

Analisi della plasticità fenotipica e dell'interazione genotipo-ambiente in *Vitis vinifera* L.: le sinergie tra la valutazione fisiologica e l'approccio genomico

I. INTRODUZIONE

La viticoltura del nuovo millennio prospetta, per il nostro Paese, stimoli ma anche nuove sfide. L'annata in corso (2014) segna l'ennesimo record di presenze a Vinitaly, mentre nel 2013 l'export di vino italiano ha raggiunto e superato, in valore, la fatidica soglia dei 5 miliardi di euro. Accanto a questi dati "luccicanti", anche alcune ombre: il persistere della classica situazione a "macchia di leopardo" della viticoltura italiana che accanto ad aree che prosperano ne segnala altre in grave difficoltà di prezzo delle uve e collocamento del prodotto, la crescente preoccupazione per quelle che potrebbero essere le future normative che regoleranno la messa a dimora di nuovi impianti, l'apparentemente inarrestabile calo del consumo pro-capite di vino, oggi oscillante intorno ai 37L/anno, le sfide imposte alla viticoltura dal cambiamento climatico che richiedono una rivisitazione delle tecniche colturali tradizionali e, quasi paradossalmente, il rovesciamento di alcuni concetti da sempre concepiti come pilastri fondanti del "saper coltivare la vite e produrre buon vino".

Ciò premesso, ci pare di potere individuare alcuni argomenti "caldi" che, in futuro, saranno certamente all'attenzione dei ricercatori e degli operatori del settore. Tra questi:

- 1) l'esigenza di conciliare con sempre maggiore efficacia "tradizione" e "innovazione". La prima rappresentata dal fascino quasi mistico del "terroir", punto di forza di una viticoltura nazionale che presenta una varietà di genotipi, mesoclimi e suoli che non ha certamente eguali al mondo e, la

* Dipartimento di Biotecnologie, Università di Verona

** Istituto di Frutti-Viticultura, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza

seconda, dall'applicazione di moderne tecniche di impianto e gestione del vigneto. Volendo esprimere questo connubio in termini più immediati, un territorio "vocato" dovrebbe poter conseguire anche una resa "remunerativa", la qualità "desiderata" delle uve (ovvero quella che, in ultima analisi, ne consente un'agevole collocazione sul mercato) e una riduzione sensibile dei costi di produzione. Il tutto, ovviamente, all'interno di un quadro di sostenibilità economica e ambientale;

- 2) le interazioni tra il cambio climatico e il "modo" di fare viticoltura. Nella fattispecie, continuando il trend ambientale di surriscaldamento che, peraltro, i modelli sembrano confermare, occorrerà rivedere la "vocazionalità" dei territori e la redistribuzione geografica dei vitigni (emblematici i casi, sempre più frequenti di vigneti che spuntano in Paesi del Nord Europa), si dovrà riconsiderare la valenza di aree a maggiore altitudine o di mesoclimi particolari e, soprattutto, sarà necessario adattare la tecnica colturale in maniera tale da contrastare fenomeni che appaiono sempre più preoccupanti (maturazione alcolica molto anticipata, aromi atipici, ecc.);
- 3) il tema del ricorso all'irrigazione che sta irrompendo in diverse aree tradizionalmente in "asciutta" e che pone al viticoltore, non avvezzo a questa pratica, problemi di natura tecnica ma anche, in certo senso, "psicologica". È, infatti, del tutto evidente che alcuni stereotipi (uno su tutti: dare acqua al vigneto fa sempre male alla qualità) ancora pesano e frenano la consapevolezza che il ricorso oculato alla pratica irrigua costituisca un formidabile strumento di stabilità quanti-qualitativa e di flessibilità gestionale;
- 4) tratti simili a quelli delineati per la risorsa idrica sono rilevabili anche in tema di meccanizzazione del vigneto che, specie per vendemmia meccanica e potatura meccanica invernale, vede il nostro paese ancora in posizione arretrate rispetto ai cugini francesi o a grandi paesi produttori di oltre-oceano (es. Cile e Australia). In tale contesto appare evidente che, nonostante i ragguardevoli sforzi prodotti dalla ricerca fin dai primi anni 70, vi sia ancora un diffuso scetticismo sul fatto che l'ovvio contenimento dei costi che accompagna, specie su superfici adeguate, un intervento meccanico sia del tutto compatibile con il mantenimento di livelli produttivi e qualitativi simili a quelli conseguiti con una gestione manuale;
- 5) le cosiddette "nuove tecnologie" che stanno letteralmente invadendo anche la pratica viticola e che annoverano varie strategie di viticoltura di precisione, nuovi protocolli di monitoraggio ambientale e di applicazione di modelli epidemiologici per la previsione dell'insorgenza di malattie e,

non ultimi, i nuovi sistemi di supporto alle decisioni (DSS) che stanno trovando crescente favore e gradimento da parte degli operatori per caratteristiche di polivalenza, tempestività e non “intrusività”;

- 6) da ultimo, il tema che sarà poi sviluppato nei paragrafi seguenti e che, ponendo al centro la sempre dibattuta interazione genotipo-ambiente, ambisce a chiarire come fisiologia e genomica possono finalmente integrarsi per fornire risposte concrete a quesiti che ruotano intorno alla temuta “variabilità” di effetti e risposte che si riscontrano in vigneto.

2. INTERAZIONE GENOTIPO-AMBIENTE: LA VALUTAZIONE FISIOLOGICA

Un ideale punto di partenza per questa trattazione è certamente costituito dalla natura del panorama ampelografico italiano che si caratterizza per centinaia di vitigni peraltro in dinamica evoluzione sotto il profilo delle tendenze di impianto. Come è noto, infatti, nelle ultime due campagne vivaistiche, le barbatelle più richieste sono quelle di vitigni a bacca bianca (Pinot grigio in particolare) anche se, ancora oggi, dei circa 650.000 del vigneto “Italia”, circa 70.000 sono impiantati a Sangiovese. È peraltro certamente impressionante notare che almeno un terzo di questa superficie è formato dalla messa in coltura di piccoli appezzamenti di un elevatissimo numero di genotipi (circa 330 secondo fonti ISTAT, 2012).

