



MilleVigne

IL PERIODICO DEI VITICOLTORI ITALIANI

by
VIGNAIOLI
PIEMONTESI



FORBICI PER LA POTATURA,
QUALI SCEGLIERE?

IMPRONTA IDRICA
IN VIGNA E IN CANTINA

SOSTENIBILITÀ DEL LEGNO
IN CANTINA

04 2021
DICEMBRE

VITICOLTURA
**La genetica
e il nuovo che avanza**

ENOLOGIA
**I batteri acetici
nel vino**

ECONOMIA
**L'export torna
ai livelli pre Covid**

Conoscere l'anatomia della vite con la tomografia a raggi X

Lo studio dell'anatomia e della funzionalità dei sistemi vegetali ha radici antiche e, in questo ambito, l'osservazione visiva ha sempre svolto un ruolo essenziale per gli anatomici. Nei secoli questi si sono avvalsi di ausili che hanno permesso lo studio sempre più dettagliato, fino a livelli sub-micrometrici, dell'organizzazione dei tessuti e degli organi. Le tecniche di microscopia hanno svolto un ruolo decisivo in questo processo, da quelle ottiche fino a quelle più avanzate come la microscopia elettronica a scansione e trasmissione. A queste, negli ultimi vent'anni, si sono affiancate tecniche di micro tomografia a raggi X ad alta risoluzione, che si sono imposte come uno dei più versatili ed efficaci mezzi disponibili per lo studio delle strutture costituenti le specie vegetali.

La micro tomografia computerizzata a raggi X (Micro Computed X-Ray Tomography, μ CT) è una tecnica di analisi e visualizzazione digitale non distruttiva di oggetti solidi.

Questa tecnologia permette di riprodurre fedelmente le relazioni spaziali che intercorrono tra le organizzazioni cellulari che costituiscono i tessuti e gli organi di un campione vegetale, permettendone una ricostruzione tridimensionale (figura 1) e una vista da qualsiasi lato, grazie alla possibilità di ruotare liberamente la ricostruzione mediante opportuni software di visualizzazione.

Dal modello tridimensionale è possibile eseguire una moltitudine di misure su complessi aspetti geometrici interni, solitamente non accessibili con tecniche tradizionali di investigazione, senza alcuna esigenza di sezionare o alterare il componente.

Grazie al fatto di non essere distruttiva, questa tecnica permette anche di effettuare analisi *in vivo* e ripetute nel tempo, consentendo, ad esempio, di seguire l'evoluzione morfologica e fisiologica degli organi delle piante (radici, tronco, rami, foglie, gemme, infiorescenze, infruttescenze) al progredire delle fasi fenologiche. Questa tecnica è stata utilizzata anche per lo studio delle caratteristiche strutturali del suolo, dei processi di trasformazione della sua com-

ponente organica (mineralizzazione e umificazione) e delle interazioni con l'apparato radicale dei vegetali. Il contrasto d'immagine nell'analisi tomografica è ottenuto tramite la naturale attenuazione dei raggi X, dovuta alle strutture che assorbono o diffondono gli stessi al loro passaggio attraverso il campione analizzato. La cellulosa e le altre componenti carboniose costituenti le strutture anatomiche della pianta assorbono facilmente i raggi X e la

