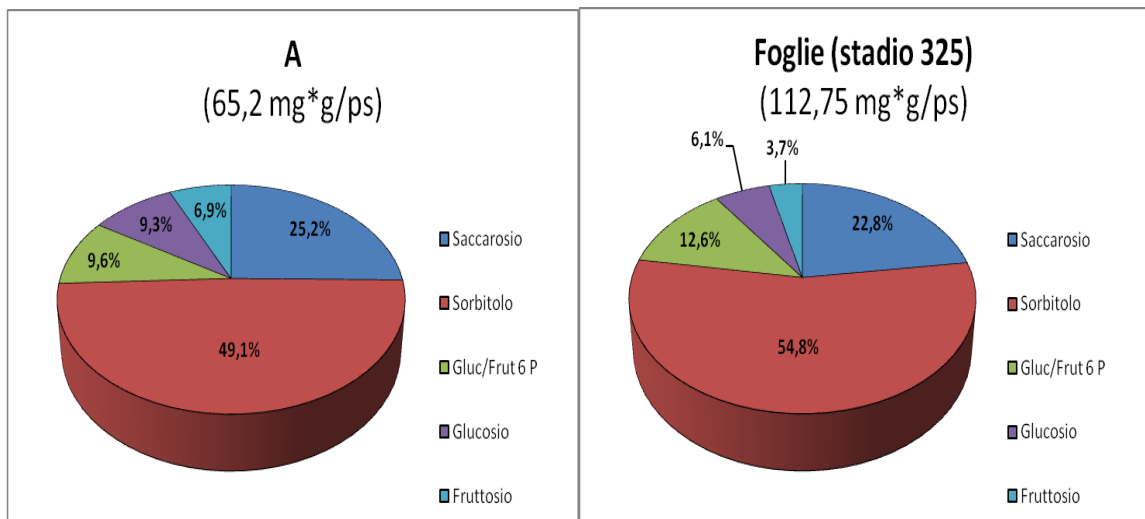


Fig. 5.10 Distribuzione percentuale della concentrazione degli zuccheri nelle foglie degli alberi che hanno mantenuto tutti i frutti fino alla raccolta (CF) nel momento della stessa e nel pieno accrescimento vegetativo, stadi fenologici 809 (A) e 325 (B) della scala BBCH, rispettivamente.

Nelle piante dove sono stati rimossi i frutti (SF) le concentrazioni fogliari degli zuccheri negli stadi fenologici studiati sono risultati pressoché simili a quelle delle piante CF, nel momento della raccolta, e non si sono avute grosse variazioni tra gli stadi fenologici 809 e 325 (Fig. 5.10 e 5.11). la maggioranza degli zuccheri, in pieno sviluppo dei germogli, si è mantenuta praticamente costante nelle foglie di questi alberi. Solo il glucosio è diminuito leggermente a differenza del saccarosio che è aumentato leggermente. In qualunque caso, il sorbitolo è risultato essere lo zucchero più importante con un 53% del totale, seguito dall'altro zucchero di trasporto, il saccarosio, con un 18%. Gli zuccheri riduttori hanno rappresentato appena l'11,3% e il 5,7%, rispettivamente di glucosio e fruttosio. Da questi risultati si deduce che l'attività delle foglie di questi alberi si è mantenuta stabile come conseguenza della costante domanda dei germogli, principali in un caso e anticipati in un altro, in sviluppo.

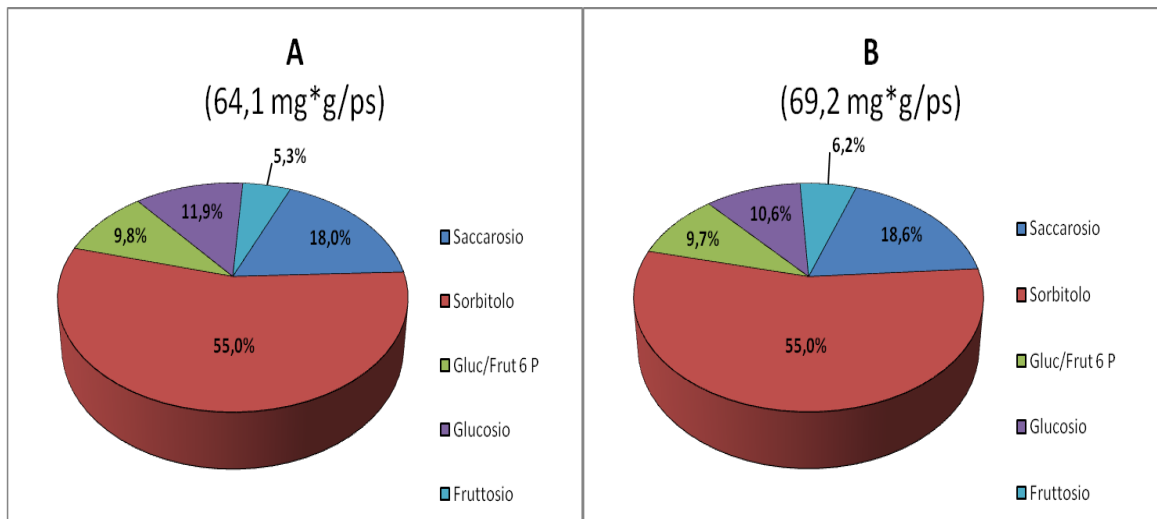


Fig. 5.11 *Distribuzione percentuale della concentrazione degli zuccheri nelle foglie degli alberi dove tutti i frutti sono stati rimossi all'inizio dell'accrescimento (SF) nel momento della raccolta e nel pieno accrescimento vegetativo, stadi fenologici 809 (A) e 325 (B) della scala BBCH, rispettivamente.*

La presenza dei frutti nell'albero per più tempo, fino alla raccolta, ha appena modificato il bilancio degli zuccheri nelle radici durante lo sviluppo dei germogli. Infatti, la concentrazione totale di questi nelle radici degli alberi CF (61,1 mg) e SF (65,8 mg) è risultata praticamente la stessa (Fig. 5.12). In entrambe i casi lo zucchero più rappresentativo è il glucosio 6 fosfato + fruttosio 6 fosfato con concentrazioni pari circa al 59 %, a differenza di ciò che si è osservato nelle foglie dove il più rappresentativo era il sorbitolo. Seguono gli zuccheri di trasporto di maggiore importanza con un 17,3% e 8,3% per il sorbitolo ed il saccarosio rispettivamente. Alla fine troviamo gli zuccheri riduttori, il glucosio ed il fruttosio, senza differenze di rilievo tra i due, che rappresentano un 7% degli zuccheri presenti nelle radici durante lo sviluppo dei germogli (Fig. 5.12). Ciò indica che la presenza del frutto non ha influenzato la concentrazione degli zuccheri nelle radici, che altresì hanno goduto di una certa indipendenza nel metabolismo dei carboidrati e che, pertanto, hanno avuto una ripartizione dei carboidrati pressoché uguale (Fig. 5.12). Ovvero, anche se la presenza del frutto ha influenzato le concentrazioni di zuccheri nelle radici, tale influenza non è più riscontrabile nella fase fenologica successiva alla raccolta,

ovvero in corrispondenza dell'inizio dell'accrescimento vegetativo (stadio 325 della scala BBCH)(Fig 5.12).

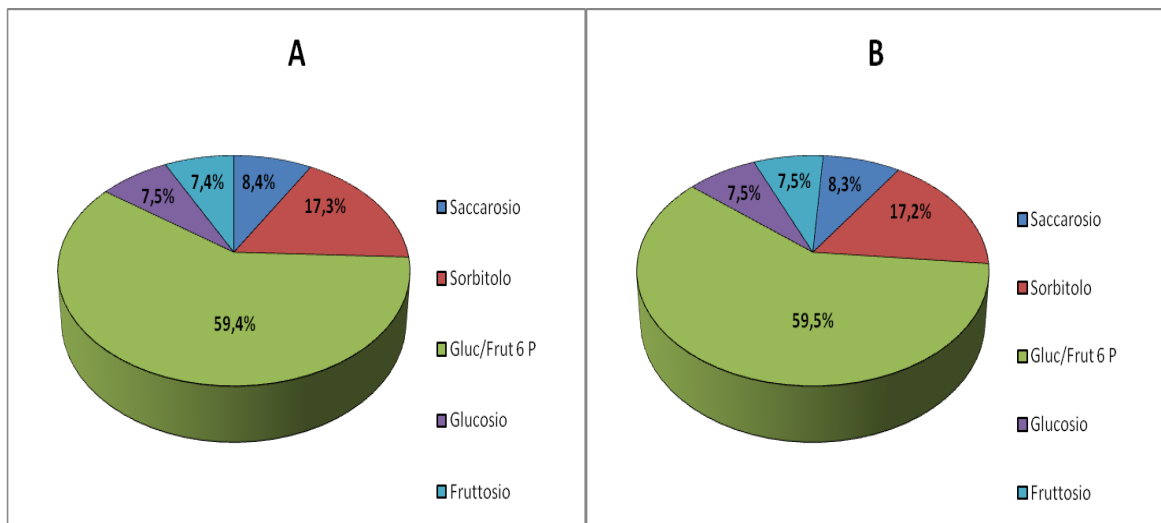


Fig. 5.12 *Distribuzione percentuale della concentrazione degli zuccheri nelle radici degli alberi che hanno mantenuto tutti i frutti fino alla raccolta (CF)(A) e degli alberi dove tutti i frutti sono stati rimossi all'inizio dell'accrescimento (SF) (B) nel pieno accrescimento vegetativo, stadio 325 della scala BBCH.*

In accordo con quanto esposto in precedenza il saccarosio nei frutti maturi è risultato presente in percentuali prossime al 12%, mentre il sorbitolo, lo zucchero più abbondante nelle fasi di accrescimento, è sceso significativamente fino a rappresentare solamente il 2,6% di tutti gli zuccheri del frutto maturo (Fig 5.13). In questo caso è stato il glucosio lo zucchero più abbondante, rappresentando praticamente la metà di tutti gli zuccheri del frutto, seguito dal fruttosio con un 35,6%. E' da sottolineare che nel momento della maturazione la concentrazione degli zuccheri riduttori nel frutto è risultata fino a 6 volte superiore a quella degli zuccheri di trasporto. Tali differenze sono da attribuire alla respirazione del frutto (Fig 5.13). D'altro lato, il basso contenuto in glucosio-6-fosfato + fruttosio-6-fosfato nel frutto in questo stadio fenologico, starebbe indicando, indirettamente, un minor tasso respiratorio nel frutto stesso una volta che ha completato la sua maturazione.