A fronte di tale ricchezza ampelografica (e, in questa sede, tralasciamo volutamente l’aspetto riguardante la presenza, per diversi vitigni di un numero talvolta impressionante di cloni) occorre in primo luogo chiedersi quale e quanta variabilità esiste all’interno di varietà appartenenti a *Vitis vinifera* L. Il tema è quanto mai attuale e dibattuto poiché il fattore “vitigno” concorre insieme con i fattori clima e suolo all’espressione fenotipica e, in ultima analisi, alla redditività di una determinata scelta colturale. Secondo Van Leuwen et al. (2004), le risposte vegeto-produttive e qualitative osservate in vigna dipendono almeno per il 50% dalla cosiddetta “annata” e per il restante 50%, in parti più o meno equivalenti, da suolo e combinazione vitigno/portinnesto. In quel contributo si riscontrò, inoltre, che gli effetti indotti dal “suolo” non erano in realtà di natura “diretta” bensì mediati da quelli esercitati sullo stato idrico delle viti.

Indubbiamente, il tratto che più di altri descrive con efficacia la variabilità inter-varietale è quello relativo alla precocità di maturazione dei vitigni, efficacemente sintetizzata in figura 1, in cui per quattro fasce climatiche separate da un ΔT di 2 °C calcolato sulla media delle temperature giorna-

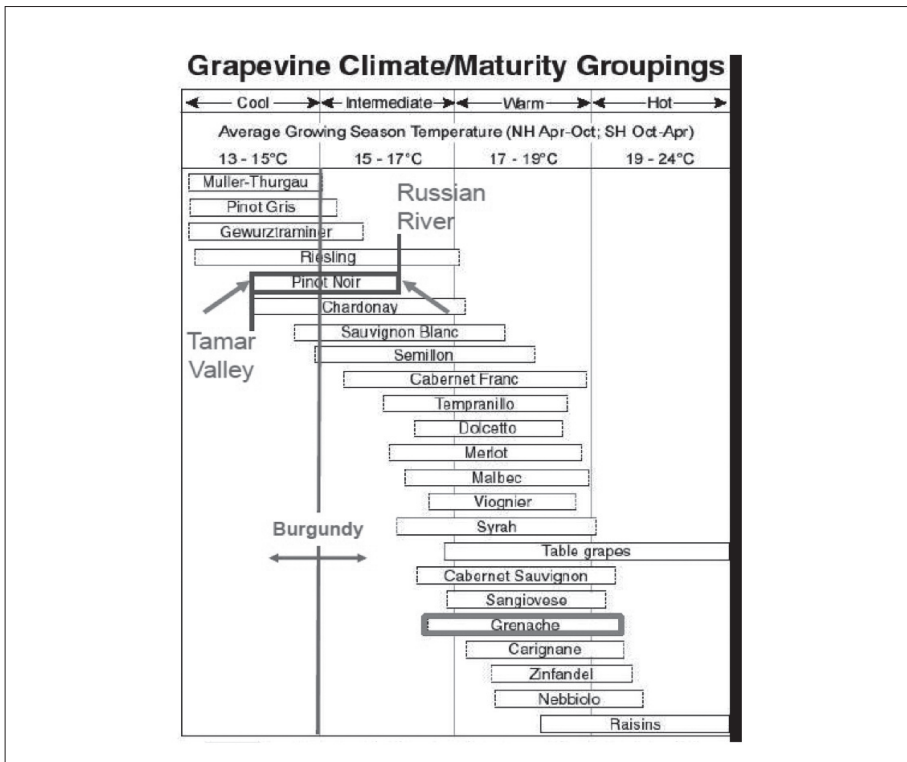


Fig. 1 Posizionamento di alcuni vitigni in base alle rispettive esigenze climatiche (da Jones, 2005)

liere per il periodo 1 aprile-31 ottobre, si può apprezzare il posizionamento dei principali vitigni coltivati. Poiché il carattere di “precoce” o “tardivo” è evidentemente legato soprattutto alla sommatoria termica di cui il vitigno necessita per giungere a maturazione, il tratto in questione è evidentemente preponderante rispetto all’influenza esercitata da suolo e tecnica colturale. È inoltre curioso notare che la dislocazione dei vitigni di figura 1 è, peraltro, relativamente “mobile”. Si calcola, infatti, che il ritmo attuale di “global warming” (circa 0.4 °C per decade secondo Jones, 2005) porti, in un cinquantennio, ad accumulare quel delta di 2 °C che segna anche il passaggio di “fascia”. Quest’ultimo riveste importanza particolare nel caso di aree prima non vitate e che, grazie a questo fenomeno, entrano in fascia “cool” (vedi alcune zone del Regno Unito o di alcuni paesi Scandinavi) e di aree che, essendo già oggi al confine tra segmento “warm” e “hot” rischiano seriamente di “uscire” dalle fasce di vocazionalità viticola (è il caso di aree molto calde della California o del Portogallo).