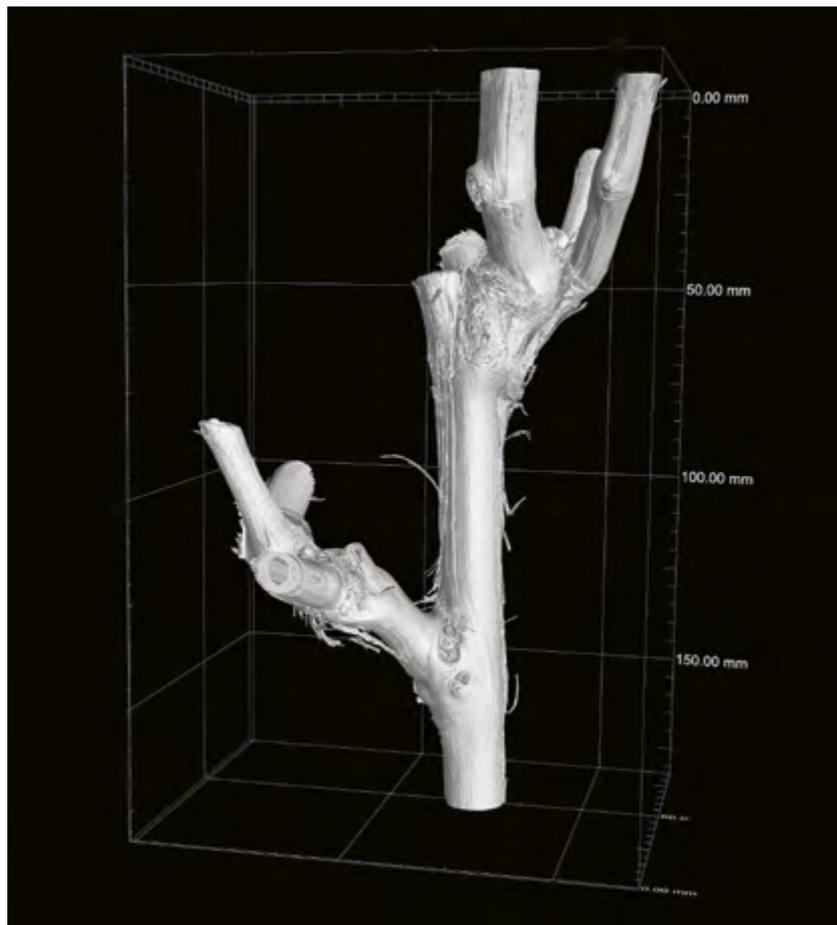


Figura 1. rappresentazione tridimensionale del campione di vite di 4 anni. L'analisi μ CT permette la ricostruzione dettagliata della morfologia esterna del campione, visualizzabile da ogni punto di vista mediante opportuni software che ne permettono la rotazione in un sistema di assi cartesiani

