

DOCUMENTO
TECNICO**Michele Borgo**
Elisa Angelini
Riccardo Flamini*Istituto Sperimentale
per la Viticoltura
Conegliano (Treviso)*

M. Borgo

EFFETTI DEL VIRUS GLRAV-3 DELL'ACCARTOCCIAMENTO FOGLIARE SULLE PRODUZIONI DI TRE VITIGNI

E' stato studiato il comportamento delle produzioni quanti-qualitative sulle varietà Merlot, Carmenère e Cabernet sauvignon nel confronto tra piante sane ed affette da accartocciamento fogliare causato da GLRaV-3. Il virus esercita interessanti effetti depressivi sulle produzioni, variabili in funzione del vitigno ed anche dell'annata.

Introduzione

Nel corso dei secolari periodi di coltivazione della vite nel mondo si è accumulata una rilevante variabilità genetica e sanitaria nell'ambito di *Vitis vinifera*. Infatti molteplici rimescolamenti tra i materiali di moltiplicazione viticola si sono succeduti per effetto degli scambi di vitigni tra i popoli e le nazioni, allo scopo di sperimentare e di introdurre nuove varietà "miglioratrici" ma, in modo particolare, a seguito dell'uso

dei portinnesti. Il ricorso a questi ultimi si è reso necessario a partire dal XIX secolo per contrastare l'azione devastatrice della fillossera (*Daktulosphaira vitifoliae*). Da ciò la viticoltura ricevette nuovi impulsi, che portarono alla progressiva espansione delle superfici vitate ed alla diffusione di nuove varietà di vite, alcune della quali sono ora definite "internazionali", in considerazione del fatto che vengono coltivate con successo in tutte le parti del mondo ove è possibile prati-

care la viticoltura.

L'uso dei portinnesti di origine americana contribuì anche a favorire la rapida diffusione delle malattie da virus, patologie trasmissibili preminentemente tramite innesto. Alle virosi venne attribuita rilevante importanza con il passare degli anni a seguito della manifestazione di sintomi, i cui effetti ben presto vennero percepiti anche sui parametri produttivi.

Notizie riguardanti la presenza di anomalie sulle piante, definite virosi ma di



Tab. 1 - Date di invaiatura e di campionamento nei due anni di prova sulle varietà Merlot, Carmenère e Cabernet sauvignon

Varietà	Anno	Invaiatura	Date di campionamento							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Merlot	1998	02/08	14/08	21/08	28/08	03/09	10/09	-	-	-
Carmenère	1998	08/08	14/08	21/08	28/08	03/09	10/09	17/09	24/09	29/09
Cabernet sauvignon	1998	06/08	14/08	21/08	28/08	03/09	10/09	17/09	24/09	29/09
Merlot	1999	03/08	-	23/08	31/08	06/09	13/09	20/09	-	-
Carmenère	1999	04/08	-	23/08	31/08	06/09	13/09	20/09	27/09	-
Cabernet sauvignon	1999	04/08	-	23/08	31/08	06/09	13/09	20/09	27/09	-

Tab. 2 - Numero di piante sottoposte a prova nei due anni

Anno	Merlot	Carmenère	Cabernet sauvignon
1998	24	16	16
1999	20	20	20

eziologia ignota, si fanno risalire al 1575, con la comparsa di tulipani variegati. Per quanto riguarda la vite, il rinvenimento di campioni che presentavano alterazioni morfologiche e cromatiche delle foglie risale alla metà del 1800 in Sicilia e trova tracce nella collezione dell'erbario di Francesco Minà Palumbo.

Con la scoperta delle malattie virali su vite si susseguirono e progressivamente si intensificarono numerosi studi, i quali, a livello internazionale, sono serviti a mettere in evidenza gli effetti dannosi dovuti alla presenza delle virusi. In particolare due malattie hanno assunto rilevante interesse scientifico e pratico: la degenerazione infettiva e l'accartocciamento fogliare. La loro gravità venne espressamente citata nella Direttiva europea 68/193/CEE del 09.04.1968, a cui seguirono le norme nazionali sulla certificazione di qualità dei materiali di moltiplicazione viticola (DPR 24.12.1969 n° 1164 e successive modificazioni ed integrazioni). Da ciò presero impulso i lavori di selezione clonale e sanitaria, che anche in Italia hanno permesso l'iscrizione di numerosi cloni al Registro Nazionale delle Varietà della Vite.

Differenti entità virali ap-

partenenti ai closterovirus possono concorrere a formare, in maniera singola o associata, il complesso virale che caratterizza l'accartocciamento fogliare della vite, comunemente denominato Grapevine Leafroll associated Virus (GLRaV) (Martelli, 1997; Monis e Bestwick, 1997; Alkowni *et al.*, 2002). Rilevante importanza è stata attribuita ai closterovirus GLRaV-1 e GLRaV-3, identificati nei primi anni '80 (Gugerli *et al.*, 1984). Da alcuni anni sta assumendo valenza anche GLRaV-2, specialmente dal punto di vista della qualità dei materiali di moltiplicazione viticola e dal punto di vista agronomico.

GLRaV-3 è risultato il più interessante tra tutti i 9 closterovirus finora identificati. Ciò deriva sia dall'elevata incidenza di questo patogeno riscontrata nei vigneti mediante i test ELISA, eseguiti in differenti laboratori e su moltissimi campioni di vite in fase di selezione clonale-sanitaria, sia dal tipo di espressione dei sintomi, che risultano ben evidenti su tutte le varietà di *V. vinifera*. I sintomi dell'accartocciamento diventano chiaramente palesi a fine estate e presentano caratteristiche alterazioni cromatiche della lamina fogliare, con esclusione delle nervature e di aree ad esse prossime. Le tonalità di colore variano dal rosso al rosso-vinoso fino al viola per le varietà ad uva nera e dal giallo al giallo-clorotico per le varietà ad uva bianca. Molto spesso la presenza della malattia comporta un arrotolamento dei bordi fogliari, che può apparire molto pronunciato su alcuni vitigni. Ai

sintomi palesi corrispondono anche danni produttivi, segnalati in più occasioni da vari autori (Borgo, 1991; Guidoni *et al.*, 1997; Mannini *et al.*, 1997).

La gravità dell'accartocciamento fogliare deriva inoltre dalla possibilità di diffusione naturale degli agenti virali in pieno campo attraverso l'azione di insetti vettori, in particolare di pseudococcidi (Rosciglione e Gugerli, 1989; Belli *et al.*, 1993; Borgo e Michielini, 2000).

Le possibilità offerte dai metodi rapidi di controllo sanitario per identificare i diversi virus presenti su vite hanno permesso di approfondire gli studi sull'influenza dell'accartocciamento fogliare sui parametri produttivi.

Nel presente lavoro vengono presi in considerazione tre vitigni ad uva nera e vengono analizzati i rapporti tra le manifestazioni dei sintomi fogliari ed i processi di maturazione dell'uva, esaminati tramite alcuni parametri qualitativi dei mosti nel corso di due stagioni vegetative.

I materiali e i metodi utilizzati

La ricerca è stata condotta nel biennio 1998-1999 in un vigneto sperimentale formato dai vitigni Merlot, Carmenère e Cabernet sauvignon (C. sauvignon). Il vigneto era ubicato a Spresiano (Treviso) ed era stato piantato nel 1979 su terreno di medio impasto con abbondante scheletro ed un sesto di m. 3x2; la forma di allevamento era a sylvoz. Sono state messe a confronto piante appartenenti a diffe-



Tab. 3 - Risultati dei rilievi sanitari sui tre vitigni nel biennio di prova: numero di piante per classe sintomatologica per ciascun campionamento nei due anni

a. Merlot										
N. campionamento	1998					1999				
	-	+/-	+	++	+++	-	+/-	+	++	+++
1	12	6	6	0	0	10	0	10	0	0
2	12	5	7	0	0	10	0	8	2	0
3	12	3	8	1	0	10	0	6	4	0
4	12	0	11	1	0	10	0	6	1	3
5	12	0	4	8	0	10	0	0	4	6
b. Carmenère										
N. campionamento	1998					1999				
	-	+/-	+	++	+++	-	+/-	+	++	+++
1	9	4	3	0	0	10	4	6	0	0
2	9	4	3	0	0	10	0	6	4	0
3	9	1	5	0	0	10	0	1	8	1
4	8	1	5	2	0	10	0	0	3	7
5	8	0	5	3	0	10	0	0	1	9
6	8	0	2	3	3	10	0	0	0	10
7	8	0	1	4	3					
8	8	0	1	4	3					
c. Cabernet sauvignon										
N. campionamento	1998					1999				
	-	+/-	+	++	+++	-	+/-	+	++	+++
1	16	0	0	0	0	20	0	0	0	0
2	16	0	0	0	0	18	2	0	0	0
3	16	0	0	0	0	11	1	6	2	0
4	11	4	1	0	0	10	1	3	5	1
5	8	4	4	0	0	10	0	3	6	1
6	8	4	4	0	0	10	0	2	6	2
7	8	2	6	0	0					
8	8	0	2	6	0					

renti cloni e con diverso stato sanitario per accartocciamento fogliare. Le piante scelte per la prova appartenevano a cinque biotipi per ciascuno dei tre vitigni in prova; erano replicate in 3 blocchi ed innestate sui portinnesti *V. berlandieri* x *V. riparia* cv. Kober 5BB (K5BB) e 420A.

