

Login

Email
 Password

Abbonati ora a 60 € /anno



Per una enologia illuminata.

Agrigenius Vite
Il tutor per l'agricoltura

Iscriviti gratis alla Newsletter!

➤ Categorie

➤ Topics

- Flavescenza Dorata
- Malattie del legno della vite
- Vitigni e ambiente
- Gestione del Vigneto
- Difesa della vite
- Fisiologia della vite
- Lavorazione dell'uva
- Fermentazione
- Macerazione
- Vinificazione
- Microbiologia del vino
- Affinamento
- Imbottigliamento
- Confezionamento
- Igiene di cantina
- Presca di spuma
- Legislazione
- Marketing
- Analisi
- Varie
- Enoforum Web Conference 2021
- Macrowine 2021
- Microbial ecology from vineyard to consumption
- Novel tools and strategies for precision and sustainable varietal and regional enology
- Wine longevity and shelf-life
- Chemical diversity of 'special' wine styles
- Physiology of chemosensory perception, sensory science, consumers perception

Contrastare lo stress idrico mediante un innovativo trattamento fogliare

Lallemand, dopo il successo di LaVigne Aroma e Mature, allarga la gamma delle applicazioni viticole con LaVigne ProHydro™, derivato microbico che migliora la risposta della pianta allo stress idrico.

Studio anatomico di *Vitis vinifera* mediante micro tomografia a raggi X

Simone Codato, Silvia Guidoni, Claudio Lovisolo, Università degli Studi di Torino

Simone Codato, Silvia Guidoni, Claudio Lovisolo
 Università degli Studi di Torino, Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari (DISAFA), Largo Paolo Braccini, 2, 10095 Grugliasco (TO)

Contatti e-mail: codato.simone@gmail.com; silvia.guidoni@unito.it; claudio.lovisolo@unito.it

Introduzione

Lo sviluppo di strumenti e tecniche di analisi per immagini ha fin dall'antichità svolto un ruolo importante nello studio degli aspetti morfologici e funzionali di campioni biologici. In questo ambito il microscopio, dalla sua invenzione di fine XVI secolo, ha segnato una rivoluzione nella storia della scienza, grazie alla sua funzionalità fondamentale di ingrandimento, consentendo lo studio di dettagli non osservabili direttamente ad occhio nudo.

Nel susseguirsi dei secoli i grandi progressi in ambito tecnologico hanno permesso di mettere a disposizione nuove tecniche e di potenziarne le capacità, sfruttando la luce naturale visibile come sorgente di interazione con la materia nei microscopi ottici e in raggi X, fasci di elettroni nei microscopi a scansione (SEM) e a trasmissione elettronica (TEM), fasci di raggi X (RX) nelle tecniche radiografiche fino alla luce di sincrotrone nei sistemi più avanzati.

Negli ultimi vent'anni le tecniche di micro tomografia computerizzata ad alta risoluzione a raggi X (Micro Computed X-Ray Tomography, μ CT) si sono imposte come uno dei più versatili ed efficaci mezzi nello studio delle strutture costituenti le specie vegetali. Da applicazione tipicamente industriale e di medicina diagnostica umana e animale, a partire dagli inizi degli anni 2000, questa tecnica ha trovato sempre più largo impiego anche in ambito biologico ed ecologico, come strumento di indagine strutturale su suolo, animali e piante che affianca e completa tecniche tradizionali come la microscopia ottica ed elettronica.

La micro tomografia RX, grazie alle sue peculiarità, sta assumendo un ruolo fondamentale quale strumento di indagine. Utilizzata da sola o meglio ancora in sinergia con tecniche microscopiche classiche e di indagine fisiologica, può migliorare la comprensione dei complessi meccanismi che regolano lo sviluppo e la funzionalità degli organismi viventi.

Grazie alla non distruttività, questa tecnica permette anche di effettuare analisi in vivo e ripetute nel tempo, consentendo di monitorare le variazioni temporali di morfologia e fisiologia degli organi delle piante (radici, tronco, rami, foglie, gemme, infiorescenze, infruttescenze). Tra le specie arboree, il genere *Vitis* (Vitaceae) è stato spesso utilizzato come pianta modello nello studio di vari aspetti biologici, in particolare rispetto allo sviluppo strutturale e alla conduzione idraulica nel continuum radice – fusto – tralci – foglie.

