

I. N. R. A. Publ. 72-4

**IV<sup>e</sup> RÉUNION DU GROUPE INTERNATIONAL  
D'ÉTUDE DES VIRUS ET DES MALADIES A VIRUS  
DE LA VIGNE**

---

**Compte rendu du Colloque Scientifique**

*Colmar, 16-18 juin 1970*

**1972**

**INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE**

149, rue de Grenelle, 75 - Paris - 7<sup>e</sup>



## LISTE DES PARTICIPANTS

- ABRACHEVA P. (M<sup>me</sup>) Institute Lozarstvo i Vinarstvo - *Pleven* - (Bulgarie).
- BALDACCIO E. Istituto di patologia vegetale, Via Celoria 2 - 20.133 *Milano* - (Italia).
- BELLI G. Laboratorio Virus e Biosintesi Vegetali - Istituto di patologia vegetale, Via Celoria 2 - 20.133 *Milano* - (Italia).
- BERCKS R. Biologische Bundesanstalt für Land - und Forstwirtschaft - Institut für Viroserologie, Messeweg 11-12 - 33 - *Braunschweig* - (Germany).
- BERCKS R. (M<sup>me</sup>).
- BOUBALS D. Station de Recherches viticoles, École nationale supérieure d'agronomie, Place Viala, 34 - *Montpellier* - (France).
- BOVEY R. Station Fédérale de Recherches Agronomiques de Lausanne, Château de Changins - CH - 1260 *Nyon* - (Suisse).
- CAMPBELL W. P. Plant Protection Division, Canada Département of Agriculture - *Ottawa* - (Canada).
- CARDIN-MUNCK (M<sup>me</sup>) Station de Recherches sur les Nématodes, I. N. R. A., Boulevard du Cap B. P. 78, 06 - *Antibes* - (France).
- CAUDWELL A. Station de Pathologie végétale, I. N. R. A., 28, rue de Herrlisheim 68 - *Colmar* - (France).
- CHIARAPPA L. Plant Protection Service, F. A. O., Via delle Terme di Caracalla - *Roma* (Italia).
- CICCARONE A. Istituto di patologia vegetale, Facoltà di Agraria, Via Amendola 165/A - 70.126, *Bari* - (Italia).
- DIAS H. F. Canada Agriculture Research Station, *Vineland Station* - Ontario - (Canada).
- DIAS H. (M<sup>me</sup>).
- DIMITRIJEVIC B. D. Institut za zastitu bilja. Hadzi Ruvimova 19 - *Beograd* - (Jugoslavija).
- DIMITRIJEVIC B. D. (M<sup>me</sup>)
- FOGLIANI G. Istituto di patologia vegetale Università Cattolica del S. Cuore - *Piacenza* - (Italia).
- FORTUSINI A. Istituto di patologia vegetale, Via Celoria 2 - 20.133, *Milano* - (Italia).
- GAERTEL W. Biologische Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft, Brüningstrasse 84 - 555, *Bernkastel-Kues* - (Germany).
- GALZY R. (M<sup>me</sup>). Laboratoire de Recherches de la Chaire de Génétique, École nationale supérieure d'agronomie, 34 - *Montpellier* - (France).
- GARCIA GIL de BAR-NABÉ A. Estacion de Viticultura y Enologia c/Cordoba S/N - *Jerez de la Frontera* (Espana).

