

NUOVE EPIDEMIE DA ACCARTOCCIAMENTO FOGLIARE DELLA VITE CAUSATO DA GLRaV-3

M. BORGO, V. FORTE, I. BAZZO

C.R.A. Istituto Sperimentale per la Viticoltura

Viale XXVIII Aprile 26, 31015 Conegliano (Treviso). E-mail: michele.borgo@entecra.it

RIASSUNTO

In un ambiente viticolo della pianura di Pordenone sono stati condotti rilievi e monitoraggi su tre vigneti per seguire l'evoluzione delle epidemie della virosi dell'accartocciamento fogliare. La presenza dell'ampelovirus 3 associato all'accartocciamento fogliare della vite (GLRaV-3) è risultata molto diffusa sulle viti di due vecchi vigneti, nei quali era stata individuata una copiosa popolazione di *Planococcus ficus*. L'epidemia si è estesa anche su un nuovo impianto effettuato con materiale esente da virus; con il passare degli anni è stata osservata una progressiva diffusione della virosi, a partire dalla zona attigua al vecchio vigneto virosato, pur non constatando una diffusa presenza di pseudococcidi. I piani di lotta insetticida, messi in atto prevalentemente per la lotta contro le cicaline, non sono stati sufficienti a contenere le infestazioni di cocciniglie.

Parole chiave: vite, virosi, accartocciamento fogliare, incidenza, cocciniglie

SUMMARY

EPIDEMIC TREND OF GRAPEVINE LEAFROLL CAUSED BY GLRaV-3

Survey work aimed to check the spreading of grapevine leafroll in vineyards was carried out in viticultural areas in the district of Pordenone. The presence of the *grapevine leafroll associated-virus 3* (GLRaV-3) was very high in two old vineyards, which were colonized by an abundant population of *Planococcus ficus*. The epidemic spread out also to a new vineyard, constituted with virus-free grapevine material. As time went on, in this new vineyard a progressive spreading of the virus disease was observed, which began from the border close to the old diseased vineyard, even if only few mealybugs were observed. The use of insecticidal products, mainly aimed to the control of leafhoppers, did not help to control the mealybug infestation.

Keywords: grapevine, virus disease, leafroll, incidence, mealybugs

INTRODUZIONE

Il mantenimento e la conservazione dell'autenticità genetica dei vitigni e l'esclusione delle virosi dannose sono requisiti fondamentali previsti dalle norme comunitarie e nazionali per la certificazione e la moltiplicazione della vite (Direttiva 68/193/CEE, Direttiva 2002/11CE, Direttiva 2005/43/CE e DM 08.02.2005). I costitutori di cloni di vite e i detentori di piante madri (PM) devono assicurare le caratteristiche genetiche e sanitarie dei materiali in loro possesso per evitare rischi di contaminazione nella filiera produttiva delle piante destinate alla commercializzazione. In tale contesto, rilevante importanza viene attribuita alla esenzione da malattie virali, in particolare dalle virosi trasmissibili mediante vettori infedati ai vigneti e che vengono identificati in alcune specie di nematodi e di cocciniglie. Molto spesso viene infatti constatata una certa difficoltà a mantenere invariati i requisiti di sanità, che erano stati individuati sulle piante capostipiti mediante test di laboratorio e saggi biologici. Nuove e continue contaminazioni dalla virosi dell'accartocciamento fogliare (*Grapevine leafroll virus*) si possono riscontrare su piantonai di PM e, in maniera più ampia, su vigneti in produzione. Questa fitopatia viene considerata una delle principali malattie virali della vite sia per l'ampia

diffusione a livello mondiale, specialmente nei tempi che precedevano i lavori di selezione clonale, sia per la sua associazione a numerose entità virali appartenenti alla famiglia *Closteroviridae*.

Nel corso degli anni è stato messo in evidenza il ruolo delle cocciniglie, tra le quali rivestono maggiore importanza pratica i Pseudococcidi (*Planococcus ficus*, *Pseudococcus lungispinus*) e i Coccidi (*Pulvinaria vitis*, *Neopulvinaria innumerabilis*, *Parthenolecanium corni*) quali vettori di virus associati all'accartocciamento (Roscioglione e Gugerli, 1989; Belli *et al.* 1994; Borgo e Michielini, 2000; Gugerli, 2003).

