



**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA**

Dipartimento Territorio e Sistemi Agro-Forestali

Corso di laurea in Scienze e Tecnologie Viticole ed Enologiche

**CAMBIAMENTI CLIMATICI: EFFETTI DELLA  
SICCITA' E STRATEGIE DI MIGLIORAMENTO  
GENETICO PER LA LORO MITIGAZIONE IN VITE**

Relatore: Professoressa Serena Varotto

Laureando: Chiappa Giulia

Matricola n. 1202074

Anno accademico 2021/2022

[Digitare qui]

# INDICE

INTRODUZIONE.....	1
CAPITOLO 1: MORFOLOGIA DELLA VITE.....	4
1.1: Morfologia dello scheletro, delle infiorescenze e gemme.....	4
1.2: La radice.....	6
1.2.1: Assorbimento dell'acqua da parte della radice.....	8
1.3: La foglia.....	8
CAPITOLO 2: IL CAMBIAMENTO CLIMATICO.....	10
2.1: Cause ed effetti del cambiamento climatico.....	10
CAPITOLO 3: LA RISPOSTA DELLA VITE ALLA SICCIÀ.....	12
3.1: Meccanismi di elusione: la regolazione stomatica.....	12
3.2: Riduzione della fotosintesi.....	14
3.3: Regolazione osmotica fogliare.....	15
3.4: Segmentazione della vulnerabilità idraulica.....	15
3.5: Risposte della bacca al deficit idrico.....	16
3.5.1: Influenza del deficit idrico sui composti coloranti.....	18
3.5.2: Influenza del deficit idrico sui composti aromatici.....	18
CAPITOLO 4: MIGLIORAMENTO GENETICO	20
4.1: Origini ed evoluzione del miglioramento genetico.....	20
4.2. Interazione genotipo-ambiente.....	21
4.2.1: Deficit idrico e variazione dell'espressione genica	22
4.2.2: Marcatori molecolari per uso efficiente dell'acqua.....	23

4.2.3: Marcatori molecolari per una qualità stabile degli acini.....	25
CONCLUSIONI.....	26
BIBLIOGRAFIA.....	29

## INTRODUZIONE

La vite (*Vitis vinifera*) è una delle colture più importanti dal punto di vista economico e produttivo del mondo. La superficie vitata a livello mondiale è di 7,4 milioni di ettari con una produzione di 250 milioni di ettolitri.

La nascita della viticoltura può essere attribuita alle popolazioni della Mesopotamia settentrionale, Siria, Anatolia centrale intorno al 5500 a.C. Successivamente si diffuse in varie zone del Mediterraneo come Egitto, Grecia e Italia (Palliotti et al., 2018). In Egitto la vite era coltivata già nel 3000 a.C. e il vino era destinato ai ceti sociali più alti, in Grecia l'uso del vino risale al 4300 a.C. e la vite era coltivata a ceppo basso e sostenuta da paletti o anche senza sostegni. I vini greci erano lodati per la loro dolcezza e la loro esportazione favorì la diffusione della viticoltura in Sicilia, Spagna e Francia. In Italia meridionale la viticoltura si era diffusa a partire dalla Sicilia e nel 700-600 a.C. la viticoltura era praticata in tutta l'Italia meridionale che venne denominata Enotria. La vite era coltivata nell'Italia prima dell'arrivo dei Greci, soprattutto nei luoghi di espansione etrusca, ed era il frutto della domesticazione delle viti selvatiche spontanee (Buono & Vallariello, 2002). La viticoltura etrusca si basava su tecniche di allevamento che facevano esprimere al massimo il potenziale vegetativo delle viti, che raggiungevano delle dimensioni anche ragguardevoli ed erano sostenute da alberi a cui venivano maritate (Palliotti et al., 2018). Nei primi secoli della storia di Roma, la viticoltura e l'enologia sono state poco praticate, ma al termine delle guerre puniche e in seguito all'espansione dell'impero la vite si diffuse in tutte le terre conquistate. La viticoltura era avanzata, c'erano molte conoscenze sulle varietà da coltivare e dei siti più adatti alla loro coltivazione, erano conosciute le tecniche di coltivazione per talea e per innesto, la selezione massale, le varie forme di allevamento, le tecniche di potatura. Durante il Medioevo la coltivazione della vite venne quasi abbandonata, fatta eccezione per i monasteri. In Europa la viticoltura interessò i territori attraversati da grandi fiumi navigabili, quali Reno e la Mosella, la Senna e i suoi affluenti (Palliotti et al., 2018). Dopo la scoperta dell'America gli spagnoli introdussero la viticoltura nelle regioni conquistate e gli ambienti del Sud America risultarono adatti alle esigenze della vite, mentre nell'America del nord le prime viti furono piantate nel 1769 in California perché nel resto del territorio il clima freddo non consentiva la diffusione della pianta. Verso la metà del 1800 la viticoltura dovette affrontare gravi

attacchi da patogeni provenienti dalle Americhe come oidio, peronospora e Fillossera. Quest'ultima venne contrastata grazie all'innesto di *V. vinifera* con dei portainnesti di viti americane resistenti al patogeno. La necessità di risolvere questi problemi consentì di approfondire gli studi di biologia, entomologia e patologia, si sviluppò la chimica enologica e si gettarono le basi della microbiologia enologica (Palliotti et al., 2018).

La vite è ora coltivata in più di 90 paesi per la produzione di vino, liquori, distillati, succhi, uva da tavola e uva passa e le zone di maggiore produzione sono quelle che si trovano tra il 30° e 50° parallelo, caratterizzate da un clima temperato o mediterraneo. In queste regioni la pianta è regolarmente esposta a periodi di siccità a meno che non venga applicata l'irrigazione (Gambetta et al., 2020). Il clima gioca un ruolo fondamentale nella crescita della vite poiché la fisiologia e le sue fasi di sviluppo sono determinate principalmente da condizioni ambientali specifiche (Fraga et al., 2013). Il cambiamento climatico però sta mettendo in discussione le sue condizioni ottimali di crescita, di per sé già limitate, portando nuove sfide per chi lavora nel settore vitivinicolo e può avere effetti indiretti sulla vite modificando l'equilibrio esistente con parassiti e malattie. L'aumento della concentrazione di CO<sub>2</sub> atmosferica e della temperatura, le variazioni delle precipitazioni e la frequenza degli eventi estremi possono alterare fasi fenologiche, modificare le aree di coltivazione della vite e delle sue cultivar (Palliotti et al., 2018). Potrebbe anche evolversi la capacità dei suoli di fornire nutrienti come l'azoto: una ridotta umidità del suolo può non solo indurre stress idrico, ma anche compromettere la mineralizzazione della sostanza organica del suolo, e di conseguenza una minore disponibilità di azoto negli orizzonti superiori (Gomès et al., 2021). I cambiamenti futuri in Europa includono un aumento delle temperature di 2,3° - 5,3°C nel nord Europa e 2,2° - 5,1°C nell'Europa meridionale entro la fine del ventunesimo secolo (Fraga et al., 2013) e si prevede che la vite risentirà di una grave siccità e che la sua coltivazione si sposterà verso i poli. La diminuzione della piovosità nelle aree meridionali richiederà una più attenta gestione del suolo per limitare l'evapotraspirazione e sarà necessario ricorrere a portainnesti più tolleranti nei confronti della carenza idrica. Gli studi indicano che il cambiamento climatico aggraverà gli eventi di siccità in molte regioni vinicole tradizionali, il che aumenterà la necessità di irrigazione (Gambetta et al., 2020). Anche se molti sostengono che l'irrigazione non sia una soluzione sostenibile (Hannah et al., 2013). L'attenzione quindi è stata rivolta direttamente alla pianta per capire quali siano le

differenze dei vari genotipi che permettono alla vite di resistere alla siccità. L'obiettivo è quello di identificare i tratti chiave responsabili di queste differenze al fine di progettare e indirizzare meglio gli approcci fenotipici per lo sviluppo di nuove varietà resistenti alla siccità (Gambetta et al., 2020).

Il deficit idrico influisce sulla fisiologia e sulla dimensione, resa e composizione della bacca e il cambiamento climatico ha già indotto notevoli cambiamenti nel ciclo di sviluppo della vite e nella composizione del vino (Bigard et al., 2018). L'effetto combinato di siccità, alte temperature ambientali e elevata domanda evaporativa che si registra normalmente durante la stagione estiva in molte regioni viticole, limita lo sviluppo vegeto produttivo della pianta coinvolgendo diversi aspetti della sua fisiologia. L'obiettivo è quindi quello di individuare i meccanismi e le strategie genetiche che la vite utilizza per proteggersi dalla carenza idrica e sfruttarli per riuscire a creare delle piante in grado di sopportare periodi sempre più lunghi di siccità, causata dal cambiamento climatico.