- GILMER R. Department of Plant Pathology, N.Y. State Agr. Exp. Station P. O. Box 462 - *Geneva N.Y. 14.456* - (U. S. A.).
- GILMER R. (M<sup>me</sup>).
- HAHN H.] Forschungsinstitut für Rebenzüchtung, Geilweilerhof - 6741, *Siebel-  
dingen/Pfalz* - (Germany).
- HEWITT W. B. Agricultural Research and Extension Center, 9240 SO. Riverbend Ave-  
nue - *Parlier/California*, 93.648 - (U. S. A.).
- HIRTH L. Laboratoire des Virus des Plantes, Institut de Botanique, 8, rue Goethe,  
67 - *Strasbourg* - (France).
- HUGLIN P. Station de Recherches viticoles et œnologiques, I. N. R. A., 8, rue Kléber,  
68 - *Colmar* - (France).
- KOBLET W. Eidg. Versuchsanstalt, Sektion Rebbau - *Wädenswil* - (Schweiz).
- KOBLET W. (M<sup>me</sup>).
- KRNJAIC (Dr) Institut for Plant Protection, *Beograd* (Yugoslavia).
- KUSZALA J. Station de Pathologie végétale, I.N.R.A., 28, rue de Herrlisheim, 68 -  
*Colmar* - (France).
- KUSZALA C. (M<sup>lle</sup>).
- LAMBERTI F. Istituto di Patologia Vegetale, Via Amendola 165/A - 70.126, *Bari* -  
(Italia).
- LARRUE J. Station de Pathologie végétale, I.N.R.A., 28, rue de Herrlisheim, 68 -  
*Colmar* - (France).
- LEGIN R. Station de Pathologie végétale, I. N. R. A., 28, rue de Herrlisheim, 68 -  
*Colmar* - (France).
- MARTELLI G. Istituto di Patologia Vegetale, Via Amendola 165/A - 70.126, *Bari* -  
(Italia).
- MASTEN V. Institut d'Agriculture, Beograd 12 - *Ljubljana* - (Yugoslavia).
- MENDGEN K. Biologische Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft, Brüningstrasse  
84 - 555, *Bernkastel/Kues* - (Germany).
- NEL C. A. Division Plant Pest Control, Crai Giela Building, 698 Church Street -  
Private Bag 232 - *Pretoria* - (Republic of South Africa).
- OSLER R. Staz. Spcr. Agr. Far. Regionale - *S. Michele a/A Trento* - (Italia).
- PENA I. A. Estacion de fitopatologia agricola, I. N. I. A. - Av. Puerta de Hierro S/M-  
*Madrid* - 3 - (Espana.)
- AYUSO-PENA P. Estacion de fitopatologia agricola.  
(M<sup>me</sup>).
- POITOUT M. Chambre d'Agriculture, Section Viticulture, 3, place de la Gare, 68 -  
*Colmar* - (France).
- PROTA U. Istituto di Patologia Vegetale, via E. de Nicola - 07 100, *Sassari* - (Ita-  
lia).
- PROTA U. (M<sup>me</sup>).
- PUTZ C. Station de Pathologie végétale, I. N. R. A., 28, rue de Herrlisheim,  
68 - *Colmar* - (France).



- QUACQUARELLI A. Istituto di Patologia Vegetale Via Amendola 165/A - 70.126, *Bari* (Italia).
- RIVES M. Station de Recherches de Viticulture, I. N. R. A., Domaine de la Grande-Ferrade - 33 - *Pont-de-la-Maye* - (France).
- RÜDEL M. (M<sup>lle</sup>) Landes- Lehr- und Forschungsanstalt für Wein- und Gartenbau, Maximilianstrasse 45, 673 *Neustadt/Weinstrasse* (Germany).
- SARIC A. (M<sup>me</sup>) Zavod za fitopatologiju Poljoprivrednog fakulteta - 41.001 *Sveucilista-Zagreb* (Jugoslavija).
- de SEQUEIRA O. Estação Agronomica Nacional - *Oeiras* - (Portugal).
- STELLMACH G. Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Brüningstrasse 84, 555, *Bernkastel/Kues* - (Germany).
- VALAT C. Domaine de l'Espiguette A.N.T.A.V, 30 - *Le Grau-du-Roi* - (France).
- VUITTENEZ A. Station de Pathologie végétale, I. N. R. A., 28, rue de Herrlisheim, 68 - *Colmar* - (France).
- WELSH M. F. Agriculture Research Station, Plant pathology section - *Summerland* B. C. - (Canada).
-