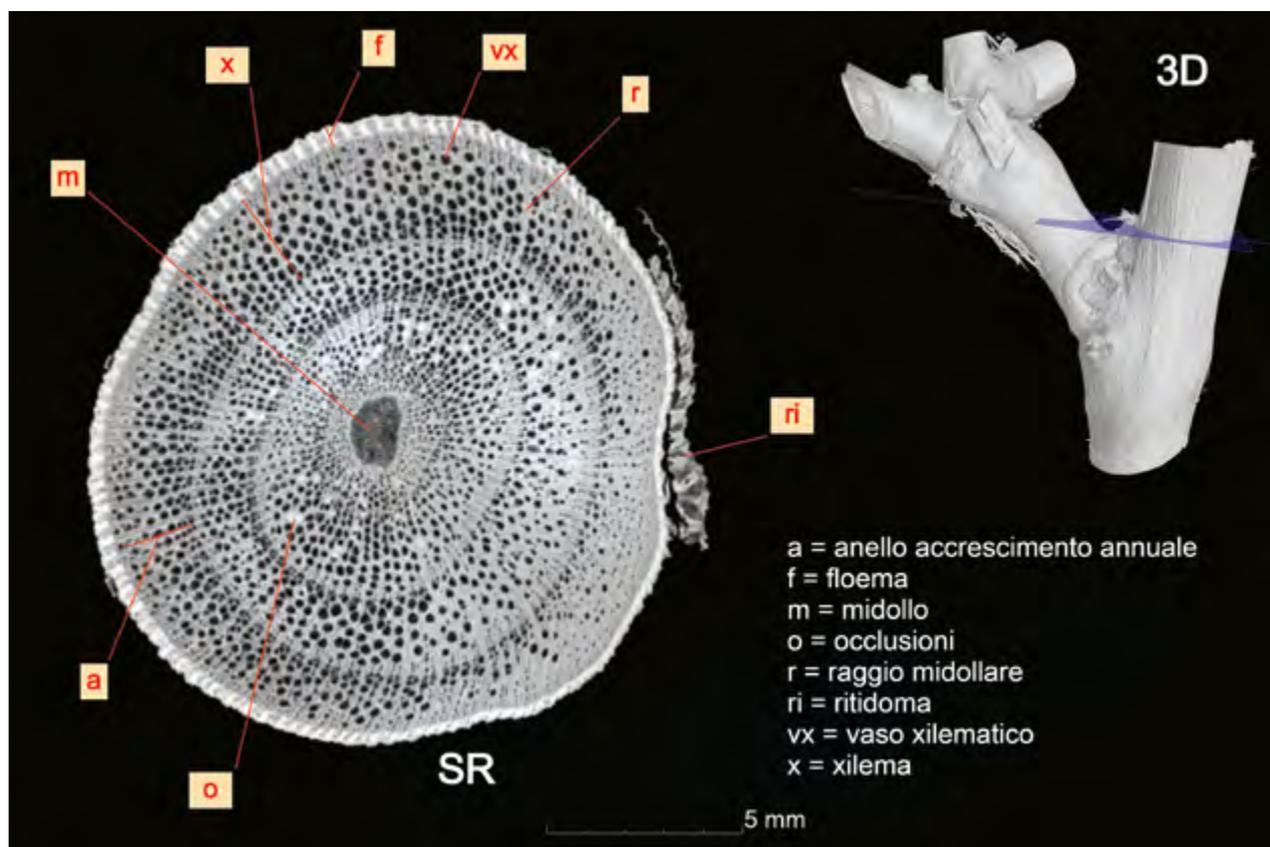


Figura 2. Rappresentazione tridimensionale del campione di 4 anni (3D) e relativa proiezione di un piano (blu in 3D) di sezione radiale (SR). Sono ben visibili le caratteristiche strutturali fondamentali del campione. Di particolare interesse le occlusioni presenti in molti vasi xilematici dei primi tre anni di sviluppo

differenza di attenuazione rispetto all'aria porta a un eccellente contrasto e quindi definizione delle immagini ottenute, rendendo le tecniche tomografiche un mezzo ideale per lo studio dei tessuti legnosi.

Più difficoltosa è invece la visualizzazione di organi molto idratati, a causa del minor contrasto dovuto alla presenza di soluzioni acquose di idratazione nei tessuti fibrosi e parenchimatici vegetali. Tuttavia, l'associazione di tecniche avanzate come quelle a contrasto di fase abbinate con l'utilizzo di sorgenti di raggi X al sincrotrone, permette di ottenere contrasti sufficienti per l'identificazione e caratterizzazione micrometrica anche di tessuti idratati.

Grazie alle sue potenzialità, la micro tomografia a raggi X sta assumendo un ruolo fondamentale quale strumento di indagine strutturale e anatomica che, utilizzata da sola o meglio ancora in sinergia con tecniche microscopiche classiche e di indagine fisiologica, può portare a una comprensione più profonda dei

complessi meccanismi che regolano lo sviluppo e la funzionalità degli organismi viventi.

STUDI DI MICRO ANATOMIA SU VITE

Le analisi di micro tomografia computerizzata a raggi X sono state effettuate su una serie di ceppi di vite prelevati da vigneti in via di espanto nel 2019. **Tra questi si sono selezionati due campioni (cultivar Brachetto) di diversa età (quattro e venti anni), individuati in funzione delle modalità di potatura utilizzate nel corso della vita delle piante. La particolare evoluzione nel tempo della strategia di potatura e forma di allevamento aveva infatti determinato uno sviluppo e una riorganizzazione dei loro tessuti legnosi molto interessanti.** La vite di quattro anni era stata sostituita a seguito della morte di una pianta originale in un vigneto impiantato nel 1998, anno a cui risaliva il campione più vecchio.

Le analisi sono state eseguite a distanza di alcuni mesi dall'espanto su campioni completamente secchi, presso il laboratorio metrologico "Labormet Due S.r.l." (Torino, Italia) con un potente (risoluzione con dettaglio fino a 1µm) e versatile tomografo General Electric "Phoenix V - tome - X M".

I dati raccolti hanno permesso di osservare molti aspetti strutturali delle piante analizzate come i tessuti di conduzione dello xilema e del floema, fornendo informazioni dettagliate su come la successione delle potature avesse influenzato la loro evoluzione tridimensionale, l'inserimento dei germogli laterali sul tronco principale e lo sviluppo di gemme latenti negli anni.

Il forte contrasto tra i tessuti legnosi e l'aria ha evidenziato chiaramente la successione dei vasi xilematici e la regione anulare esterna del floema, apprezzabili dalla sezione radiale del campione di 4 anni riportata in **figura 2**. Di particolare interesse è la presenza di vasi xilematici oc-



Figura 3. Sezione longitudinale (SL) del campione di 4 anni. 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 potature. Evidente l'impatto del taglio di potatura di formazione della branca laterale (t) che crea un cono di disseccamento direttamente collegato al midollo, situazione che compromette l'integrità strutturale della pianta e, se sede di colonizzazione da parte di patogeni del legno, la sua salute

clusi 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. Questo è stato osservato lungo tutto lo sviluppo della porzione di ceppo indagata e anche lungo le branche laterali.

L'assenza di occlusioni nei vasi sviluppati durante l'ultima stagione di crescita suggerisce che queste possano dipendere da eventi che si verificano successivamente all'anno di sviluppo del tessuto interessato. I vasi occlusi diventano non funzionali a causa di emboli o produzione e accumulo di gomme, gel o tulle. La formazione di queste occlusioni può essere innescata da eventi di disidratazione ed embolia o anche come conseguenza di un modello controllato di senescenza dei vasi più vecchi.

