



Fornitura di beni e componenti per l'ampliamento e il potenziamento dell'infrastruttura Phenolab del Centro Ricerche Metapontum Agrobios dell'Agenzia Lucana di Sviluppo e di Innovazione in Agricoltura

ALLEGATO 1

RELAZIONE GENERALE DELLA PIATTAFORMA PHENOLAB. CONTESTO E STATO DI FATTO

PROGETTO PHENOLAB 4.0

RNA-COR: 5864211

CUP G89J19001000003



SCENARIO DI RIFERIMENTO

L'ALSIA (Agenzia Lucana di Sviluppo e di Innovazione in Agricoltura) è un ente strumentale della Regione Basilicata per la ricerca ed il trasferimento delle innovazioni in agricoltura e nell'agroalimentare.

Istituita con Legge regionale n. 38/1996 e operativa dal 1997, è subentrata al cessato Ente di Sviluppo Agricolo in Basilicata (ESAB) nella dismissione dei beni agricoli ed extra-agricoli rivenienti dalla Riforma fondiaria. Con Legge regionale n. 29/2001 l'ALSIA è diventata una delle componenti essenziali del Sistema di Sviluppo Agricolo (SSA) regionale, anche attraverso le sue Aziende Agricole Sperimentali Dimostrative e i Servizi specialistici di supporto.

Nel 2013 ha acquisito il Centro Ricerche "Metapontum Agrobios", particolarmente attivo nel sistema agro-industriale attraverso progetti di ricerca nel campo delle biotecnologie vegetali.

L'Agenzia realizza specifiche azioni informative e formative dirette alle imprese agricole ed agroalimentari, e fornisce loro consulenza per l'ammodernamento, il potenziamento e lo sviluppo al fine di elevare la produzione, valorizzare le caratteristiche qualitative dei prodotti e contenere l'uso dei pesticidi. Eroga servizi reali e specialistici con riferimento alla tracciabilità dei prodotti, alla difesa fitosanitaria delle colture, all'ottimizzazione degli usi irrigui delle risorse idriche aziendali ed alla fertirrigazione, alla diffusione della buona pratica agricola.

L'ALSIA attua e partecipa a progetti nazionali e comunitari in materia di Plant Phenotyping. L'ALSIA rappresenta attualmente il principale nodo nazionale per lo studio del fenotipo delle piante attraverso tecnologie digitali.

LO STUDIO DEL "FENOTIPO DELLE PIANTE"

A partire dal 2008, per risolvere il collo di bottiglia dello studio del fenotipo delle piante con approcci tradizionali, diversi gruppi di ricerca a livello mondiale hanno avviato lo sviluppo di tecnologie ad elevata efficienza, mutuando importanti esperienze fatte nel settore della diagnostica umana ed animale. In particolare, si è cominciato a fare uso intenso di tecnologie di automazione connesse all'uso di sensori per l'acquisizione e l'analisi delle immagini, in modo analogo a quanto viene fatto nel campo della diagnostica per immagine in campo medico. Si sono così realizzate vere e proprie infrastrutture di ricerca, o piattaforme tecnologiche ad elevata efficienza, in grado di acquisire immagini e dati in poco tempo su un grande numero di piante. A questa nuova disciplina tecnologica è stato dato il nome di plant phenomics, termine analogo a quello della genomica e proteomica,



intendendosi come il complesso di approcci che consente lo studio non distruttivo e ad elevata efficienza del fenotipo delle piante. La plant phenomics ha un approccio multidisciplinare e multi scala, perché:

- Mette insieme tecnologie appartenenti all'ingegneria dell'automazione, elettronica, ottica, sensoristica, informatica, con discipline più proprie della biologia vegetale, quali anatomia, fisiologia, genetica, agronomia;
- Può essere applicata dallo studio del fenotipo a livello cellulare, tissutale, di singoli organi, dell'intera pianta, di più piante in una parcella o campo sperimentale.
- Può essere condotta in condizioni controllate in vaso (camera di crescita), in condizioni semi controllate (serra), in campo aperto.