# **LISTE DES NON PARTICIPANTS, AUTEURS DE COMMUNICATIONS**

BACHELIER J.-C.	Station de Pathologie végétale, I. N. R. A., Centre de Bordeaux, 33 - <i>Pont-de-la-Maye</i> - (France).
CORY L.	U. S. D. A., Department of Plant Pathology, University of California, <i>Davis</i> - (U. S. A.).
ENGELBRECHT D.	Research Institute for Oenology and Viticulture, Private Bag 5026, - <i>Stellenbosch</i> - (South Africa).
FERREIRA de ALMEIDA J. L.	Centro Nacional de Estudos Vitivinícolas, Rua Capitao Renato Baptista, 94, 1º, <i>Lisboa</i> -(Portugal).
GOHEEN A. C.	U. S. D. A. Department of Plant Pathology University of California, <i>Davis</i> -(U. S. A.).
KELTS L. J.	Department of Plant Pathology and Pomology, New York State Experiment Station, <i>Geneva</i> N. Y.-(U. S. A.).
LEHOCZKY J.	Ampelologiai Intézet, Herman Otto Ut 15, <i>Budapest</i> II-(Hungaria).
LUHN C.	U. S. D. A. Department of Plant Pathology University of California, <i>Davis</i> -(U. S. A.).
de MENDONÇA A. (Melle).	Estação Agronomica Nacional, Departamento de Fitopatologia, <i>Oeiras</i> - (Portugal).
UYEMOTO J. K.	Department of Plant Pathology and Pomology, New York State Experiment Station, <i>Geneva</i> N. Y.-(U. S. A.).
TAYLOR R. H.	Plant Research Laboratory, Burnley Gardens, Swan Street <i>Burnley</i> E. I.-(Australia).
WEISCHER B.	Biologische Bundesanstalt, Toppheideweg 88, 44 - <i>Munster</i> Westph.-(Germany).
WOODHAM R. C.	C. S. I. R. O., Horticultural Research Section, <i>Merbein</i> - (Australia).

---

## COMPTE RENDU DU COLLOQUE SCIENTIFIQUE

DE LA IV<sup>e</sup> RÉUNION DU GROUPE INTERNATIONAL POUR L'ÉTUDE  
DES VIRUS ET MALADIES A VIRUS DE LA VIGNE (I. C. V. G.)  
COLMAR 16-18 JUIN 1970

---

La IV<sup>e</sup> réunion de l'I. C. V. G. s'est déroulée en France du 16 au 22 juin 1970 et comportait trois étapes successives : Colmar, Montpellier (en liaison avec l'Office International de la Vigne et du Vin) et Bordeaux.

Le colloque scientifique, dont l'organisation était confiée à la Station de Pathologie végétale de Colmar (I. N. R. A.), a eu lieu au Centre de Recherches Agronomiques, 28, rue de Herrlisheim.

La première séance, mardi 16 juin, a été ouverte en présence de M. J. REY, maire de Colmar, de M. Th. FALLER, conseiller général, et de plusieurs chefs de services et responsables agricoles de la région.

Dans son allocution de bienvenue, M. ROBERT, administrateur du Centre, a présenté aux congressistes les grandes lignes des recherches poursuivies au Centre de Recherches de Colmar ; puis M. VUITTENEZ, directeur de la Station de Pathologie végétale, après avoir rappelé aux personnalités les buts de l'I. C. V. G., et les précédentes réunions de l'Association en Suisse (Nyon, 1964), aux États-Unis (Davis, 1965) et en Allemagne fédérale (Bernkastel-Kues, 1967), a fourni les informations sur le déroulement du Congrès de Colmar.

### A. — Communications scientifiques

présidées successivement par les Dr W. B. HEWITT (*Parlier, U. S. A.*), H. DIAS (*Vineland, Canada*) et G. P. MARTELLI (*Bari, Italie*).

Trois séances d'une demi-journée ont été consacrées à la présentation de 32 communications sur les nouveaux résultats obtenus depuis la réunion de 1967 à Bernkastel. La 4<sup>e</sup> séance comportait des informations générales sur le fonctionnement administratif de l'Association et une table ronde, animée par le Dr BERCKS (*Braunschweig, Allemagne*) et M. A. VUITTENEZ (*Colmar*) sur les méthodes de diagnostic des viroses de la Vigne.

## B. — Visites techniques

Une exposition sur les maladies de dégénérescence de la Vigne, organisée par la Station de Pathologie végétale dans le hall du Centre, a été commentée, après les séances, aux membres de l'I. C. V. G. et aux visiteurs invités à suivre les travaux du Congrès.