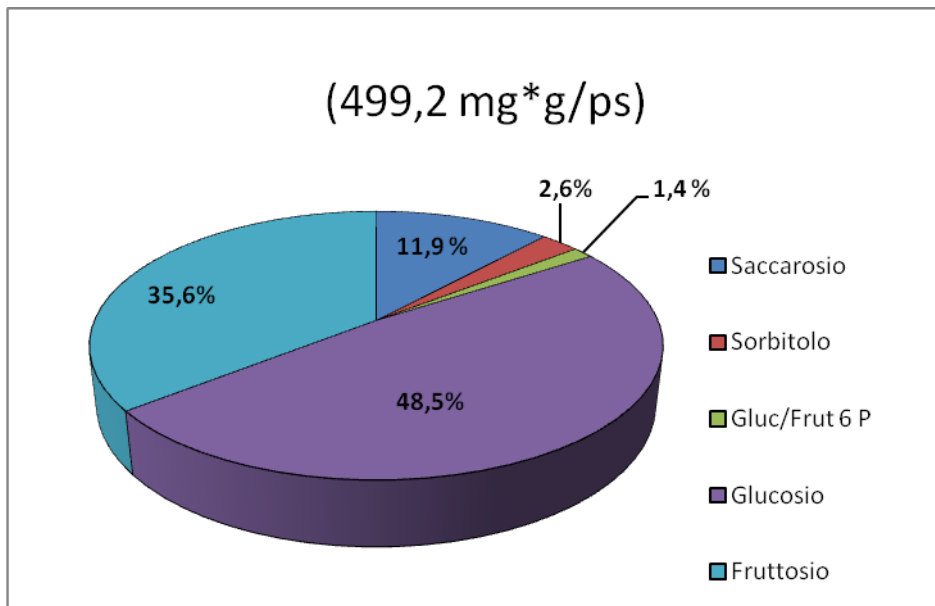


Fig. 5.13 *Distribuzione percentuale della concentrazione degli zuccheri nei frutti degli alberi che hanno mantenuto tutti i frutti fino alla raccolta (CF) nel momento della stessa, stadio fenologici 809 della scala BBCH.*

I risultati precedenti indicano che mentre i frutti stavano crescendo e fino al cambio di colore, la concentrazione degli zuccheri riduttori delle foglie degli alberi CF è risultata essere sempre superiore a quella degli alberi SF (vedi Fig. 5.4 A). Da ciò si deduce che la somministrazione di zuccheri dalle foglie è corrispondente, in grossa parte, alle esigenze dei “sink”. Questo disequilibrio ha avuto un effetto diretto sulla mobilitazione dei carboidrati a favore dei frutti, come dimostra il contenuto fogliare in amido (Fig. 5.14).

L’analisi degli zuccheri di riserva è stata effettuata in una fase fenologica “chiave” nell’accrescimento del frutto; è stato infatti già esposto in precedenza come in questa fase si ha il maggior tasso di accrescimento nel frutto. La raccolta dei frutti degli alberi CF ha aumentato significativamente il contenuto fogliare di amido in questi alberi di un 25%. Questo effetto è stato immediato ed in appena 6 giorni la concentrazione di questo zucchero di riserva è passata da 103 g a 141 g (Fig. 5.14). Nelle piante dove i frutti erano stati rimossi all’inizio dell’accrescimento (SF), nello stesso periodo, la concentrazione di questo zucchero di riserva, al contrario, è diminuita significativamente da 95 g a 76 g (Fig. 5.14). Tali risultati vanno letti tenendo conto del fatto che le dinamiche vegeto-produttive

delle piante CF ed SF proprio in tale fase sono completamente differenti. Nelle piante CF gioca un ruolo determinante la presenza del frutto, mentre nelle SF, in virtù dell'assenza del frutto, le riserve sono destinate ai germogli in accrescimento.

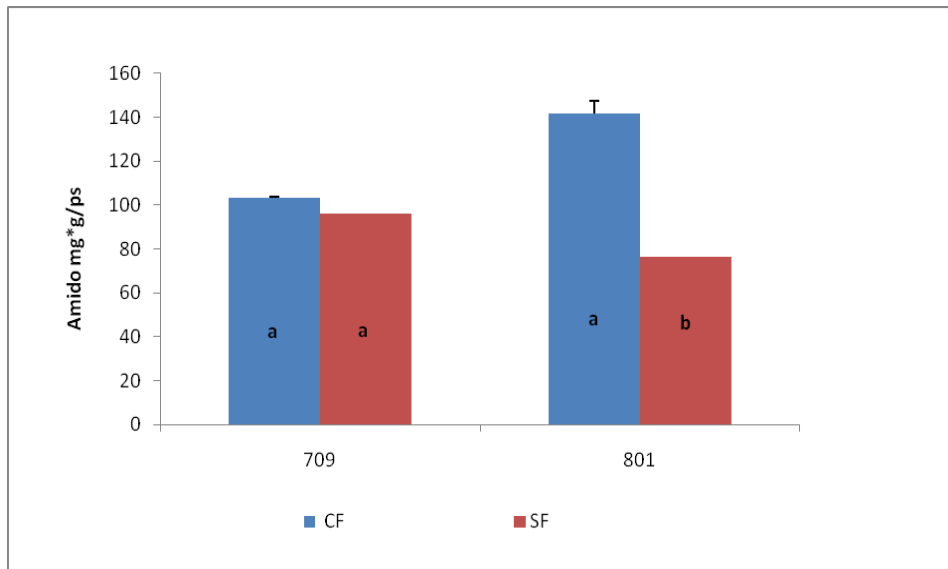


Fig. 5.14 *Influenza della presenza del frutto negli alberi fino alla maturazione sulla concentrazione di amido nelle foglie negli stadi fenologici della scala BBCH 709 e 801. Ciascun valore è la media di 4 alberi. Le barre verticali indicano l'errore standard. L'amido viene espresso come quantità di glucosio liberato. L'asse delle ascisse rappresenta gli stadi fenologici secondo la scala BBCH.*

La presenza del frutto negli alberi fino alla completa maturazione ha anche alterato il contenuto radicale degli zuccheri di riserva per un periodo più lungo, da prima del cambio del colore del frutto (stadio 706 della scala BBCH) fin dopo la raccolta dei frutti, quando i germogli si trovavano in pieno accrescimento (stadio 325 della scala BBCH). La concentrazione di amido nelle radici degli alberi che hanno mantenuto tutti i frutti fino alla raccolta, CF, è aumentata lentamente e linearmente per tutto il periodo studiato, mentre negli alberi dove erano stati tolti i frutti, SF, l'aumento è stato più brusco e si è osservato un picco massimo nell'accumulo in corrispondenza del cambio di colore (stadio 801 della scala BBCH) (Fig. 5.15). E' stato proprio in questo momento fenologico che si



sono osservato le principali differenze significative in amido fra i due trattamenti in questione. Infatti, mentre nelle SF la concentrazione di amido ha raggiunto valori massimi di approssimativamente 210 mg\*g/ps, nelle CF, al contrario hanno appena superato i 150 mg\*g/ps (Fig. 5.15). Dopo la raccolta, in pieno sviluppo vegetativo, il contenuto in amido delle radici di entrambe i trattamenti è risultato praticamente lo stesso, di contro alla divergenza nell'evoluzione di questo (Fig. 5.15).

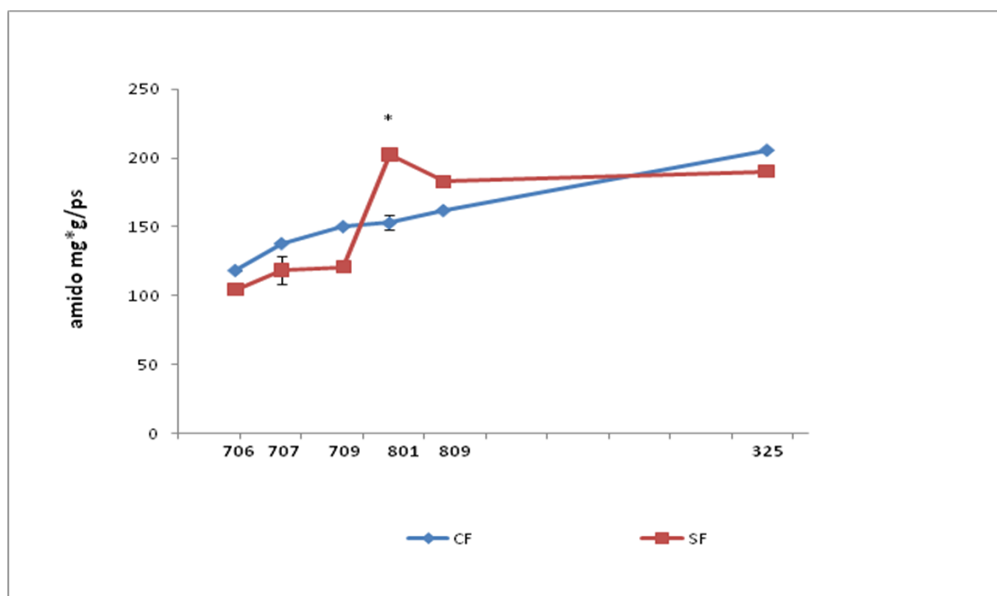


Fig. 5.17 influenza della presenza del frutto negli alberi fino alla maturazione sulla *concentrazione dell'amido nelle radici di alberi adulti di Nespolo del Giappone cv Algerie dalle fasi finali di accrescimento del frutto fino alla fase di accrescimento vegetativo. Il simbolo \* indica differenze significative ( $P \leq 0,05$ ) per uno stesso stadio fenologico. Ciascun valore è la media di 4 alberi.*

#### 5.4 INFLUENZA DEL FRUTTO NELLA MOBILITAZIONE DELLA FRAZIONE AZOTATA

La presenza del frutto fino alla raccolta non ha alterato il contenuto fogliare in nitrati, che è rimasto praticamente identico negli stadi fenologici studiati con indipendenza dall'epoca di rimozione dei frutti. Il contenuto di questa frazione azotata negli alberi CF e SF è risultata significativamente superiore nel primo stadio fenologico, 167  $\mu\text{g/g ps}$  in media, che nel secondo, 61,6  $\mu\text{g/g ps}$ , quando i germogli di entrambi gli alberi si trovavano in pieno accrescimento (Fig. 5.16). Neanche l'azoto proteico è stato modificato

dalla presenza dei frutti, ed il suo contenuto nelle foglie degli alberi CF, quando questi erano maturi o un mese dopo la raccolta è risultato

E' interessante notare come nelle due fasi fenologiche studiate e indipendentemente dall'albero, l'azoto proteico è risultata essere la frazione azotata quantitativamente più. Un discorso completamente diverso va fatto per le concentrazione di  $N-NH_4^+$ . Infatti se alla raccolta la concentrazione di  $N-NH_4^+$  era quattro volte superiore negli alberi CF (62,57  $\mu\text{g/g ps}$ ) rispetto agli alberi SF (14,69  $\mu\text{g/gps}$ ). Nella fase fenologia successiva, quando già non c'erano frutti in nessuno degli alberi, si è assistito ad un abbassamento spettacolare di  $N-NH_4^+$  negli alberi CF che praticamente ha portato a concentrazioni irrilevanti, contro un aumento del 30% negli alberi SF, con una netta inversione di tendenza (Fig. 5.16).

Un altro parametro interessante è la relazione  $N-NO_3^- / N-NH_4^+$ . Il rapporto tra concentrazione di nitrati e di ione ammonio è risultato essere pari a 3,1 negli alberi SF, e di ben 45,0 negli alberi CF. Da questi risultati si deduce che la presenza dei frutti ha alterato l'attività dell'enzima nitrato-riduttasi, per cui una minore conversione in ione ammonio nelle foglie delle CF (Fig. 5.16).