La micro tomografia a raggi X

La μ CT è una tecnica di visualizzazione digitale tridimensionale non distruttiva di oggetti solidi. Grazie all'interazione fra le parti costituenti il campione e un fascio di raggi X, dalla scansione tomografica del campione da ispezionare è possibile ottenere il modello volumetrico, in un tempo relativamente ridotto e senza alcuna forma di contatto. Questo modello riproduce la complessità delle caratteristiche interne ed esterne del campione e permette di analizzarle visivamente e di misurarle senza la necessità di sezionare o alterare il componente, cosa spesso non possibile con tecniche di analisi tradizionali.

Un sistema di micro tomografia RX è costituito da una sorgente di raggi X, un porta campione rotante, un sistema di acquisizione del segnale costituito da una serie di sensori disposti a formare una griglia bidimensionale ed infine da una unità di elaborazione dei dati per la loro visualizzazione e analisi.

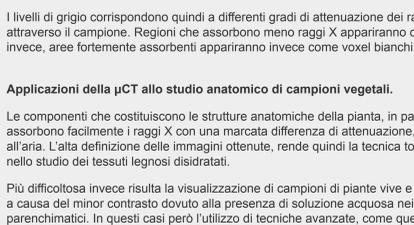


Figura 1: principali componenti del sistema di micro tomografia a raggi X utilizzato nell'investigazione, e campione di vite di quattro anni in analisi.

Il passaggio dei raggi X (figura 1), focalizzati sul piano di rotazione del campione, determina fenomeni fisici di dispersione e assorbimento che ne provocano la parziale attenuazione, mentre la frazione trasmessa raggiunge il detector. Le componenti attive dei sensori, eccitate dai raggi X, emettono a loro volta dei fotoni che sono raccolti da sensori e registrati come serie di pixel. Sono in tal modo generate immagini di sezioni bidimensionali (2D) del campione, per ogni frazione di angolo di rotazione (in totale 180° o 360°).

L'elaborazione tramite potenti algoritmi computazionali della serie di proiezioni raccolte durante l'analisi permette di creare una ricostruzione volumetrica tridimensionale completa del campione, rappresentato da "voxels" - volumetrici picture elements o volume x elements" in scala di grigi, riproducendo fedelmente le relazioni spaziali che intercorrono tra le organizzazioni cellulari che costituiscono i tessuti e gli organi vegetali.

I livelli di grigio corrispondono quindi a differenti gradi di attenuazione dei raggi X nel loro passaggio attraverso il campione. Regioni che assorbono meno raggi X appariranno come voxel scuri mentre, invece, aree fortemente assorbenti appariranno invece come voxel bianchi o grigio chiaro.

Applicazioni della μ CT allo studio anatomico di campioni vegetali.

Le componenti che costituiscono le strutture anatomiche della pianta, in particolare la cellulosa, assorbono facilmente i raggi X con una marcata differenza di attenuazione, e quindi contrasto, rispetto all'aria. L'alta definizione delle immagini ottenute, rende quindi la tecnica tomografica un mezzo ideale nello studio dei tessuti legnosi disidratati.

Più difficoltosa invece risulta la visualizzazione di campioni di piante vive e di organi fortemente idratati, a causa del minor contrasto dovuto alla presenza di soluzione acquosa nei tessuti fibrosi e parenchimatici. In questi casi però l'utilizzo di tecniche avanzate, come quelle a contrasto di fase abbinate all'utilizzo di luce di sincrotrone, permettono di avere contrasti sufficienti per l'identificazione e caratterizzazione micrometrica di tessuti idratati.

Lo studio dell'organizzazione spaziale dei vasi di conduzione xilematica e floematica di un organismo vegetale è molto sfidante, data la complessità e le ridotte dimensioni delle strutture che concorrono a formare i vasi stessi. Storicamente molti sforzi sono stati rivolti alla comprensione di questi temi e vari gruppi di ricerca si sono cimentati in questo campo, anche con un crescente impiego di tecniche di micro tomografia a raggi X e relativi software di analisi delle immagini ottenute.