### VIROSES

1. Présentation de vignes en pots atteintes des principales maladies à virus (Court-Noué, Enroulement, Marbrure).
2. Techniques d'indexage par greffage sur table avec des variétés de vignes indicatrices (diagnostic du Court-Noué, de l'Enroulement, de la Marbrure et de la maladie des cannelures).
3. Inoculation mécanique et symptômes des principaux virus du groupe des « ringspot », transmissibles de vigne aux plantes herbacées (virus du Court-Noué, mosaïque de l'Arabis, anneaux noirs de la Tomate, taches annulaires de la Tomate, taches annulaires du Framboisier, enfin virus latent des taches annulaires du Fraisier, récemment identifié sur Vigne à la Station de Colmar).
4. Méthodes de séparation et de détection des virus par procédés physiques (ultracentrifugation sur gradient de densité, observation de la zone d'accumulation du virus).
5. Tests sérologiques par la méthode d'immunodiffusion en milieu gélosé et par la méthode de floculation en présence de latex.
6. Expériences de transmission par nématodes du virus du Court-Noué (vecteur *Xiphinema index*) et résultats d'essais de lutte pratique au vignoble par la désinfection chimique des sols réalisés par la Station en Bourgogne (vignoble de Meursault).

### FLAVESCENCE DORÉE

1. Présentation de vignes de Baco et de Chardonnay atteintes respectivement de Flavescence dorée et de Bois noir.
2. Photos au microscope électronique d'organismes de type mycoplasme, associés aux plantes malades.
3. Fèves contaminées par la Flavescence dorée au moyen de Cicadelles.
4. Cycle de la cicadelle *Scaphoideus littoralis* et de l'évolution de la maladie sur la Vigne.

A l'occasion de la conférence, la presse régionale et Radio-Strasbourg, dans plusieurs émissions radiodiffusées et télévisées, ont présenté au grand public les viroses de la Vigne et rappelé les recherches qui leur sont consacrées dans le monde. L'exposition a été très utile pour cette présentation, photos et plantes vivantes illustrant l'ensemble des techniques utilisées et des résultats obtenus.

Les visites d'essais prévues dans les pépinières de la Station, ainsi que dans le vignoble de Riquewihr n'ont pu avoir lieu par suite du mauvais temps. Par contre, les serres et les laboratoires de la Station ont été présentés avec discussion sur les techniques. Le jeudi 18 juin une visite a été organisée à Horbourg (Haut-Rhin), où M. BARBIER, président de la Fédération Nationale des Pépiniéristes et M. PORTOUT, ingénieur à la Chambre d'Agriculture, ont présenté une technique moderne de multiplication des plants de vigne en serre.

### C. — Réceptions

Le 16 juin, M. REY, maire de Colmar et M. l'adjoint HAUSSHERR ont convié les membres du Congrès, à un vin d'honneur, au foyer du théâtre.

Rappelant l'importance de la viticulture en Alsace et l'intérêt que la ville porte aux recherches sur la vigne, tant sur le plan de la Virologie que de l'Amélioration génétique et des techniques culturales et œnologiques, M. le Maire est heureux que la contribution du Centre de Recherches de Colmar soit appréciée et félicite les chercheurs des 11 pays représentés, pour leur féconde coopération.

Le 17 juin, le Comité Interprofessionnel des Vins d'Alsace a offert aux congressistes un cocktail à l'Hôtel du Champ-de-Mars, au cours duquel les produits caractéristiques du vignoble d'Alsace ont été dégustés. MM. BLANCK, président, DOPFF, vice-président, et BOUARD, directeur du C. I. V. A., ont rappelé à cette occasion les problèmes techniques et économiques du vignoble d'Alsace. Le Dr W. B. HEWITT, au nom des membres de l'I. C. V. G., a remercié le C. I. V. A. pour ses bons vins et sa sympathique réception.

Le 18 juin, les congressistes ont été reçus par les É<sup>ts</sup> Dopff et Irion à Riquewihr pour une visite des chais.

Enfin, les vins de la Station de Viticulture de l'I. N. R. A., ont été offerts par M. P. HUGLIN lors d'une dégustation à la cave des Catherinettes, 8, rue Kléber à Colmar.