Campionamento. I campionamenti ed i rilievi sanitari sono stati effettuati a partire dalla fase intermedia della maturazione dell'uva fino alla vendemmia, ad intervalli di 7 giorni, come risulta dalla

tabella 1. Nell'ambito di ciascun biotipo coltivato sono state scelte piante vicine, ma con diverso stato sanitario (sano/infetto) per la virosi dell'accartocciamento fogliare. È stato preso in esame un congruo numero di piante, metà allevate su K5BB e metà su 420A (Tab. 2). Da tutte le piante sono stati prelevati campioni di acini (circa g. 300-400) per le analisi organolettiche sui mosti e per le analisi chimiche degli antociani sulle bucce.

Rilievi sanitari. Contem-

poraneamente ai campionamenti sono stati rilevati i sintomi fogliari da accartocciamento, la cui intensità è stata espressa nelle seguenti 5 classi sintomatologiche:

-: foglie asintomatiche, interamente verdi;

+/-: da una a qualche foglia basale con accartocciamento;

+: foglie basali con colorazione lieve;

++: foglie basali ed intermedie con colorazione di media intensità;

+++ : colorazione accentuata su quasi tutta la pianta.



Fig. 1 - Andamento delle medie biennali del contenuto di zuccheri (° Brix) nel mosto di piante sane ed infette da accartocciamento fogliare nelle tre varietà in prova

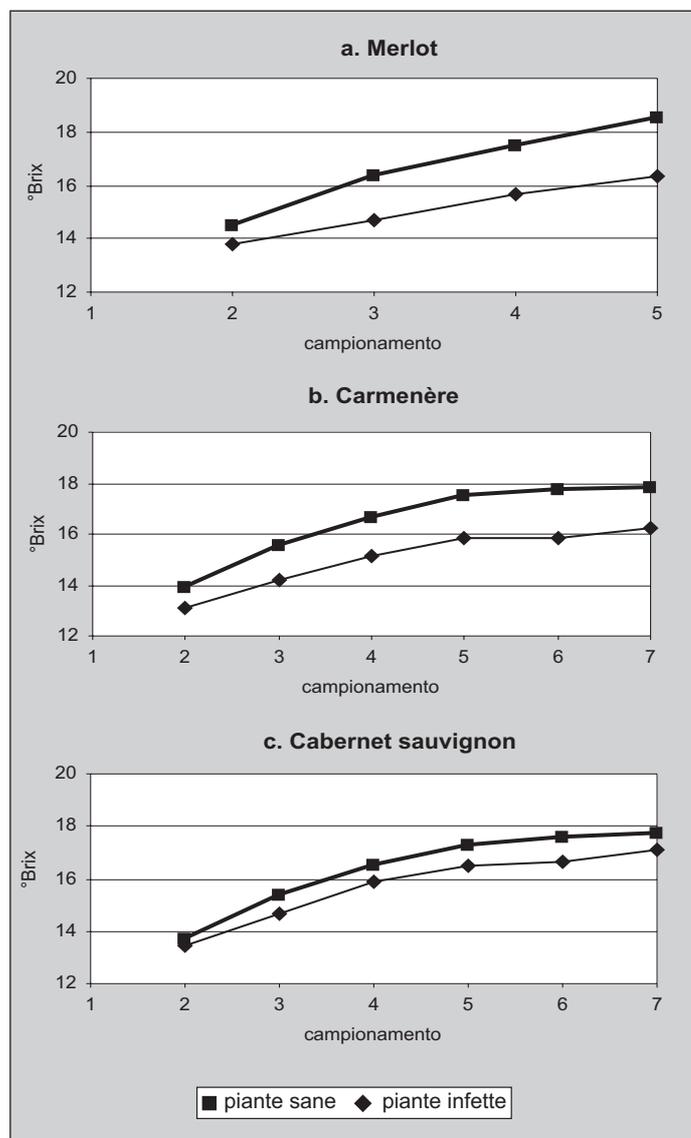
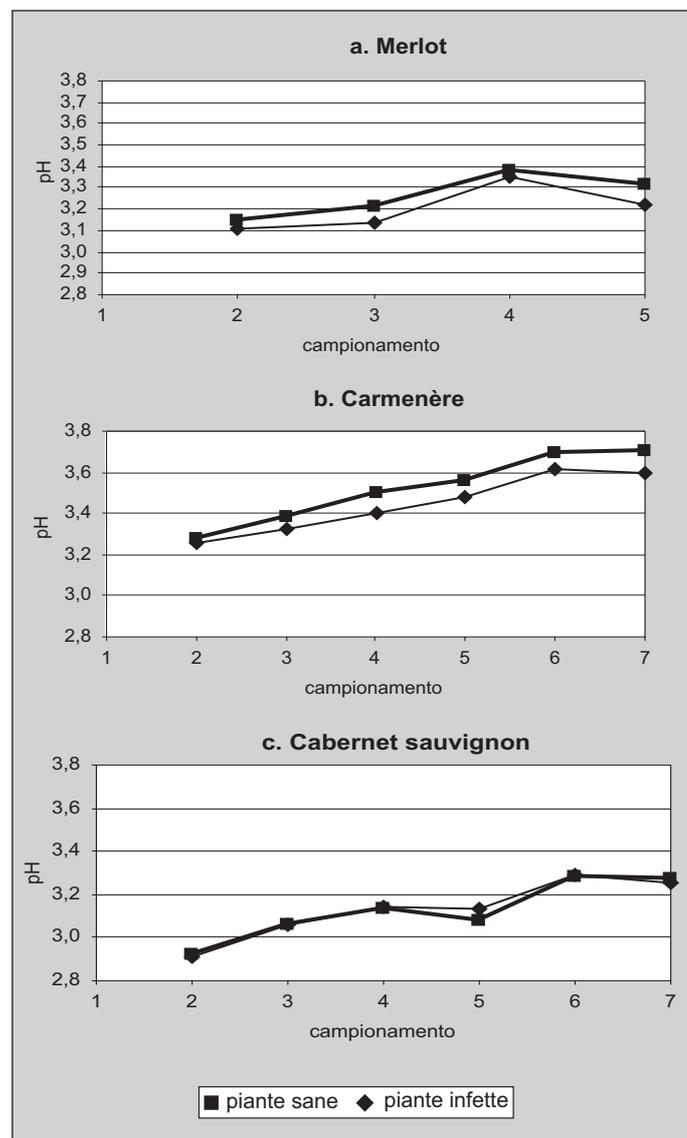


Fig. 2 - Andamento delle medie biennali del pH determinato nel mosto di piante sane ed infette da accartocciamento fogliare nelle tre varietà in prova



Parametri produttivi. I campioni di acini per gli esami organolettici sono stati ammostati, filtrati e conservati al buio fino al momento dell'analisi, con l'aggiunta di isotiocianato di allile come antifermentativo. Sono stati determinati i seguenti parametri, correlati allo stato di maturazione delle uve: zuccheri solubili (°Brix), pH, acidità totale (%), acido malico (g/l) ed acido tartarico (g/l). Le determinazioni degli acidi organici nei mosti sono state eseguite mediante analisi HPLC dei campioni diluiti 50 volte e filtrati, adottando le condizioni analitiche riportate in un precedente la-

voro (Flamini e Dalla Vedova, 1999).