Il sistema vascolare di una pianta non segue uno sviluppo in linee rette ma, al contrario, è ricco di curvature e di strette interconnessioni tra vasi. È quindi facile comprendere come sia impossibile, nella preparativa di un campione per analisi di microscopia classica, allineare il taglio, effettuato mediante microtomo, tangenzialmente o radialmente ad un vaso o addirittura ad un gruppo di vasi e seguirne lo sviluppo in tutta la loro lunghezza, nel tentativo di ricostruirne tridimensionalmente la struttura anatomica. Appare quindi evidente come una tecnica di ricostruzione tridimensionale per immagini quale la tomografia, si presti bene a questo tipo di investigazioni.

Tra le specie vegetali la vite presenta aspetti caratteristici del suo sistema xilematico e floematico determinati dalla sua natura lianosa che porta allo sviluppo di vasi larghi, lunghi e relativamente isolati tra loro. Per questi aspetti la vite è un modello ideale per studi che utilizzino tecniche di visualizzazione per immagini, soprattutto rivolti alle dinamiche dello sviluppo strutturale e della conduzione linfatica indotte da condizioni di stress idrico.

Caso studio su campioni di *Vitis vinifera*

Su una serie di ceppi di vite (cultivar Brachetto) di quattro e venti anni di età sono state effettuate analisi di micro tomografia computerizzata a raggi X. I campioni selezionati erano rappresentativi della caratteristica evoluzione delle strutture legnose indotta dalla modalità di potatura utilizzate nel corso della vita delle piante. La particolare evoluzione nel tempo della strategia di potatura e della forma di allevamento avevano determinato uno sviluppo e una riorganizzazione dei tessuti legnosi molto interessanti. Le analisi sono state eseguite a distanza di alcuni mesi dall'espianto su campioni disidratati, presso il laboratorio metrologico "Labormet Due S.r.l." (Torino, Italia) con un potente (risoluzione con dettaglio fino a 1 μ m) e versatile tomografo General Electric "Phoenix V - tome - X M".

L'analisi tomografica ha permesso la ricostruzione della complessa organizzazione anatomica del sistema di trasporto xilematico, con dettagli a livello microscopico non ottenibili con tecniche tradizionali.

La figura 2 mostra la rappresentazione tridimensionale della regione di inserzione della branca laterale del campione di quattro anni e una relativa sezione radiale del ceppo. La regione tridimensionale rappresentata in trasparenza, evidenzia vasi con uno sviluppo lineare lungo l'asse verticale del ceppo che assumono una distribuzione molto complessa con cambio di direzione in corrispondenza dell'inserzione del tralcio laterale che alimentano. Parte dei vasi del ceppo sono orientati verso la sezione inferiore della branca e alcuni di questi a loro volta sono deviati radialmente, verso la sezione superiore, secondo un modello orchestrato dalla vite per costruire il sistema di vasi xilematici del tralcio in via di sviluppo. Allo stesso tempo, i vasi del ceppo non coinvolti nell'alimentazione della branca laterale mantengono una direzionalità verticale e sono ridistribuiti lungo il loro sviluppo per dare omogeneità e continuità al sistema di vasi xilematici della porzione distale della pianta. Quanto osservato riflette le modalità di riorganizzazione dei tessuti che si verifica in seguito alla formazione di una gemma e alla sua successiva evoluzione in germoglio - tralcio - branca col progredire delle fasi fenologiche e degli interventi di potatura annuali.

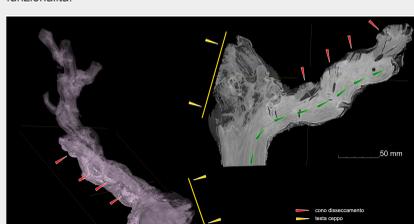


Figura 2: rappresentazione solida e in trasparenza del campione di vite di quattro anni (sinistra) e relativa proiezione di un piano di sezione radiale (destra). L'analisi μ CT permette la ricostruzione dettagliata tridimensionale della morfologia esterna e della complessità di sviluppo dei vasi xilematici, oltre che il dettaglio in sezione delle componenti strutturali principali. Evidenti le occlusioni presenti in forti vasi xilematici dei primi tre anni di sviluppo (freccie rosse).