### D. — Excursions

Le 18 juin, une excursion en car a conduit les congressistes à travers les villages du vignoble (visite de Riquewihr). La promenade dans les Vosges a été écourtée par des averses « dignes des régions tropicales », mais, le repas offert par l'I. N. R. A. aux congressistes à l'Hôtel du Lac Blanc à Orbey a créé une ambiance de détente qui s'est poursuivie au cours du voyage en direction de Montpellier, seconde étape du Congrès.

### E. — Réunions à Montpellier et à Bordeaux

La Conférence de Montpellier organisée conjointement par l'Office international de la Vigne et du Vin et par l'I. C. V. G. s'est déroulée les 18-20 juin à la Maison de l'Agriculture de Montpellier.

Après l'ouverture de la Conférence par M. le professeur G. CONSTANTINESCU, président de l'O. I. V., en présence de M. le Préfet de l'Hérault et du représentant de M. le Maire de Montpellier des exposés ont été présentés sur les sujets suivants :

1. Connaissances actuelles sur les viroses de la Vigne. Répartition géographique, symptômes, propriétés des virus, modes de transmission.  
Par M. le professeur Wm. B. HEWITT (*Parlier* Calif., U. S. A.).
2. Méthodes de diagnostic des viroses de la Vigne.  
Par M. A. VUITTENEZ (68-Colmar, France).
3. Importance économique des viroses de la Vigne. Circonstances favorisant leur propagation. Lutte contre ces maladies.

Par M. le docteur W. GAERTEL (*Bernkastel/Kues*, R. F. Allemagne).  
et M. D. BOUBALS (34 - *Montpellier*, France).

4. Orientation souhaitée par les experts dans le domaine de la recherche de l'information et de la réglementation.

Par M. P. HUGLIN (68 - *Colmar*, France).  
et M. le docteur A. CICCARONE (*Bari*, Italie).

Les participants ont visité ensuite des expérimentations de la Station de Recherches viticoles de Montpellier — essais de désinfection du sol pour la lutte contre le Court-Noué à Frontignan, présentés par M. D. BOUBALS — et le domaine de l'Espiguette au Grau-du-Roi (30), siège de l'Association Nationale Technique pour l'Amélioration de la Viticulture, où ils ont été accueillis par M. A. DAUSSANT, président de l'Institut Technique du Vin et de l'A. N. T. A. V. Les parcelles de prémultiplication de vignes, les pépinières d'indexage et installations de laboratoires, en particulier pour la thermothérapie, ont été présentées par M. VALAT, directeur de l'A. N. T. A. V. Puis une réception a été donnée au domaine, en présence des autorités départementales et locales.

Le 21 juin, une excursion a eu lieu au Domaine de la Chambre d'Agriculture de l'Aude à Millegrand (11) pour la visite des parcelles de prémultiplication des clones sélectionnés de vignes mères de porte-greffes. A l'issue de cette visite une réception a été donnée à Carcassonne (11) par la Chambre d'Agriculture de l'Aude. Les congressistes ont poursuivi ensuite leur voyage sur Bordeaux.

Le 23 juin, les laboratoires, installations de serre pour l'indexage des vignes et les chambres de thermothérapie de la Station de Viticulture du Centre de Recherches de Bordeaux au Domaine de la Grande-Ferrade, Pont-de-la-Maye (33) ont été présentés par le directeur, M. M. RIVES et le personnel de la Station.

Une excursion a permis de traverser une partie du vignoble d'Armagnac où ont été réalisées les études de base sur la Flavescence dorée (M. A. CAUDWELL et D. SCHWESTER). L'Union des Coopératives viticoles de l'Armagnac a offert un repas aux participants de la conférence.

Une partie des membres de l'I. C. V. G. ont pris part ensuite au VIII<sup>e</sup> Symposium européen sur les maladies à virus des arbres fruitiers organisé par les Stations d'Arboriculture fruitière et de Pathologie végétale de Bordeaux du 24 au 30 juin.