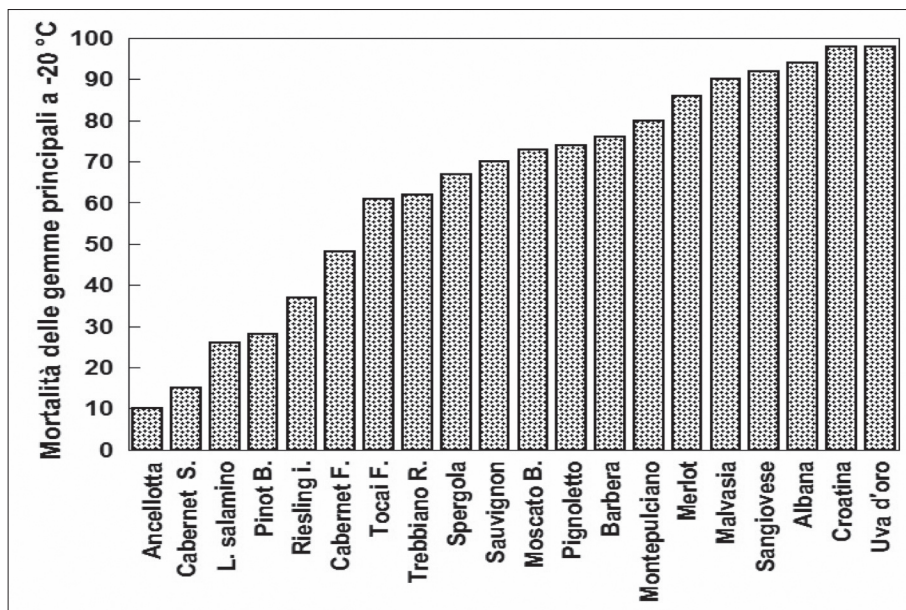


Fig. 2 *Mortalità delle gemme principali (%) a -20 °C in diversi vitigni appartenenti a Vitis vinifera L. (da Intrieri et al., 1985)*

In generale, l'apprezzamento delle differenze sicuramente imputabili al vitigno o, per meglio dire, alla combinazione vitigno/portinnesto, non è certamente di facile percezione. Peraltro, tale difficoltà è comprensibile poiché questi confronti sono spesso “spuri”, ovvero viziati da un effetto di “confounding” connesso al variare anche di condizioni ambientali e colturali. Pertanto, quasi paradossalmente, una buona occasione per valutare in maniera accettabilmente obiettiva il peso della variabilità genotipica è quella di eventi climatici estremi che, agendo su scala di macro-clima, in un certo senso “obbligano” i vari vitigni a sottostare alle medesime condizioni facilitandone la valutazione comparativa. Un esempio calzante è quello che risale alla gelata invernale storica del 1995 (-26 °C raggiunti in pianura padana) che permise di valutare la sensibilità al danno da freddo per una gamma molto ampia di vitigni (fig. 2). Nella fattispecie, si notò che, in corrispondenza della soglia critica di -20 °C, alcuni vitigni (es. Ancellotta e Cabernet S.) presentavano una percentuale di danno alle gemme principali inferiore al 20% mentre, in altri, (es. Albana, Croatina e Uva D'oro) l'entità del danno raggiungeva in pratica il 100% delle gemme osservate (Intrieri et al., 1985).

Un'altra condizione che, pur in un'alea negativa, costituisce una ghiotta occasione di comparazione di variabilità genotipica è quella dell'insorgenza

di gravi stress idrici che inducono determinati adattamenti morfo-fisiologici. Anche se la classificazione tra vitigni “isoidrici”, ovvero capaci di mantenere sotto stress potenziali idrici relativamente elevati grazie ad una pronta chiusura stomatica, es. Grenache) e anisoidrici (dotati di una reattività e di un controllo stomatico più blando e quindi più esposti a raggiungere potenziali idrici fogliari decisamente più negativi) è stata messa di recente in discussione (Lovisolo et al., 2010), non vi è dubbio che le risposte con cui diversi vitigni reagiscono a stress idrici severi siano molto diverse. Ad esempio, il Sangiovese mostra solitamente segni assai tangibili di stress con un marcato ingiallimento e filloptosi delle foglie basali e tendenza, per tutte le foglie, ad assumere un’inclinazione tendenzialmente verticale, utile a sfuggire alla radiazione incidente e, di conseguenza, a ridurre i consumi traspiratori. Viceversa, la chioma di Montepulciano non pare mostrare tali limiti apparendo in pratica perfetta. Tuttavia, una valutazione “fisiologica” dell’adattamento dei due vitigni allo stress porta a conclusioni molto diverse se non opposte. Come ben evidenziato da Palliotti et al., 2009, infatti, il Sangiovese, anisoidrico, intelligentemente “sacrifica” le foglie basali, peraltro ormai avviate alla senescenza e quindi scarsamente funzionali, mantenendo però una discreta funzionalità delle foglie mediano-apicali per le quali non si registra una chiusura stomatica fortemente limitante. Viceversa, il Montepulciano presenta una reazione monolitica di marcata chiusura stomatica indipendentemente dalla posizione della foglia raggiungendo, almeno nel breve periodo, il risultato di una salvaguardia del proprio status idrico fogliare ma, poiché gli stomi sono anche il canale di diffusione della CO_2 , di limitazione molto forte dell’attività fotosintetica.

Indubbiamente, la tipologia di risposta di un determinato genotipo a uno stress biotico o abiotico può anche essere influenzata dalla metodologia di valutazione. Un esempio recente e calzante è quello proposto alla figura 3A, B in cui misure condotte su viti di Sangiovese sottoposte a un livello crescente di stress idrico portano a conclusioni opposte a seconda della metodologia adottata. Infatti, misure di scambio gassoso (fotosintesi e traspirazione) condotte su foglia singola segnalano per il parametro di efficienza intrinseca di uso dell’acqua (rapporto tra fotosintesi e conduttanza stomatica) un forte aumento in condizioni di stress (fig. 3A). Tuttavia, quando la scala di rilievo viene portata al livello di chioma intera, il risultato si inverte (fig. 3B). Questa risposta contraddittoria suona certamente come un campanello di allarme poiché è evidente che la valutazione oggettiva di un adattamento fisiologico non dovrebbe dipendere in maniera così netta e decisiva dalla metodologia adottata.