Alla vendemmia, solo per l'annata 1998, si è calcolata la produzione di ogni pianta, sommando il peso dell'uva residua con quella prelevata nel corso dei campionamenti.

Analisi degli antociani. Dal materiale raccolto sono stati prelevati e pesati 100 acini rappresentativi del campione, sia per grandezza che per colore, e da questi è stato scelto un sub-campione di 20 acini. Le bucce sono state separate dalla polpa e lasciate in estrazione a 30°C per 24 ore in tampone tartarico (pH 3.2, 12% v/v di eta-

nolo, sodio metabisolfito 2 g/l), quindi congelate a -20°C fino al momento dell'analisi.

Su questi campioni sono stati determinati gli antociani totali ed il profilo antocianico. Dopo separazione dalle bucce e filtrazione, 1 ml di estratto è stato portato a 20 ml con etanolo cloridrico (etanolo/acqua/HCl 70:30:1 v/v/v) ed è stata registrata l'assorbanza alla λ massima visibile (540 nm). Il contenuto di antociani totali, espresso in mg/l di malvina (Mv), è stato calcolato mediante l'espressione:

$$[\text{antociani tot. (mg/l Mv)}] = (A_{\text{max}} \times 16.17 \times d) \quad (d = 20,$$



Fig. 3 - Andamento delle medie biennali dell'acidità totale (%) del mosto di piante sane ed infette da accartocciamento fogliare nelle tre varietà in prova

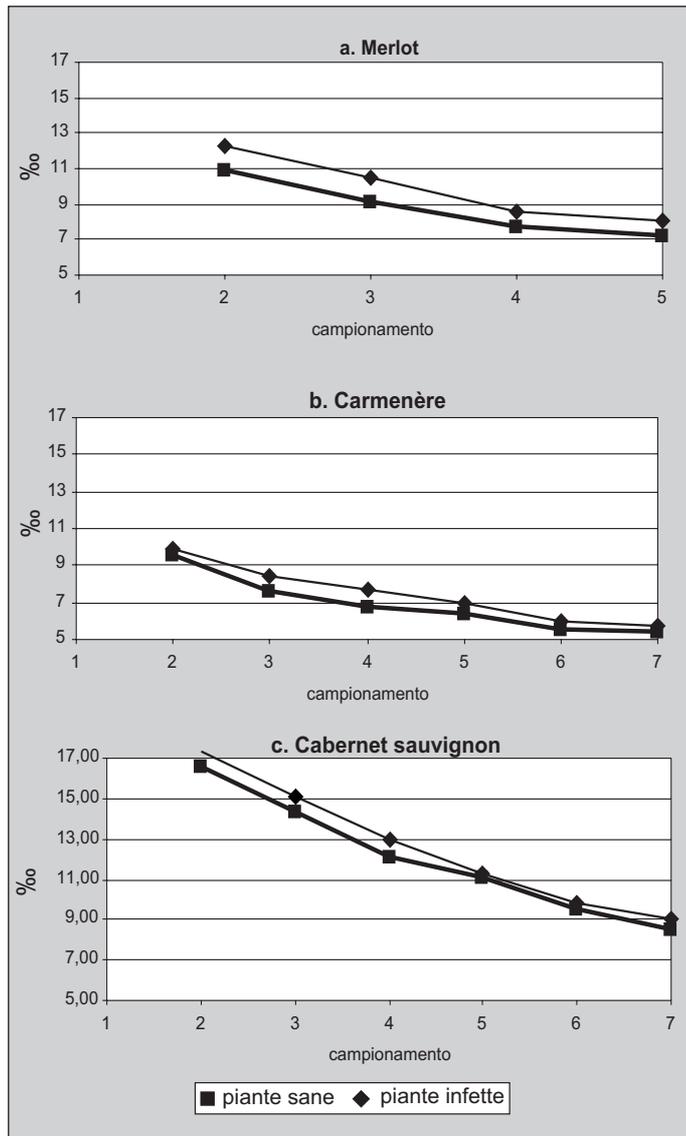
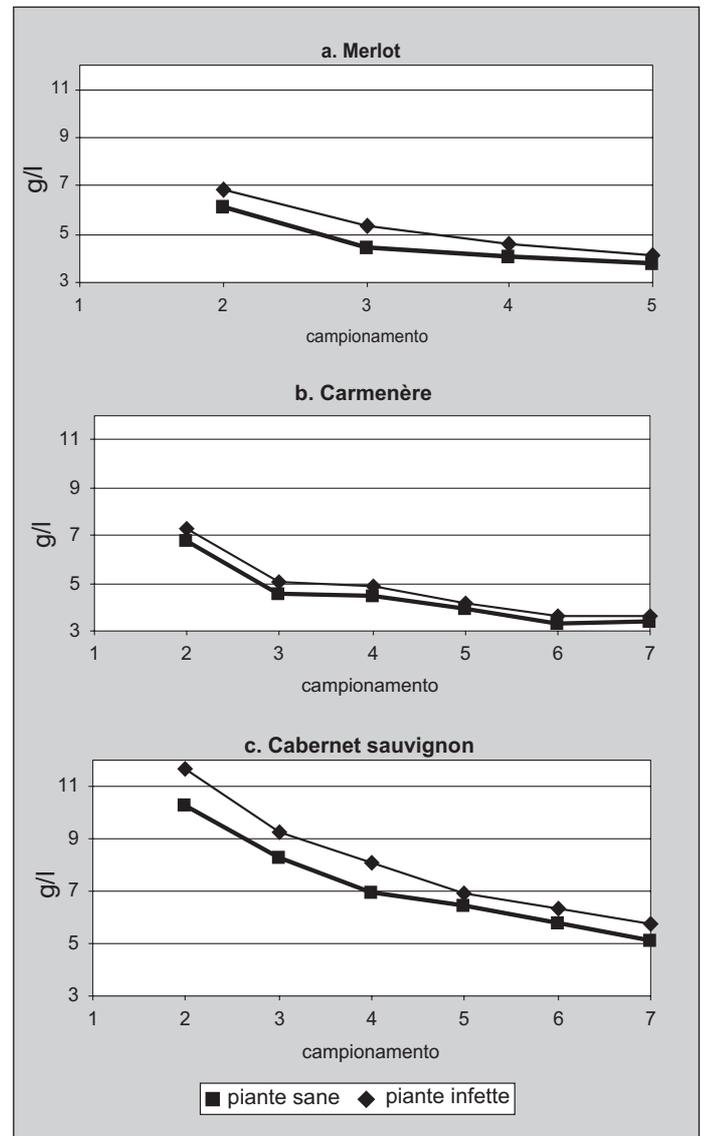


Fig. 4 - Andamento delle medie biennali del contenuto di acido malico (g/l) nel mosto di piante sane ed infette da accartocciamento fogliare nelle tre varietà in prova



numero di diluizioni) (Di Stefano *et al.*, 1991).

Il profilo antocianico, caratteristico della varietà d'uva studiata, è stato determinato mediante analisi HPLC (Flamini *et al.*, 2000). L'estratto filtrato è stato preliminarmente purificato mediante estrazione in fase solida utilizzando una cartuccia C18 Sep-Pak (Waters) 360 mg.; i singoli antociani sono stati separati mediante colonna HPLC LiChrospher RP 100 (250 mm x 4.6 mm i.d., 5 mm) ed il profilo cromatografico registrato alla lunghezza d'onda di 520 nm. Sono stati così risolti i picchi corrispondenti agli antociani

delfinina, cianina, petunina, peonina e malvina nelle forme di monoglucosidi, monoglucosidi acetati e monoglucosidi para-cumarati.

Analisi statistiche. Tutte le variabili misurate sono state sottoposte ad analisi della varianza (ANOVA) con il programma SAS SYSTEM versione 7.0. E' stata valutata l'influenza della varietà (3 variabili: Merlot, Carmenère e C. sauvignon), dell'anno (2 variabili: 1998, 1999), dello stato sanitario (2 variabili: sano, infetto), del portinnesto (2 variabili: 420A, K5BB), e del clone (5 variabili) ed anche l'effetto delle interazioni

di queste variabili fra loro.