Il fenomeno collegato alla diffusione naturale dei virus è apparso in continua espansione. Numerose sono ormai le segnalazioni di nuove infezioni da accartocciamento fogliare su vigneti costituiti, in tempi recenti, con materiale clonale e certificato anche per l'assenza di questa virosi. I danni più gravi sono imputabili alle infezioni dovute al virus 3 associato all'accartocciamento fogliare della vite (GLRaV-3), entità virale che viene considerata la più diffusa ed interessante tra gli ampelovirus finora identificati. La sua dannosità viene imputata alla manifestazione di sintomi, che sono molto evidenti su tutte le varietà di vite, alle influenze negative sui parametri della produzione (Borgo, 1991; Guidoni *et al.*, 1997; Borgo *et al.*, 2003) e, non da ultimo, alla esclusione dalla certificazione viticola per alcuni impianti di PM.

Nel presente lavoro viene analizzata la situazione epidemica riguardante la progressiva contaminazione da accartocciamento fogliare, osservata su tre vigneti.

MATERIALI E METODI

A partire dalla stagione vegetativa 2003 sono stati ispezionati alcuni vigneti, nei quali in precedenza era stata constatata una continua diffusione della manifestazione dei sintomi imputabili all'accartocciamento fogliare. Gli impianti oggetto dell'indagine sono stati inizialmente monitorati per l'esame dello stato sanitario delle viti mediante controlli visivi. Campioni di foglie e/o di tralcio sono stati raccolti da piante sintomatiche ed anche da piante asintomatiche; essi sono stati poi sottoposti a test sierologici immunoenzimatici con metodo ELISA per l'identificazione delle entità virali, adottando la metodologia comunemente in uso per questo tipo di saggio.

L'indagine è stata eseguita su tre impianti, scelti in comune di S. Giorgio della Richinvelda (PN) e coltivati su terreno di tipo alluvionale, con variazione della granulometria su ampie fasce del vigneto e che a tratti presentava abbondante scheletro grossolano.

In un primo momento sono stati individuati due impianti attigui così costituiti:

- vecchio vigneto di materiale "standard" (VV-S), piantato all'inizio degli anni 1980 con le varietà Carmenère, Cabernet Sauvignon, Pinot bianco e Sauvignon; negli ultimi anni erano stati effettuati due trattamenti insetticidi per anno, finalizzati al controllo delle cicaline;

- nuovo vigneto, posto trasversalmente al primo impianto e costituito nella primavera 2001 con materiale "certificato" (NV-C), esente da virus, della cv Merlot / SO4 (primi tre filari adiacenti alla strada-capezzagna, compresa tra i due vigneti) e della cv Refosco / SO4 (altri tre filari, confinanti ad Est con un terreno coltivato a mais). A partire dal secondo anno di coltivazione la difesa insetticida venne effettuata con ripetuti interventi estivi a base di deltamethrin, allo scopo di contenere le infestazioni di cicaline.

L'indagine venne poi estesa ad un vigneto di collezione costituito con differenti varietà e cloni. Il vigneto era stato piantato alla fine degli anni ottanta; in tutti gli anni erano stati effettuati ripetuti trattamenti insetticidi contro cicaline e cocciniglie; in media vennero eseguiti circa 7 interventi per anno, alternando differenti molecole a base di deltamethrin, flufenoxuron, quinalphos, methyl parathion (da solo e/o in miscela con olio minerale) e, negli ultimi anni, chlorpyrifos methyl.

Nei mesi di gennaio e febbraio 2004 venne effettuato uno studio faunistico negli stessi vigneti allo scopo di ricercare la presenza di cocciniglie. L'indagine venne condotta ispezionando il tronco e i tralci di varie viti, scelte a campione lungo i filari e tra quelle che, in precedenza, erano state sottoposte a test di laboratorio per gli accertamenti virali. Oltre al controllo diretto di campo tramite ispezioni di settori anulari di 15-20 cm e con sollevamento del ritidoma in corrispondenza della piega del tronco e della parte basale, mediana e distale, erano stati raccolti 112 campioni di ritidoma e corteccia, conservati in piastre Petri ed a temperatura ambiente, in attesa di un successivo riconoscimento delle specie presenti.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Epidemie da accartocciamento fogliare.

I rilievi effettuati a fine estate del 2003 sul vecchio vigneto commerciale VV-S hanno portato ad evidenziare che tutte le viti della cv Carmenère erano affette dalla virosi. I test ELISA eseguiti su 11 campioni, prelevati a caso da altrettante viti ammalate e in varie punti del campo, hanno dato esito positivo solo per GLRaV-3, escludendo la presenza dei virus 1 e 2 associati all'accartocciamento fogliare della vite (GLRaV-1 e GLRaV-2). Sulle altre varietà dello stesso appezzamento la presenza di piante sintomatiche appariva sporadica, confermando comunque infezioni da GLRaV-3 ai test sierologici.