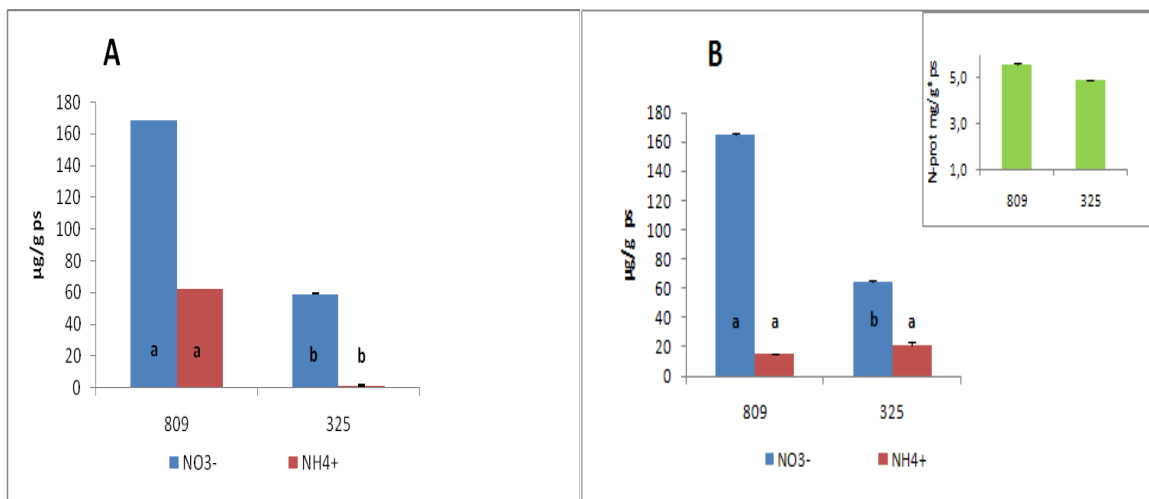


Fig. 5.16 Influenza della presenza di tutti i frutti nell'albero fino alla raccolta (A) e dall'eliminazione all'inizio del loro sviluppo (B) sulla concentrazione delle frazioni azotate nelle foglie di alberi adulti di Nespole del Giappone cv Algerie dalla raccolta al pieno accrescimento vegetativo. Ciascun valore è la media di 4 alberi. Le barre verticali indicano l'errore standard. L'asse delle ascisse

*rapresenta gli stadi fenologici della scala. La presenza di differenti lettere all'interno è indice di differenza statistica ( $P \leq 0,05$ ) per la stessa frazione azotata in differenti stadi fenologici.*

Anche nel floema, come per le foglie, la concentrazione di  $N-NH_4^+$  in corrispondenza dell'accrescimento vegetativo (stadio fenologico 325 della scala BBCH) è risultato significativamente superiore negli alberi SF (34.1  $\mu\text{g/g ms}$ ) rispetto agli alberi CF (11.8  $\mu\text{g/g ms}$ ) (Tab. 5.3). Quindi in questo caso la presenza del frutto ha anche influito significativamente sulla concentrazione dello ione ammonio del floema degli alberi studiati. Per quanto riguarda l'azoto proteico, la sua concentrazione è risultata praticamente identica in entrambi gli alberi, anche leggermente superiore negli alberi SF, anche se senza rilevanza (Tab. 5.3). Tenendo conto dell'assenza di differenze significative nel contenuto floematico di azoto proteico per la presenza o assenza di frutti nell'albero, quando invece questi livelli sono stati studiati comparativamente in tutti gli stadi fenologici del ciclo vegetativo si sono avute differenze statisticamente significative.

*Tab. 5.3 Influenza della presenza di tutti i frutti nell'albero fino alla raccolta (CF) e dalla loro eliminazione all'inizio dello sviluppo (SF) sulla concentrazione dell'azoto ammoniacale e proteico durante il pieno accrescimento dei germogli. La presenza di differenti lettere è indice di differenza statistica ( $P \leq 0,05$ ).*

<b>trattamento</b>	<b><math>N-NH_4^+</math> (<math>\mu\text{g/g ps}</math>)</b>	<b>Nprot (<math>\mu\text{g/g ps}</math>)</b>
<b>CF</b>	11,81 b	4,7
<b>SF</b>	34,06 a	4,9

Nei frutti si assiste ad un calo nella concentrazione dei  $N-NO_3^-$ , dei  $N-NH_4^+$  e dell'azoto proteico nelle fasi finali della maturazione del frutto, ovvero dal cambio di colore (stadio 801 della scala BBCH) alla raccolta (stadio 809 della scala BBCH). Anche il rapporto nella concentrazione tra  $N-NO_3^- / N-NH_4^+$  rimane pressoché invariato, attestandosi intorno a 0,3 (Fig. 5.20).

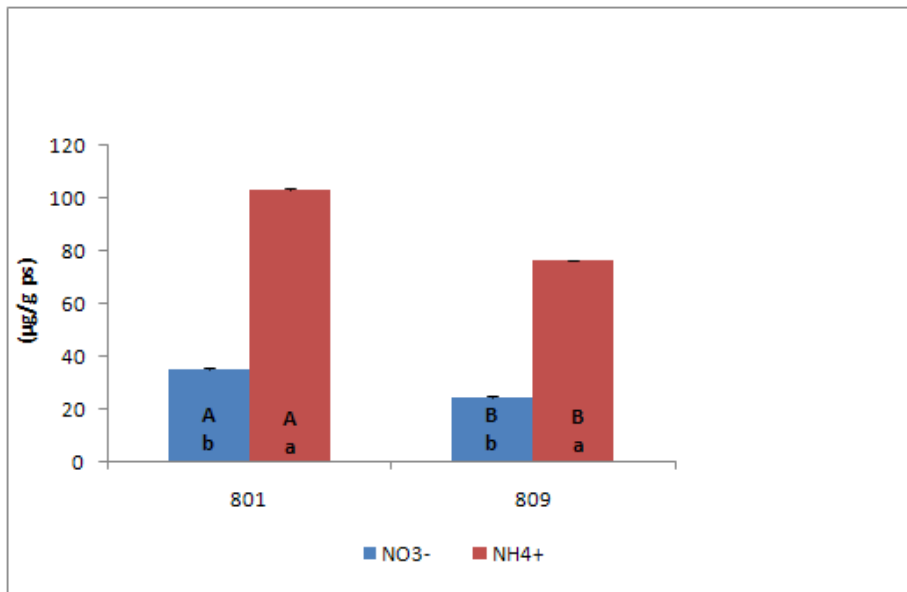


Fig.5.17. Concentrazione delle frazione nitrica e ammoniacale nella buccia e nella polpa dei frutti in corrispondenza del cambio di colore della raccolta, stadi fenologici 801 e 809 della scala BBCH, rispettivamente. La presenza di differenti lettere minuscole per lo stesso stadio fenologico e di lettere maiuscole per stadi fenologici differenti è indice di differenza statistica ( $P \leq 0,05$ ).

## 5.5 INFLUENZA DEL FRUTTO NEL BILANCIO ORMONALE

Il bilancio ormonale dell'albero è stato anche fortemente influenzato dalla presenza del frutto. Infatti, nel momento della raccolta e mentre il frutto era presente negli alberi, la concentrazione dei tre ormoni studiati è risultata significativamente superiore nel floema degli alberi CF rispetto agli alberi SF. Gli alberi che hanno mantenuto tutti i frutti fino alla raccolta hanno presentato, in media, 20 mg in più di IAA, ABA e zeatina rispetto agli alberi dove i frutti sono stati eliminati all'inizio del loro sviluppo (Fig 5.18). L'effetto della rimozione dei frutti con la raccolta ha appena modificato il contenuto di questi ormoni nel floema degli alberi in questione. Come conseguenza di ciò, la concentrazione di IAA, ABA e zeatina nei due stadi fenologici studiati è risultata praticamente la stessa, anche se è diminuita leggermente la concentrazione dell'ABA e è aumentata quella della zeatina, ma in nessun caso si è raggiunta la significatività statistica.

Negli alberi dove era stato preventivamente rimosso il frutto, a differenza di quanto osservato nelle CF, sono state rilevate differenze significative tra gli stadi fenologici e per i tre ormoni studiati (Fig. 5.16). Si è avuto un aumento generalizzato nella concentrazione dei tre ormoni in pieno sviluppo dei germogli, stadio fenologico 325 della scala BBCH. In questo caso, l'IAA è aumentato del 18%, l'ABA del 37% mentre la zeatina addirittura quasi del doppio (46%).

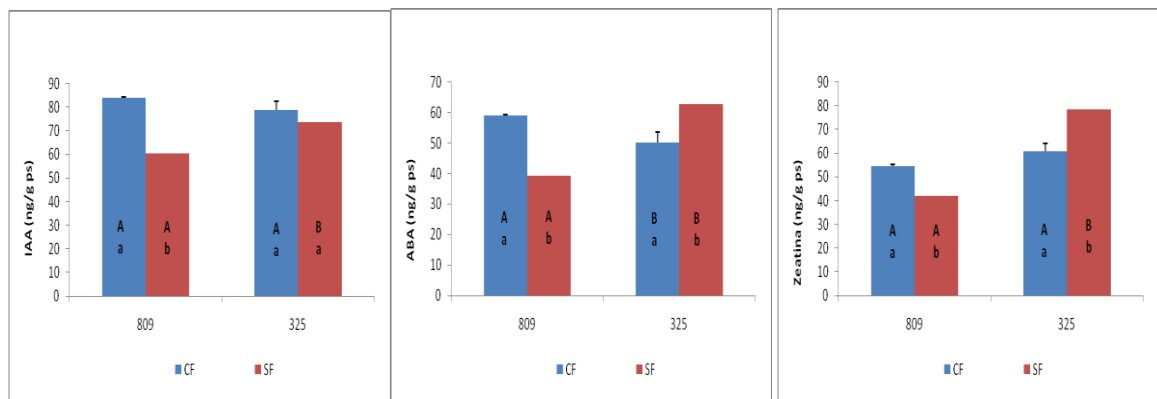


Fig. 5.18 Concentrazione di IAA, ABA e Zeatina del floema di alberi adulti di Nespole del Giappone cv Algerie che hanno mantenuto i frutti fino al momento della raccolta (CF) e dove sono stati eliminati tutti all'inizio dello sviluppo (SF) nel momento della raccolta ed in pieno accrescimento vegetativo. Ciascun valore è la media di 4 alberi. Le barre verticali indicano l'errore standard. L'asse delle ascisse rappresentano gli stadi fenologici della scala BBCH. La presenza di differenti lettere è indice di differenza statistica ( $P \leq 0,05$ ), minuscole per lo stesso stadio fenologico e maiuscole tra stadi fenologici differenti.

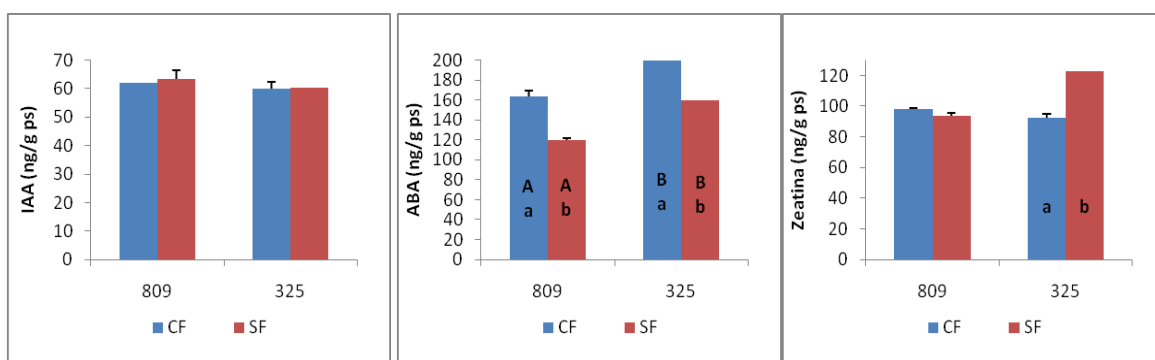
Riassumendo, la presenza del frutto ha determinato che nel momento della raccolta il contenuto di IAA, ABA, e zeatina negli alberi dove questi erano presenti (CF) è risultata essere un 27%, 33% e 23% rispettivamente superiore rispetto agli alberi dove i frutti sono stati rimossi molto tempo prima (SF) (Fig. 5.18). Nella fase fenologica successiva, ovvero in corrispondenza dell'accrescimento vegetativo si è osservata un'inversione di tendenza, con concentrazioni ABA e Zeatina superiori nelle piante CF rispetto alle piante SF, rispettivamente nell'ordine del 20% e del 23%, mentre nel caso dell'IAA la concentrazione si è mantenuta leggermente più elevata nelle piante CF, circa del 7% in più (Fig. 5.18). Ciò

che risalta da questi risultati è che, nel periodo menzionato, la concentrazione di IAA nel floema degli alberi SF è risultata essere minore, mentre quella della zeatina maggiore rispetto agli alberi CF, facilitando così il maggiore o più precoce germogliamento dei primi nei confronti dei secondi (Fig. 5.18 A e C) . Più chiaro risulta questo effetto se comparato al rapporto IAA/Zeatina, più basso per gli alberi SF (0,9) durante il periodo in questione rispetto ai CF (1,3).