## CAPITOLO 1: MORFOLOGIA DELLA VITE

### 1.1: Morfologia dello scheletro, delle infiorescenze e gemme

La vite è una pianta legnosa perenne formata da un apparato radicale e un apparato aereo, che è composto a sua volta da una parte permanente che è chiamato scheletro. Lo scheletro è formato dalle strutture legnose che permangono sulla vite anche durante la fase di riposo invernale. In questo periodo, su una pianta adulta, possiamo notare il tronco su cui si inseriscono una o più branche di diverso sviluppo, che, a loro volta, portano i rami di un anno, detti tralci. Su questi si trovano le gemme ibernanti, che, nella primavera successiva, origineranno la parte effimera della chioma rappresentata dai germogli (Palliotti et al., 2018). Il tronco detto anche ceppo è una struttura solitamente verticale, con un'altezza che può variare da pochi centimetri, a circa 2 metri. È ricoperto dal ritidoma, tessuto corticale che si fessura longitudinalmente, rendendo visibili gli strati suberosi sottostanti. Inserite nel tronco troviamo le branche, strutture legnose di almeno 2 anni, ricoperte da ritidoma che portano alla formazione del cordone permanente, la cui presenza caratterizza molte forme di allevamento quali Cordone libero, Cordone speronato, Sylvoz, Casarsa e GDC. Il tralcio legnoso è il ramo di un anno, lungo e flessibile, ricoperto da una corteccia aderente e formato da nodi e internodi (la lunghezza media è di 15-20 nodi). La zona di inserzione tra la branca e il tralcio è detta corona ed è circondata da piccole gemme. Le gemme si dividono in:

- Gemme ibernanti: gemme miste contenenti abbozzi di foglie e infiorescenze. Hanno un ciclo biennale e si formano sul germoglio in accrescimento. Daranno origine ad un nuovo germoglio, provvisto di foglie e di una o più infiorescenze.
- Gemme latenti: sono delle gemme ibernanti che non si sono schiuse nell'anno successivo alla loro formazione ed hanno protratto il loro stato di quiescenza. Si trovano su tralci legnosi che hanno più di 2 anni e danno origine a polloni e succhioni.
- Gemme pronte: gemme nude, non protette da perule, con un ciclo annuale. Sono presenti solo sul germoglio e danno origine alle femminelle.

Il germoglio è il principale elemento costitutivo della parte epigea in vegetazione, comunemente definita chioma (Palliotti et al., 2018). Il germoglio, di norma, si sviluppa

dalla gemma ibernante, ma può anche originarsi dalle gemme di corona o dalle gemme latenti e la sua fillossa segue un andamento elicoidale con sequenza 2-5. Le infiorescenze si trovano generalmente dal 2° al 7-8° nodo e non oltre. Le infiorescenze sono inserite singolarmente sull'asse del germoglio, in corrispondenze del nodo e in posizione opposta alla foglia (Palliotti, et al., 2018). Il loro numero dipende dalla genetica della pianta, dalla posizione sul germoglio e dalla loro dimensione. L'infiorescenza è un racemo dotato di peduncolo formato da un rachide le cui ramificazioni sono costituite da gruppi di 3-5 fiori. Le infiorescenze primordiali si formano dalla gemma dormiente l'anno n del ciclo vegetativo. Nella primavera successiva proseguono la loro differenziazione nel corso della crescita del germoglio principale che li porta. Questa differenziazione dipende dalla temperatura ( $T^{\circ} \geq 12 \text{ C}^{\circ}$ ). In caso di elevate temperature nel corso del germogliamento e all'inizio della crescita del germoglio, la differenziazione dell'infiorescenza potrà essere disturbata e quest'ultima potrà trasformarsi in viticcio (Carbonneau, et al., 2011). I fiori della vite sono piccoli, poco appariscenti e verdi. Sono costituiti da un calice formato da 5 sepali verdi, da una corolla formata da 5 petali saldati all'apice, detta caliptra. In fioritura i petali si staccano lasciando esposti androceo (formato da 5 stami, ognuno dei quali sorregge un'antera) e un gineceo, formato da un ovario (a sua volta composto da 2 carpelli che contengono 2 ovuli) sormontato da stilo e stigma. Il fiore è ermafrodito ed autofertile, con un polline dotato di elevata germinabilità. L'infiorescenza è un grappolo, formata da acini, la cui forma e dimensione dipendono dal genotipo. Può avere una grandezza che va da 10-12 cm fino a 20-25 cm. L'acino è una bacca carnosa, che ha origine dal fiore fecondato e le sue dimensioni dipendono dal genotipo, dalle tecniche colturali e dalle condizioni ambientali. L'acino è formato dall'epicarpo che è costituito da 1-2 strati di cellule epidermiche esterne ricoperte da una cuticola e da uno strato ceroso (pruina) e da 1-14 strati di cellule piccole e con la parete ispessita (Palliotti et al., 2018). Nelle cellule della buccia si accumulano sostanze coloranti, come gli antociani, tannini e sostanze aromatiche. Al di sotto dell'epicarpo troviamo il mesocarpo, costituito da oltre 20 strati di cellule e ricco di zuccheri, acidi, sali minerali, composti azotati, sostanze colloidali e pectine. Costituisce l'80-85% del volume dell'intero acino. Infine, troviamo l'endocarpo, contenente i vinaccioli (tra 1-4 per acino). Il numero di semi e il loro sviluppo influenzano la crescita delle bacche e quando l'acino

ne è privo si ottiene il fenomeno dell'acinellatura. I vinaccioli sono ricchi di olio e tannini e possono contribuire all'identificazione varietale.

Le viti che utilizziamo per la produzione di vino sono piante bimembri, cioè formate da un apparato aereo appartenente a *V. vinifera* e un apparato radicale che deriva da viti americane resistenti alla Fillossera.

## 1.2: La radice

Il sistema radicale è formato da un insieme di radici che si sviluppano in profondità, che vanno da 0,2 e 0,8 metri sotto la superficie di un suolo ben preparato fino a 1-2 metri in terreni sciolti. Il sistema radicale svolge molte funzioni come funzioni di riserva e regolazione della crescita (grazie alla produzione di ormoni come acido abscissico/ABA e citochinine), sviluppo della parte aerea, ancoraggio della vite al suolo, assorbimento e trasporto dei nutrienti. Le radici che si sviluppano dal portainnesto sono avventizie e si originano dai nodi. La loro origine è interna e si sviluppano a partire dalla zona cambiale in corrispondenza dei raggi midollari ed escono all'esterno dissolvendo il parenchima corticale grazie ad enzimi. Le radici in base alle loro funzioni possono essere suddivise in 3 categorie:

- Radici di sostegno: sono permanenti, di colore bruno scuro con un grosso diametro e hanno un apice radicale più sviluppato. Hanno funzioni di ancoraggio, di riserva e di trasporto dei nutrienti nello xilema e nel floema, la capacità esplorante ed assorbente è modesta.
- Radici esploranti: sono il prolungamento delle radici principali, sono permanenti, di piccolo diametro e hanno la funzione di esplorazione e conquista di nuove zone di terreno.
- Radici assorbenti: sono numerose, chiare, con un apice formato da cellule meristematiche e sono protette dalla cuffia.

L'apparato radicale a sua volta è formato da due strutture:

- Struttura primaria: si trova nelle radici giovani ed è formata da diversi elementi che si dividono in epidermide, assise suberosa, parenchima corticale, endoderma, cilindro centrale che a sua volta è formato dal periciclo e dai fasci liberiani (floema) e fasci legnosi (xilema). Man mano che la radice invecchia xilema e

cilindro centrale vengono isolati dall'afflusso di acqua attraverso la formazione della banda del Caspary.

- Struttura secondaria: si forma dalla struttura primaria ed è costituita da fellogeno che ha origine dal periciclo e genera il periderma (parte più esterna della radice formata da sughero. Viene rigenerato dal fellogeno), segue il cambio che è la zona che separa la parte più esterna dal midollo e racchiude gli xilemi, mentre all'esterno troviamo il floema, infine troviamo i raggi midollari che hanno origine dagli xilemi primitivi.

Il sistema conduttore della vite si sviluppa lungo un singolo asse radicale principale definito radice primaria, che si ispessisce a seguito dell'attività secondaria del cambio. Da questo asse radicale principale si sviluppano le radici laterali che formano un sistema ampiamente ramificato (Taiz & Zeiger, 2002). La divisione cellulare avviene nella zona meristemica sia in direzione dell'apice radicale, per formare la cuffia, che in direzione della base della radice, per formare cellule che si differenziano nei vari tessuti della radice attiva. Man mano che la radice si muove nel suolo la cuffia protegge le delicate cellule meristematiche e secerne anche un materiale gelatinoso definito mucigel, che circonda comunemente l'apice radicale (Taiz & Zeiger, 2002). La zona di allungamento si forma a 0,7- 1,5 mm dall'apice radicale; le cellule in questa zona si allungano velocemente fino a formare un anello di cellule chiamato endodermide. Le pareti di questo strato di cellule si ispessiscono formando la Banda del Caspary, una struttura idrofobica, che previene il movimento apoplastico di acqua e di soluti attraverso la radice. L'endodermide divide la radice in due zone: la corteccia all'esterno e la stele all'interno che contiene lo xilema per la conduzione di acqua e soluti verso il germoglio e il floema che trasporta i metaboliti dal germoglio alla radice. Infine, ci sono i peli radicali che con la loro estesa superficie aumentano la capacità di assorbimento di ioni e di acqua presenti nel suolo, si formano nella zona di differenziamento dove lo xilema sviluppa la capacità di traslocare grandi quantità di acqua e soluti nella parte epigea. Le radici non lignificate possono ospitare degli organismi simbiotici chiamate micorrize vescicolo-arbuscolari (VEM) le cui spore, a contatto con gli essudati radicali della vite, germinano, penetrano nei peli radicali e si insediano nella parte corticale formando strutture ramificate chiamate arbuscoli che risultano essere il sito di trasferimento degli elementi nutritivi fra il fungo e la pianta ospite.