I risultati della ricerca

Stato sanitario. I sintomi dell'accartocciamento fogliare si sono manifestati con diversa precocità ed intensità in funzione del vitigno (Tab. 3). Gli arrossamenti tipici della malattia si sono progressivamente accentuati e caratterizzati con l'avanzare della maturazione dell'uva; le alterazioni cromatiche, variabili da rosso cupo a viola, erano distribuite inizialmente a macchie fra le nervature e successivamente si sono



Tab. 4 - Valori medi e deviazioni standard (dev.st.) degli zuccheri (° Brix) nei tre vitigni nel confronto fra piante sane ed infette da accartocciamento fogliare durante i due anni di prova

N. Campionamento	1998		1999	
	Infetti media ± dev.st.	Sani media ± dev.st.	Infetti media ± dev.st.	Sani media ± dev.st.
a. Merlot				
1	11,10±1,06	11,98±1,39		
2	13,59±1,04	13,81±1,10	14,00±0,83	15,15±1,25*
3	15,01±0,84	16,51±0,58**	14,43±0,61	16,09±0,91**
4	16,65±0,82	18,06±0,76**	14,69±0,68	16,87±0,93**
5	17,10±0,64	18,50±0,81**	15,59±1,01	18,50±0,88**
6			15,00±1,10	18,14±0,54**
b. Carmenère				
1	11,52±1,66	12,88±1,22		
2	13,52±0,89	14,37±1,46	12,70±0,88	13,35±1,21
3	14,69±0,82	16,33±1,15**	13,70±0,72	14,75±0,95*
4	15,73±0,64	17,43±1,13**	14,59±0,58	15,80±1,10**
5	16,18±0,66	18,05±0,81**	15,56±1,47	16,97±1,27*
6	16,65±0,88	18,42±0,67**	15,09±0,98	17,09±1,06**
7	17,36±0,87	19,36±0,87**	15,08±1,16	16,23±0,88*
8	17,35±0,81	18,94±0,61**		
c. Cabernet sauvignon				
1	9,50±1,94	10,38±1,22		
2	13,56±1,35	13,43±1,17	13,36±0,59	13,94±0,94
3	15,43±1,01	15,93±0,92	13,91±0,55	14,74±0,66**
4	17,04±0,86	17,08±0,92	14,78±0,50	15,86±0,92**
5	17,31±0,71	17,21±0,68	15,70±0,44	17,25±0,37**
6	17,69±0,48	17,95±1,06	15,64±0,76	17,18±0,37**
7	18,21±0,39	18,62±0,94	15,97±0,53	16,86±0,63
8	17,71±0,47	18,79±0,28**		

* significatività $p < 0,05$ - ** significatività $p < 0,01$

estese a tutta la lamina fogliare.

Sulle piante infette i sintomi apparivano inizialmente localizzati sulle foglie basali; la malattia era palese su Merlot e su Carmenère già a partire dalla fase immediatamente precedente l'invaiaatura. L'intensità dei sintomi è aumentata in corrispondenza dei rilievi di fine agosto, raggiungendo il massimo di espressione, sui tre vitigni, in fase di maturazione dell'uva. Solo su C. sauvignon i sintomi sono risultati più attenuati, specialmente nel corso dei primi rilievi.

I dati, espressi nelle varie classi di intensità dei sintomi, mettono in evidenza un diverso comportamento delle piante ammalate anche in funzione dell'annata. Infatti nel 1999 le viti virosate hanno estrinsecato i sintomi

dell'accartocciamento con maggiore precocità e in forma più evidente rispetto al 1998; bisogna però tenere in considerazione che il rilievo di quell'anno era stato leggermente posticipato. Comunque la gravità dei sintomi è stata, nel complesso, più accentuata nel 1999, come si evince chiaramente dai campionamenti finali.

Parametri quali-quantitativi della produzione. I valori medi e le relative deviazioni standard dei parametri qualitativi della produzione, calcolati per ogni epoca di campionamento e rispetto allo stato sanitario per ciascun anno di prova, vengono messi a confronto tra le varietà in prova. Per gli stessi parametri sono riportate le medie del biennio ricavate per piante sane ed infette per le epoche

comuni di campionamento. L'analisi delle interazioni fra le variabili considerate e per i singoli cloni non è riportata, perché non sono mai emersi valori statisticamente differenti per alcuno dei parametri ($p > 0,05$).

Meno zuccheri e pH

Zuccheri. Esaminando i dati per ciascun anno di prova per i tre vitigni (Tab. 4), si nota che in tutte le date di rilievo i contenuti di zuccheri nelle piante sane risultano più elevati rispetto ai ceppi malati. Per le cv Merlot e Carmenère le differenze sono sempre statisticamente significative, con alcune eccezioni evidenziate nei primi campionamenti. Su C. sauvignon invece le differenze sono risultate quasi nulle nel 1998, con la sola eccezione del rilievo finale; nel 1999 invece le piante sane hanno fatto registrare valori di solidi solubili statisticamente sempre più elevati rispetto alle corrispondenti viti ammalate.

In particolare è stato osservato che le differenze tra piante infette e piante sane di Merlot e di C. sauvignon sono risultate meno accentuate nel 1998 rispetto all'anno successivo, in cui già nei primi campionamenti si potevano osservare riduzioni di circa 1,5°Brix sulle piante virosate della cv Merlot e di circa 1°Brix su quelle della cv C. sauvignon. La cv Carmenère invece ha dimostrato un comportamento più omogeneo nei due anni, essendosi verificate sempre differenze oscillanti tra 0,65 a 2°Brix, con scarti più bassi nel corso dei primi due campionamenti.

Considerando invece il biennio di prova nel suo complesso (Fig. 1), le piante colpite da accartocciamento mostrano una diminuzione media di solidi solubili variabile da almeno 1°Brix circa all'inizio della maturazione fino a circa 2°Brix in fase di maturazione dell'uva per le cv Merlot e Carmenère, mentre sulla cv C. sauvignon gli



Tab. 5 - Valori medi e deviazioni standard (dev.st.) del pH nei tre vitigni nel confronto fra piante sane ed infette da accartocciamento fogliare durante i due anni di prova

N. Campionamento	1998		1999	
	Infetti media ± dev.st.	Sani media ± dev.st.	Infetti media ± dev.st.	Sani media ± dev.st.
a. Merlot				
1	2,88±0,04	2,92±0,07*		
2	3,10±0,05	3,14±0,06	3,11±0,05	3,16±0,03*
3	3,18±0,02	3,23±0,07*	3,10±0,04	3,20±0,06**
4	3,41±0,09	3,41±0,09	3,29±0,05	3,35±0,08*
5	3,37±0,04	3,45±0,06*	3,07±0,06	3,17±0,08**
6			3,52±0,06	3,64±0,07**
b. Carmenère				
1	3,14±0,13	3,23±0,08		
2	3,35±0,08	3,39±0,11	3,16±0,06	3,17±0,07
3	3,34±0,11	3,41±0,12	3,30±0,05	3,35±0,07*
4	3,42±0,10	3,54±0,14*	3,39±0,07	3,46±0,09*
5	3,56±0,09	3,67±0,04*	3,40±0,07	3,44±0,12
6	3,60±0,07	3,66±0,11	3,63±0,05	3,73±0,10*
7	3,62±0,10	3,69±0,60	3,57±0,13	3,72±0,12*
8	3,64±0,07	3,73±0,09		
c. Cabernet sauvignon				
1	2,77±0,07	2,83±0,08		
2	3,02±0,07	3,01±0,05	2,81±0,05	2,84±0,08
3	3,07±0,05	3,06±0,05	3,04±0,06	3,06±0,06
4	3,16±0,08	3,13±0,07	3,12±0,03	3,14±0,05
5	3,28±0,22	3,15±0,07	2,99±0,13	3,00±0,10
6	3,23±0,07	3,20±0,09	3,35±0,08	3,37±0,06
7	3,24±0,06	3,24±0,03	3,26±0,08	3,30±0,09
8	3,25±0,08	3,29±0,06		

* significatività $p < 0.05$ - ** significatività $p < 0.01$

scarti medi sono apparsi molto inferiori.