## GROUPE I

### Généralités. Méthodes de sélection. Virus non transmissibles mécaniquement

- E. BALDACCI, G. BELLI, A. FORTUSINI, R. OSLER. — Selezione sanitaria della vite in Italia settentrionale : risultati e considerazioni.
- G. BELLI, R. OSLER, A. FORTUSINI. — Indagine sulla validità dei cordoni endocellulari come test per la selezione sanitaria della vite.
- D. BOUBALS. — Observations sur l'infection par le virus de l'enroulement chez les porte-greffes usuels.
- D. BOUBALS. — Observations sur l'infection par le virus de l'enroulement chez le Carignan et l'Alicante Bouschet.
- R. BOVEY. — Un virus latent dans le Chasselas.
- G. FOGLIANI. — Osservazioni e relazioni fra traslocazione del virus del mosaico giallo (GYMV), della scolorazione perinervale (GVBV) e cordoni endocellulari in piante di vite.
- G. FOGLIANI. — Nuove acquisizioni sull'impiego della tecnica dei cordoni endocellulari, in viti affette dal virus dell' arricciamento (GFV), del mosaico giallo (GYMV) e presunte sane (riasunto).
- W. B. HEWITT, AC. GOHEEN, L. CORY, C. LUHN. — Grapevine Fleck disease, latent in many varieties, is transmitted by graft inoculation.
- R. LEGIN. — Expérimentation pour étudier l'effet des principales viroses sur la végétation et la production de la Vigne.
- J. LEHOCZKY. — Destructive effect of Legno riccio (rugose wood) on European grapevine varieties.
- A. C. NEL, D. J. ENGELBRECHT. — Grapevine virus diseases in South Africa and the influence of latent viruses in the nursery.
- M. RIVES. — Séparation de la marbrure et du court-noué (panachure) chez la Vigne, par thermothérapie.
- G. STELLMACH. — Wie ist die Zuverlässigkeit des Indexing zu erhöhen ?
- R. H. TAYLOR, R. C. WOODHAM. — Indexing grapevines for viruses in Australia.
- C. VALAT. — Note concernant les travaux de sélection sanitaire conduits par l'Association Nationale Technique pour l'Amélioration de la Viticulture.
-





# SELEZIONE SANITARIA DELLA VITE IN ITALIA SETTENTRIONALE : RISULTATI E CONSIDERAZIONI

E. BALDACCI, G. BELLI\*, A. FORTUSINI e R. OSLER\*\*

*Istituto di Patologia Vegetale,  
Università di Milano (Italia)*

*\* Laboratorio Virus e Biosintesi Vegetali del C. N. R.,  
Milano (Italia)*

*\*\* Stazione Sperimentale Agraria di S. Michele all'Adige,  
Trento (Italia)*

---

Il lavoro di selezione sanitaria della vite da noi svolto nell' Italia settentrionale ha preso inizio circa venti anni or sono ed è andato via estendendosi e perfezionandosi nel tempo. Di esso abbiamo già dato notizia in precedenti pubblicazioni (BALDACCI, 1960 ; BALDACCI *et al.*, 1965 ; BALDACCI, BELLI, 1967 ). In questa nota intendiamo riferire e discutere sul lavoro svolto finora nel suo complesso, sugli sviluppi più recenti, sui metodi impiegati.

## MATERIALI E METODI

Il lavoro di selezione è stato svolto nei confronti dei due virus che sono più frequenti in Italia settentrionale : virus dell' arricciamento (GFV, nel quale comprendiamo anche i ceppi « mosaico giallo » e « scolorazione perinervale ») e virus dell'accartocciamento fogliare (GLRV). E' stato iniziato in Lombardia (province di Pavia, Sondrio e Brescia) e successivamente è stato esteso alle province di Imperia (Liguria), Trento (Trentino, Alto-Adige), Udine e Gorizia (Friuli-Venezia Giulia). La selezione è stata effettuata sulle varietà di *Vitis vinifera* e sulle specie da portinnesto più importanti per le zone interessate.

I metodi impiegati sono stati già descritti in precedenti occasioni (BALDACCI *et al.*, 1965 ; 1967-a ; 1967-b) ; quindi li ricordiamo soltanto brevemente. Dapprima è stata operata una selezione morfologia, ossia visiva, in pieno campo ; i cloni che non manifestavano sintomi sono stati sottoposti a selezione biologica, ossia al saggio

su piante indicatrici, sia erbacee (per GFV) sia del genere *Vitis* (St. George per GFV ; Mission oppure Baco 22-A per GLRV). Il saggio sulle viti indicatrici è stato effettuato sia con il metodo del chip-budding sia con quello del doppio spacco inglese. Sono stati considerati esenti da virus, e cioè selezionati, i cloni che dopo due anni non avevano determinato la comparsa di sintomi sulle viti indicatrici.