### **1.2.1: Assorbimento dell'acqua da parte della radice**

Nel suolo l'acqua viene trasportata per flusso di massa che avviene quando gli elementi nutritivi vengono trascinati dal flusso convettivo dell'acqua che si muove nel suolo verso le radici in risposta ad un gradiente di pressione. La quantità di elementi nutritivi fornita dipende dalla velocità del flusso dell'acqua nella pianta e dalla quantità di nutrienti presenti in soluzione nel suolo. Però quando l'acqua entra in contatto con la radice, la natura del trasporto idrico diventa più complessa, perché dall'epidermide all'endodermide esistono tre vie attraverso le quali l'acqua può fluire. Nella via apoplastica ( l'apoplasto è un sistema continuo di pareti cellulari e spazi intercellulari) l'acqua si muove esclusivamente attraverso la parete cellulare senza attraversare nessuna membrana. Questo movimento è bloccato dalle Bande di Caspary, che sono delle strisce di parete cellulare dell'endoderma impregnate di una sostanza idrofoba chiamata suberina che impedisce il movimento dell'acqua e dei soluti. L'acqua può muoversi anche attraverso la via cellulare che presenta due componenti. La via transmembrana è quella seguita dall'acqua che entra da una parte di una cellula e esce dall'altra attraversando in ogni cellula almeno due membrane. Nella seconda componente della via cellulare l'acqua si muove attraverso il simplasto, spostandosi da una cellula all'altra attraverso i plasmodesmi. Il trasporto dell'acqua attraverso la radice avviene sempre tramite la combinazione di queste tre vie.

### **1.3: La foglia**

La foglia della vite è dorso-ventrale, cioè ha una pagina superiore che presenta un'epidermide cutinizzata e priva di stomi, al di sotto del quale si trova un parenchima a palizzata formato da 1-2 strati di cellule strettamente addossate e ricche di cloroplasti. Sotto il tessuto a palizzata si trova il parenchima lacunoso e poi l'epidermide inferiore, ricca di stomi e più o meno dotata di tomento. Le foglie sono la sede di importanti processi fisiologici, quali fotosintesi, respirazione e traspirazione (Palliotti et al., 2018). Le foglie sono l'organo principale impiegato nell'identificazione della vite e sono formate da 5 nervature che danno origine a 5 lobi e sono portate da un picciolo.

Nella fotosintesi, l'energia solare viene utilizzata dalla pianta per ossidare l'acqua, con la conseguente liberazione di ossigeno, e per ridurre la CO<sub>2</sub> in composti organici, principalmente zuccheri. La serie complessa di reazioni che culminano con la riduzione della CO<sub>2</sub> comprende le reazioni dei tilacoidi (membrane interne specializzate del cloroplasto) e le reazioni della fissazione del carbonio. I prodotti finali delle reazioni tilacoidali sono i composti ad alta energia ATP e NADPH, che vengono utilizzati per la sintesi degli zuccheri (Taiz & Zeiger, 2002). Nel cloroplasto, l'energia luminosa è raccolta da due unità chiamate fotosistemi e l'energia che viene assorbita è usata per innescare il trasferimento di elettroni fra una serie di composti che vede come accettore finale il NADPH.

La respirazione è quel processo biologico attraverso il quale composti organici ridotti sono mobilitati e quindi ossidati in maniera controllata. Durante la respirazione l'energia libera viene rilasciata e incorporata in una forma particolare (ATP) che può essere prontamente utilizzata per il mantenimento e lo sviluppo della pianta. Da un punto di vista chimico la respirazione è per lo più espressa in termini di ossidazione del glucosio (Taiz & Zeiger, 2002).

La perdita di acqua dalla superficie fogliare è chiamata traspirazione ed è causata da un gradiente di concentrazione del vapore d'acqua. Il trasporto nello xilema è generato da gradiente di pressione, come avviene nel movimento dell'acqua nel suolo. Il trasporto dell'acqua attraverso strati di cellule, come nella radice, è assai complesso e risponde a gradienti di potenziale idrico attraverso il tessuto. Il trasporto durante questo tragitto è passivo, nel senso che l'energia libera dell'acqua diminuisce con il suo movimento. Nonostante la natura passiva, il trasporto dell'acqua è accuratamente regolato dalla pianta in modo da limitare la disidratazione, ciò avviene tramite la regolazione della traspirazione dell'acqua nell'atmosfera (Taiz & Zeiger, 2002).

## **CAPITOLO 2: IL CAMBIAMENTO CLIMATICO**

I cambiamenti climatici sono delle variazioni di lungo periodo delle condizioni climatiche medie della Terra o di ampie zone del nostro pianeta. Il cambiamento climatico è una delle principali sfide della società del 21° secolo (Merloni et al., 2017) e negli ultimi trent'anni è in atto una fase di aumento della temperatura media annua globale più acuta, che avrebbe portato, nel decennio 1995-2004, al succedersi dei 9 anni (su dieci) più caldi dal 1861 (Orombelli, 2005). Questo fenomeno, da sempre esistente, è stato accelerato dalle attività dell'uomo, e in particolare dall'emissione di grandi quantità di gas serra nell'atmosfera, che intrappolano una parte di calore, aumentando la temperatura del pianeta.

### **2.1: Cause ed effetti del cambiamento climatico**

Le cause del cambiamento climatico possono essere naturali o antropogeniche. Tra le prime troviamo le variazioni delle emissioni solari, della composizione atmosferica, delle correnti oceaniche e dell'orbita terrestre (Schiavon & Zecchin, 2007). Tuttavia le più impattanti sono le seconde. L'aumento globale della concentrazione dell'anidride carbonica è principalmente dovuto ai combustibili fossili, invece per quanto riguarda il monossido di diazoto la causa principale è l'agricoltura e il cambio d'uso del territorio (cambio di gestione o uso di un terreno dovuto all'azione dell'uomo. Questo può influire sulle proprietà termiche e chimiche, quali l'albedo, l'evaporazione, la traspirazione, l'accumulo di gas serra ecc..) (Schiavon & Zecchin, 2007).

L'aumento della concentrazione di CO<sub>2</sub> atmosferica e della temperatura, le variazioni delle precipitazioni e la frequenza degli eventi estremi possono alterare le fasi fenologiche, modificare le aree di coltivazione della vite e delle sue cultivar, ma possono anche influenzare l'area di diffusione di insetti e agenti patogeni e la loro evoluzione (Palliotti et al., 2018). Nell'Europa meridionale, si prevede che il riscaldamento, combinato con una grave siccità nella stagione vegetativa, avrà un impatto negativo sullo

sviluppo della vite e sulla qualità del vino, richiedendo misure per far fronte allo stress da calore e acqua. Inoltre, il previsto riscaldamento e il mantenimento di stagioni vegetative moderatamente umide nella maggior parte delle regioni vinicole dell'Europa centrale potrebbero richiedere una selezione di nuovi vitigni, nonché un potenziamento del controllo di parassiti/malattie (Fraga et al., 2013).

Il clima è un aspetto fondamentale per la crescita della vite, che richiede delle condizioni ambientali specifiche. Si stima che le temperature nel nord Europa aumenteranno di 2,3-5,3°C, mentre nell'Europa meridionale aumenteranno dai 2,2-5,1°C entro la fine del ventunesimo secolo. Si prevede quindi che le future zone di coltivazione si sposteranno ai poli e che a causa della diminuzione delle precipitazioni nell'Europa meridionale, anche la vite risentirà negativamente di una grave siccità (Fraga et al., 2013). In questa ottica è necessario comprendere a fondo le strategie di mitigazione e contrasto che il viticoltore ha a disposizione. Tra queste ultime, la soluzione principe è rappresentata ovviamente dal ricorso all'irrigazione che però in molte situazioni viene limitata o resa impossibile dall'assente o limitata disponibilità della risorsa irrigua. In questo scenario la possibilità di scegliere varietà o portinnesti caratterizzati da una maggiore tolleranza allo stress idrico rappresenta un'importante leva a disposizione del viticoltore per mitigare gli effetti del cambiamento climatico (Tombesi, 2016). Un altro mezzo che abbiamo a disposizione per contrastare il deficit idrico è la capacità delle piante evolute di limitare la diminuzione del potenziale idrico fogliare, anche se restano da chiarire le origini genetiche e fisiologiche.