E' da sottolineare che quanto più è stata alta questa relazione tanto più basso è risultato essere il germogliamento laterale, e meno intensa la fioritura; quindi i risultati ottenuti in piena antesi (con le piante SF che hanno fiorito maggiormente) sono in linea con quanto emerge dall'analisi ormonale. Anche il rapporto IAA/ABA si è presentato più basso negli alberi SF (1,2) rispetto agli alberi CF (1,6), relazionando questo con una fioritura di intensità maggiore. Non si è segnalata invece una differenza significativa nel rapporto Zeatina/ABA tra piante CF (1,2) e piante SF (1,2), praticamente uguale.

Qualcosa di differente si è visto nel bilancio ormonale delle radici degli alberi in esame. In questo caso al momento della raccolta, si sono incontrate differenze significative solo nella concentrazione di ABA nelle radici degli alberi (Fig. 5.19).

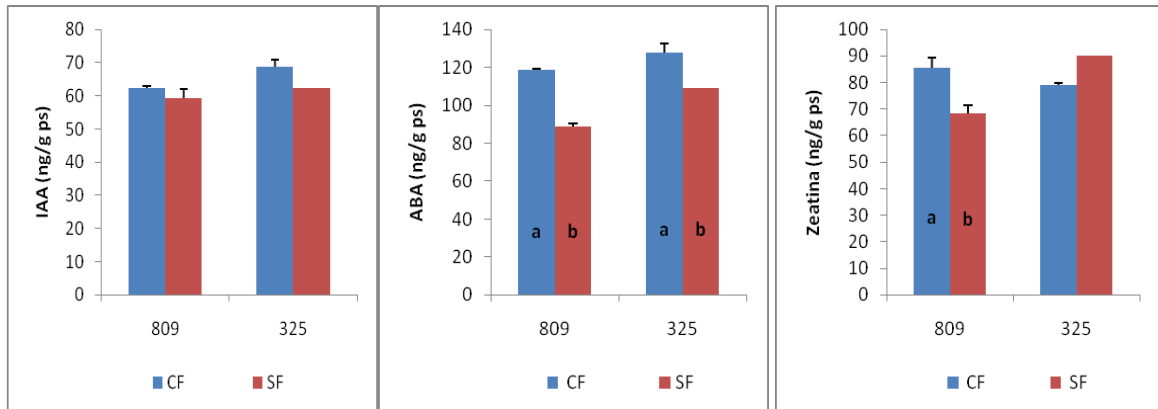
In questo momento, la concentrazione dell'ABA invece negli alberi CF era superiore (159,9 ng/ g ps) rispetto agli alberi SF (119,9 ng/ g ms), Nella fase successiva di accrescimento vegetativo, queste differenze si sono mantentute, e accanto all'aumento della concentrazione in entrambi gli alberi, anche i CF hanno presentato una maggiore concentrazione di ABA (199,3 ng/ g ps) rispetto agli SF (163,6 ng/ g ps) (Fig. 5.19B) e anche in questo stadio, dopo la raccolta, il contenuto radicale di Zeatia si è visto significativamente alterato per la presenza dei frutti. Contrariamente, in questo caso, le radici degli alberi SF hannpo presentato approssimativamente 30 ng in più di zeatina rispetto ai CF (Fig. 5.19 C). Mentre la concentrazione di zeatina negli alberi CF si è mantenuta praticamente costante nei due stadi fenologici studiati, nelle SF, al contrario, è aumentato di un 25% durante il pieno sviluppo dei germogli (Fig. 5.19 C). Il contenuto di IAA, tuttavia, non è stato alterato dalla presenza dei frutti, e si è mantenuto costante in entrambe gli alberi e per i due stadi fenologici studiati con valori approssimativamente di 60 ng/g ps (Fig. 5.19 A).



*Fig. 5.19 Concentrazione di IAA, ABA e Zeatina delle radici di alberi adulti di Nespole del Giappone cv Algerie che hanno mantenuto i frutti fino al momento della raccolta (CF) e dove sono stati eliminati tutti all'inizio dello sviluppo (SF) nel momento della raccolta ed in pieno accrescimento vegetativo. Ciascun valore è la media di 4 alberi. Le barre verticali indicano l'errore standard. L'asse delle ascisse rappresentano gli stadi fenologici della scala BBCH. La presenza di differenti lettere è indice di differenza statistica ( $P \leq 0,05$ ), minuscole per lo stesso stadio fenologico e maiuscole tra stadi fenologici differenti.*

Alla stessa maniera delle radici, la concentrazione di IAA nello xilema degli alberi in questione non ha mostrato grosse differenze nelle due epoche studiate. Inoltre, il contenuto auxinico è risultato sempre leggermente superiore nello xilema degli alberi CF, con valori tra 60 e 70 ng/g ps (Fig. 5.20 A). Concentrazioni significativamente superiori in ABA, sono state misurate nello xilema degli alberi CF tanto nel momento della raccolta (stadio fenologico 809 BBCH) come in pieno accrescimento vegetativo (stadio fenologico 325 BBCH). Dopo la raccolta, oltre ad un leggero aumento della concentrazione in entrambi i trattamenti, non si sono avute differenze significative tra gli stessi (Fig. 5.20 B). La concentrazione in zeatina è risultata significativamente superiore negli alberi CF (85 ng/g ms) rispetto agli alberi SF (65 ng/g ps) in corrispondenza della raccolta (stadio fenologico 809 della scala BBCH). Nello stadio fenologico successivo, (325 della scala BBCH), è successo esattamente il contrario, anche se si è visto un leggero calo nella concentrazione in zeatina nei CF, ed un aumento negli SF, non però in maniera significativa (Fig. 5.20 C). E' da sottolineare che solo l'aumento di questa citochinina misurato nello xilema degli alberi SF, in pieno sviluppo dei germogli,

approssimativamente 20 ng in più rispetto al momento della raccolta, ha raggiunto la significatività statistica (Fig. 5.20 C).



*Fig. 5.19 Concentrazione di IAA, ABA e Zeatina dello xilema di alberi adulti di Nespole del Giappone cv Algerie che hanno mantenuto i frutti fino al momento della raccolta (CF) e dove sono stati eliminati tutti all'inizio dello sviluppo (SF) nel momento della raccolta ed in pieno accrescimento vegetativo. Ciascun valore è la media di 4 alberi. Le barre verticali indicano l'errore standard. L'asse delle ascisse rappresentano gli stadi fenologici della scala BBCH. La presenza di differenti lettere è indice di differenza statistica ( $P \leq 0,05$ ), minuscole per lo stesso stadio fenologico e maiuscole tra stadi fenologici differenti.*



## 5.6 EFFETTI DELLA ELIMINAZIONE DEGLI APICI INDIFFERENZIATI SULLA FIORITURA. STUDIO DEL SINGOLO GERMOGLIO

Considerando la totale indipendenza tra i campi, la zona, delle pratiche agronomiche e delle varietà, si notò che la rimozione dell'apice a giugno nella cv Algeria nel campo di Callosa D'En Sarría (Spagna) ha determinato un 7,7% di germogli vegetativi, mentre con una rimozione posticipata ad agosto (in uno stadio prossimo alla differenziazione), tale % è salita addirittura al 90,8%. Prendendo in considerazione l'altra varietà, la Golden Nugget, nello stesso campo si è visto che tali percentuali sono salite del 21,2% di germogli indifferenziati in caso di rimozione dell'apice a giugno, e del 100% quando gli apici sono stati rimossi ad agosto (Tab. 5.4). Questa differenza tra le cultivar potrebbe essere dovuta al fatto che la durata del periodo di induzione e differenziazione fiorale di ciascuna varietà. In entrambe le varietà, la permanenza dell'apice (Controllo) fino alla piena antesi dei fiori, ha determinato la differenziazione di una pannocchia in tutti i germogli in modo che il 100% degli apici sono risultati riproduttivi (Tab. 5.4).

In ogni ripetizione dell'esperimento effettuata negli altri campi si sono avuti più o meno risultati analoghi, e le piccole differenze quantitative rilevate tra le varietà e le zone sono da attribuire all'influenza delle condizioni pedoclimatiche e all'adattabilità varietale alle stesse, nonché alle differenze intrinseche tra le varietà stesse. Così la risposta della cv Algeria all'eliminazione degli apici principali a giugno, in 2 campi differenti della stessa regione (Sicilia), ovvero Castelvetro e Santa Maria di Gesù, è risultata quantitativamente distinta. Mentre nel primo campo si è ottenuto che il 79,2% dei germogli anticipati sono risultati vegetativi, nel secondo questa percentuale si è ridotta significativamente fino al 30,7% (Tab. 5.4). Nel caso della cv San Filipparo, sempre nel secondo campo si è avuta una percentuale più bassa di germogli vegetativi (56,7%), senza però raggiungere una differenza significativa con l'altro campo (66,7%) (Tab. 5.4).

Quando invece l'apice di queste cvs è stato eliminato più tardi, nello stadio prossimo alla differenziazione, negli stessi campi di cui sopra, si sono riscontrate differenze poco rilevanti e la % dei germogli vegetativi è risultata più elevata rispetto all'epoca antecedente, fino ad un 94,5% di media (Tab. 5.4).

In ogni caso l'eliminazione dell'apice dal germoglio principale durante l'epoca dell'induzione fiorale o nell'epoca prossima alla differenziazione fiorale, ha aumentato significativamente il numero di germogli vegetativi rispetto al controllo, fino al 80-100% nel secondo caso, per via della mancata differenziazione delle sue gemme.

E' da sottolineare, inoltre, la differenza di localizzazione dei germogli tra controllo e nel caso di rimozione dell'apice. Nel caso del controllo, l'apice del germoglio principale differenzia sempre una pannocchia, e dalle sue gemme ausiliari della metà basale, può emettere germogli anticipati che differenziano pannocchie anticipate. Nel caso di rimozione dell'apice, indipendentemente dall'epoca nella quale si è effettuata, le gemme ausiliarie non sempre hanno differenziato un apice riproduttivo e quindi una pannocchia anticipata (Tab. 5.4). In questo caso, le gemme che sono germogliate sono state quelle più prossime al taglio: ciò significa che quando il taglio è stato effettuato a giugno, le gemme che sono germogliate erano state indotte a fiorire, e nel 50% dei casi circa hanno differenziato una pannocchia, mentre quando il taglio è stato effettuato ad agosto, le gemme che sono germogliate (le più vicine alla zona del taglio) erano gemme che in giugno non erano ancora presenti e quindi non potevano essere state indotte dall'apice a fiorire, e per tale ragione nella maggior parte dei casi hanno sviluppato germogli vegetativi (Tab 5.4). Inoltre l'induzione dell'apice eliminato non ha interessato le gemme in posizione prossimale (ex-novo rispetto all'epoca di taglio), per cui le gemme che erano state indotte e che erano situate in posizione basale non sono germogliate.