## RISULTATI

L'esame morfologico in campo è stato effettuato, nelle varie zone viticole, su un totale di circa 3.000 viti. Di queste, 249 non presentavano sintomi di virosi e sono state pertanto sottoposte a selezione biologica, la quale ha dato i seguenti risultati :

- 90 cloni infetti (87 da GFV e 3 da GLRV) ;
- 93 cloni esenti da GFV (non ancora saggiati per GLRV) ;
- 8 cloni esenti da GLRV (non ancora saggiati per GFV) ;
- 58 cloni esenti sia da GFV che da GLRV.

58 cloni risultati esenti da entrambi i virus appartengono a due specie da portinnesto (B.  $\times$  R. 420-A ; B.  $\times$  R. Kober 5-BB) e a dodici varietà di *V. vinifera* (Barbera, Croatina, Chiavennasca, Uva rara, Merlot, Moradella, Ughetta, Cortese, Malvasia, Moscato bianco, Riesling italico, Riesling renano). Con gran parte di questi cloni sono già stati costituiti dei vigneti per moltiplicazione in terreni esenti da nematodi vettori. Altri cloni sono moltiplicati in coltura idroponica.

Per quanto riguarda i metodi impiegati, il saggio su piante erbacee (*Chenopodium amaranticolor* e *C. quinoa*) si è rivelato molto meno sensibile rispetto al saggio su St. George, confermando i risultati già ottenuti in una apposita sperimentazione (BELLI *et al.*, 1965) e permettendo il passaggio diretto dalla selezione morfologica a quella su viti indicatrici nei casi in cui limiti di tempo o di spazio in serra rendevano difficile il saggio su piante erbacee.

Nel confronto fra saggio per innesto e saggio per chip-budding su vite St. George, il primo è risultato più sensibile ossia ha dato percentuali di risposte positive più elevate rispetto al secondo. Il metodo del chip-budding però ha dato una più alta percentuale di attecchimenti, specialmente con alcune varietà come Barbera e Chiavennasca. Pertanto nel lavoro di selezione biologica sarà opportuno adottare l'uno o l'altro dei due metodi a seconda della varietà da saggiare. Per quanto riguarda invece la rapidità di risposta, con entrambi i metodi i sintomi su St. George sono comparsi al primo anno di osservazione nella gran parte dei casi ; solo il 5 p. 100 dei cloni infetti ha provocato sintomi soltanto nel secondo anno.

## DISCUSSIONE

Riteniamo che lo schema di selezione da noi adottato offra due notevoli vantaggi : 1° — quello di fornire in breve tempo, con la selezione morfologica, un certo numero di cloni esenti da gravi forme di virosi, anche se non completamente

esenti da virus ; 2° — quello di individuare, sebbene in un tempo più lungo, cloni selezionati nei confronti di GFV e GLRV con i test più sensibili oggi utilizzabili in campo applicativo e, quindi, cloni da considerarsi praticamente esenti dai due virus suddetti.

Il primo, dei due vantaggi sopra indicati, è molto importante dal punto di vista pratico poichè spesso i viticoltori non possono attendere la fine del lungo lavoro di selezione per rinnovare od estendere i loro impianti. Per quanto riguarda il secondo vantaggio, che è poi lo scopo finale della selezione, riteniamo che il metodo di saggio biologico su St. George, messo a punto vari anni or sono dal Prof. HEWITT, sia ancora il più valido fra quelli proposti. Infatti altri metodi, come l'esame dei cordoni endocellulari e la termoterapia, sono risultati meno adatti nell'applicazione su scala pratica. Il metodo dei cordoni ha dato spesso risultati discordanti (HEWITT, 1968) e, in una nostra recentissima ricerca (BELLI *et al.*, 1970), si è rivelato molto meno sensibile del saggio su St. George ; D'altra parte l'impiego della termoterapia, oltre a richiedere attrezzature ed accorgimenti abbastanza complessi, non esime poi dal dovere effettuare il controllo su St. George delle nuove piante ottenute.