Riguardo l'effetto dell'annata, la differenza fra i valori è risultata statisticamente significativa nella maggior parte dei casi, con contenuti zuccherini più alti per l'anno 1999.

pH. In generale le viti infette hanno mostrato valori di pH del mosto più bassi in entrambi gli anni di prova. Sulla cv Merlot si rileva un effetto dello stato sanitario nell'anno 1998 solo in 3 campionamenti su 5, mentre nell'anno 1999 tutti i valori di pH sono statisticamente differenti (Tab. 5a). Anche le medie nel biennio sono minori per i ceppi virosati, come già visto nei singoli anni; (Fig. 2a). La cv Carmenère ha fornito risultati molto simili, seppure con un numero

minore di differenze significative (Tab. 5b); l'andamento biennale ha comunque fatto registrare valori medi che evidenziano differenze più marcate in corrispondenza delle fasi finali di maturazione dell'uva (Fig. 2b). Nessun effetto è stato invece rilevato su C. sauvignon (Tab. 5c e Fig. 2c).

Anche per il pH l'effetto dell'anno è stato significativo in gran parte delle analisi, specialmente su Merlot. L'influenza del portinnesto è più forte e si fa sentire sia nei singoli anni che nelle medie biennali: i valori del pH risultano minori per il portinnesto 420A sui tre vitigni, con differenze quasi sempre significative su Merlot e Carmenère.

Acidità totale. I valori di questo parametro sono apparsi sempre più elevati per i

ceppi infetti nell'ambito delle tre varietà e durante i due anni di prova. Lo scarto risulta maggiore soprattutto nei primi campionamenti, mentre va riducendosi con l'avanzare della maturazione dell'uva (Tab. 6). Su Merlot la significatività è sempre alta, eccetto che nell'ultimo campionamento del 1998, i cui valori non risultano statisticamente diversi, sebbene rispecchino l'andamento degli altri campionamenti. Su Carmenère gli scarti tra piante sane e piante ammalate appaiono lievemente inferiori, come pure sono pochi i casi con differenze statisticamente significative. Su C. sauvignon invece i valori dell'acidità totale sono molto elevati rispetto agli altri due vitigni, anche se però le differenze tra sano/infetto sono lievi; infatti nel corso dei due anni solo in due casi si sono registrate differenze significative.

Anche i dati complessivi del biennio (Fig. 3) evidenziano differenze generalmente più marcate su Merlot e su Carmenère, che tendono però a diminuire con l'avanzare della maturazione; su C. sauvignon la presenza della malattia comporta solo lievi incrementi dell'acidità totale.

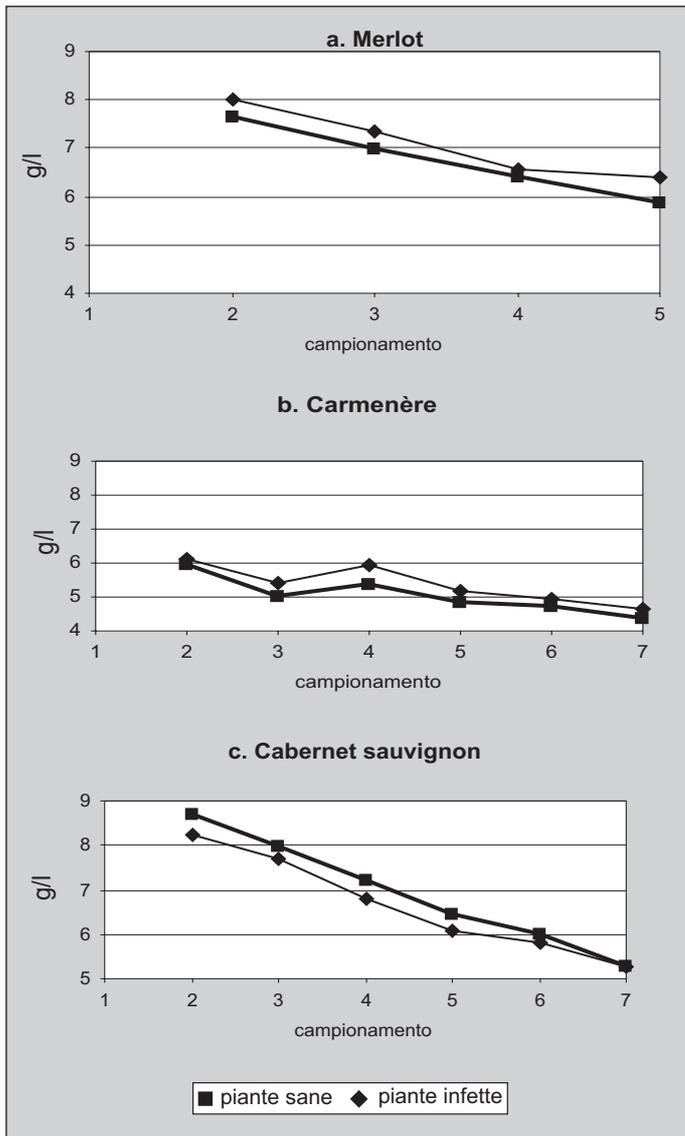
L'influenza dell'anno si è rivelata determinante, visti i valori maggiori per l'anno 1998. L'influenza del portinnesto è presente sporadicamente nelle tre varietà, con valori medi più alti su K5BB.

Aumento dell'acido malico

Acido malico. La concentrazione di acido malico si mantiene sempre più bassa nei campioni sani (Tab. 7). Su Merlot le differenze risultano più evidenti, soprattutto nell'anno 1999; su Carmenère gli scarti sono pressoché analoghi in entrambi gli anni; solo nel corso dei primi due campionamenti del primo anno di prova si sono evidenziate differenze significative tra i due gruppi di piante. Su C. sauvignon gli scarti sono alquanto ampi nei due anni esaminati, con differenze si-



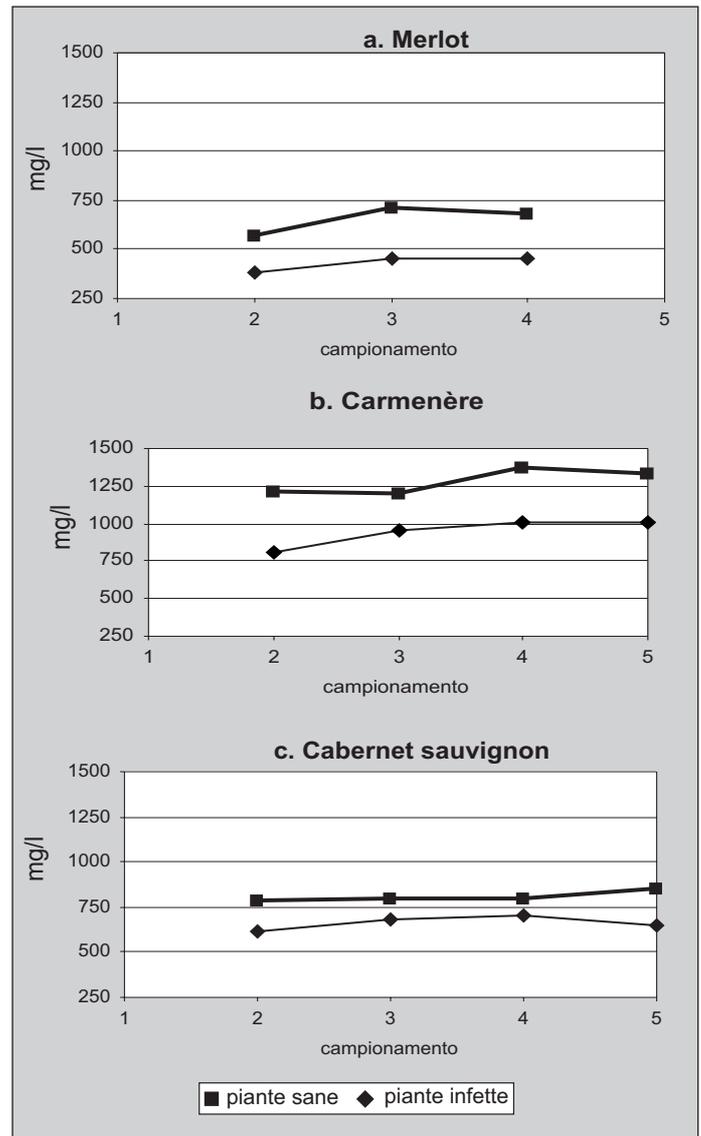
Fig. 5 - Andamento delle medie biennali del contenuto di acido tartarico (g/l) nel mosto di piante sane ed infette da accartocciamento fogliare nelle tre varietà in prova



gnificative in occasione della maggioranza dei campionamenti. I dati medi del biennio confermano tali differenze nei tre vitigni per la durata di tutta la prova, specialmente in concomitanza dei primi rilievi (Fig. 4): esse tendono a ridursi con l'avvicinarsi della maturazione. Solo su Carmenère il fenomeno appare meno evidente.