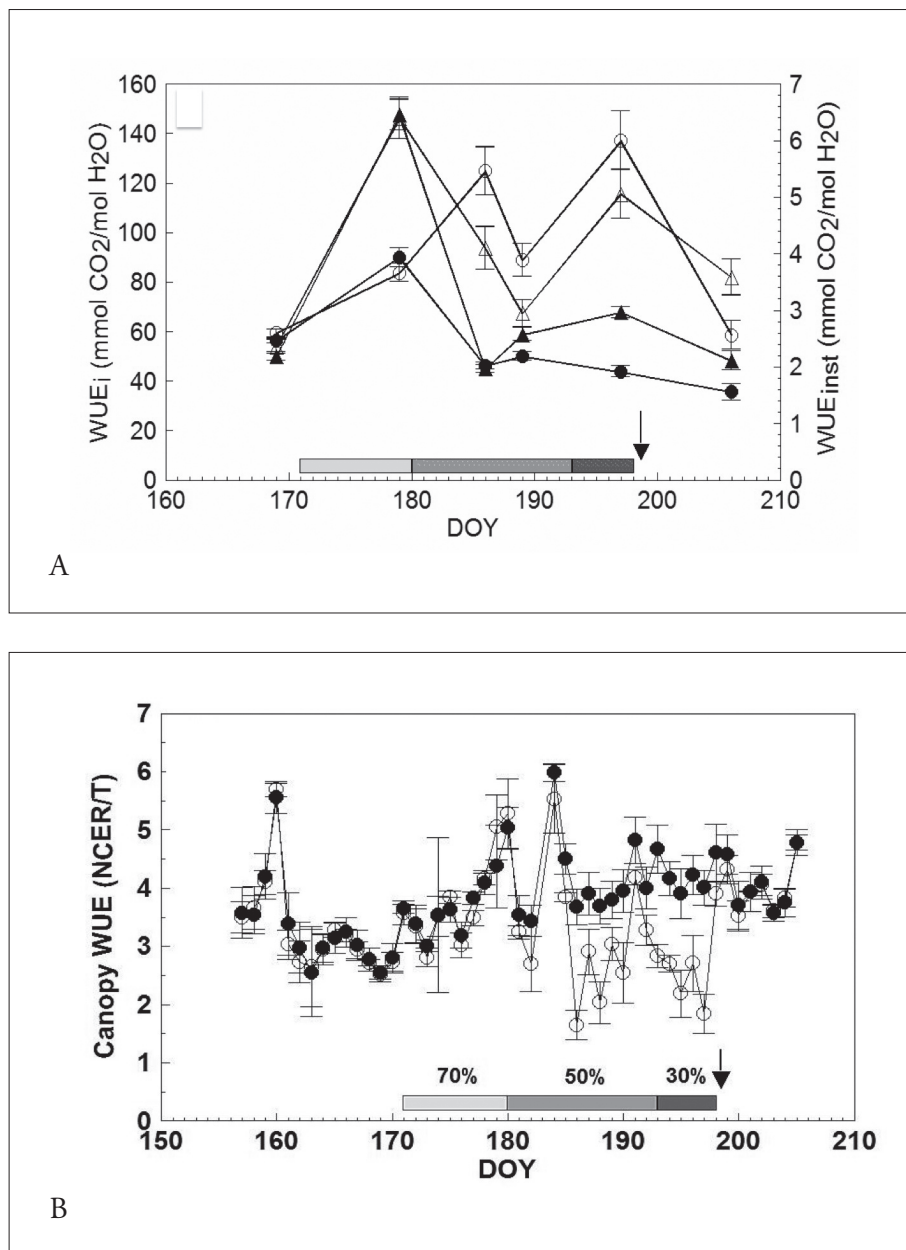


Fig. 3 In A), efficienza di uso dell'acqua istantanea (A/E) e intrinseca (A/g_s) rilevata su foglie singole di Sangiovese sottoposte, in pre-invasiatura, a un ciclo di stress idrico fino alla restituzione di solo il 30% dell'acqua traspirata; in B) la misura stagionale di efficienza di uso dell'acqua condotta su chioma intera (da Poni et al., 2014)

Gli esempi finora riportati non fanno peraltro che rafforzare l'urgenza di avere risposte precise ai seguenti temi: a) comportamento di diversi vitigni nel medesimo ambiente; b) comportamento dello stesso vitigno in ambienti diversi e c) consistenza e ripetibilità della risposta a una certa tecnica colturale in funzione di vitigno e ambiente.

È di tutta evidenza che una risposta soddisfacente a questi quesiti non può prescindere da un'azione sinergica tra caratterizzazione morfo-fisiologica e analisi genomica. In tema, uno degli interrogativi da sempre più stimolante è se esistano vitigni "facili" o "difficili". In linea teorica "facile" è quel vitigno che, oltre a caratterizzarsi per una certa rusticità, tende a mantenere le proprie peculiarità pur in presenza di ampia variabilità ambientale e che non necessita, quando trasferito dall'ambiente di origine in cui si presume sussistano le condizioni ottimali di performance, di profondi adattamenti della tecnica colturale. Sempre per deduzione logica, vitigni relativamente facili potrebbero essere quelli detti anche "internazionali" o "cosmopoliti" (es. Cabernet Sauvignon o Chardonnay) che sono presenti e coltivati in tutti i principali paesi viticoli del mondo e per i quali non sembrano sussistere particolari problemi agronomici. Peraltro, è percezione comune che un vitigno come il Cabernet S. abbia caratteristiche che, rispetto ad altri, lo rendono decisamente più adattabile; tra queste una certa tolleranza alle principali malattie fungine, una buona resistenza alle minime invernali, un portamento assurgente che ne facilita la gestione anche nel caso di forme a portamento libero e, soprattutto, una scarsa sensibilità a variazioni drastiche del regime termico luminoso nella zona dei grappoli. Viceversa, il Sangiovese ad esempio, è considerato un vitigno "difficile" che, se spostato dai suoi areali di origine, può regalare, se ben gestito, grandi soddisfazioni ma anche cocenti delusioni. Il Sangiovese richiede infatti una gestione della chioma particolarmente attenta poiché la sua già non esaltante capacità di accumulare antociani può essere ulteriormente inficiata, ad esempio, da operazioni che determinano una sovraesposizione dei grappoli alla luce e quindi alle alte temperature.