PLANT PHENOMICS IN EUROPA

L'Europa ha visto per prima la nascita e lo sviluppo della plant phenomics e detiene oggi una chiara posizione di leadership. Tre nazioni in particolare, Germania, Francia e Gran Bretagna, hanno intuito per prime l'importanza del settore, elaborando programmi strategici nazionali sulle infrastrutture di ricerca che hanno consentito di mobilitare investimenti per sostenere piattaforme HTP.

In Germania nasce così il Deutsch Plant Phenotyping Network (DPPN) (http://www.dppn.de/dppn/EN/Home/home_node.html), una rete di infrastrutture di plant phenotyping che riunisce tre importanti centri di ricerca:

- Lo Juelich Forschungszentrum (http://www.fz-juelich.de/ibg/ibg-2/EN/Home/home_node.html), un importante centro di ricerca privato, specializzato negli studi dello sviluppo radicale e dei semi.
- Il Leibniz-Institut fuer Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) di Gatersleben (<http://www.ipk-gatersleben.de/en/molecular-genetics/>), concentrato sulla delucidazione dei meccanismi genetici che sono alla base dei tratti che determinano le performance delle piante coltivate.
- L'HelmoltzZentrum di Monaco (<https://www.helmholtz-muenchen.de/biop/>) che studia la risposta a stress biotici delle piante e le interazioni pianta-patogeno.

In Francia viene creata la rete Phenome, chiamata in ambito internazionale anche French Plant Phenotyping Network (FPPN; https://www.phenome-fppn.fr/phenome_eng/), che riunisce dodici di soggetti pubblici e privati. Phenome è caratterizzata da alcuni importanti nodi localizzati in sette siti. Capofila dell'iniziativa è l'INRA, il più importante Ente Nazionale di Ricerca in Agricoltura



In Gran Bretagna si costituisce lo United Kingdom Plant Phenotyping Network (UKPPN; <https://twitter.com/ukppn>) che mette insieme:

- l'Università di Aberystwyth, con la sua piattaforma HTP del National Plant Phenomics Center (<https://www.plant-phenomics.ac.uk>);
- l'Università di Nottingham, specializzata nello studio della biologia e dello sviluppo dell'apparato radicale con il suo Computer Vision Laboratory (<https://www.nottingham.ac.uk/research/groups/cvl/projects/plant-phenotyping/plant-phenotyping.aspx>);
- l'Università di Sheffield, per gli studi eco-fisiologici in camere di crescita controllate (<http://p3.sheffield.ac.uk/facilities/sir-david-read-controlled-environment-facility/>);
- Il Rothamsted Research 175, per gli studi della fisiologia delle colture e gli studi HTP in pieno campo (<https://www.rothamsted.ac.uk/field-scanalyzer>)

PLANT PHENOMICS IN ITALY

In Italia, diversamente da quanto avvenuto in altre regioni d'Europa con importanti decisioni dei governi nazionali, a partire dal 2009 si è avuta una graduale costruzione del network nazionale partendo da particolari situazioni locali, e sfruttando la capacità dei governi regionali di sostenere investimenti in Infrastrutture di Ricerca. In quegli anni, infatti, la Regione Basilicata decideva di finanziare una piattaforma tecnologica di eccellenza del Centro Ricerche Metapontum Agrobios, dal 2013 confluito nell'Agenzia Lucana di Sviluppo ed Innovazione in Agricoltura. L'investimento in infrastrutture e competenze è stato in grado, negli anni, di attirare l'interesse di importanti gruppi di ricerca nazionali e di imprese, fungendo da nucleo aggregatore per la nascita del network nazionale PhenItaly (www.phen-italy.org), che oggi raggruppa 15 partner nazionali, tra enti di ricerca, università ed organizzazioni internazionali. **ALSIA, tramite il Centro Ricerche Metapontum Agrobios, è oggi il nodo nazionale di Phen-Italy**, ed è parte dei Progetti Europei ESFRI EMPHASIS EPPN2020, AgroServ supportati dal Programma H2020. PhenItaly è coordinato da ALSIA congiuntamente al CNR, che ha insediato a Metaponto un'unità di ricerca sul phenotyping all'interno del Centro Ricerche.