La **figura 3** mostra una sezione longitudinale della regione di inseri-

mento della branca sul ceppo principale della pianta di quattro anni e l'evoluzione anatomica dei vasi xilematici. Questi hanno un chiaro sviluppo lineare lungo l'asse verticale del ceppo, mentre assumono una distribuzione molto complessa con cambio di direzione in corrispondenza dell'inserzione della branca laterale che alimentano. **Di particolare interesse è il riorientamento di parte dei vasi del ceppo verso la sezione inferiore della branca e la deviazione di alcuni di questi radialmente, verso la sezione superiore, secondo un modello orchestrato dalla vite per stabilire il corretto sistema di vasi xilematici del tralcio in via di sviluppo.** Allo stesso tempo, parte dei vasi del ceppo non coinvolti nell'alimentazione della branca sono deviati radialmente, per costruire il sistema di vasi xilematici della porzione distale della pianta. Queste caratteristiche riflettono la ri-

organizzazione dei tessuti in seguito alla formazione gemmaria e alla sua successiva evoluzione in germoglio - tralcio - branca.

La vite è una pianta lianosa e di conseguenza ha la tendenza a ramificare e a crescere in modo incontrollato, a meno che non venga potata annualmente con lo scopo di creare un equilibrio tra crescita vegetativa e produzione. I tralci vengono quindi periodicamente potati, indipendentemente dal sistema di allevamento, per portare la pianta a una dimensione gestibile e per rinnovare i capi a frutto. I tagli inducono una reazione nella vite che porta al progressivo degrado della porzione di legno a essi adiacente, fino al suo disseccamento e morte. Più grande è il taglio, più esteso è il volume (cono) di disseccamento che diventa sito di ingresso ideale per i patogeni che colonizzano i tessuti morti e 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, causando il declino della vite e influenzandone negativamente lo stato di salute.

I coni di disseccamento sono stati facilmente identificati dalle nostre analisi μ CT, grazie al marcato contrasto tra i loro tessuti morti e quelli ancora vivi nella pianta prima del suo espianto: la minore densità dei tessuti morti determina un minore assorbimento dei raggi X e, di conseguenza, questi apparivano nelle immagini tomografiche più scuri di quelli vivi.

Un chiaro esempio di questi fenomeni è rappresentato dal campione di vite di 20 anni, dove il metodo iniziale di potatura era basato su ripetuti tagli annuali, tipicamente concentrati sulla parte apicale del ceppo. Le aree di disseccamento progressivamente moltiplicatesi nel corso degli anni avevano portato a una totale compromissione di questa parte del ceppo. Le aree di disseccamento progressivamente moltiplicatesi nel corso degli anni avevano portato a una totale compromissione di questa parte del ceppo che includeva un'ampia zona di coalescenza di le-

gno morto sviluppatasi in seguito ai tagli (**figura 4**).

Considerando la necessità di rinnovare la parte viva della vite, negli ultimi otto anni di vita della pianta il sistema di potatura originale era stato modificato e prevedeva la formazione di due branche contrapposte, originate da gemme dormienti presenti sulla porzione ancora viva del tronco.

Con questa nuova tecnica che prevede l'allontanamento graduale del capo a frutto dal ceppo alternandolo bilateralmente, si voleva evitare di concentrare i tagli invasivi su un'unica porzione di tronco, per mantenere uno sviluppo equilibrato della pianta e limitare la formazione di grossi coni di disseccamento.

La potatura, inoltre, era stata ottimizzata selezionando i capi a frutto nella parte dorsale della branca dove, quindi, si formavano i coni di disseccamento; questo permetteva di preservare una buona sezione ininterrotta di legno vivo lungo la porzione ventrale della branca e di mantenere fluida la conduzione linfatica.

Questa tecnica, però, è stata solo parzialmente efficace, poiché negli anni è stato anche necessario contenere l'espansione laterale delle branche per evitarne l'affastellamento determinato dalla ridotta distanza

tra le piante in vigneto, tipica del sistema di allevamento utilizzato. I tagli di ritorno che si sono quindi resi necessari nel corso degli anni, hanno determinato la formazione di evidenti coni di disseccamento, anche se limitati alla parte superiore della branca, non interessando la sua parte viva e conduttiva.