Il forte contrasto in assorbimento di raggi X tra i tessuti legnosi e l'aria ha permesso di evidenziare con ottima risoluzione (20 μ m) le componenti strutturali principali nel campione di vite di quattro anni. Nella sezione radiale, infatti, sono ben visibili il midollo centrale, la successione di sviluppo annuale (da 1 a 4 in figura), i raggi midollari, il lume dei vasi xilematici e la regione anulare esterna del foema (figura 2). Di particolare interesse è la presenza di vasi xilematici occlusi nei tessuti dei primi tre anni di sviluppo della vite, con maggiore incidenza nella regione del secondo anno, assenti invece in quella dell'ultima stagione vegetativa. Questa caratteristica è stata osservata lungo tutto lo sviluppo della porzione di ceppo indagata e anche lungo le branche laterali.

Il sistema di conduzione della pianta, infatti, si adatta dinamicamente alle variazioni delle condizioni di disponibilità idrica e di nutrienti ed evolve nel tempo, modificando l'efficacia della conduzione idrica, fino alla perdita definitiva della stessa.

L'assenza di occlusioni nei vasi sviluppati durante l'ultima stagione di crescita suggerisce che la loro presenza possa dipendere da eventi che si verificano successivamente all'anno di produzione del tessuto interessato. I vasi si occludono e perdono la funzionalità a causa di emboli o di produzione e accumulo di gomme, gel o tille. La formazione di queste occlusioni può essere innescata da eventi di disidratazione ed embolia, in risposta ad attacchi di patogeni o anche come conseguenza di un modello di senescenza dei vasi più vecchi, secondo il quale ad un iniziale sviluppo pre-funzionale segue un breve periodo di funzionalità di conduzione idraulica ed uno successivo post-funzionale, nel quale i tessuti assumono un ruolo strutturale. La capacità di regolare la produzione di nuovi vasi e di occludere i vasi vecchi, è stata proposta come fine meccanismo utilizzato dalla pianta per modulare lo sviluppo in funzione delle sue esigenze idriche, da un lato, e dell'andamento delle condizioni meteorologiche, dall'altro.

Le analisi tomografiche hanno anche fatto emergere importanti aspetti dell'evoluzione delle caratteristiche strutturali delle piante a seguito della successione delle potature. La vite infatti necessita di potature annuali per controllarne la naturale tendenza a ramificare seguendo uno sviluppo verticale. Independentemente dal sistema di allevamento adottato, i tralci vengono quindi periodicamente tagliati per portare la pianta ad una dimensione gestibile e per rinnovare i capi a frutto, regolando in questo modo l'equilibrio tra crescita vegetativa e produzione. In seguito al taglio si ha un progressivo degrado della porzione di legno ad esso sottostante, secondo meccanismi di disseccamento e necrosi attivi dalla pianta. Il volume (cono) di disseccamento è proporzionale al diametro della sezione recisa e diventa un potenziale sito di ingresso per patogeni che colonizzano i tessuti morti e che possono ulteriormente spostarsi verso porzioni vitali della pianta. In questo modo, l'infezione delle ferite può evolvere determinando un ampliamento delle aree di tessuto legnoso morto e, influenzando negativamente lo stato di salute della vite, causarne il declino.

Le analisi μ CT hanno evidenziato in modo dettagliato lo sviluppo dei conici di disseccamento, sfruttando il marcato contrasto tra i tessuti morti e quelli che erano ancora vivi nelle piante prima del loro espanto. La minore densità dei tessuti morti determina, come detto, un minore assorbimento dei raggi X che, di conseguenza, appaiono nelle immagini tomografiche più scuri di quelli vivi.

Il campione di vite di venti anni era rappresentativo del degrado indotto dalla potatura. Il metodo adottato nella prima parte di vita della pianta era, infatti, basato su ripetuti tagli annuali, tipicamente concentrati sulla parte apicale del ceppo (figura 3). Le aree di disseccamento, moltiplicatesi nel corso degli anni, avevano portato allo sviluppo di un'ampia zona di legno morto, compromettendone la funzionalità.