L'effetto della rimozione dell'apice ha influenzato anche lo sviluppo stesso del germoglio e quindi il numero di foglie emesse, quasi sempre superiore nei germogli principali del controllo, rispetto ai germogli nei quali era stato rimosso l'apice in giugno o agosto, con differenze più significative tra controllo e germogli in cui l'apice è stato rimosso in giugno, nell'ordine del 39% in più nei primi e del 25% quando è stato eliminato in agosto (Tab. 5.4).

Tab. 5.4 Effetto della presenza dell'apice nei germogli principali (controllo), della rimozione degli apici durante l'induzione fiorale (in giugno), ed in tappe prossime alla differenziazione (in agosto) sull'emissione di germogli anticipati vegetativi e riproduttivi al momento della piena antesi. Ciascun valore di ciascuna cultivar in ciascuna zona è la media di 25 germogli ripartiti in 5 alberi. Le percentuali sono calcolate come la somma di germogli corrispondenti per il numero totale diviso 100. La presenza di differenti lettere all'interno è indice di differenza statistica ( $P \leq 0,05$ ). Rimoz giugno: apici principali eliminati in giugno. Rimoz agosto: apici principali eliminati in agosto.

Campo	Regione	Cultivar	Trattamento	%Germ veget	% Germ riprod	N° foglie germ princip
Callosa	Com Valenciana (ES)	Algerie	Controllo	0,0 a	100,0 a	12,8 a
			Rimozione Giu	7,7 b	92,3 a	7,8 b
			Rimozione Ago	90,8 c	9,2 b	9,5 b
Callosa	Com Valenciana (ES)	Golden	Controllo	0,0 a	100,0 a	12,5 a
			Rimozione Giu	21,2 b	78,8 b	5,9 b
			Rimozione Ago	100,0 c	0,0 c	7,7 c
Castelvetrano	Sicilia (IT)	Algerie	Controllo	18,9 a	81,1 a	8,5 a
			Rimozione Giu	79,2 b	20,8 b	5,6 b
			Rimozione Ago	94,1 c	5,9 c	8,4 a
Castelvetrano	Sicilia (IT)	S Filipparo	Controllo	0,0 a	100,0 a	9,1 a
			Rimozione Giu	66,7 b	33,3 b	5,9 b
			Rimozione Ago	88,9 c	11,1 c	10,7 a
S Maria Gesù	Sicilia (IT)	Algerie	Controllo	0,0 a	100,0 a	6,4 a
			Rimozione Giu	30,7 b	69,3 b	7,6 a
			Rimozione Ago	94,6 c	5,4 c	10,2 b
S Maria Gesù	Sicilia (IT)	S Filipparo	Controllo	2,9 a	97,1 a	11,0 a
			Rimozione Giu	56,7 b	43,3 b	7,2 b
			Rimozione Ago	100,0 c	0,0 c	8,0 b

Tuttavia, quando l'eliminazione dell'apice del germoglio è avvenuta in stadi più avanzati dello sviluppo, quando nell'apice già si erano differenziati i fiori ed i frutti avevano raggiunto un 10% delle dimensioni finali (stadio fenologico 701 della scala BBCH), la percentuale dei germogli anticipati vegetativi, alla stessa maniera del controllo, dove i

frutti sono rimasti fino alla raccolta, e' risultata nulla al momento dell'antesi (vedi Tab. 5.5).

Come effetto parallelo all'eliminazione dei frutti si e' avuta una stimolazione del germogliamento delle gemme anticipate ed il successivo accrescimento. Come conseguenza di questo, il numero di germogli anticipati e la loro lunghezza e' risultata significativamente superiore rispetto al controllo. 2 e 18cm, di contro a 1 e 4,5 cm, rispettivamente (Tab. 5.5).

Tab. 5.5 *Effetto della presenza dell'apice nei germogli principali fino alla raccolta dei frutti (controllo) e della rimozione degli stessi in corrispondenza dello stadio fenologico 701 della scala BBCH sulle caratteristiche dei germogli di Nespolo del Giappone cv. Algerie. Ciascun valore e' la media di 25 germogli ripartiti in 5 alberi. Le percentuali sono calcolate come la somma di germogli corrispondenti per il numero totale diviso 100. La presenza di differenti lettere è indice di differenza statistica ( $P \leq 0,05$ )*

<b>Trattamento</b>	<b>% germ veg</b>	<b>% germ riprod</b>	<b>Num germ antic</b>	<b>Lungh germ antic (cm)</b>
<i>Rimozione del frutto</i>	0	100	2 a	18 a
<i>Controllo</i>	0	100	1 b	4,5 b

Il contenuto ormonale dei nuovi germogli vegetativi e riproduttivi (immediatamente prima di completare la loro differenziazione fiorale), approssimativamente nello 500 della scala BBCH, e' risultato differente in base all'epoca di rimozione degli apici. La concentrazione di ABA nel floema dei germogli non differenziati è risultata molto più elevata, di circa 4 volte in casi di rimozione dell'apice principale ad agosto (9,1 ng/g ps) rispetto a quando si e' rimosso a giugno (2,2 ng/g ps) (Fig. 5.11). Risultati analoghi sono stati riscontrati nel floema degli germogli che hanno differenziato pannocchie principali, dove la concentrazione è risultata superiore di circa 20 volte in più nel caso di rimozione dell'apice ad agosto (Fig. 5.11).

Si è anche osservato che quando l'apice è stato rimosso a giugno la concentrazione di ABA nel floema dei nuovi germogli vegetativi (2,2 ng/g ps) è risultata il doppio rispetto al floema degli apici riproduttivi (0,9 ng/g ps). Tuttavia, negli apici rimossi ad agosto si è avuto una situazione completamente opposta, con una concentrazione di ABA pari al doppio nel floema degli apici riproduttivi (16,6 ng/g ps) rispetto agli apici vegetativi (9,1 ng/g ps) (Fig. 5.20). Il ritardo nell'eliminazione degli apici principali, fino a due mesi dopo, ha modificato significativamente il contenuto in ABA di questi germogli. Mentre il floema dei germogli con apici riproduttivi ha incrementato notevolmente la concentrazione in ABA di un 94,5%, rispetto a giugno, quella dei germogli con apici vegetativi, tuttavia, è aumentata solo del 75% (Fig. 5.20).

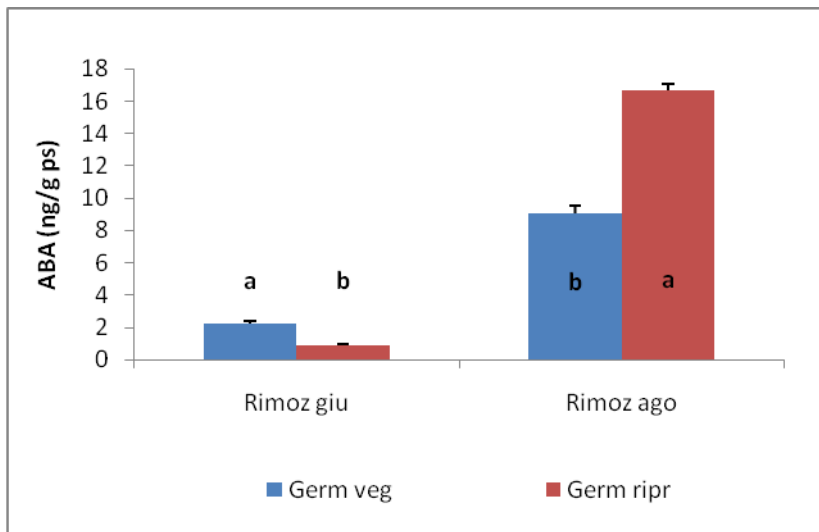


Fig. 5.20 Concentrazione di ABA nel floema dei nuovi germogli vegetativi e riproduttivi immediatamente prima del completamento della differenziazione fiorale, originatisi a partire dalle gemme prossime all'apice principale di un germoglio misto di nespolo del Giappone cv Algerie, eliminato in giugno o ad agosto. La presenza di differenti lettere per una stessa epoca fenologica sono indice di differenza statistica ( $P \leq 0,05$ ). Ciascun valore è la media di 4 alberi. Le barre verticali indicano l'errore standard.

La concentrazione di ABA negli apici vegetativi è rimasta pressoché invariata nel caso di rimozione a giugno e nel caso di rimozione ad agosto. Tuttavia, il contenuto di questo

ormone negli apici del germoglio riproduttivo è stato modificato dall'epoca nella quale sono stati eliminati gli apici stessi. Infatti, quelli originatosi dalla rimozione a giugno si sono registrate concentrazioni di ABA molto più elevate (180,2 ng/g ps) rispetto a quando la rimozione e' avvenuta in agosto (32,3 ng/g ps) (Fig. 5.21).

Confrontando gli apici riproduttivi con gli apici vegetativi, si osserva come nei primi, nel caso di eliminazione dell'apice principale in giugno, la concentrazione sia molto più elevata (180,2 ng/g\*ps) rispetto ai secondi (33,5 ng/g\*ps). Un ritardo nella rimozione degli apici, fino a 2 mesi dopo, ha modificato significativamente il contenuto in ABA, anche se tra gli apici la concentrazione e' stata significativamente rilevante (Fig. 5.12).

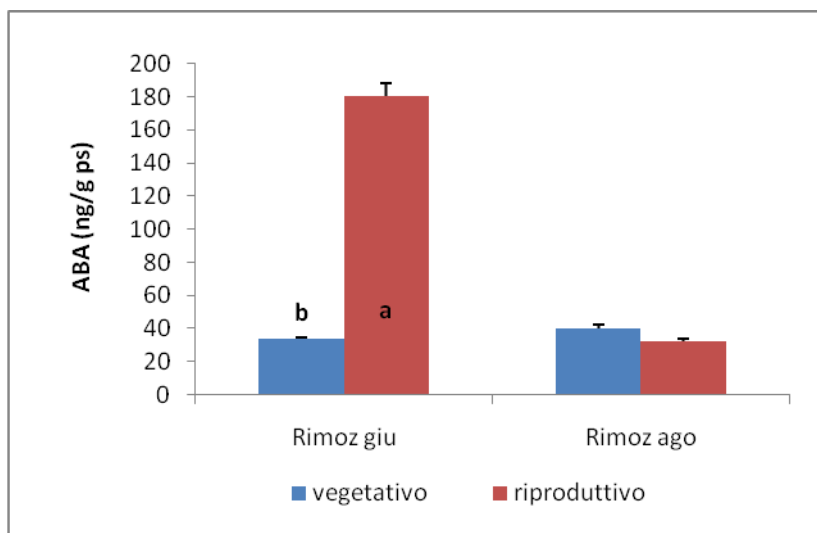


Fig. 5.21 Concentrazione de ABA negli apici riproduttivi (immediatamente prima del completamento della differenziazione fiorale) e vegetativi dei nuovi germogli originatisi a partire dalle gemme prossime all'apice principale di un germoglio misto di Nespolo del Giappone, cv Algerie, eliminato in giugno o ad agosto. La presenza di differenti lettere per una stessa epoca fenologica sono indice di differenza statistica ( $P \leq 0,05$ ). Ciascun valore è la media di 4 alberi. Le barre verticali indicano l'errore standard.

Risultati simili sono stati ottenuti studiando il contenuto in IAA negli stessi germogli: la risposta all'eliminazione degli apici principali nella prima data (giugno) è stata identica a quella ottenuta per l'ABA. La concentrazione di IAA nel floema dei germogli vegetativi (3.2

ng/ g ps) è risultata più elevata rispetto agli apici riproduttivi, immediatamente prima che si sono formati i fiori in quest'ultimi (2,3 ng/g ps), però senza raggiungere la significatività statistica (Fig 5.22). Tuttavia, quando la rimozione degli apici principali si è effettuata durante l'epoca di induzione fiorale (giugno), il contenuto in IAA nel floema dei nuovi germogli vegetativi e' risultato significativamente minore (3,5 ng/g ps) che ad agosto (13 ng g/ps). Lo stesso si e' osservato nei germogli riproduttivi. Concretamente, I germogli riproduttivi che si sono originati come conseguenza della rimozione degli apici in agosto, presentavano al inizio della loro differenziazione, un 75% in piu' di IAA rispetto agli apici rimossi in giugno (Fig 5.22).