STATO ATTUALE DELL'INFRASTRUTTURA PRESENTE PRESSO ALSIA - CENTRO RICERCHE METAPONTUM AGROBIOS

L'infrastruttura di Plant Phenomics attualmente disponibile in ALSIA, denominata PHENOLAB, si basa sulla piattaforma Scanalyzer 3-D System della LemnaTec GmbH, acquisita a partire dal 2009 e potenziata con successivi interventi. La piattaforma è installata presso una serra di ricerca del CRMA (Foto 1) ed occupa una superficie di circa 150mq (vedi TAV 01 planimetria allegata), sui circa 350mq totali di superficie serricola. Essa consente l'acquisizione in riflettanza e l'analisi dell'immagine nello spettro del visibile (RGB), del vicino infrarosso (NIR) e dell'ultravioletto (UV), e permette di conservare ed analizzare le immagini ed i dati acquisiti in un sistema informatico. Mediante questa tecnologia è possibile rilevare, in modo automatico attraverso approcci di computer vision, parametri morfometrici e fisiologici della pianta durante le fasi di crescita e di sviluppo, a tempi stabiliti dall'operatore. Tutte le misurazioni avvengono in modo non invasivo e non distruttivo, senza disturbare la crescita della pianta, e possono quindi essere ripetute diverse volte durante il ciclo colturale. La piattaforma dispone anche di una specifica camera di imaging NIR per l'acquisizione di immagini dello sviluppo e dell'attività dell'apparato radicale (Foto 2), attraverso l'impiego di tubi di plastica trasparenti. Il sistema di nastri consente la gestione agronomica delle piante in vaso e trasporta le piante, secondo le impostazioni date dalla sperimentazione, alle camere di imaging, dove avviene l'acquisizione delle immagini attraverso i sensori ottici

La piattaforma, denominata Scanalyzer 3-D System, prodotta dalla LemnaTec GmbH, Germania, è costituita da componenti hardware da un sistema di movimentazione automatica (Conveyor system) della lunghezza di 200 metri, con nastri trasportatori in grado di ospitare 494 carrelli mobili (car), dotati di tag RFID, nel cui interno vengono collocati i vasi con le piante. Le piante quindi vengono allevate in condizioni completamente automatizzate in quanto la piattaforma impiega un sistema per l'identificazione univoca delle piante attraverso codici a barre, codici QR ed i tag elettronici RFID presenti nei car. Si dispone di un centro elaborazione dati (CED) per la gestione, l'irrigazione automatica, la pesata del vaso, l'acquisizione, la conservazione e l'analisi dei dati.

Le scansioni avvengono in quattro camere di imaging opportunamente dedicate, ciascuna equipaggiata con sensoristica ottica sensibile in specifiche aree spettrali. Le tre camere negli spettri del NIR, UV e RGB sono posizionate sequenzialmente in testata alle file dei binari del conveyor (Foto 1 D), e acquisiscono immagini della parte aerea della pianta (chioma, fusti, foglie, frutti, fiori, etc.). E' presente anche una camera che permette di scattare immagini sulle radici nel NIR per misurare il livello idrico del suolo, permettendo di stimare parametri fisiologici molto importanti come ad esempio l'indice di assorbimento radicale. Quando le piante raggiungono il lettore RFID, posizionato



all'esterno (Foto 2 A), vengono convogliate all'interno delle camere disposte in sequenza. All'esterno ed all'interno di ogni camera è presente un sensore che al passaggio del car/pianta determina l'apertura e la chiusura delle porte, permettendo così una scansione in condizioni controllate e standardizzate di illuminazione.

Camera a Luce Visibile (RGB/VIS)

La camera a luce visibile (RGB/VIS) viene utilizzata per effettuare l'analisi morfologica e strutturale delle piante, per studiare l'architettura e per l'analisi del colore. La camera contiene un sistema di illuminazione a neon, con tipico spettro di luce visibile, che permette una illuminazione omogenea del campione (pianta) da analizzare ed è perfettamente integrato con i sensori ottici di rilevazione (telecamere) presenti nella camera.