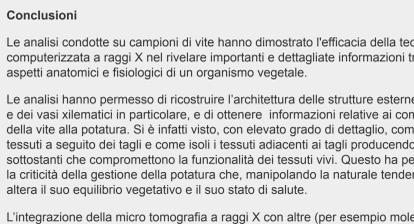


Figura 3: rappresentazione solida e in trasparenza del campione di vite di venti anni (sinistra) e relativa proiezione di un piano di sezione longitudinale (destra). Si può apprezzare la totale compromissione della parte distale del ceppo (freccie gialle) e lo sviluppo successivo della branca laterale (freccie verdi) in seguito al cambio di tecnica di potatura. Su questa sono inseriti conici di disseccamento (freccie rosse) dovuti a tagli che però concentrati sulla parte dorsale che però non compromettono la continuità del flusso linfatico che può scorrere nei vasi ventrali non compromessi.

Considerando la necessità di rinnovare la parte viva della vite, negli ultimi otto anni di vita della pianta il sistema di potatura originaria era stato modificato e prevedeva la formazione di due branche controposte, originate da gemme dormienti presenti sulla porzione ancora viva del tronco. Con questa tecnica, che provocava l'allontanamento graduale del capo a frutto dal ceppo alternando unilateralmente, si voleva evitare che i tagli invasivi si concentrassero su un'unica porzione di tronco, compromettendo uno sviluppo equilibrato della pianta e limitando la formazione di conici di disseccamento di grandi dimensioni. La potatura, inoltre, era stata ottimizzata selezionando i capi a frutto nella parte dorsale della branca, concentrando su questa i conici di disseccamento. Questo permetteva di preservare una buona sezione ininterrotta di legno vivo lungo la porzione ventrale, mantenendo una fluida conduzione linfatica. Questa tecnica, però, era stata solo parzialmente efficace, poiché negli anni era stato necessario contenere l'espansione laterale delle branche per evitarne l'affastellamento con quelle delle piante adiacenti, determinata dalla ridotta distanza tra le piante adottata all'impianto del vigneto. I tagli di ritorno che si erano resi necessari nel corso degli anni, avevano comunque determinato la formazione di evidenti conici di disseccamento, che però interessavano la parte superiore della branca e non la sua parte viva e conduttiva.

La forte criticità associata al taglio di una porzione di vite è emersa chiaramente anche nel campione di quattro anni, dove il forte impatto dei disseccamenti sulla struttura della giovane pianta era ben evidente (figura 4). Se esternamente i vari tagli di impostazione e potatura potevano apparire localizzati e ben rimarginati, internamente la compromissione coinvolgeva una parte significativa e critica dei tessuti. In particolare dal taglio di impostazione della branca laterale ("T2" in figura 4) si origina un disseccamento direttamente collegato al midollo della stessa, che si approfondiva in questo fino al ceppo. Numerose situazioni analoghe si erano verificate in vari altri punti di potatura, ad esempio nel taglio indicato come "T1" in figura 4.



Figura 4: rappresentazione solida e in trasparenza del campione di vite di quattro anni (sinistra) e relativa proiezione di un piano di sezione longitudinale (destra). Si nota la complessità dello sviluppo e della riorganizzazione dei vasi xilematici lungo l'asse del ceppo e nelle regioni di inserzione della branca laterale e di potatura. Evidente l'impatto del taglio di potatura di formazione della branca laterale (T2) che crea un cono di disseccamento direttamente collegato al midollo.

Qualsiasi taglio può quindi determinare meccanismi critici di degradazione dei tessuti che danneggiano parti di pianta che, invece, dovrebbero essere conservate per mantenerne vivi e funzionali gli organi.

Il dibattito su questi temi è di attualità ed evidenzia la necessità di utilizzare per la potatura di allevamento e di produzione, tecniche che mirino a preservare il più possibile la vitalità dei tessuti e del sistema vascolare, limitando lo sviluppo dei conici di disseccamento in numero e dimensione, favorendo la longevità delle piante, la resistenza dei tessuti al degrado del legno e l'efficienza produttiva del vigneto.

Conclusioni

Le analisi condotte su campioni di vite hanno dimostrato l'efficacia della tecnica di micro tomografia computerizzata a raggi X nel rivelare importanti e dettagliate informazioni tridimensionali relative ad aspetti anatomici e fisiologici di un organismo vegetale.