Indipendentemente dell'epoca nella quale si è eliminato l'apice del germoglio principale, il contenuto di IAA nel floema dei germogli vegetativi è risultato superiore rispetto a quello dei germogli riproduttivi, anche se si è raggiunta la significatività statistica solo quando sono stati eliminati in agosto. Infatti quando l'apice è stato rimosso a giugno la concentrazione di IAA nel floema dei nuovi germogli vegetativi e' risultata 3,5 ng/g ps mentre quella degli apici riproduttivi e' risultata pari a 2,6 ng/g ps. Tuttavia quando gli apici sono stati rimossi ad agosto le concentrazioni sono state 13 ng/g ps e 10,8 ng/g ps, rispettivamente (Fig. 5.22). Bisogna sottolineare la maggiore importanza quantitativa dell'ABA negli apici rispetto al floema dei germogli, tanto che i valori minimi raggiunti dei primi sono risultati fino al doppio dei massimi raggiunti dai secondi.

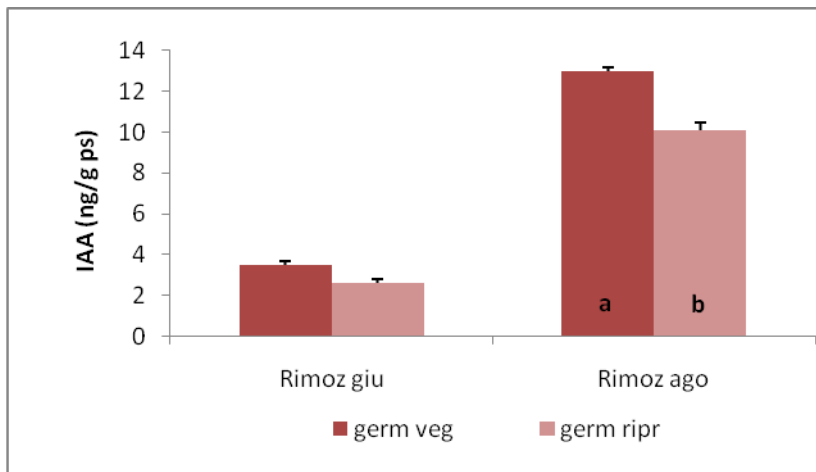


Fig. 5.22 Concentrazione di IAA nel floema dei nuovi germogli vegetativi e riproduttivi immediatamente prima del completamento della differenziazione fiorale, originatisi a partire dalle gemme prossime all'apice principale di un germoglio misto di Nespolo del Giappone, cv Algerie, eliminato in giugno o ad agosto. La presenza di differenti lettere per una stessa epoca è indice di differenza statistica ( $P \leq 0,05$ ). Ciascun valore è la media di 4 alberi. Le barre verticali indicano l'errore standard.

Studiando il contenuto di IAA negli apici di questi stessi germogli si è osservato che quello degli apici vegetativi era praticamente lo stesso con una indipendenza rispetto all'epoca nella quale sono stati eliminati gli apici del germoglio principale. Tuttavia negli apici riproduttivi immediatamente prima che questi completassero la loro differenziazione fiorale, la concentrazione di IAA è risultata significativamente superiore quando gli apici principali sono stati eliminati in giugno (274,31 ng g/ps) rispetto ad agosto (42,16 ng g/ps)(Fig. 5.29)

Confrontando gli apici riproduttivi con gli apici vegetativi nella stessa epoca, si osserva come nei primi, nel caso di eliminazione dell'apice principale in giugno, la concentrazione dei primi è risultata molto più elevata (274,3 ng g/ps) rispetto ai secondi, che è stata di 74.2 ng/ g ms. Gli apici già differenziati, pertanto, hanno presentato una concentrazione di IAA fino a 4 volte superiore a quella che presentavano gli apici indifferenziati nello stesso momento. Tuttavia, nel caso di rimozione dell'apice principale in agosto la differenza nella concentrazione di questo ormone tra gli apici è risultata meno accentuata seppur statisticamente rilevante (Fig. 5.14). Come già successo per l'ABA,



bisogna sottolineare la maggiore importanza quantitativa dell'IAA negli apici in confronto al floema di entrambe i tipi di germoglio. Infatti, mentre nei primi si sono raggiunti valori massimi fino a 274,5 ng/g ps, nel floema mai si sono superati i 13 ng/g ps (Fig. 5.23)

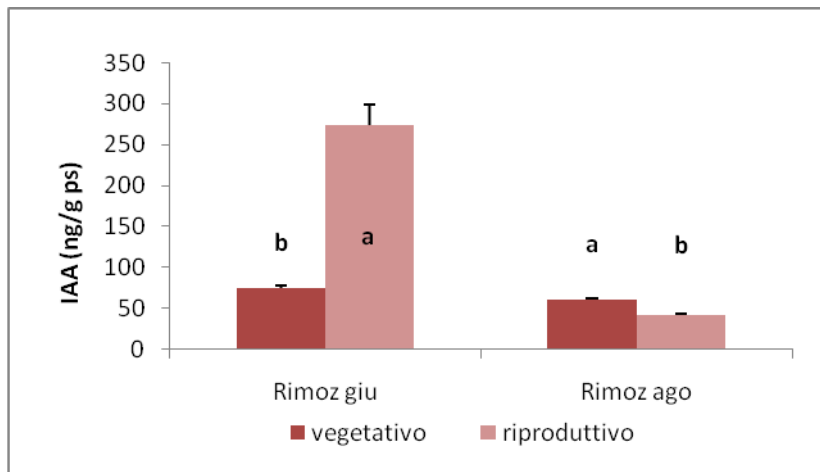


Fig. 5.23 Concentrazione di IAA negli apici riproduttivi (immediatamente prima del completamento della pie differenziazione) e vegetativi dei nuovi germogli originatisi a partire dalle gemme prossime all'apice principale di un germoglio misto di nespolo del Giappone, cv Algerie, eliminato in giugno o ad agosto. La presenza di differenti lettere per una stessa epoca è indice di differenza statistica ( $P \leq 0,05$ ). Ciascun valore è la media di 4 alberi. Le barre verticali indicano l'errore standard.

La presenza dell'apice principale nel germoglio fino alla fine del suo ciclo, quindi fino alla sua differenziazione ha influenzato significativamente il numero di fiori formati nella pannocchia. Come conseguenza di ciò, i germogli nei quali non sono è stato rimosso l'apice principale (controllo), presentavano al momento dell'antesi, un maggiore numero di fiori (118,2) rispetto a quelli dove questi è stato rimosso durante l'induzione fiorale (giugno) o in prossimità della differenziazione (agosto), rispettivamente 83,6 e 82 (Tab. 5.6). Indipendentemente dall'epoca di eliminazione dell'apice, il numero finale di fiori per pannocchia è risultato praticamente lo stesso.

Le caratteristiche dei germogli riproduttivi, al contrario, sono state modificate dall'eliminazione dell'apice principale, e questi, nel momento dell'antesi, hanno

presentato lo stesso numero di foglie. Tuttavia, l'eliminazione di questo apice durante l'induzione florale e in tappe prossime alla differenziazione ha sì influenzato le caratteristiche delle pannocchie dei differenti germogli riproduttivi. Infatti, quando l'eliminazione è avvenuta in agosto, il numero delle ramificazioni della pannocchia è risultato significativamente minore (2,8), rispetto a quando non è avvenuta l'eliminazione (controllo) o quando questa è stata effettuata in giugno, rispettivamente 8,2 e 7,2. Nonostante quando el ápice principal permaneció en el brote hasta su diferenciación, le pannocchie formadas sono quindi risultate piu' grandi y presentaron mayor número de ramificaciones y de flores. Quando l'eliminazione degli apici principali è stata realizzata in stadi prossimi alla differenziazione florale, tenendo conto che questi germogli avevano un numero maggiore di foglie, al contrario, le pannocchie sono risultate più piccole anche se portavano lo stesso numero di fiori rispetto a quando l'apice è stato rimosso prima, pero' solo in 2,8 ramificazioni (Tab. 5.6).

Tab. 5.6 *Effetto dell'eliminazione dell'apice del germoglio principale nel momento dell'induzione florale (giugno) e in stadi fenologici prossimi alla differenziazione (agosto), dei germogli misti del Nespolo del Giappone, sulle caratteristiche dei nuovi germogli riproduttivi. Ciascun valore risulta dalla media di 5 germogli ripartiti in 5 alberi. La presenza di lettere distinte nella stessa colonna e' indice di differenza statistica ( $P \leq 0,05$ ). Chiave di trattamento come nella Tab. 5.4*

TRATTAMENTO	GERMOGLIO RIPRODUTTIVO		
	fiori/pannocchia	ramific/pannocchia	foglie/germoglio
Controllo	118,2a	8,2a	4,5
Rimoz giugno	83,6b	7,2a	4,4
Rimoz agosto	82b	2,8b	5,5

## 6. DISCUSSIONE

Si è visto che l'azione inibitoria del frutto sulla fioritura si manifesta soprattutto fra gli stadi fenologici 707 e 709 della scala BBCH, ovvero quando il frutto ha raggiunto il 70-90% della sua dimensione finale: la presenza del frutto nell'albero dallo stadio 707 della scala BBCH fino alla maturità ha determinato un calo nel numero di fiori sia nelle pannocchie principali che nelle pannocchie secondarie. Tale risultato trova riscontro se comparato ai risultati di altri autori che hanno lavorato sull'arancio dolce (Martinez-Fuentes *et al.*, 2010), sul pompelmo "Marsh" in condizioni tropicali (Betancourt *et al.*, 2008) e nel pesco (Reig *et al.*, 2006) e nell'avocado (Gandolfo, 2008).

Dall'altro canto, l'assenza del frutto negli alberi per la maggior parte del suo ciclo vegetativo lascia le gemme, i germogli in formazione e le radici la funzione di organi di richiamo per i carboidrati. Le radici sono "sink" deboli, ed in alcune specie, il loro accrescimento si ha solo quando cessa lo sviluppo vegetativo. In accordo con ciò, il numero di germogli sviluppati nell'albero e l'accumulo delle riserve nelle radici dovrebbe essere maggiore, come infatti è successo. In accordo con i risultati ottenuti, l'eliminazione di tutti i frutti dall'albero ha appena modificato il numero di gemme principali che sono germogliate alla fine dell'accrescimento vegetativo, mentre quello delle anticipate si è duplicato. Nonostante ciò, in entrambe i casi la schiusura si è anticipata significativamente ed entrambi i germogli, principali ed anticipati, hanno presentato alla fine dell'accrescimento un numero e una lunghezza maggiore degli internodi. Bisogna aggiungere che indipendentemente dal fatto che si è modificato o meno il numero finale di gemme principali, la schiusura si è anticipata e questi germogli sono risultati significativamente più lunghi alla fine dell'accrescimento. Inoltre, hanno ignorato la dominanza apicale, permettendo così che un numero maggiore di gemme ausiliare sono riuscite a germogliare anticipatamente e che questi germogli hanno anche raggiunto una lunghezza maggiore. In accordo con la riduzione del numero di internodi, e conseguentemente di gemme, dovuti all'azione del frutto, il numero di fiori che ci si prevedevano per l'autunno doveva essere minore, così come poi si è verificato.