Sotto questo profilo, in tema di vitigni "facili" o "difficili" il contributo che potrebbe dare la genomica è prezioso poiché avere una conferma che quanto sopra ipotizzato ha un fondamento transcrittomico sarebbe di estrema utilità per uno screening dei vitigni che, più di altri, hanno la possibilità di adattarsi ad ambienti diversi da quelli di origine e che, meno di altri, hanno necessità di cambiamenti drastici delle tecniche di gestione della chioma.

Come è noto, il successo e il gradimento di una determinata tecnica colturale, oltre alla facilità ed economicità di esecuzione (ad esempio la suscettibilità alla meccanizzazione) dipende soprattutto dalla ripetibilità degli ef-

fetti che la medesima induce al variare di ambiente e vitigno. In generale, le operazioni di gestione del vigneto che hanno particolari necessità di risultare “ripetibili” sono quelle di “potatura verde” le quali, poiché eseguite in piena fase vegetativa, sono particolarmente soggette all’influenza esercitata dal clima. Tra queste, l’operazione di defogliazione precoce (pre-fioritura) eseguita allo scopo di indurre uno stress fotosintetico temporaneo e calibrato che, come ricaduta positiva, consente di ridurre la quota di allegagione e di ottenere quindi grappoli meno compatti e meno suscettibili ai marciumi (Poni et al., 2006) rappresenta la metodologia più innovativa e di successo dell’ultima decade. Gli effetti dell’operazione (grappoli più spargoli, acini più piccoli con un rapporto buccia/polpa più favorevole, maturazione piena con mantenimento di una buona acidità) si sono rivelati particolarmente stabili anche al variare di vitigno e condizioni colturali. Il dato probabilmente è in parte prevedibile poiché questa particolare defogliazione basa i suoi effetti su un principio fisiologico molto solido secondo il quale una carenza precoce di “source” ha come effetto quasi scontato quello di limitare la percentuale di allegagione. Tuttavia, anche per questa tecnica, non mancano casi di vitigni che, a parità di modalità di applicazione della stessa, sono risultati poco reattivi (es. Ortrugo). Quello delineato è uno dei casi classici in cui la fisiologia applicata chiede aiuto alle tecniche di genomica per potere capire, studiando i meccanismi di up e down-regulation dei geni coinvolti, se la refrattarietà alla tecnica effettivamente ha una base genetica oppure se è da ricercarsi in condizioni ambientali o “endogene” (nella fattispecie individuabile nel pool di sostanze di riserva presente negli organi permanenti che, in presenza di una decurtazione drastica e improvvisa di *source* potrebbero essere mobilitate per svolgere un’azione di *buffering*).

Un secondo esempio che chiarisce secondo quali direttrici genomica e fisiologia potrebbero integrarsi è quello relativo a processi che cambiano il proprio pattern temporale in rapporto all’ambiente in cui si verificano. Un caso emblematico è quello della longevità fogliare in *Vitis vinifera* L. per la quale diversi contributi (Poni et al., 1994) tendono a collocare la massima attività fotosintetica intorno ai 40 giorni di età e, successivamente, riportano un lento ma costante declino che attribuisce alla foglia di circa 120 giorni un tasso di fotosintesi pari a circa il 50% di quello massimo. Tuttavia, quando il trend di longevità è stato studiato in climi molto più freschi (es. Valle del Reno, Germania) rispetto a quelli a cui fanno riferimento i dati sopra citati, il decremento di fotosintesi una volta varcata soglia dei 40 giorni non si è verificato e solo a fine stagione le foglie hanno mostrato segni evidenti di invecchiamento. Questo comportamento pare il frutto di un’evidente risposta

di adattamento ambientale: in una località che pone oggettivi limiti climatici all'attività fotosintetica (es. minore radiazione e sommatorie termiche) un naturale fattore di compensazione può certamente essere rappresentato da una maggiore longevità fogliare. Indubbiamente, rimane una curiosità insoddisfatta: il medesimo vitigno che, coltivato nei due ambienti, presenta questa ampia plasticità in termini di longevità fogliare mostra anche un pattern transcrittomico coerente con quanto osservato?

3. INTERAZIONI GENOTIPO-AMBIENTE: IL CONTRIBUTO DELLA GENOMICA

Il vino è la risultante di un complesso processo biologico che deriva dalla profonda interazione della vite con il suo ambiente. Il vitigno è un'entità genetica unica, generalmente rappresentata da uno o pochi individui perfettamente adattati a un territorio e moltiplicati vegetativamente per migliaia o milioni di talee, ovvero, geneticamente parlando, uno o più cloni. L'uomo ha da secoli capito che per mantenere inalterate le combinazioni genetiche tipiche di un unico individuo, bisogna evitare la ricombinazione dei caratteri e quindi la riproduzione gamica. La combinazione vite e ambiente è quindi sicuramente unica, cioè, in termini genetici, un'interazione genotipo-ambiente che esprime un particolare e unico fenotipo.

In viticoltura non si parla di ambiente ma di "terroir", termine che rivela le origini francesi del concetto. Tradotto in termini letterali, "terroir" significa territorio, suolo o terreno, sebbene i francesi attribuiscono a questo termine un più largo significato, non necessariamente legato alla sola "terra". Il concetto di terroir comprende infatti tutti quei fattori e condizioni che intervengono a caratterizzare un vino, quali il clima, l'altitudine ed esposizione, le caratteristiche geologiche del suolo e degli elementi minerali e organici che lo compongono, il drenaggio dell'acqua, ma anche le popolazioni dei lieviti "indigeni" tipici del luogo e, non da ultimo, le pratiche e la cultura enologica adottata nella produzione. Riferito al mondo del vino, *terroir* assume quindi un significato complesso, che riassume le tipicità di un territorio piuttosto ristretto - spesso un singolo vigneto - tanto da impartire ai vini caratteristiche uniche. Questo è certamente vero: due vini prodotti con la medesima uva, anche dallo stesso produttore, ma provenienti da vigneti diversi, possono essere innegabilmente diversi. In fin dei conti, se è vero che un'uva può essere "trasferita" e coltivata in ogni luogo, le caratteristiche specifiche di un luogo sono sempre uniche e non replicabili altrove.