La situazione sanitaria del vigneto giovane NV-C appariva invece molto più interessante, in considerazione che, trattandosi di un nuovo vigneto piantato con barbatelle di categoria "certificato", sintomi di rossore, accompagnati da arrotolamento del lembo, erano palesi su alcune viti della cv Merlot già a partire dal secondo anno vegetativo. Le indagini sono state estese per tre annate consecutive, consentendo di monitorare l'evoluzione della virosi e di quantificare l'incidenza e la distribuzione delle viti ammalate con il passare degli anni. I test sierologici, fatti su 26 piante sintomatiche della cv Merlot e su 16 piante della cv Refosco, hanno dato esito positivo solo per GLRaV-3. I test eseguiti su campioni di tralci prelevati da viti asintomatiche hanno dato esiti sempre negativi.

Nel corso degli anni la malattia è risultata in progressiva espansione su entrambi i vitigni esaminati, anche se l'epidemia appariva più grave sulla cv Merlot (figura 1). Il maggiore incremento di piante che si sono infettate è stato registrato nel 2004, mentre nelle altre due annate la crescita del numero di nuove viti sintomatiche è risultata più contenuta. L'esame particolareggiato dei dati del monitoraggio, eseguito sull'intero appezzamento, ha portato ad evidenziare una diversa distribuzione spaziale della malattia. È stato possibile constatare una maggiore concentrazione di piante virosate in corrispondenza dei primi due filari posti nelle più prossime vicinanze al vecchio vigneto, messo ortogonalmente alla cv Carmenère (tabella 1). I dati dei rilievi per singolo anno confermano la continua crescita del numero di piante ammalate su entrambi le cultivar; risulta inoltre molto bene evidente il progressivo decremento dell'incidenza della virosi mano a mano che ci si allontana dal primo filare.

È stato inoltre possibile accertare una diversa concentrazione delle piante sintomatiche lungo i filari (tabella 2). Suddividendo ciascun filare a gruppi di 20 piante (con esclusione delle viti poste verso la testata a Nord e che era poco colpita) è stata notata una maggiore concentrazione di viti virosate in corrispondenza alla zona di proiezione del vigneto di Carmenère. Infatti, al terzo anno di rilievo, l'incidenza della malattia è risultata molto elevata tra la quarantesima e la centoventesima posizione, contando fino a 75% di viti con sintomi di accartocciamento fogliare. Va comunque segnalato che, in corrispondenza di tale sito del campo, il terreno appariva più ricco di scheletro grossolano rispetto alla restante parte dell'appezzamento.

Figura 1- Andamento delle epidemie di accartocciamento fogliare (% di viti ammalate) sul vigneto clonale NV-C nei tre anni

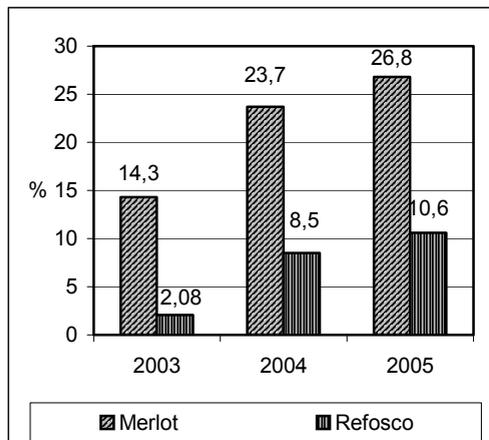


Tabella 1- Percentuale di piante con sintomi di accartocciamento fogliare nei tre anni e nei filari ispezionati del vigneto NV-C

Varietà	Fila	2003	2004	2005
Merlot	1	20,5	30,0	33,0
	2	14,4	21,8	24,5
	3	7,2	19,4	22,8
Refosco	1	5,2	12,6	14,6
	2	1,0	3,9	5,7
	3	0,0	6,8	11,4

Tabella 2- Esame della distribuzione dell'accartocciamento fogliare rilevata nel 2005 lungo i filari di ciascuna varietà: % di viti sintomatiche