Fortemente significativi sono risultati gli effetti dell'anno per le tre varietà; l'influenza del portinnesto si estrinseca invece su C. sauvignon e su Merlot nell'analisi sia dei singoli anni che delle medie biennali. Le piante innestate su 420A mostrano

Fig. 6 - Andamento delle medie biennali del contenuto di antociani totali delle bucce (mg/l di malvina) su piante sane ed infette da accartocciamento fogliare nelle tre varietà in prova



sempre contenuti di acido malico minori, anche su Carmenère, per il quale però le differenze sono raramente significative.

Acido tartarico. I valori di acido tartarico, sebbene generalmente inferiori per i campioni sani raccolti da Merlot, non hanno mostrato differenze significative ascrivibili allo stato sanitario, tranne in casi sporadici sia nell'analisi dei singoli anni che nel biennio (Tab. 8a e Fig. 5a). Su Carmenère invece le differenze sono risultate statisticamente significative in metà dei casi per entrambi gli anni e nei valori medi del

biennio (Tab. 8b e Fig. 5b). Su C. sauvignon la situazione si inverte, in quanto i valori di acido tartarico risultano prevalentemente superiori per le piante sane e vanno diminuendo verso la fase finale della maturazione (Tab. 8c e Fig. 5c).

L'effetto anno è stato rilevato solo su Carmenère, con valori più elevati nel 1999. L'influenza del portinnesto è risultata più importante nel 1999 per Carmenère e per C. sauvignon; su Merlot invece si sono determinati valori maggiori nel caso di 420A rispetto a K5BB con differenze significative in molte analisi di entrambi gli anni.

Tab. 6 - Valori medi e deviazioni standard (dev.st.) dell'acidità totale (%) nei tre vitigni nel confronto fra piante sane ed infette da accartocciamento fogliare durante i due anni di prova

N. Campionamento	1998		1999	
	Infetti media ± dev.st.	Sani media ± dev.st.	Infetti media ± dev.st.	Sani media ± dev.st.
a. Merlot				
1	17,05±1,48	14,78±2,14**		
2	12,19±1,04	10,89±0,96**	12,36±1,67	10,89±0,62*
3	9,75±0,40	8,57±0,79**	11,21±1,11	9,65±0,65**
4	7,27±0,73	6,97±0,71**	10,00±0,62	8,51±0,85**
5	6,91±0,50	6,35±0,36	9,28±0,65	8,01±0,67**
6			6,87±0,70	5,56±0,39**
b. Carmenère				
1	11,84±3,57	9,80±1,71		
2	8,07±0,64	7,62±1,51	11,66±0,43	11,38±1,30
3	7,29±0,84	6,40±1,06*	9,54±0,88	8,81±0,96
4	6,60±0,79	5,67±1,01	8,76±0,87	7,86±0,87*
5	5,55±0,58	4,90±0,21*	8,48±0,63	7,83±1,13
6	5,36±0,31	5,01±0,65	6,55±0,65	5,88±0,72*
7	5,24±0,51	5,25±0,59	6,26±0,88	5,60±0,96
8	5,16±0,62	4,57±0,35*		
c. Cabernet sauvignon				
1	23,65±3,73	20,49±3,60		
2	15,31±1,86	15,31±1,37	19,42±2,03	17,70±1,42
3	12,74±1,71	11,94±1,21	17,50±1,44	16,68±1,16*
4	10,19±1,21	9,95±1,37	15,64±0,68	14,08±1,72
5	8,89±0,93	9,35±1,19	13,61±1,00	12,84±1,22
6	8,94±0,54	8,98±1,17	10,76±1,88	9,97±1,10
7	8,79±0,71	8,29±0,34	9,27±0,93	8,77±1,09
8	8,69±1,24	7,62±0,62*		

* significatività $p < 0.05$ - ** significatività $p < 0.01$

Antociani totali. Lo stato sanitario ha influito anche sul contenuto di antociani delle bucce, i quali si sono mantenuti sempre superiori nei campioni sani; la deviazione standard risulta in generale molto alta (Tab. 9). Le differenze, riscontrate tra i valori dei campioni raccolti da piante sane rispetto a quelli delle piante infette, risultano statisticamente importanti su Merlot in tre campionamenti fatti nel 1999, su Carmenère nel prelievo fatto nella fase finale di maturazione dell'uva di ciascun anno, mentre su C. sauvignon le differenze sono state osservate solo in due casuali momenti.

Considerando i due anni nel loro complesso le differenze si mantengono ampie, con andamento più omogeneo per la cv Merlot (Fig.

6a). L'effetto dell'anno si è evidenziato chiaramente per Merlot e Carmenère, con valori più alti di antociani totali registrati nel 1999 (Fig. 6b, c).

Profilo antocianico. Il profilo degli antociani delle bucce è stato studiato sui campioni prelevati nel 1998. I valori assoluti delle diverse componenti seguono l'andamento degli antociani totali; nessuna influenza dello stato sanitario è stata invece rilevata a carico delle quantità relative a ciascun componente, che rimangono invariate.

Produzione di uva. I valori produttivi sono stati calcolati solo per il 1998, con produzioni su Merlot di kg 13,77±4,91 per le piante malate e di kg 16,45±4,41 per le piante sane. Su Carmenère i

valori sono stati rispettivamente di kg 9,70±2,68 e di kg 12,49±4,83, mentre su C. sauvignon di kg 11,09±2,08 e di kg 14,92±3,10. Le differenze sono apparse significative solo su Merlot e su C. sauvignon.

Discussione e conclusioni

La prova di durata biennale, condotta su tre varietà ad uva rossa e considerate di rilevante interesse enologico, ha consentito di mettere in evidenza un diverso comportamento produttivo tra viti esenti ed affette da accartocciamento fogliare, in relazione all'evoluzione dei sintomi della virosi e ai processi di maturazione dell'uva.

I vitigni Merlot e Carmenère riescono ad estrarre in forma molto evidente ed accentuata i sintomi dell'accartocciamento causati da GLRaV-3, unico closterovirus risultato essere presente sulle piante ammalate e rilevato con test sierologici ELISA (Borgo e Michielini, 2000). Sul vitigno C. sauvignon, invece, i sintomi della malattia sulle piante virosate assumono una forma più attenuata.

L'intensità dei sintomi sulle foglie va aumentando con l'avanzare della stagione vegetativa e raggiunge il livello massimo di espressione durante la fase di maturazione dell'uva e della vendemmia. Essa varia però in funzione dell'annata, essendo risultata globalmente più accentuata nel 1999, annata in cui la manifestazione dei sintomi è stata più evidente anche su C. sauvignon.

Mettendo in relazione l'intensità dei sintomi con i parametri analizzati delle produzioni, è stata constatata una crescente perdita di solidi solubili nei ceppi malati. Il divario è apparso già chiaro ed evidente all'epoca del primo campionamento, anche in quello fatto nel 1998 quasi subito a ridosso dell'invaia-tura; esso si è poi accentuato con l'avanzare della maturazione dell'uva ed in corri-



Tab. 7 - Valori medi e deviazioni standard (dev.st.) dell'acido malico (g/l) nei tre vitigni nel confronto fra piante sane ed infette da accartocciamento fogliare durante i due anni di prova

N. Campionamento	1998		1999	
	Infetti media ± dev.st.	Sani media ± dev.st.	Infetti media ± dev.st.	Sani media ± dev.st.
a. Merlot				
1	10,35±1,24	7,93±1,37**		
2	6,10±0,72	5,56±0,59	7,67±1,44	6,70±0,76
3	4,46±0,43	3,78±0,49**	6,25±1,14	5,07±0,90*
4	3,90±0,44	3,63±0,56	5,32±0,64	4,34±0,78**
5	3,55±0,67	3,33±0,73	4,77±0,78	4,12±0,61*
6			3,74±0,48	3,14±0,39**
b. Carmenère				
1	8,97±3,38	6,01±1,19*		
2	5,00±0,53	4,32±0,91*	9,52±0,69	9,23±1,17
3	4,11±0,71	3,47±0,65	6,01±0,81	5,62±0,94
4	4,10±0,79	3,64±0,39	5,61±0,63	5,13±0,89
5	3,20±0,31	2,90±0,34	5,17±0,68	4,85±1,00
6	2,77±0,42	2,36±0,63	4,39±0,76	4,09±0,91
7	2,90±0,34	2,74±0,26	4,38±0,86	3,95±0,85
8	2,65±0,42	2,27±0,38		
c. Cabernet sauvignon				
1	14,92±2,28	12,21±1,81*		
2	8,99±1,09	8,10±0,72*	14,33±0,94	12,33±1,34**
3	6,82±1,47	6,09±0,91	11,62±1,50	10,43±0,83*
4	6,16±0,99	5,50±0,85	10,03±1,94	8,33±1,20*
5	5,50±0,75	5,34±0,89	8,35±1,04	7,55±0,91*
6	5,21±0,68	4,49±0,81*	7,51±1,19	6,93±0,89
7	4,94±0,62	4,21±0,35*	6,49±0,97	5,93±0,99
8	4,87±0,94	3,81±0,06*		

* significatività $p < 0.05$ - ** significatività $p < 0.01$

spondenza dell'annata con sintomi di accartocciamento più evidenti.