Le analisi hanno permesso di ricostruire l'architettura delle strutture esterne e interne delle piante di vite, e dei vasi xilematici in particolare, e di ottenere informazioni relative ai complessi fenomeni di risposta della vite alla potatura. Si è infatti visto, con elevato grado di dettaglio, come la pianta riorganizzi i propri tessuti a seguito dei tagli e come isoli i tessuti adiacenti ai tagli producendo conici di disseccamento sottostanti che compromettono la funzionalità dei tessuti vivi. Questo ha permesso anche di evidenziare criticità della gestione della potatura che, manipolando la naturale tendenza evolutiva della pianta, altera il suo equilibrio vegetativo e il suo stato di salute.

L'integrazione della micro tomografia a raggi X con altre (per esempio molecolari) nello studio della fisiologia della vite potrebbe portare a una migliore comprensione dei complicati meccanismi che regolano le funzioni di organi e tessuti, in particolare rispetto alla risposta della pianta a condizioni di stress biotici e abiotici.

Ad oggi la strumentazione tomografica non è impiegabile in campo ma si possono effettuare inquadri in vivo e ripetute nel tempo su piante allevate in vase. Analogamente a quanto esemplificato in questo testo, osservazioni effettuate prima e dopo la potatura, potrebbero evidenziare le dinamiche di sviluppo delle gemme adiacenti ai tagli, ricostruendo la formazione e l'organizzazione dei vasi xilematici del nuovo germoglio in crescita. Contemporaneamente si potrebbero documentare i meccanismi attivati dalla pianta per isolare i tessuti adiacenti al taglio mediante la formazione di conici di disseccamento.

Le informazioni ottenute potrebbero fornire elementi utili ad affinare le tecniche di potatura manuale delle vite, con lo scopo di preservare un'efficiente conduzione della linfa e limitare le ferite che deteriorano i tessuti e li rendono più sensibili alla colonizzazione da parte di patogeni del legno. Una comprensione più dettagliata di questi aspetti, integrata da informazioni genetiche e fisiologiche, potrebbe facilitare l'evoluzione delle tecniche agronomiche, con l'obiettivo di preservare la salute del vigneto per tempi prolungati e garantirne un miglior equilibrio vegeto - produttivo.

Bibliografia.

Codato Simone, "Tecniche strumentali di micro tomografia a raggi X applicate allo studio dell'apicomeresistema vigneto", Relazione di Finale, Laurea in Viticoltura ed Enologia, Università degli Studi di Torino, A.A. 2018 - 2019.

Ringraziamenti.

Gli autori ringraziano il Sig. Riccardo Girelli, titolare del laboratorio metrologico Labormet Due S.r.l., per aver concesso l'utilizzo gratuito della strumentazione tomografica e il responsabile della sala metodologica, Sig. Giorgio Vattasso, per la grande disponibilità e l'alta professionalità dimostrate nell'esecuzione delle analisi.

Publiccata il 16/04/2022

Documenti allegati

PDF (1,163 KB) APRI E LEGGI L'ARTICOLO

Schede correlate

Lieviti non-Saccharomyces - Un interessante complemento a Saccharomyces cerevisiae, con particolare riferimento a *Metschnikowia puacheriana*
 Alison Roberts, Technical Applications Manager, AB Biotec

Astrazione dei vini rossi: correlazioni tra caratteristiche chimiche e sensoriali
 Carolina Perez et al., Pontificia Univ. Católica de Chile, Univ. de Talca, Univ. de Santiago de Chile

Relazione tra i parametri chimici dei tannini e gli attributi gustativi delle frazioni fenoliche dell'uva
 S. Ferrero-Del-Teso | ISTITUTO DI SCIENZE DE LA VIT E DEL VINO, Sogipa

Bassi dosaggi di rame in viticoltura per il controllo della peronospora: efficacia e stabilità
 Roberto Zanotti e Oscar Giovannini | Fondazione Edmund Mach, Italia

Utilizzo di nuovi strumenti per l'invecchiamento dei vini rossi: microsiggenazione attiva e passiva con legno di quercia
 A. Martínez-Ol et al., Universidad de Valladolid, Spagna

Le mie botticelle si stanno rimpicciolendo? Uno sguardo più approfondito al desorbimento dell'ossigeno nel vino
 Bevers Sutton et al., Università di Stellenbosch, Sudafrica