La biologia molto recentemente ha sviluppato conoscenze che hanno con-

sentito la nascita della genomica, una branca della genetica che studia la struttura, la funzione e l'evoluzione dei genomi dei viventi. Il genoma rappresenta il potenziale di una cellula, di un individuo, di una specie, la cui manifestazione dipende dalle complesse interazioni tra le componenti genetiche e ambientali. Nel 2007 sono stati pubblicati i risultati del sequenziamento e dell'analisi dettagliata del genoma della vite (Jaillon et al., 2007; Velasco et al., 2007). Le due iniziative, una italo-francese e l'altra italo-americana, hanno decodificato rispettivamente il genoma di PN40024, un clone sperimentale non coltivato di Pinot Nero, e di ENTAV 115, clone largamente diffuso di Pinot Nero. Questi risultati, di grande valenza internazionale e motivo di orgoglio, costituiscono la base di partenza per gli studi futuri e consentiranno l'adozione di metodologie innovative di genomica applicata per sviluppare e rafforzare la viticoltura italiana del XXI secolo.

La vite è una specie dotata di una grande plasticità fenotipica, cioè un singolo genotipo è capace di esprimere fenotipi differenti in relazione ai diversi ambienti di coltivazione. Si pensi solo ad alcuni esempi molto cari alla viticoltura italiana come la varietà Sangiovese, i suoi cloni e differenti "performances" di questi nei diversi territori.

Per cominciare a definire in termini genomici la plasticità fenotipica si è studiata l'espressione genica di bacche di un singolo clone di vite della varietà Corvina in undici vigneti dell'areale viticolo Veronese -Bardolino, Valpolicella classica e Valpolicella allargata- scelti in modo tale da massimizzare la variabilità fenotipica. Le bacche, raccolte a diversi stadi di maturazione, in tre anni consecutivi 2006-2007-2008, sono state analizzate tramite l'utilizzo dei microarray di espressione. I microarray sono matrici solide di piccole dimensioni su cui sono immobilizzate tutti i geni codificanti presenti nel genoma. Tramite lettura di 12 genomi equivalenti, sono stati predetti circa 30.000 geni nel genoma di vite, il cui monitoraggio tramite appunto piattaforme microarray, permette di analizzare le variazioni di espressione genica dell'intero genoma che avvengono in un dato campione di RNA estratto dall'organo che si vuole analizzare (nel caso specifico gli acini).

Attraverso lo studio dell'espressione genica sono stati evidenziati i geni di vite responsivi all'ambiente per la varietà Corvina, clone 48, capaci molto probabilmente di influenzare la qualità finale dei frutti (Dal Santo et al., 2013). Tra questi geni alcuni regolano processi metabolici risultati estremamente sensibili ai diversi climi; è il caso di geni chiave per la produzione di composti fenolici che hanno un ruolo centrale nel definire il colore e le caratteristiche gustative del vino. Un dato molto importante ottenuto in questo lavoro è che considerando un'unica annata e valutando la diversa modulazione

di espressione genica tra 11 diverse aziende della provincia di Verona, circa il 20% di tutti i geni che si modulano durante il processo di maturazione della bacca risultano plastici. I risultati dello studio hanno anche dimostrato che le prime fasi di maturazione delle bacche sono più sensibili ai cambiamenti delle condizioni ambientali, evidenziando come l'invaiaitura sia una fase di sviluppo estremamente critica e di grande impatto sull'intero processo di maturazione rendendo la vite più esposta all'area climatica. Oltre ai geni plastici, grazie a un accurato campionamento, è stato possibile identificare anche i geni costanti, ovvero geni la cui espressione risultava invariata in tutti i vigneti e le condizioni ambientali studiate. Questi geni sono quindi da considerare come marcatori universali del processo di maturazione delle uve in campo, la loro identificazione e il loro futuro utilizzo contribuirà a meglio definire l'epoca ottimale di raccolta e conseguentemente l'elaborazione di una determinata tipologia di vino.

Altri studi sono tuttora in corso e riguardano la caratterizzazione dell'espressione genica in bacche di vitigni di Sangiovese e Cabernet Sauvignon allevati in tre diverse località italiane e in bacche di Garganega coltivata in diversi suoli dell'area di produzione del Soave nella provincia di Verona.

La sperimentazione condotta su Sangiovese e Cabernet Sauvignon, ha previsto il monitoraggio dell'espressione genica durante lo sviluppo e maturazione delle bacche dello stesso clone di entrambi i vitigni allevato con le stesse pratiche colturali in due zone toscane e una zona in Emilia Romagna per due anni consecutivi. Questo piano sperimentale permette di studiare con molta precisione l'interazione genotipo x ambiente. I risultati ottenuti, seppur ancora preliminari, suggeriscono in generale che una larga parte del trascrittoma di entrambe le varietà viene influenzata dall'ambiente di coltivazione; in particolare Sangiovese è risultata la varietà più plastica, per la quale l'ambiente di coltivazione ha un effetto molto importante sui profili di espressione genica in entrambe le annate.

Il fatto che il trascrittoma della bacca di Cabernet Sauvignon sia più stabile in funzione dell'ambiente di allevamento rispetto a Sangiovese fornisce una spiegazione a livello molecolare del fatto che Cabernet Sauvignon sia un vitigno "facile", che tende a mantenere le proprie peculiarità pur in presenza di un'ampia variabilità ambientale. Viceversa, l'elevata plasticità trascrittomica riscontrata in Sangiovese sottende al fatto che si tratta di vitigno "difficile" che richiede quindi attenzioni maggiori in termini di tecnica colturale.

I dati ottenuti da questo studio permetteranno di definire in prima istanza quei geni che, indipendentemente dal genotipo, dall'ambiente di allevamento e dall'annata, mostreranno lo stesso profilo di espressione durante lo sviluppo

e la maturazione della bacca di vite. L'individuazione di questi geni, definiti "non plastici", permetterà di approfondire le conoscenze riguardanti i meccanismi molecolari che avvengono durante il processo di maturazione della bacca di vite e permetterà di identificare i geni la cui espressione è necessaria per la regolazione delle principali vie metaboliche che si attivano o si reprimono durante la transizione tra la fase vegetativa e quella matura del frutto.