La stazione RGB/VIS permette di rilevare le immagini attraverso 2 sensori, il primo posizionato in alto sulla verticale (TOP) ed il secondo posizionato lateralmente (SIDE). Le telecamere producono immagini ad una risoluzione fotografica di 2Mpx, adeguata agli standard RGB del 2009, anno in cui è stato effettuato il primo investimento. Le piante vengono sollevate mediante un pistone e ruotate con un motore che effettua rotazioni con angoli fino ad 1°, consentendo l'acquisizione di più immagini laterali, secondo impostazioni date dallo sperimentatore. Le camere permettono di analizzare efficacemente tipologie di piante differenti e con portamento diverso (e.g.: monocotiledoni, dicotiledoni, piante arboree, ecc.), fino ad un'altezza massima di 160 cm.

Camera a Luce Visibile con filtro UV

La camera con filtro UV serve per rilevare e analizzare la fluorescenza della clorofilla ed avere quindi informazioni sullo stato di salute dell'apparato fotosintetico negli organi verdi della pianta. La misurazione permette di determinare precocemente l'insorgenza di condizioni di stress nelle piante. Inoltre, con questa camera, c'è la possibilità di analizzare la fluorescenza di proteine fluorescenti verdi, rosse o gialle (GFP, RFP o YFP) in tessuti/organi della pianta.

La camera presenta due sensori ottici ed il sistema di rotazione con caratteristiche e geometria analoghe a quelle della camera RGB.

Camera a Luce del Vicino Infrarosso parte aerea della pianta (NIR).

La camera include la sensoristica necessaria per la stima del contenuto di acqua dei tessuti vegetali, durante la coltivazione delle piante, nell'ambito di esperimenti programmati. I due sensori presenti (TOP e SIDE) sono in grado di rilevare la lunghezza d'onda nel vicino infrarosso (900-1700 nm). Integrata con la sensoristica è presente una illuminazione a lampade ad incandescenza del tipo



alogeno. L'illuminazione è posizionata sia dall'alto che lateralmente in maniera tale da eliminare gli aloni di luce circostanti la pianta analizzata e gli effetti ombra, combinando le lunghezze d'onda rilevate.

Camera a Luce del Vicino Infrarosso per il suolo (NIR)

La camera include la sensoristica necessaria per la stima del contenuto di acqua del suolo, durante la coltivazione delle piante, nell'ambito di esperimenti programmati. I sensori sono in grado di rilevare la lunghezza d'onda nel vicino infrarosso (900-1700 nm). Integrato con la sensoristica è presente una illuminazione a lampade ad incandescenza del tipo alogeno. LA camera utilizza un setup sperimentale particolare che impiega tubi trasparenti in plexiglas, che consentono di vedere il suolo e le radici. L'illuminazione è posizionata lateralmente in maniera tale da eliminare gli aloni di luce circostanti il tubo in plexiglass e gli effetti ombra, utilizzando e combinando le lunghezze d'onda rilevate.

MODALITA' DI FUNZIONAMENTO DELLA PIATTAFORMA

La gestione delle piante e l'alimentazione delle camere di acquisizione delle immagini avvengono in maniera completamente automatizzata e programmabile; pertanto, è possibile operare su un elevato numero di piante (la potenzialità è di circa 50 piante/ora nel sistema completamente automatizzato) riducendo a zero la probabilità di errore e rimuovendo anche la soggettività dell'operatore.

La movimentazione dei car sui binari avviene mediante cinghie alimentate da motori elettrici, mentre l'apertura e chiusura delle porte e la movimentazione dei pistoni avviene mediante aria compressa. L'aria compressa utilizzata è di elevata qualità, grazie alla presenza di un sistema che produce aria anidra, non inquinata, prerogativa indispensabile per evitare contaminazioni dannose delle apparecchiature. Pertanto, il sistema di alimentazione ad aria compressa utilizzato, è fornito di un moderno compressore e di un sistema di essiccazione/filtrazione dell'aria compressa, permettendo così la separazione dell'acqua dall'aria rendendola, idonea al funzionamento dell'impianto di fenomica.