Riscontro inverso si è osservato sul parametro dell'acidità totale, i cui valori sono in tutti i casi superiori nei mosti ottenuti da uve raccolte da piante virosate rispetto a quelle prive di GL-RaV-3.

Non si riscontrano evidenti relazioni tra gli indici di acidità totale e di zuccheri: infatti nell'anno 1998 gli scarti dei valori di acidità tra campioni di viti sane ed infette sono apparsi elevati nei primi due campionamenti e molto attenuati nei due rilievi finali, contrapponendosi alle differenze rilevate sugli zuccheri alle stesse epoche.

Nel 1999 invece, anno in cui i sintomi sono stati più severi, le differenze tra i due

gruppi di piante si sono mantenute più stabili; su Merlot, ad esempio, i valori si differenziano di circa 1,5 g/l di acidi totali, mentre per gli zuccheri le differenze variano da 1,1 a 3,1°Brix a vantaggio delle viti sane; su Carmenère e su C. sauvignon gli scarti per gli acidi totali sono meno accentuati rispetto a quelli rilevati per gli zuccheri.

L'accumulo di zuccheri appare perciò fortemente influenzato dalla crescente comparsa della manifestazione della malattia, mentre la componente degli acidi totali non sembra variare sostanzialmente con l'intensità dei sintomi, pur rimanendo inferiore sui mosti delle piante sane.

Le tre varietà hanno comunque evidenziato differenti livelli di acidità totale,

risultati più alti su C. sauvignon, seguito da Merlot e infine da Carmenère.

Per la componente dell'acido malico valgono le considerazioni sopra esposte per l'acidità totale; anche in questo caso si evidenzia l'effetto della componente genetica, che fa mantenere valori di acido malico molto più alti su C. sauvignon. La presenza del virus sembra influire maggiormente su quest'ultimo vitigno e su Merlot; gli effetti della virosi sicuramente si erano fatti sentire sugli accumuli di acido malico ancor prima di iniziare i rilievi.

L'acido tartarico risente solo in piccola parte degli effetti della virosi. Per questo parametro i mosti ottenuti con le uve delle piante sane di C. sauvignon sono apparsi più dotati rispetto alle corrispondenti viti virosate, contrapponendosi così al comportamento registrato sugli altri due vitigni. Si è comunque registrata una serie di valori mediamente più bassi su Carmenère rispetto alle altre due varietà.

Altre ripercussioni ricadono sui valori di pH dei mosti, i quali sono superiori sui campioni provenienti dalle viti sane solo per Merlot e Carmenère, con un comportamento simile a quello registrato per gli zuccheri.

Il ruolo del vitigno

Anche il contenuto di antociani totali presenti sulle bucce dell'uva viene influenzato negativamente dalla virosi. Le riduzioni si mostrano molto evidenti nelle viti infette già a partire dai primi campionamenti, date in cui i sintomi dell'accartocciamento sono ancora parzialmente evidenti sulle foglie delle viti ammalate.

La varietà Carmenère, per la quale il contenuto medio degli antociani totali è più elevato fra i tre vitigni confrontati, risente maggiormente della presenza del virus in termini assoluti. L'accartocciamento fogliare inibisce la



Tab. 8 - Valori medi e deviazioni standard (dev.st.) dell'acido tartarico (g/l) nei tre vitigni nel confronto fra piante sane ed infette da accartocciamento fogliare durante i due anni di prova

N. Campionamento	1998		1999	
	Infetti media ± dev.st.	Sani media ± dev.st.	Infetti media ± dev.st.	Sani media ± dev.st.
a. Merlot				
1	8,18±0,93	8,57±1,05		
2	7,72±0,48	7,20±0,76	8,31±0,54	8,04±0,56
3	7,44±0,53	7,10±0,70	7,22±0,39	6,87±0,88
4	6,25±0,73	6,32±0,54	6,89±0,36	6,44±0,66
5	5,90±0,33	5,71±0,43	6,87±0,53	6,04±0,80**
6			5,01±0,27	4,77±0,40
b. Carmenère				
1	5,95±0,84	5,69±0,42		
2	5,02±0,30	4,75±0,39	7,18±0,26	7,19±0,65
3	5,22±0,31	4,70±0,33**	5,60±0,41	5,28±0,30*
4	6,09±0,52	5,40±0,64*	5,78±0,44	5,34±0,42*
5	5,05±0,39	4,66±0,13*	5,31±0,21	5,00±0,22**
6	4,99±0,19	4,72±0,32	4,91±0,34	4,72±0,23
7	4,76±0,39	4,40±0,33	4,54±0,27	4,32±0,37
8	4,85±0,28	4,55±0,22*		
c. Cabernet sauvignon				
1	9,86±1,51	8,90±1,31		
2	7,40±0,97	8,34±0,70*	9,10±0,60	9,07±0,47
3	7,42±0,66	7,70±0,43	7,95±0,36	8,19±0,31
4	6,22±0,77	6,97±0,70	7,36±0,37	7,41±0,47
5	5,34±0,61	6,21±0,81*	6,84±0,72	6,65±0,50
6	6,05±0,65	6,55±0,69	5,56±0,61	5,47±0,39
7	6,16±0,98	6,36±0,27	4,36±0,48	4,19±0,46
8	5,91±0,89	6,15±0,28		

* significatività $p < 0.05$ - ** significatività $p < 0.01$

produzione di antociani di circa il 25-30%, in accordo con quanto messo in evidenza sulla cv Periquita (Spranger-Garcia *et al.*, 1989). Il fenomeno può variare invece in relazione agli anni, comportando differenze molto evidenti sulle varietà che presentano sintomi più appariscenti, confermando, in parte, quanto emerso su Cabernet sauvignon per effetto del clima e delle tecniche agronomiche (Bertamini *et al.*, 1998). Non sembra invece che si verifichino significativi effetti a carico del profilo degli antociani delle bucce, parametri studiati solo per un anno, al contrario di quanto evidenziato sulla cv Periquita (Spranger-Garcia *et al.*, 1989).

In conclusione, la ricerca ha consentito di mettere in

evidenza che la presenza dei sintomi dell'accartocciamento fogliare della vite comporta effetti negativi sui parametri produttivi, qualitativi ed organolettici rilevati su mosti. In particolare il clostero-virus GLRaV-3, che causa una evidente manifestazione dei sintomi virali su tutte le varietà di *V. vinifera*, fenomeno che può essere rilevato in tutti gli ambienti di coltivazione viticola, induce effetti depressivi molto più accentuati su Merlot e su Carmenère, relativamente alle produzioni quantitative e ai contenuti di zuccheri, all'acidità totale, in particolare nella sua componente acido malico, al pH e agli antociani. I risultati ottenuti confermano quanto già in precedenza era stato rilevato alla vendemmia sugli stessi vitigni (Borgo,

1991) ed anche in altre ricerche condotte in differenti ambienti e su altre varietà di vite (Martins *et al.*, 1995; Guidoni *et al.*, 1997; Mannini *et al.*, 1997; Mannini, 2001). La ricerca ha evidenziato che gli effetti negativi del virus si instaurano prematuramente e perdurano per tutto il periodo di invaiatura e maturazione dell'uva. Essi rappresentano, in sostanza, la conseguenza di alterazioni fisiologiche indotte dal virus sulla pianta, che si ripercuotono sui processi di crescita e sviluppo delle bacche a seguito della colorazione, dell'arrotolamento e dell'invecchiamento delle foglie. Il tipo di vitigno e gli effetti dovuti all'annata solo in parte possono influire sui danni causati dalla presenza della virosi analizzata.