In vigneto diversi fattori ambientali interagiscono con la fisiologia della pianta e influenzano in modo determinante lo sviluppo della stessa, i livelli di produzione e le caratteristiche qualitative delle uve. Tra questi fattori la disponibilità idrica è sicuramente uno dei più importanti (Castellarin et al., 2011). La vite è una pianta che si adatta molto bene alle condizioni di siccità, e il suo rendimento produttivo e qualitativo è strettamente legato alla sua capacità di resistere a situazioni di carenza idrica. Per la vite lo stress idrico non va pertanto esclusivamente considerato in termini negativi, se correttamente gestito. Il controllo del livello di stress è infatti alla base di pratiche agronomiche affermate, come l'uso del portainnesto, inerbimenti e lavorazioni controllanti, tecniche irrigue di soccorso quali RDI o la PRD per inibire la crescita vegetativa della pianta a vantaggio della qualità del frutto (Ferrandino et al., 2009).

### **CAPITOLO 3: LA RISPOSTA DELLA VITE ALLA SICCIITÀ**

Lo stress è di solito definito come un fattore esterno che esercita un'influenza svantaggiosa per la pianta (Taiz & Zeiger, 2002). La disponibilità idrica è uno dei fattori più importanti per la crescita della vite e una sua carenza porta ad alterazioni nella fisiologia della pianta. Il deficit idrico produce svariate reazioni, a seconda che si agisca nel breve o nel lungo periodo. Nel primo caso, può favorire la chiusura degli stomi, che può essere idropassiva ed idroattiva, limitare la fotosintesi, l'abscissione fogliare e la rottura della colonna d'acqua sotto tensione nello xilema (cavitazione). Nel secondo caso, può frenare lo sviluppo dell'area fogliare complessiva, agendo su numero e dimensioni delle foglie, stimolare l'estensione dell'apparato radicale, provocare la sintesi di una spessa cuticola sulla superficie fogliare (Ferrandino et al., 2009). Con l'elusione la vite cerca di mantenere un potenziale idrico alto anche in condizioni di siccità, ma quando questa condizione non può più essere mantenuta i tessuti iniziano a soffrire di stress idrico.

#### **3.1: Meccanismi di elusione: regolazione stomatica**

La prima reazione della vite allo stress idrico è la chiusura degli stomi per ridurre l'evaporazione dalla superficie fogliare e questo fenomeno viene considerato la prima linea di difesa nei confronti della siccità. Diversi genotipi di vite dimostrano differenti sensibilità stomatiche in risposta al deficit idrico, quindi alcune varietà tendono a chiudere gli stomi prima di altre. La vite è stata genericamente classificata come specie isoidrica, capace di elevata regolazione stomatica sotto il controllo dell'acido abscissico ABA (Ferrandino et al., 2009). La possibilità di apertura e chiusura degli stomi è legata all'esposizione delle cellule di guardia verso l'atmosfera con conseguente perdita di acqua per evaporazione, che porta alla riduzione del turgore e chiusura degli stomi (chiusura idropassiva). Altro meccanismo per la chiusura degli stomi è la chiusura idroattiva che è scatenata dalla riduzione del contenuto di soluti delle cellule di guardia

che porta alla perdita d'acqua, alla diminuzione del turgore e alla loro chiusura (controllata da ABA). Questi cambiamenti concomitanti causano, durante il deficit idrico, il trasferimento dell'ABA dai plastidi all'apoplasto (Trainotti, 2006). L'ABA agisce direttamente a livello delle cellule di guardia, si lega ai recettori ABA PYR/PYL/RCAR che rimuovono l'azione inibitoria delle fosfatasi proteiche 2C (Gambetta et al., 2020). Vengono poi attivati trasportatori di efflusso di ioni che riducono il turgore della cellula di guardia facendo chiudere gli stomi. L'ABA stimola il flusso idrico e ionico, regolando il turgore diminuendo la traspirazione, aumentando il flusso d'acqua dentro le radici, innalzando l'assorbimento ionico che comporta un aumento del gradiente del potenziale idrico fra il terreno e le radici. L'apertura degli stomi è regolata da meccanismi idraulici, ormonali e chimici e l'attore biochimico più importante è l'acido abscissico (ABA), ormone sintetizzato nell'apparato radicale, che viene inviato dalle radici con il flusso xilematico o redistribuito a livello fogliare. Il processo di redistribuzione dell'ABA dipende dai gradienti di pH all'interno della foglia, dalle proprietà dell'acido debole dell'acido abscissico e dalla proprietà di permeabilità delle membrane cellulari. Accoppiato a questo processo vi è l'aumento del pH nell'apoplasto. Anche i cambiamenti nella foglia del potenziale d'acqua o nella conduttanza idraulica influiscono sul turgore della cellula di guardia e sulla conduttanza stomatica. Come affermano (Gambetta et al., 2020) i cambiamenti di conduttanza idraulica probabilmente coinvolgono la regolazione delle acquaporine, proteine della membrana cellulare che facilitano il trasporto di acqua e piccole molecole attraverso le membrane plasmatiche. Le acquaporine identificate in *Vitis*, attraverso l'analisi del genoma sequenziato, sono 28 e rivestono un ruolo molto importante in processi in cui entra in gioco il trasporto idrico, l'assorbimento radicale, la crescita cellulare, la traspirazione e il controllo dell'embolizzazione (Ferrandino et al., 2009). Per far fronte alle esigenze ambientali, l'attività dei canali per l'acqua è regolata in fase di trascrizione genica in funzione di messaggi ormonali, e a livello post-traduzionale attraverso reazioni di fosforilazione e defosforilazione delle acquaporine. L'espressione di alcuni geni è stimolata dalla siccità (Ferrandino et al., 2009). Studi sulla vite hanno scoperto che l'ABA aumenta solo quando la conduttanza stomatica (gs) scende a bassi livelli, suggerendo che la chiusura stomatica precoce non è guidata dall'ABA (Gambetta et al., 2020). Le modalità idrauliche e biochimiche per la regolazione stomatica sono interdipendenti, rendendo difficile una distinzione tra le due.

Questo implica che quando le concentrazioni di ABA aumentano nelle foglie sotto deficit idrico ci sono effetti sia sulla conduttanza stomatica che sulla conduttanza idraulica. Inoltre, è stato dimostrato che il restringimento cellulare aumenta la biosintesi di ABA, suggerendo che la riduzione del potenziale d'acqua negativo della foglia rafforzerebbe l'effetto dell'acido abscissico sugli stomi. La stessa situazione è presente nelle radici, dove anche la conduttanza idraulica della radice sembra essere modulata dall'ABA (Gambetta et al., 2020).

### **3.2: Riduzione della fotosintesi**

Lo stress idrico solitamente influisce sia sulla conduttanza stomatica che sull'attività fotosintetica della pianta. Il metabolismo fotosintetico di *V. vinifera* sembra essere molto tollerante a livelli di deficit idrico lievi e medi, ma anche per la vite, fenomeni di siccità a lungo termine portano ad una riduzione della conduttanza del mesofillo, influenzando negativamente la diffusione della CO<sub>2</sub> e limitando la fotosintesi.

La regolazione stomatica influenza direttamente l'assimilazione della CO<sub>2</sub> fotosintetica ed è probabile che in condizioni di limitato stress idrico, la fotosintesi venga limitata quasi esclusivamente a livello degli stomi. Quando il deficit idrico diviene più severo, invece, la fotosintesi viene limitata perché in questi casi la riduzione dell'attività fotosintetica non è solo dovuta alla limitazione della conduttanza stomatica, e quindi alla CO<sub>2</sub> disponibile, bensì all'alterazione di diversi processi metabolici: tra questi si osserva la riduzione dell'attività di diversi enzimi del ciclo di Calvin, tra cui la Rubisco, e dell'efficienza del fotosistema II (Castellarin et al., 2011).

La siccità esacerba la fotoinibizione e diverse varietà hanno sviluppato varie strategie per far fronte al problema. Come riportato da (Gambetta et al., 2020), Beis e Patakas nel 2012, in uno studio sulle varietà greche di *V. vinifera*, hanno scoperto che il Sabatiano, resistente alla siccità, rimuoveva la luce assorbita mediante dissipazione termica e proteggeva le cellule attraverso la rapida attivazione del sistema di difesa antiossidante. Al contrario, un altro vitigno greco, si basava sull'attivazione della fotorespirazione, processo alternativo per dissipare l'energia luminosa in eccesso e prevenire danni all'apparato fotosintetico.