Si potranno anche definire geni genotipo-specifici, modulati solamente in Sangiovese o in Cabernet Sauvignon, geni attivati o repressi in funzione dell'annata, e infine geni che indipendentemente dal genotipo si modulano solamente in una particolare area di coltivazione.

In ultima analisi, si potranno definire i geni la cui espressione varia in funzione dell'interazione tra il genotipo e l'ambiente, geni cioè che si modulano solamente quando un determinato vitigno è allevato in una particolare area di coltivazione e in una particolare annata. Quest'ultimo gruppo di geni rappresenterà un'informazione fondamentale che permetterà in prima battuta di definire con precisione a livello molecolare le risposte fenotipiche che si osservano in quella particolare interazione genotipo x ambiente e, in un secondo momento, di poter prevedere le risposte molecolari che sottendono alla performance di un dato vitigno allevato in un dato ambiente.

Per quanto riguarda il lavoro condotto sul vitigno Garganega, la sperimentazione, per ora annuale, ha previsto il prelievo a quattro stadi di sviluppo durante la maturazione dello stesso clone allevato a pergola, da quattro aree, caratterizzate da diversi terreni e diverse altitudini. I dati fino a ora ottenuti suggeriscono che anche questo vitigno, come Sangiovese, sia molto plastico in termini di modulazione di espressione genica. Molti geni, infatti, risultano differenzialmente espressi in funzione dei diversi ambienti di allevamento e quindi in funzione della diversa composizione del suolo e altitudine. In particolare vigneti coltivati su terreni di origine vulcanica mostrano una specifica modulazione genica durante la maturazione dell'acino di geni coinvolti in particolari processi quali: il metabolismo dei lipidi, che influenza direttamente la produzione di composti aromatici, il metabolismo dei polifenoli e la risposta a stress termico. La diversa modulazione di geni di risposta al caldo è interessante in quanto potrebbe essere dovuta al fatto che i terreni vulcanici, più scuri dei terreni alluvionali, possono avere un effetto sullo stato idrico della pianta e di conseguenza sulla traspirazione dell'acino che si può di conseguenza scaldare. Questi meccanismi a loro volta potrebbero essere responsabili dello sviluppo di particolari caratteristiche finali delle bacche.

Seppur ancora in corso, questi studi offrono un'opportunità unica di esplorare come un dato genotipo risponda a un particolare ambiente in ter-

mini di espressione genica e di definire con sempre maggior precisione i geni responsabili di particolari caratteristiche di qualità delle bacche.

4. CONCLUSIONI

Poiché, come più volte ripetuto, il cambiamento climatico avrà un impatto significativo sulla viticoltura e sulla crescita del settore viticolo nel prossimo futuro, i risultati molecolari fino a ora ottenuti insieme con quelli che si andranno a definire nei prossimi anni riguardanti la precisa caratterizzazione dei processi molecolari che regolano lo sviluppo della bacca in funzione dei fattori ambientali e colturali, costituiranno una solida e necessaria base di partenza per l'identificazione delle ottimali condizioni di crescita e per l'ottenimento di varietà più tolleranti ai futuri cambiamenti climatici. In un'ottica di breve periodo, è altrettanto evidente che le tecniche di genomica, interfacciandosi con le conoscenze di fisiologia e di cinetica di maturazione, potranno tendere al traguardo agognato di potere "ragionevolmente" prevedere come un determinato vitigno potrà comportarsi se inserito in un certo ambiente o se sottoposto a determinate operazioni di manipolazione della chioma.

RIASSUNTO

Il problema classico dell'interazione genotipo x ambiente che, ove significativa, determina notevoli differenze fenotipiche per il medesimo genotipo coltivato in diversi areali di coltura è particolarmente sentito per *Vitis vinifera* L. che, oltre a caratterizzarsi per un panorama ampelografico molto ampio e variegato, è coltivata lungo tutta la penisola con un'altrettanto ampia variabilità di macro e meso-climi. Pertanto, le combinazioni genotipo x ambiente sono innumerevoli ed è estremamente arduo decifrare quale sia il peso relativo di "annata", "suolo" e "vitigno" nelle risposte osservate. In questa nota, in una prima parte dedicata a una valutazione fisiologica, forniamo esempi relativi alla variabilità esistente entro *V. vinifera* in termini di resistenza ai danni da freddo e allo stress idrico, alla possibilità di potere discriminare tra vitigni di "facile" o "difficile" gestione, alla consistenza delle risposte a una determinata tecnica di potatura verde (es. defogliazione precoce) al variare di vitigno e ambiente e, infine, all'influenza che l'ambiente può esercitare su relazioni fisiologiche di primaria importanza (es. variazione di fotosintesi su età della foglia). Un quadro così complesso ha grande necessità di interagire con le moderne tecniche di genomica applicata. Ad esempio, un primo studio effettuato su clone di Corvina allevato in ambienti diversi dimostra come sia possibile distinguere geni "plastici" da geni "costanti", questi ultimi veri e propri marcatori di maturazione poiché forieri di un'espressione che non dipende né da ambiente né da tecnica colturale. Inoltre, riscontri iniziali sembrano confermare che il Sangiovese abbia in effetti una maggiore plasticità trascrittomicca rispetto al Cabernet S. Infine, dati ottenuti su Garganega

allevata in terreni diversi mostrano una forte variabilità di espressione genica e, a questo punto, l'auspicio è quello di potere capire se gli effetti che vengono genericamente attribuiti al suolo sono "diretti" o "indiretti". In prospettiva, con fisiologia e genomica che si integrano come mai avvenuto in passato, la quantificazione del livello di consistenza e ripetibilità degli effetti promossi da determinati operazioni colturali o di gestione della chioma al variare di genotipo e ambiente sembra finalmente un traguardo raggiungibile.