Gruppo di viti	% viti infette cv Merlot			% viti infette cv Refosco		
	fil.1	fil.2	fil.3	fil.4	fil.5	fil.6
1-20	10,0	10,0	NV	0	5,0	15,0
21-40	45,0	15,0	25,0	20,0	20,0	20,0
41-60	45,0	40,0	40,0	20,0	5,0	5,0
61-80	75,0	40,0	45,0	40,0	30,0	35,0
81-100	75,0	55,0	30,0	35,0	10,0	15,0
101-120	50,0	35,0	35,0	10,0	5,0	25,0
121-200	8,7	12,5	7,5	12,5	1,2	1,0

Una terza indagine sanitaria venne condotta su un impianto di circa 15 anni, costituito con cloni appartenenti a differenti varietà. A seguito di un progressivo incremento di piante colpite da accartocciamento fogliare e della constatazione di numerose viti attaccate da cocciniglie, nel 2004 vennero effettuati test ELISA su tralci prelevati a campione da viti appartenenti alle cv Carmenère, Cabernet Sauvignon e Cabernet franc e che al momento dell'impianto erano esenti da GLRaV-1 e da GLRaV-3. Il saggio sierologico, fatto su 47 campioni, 31 dei quali prelevati da piante che mostravano i sintomi della malattia, ha portato ad evidenziare 28 viti affette da GLRaV-3 e 13 da GLRaV-1, presenti in forma singola o mista. Anche in questo caso la distribuzione delle piante virosate risultava più accentuata su parti ben circoscritte dell'appezzamento in esame e caratterizzate da terreno molto ghiaioso. La presenza di

GLRaV-2 è stata diagnosticata su 17 viti, di cui 14 appartenenti ai cloni francesi di Cabernet franc e Cabernet Sauvignon ed altre tre sparse nel campo su altrettanti vitigni in collezione.

Indagine faunistica.

Al rilievo effettuato nell'inverno 2004 una massiccia presenza di cocciniglie, distribuite lungo il tronco ed anche sui capi a frutto più giovani, era stata constatata su quasi tutte le piante ispezionate nel vigneto con viti di categoria standard (VV-S). La popolazione era costituita da *P. ficus*, *P. corni* e da *N. innumerabilis*. Mentre *P. ficus* era presente su tutti i ceppi ispezionati, *P. corni* era più concentrato su viti presenti in un angolo del vigneto e *N. innumerabilis* era presente solo su poche piante.

Le ispezioni eseguite nel vigneto giovane NV-C, dopo aver pulito il giovane tronco, hanno evidenziato la presenza di cocciniglie solo su uno dei 42 ceppi controllati. Al rilievo effettuato invece a fine estate del 2004, varie viti risultavano colpite da cocciniglie appartenenti alle famiglie sopra riportate.

Nel vigneto di collezione varietale e clonale sono stati ispezionati 141 ceppi, gran parte dei quali sono risultati infestati da *P. ficus*, annidato nella parte superiore del fusto e, in alcuni casi, anche in corrispondenza del portinnesto; i tralci di un anno non risultavano comunque colpiti da cocciniglie. Queste sono state invece individuate anche sotto i residui della paraffina, conservata su alcune viti rimesse da pochi anni. È stato inoltre osservato che la densità degli insetti risultava maggiore sui ceppi piantati in corrispondenza del terreno più ghiaioso.

L'esame delle relazioni tra piani di difesa insetticida e dinamica delle popolazioni di cocciniglie è risultata poco chiara in tutti i casi. Infatti nel vigneto di collezione varietale le cocciniglie continuavano ad essere presenti nonostante in tutti gli anni fossero stati eseguiti ripetuti trattamenti con insetticidi specifici. Ciò sta a dimostrare che gli interventi estivi con insetticidi non erano stati in grado di raggiungere i siti di insediamento delle neanidi e degli adulti lungo il tronco. Analoga considerazione può essere fatta anche per la situazione del vigneto trattato solo con deltamethrin, anche se questo prodotto non risulta idoneo all'impiego contro le cocciniglie.

CONCLUSIONI

La diffusione naturale su vite dei virus responsabili dell'accartocciamento fogliare è una inconfutabile realtà, che può essere osservata in vigneti già a partire dai primi anni d'impianto. Le epidemie più frequenti e più gravi riguardano GLRaV-3, che risulta essere il più diffuso ampelovirus in tutti gli ambienti viticoli e che, proprio per questa sua peculiarità, può essere causa di insorgenza di nuove infezioni anche su vigneti di PM e, ancor più, su quelli commerciali. La presenza di piante, anche se in numero ridotto, affette da accartocciamento fogliare su vigneti costituiti con materiale certificato, categoria che dovrebbe quindi prevedere l'esclusione delle virosi più dannose, può rappresentare un rischio grave per nuove contaminazioni. Tale rischio non può essere considerato remoto, qualora negli stessi impianti venga constatata anche la presenza delle cocciniglie in grado di trasmettere closterovirus.