### **3.3: Regolazione osmotica fogliare**

La concentrazione di soluti nel simplasto consente alle foglie di mantenere una pressione di turgore sotto il potenziale d'acqua negativo. Per questo motivo il punto in cui la foglia perde turgore è stato utilizzato per indicare la tolleranza alla siccità fogliare. La perdita di turgore fogliare è correlata alla chiusura stomatica e al calo della conduttanza idraulica fogliare (Gambetta et al., 2020). La maggior parte delle piante diminuisce il potenziale osmotico in condizioni di stress idrico, per accumulare soluti e mantenere il turgore cellulare positivo. Recentemente Degu et al. (2019) hanno intuito che l'adattamento osmotico potrebbe essere dovuto all'accumulo di calcio e altri ioni inorganici come il potassio. È stato inoltre riscontrato un aumento dei cristalli di ossalato di calcio nelle foglie di viti in siccità, suggerendo che le strutture del mesofillo potrebbero svolgere un ruolo funzionale nello stress idrico e nella regolazione del calcio (Gambetta et al., 2020). Oltre alla regolazione osmotica, la foglia è interessata anche da una limitazione dell'area fogliare, che si verifica quando il contenuto idrico della pianta diminuisce, la parete cellulare si affloscia e si ha una diminuzione della pressione di turgore con conseguente concentrazione di soluti. Una delle prime conseguenze è legata alla parete plasmatica, che si ispessisce, perché la superficie da ricoprire è più piccola.

Lo stress, inoltre, diminuisce l'estensibilità della parete poiché viene inibito il trasporto di protoni dalla membrana plasmatica verso la parete cellulare, innalzando il suo pH.

La carenza di acqua non limita solo la dimensione delle foglie, ma anche il loro numero, poiché il numero di rami diminuisce.

### **3.4: Segmentazione della vulnerabilità idraulica**

Deficit idrici gravi possono portare alla formazione di embolie all'interno dei vasi xilematici, rendendoli temporaneamente o permanentemente disfunzionali. L'embolia è causata da una rottura della colonna d'acqua, che si verifica quando la tensione dei vasi

dello xilema diventa troppo elevata e il flusso dalle radici alle foglie viene interrotto. Per questo motivo questo fenomeno può portare alla caduta delle foglie e alla mortalità della pianta. La vite, tuttavia, mostra una caratteristica speciale denominata segmentazione della vulnerabilità idraulica, che protegge i tessuti perenni da livelli di stress idrico che porterebbero all'embolia (Tyree & Ewers, 1991). Le piante mostrano una segmentazione della vulnerabilità idraulica quando gli organi come le foglie sono più vulnerabili all'embolia rispetto agli organi perenni. Man mano che il potenziale d'acqua diventa sempre più negativo, i piccioli e le foglie sperimentano prima l'embolia, recidendo la colonna d'acqua che collega le foglie agli organi perenni e come affermano Tyree e Ewers (1991), questo agisce come una "miccia idraulica" che protegge gli organi perenni da potenziali d'acqua più negativi.

Inoltre, la vulnerabilità idraulica delle foglie basali è maggiore di quella delle foglie apicali, e questo permette alla vite di eliminare le foglie più vecchie e meno efficienti dal punto di vista fotosintetico, suggerendo che la vite è progettata per abbandonare la chioma dell'anno in corso per preservare la struttura perenne fino alla stagione successiva (Gambetta et al., 2020). Ad oggi non si conoscono ancora i meccanismi che determinano la segmentazione della vulnerabilità nell'uva, e sebbene questo meccanismo riesca a proteggere la vite da elevati livelli di embolia in steli e tronchi, deficit idrici estremi provocano la perdita di gran parte della chioma e del raccolto. La stagione seguente la pianta può potenzialmente crescere, ma solo se alcune gemme sono sopravvissute. Dopo l'evento di siccità estrema, le viti che hanno subito gravi embolie saranno più vulnerabili ad eventi futuri. Per quanto riguarda gli effetti sulla resa dei frutti, anche deficit idrici meno estremi possono talvolta portare ad una diminuzione delle rese nella stagione successiva (Gambetta et al., 2020).

### **3.5: Risposta delle bacche al deficit idrico**

In vigneto ci sono diversi fattori che influenzano lo sviluppo della pianta di vite, i livelli di produzione e le caratteristiche qualitative dell'uva e uno dei più importanti è la disponibilità idrica. Il deficit idrico influenza la produzione sia dal punto di vista quantitativo che dal punto di vista qualitativo.

La curva di crescita del frutto, definito doppia sigmoide, è divisa in tre fasi. La prima fase caratterizzata da una crescita esponenziale del frutto, la seconda fase, costituita da un forte rallentamento della crescita, a causa della transizione del frutto che inizia la maturazione (invaiaitura). L'ultima fase rappresenta il processo di maturazione (Castellarin et al., 2011).

Prima dell'invaiaitura le bacche sono collegate idraulicamente alla vite, e sebbene abbiano pochissimi o nessuno stoma funzionale, mostrano alti tassi di traspirazione cuticolare (Gambetta et al., 2020). Gli acini pre-invaiaitura possono subire avvizzimento indotto dalla siccità, mentre post-invaiaitura il collegamento idraulico tra la vite e gli acini cambia perché diminuisce la traspirazione a causa della riduzione della conduttanza cuticolare e del flusso d'acqua tra la bacca e il pedicello. Inoltre, le bacche accumulano una quantità molto elevata di zuccheri che sono quasi equamente distribuiti tra l'apoplasto della bacca e il simplasto (Gambetta et al., 2020).

In generale, uno stress idrico moderato riduce il peso degli acini e l'acidità titolabile, ma aumenta le concentrazioni di solidi solubili totali (TSS), antociani totali e composti fenolici nelle uve rosse, migliorando la qualità degli acini. Tuttavia, quando viene superata una certa soglia di stress idrico, questi effetti benefici non si osservano più (Mirás-Avalos e Intrigliolo, 2017). Solitamente livelli elevati di stress idrico riducono il peso delle bacche e le concentrazioni di acido malico, mentre aumentano gli zuccheri e gli antociani.

Zuccheri, acidi organici e amminoacidi sono i principali metaboliti primari che si accumulano nel frutto. L'accumulo di queste sostanze, però, varia in funzione delle varietà, che rispondono diversamente al deficit idrico.

Come succede per le foglie, anche le bacche accumulano osmoliti in risposta alla carenza idrica, in particolare il metabolismo dell'azoto svolge un ruolo centrale in questo processo in cui il deficit idrico aumenta la concentrazione di prolina, leucina, isoleucina e valina parallelamente alla sovrapposizione dei geni legati alla loro biosintesi (Gambetta et al., 2020).

In uno studio condotto da Deluc et al., (2009) su Cabernet Sauvignon e Chardonnay è stato riportato che il deficit idrico porta ad una diminuzione significativa delle concentrazioni di ABA e ad una riduzione del diametro della bacca nel corso del suo sviluppo per lo Chardonnay, mentre per quanto riguarda la varietà a bacca rossa si è visto

un aumento delle concentrazioni di ABA e una diminuzione del diametro del frutto all'inizio dell'invasatura. Inoltre, in entrambe le cultivar il deficit idrico ha interessato il metabolismo dei carotenoidi, l'ABA, aminoacidi e acidi grassi, seppur in maniera diversa.

### **3.5.1: Influenza del deficit idrico sui composti coloranti**

La carenza idrica influisce anche sul contenuto della bacca in metaboliti secondari come i flavonoidi e gli antociani. Lo stress idrico porta ad una diminuzione del volume delle bacche, con conseguente concentrazione di polifenoli, e soprattutto antociani, all'interno del frutto. La maggior concentrazione di antociani per acino è strettamente legata all'incremento dell'espressione degli enzimi della biosintesi dei flavonoidi, che si traduce in un reale incremento del loro accumulo e non ad un effetto legato alla riduzione del peso della bacca. Lo stress idrico anticipato è in grado non solo di incrementare il quantitativo di antociani alla raccolta, ma anche di anticipare l'accumulo di colore nelle bacche (Ferrandino et al., 2009). La carenza di acqua, quindi, produce vini rossi con una maggiore concentrazione di antociani, una pigmentazione più intensa e variazioni di colore verso le tonalità del blu (Gambetta et al., 2020). Tuttavia, ci sono altri studi che non hanno evidenziato una variazione della concentrazione di antociani durante lo stress idrico, perché ci sono molti altri fattori, come varietà della vite, entità e tempistica del deficit idrico, che influiscono sulla quantità di antociani all'interno della bacca.

Oltre ad avere effetti diretti sul metabolismo delle bacche, il deficit idrico riduce la crescita della chioma, aumentando potenzialmente l'esposizione dei grappoli alla luce solare, con conseguente accumulo di flavonoli, soprattutto nelle varietà a bacca bianca, come potenziale alternativa per la fotoprotezione, poiché le bacche bianche mancano di antociani.