All'uscita delle camere c'è una unità di pesatura (Foto 2 B) e di irrigazione costituita da una unità tecnica dedicata composta da una bilancia di precisione che monitora il peso dei vasi in rapporto agli obiettivi impostati dallo sperimentatore e da una pompa peristaltica che irriga le piante con acqua o soluzioni fertilizzanti contenute all'interno di un serbatoio. Tale unità effettua la pesata, prima dell'irrigazione, e successivamente viene somministrata alla pianta, con estrema precisione,



la quantità di acqua necessaria a raggiungere il livello idrico stabilito dallo sperimentatore, ed il peso viene controllato nuovamente per verificare l'avvenuta irrigazione. Il sistema è automatizzato e programmabile per quantità di acqua da somministrare, data e ora di irrigazione, per ogni vaso e per l'intero esperimento. L'unità è completamente integrata nell'impianto dal punto di vista hardware e software. Questa strumentazione permette di effettuare con estrema precisione prove sperimentali che prevedono diversi livelli di irrigazione associati al differente fabbisogno evapotraspirativo delle piante.

Sia la movimentazione, che la rilevazione dei campioni in movimento nel sistema, così come le procedure di irrigazione e pesatura, sono strettamente integrate tra loro. Ogni campione che entra nel sistema all'inizio di una sperimentazione è tracciato e rintracciabile mediante il software di controllo.

Le condizioni micro-ambientali della serra (temperatura, umidità relativa, PAR della luce, CO₂) vengono monitorate in continuo mediante sensori posizionati su 9 stazioni meteo dislocate in punti fissi e georeferenziati della serra. Il sistema effettua la rilevazione e l'immagazzinamento dei dati ambientali in accordo con quanto previsto dalla certificazione delle prove sperimentali eseguite secondo gli standard MIAPPE (Minimum Information About a Plant Phenotyping Experiment; <https://www.miappe.org>).

SOFTWARE DI GESTIONE E ANALISI DEI DATI

La piattaforma è gestita mediante un sofisticato ed accurato software proprietario della Lemnatec.

Il modulo software LemnaControl controlla e monitora tutti i componenti hardware necessari come sensori ottici, l'illuminazione e la robotica di automazione. Permette di gestire in modo efficiente qualsiasi sistema della Scanalyzer. Il LemnaControl permette l'avvio rapido di esperimenti con configurazioni specifiche sui sistemi LemnaTec. Durante un esperimento, tutti i dati vengono memorizzati in un database centrale. Mediante il software LemnaControl è possibile programmare operazioni colturali in maniera ripetitiva (es. pesata ed irrigazione giornaliera). Queste operazioni possono essere programmate per un intero esperimento, con compiti ripetitivi, e/o compiti individuali come la randomizzazione della posizione del vaso nell'intero sistema. LemnaControl può essere supervisionato a distanza dall'operatore. Inoltre è possibile la visualizzazione e registrazione di tutti i processi, la diagnostica degli errori, gli avvisi, ecc.