Riassunto

Sono stati studiati gli effetti del virus GLRaV-3, coinvolto nel complesso dell'accartocciamento fogliare della vite, sui principali parametri produttivi di Merlot, Carmenère e Cabernet sauvignon, comprendenti cloni diversi.

Nel biennio 1998-99, a partire dall'invaiatura fino alla vendemmia, è stato seguito l'andamento della maturazione dell'uva, effettuando prelievi di campioni di acini ad intervalli di 7 giorni, e sono stati contemporaneamente rilevati i sintomi della virosi.

Le analisi chimiche eseguite sui mosti mostrano che la virosi dell'accartocciamento fogliare è in grado di compromettere la quantità di zuccheri. Al contrario, nei ceppi virosati è stato osservato un lieve aumento dell'acidità totale, in particolare nella componente acido malico. Molto accentuate sono risultate le differenze sui contenuti in antociani totali, già nel corso dei primi campionamenti. Gli effetti della virosi si rendono evidenti fin dalle prime fasi dell'invaiatura e persistono per tutto il periodo della maturazione.



Tab. 9 - Valori medi e deviazioni standard (dev.st.) del contenuto di antociani totali delle bucce, espresso in mg/l di malvina, nei tre vitigni nel confronto fra piante sane ed infette da accartocciamento fogliare durante i due anni di prova

N. Campionamento	1998		1999	
	Infetti media ± dev.st.	Sani media ± dev.st.	Infetti media ± dev.st.	Sani media ± dev.st.
a. Merlot				
1	200,5±32,2	279,7±38,5		
2	356,2±40,0	489,5±8,2	406,0±122,5	633,8±89,8*
3	442,6±27,9	725,0±75,1	467,0±116,0	697,5±92,7*
4	353,3±12,3	576,1±7,6	549,75±136,3	768,3±124,6
5			548,25±117,2	757,0±107,5*
6			629,5±124,4	697,0±65,5
b. Carmenère				
1	454,5±94,0	720,0±178,2		
2	754,0±196,6	1174,0±141,4	862±126	1235±500
3	897,5±74,2	948,0±164,0	1001±163	1428±447
4	937,0±29,7	1125,0±9,2*	1075±165	1607±323
5	879,5±77,0	943,0±26,9	1131±216	1700±302*
c. Cabernet sauvignon				
1	312,8±139,8	564,2±107,5		
2	694,3±0,9	833,3±27,3*	530,0±78,9	725,5±113,3
3	724,0±50,8	805,2±81,7	648,2±120,9	789,7±146,6
4	680,8±148,5	691,1±171,9	719,7±148,8	884,5±102,9**
5	535,8±86,1	727,4±297,6	761,2±82,5	961,5±143,8

* significatività $p < 0.05$ - ** significatività $p < 0.01$

Summary

The effects of grapevine leafroll associated virus 3 on main characteristics of grape production of Merlot, Carmenère and Cabernet sauvignon, formed by different clones, was studied. During 1998 and 1999, the maturation trend, from the veraison to the harvest, were monitored: symptoms on the leaves were observed and berries were sampled every week.

Chemical analyses, carried out on must obtained from berry samples, confirmed that GLRaV-3 induces modifications on the main organoleptic features of the must. It was observed that sugar levels decreased, while total acid concentration increased, especially with regards to malic acid. Differences in anthocyanin content of the berry skins were higher, already in the earliest sampling. Virus effects were stronger in the first veraison stage and kept up during maturation.

Ringraziamenti. Si ringraziano Christophe Lecomte dell'INRA di Dijon per la collaborazione prestata nell'elaborazione statistica dei dati e Cristina Michielini della Sezione Biologia e Difesa dell'ISV per l'aiuto logistico.

Lavoro impostato, realizzato e redatto da M. Borgo ed E. Angelini con la collaborazione di R. Flamini per le analisi chimiche. Ricerca effettuata con il finanziamento del Mi.P.A.F. nell'ambito del progetto finalizzato "viti-vinicolo".

Bibliografia

1. Alkowni R., Rowhani A., Golino D.A., 2002. Partial nucleotide sequence and molecular sequence of a putative new grapevine leafroll associated virus. *Phytopathology*, 92 (6) suppl., S3.
2. Belli G., Fortusini A., Prati S., 1993. Natural spread of grapevine leafroll disease in a vineyard of Northern Italy. *Extended Abstracts, XI Meeting*

ICVG, Montreaux (CH), 110.

3. Bertamini M., Mattivi F., Nicolini G., 1998. L'influenza del clima e delle tecniche di gestione del vigneto sui polifenoli del vino. *L'Enotecnico*, 10, 31-42.

4. Borgo M., 1991. Influenza della virosi dell'accartocciamento fogliare della vite su alcuni parametri della produzione. *Riv. Vitic. Enol.*, 2, 21-30.

5. Borgo M., Michielini C., 2000. Diffusione naturale di accartocciamento fogliare su varietà e biotipi di *Vitis vinifera*. *Riv. Vitic. Enol.*, 4, 3-13.

6. Di Stefano R., Cravero M.C., 1991. Metodi per lo studio dei polifenoli dell'uva. *Riv. Vitic. Enol.*, 2, 37-45.

7. Flamini R., Dalla Vedova A., 1999. Estrazione in fase solida (SPE) dei principali acidi organici dai mosti d'uva e dai vini e analisi HPLC. *Riv. Vitic. Enol.*, 4, 3-13.

8. Flamini R., Tomasi D., 2000. The anthocyanin content in berries of the hybrid grape cultivars Clinton and Isabella. *Vitis*, 39, 79-81.

9. Gugerli P., Brugger J.J., Bovey R., 1984. L'enroule-

ment de la vigne: mise en évidence de particules virales et développement d'une méthode immuno-enzymatique pour le diagnostic rapide. *Rev. Suisse Arboric. Hortic.*, 16, 299-304.

10. Guidoni S., Mannini F., Ferrandino A., Argamante N., Di Stefano R., 1997. The effect of grapevine leafroll and rugose wood sanitation on agronomic performance and berry and leaf phenolic content of a Nebbiolo clone (*Vitis vinifera* L.). *Am. J. Enol. Vitic.*, 48, 438-442.

11. Mannini F., 2001. Effetti del risanamento da virus sulle attitudini di cloni di vite. *Inf. Fitopatol.*, 4, 25-30.

12. Mannini F., Guidoni S., Ferrandino A., Argamante N., Credi R., 1997. Photosynthesis and grape composition of a *Vitis vinifera* clone after virus sanitation. *Extended Abstracts, XII ICVG Meeting, Lisbon*, 155-156.

13. Martelli G.P., 1997. Plant virus taxa: properties and epidemiological characteristics. *J. Plant Pathol.*, 79, 151-171.

14. Martins A., Carneiro L.C., Ladeira J.S., 1995. Ocorrência e efeitos do vírus do enrolamento foliar da videira (GLRaV-3) sobre o rendimento e a qualidade (Occurrence and effect of leafroll virus (GLRaV-3) on yield and quality). *Actas 3º Simposio de Vitivinicultura do Alentejo*, 1, 39-48.

15. Monis J., Bestwick R.K., 1997. Serological detection of grapevines associated closterovirus in infected grapevine cultivars. *Plant Disease*, 81, 802-807.

16. Rosciglione B., Gugerli P., 1989. Transmission of grapevine leafroll disease and an associated closterovirus to healthy grapevine by the mealybug *Planococcus ficus* Signoret. *Extended Abstracts, IX ICVG Meeting, Israel*, 67-69.

17. Spranger-Garcia M.I., Ramalho P., Leandro M.C., 1989. *Ciencia Tec. Vitic.*, 8, 121-131.

18. Walter B., Martelli G.P., 1996. Sélection clonale de la vigne: sélection sanitaire et sélection pomologique. Influence des viroses et qualité. 1ère partie: Effets des viroses sur la culture de la vigne et ses produits. *Bull. OIV*, 69, 945-971.