### **3.5.2: Influenza del deficit idrico sui composti aromatici**

Anche la componente aromatica dell'uva è influenzata dal deficit idrico, ma attualmente gli studi su questo argomento non sono molto numerosi. Si sa che la carenza d'acqua ha degli effetti sull'accumulo di carotenoidi e di conseguenza si ha anche un aumento di C13-norisoprenoidi che può essere dovuto a una maggiore produzione di precursori di

carotenoidi (Savoi et al., 2016). In uno studio svolto da Ferrandino et al. (2009) è stato evidenziato come piante di Cabernet Sauvignon sottoposte a partial root drying (PRD) avessero concentrazioni di C-13 norisoprenoidi, in particolare  $\beta$ -demascenone e  $\beta$ -ionone, significativamente maggiori rispetto alle piante che non avevano subito PRD. Questo effetto non è solo il risultato di un alterato rapporto buccia/polpa ma, presumibilmente è legato ad un incremento dell'attività enzimatica. L'effetto della ridotta disponibilità idrica è stato anche osservato a carico di alcuni aromi tiolici, derivati dall'S-cisteina, in Sauvignon blanc, portando ad un massimo accumulo del 4MMP, 4MMPOH e 3MH (Ferrandino et al., 2009). Il deficit idrico ha anche modulato le correlazioni tra i COV (Composti Organici Volatili) non terpenoidi e i trascritti correlati agli acidi grassi, aumentandoli per esanolo e 3-esenolo (Savoi et al., 2016). Inoltre, come dimostrato Deluc et al., 2009, a seguito di un esperimento svolto su Chardonnay e Cabernet Sauvignon (entrambi sottoposti in ugual misura a stress idrico) è stato visto che le concentrazioni di carotenoidi nello Chardonnay erano 2 volte superiori rispetto al Cabernet Sauvignon. Questo risultato è stato coerente con la maggiore trascrizione di ABAHASE, enzima che catabolizza l'ABA in 8'idrossi ABA contribuendo ad una maggiore biosintesi dei carotenoidi che possono essere convertiti in zeaxantina e luteina, che agiscono come fotoprotettori.

Inoltre il deficit idrico ha aumentato la concentrazione di alcoli terpenici nelle uve a bacca bianca e rossa, attraverso la sovraregolazione dei geni chiave della via del metileritritolo fosfato (MEP), inclusi i terpene sintasi, ma questa risposta terpenica potrebbe non essere comune in tutte le varietà, poiché studi recenti riportano anche diminuzioni delle concentrazioni di terpeni con il deficit idrico (Gambetta et al., 2020).

In alcuni casi la carenza idrica porta all'accumulo di precursori aromatici. Nei vini rossi si ha una maggiore concentrazione di composti volatili e sentori che ricordano la marmellata, frutta fresca e uva passa, mentre nei vini bianchi, un deficit moderato esalta aromi agrumati, di mela o pera.

## **CAPITOLO 4: MIGLIORAMENTO GENETICO**

Il cambiamento climatico ha portato a fenomeni di siccità sempre più frequenti, rendendo indispensabile trovare delle soluzioni a lungo termine, che permettano di coltivare la vite anche con risorse idriche limitate. Il miglioramento genetico è una delle soluzioni più promettenti perché ci consente di esaltare le capacità della vite nell'adattarsi ai cambiamenti climatici. La genomica ci ha consentito di capire come varia la risposta della vite agli stress idrici individuando dei marcatori molecolari che permettano di individuare genotipi in grado di utilizzare l'acqua in modo più efficiente e che riescano a mantenere invariata la qualità dell'uva.

### **4.1: Origini ed evoluzione del miglioramento genetico**

La prima procedura di selezione messa in pratica in vite è stata la selezione massale. Questa procedura consiste nell'identificare fenotipi di interesse in una popolazione e selezionare gli individui migliori (selezione positiva) e/o scartando quelli peggiori (selezione negativa).

I primi caratteri di pregio che l'essere umano ha cercato di selezionare erano probabilmente di tipo quantitativo, ad esempio l'abbondanza e la costanza delle rese al raccolto e un buon livello di zuccheri negli acini (Petri, 2021).

Negli anni tra il 1980 e 1990 il successo dell'ingegneria genetica nello sviluppo di piante resistenti a virus, ha annunciato una nuova era nel controllo delle malattie virali. Infatti, numerosi esperimenti dimostrarono che era possibile conferire resistenza ai virus tramite l'espressione in pianta di costrutti contenenti geni virali interi o tramite porzioni troncate di geni virali, come ad esempio geni codificanti per le proteine del capsido, RNA polimerasi ecc. (Mezzetti et al., 2002). La transgenesi prevede il trasferimento di uno o più geni da una specie all'altra attraverso metodi diretti (bombardando delle cellule con microproiettili ricoperti di DNA, chiamato anche metodo biolistico, inserimento diretto di DNA in protoplasti per mezzo di microsiringhe o elettroporazione) o con metodi

indiretti, cioè con l'ausilio di plasmidi di agrobatteri e virus. Tuttavia nella pratica comune si usano *Agrobacterium tumefaciens*, *A. rhizogenes* e il metodo biolistico. Il vettore più efficiente per il trasferimento di DNA esogeno nelle piante è rappresentato dal plasmide Ti (Tumor-inducing plasmid) dell' *A. tumefaciens* (Ruggini, 2015).

All' inizio del XXI secolo la ricerca per la costruzione di piante geneticamente modificate ha subito un arresto a causa della bioetica e l'opinione pubblica negativa. Nel 2007 è stato sequenziato l'intero genoma di *V. vinifera* e successivamente sono state create le mappe genetiche in cui sono stati localizzati nel genoma i primi QTL (Quantitative Trait Loci), cioè loci che contengono i geni associati a caratteri quantitativi. Inoltre, l'impiego di marcatori molecolari ha permesso di introdurre nel miglioramento genetico della vite la selezione assistita da marcatori (sequenze di DNA strettamente associata a un QTL). Tutto questo permette di selezionare un fenotipo sulla base di un marcatore molecolare (MAS).

Avere a disposizione la sequenza intera del genoma permette di ispezionare la porzione del cromosoma di interesse e identificare i marcatori più vicini alla regione che abbiamo preso in considerazione o marcatori che non subiscono ricombinazioni.

Negli ultimi anni la ricerca nella vite ha preso in considerazione la possibilità di trasferire geni tramite la cisgenetica, cioè il trasferimento di uno o pochi geni mediante la trasformazione genetica con geni o costrutti appartenenti alla specie da trasformare. La cisgenesi può affiancare l'incrocio classico nel trasferimento di geni di resistenza.

#### **4.2: Interazione genotipo-ambiente**

Il vino è la risultante di un complesso biologico che deriva dalla profonda interazione della vite con il suo ambiente. Il vitigno è un'entità genetica unica, perfettamente adattata a un territorio e moltiplicata vegetativamente per migliaia o milioni di talee, ovvero, geneticamente parlando, uno o più cloni (Pezzotti et al., 2015).

La vite è una specie che possiede una grande plasticità fenotipica e quindi un solo genotipo è in grado di esprimere fenotipi differenti in funzione ai diversi ambienti di coltivazione. Come riportato da Pezzotti et al. (2015), attraverso lo studio dell'espressione genica sono stati evidenziati i geni di vite responsivi all'ambiente per la varietà Corvina, capaci, molto probabilmente, di influenzare la qualità dei frutti. Tra questi geni alcuni

regolano i processi metabolici sensibili ai diversi climi, come quelli preposti per la produzione di composti fenolici, che definiranno il colore e le caratteristiche gustative del vino. I risultati dello studio hanno dimostrato che le prime fasi di maturazione delle bacche sono più sensibili ai cambiamenti delle condizioni ambientali, impattando sul processo di maturazione della vite.

Oltre ai geni plastici è stato possibile evidenziare anche i geni costanti, ovvero geni la cui espressione risultava invariata al variare delle condizioni climatiche. Questi geni sono da considerare come marcatori universali del processo di maturazione delle uve e la loro identificazione e utilizzo contribuirà a definire l'epoca ottimale di raccolta e l'elaborazione di una determinata tipologia di vino (Pezzotti et al., 2015). Sarà quindi possibile definire quali sono i geni che variano la loro espressione in funzione dell'interazione con l'ambiente, e di conseguenza definire le risposte fenotipiche e molecolari che portano ad una variazione della performance della pianta.

#### **4.2.1: Deficit idrico e variazione dell' espressione genica**

In questi ultimi anni la genomica ha permesso di comprendere in maniera più completa e approfondita le risposte della vite agli stress idrici, osservando come variano l'espressione genica e la correlazione di trascritti e proteine.

La vite è una pianta che tendenzialmente riesce a sopportare carenze idriche, ma questa capacità differisce a seconda della varietà e per questo viene classificata come *isoidrica*, quando è capace di mantenere anche sotto stress potenziali idrici relativamente elevati grazie ad una chiusura stomatica rapida, e *anisoidrica* quando ha una reattività più lenta e quindi tende ad arrivare a potenziali idrici fogliari più negativi. Questa classificazione è stata messa di recente in discussione, ma non vi è dubbio che le risposte con cui diversi vitigni reagiscono a stress idrici severi siano molto diverse (Pezzotti et al., 2015).

Sarà quindi possibile produrre nuove cultivar che si adatteranno meglio alle variazioni del clima. I futuri studi trascrittomici mirano a fornire dati molecolari rilevanti per allevare nuove cultivar meglio adatte alle condizioni climatiche future (Gomès et al., 2021).