OBIETTIVI DELL'AMPLIAMENTO E DEL POTENZIAMENTO DELL'INFRASTRUTTURA DI RICERCA

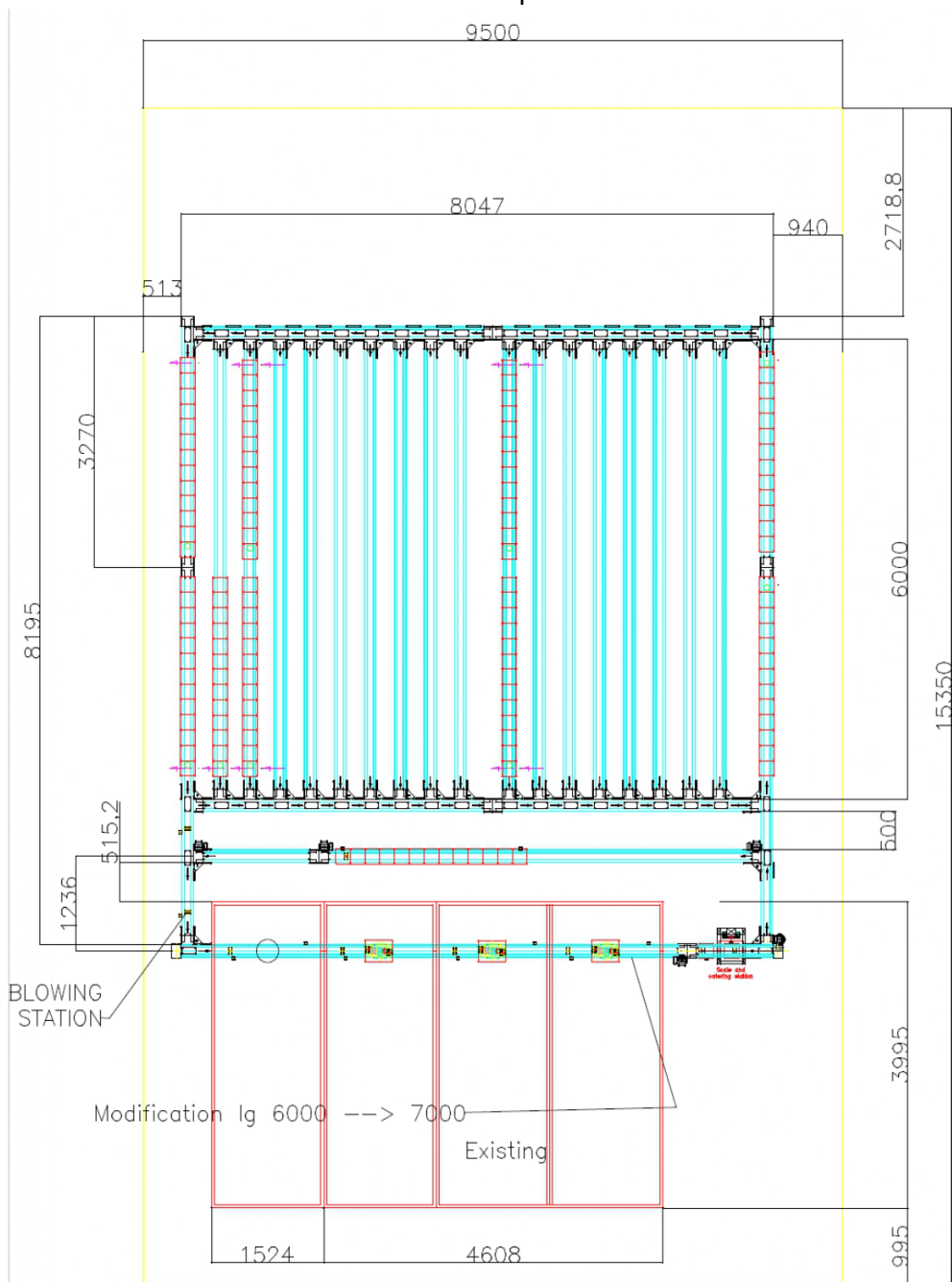
ALSA, grazie al Progetto Phenolab 4.0 finanziato con i fondi FESR 2014-2020 della Regione Basilicata, da una parte, vuole adeguare la piattaforma Scanalyzer già presente dal punto di vista tecnologico, garantendo una nuova fase operativa, e dall'altra, intende ampliare la capacità dell'Infrastruttura per studi e ricerche nel campo del phenotyping, con investimenti che puntino all'aumento della capacità e dell'automazione, attraverso la realizzazione di una nuova piattaforma da collocare in aree serricole, equipaggiata con sistemi automatici *sensor-to-plant* di rilevamento di parametri fisiologici, in grado di complementare lo Scanalyzer. Il potenziamento è stato progettato per superare gli attuali limiti tecnologici e di capacità che non consentono di rispondere efficacemente alle crescenti esigenze espresse sia dagli importanti stakeholder con cui l'Infrastruttura si è relazionata, sia da partner pubblici e privati che ha servito negli anni della sua operatività.