Analizzando la concentrazione degli zuccheri riduttori nei frutti è possibile notare una correlazione con quanto avviene nelle foglie: infatti come sottolineato in precedenza,

nelle foglie in corrispondenza del cambio di colore si assisteva ad un calo netto nella concentrazione di zuccheri riduttori. Viceversa, nel frutto è proprio in corrispondenza del cambio di colore che la concentrazione di tali zuccheri aumenta. Quindi è possibile legare questo aumento della concentrazione di zuccheri riduttori nel frutto ed il conseguente nelle foglie come un semplice effetto “source-sink”, dove il frutto esercita la sua azione da “sink” richiedendo fotoassimilati alla foglie, soprattutto nelle fasi intercorrenti tra la fine della distensione cellulare ed il cambio di colore del frutto. I cambi osservati nel contenuto in zuccheri di trasporto nelle foglie e nel floema degli alberi sottoposti al carico completo di frutti, sono conseguenza diretta della ripartizione regolata dal frutto, come lo dimostra la comparazione con gli alberi senza frutto. Il doppio di contenuto di zuccheri di trasporto nel floema degli alberi che hanno mantenuto tutti i frutti rispetto a quelli che non ne avevano nessuno, però con i germogli in sviluppo, riflette l'importanza che il tipo di “sink” ha nella mobilitazione dei carboidrati.

Nell'epoca dell'induzione fiorale la concentrazione degli zuccheri riduttori (fruttosio e glucosio) e del saccarosio non è stata alterata dalla presenza/assenza dei frutti, per cui si assiste a concentrazioni simili nei tessuti delle piante CF e nei tessuti delle piante SF. Il sorbitolo, invece, è risultato presente in concentrazione maggiore nelle piante dove si sono mantenuti i frutti. Considerando che le piante CF, in virtù della presenza dei frutti, sono quelle che nell'annata successiva fioriranno di meno, e considerando quando detto in precedenza per gli zuccheri riduttori ed il saccarosio è possibile affermare che i carboidrati, pur essendo indispensabili per il germogliamento e la crescita vegetativa (Srivastava, 2002) non giocano un ruolo fondamentale nel processo dell'induzione fiorale delle gemme. La variazione del contenuto in zuccheri di riserva nelle radici osservato con l'analisi dell'amido non ha nessuna relazione con la fioritura. Nel momento del germogliamento, mentre il contenuto in zuccheri riduttori e di trasporto era leggermente diverso, in funzione della presenza del frutto, il contenuto in amido era più alto nelle piante CF che, è utile ricordare, sono quelle che nell'anno successivo sono fiorite con minore intensità. Ciò indica, quindi, che l'amido non è stato idrolizzato per il germogliamento. Il picco nell'accumulo nelle piante SF allo stadio 801 va visto nell'ottica dell'assenza del frutto, con la pianta che supporta uno sforzo inferiore rispetto alle piante CF, e con una maggiore possibilità di accumulare riserve sotto forma di amido. Però non è

dimostrabile un legame tra la formazione di questo picco e un maggiore abbondanza della fioritura.

Analizzando le riserve di zuccheri nelle foglie delle piante che hanno mantenuto i frutti, è possibile osservare come ci sia più amido durante il cambio di colore, perchè probabilmente le foglie, sottoposte per molto tempo ad un forte “sink”, qual è il frutto, subito dopo la fase di rapido accrescimento del frutto, quindi al venir meno dell’effetto “sink” del frutto stesso, iniziano ad accumulare riserve. Alcuni autori hanno dimostrato che una certa concentrazione soglia di amido può essere considerata necessaria affinché una gemma germogli ed inizi la fioritura, per cui in piante dove le radici presentavano livelli di amido più elevate era lecito attendersi una fioritura di intensità maggiore. Di contro alcuni esperimenti condotti sugli agrumi ed altre specie, prova che la presenza di altri fattori (ad esempio gradienti termici differenti, o condizioni di ombreggiamento differenti) possa mascherare una possibile correlazione tra la concentrazioni di amido nei tessuti e la fioritura, per cui la relazione stessa non è dimostrabile (Garcia-Luis e Guardiola, 2000; Garcia-Luis *et al.*, 1988; Goldschmidt *et al.*, 1985; Reig *et al.*, 2006).

Durante le prime fasi di sviluppo del frutto, questi dipende dai fotoassimilati trasportati dalle foglie, come dimostra l’accumulo di zuccheri riduttori durante tutte le fasi dello sviluppo. E' possibile osservare come alla data della raccolta gli effetti dovuti alla presenza del frutto sono più pronunciati. Per esempio, prima della raccolta, nel floema e nelle foglie delle piante CF il livello di sorbitolo è molto più basso, virtù dell'effetto “sink” esercitato dal frutto stesso; nel momento dell'accrescimento vegetativo, con il venir meno dell'effetto “sink” del frutto, è possibile osservare come il livello di sorbitolo cresce sia nelle foglie (circa il doppio) che nel floema.

Nell’esperimento in questione è possibile incontrare una relazione tra la concentrazione di ione ammonio ( $N-NH_4^+$ ) e l’intensità di fioritura. Dai risultati ottenuti è evidente il contenuto in ione ammonio sia più basso nelle piante che hanno mantenuto i frutti fino alla raccolta, e che quindi hanno fiorito meno. Per cui è possibile correlare un più basso contenuto in  $NH_4^+$  ad una fioritura meno abbondante. Questo perché la presenza del frutto, riduce l'attività enzimatica delle nitrato-riduttasi nelle foglie e di conseguenza il contenuto in nitrati ( $N-NO_3^-$ ) ed in ione ammonio ( $N-NH_4^+$ ). Ciò si accorda con quanto

osservato da altri autori: alcuni autori (Monselise *et al.*, 1981; Srivastava *et al.*, 2002; Reig *et al.*, 2006) rilevarono altri contenuti di nitrati in piante che tendevano a fiorire più o meno allo stesso tempo in cui il contenuto in azoto totale tendeva a diminuire, concludendo che negli alberi sovraccaricati di frutti il meccanismo di riduzione dei nitrati si presentava alterato. I risultati di questi autori trovano riscontro con i risultati di questo esperimento: infatti mentre la concentrazione di nitrati nelle foglie tende a calare sia nelle piante CF che nelle piante, per quanto riguarda lo ione ammonio questi cala drasticamente nelle piante CF, mentre tende ad aumentare nelle piante SF. Quindi risulta evidente che l'azione delle nitrato-riduttasi nelle foglie risulta alterata dalla presenza dei frutti. Inoltre, l'attività di questi enzimi è direttamente influenzata dalla richiesta di ione ammonio esercitata dai "sink" in sviluppo, nel caso specifico i frutti.

L'effetto inibitore del frutto sulla fioritura è stato identificato da numerosi autori sia su specie caducifoglie che in specie sempreverdi. Dai risultati dell'esperimento in questione sul nespolo si è visto che il frutto esercita la sua azione inibitoria nel momento in cui raggiunge l'80-90% delle sue dimensioni finali (708-709 della scala fenologica BBCH), ovvero ad aprile. Subito dopo il cambio di colore, quindi in coincidenza dell'arresto dello sviluppo dei semi, fino alla completa senescenza del frutto, si osserva un'azione addizionale nella riduzione della fioritura; per cui è possibile ipotizzare che siano i semi ad esercitare un'azione inibitoria nei confronti della fioritura (Bangerth, 2009).

L'analisi ormonale dei germogli misti dove sono stati eliminati gli apici (esperimento "Despuntado") nelle due epoche di sensibilità ovvero giugno (induzione fiorale) e agosto (differenziazione fiorale) indica che nel nespolo l'apice per fiorire necessita, nel momento dell'induzione fiorale, di alti contenuti di ABA e di bassi contenuti in giberelline. Nell'esperimento in questione si è osservato come l'IAA, giusto prima della differenziazione dell'apice, si riduce molto fino a raggiungere valori simili a quelli riscontrabili nei germogli vegetativi. Questo perché l'apice arresta la sua crescita nei mesi più caldi (luglio-agosto); in tale periodo di stasi, riscontrabile quasi sempre nei climi mediterranei, viene sintetizzato meno IAA.

I risultati ottenuti nell'esperimento che prevedeva la rimozione degli apici nelle due epoche di sensibilità sono paragonabili a quelli ottenuti nell'esperimento "CF y SF". Infatti

nell'epoca dell'induzione fiorale, la concentrazione dell'acido abscissico tende ad aumentare nelle piante dove era stato rimosso il frutto (SF), che hanno poi presentato un'intensità di fioritura maggiore, mentre nelle piante CF la concentrazione in ABA tendeva a diminuire, in relazione con una fioritura di minore intensità. Inoltre la concentrazione di ABA delle piante SF raggiunge i suoi livelli più elevati immediatamente prima dell'induzione. Analizzando la relazione tra IAA/zeatina, si è visto che questa si mantiene più bassa nelle piante SF rispetto alle piante CF per l'intera durata del ciclo vegetativo. Quindi è possibile mettere in relazione un abbassamento di tale rapporto con un'intensità di fioritura maggiore e viceversa. L'aspetto più rilevante è che in pieno accrescimento vegetativo, quando inizia il germogliamento anticipato negli alberi SF, la concentrazione di IAA era minore e quella della zeatina maggiore, rispetto a quelli CF, facilitando così un maggiore e più precoce germogliamento e differenziazione a fiore nei primi rispetto ai secondi.

Dall'eliminazione dell'apice nelle due epoche di sensibilità all'effetto del AG, giugno e agosto, (Reig 2010) si è visto che possibile individuare esattamente l'epoca di induzione fiorale. Si è infatti visto che germogliano gli apici più prossimi al taglio. Nel caso di taglio ad giugno, le gemme prossime al taglio sono germogliate e hanno prodotto fiori, perché erano già presenti nel momento dell'induzione. Nel caso di taglio ad agosto, le gemme prossime al taglio sono ex-novo, ovvero prodotte dopo il taglio stesso, quindi tali gemme non hanno subito lo stimolo induttivo dell'apice, per cui produrranno germogli vegetativi; inoltre le gemme che erano state indotte e che erano situate in posizione basale non potendo germogliare, non differenzieranno apici riproduttivi e pannocchie. Pertanto, il segnale induttivo che aveva ricevuto l'apice terminale eliminato non è stato trasmesso alle gemme ausiliari più vicine. Morris *et al.* (2005) suggeriscono che dopo l'eliminazione ha luogo un segnale di azione rapida che permette alle gemme laterali di entrare in uno stadio di transizione che le libera dalla dominanza apicale.

## 7. CONCLUSIONE

- La presenza del frutto ha influenzato il germogliamento de las yemas principales y anticipadas, anticipandolo di circa 35 giorni, ha ridotto significativamente il numero di germogli anticipati, ed la lunghezza di entrambe i tipi di germogli.
- Il frutto controlla la fioritura direttamente riducendo il numero di fiori delle pannocchie principali ed anticipate e, indirettamente, riducendo il numero di pannocchie anticipate.
- I carboidrati, pur essendo indispensabili per il germogliamento e la crescita vegetativa, non giocano un ruolo fondamentale nel processo della fioritura
- La presenza del frutto riduce l'attività enzimatica delle nitrato-riduttasi nelle foglie e, di conseguenza, aumenta la sua concentrazione in nitrati ( $N-NO_3^-$ ) e diminuisce quella dello ione ammonio ( $N-NH_4^+$ ). Si stabilisce, pertanto, una relazione tra un basso contenuto fogliare di  $NH_4^+$  e una fioritura meno abbondante.
- L'eliminazione dell'apice nell'accrescimento in giugno provoca il germogliamento e la fioritura delle gemme più prossime al taglio, mentre eliminandolo in agosto il germogliamento delle gemme più prossime al taglio produce solo foglie. Ricordando che queste gemme non erano rpresenti a giugno, il risultato indica che l'induzione fiorale in questa specie ha luogo intorno al mese suddetto.