Il trascrittoma completo include gli RNA messaggeri (mRNA), che trasportano delle sequenze codificanti, e gli RNA non codificanti (ncRNA). Recentemente è stato

dimostrato che lo splicing alternativo partecipa alla costruzione del panorama completo dell'RNA , essendo un grado di generare più mRNA da un singolo gene (Gomès et al., 2021). Lo splicing alternativo (AS), cioè il processo di produzione di combinazioni differenziali di esoni dello stesso gene, è regolato durante la crescita della pianta, essendo molto sensibile alle variazioni ambientali. Per esempio, molti geni che dipendono dall'orologio circadiano sono inclini all'AS, consentendo alla pianta di modificare rapidamente la sua attività fisiologica in risposta alle condizioni mutevoli, e la loro manipolazione è di particolare interesse per permettere alla vite di adattarsi al cambiamento climatico.

Alcuni geni che determinano il tempo di fioritura sono sottoposti a regolazione dello splicing, che ne modula il funzionamento in base alle condizioni di luce e temperatura (Gomès et al., 2021). Inoltre, secondo quanto riportato da Gomès (2021) condizioni di luce elevata, temperature estreme e stress idrico sono potenti induttori di AS, un processo che quindi dovrebbe innescare l'adattamento delle piante alle condizioni ambientali difficili. Altri studi suggeriscono che AS regola l'espressione dei geni della via dell'acido abscissico come risposta agli stress abiotici.

Poiché la trascrizione e la traduzione sono molto dispendiose dal punto di vista energetico, si crede che l'induzione di splicing alternativo in condizioni di stress sia un mezzo per ridurre la quantità e la diversità delle trascrizioni traducibili (Gomès et al., 2021). Lo splicing alternativo varia a seconda dei genotipi e degli stress a cui sono sottoposti, e questa divergenza ha influenzato i geni appartenenti alle normali vie di risposta allo stress, i geni correlati alla riparazione dello spliceosoma e al DNA, che potrebbero essere coinvolti nell'adattamento dello stress idrico (Gomès et al., 2021).

#### **4.2.2 : Marcatori molecolari per un uso efficiente dell'acqua**

Attualmente non ci sono conoscenze specifiche su come controllare l'espressione genica nel contesto dell'adattamento della vite ai cambiamenti climatici (Gomès et al., 2021). Tuttavia è possibile sfruttare la grande variabilità genetica dei nesti e portainnesti. Questi ultimi possono differire per la loro capacità di estrarre l'acqua, che dipende dalla biomassa e dalla conducibilità idraulica delle radici, ma le variazioni genetiche di questi

aspetti non sono ancora precise, mentre le informazioni che ci vengono date dai marcatori molecolari sono più affidabili.

Alcuni studi hanno identificato in un incrocio di Cabernet sauvignon x Riparia Gloire diversi QTL sui cromosomi 1, 2 e 5 per la biomassa delle radici e un QTL per la biomassa aerea in altri cromosomi. Questo significa che potrebbe essere possibile allevare portainnesti con elevata massa radicale, una buona capacità di estrazione dell'acqua, controllando la crescita aerea, la superficie evaporativa, e di conseguenza la domanda idrica (Gomès et al., 2021).

Il controllo della risposta allo stress idrico dipende da molti geni del portainnesto, ma la combinazione degli alleli per creare il portainnesto ideale, che riesce ad adattarsi alla siccità non è semplice, perché la sua risposta alla siccità dipende dalla cooperazione tra parte epigea e ipogea.

Infatti, come dimostrato da Coupel-Ledru et al., (2014) nella progenie di Syrah× Grenache sono presenti dei QTL per l'area, la traspirazione specifica, la conduttanza specifica e il potenziale idrico fogliare minimo diurno. Questi QTL, distribuiti su 10 cromosomi, erano in parte indipendenti, dimostrando che il comportamento globale dipende da molti fattori sotto il controllo genetico. La stessa progenie è stata anche utilizzata per dimostrare che la traspirazione notturna era una componente importante della variabilità genetica (Gomès et al., 2021). La traspirazione notturna era in parte dovuta alla chiusura stomatica incompleta durante la notte (stimata 70%) e in parte alla perdita d'acqua attraverso la cuticola (stimata 30%) (Coupel-Ledru et al., 2016). I QTL per la traspirazione notturna sono stati identificati sui cromosomi 1,4 e 13. La traspirazione notturna è associata ad un uso meno efficiente dell'acqua, e questo fatto solleva la questione del perché le piante si siano evolute permettendo notevoli perdite d'acqua. La traspirazione può abbassare la temperatura delle foglie mediante il raffreddamento per evaporazione, i flussi d'acqua notturni possono favorire il trasporto di nutrienti e O<sub>2</sub> al parenchima xilematico. La chiusura stomatica incompleta di notte può accelerare la ripresa della fotosintesi all'alba (anche se non è stato sempre osservato). Ancora più importante, questi QTL non colocalizzavano con i QTL per la traspirazione diurna. Ciò significa che è possibile, in parte, disaccoppiare la capacità complessiva della fotosintesi (correlata alla traspirazione diurna) alle perdite d'acqua complessive (Gomès et al., 2021).

In uno studio condotto da Coupel-Ledru et al. (2016) sono stati esaminati in modo congiunto l'efficienza di traspirazione (TE) e la perdita d'acqua durante la notte (En) in una popolazione ottenuta dall'incrocio di Syrah e Grenache, con l'obiettivo di creare delle piante con una ridotta traspirazione notturna e con un aumento di TE. Questo esperimento è stato condotto applicando degli stress idrici moderati, che hanno permesso di rilevare determinati QTL.

Il graduale cambiamento dei processi fisiologici della vite per far fronte al progressivo essiccamento del suolo ha messo in evidenza alcuni QTL che potrebbero essere correlati ad un' influenza della cuticola per quanto riguarda la traspirazione notturna o ad alcune differenze della densità stomatica, che è influenzata dallo stress idrico e dall'ABA e modula TE. Sono necessari ulteriori studi per analizzare questi QTL di En, non ancora identificati, e identificare la loro interazione con la gravità dello stress idrico (Coupel-Ledru et al., 2016).

#### **4.2.3: Marcatori molecolari per una qualità stabile degli acini**

I possibili effetti sulle caratteristiche organolettiche dell'uva e le variazioni dei profili aromatici sono le principali preoccupazioni relative al cambiamento climatico. Uno dei problemi più rilevanti è l'aumento del contenuto di zucchero, che porta ad un aumento del contenuto alcolico nei vini, riducendone la bevibilità. Il contenuto zuccherino viene determinato dal rapporto foglia- frutto, dalle condizioni fotosintetiche durante la maturazione e per aiutare a controbilanciare l'accumulo di zucchero ci si può aiutare con i sistemi di allevamento, la posizione geografica del vigneto e la diversità genetica (Gomès et al., 2021).

Le varietà di vite con un elevato rapporto tartarico/malico dovrebbero adattarsi meglio ad ambienti più caldi e sono stati studiati pannelli di diversità per rilevare i QTL per la concentrazione di acido malico e acido tartarico, aprendo le porte a varietà in grado di mantenere un corretto livello di acidità anche con temperature più elevate. I legami tra le variazioni genetiche di acido malico e tartarico e le variazioni genetiche del pH non sono mai stati formalmente stabiliti e, come affermano Gomès et al. (2021) è stato mostrato che il rapporto malico/tartarico erano guidate da forti QTL sui cromosomi 6 e 8, ma non erano associate a variazioni di pH.

## CONCLUSIONI

Questo elaborato si è focalizzato sugli effetti dello stress idrico, dovuto ai cambiamenti climatici, sulla vite.

Il cambiamento climatico è la sfida principale del ventunesimo secolo ed è un fenomeno da sempre presente, che è stato accelerato dall'attività dell'uomo a causa dell'emissione di CO<sub>2</sub>, che ha causato l'aumento delle temperature (2°C circa), la riduzione delle precipitazioni e il verificarsi di eventi estremi. Questi fenomeni hanno portato a modificazioni delle fasi fenologiche della vite, soprattutto per quanto riguarda la riduzione delle precipitazioni.

La vite è una pianta che si adatta bene a climi caldi e secchi ed è in grado di sopportare carenze idriche più o meno forti in base alla varietà e al tipo di portainnesto. La sua resistenza e plasticità dipende, infatti, dalla cooperazione di nesto e portainnesto che sono in grado di limitare la perdita d'acqua tramite la riduzione della traspirazione e della fotosintesi dovuta alla riduzione della conduttanza stomatica e dei processi metabolici, la chiusura stomatica anticipata che permette di ridurre l'evaporazione dell'acqua e che è regolata dall'ABA che colpisce le cellule di guardia con conseguente chiusura degli stomi, la segmentazione e lo sviluppo radicale in profondità. Anche le bacche risentono degli stress idrici, che vanno ad influire sulle caratteristiche quantitative e qualitative, come la riduzione della produttività, l'accumulo di zuccheri e riduzione dell'acidità, accumulo di antociani e variazione dei composti aromatici.

Si prevede che la coltivazione della vite si sposterà sempre di più verso il nord, dove il clima sarà più mite, mentre le regioni in cui la coltivazione della vite ha una tradizione molto antica diventeranno inospitali a causa dell'eccessiva siccità e delle temperature elevate.