L'Infrastruttura è inserita in un ambito internazionale di studi e ricerche molto dinamico, ad elevato tasso di crescita ed impatto economico, caratterizzato da accentuati elementi innovativi, che mette al centro lo sviluppo e l'applicazione di tecnologie non distruttive in grado di valutare dinamicamente le caratteristiche morfologiche e fisiologiche delle piante.

Le tecnologie che si acquisiranno consentono di ampliare i tipici approcci multiscala, che fanno uso di sensori di rilevamento di immagini a varie lunghezze d'onda e sensori prossimali in grado di misurare parametri ambientali e fisiologici.

L'investimento proposto posiziona l'infrastruttura sulla frontiera tecnologica, con l'acquisizione di strumentazione, sensori, e piattaforme in linea con le iniziative che si stanno attuando nel mondo, e la caratterizzano ulteriormente con una specificità di approccio (in particolare per lo studio di stress idrici e lotta alla desertificazione) che ne fanno un punto di riferimento per l'Area del Mediterraneo.

ALLEGATI TAV 01 planimetria



tIm

08-06-2009

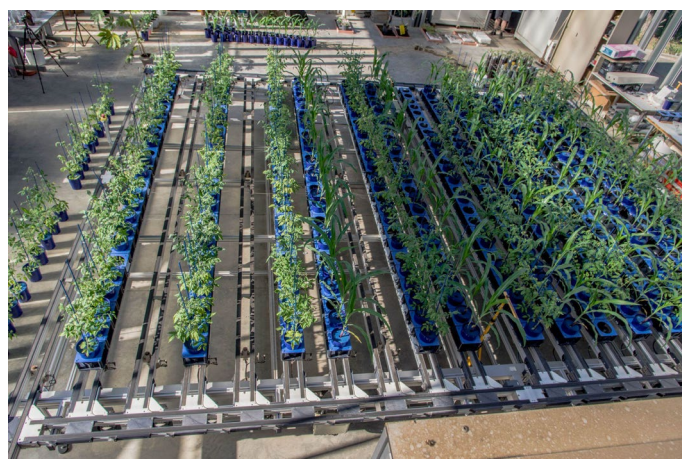
PROJECT : ITALY_09060021_B

19x26=494 Pallets

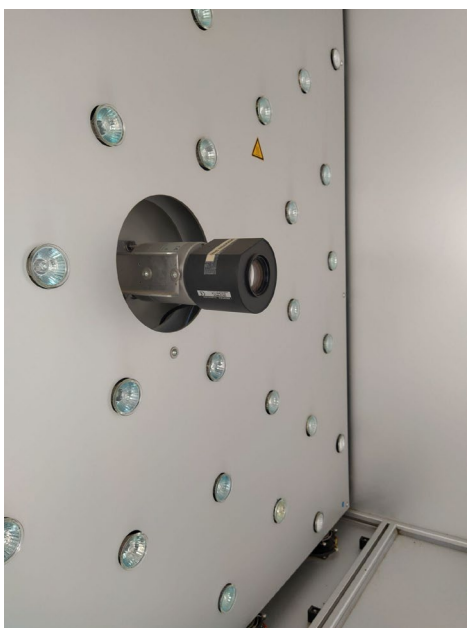
Foto 1. Rilievo fotografico: A) Panoramica della piattaforma; B) Conveyor visto dall'alto C) particolare della fotocamera del NIR; D) vista laterale delle camere in cui le piante vengono processate.



A



B



C



D

Foto 2. A) Sistema RFID posto all'ingresso delle camere di processamento delle piante. B) Sistema di irrigazione (pompa peristaltica) e pesata (bilancia di precisione). C) Vaso in plexiglass trasparente per analisi dell'apparato radicale.