Tuttavia, risulta ancora difficile definire le cause di gravi e pericolose epidemie virali nel caso in cui la presenza di pseudococcidi e di coccidi risulti poco evidente, tale da apparire a volte assente. Già in precedenti lavori non era stato possibile mettere in relazione la diffusione di GLRaV-3 con la sporadica presenza di *P. ficus* (Borgo e Michielini, 2000). Sono ben note infatti le difficoltà di eseguire le ispezioni faunistiche sui tronchi delle viti a causa della capacità dei pseudococcidi di annidarsi in punti molto protetti. Questo tipo di comportamento rende altresì difficoltosa la riuscita dei trattamenti insetticidi di fine inverno. Per la lotta

possono comunque apparire più efficaci gli interventi insetticidi eseguiti nel periodo primaverile ed estivo, epoca in cui le neanidi, spostandosi sugli organi erbacei della vite, richiedono una perfetta e regolare bagnatura non solo della vegetazione, ma anche delle parti più protette del tronco, delle branche e dei grappoli.

A conferma di quanto constatato nel presente lavoro, si sottolinea, inoltre, che le cocciniglie si avvantaggiano di particolari condizioni ambientali: nelle aree viticole del Settentrione la presenza di suoli con abbondante scheletro, più asciutti e conseguentemente più caldi, porta a favorire le infestazioni di alcuni pseudococcidi sulle viti, analogamente a quanto messo in luce in prove di termoregolazione estiva mediante acqua in vigneti della pianura trevigiana (Duso *et al.*, 1985; Borgo, dati non pubblicati).

In conclusione, per evitare e ridurre i rischi connessi alla diffusione dell'accartocciamento fogliare su vite, bisogna escludere quanto più possibile la presenza di piante ammalate fin dal sorgere del vigneto e tenere sotto controllo le infestazioni delle cocciniglie, mettendo in atto razionali piani di lotta con prodotti e con sistemi di intervento in grado di esplicare elevata efficacia. La difesa e la sorveglianza fitosanitaria devono essere particolarmente incentrate su strutture e su vigneti che ospitano PM, attuando tempestivamente l'eliminazione delle piante ammalate e controllando periodicamente lo stato sanitario dei materiali di propagazione, in ottemperanza a quanto previsto dalle attuali norme che regolamentano la certificazione della vite (Direttiva 2005/43/CE).

LAVORI CITATI

- Belli G., Fortusini A., Casati P., Belli L., Bianco P.A., Prati S., 1994. Transmission of a grapevine leafroll-associated closterovirus by the scale insect *Pulvinaria vitis*. *Rivista di Patologia Vegetale*, S. V., (4), 105-108.
- Borgo M., 1991. Influenza delle virosi dell'accartocciamento fogliare della vite su alcuni parametri della produzione. *Riv. Vitic. Enol.*, XLIV, (2), 21-30.
- Borgo M., Michielini C., 2000. Diffusione naturale di accartocciamento fogliare su varietà e biotipi di *Vitis vinifera*. *Riv. Vitic. Enol.* LIII, (4), 3-13.
- Borgo M., Angelini E., Flamini R., 2003. Effetti del virus GLRaV-3 dell'accartocciamento fogliare sulle produzioni di tre vitigni. *L'Enologo*, XXXIX, (3), 99-110.
- Duso C., Trentin R., Borgo M., Egger E., 1985. Influenza della termoregolazione estiva mediante acqua sulle popolazioni di *Planococcus ficus* Sign. su vite. *Riv. Vitic. Enol.* XXXVIII, (12), 597-607.
- 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.
- Gugerli P., 2003. Grapevine leafroll and related viruses. *Extended Abstracts 14th ICVG Conference, Locorotondo (BA)*, 25-31.
- Rosciglione B., Gugerli P., 1989. Transmission of grapevine leafroll disease and an associated closterovirus to healthy grapevine by the mealybugs *Planococcus ficus* Signoret. *Proc. 9th Meeting ICVG, Kiryat Anavim, Israel*, 67-69.