## 8. CONCLUSIONES

- La presencia del fruto anticipa la brotación de las yemas principales y anticipadas aproximadamente en 35 días, y reduce significativamente, el número de brotes anticipados y la longitud de ambos tipos de brotes.
- El fruto controla la floración, directamente reduciendo el número de flores de las panículas principales y anticipadas e, indirectamente reduciendo el número de panículas anticipadas.
- Los carbohidratos, a pesar de ser indispensables para la brotación y el crecimiento vegetativo, no tienen un papel fundamental en el proceso de la floración.
- La presencia del fruto reduce la actividad enzimática de la nitrato-reductasa en las hojas y, como consecuencia, aumenta su concentración en nitratos ( $\text{N-NO}_3^-$ ) y disminuye la de amonio ( $\text{N-NH}_4^+$ ). Se establece, por tanto, una relación entre un bajo contenido foliar de  $\text{NH}_4^+$  y una floración menos abundante.
- La eliminación del ápice en crecimiento en junio provoca la brotación y floración de las yemas más próximas al corte, mientras que eliminándolo en agosto la brotación de las yemas más próximas al corte sólo dan hojas. Puesto que estas yemas no estaban presentes en junio, el resultado indica que la inducción floral en esta especie tiene lugar alrededor de dicho mes.

## BIBLIOGRAFIA

**Agustí M., Reig C., Undarraga P.:** *“El cultivo del nispero japonés”*. Ed. Gráficas Alcoy, Alicante, España. 2006.

**Agusti M., Reig C., Mesejo C., Martinez-Fuente A.:** *“Parthenocarpic fruit production in loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) by using gibberellic acid”*. *Scientia Horticulturae*, 126: 37-41, 2010.

**Assaf R., Rivais P.:** *“Néoculture du néflier du Japon”*. *Fruits* 32, n° 4, 1977.

**Ateyyeh, A.F.; Qrunfleh, M.M. 1998.** *“Studies on the loquat *Eriobotrya japonica* Lindl. cv. Tanaka. I. Vegetative and reproductive growth in the Jordan valley”*. *Dirasat. Agricultural Sciences*, 25: 55-63. 1998.

**A.A. V. V. :** *“Colture alternative: aspetti tecnici, economici e di mercato”*. *Agricoltura*, 185-186, 1988.

**Bangerth K.F.:** *“Floral induction in mature, perennial angiosperm fruit trees: Similarities and discrepancies with annual/biennial plants and the involvement of plant hormones”*. *Scientia Horticulturae*, 122: 153-163.

**Blumenfeld A.:** *“Fruit growth of loquat”*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 105,747-50, 1980.

**Caballero P., Fernandez M. L. :** *“Loquat, production and market”*. *Options Méditerranéennes*, 58: 11 – 20, 2002

**Calabrese Francesco:** *“Frutticoltura tropicale e subtropicale”* II- Fruttiferi legnosi -Edagricole, Bologna, Italia, 1993.

**Calabrese Francesco:** *“Nespolicoltura Italiana e Spagnola a confronto”*. *Frutticoltura*, 1, 1995.

**Calabrese Francesco:** *“Frutticoltura moderna per la Sicilia”*. Ed. Union Camere, Palermo, Italia 1988.

**Calabrese Francesco:** *“Stato attuale e prospettive della coltura del nespolo del Giappone in Sicilia”*. *Fruttic.* 10, 1989.

- Crescimanno F. G.:** *“Contributo, allo studio di alcune varietà di nespolo del Giappone coltivate in provincia di Palermo”*. Riv. dell'Ortoflorofruttic. Italian, 7-8, 1954.
- Crescimanno F. G.:** *“Ricerche sulla biologia fiorale del nespolo del Giappone”*. Riv. dell'Ortoflorofruttic. Italiana, 3-4, 1958.
- Crescimanno F. G., Barone F.:** *“Variazioni del contenuto in N, P, Ca, Mg nel nespolo del Giappone durante un ciclo annuale”*. Tecnica Agric. 4, 1980.
- Continella G., Valenti C.:** *“Characteristics of some loquat clones”*. Proc. II Meet. on Mediterr. Tree Crops. Chania, Creta, 1988.
- Cuevas J., Hueso J.J., Puertas M.:** *“Pollination requirements of loquat (Eriobotrya japonica Lindl.), cv Algeria”*. Fruits 58: 157-165, 2003.
- De La Torre C.:** *“Comparaison varietale d'une culture subtropicale: Le Neflier du Japon en Sicile”* 1997.
- Denaro S.:** *“Aspetti bio-agronomici della coltura del nespolo del Giappone ”* -Tesi di Laurea, Palermo, Italia. 1985.
- Ding C.K., Zhang H.Z.:** *“Effect of hormones on growth and development of loquat fruits”*. Acta Horticulturae Sinica, 15: 148-153, 1988
- Durrel Geraid:** *“Guida del naturalista”* -Mondadori Ed., Italia. 1968.
- Espinosa E, Martinez-Calvo J, Garcia S, Badenes M L, Llacer G.:** *“Fenologia y caracterizacion fenol6gica de variedades de nispero japones”*. Actas de Horticultura 1997.
- Fatta Del Bosco G.:** *“Indagini sull'epoca di differenziazione gemme nel nespolo del Giappone”*. Riv. Ortoflorofrutticoltura, 2, 1961.
- Fatta Del Bosco G., Fenech L.:** *“Comportamento agronomico, di alcune cultivar di nespolo del Giappone su franco e su cotogno”*. Frutticoltura, 4, 1987.

**Gandolfo, S.P.:** *"Factores ecofisiológicos relacionados con el crecimiento vegetativo, floración y desarrollo del fruto del aguacate"*. PhD Thesis, Universidad Politécnica de Valencia, España. 2010

**Gariglio N., Castillo A., Juan M., Almela V., Agusti M.:** *"El Nispero japonés. Técnicas para mejorar la calidad del fruto"*. Serie Divulgación Técnica, 2002.

**Godini A.:** *"Sull'influenza di alcuni fattori sulla germinazione e sull'allungamento dei budelli del polline del nespolo del Giappone"*. Riv. dell'Ortoflorofruitticoltura Ital. 5, 1969.

**Goubran F. IL., El-Zeftani IL. M.:** *"Assessment of some loquat cultivars"*. Austr. Hort. Res. Newsletter, 55, 125, 1983.

**Guo Q.G., Li X.L., Xing W.W., He Q., Jang G.L.:** *"A study on the occurrence natural polyploidy in loquat"*. II International Symposium of loquat, Abstract 24, 016, 2006.

**Hirai, M.** 1980. *Sugar accumulation and development of loquat fruit*. Journal of Japanese Society for Horticultural Science, 49: 347-353.

**Hu X.L.:** *"The native subtropical and tropical fruits in Yunnan"*. China. Pro. Fla. Sta. Hort. Soc. 71, 341-44, 1958.

**Huajian L. e Xinghui L.:** *"Effects of Water Stress on Photosynthesis in Loquat Trees"*. Journal of Fruit Science, 1999.

**Huxley A.:** *"The New Royal Horticultural Society Dictionary of gardening"*. Mac Millan, London, UK, 196 pp, 1992.

**Ledin R. B.:** *"Cold damage to fruit trees at the subtropical experiment station"*. Romestead. Pro. Fla. Sta. Hort. Soc. 71, 341-44, 1958.

**Lin S., Sharpe R.H., Janick J.:** *"Loquat: Botany and Horticulture"*. Horticultura Reviews 23: 233-276, 1999.

**MAPA, Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.** *"Superficies y producciones de cultivo"*. 2007

- Martinez-Calvo J., Badenes M.L., Llacer G.:** *"Il nespolo del Giappone"*. Informatore Agrario, 20, 1999.
- Martinez-Calvo J., Badenes M.L., Llacer G, Bleiholder H., Hack H., Meier U.:** *"Phenologic growth stage of loquat tree (Eriobotrya japonica (tunb.) lindl.)"*. Annals of Applied Biology, 134: 335-357. 2000
- Meyer F.:** *"Eriobotrya japonica"* Lindl. Plant. Ind. Bull., 20 I, Washington, USA, 1922.
- Monastra F., Insero O. :** *"La coltura del nespolo del Giappone in Italia"*. Frutticoltura, 10, . 1988.
- Morris, S.E; Cox, M.C; Ross, J.J; Krisantini, S y Beveridge, C.A.:** *" Auxin dynamics after decapitation are not correlated with the initial growth of axillary buds"*. Plant Physiology., 138: 1665-1672. 2005.
- Muramasu IL., Shiraki T.:** *"The time of flower bud differentiation in loquats"*. J. Hort. Ass. Japan. 17, 10-100, 1948.
- Muranishi S.** *"Effect of gibberellic acid (GA) of the seedlees fruiting of artificial polyploids in loquats (Eriobotrya japonica Lindl.)"*. Acta Hort. (ISHS) 137: 343-348, 1983
- Reig C.:** *"La accion del fruto en el control del desarrollo del nispero japonés (Eriobotrya japonica Lindl.)"*. PhD Thesis, Universidad Politecnica de Valencia, España. 2010
- Reig C., González-Rossia D., Juan M., Agustí, M."***Effects of fruit load on flower bud initiation and development in peach"*. Journal of Horticultural Science & Biotechnology, 81: 1079-1085. 2006
- Rodriguez, A.:** *El cultivo del nispero y el valle de Algar-Guadalest*. Sociedad Cooperativa de Crédito de Callosa De Ensarriá, Alicante, España. 262p, 1983.
- Rivals P., Assaf R.:** *Modalites des croissance et systèmes de reproduction du nejlir du Japon*. Fruits 32, 1977.
- Singh J. P., Rajput C. IL. S.:** *"Pomological descriptions and classification of some loquat varieties"*. Indian J. Hort. 18, 171-176, 1961.

- Spina V.:** *"Confronto varietale del nespolo a Trabia"* . Tesi di Laurea, Palermo, Italia, 1997
- Srivastava L.M. 2002. Plant growth and development. Hormones and environment. Academic Press, Ca. EEUU
- Strasburger Eduar:** *"Trattato di botanica"* Parte sistematica. Antonio Adelfi Ed., Italia.1991.
- Takase S., Honmi Y., Shinkai K. :** *"Effect of night temperature on maturity time, fruit growth and quality of loquat grown in a plastic greenhouse"*. Res. Bull. Aichiken Agr. Res. Center. 28, 300-308, 1988.
- Vavilov N.L:** *"The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants"* -The Ronald Press Co., N.Y., USA, 1951.
- Vavilov N.L:** *"Centers of origin of cultivated plants "*. Bulletin of Applied Botany and Plant Breeding, Leningrad 16: 139-248. 1926.
- Yang X.H., Glarpe K., Lin S.Q., Hu Y.L., Ruan S., Liu Y.X.:** *"Taxa of genus Eriobotria plants around the world and specializing Southeastern Asia"*. Journal of Fruit Science, 22: 55-59, 2005.
- Jiang W.B., Nie Y.G., Zhang H.H.:** *"Photosynthetic characteristics of loquat varieties in spring and winter."* CAB Abstracts Jiangsu Journal of Agricultural Sciences.. 21: 3, 197-201. 2005.
- Zhang H.Z., Peng S.A., Cai L.H., Fang D.Q.:** *"The germoplasm resource of the genus Eriobotrya with special reference on the origin of E. japonica Lindl"*. Plant Breeding, Abstracts 63: 772, 1990.