Per questi motivi si stanno cercando delle soluzioni che permettano alla vite di resistere a eventi climatici sempre più avversi, pur mantenendo invariata la capacità produttiva e la qualità dell' uva e del vino.

Tra le soluzioni troviamo l'irrigazione, che però non è sostenibile a causa dei fenomeni di siccità sempre più frequenti, nuove tecniche di allevamento, lavorazioni del terreno che

consentano di mantenerne l'umidità e ridurre l'erosione, l'utilizzo di portainnesti selezionati, che sono in grado di resistere a maggiori deficit idrici e il miglioramento genetico.

Il miglioramento genetico della vite ha inizio con la selezione massale, che aveva come obiettivo la scelta degli individui con le caratteristiche migliori e più performanti. Nel 2007 si è arrivati al sequenziamento dell'intero genoma della vite e alla creazione di mappe genetiche dove sono stati individuati i primi QTL fino ad arrivare ad oggi, dove la ricerca sulla vite utilizza la cisgenetica.

Attraverso lo studio dell'espressione genica è stato possibile individuare i geni responsabili dell'adattamento della vite ai vari cambiamenti climatici, che le permettono di modificare il metabolismo in modo da potersi adattare a condizioni ambientali diverse. Grazie agli studi omici sarà possibile creare delle piante che si adatteranno meglio a nuovi climi.

Recentemente è stato dimostrato che lo splicing alternativo è regolato dalle variazioni ambientale, e che quindi molti geni che dipendono dall'orologio circadiano sono inclini all'AS, consentendo alla pianta di modificare la sua attività fisiologica, e la loro manipolazione è di particolare interesse per permettere alla vite di adattarsi al cambiamento climatico.

Attualmente però non ci sono conoscenze specifiche su come controllare l'espressione genica della vite per permetterle di adattarsi ai cambiamenti climatici, ma è comunque possibile sfruttare la variabilità genetica di nesti e portainnesti che insieme portano alla formazione di una pianta che riesce a resistere in condizioni di stress idrico. Il controllo della risposta alle carenze idriche dipende da molti geni del portainnesto, ma è comunque necessaria la cooperazione fra parte epigea e ipogea. È stato inoltre dimostrato che i QTL che regolano la traspirazione diurna e notturna non co-localizzano, ma questo apre le porte alla possibilità di disaccoppiare la capacità fotosintetica della vite con le perdite d'acqua complessive.

Recenti studi hanno evidenziato un graduale cambiamento dei processi fisiologici della vite, che le permetterebbe di adattarsi a suoli sempre più secchi, mettendo in evidenza alcuni QTL correlati alla traspirazione notturna o alla densità stomatica (influenzata dal deficit idrico e dall'ABA).

Il deficit idrico influenza anche le caratteristiche organolettiche dell'uva, incrementando il contenuto di zuccheri e antociani. Le varietà con un elevato rapporto malico/tartarico dovrebbero adattarsi meglio a condizioni di siccità e per questo si stanno ricercando dei QTL che regolano la loro concentrazione, in modo da creare delle varietà che siano in grado di mantenere una buona acidità anche in condizioni di stress idrico e con temperature elevate.

È necessario quindi sfruttare tutte le tecniche a nostra disposizione, unendo le tecniche agronomiche con il miglioramento genetico, per ottenere delle piante in grado di adattarsi e sopravvivere a condizioni di stress idrico sempre più estreme, mantenendo il più possibile invariata la qualità dell'uva.

## BIBLIOGRAFIA

- Bigard, A., Berhe, D. T., Maoddi, E., Sire, Y., Boursiquot, J. M., Ojeda, H., ... & Torregrosa, L. (2018). *Vitis vinifera* L. fruit diversity to breed varieties anticipating climate changes. *Frontiers in plant science*, 9, 455.
- BUONO, RAFFAELE; VALLARIELLO, Gioacchino Introduzione e diffusione della vite (*Vitis vinifera* L.) in Italia. *Delpinoa*, 2002, 44: 39-51.
- Carbonneau, A., Deloire, A., Jaillard, B. (2011). La vite: fisiologia, terroir, coltivazione
- Castellarin, S. D., Bucchetti, B., Falginella, L., & Peterlunger, E. (2011). Impact of water deficit on grape quality: physiological and molecular aspects. *Italus Hortus*, 18(2), 63-79
- CoupeL-Ledru, A., Lebon, É., Christophe, A., Doligez, A., Cabrera-Bosquet, L., Péchier, P., Hamard, P., This, P., & Simonneau, T. (2014). Genetic variation in a grapevine progeny (*Vitis vinifera* L. cvs Grenache x Syrah) reveals inconsistencies between maintenance of daytime leaf water potential and response of transpiration rate under drought. *Journal of Experimental Botany*, 65(21), 6205–6218. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru228>
- CoupeL-Ledru, A., Lebon, E., Christophe, A., Gallo, A., Gago, P., Pantin, F., Doligez, A., & Simonneau, T. (2016). Reduced nighttime transpiration is a relevant breeding target for high water-use efficiency in grapevine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(32), 8963–8968. <https://doi.org/10.1073/pnas.1600826113>
- Degu, A., Hochberg, U., Wong, D. C. J., Alberti, G., Lazarovitch, N., Peterlunger, E., Castellarin, S. D., Herrera, J. C., & Fait, A. (2019). Swift metabolite changes and leaf shedding are milestones in the acclimation process of grapevine under prolonged water stress. *BMC Plant Biology*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1652-y>

- Deluc, L. G., Quilici, D. R., Decendit, A., Grimplet, J., Wheatley, M. D., Schlauch, K. A., Mérillon, J. M., Cushman, J. C., & Cramer, G. R. (2009). Water deficit alters differentially metabolic pathways affecting important flavor and quality traits in grape berries of Cabernet Sauvignon and Chardonnay. *BMC Genomics*, *10*. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-212>
- Ferrandino, A., Perrone, I., Tramontini, S., & Lovisolo, C. (2009). Physiological and molecular mechanisms of resistance to drought in *Vitis vinifera* L: aspects of primary and secondary metabolisms and adaptation of genotypes. *Italus Hortus*, *16*(1), 23-44.
- Fraga, H., Malheiro, A. C., Moutinho-Pereira, J., & Santos, J. A. (2013). Future scenarios for viticultural zoning in Europe: Ensemble projections and uncertainties. *International Journal of Biometeorology*, *57*(6), 909–925. <https://doi.org/10.1007/s00484-012-0617-8>
- Gambetta, G. A., Herrera, J. C., Dayer, S., Feng, Q., Hochberg, U., & Castellarin, S. D. (2020). The physiology of drought stress in grapevine: towards an integrative definition of drought tolerance. *Journal of experimental botany*, *71*(16), 4658-4676.
- Ghelli, F. (2006). Miglioramento della resistenza allo stress idrico in piante geneticamente modificate. Relatore Trainotti, L. Dipartimento di biologia, Facoltà di Scienze MM.FF.NN, Università degli studi di Padova.
- Gomès, É., Maillot, P., & Duchêne, É. (2021). Molecular tools for adapting viticulture to climate change. *Frontiers in Plant Science*, *12*, 633846.
- Merloni, E. (2017). Capacità di adattamento delle imprese vitivinicole ai cambiamenti climatici: il caso del Sangiovese in Emilia-Romagna.
- Mezzetti, B., Pandolfini, T., Navacchi, O., & Landi, L. (2002). Genetic transformation of *Vitis vinifera* via organogenesis. *BMC biotechnology*, *2*(1), 1-10.
- Mirás-Avalos, J. M., & Intrigliolo, D. S. (2017). Grape composition under abiotic constrains: water stress and salinity. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 851.
- Orombelli, G. I. U. S. E. P. P. E. (2005). Cambiamenti climatici. *Geografia Fisica Dinamica Quaternaria*.

- Palliotti, A., Poni, S., Silvestroni., O. (2018). Manuale di viticoltura
- Petri. G. (2021). Storia del miglioramento genetico della vite. Scienze e tecnologie agrarie, Università degli studi di Firenze.
- Pezzotti, M., Poni, S., & Zenoni, S. Analisi della plasticità fenotipica e dell'interazione genotipo-ambiente in *Vitis vinifera* L.: le sinergie tra la valutazione fisiologica e l'approccio genomico.
- Rugini, E. (2015). Transgenic fruit trees and consequences of the prohibitions imposed research in Italy. *Italus Hortus*, 22(1), 31-57.
- Savoi, S., Wong, D. C. J., Arapitsas, P., Miculan, M., Bucchetti, B., Peterlunger, E., Fait, Schiavon, S., & Zecchin, R. I cambiamenti climatici.
- Taiz, L., Zeiger, E. (2002). Fisiologia vegetale
- Tombesi, S., Poni, S., & Palliotti, A. (2016). Stress idrico in *Vitis vinifera*: Variabilità delle risposte fisiologiche intra-specifiche e loro potenziale sfruttamento nella mitigazione degli effetti dei cambiamenti climatici. *Italu Hortus*, 23, 45-53.
- Tyreei, M. T., & Ewers^, F. W. (1991). The hydraulic architecture of trees and other woody plants. In *New Phytol* (Vol. 119).