Qualsiasi taglio effettuato sulla pianta può quindi determinare meccanismi critici di degradazione dei tessuti che portano al danneggiamento di parti che, invece, dovrebbero essere conservate per mantenere degli organi della pianta vivi e funzionali. Il dibattito su questi temi è di grande attualità e si impone come necessario lo sviluppo di tecniche di allevamento e di potatura della vite che mirino a preservare il più possibile la vitalità dei tessuti e il sistema vascolare, limitando lo sviluppo dei coni di disseccamento in numero e dimensione e favorendo così la longevità, la resistenza ai patogeni del legno e l'efficienza produttiva del vigneto.

CONCLUSIONI

Le analisi descritte hanno dimostrato che la micro tomografia computerizzata a raggi X è una tecnica di indagine versatile ed efficace per ottenere importanti e dettagliate informazioni tridimensionali sugli

aspetti anatomici e fisiologici di un organismo vegetale e, in particolare, della vite. Si è rivelato inoltre uno strumento particolarmente utile nello studio dei complessi fenomeni di risposta della vite alla potatura. In particolare, è stato possibile ricostruire l'architettura dei vasi xilematici, lo sviluppo e la riorganizzazione dei tessuti a seguito dei tagli e la formazione di coni di disseccamento a discapito dei tessuti vivi.

L'uso combinato delle tecniche di micro tomografia a raggi X con quelle di fisiologia vegetale potrebbero quindi portare a una migliore comprensione dei complicati meccanismi che regolano le funzioni degli organi e dei tessuti della vite e la risposta della pianta a condizioni ambientali di stress biotici e abiotici.

Indagini *in vivo* su piante in vaso (la strumentazione tomografica non è ancora trasportabile in campo), ripetute nel tempo prima e dopo la potatura, potrebbero essere utili nella visualizzazione dello sviluppo delle gemme adiacenti al taglio, ricostruendo la formazione e l'organizzazione dei nuovi vasi di conduzione dello xilema del germoglio in crescita, indagando contemporaneamente i meccanismi attivati dalla pianta per isolare i tessuti adiacenti al taglio mediante la formazione di coni di disseccamento.

Le informazioni ottenute potrebbero fornire nuovi spunti per ottimizzare le tecniche di potatura della vite, con lo scopo di preservare una efficiente conduzione della linfa e limitare le ferite che portano al deterioramento dei tessuti e alla loro colonizzazione da parte di patogeni del legno.

Ringraziamenti:

Si ringrazia il laboratorio Labormet Due S.r.l. per aver concesso l'utilizzo gratuito della strumentazione tomografica e in particolare Giorgio Vattasso, per la professionalità e la disponibilità dimostrate.

Codato Simone, (2020). "Tecniche strumentali di micro tomografia a raggi X applicate allo studio dell'agroecosistema vigneto", Relazione Finale, Laurea in Viticoltura ed Enologia, Università degli Studi di Torino, A.A. 2018 - 2019.

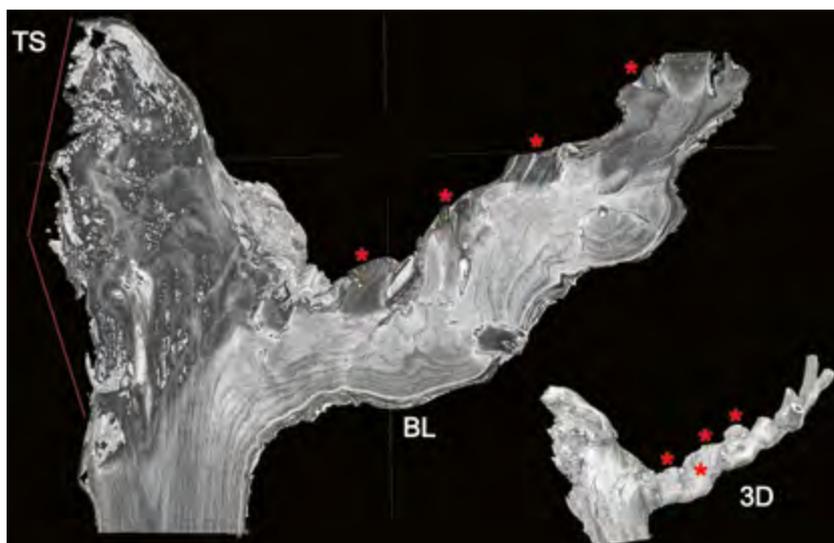


Figura 4 - Rappresentazione tridimensionale del campione di 20 anni (3D) e relativa proiezione di un piano di sezione longitudinale. Si può apprezzare lo sviluppo della branca laterale (BL) in seguito al cambio di tecnica di potatura dovuta alla totale compromissione della parte distale del ceppo (TS). Su questa sono inseriti coni di disseccamento (indicati da asterischi), dovuti a tagli di ritorno, concentrati nella parte di continuità del flusso.