ABSTRACT

The issue of the genotype x environment interaction is a special burden in Italian viticulture due to the multitude of grown varieties and clones as well as of macro and meso-climates which can be found throughout the peninsula. Therefore, the number of genotype x environment interactions is huge and it is very tough defining which fraction of phenotypic variability is explained by climate, soil and cultivar. In this review we provide examples for wide within *vinifera* variability in terms of cold and drought resistance, we hypothesize that "easy-to-grow" vs. "difficult-to-grow" genotypes do exist, we discuss consistency of effects due to a given practice (i.e. summer pruning) across different environments and genotypes and, finally, we face the issue of basic physiological relationships (i.e. leaf age vs. leaf photosynthesis) whose pattern is climate dependent.

Such a complex scenario cannot do without the assistance of genomic sciences, namely transcriptomics. A first survey carried out on a cv. Corvina clone grown in 11 different locations has shown that a number of genes having constancy of expression regardless of year and location do exist and such genes can act as precious markers for ripening traits. Likewise, transcriptional studies carried out on cvs. Sangiovese and Cabernet S. grown in different locations have confirmed that, in Sangiovese, transcriptional plasticity is much more pronounced than in Cabernet Sauvignon. Finally, a more recent survey carried out on cv. Garganega planted in different soils has shown strong differences in transcriptional patterns feeding the hope that soon the never-ending debate about soil being able to exert direct influence on grape composition will come to solution. Indeed, the challenge physiology and genomic will have to face is complex and of utmost importance: assessment of degree of repeatability of vine response to cultural practices and canopy management across variability of genotype and growing site seems now to be closer to the finishing line.

BIBLIOGRAFIA

- DAL SANTO S., TORNIELLI G.B., ZENONI S., FASOLI M., FARINA L., ANESI A., GUZZO F., DELLEDONNE M., PEZZOTTI M. (2013): *The plasticity of the grapevine berry transcriptome*, «Genome Biol.», Jun 7, 14 (6), p. 54.
- INTRIERI C., VOLPELLI P., PONI S. (1985): *Danni da freddo alla vite*, «Frutticoltura», 8, pp. 56-61.
- JONES G.V., WHITE M.A., COOPER O.R., STORCHMANN K. (2005): *Climate change and global wine quality*, «Climate Change», 73, pp. 319-343.

- LOVISOLO C., PERRONE I., CARRA A., FERRANDINO A., FLEXAS J., MEDRANO H., SCHUBERT A. (2010): *Drought-induced changes in development and function of grapevine (Vitis spp.) organs and their hydraulic and non-hydraulic interactions at the whole-plant level: a physiological and molecular update*, «Functional Plant Biology», 37, pp. 98-116.
- JAILLON O., AURY J.M., NOEL B., POLICRITI A., CLEPET C., CASAGRANDE A., CHOISNE N., AUBOURG S., VITULO N., JUBIN C., VEZZI A., LEGEAI F., HUGUENEY P., DASILVA C., HORNER D., MICA E., JUBLOT D., POULAIN J., BRUYERE C., BILLAULT A., SEGUENS B., GOUYVENOUX M., UGARTE E., CATTONARO F., ANTHOUARD V., VICO V., DEL FABRO C., ALAUX M., DI GASPERO G., DUMAS V. et al. (2007): *The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla*, «Nature», 2007, 449, pp. 463-467.
- PALLIOTTI A., SILVESTRONI O., PETOUMENU D. (2009): *Photosynthetic and photoinhibition behavior of two field-grown grapevine cultivars under multiple summer stresses*, «American Journal of Enology and Viticulture», 60, pp. 189-198.
- PONI S., INTRIERI C., SILVESTRONI O. (1994): *Interactions of leaf age, fruiting, and exogenous cytokinins in Sangiovese grapevines under non-irrigated conditions. I. Gas exchange*, «American Journal of Enology and Viticulture», 45, pp. 71-78.
- PONI S., CASALINI L., BERNIZZONI F., CIVARDI S., INTRIERI C. (2006): *Effects of early defoliation on shoot photosynthesis, yield components, and grape quality*, «American Journal of Enology and Viticulture», 57, pp. 397-407.
- PONI S., MERLI M.C., MAGNANINI E., GALBIGNANI M., BERNIZZONI F., VERCESI A., GATTI M. (2014): *An improved multichamber gas exchange system for determining whole-canopy water-use efficiency in grapevine*, «American Journal of Enology and Viticulture», 65, pp. 268-276.
- VAN LEEUWEN C., FRIANT P., CHONÉ X., TREGOAT O., KOUNDOURAS S., DUBOURDIEU D. (2004): *Influence of climate, soil, and cultivar on terroir*, «American Journal of Enology and Viticulture», 55, pp. 207-217.
- VELASCO R., ZHARKIKH A., TROGGIO M., CARTWRIGHT D.A., CESTARO A., PRUSS D., PINDO M., FITZGERALD L.M., VEZZULLI S., REID J., MALACARNE G., ILIEV D., COPPOLA G., WARDELL B., MICHELETTI D., MACALMA T., FACCI M., MITCHELL J.T., PERAZZOLLI M., ELDREDGE G., GATTO P., OYZERSKI R., MORETTO M., GUTIN N., STEFANINI M., CHEN Y., SEGALA C., DAVENPORT C., DEMATTÈ L., MRAZ A., BATTILANA J., STORMO K., COSTA F., TAO Q., SI-AMMOUR A., HARKINS T., LACKEY A., PERBOST C., TAILLON B., STELLA A., SOLOVYEV V., FAWCETT J.A., STERCK L., VANDEPOELE K., GRANDO S.M., TOPPO S., MOSER C., LANCHBURY J., BOGDEN R., SKOLNICK M., SGARAMELLA V., BHATNAGAR S.K., FONTANA P., GUTIN A., VAN DE PEER Y., SALAMINI F., VIOLA R. (2007): *A high quality draft consensus sequence of the genome of a heterozygous grapevine variety*, «PLoS One.», Dec 19, 2 (12), p. 1326.