La validità del nostro schema di lavoro è inoltre confermata dal fatto che esso è stato di recente adottato da altri istituti di ricerca italiani operanti in altre zone, e precisamente : Istituto Sperimentale di Viticoltura di Conegliano (Veneto), Istituto di Coltivazioni Arboree dell'Università di Firenze (Toscana), Istituto Sperimentale di Frutticoltura (Lazio).

## RÉSUMÉ

### LA SÉLECTION SANITAIRE DE LA VIGNE EN ITALIE SEPTENTRIONALE : RÉSULTATS ET OBSERVATIONS

Depuis une vingtaine d'années, les auteurs ont entrepris des travaux de sélection sanitaire de la vigne en Italie septentrionale, portant sur les deux virus les plus communs : le Court-Noué et l'Enroulement.

Les opérations comportent une sélection visuelle au champ ; puis les vignes apparemment saines retenues sont indexées sur des variétés de vignes indicatrices : *Vitis rupestris* St-Georges pour détecter le virus du Court-Noué (GFV), Mission et Baco 22A pour celui de l'enroulement (GLRV). Certains examens ont été effectués par inoculation sur plantes tests herbacées (*Chenopodium amaranticolor* et *C. quinoa*).

Les auteurs concluent à l'excellence de l'indexage sur *rupestris*, l'inoculation par greffe anglaise étant préférable au « *chip budding* ». La réaction du *rupestris* St-Georges est considérée comme beaucoup plus sensible pour la détection du virus du Court-Noué (GFV) que l'inoculation des plantes tests herbacées ou que la recherche des cordons endovasculaires.

Les examens ont déjà porté sur environ 3 000 clones de *vinifera* ou de porte-greffes, jugés visuellement. Parmi ceux-ci, 249 ne présentant pas de symptômes ont été indexés sur les variétés de vignes indicatrices. 58 clones se sont révélés exempts à la fois de Court-Noué et d'Enroulement et 90 clones ont été reconnus infectés : 87 par le virus du Court-Noué et 3 par le virus de l'Enroulement. 93 autres clones ont été reconnus exempts de Court-Noué, mais ne sont pas jugés pour l'Enroulement et 8 exempts d'Enroulement ne sont pas jugés pour le Court-Noué.

## SUMMARY

CLONAL SELECTION OF VIRUS-FREE GRAPEVINES IN NORTHERN ITALY :  
RESULTS AND OBSERVATIONS

A long work of selection has been conducted on several *Vitis vinifera* varieties and on some rootstocks in Northern Italy.

About three thousand clones were examined by morphological (visual) selection ; 249 clones did not show any symptom and therefore were submitted to biological selection on grape indicators (Rupestris St. George for fanleaf ; Mission or Baco 22A for leafroll). 58 clones resulted to be free from both fanleaf and leafroll viruses. 90 clones resulted to be infected (87 by GFV and 3 by GLRV) ; 93 clones free from GFV (not tested for leafroll) ; 8 free from GLRV (non tested for fanleaf).

Both chip-bud grafting and top grafting resulted to be suitable methods for biological selection ; however, a different behaviour was noted with some varieties.

## LETTERATURA

- BALDACCI E., 1960. L'opera di miglioramento culturale e sanitario della vite in Lombardia. *Bullettino dell'Agricoltura*, **94**, 1-2 (vedi anche : *Valltellina e Val Chiavenna*, **13**, 5-10).
- BALDACCI E., BELLI G., REFATTI E., CESATI R., PESSINA F., 1965. Selection in some grapevine districts of Italy. *Proc. Int. Conf. on Virus and Vect. on Perennial Hosts*, Davis, Calif., 332-336. (Vedi anche : *Riv. Pat. Veg.*, S. IV, 1967, **3**, 15-22.)
- BALDACCI E., BELLI G., 1967. Nuovi risultati sulla selezione clonale di viti esenti da virus. *Riv. Pat. Veg.*, S. IV, **3**, 263-267. (Vedi anche : *Weinb. Keller*, 1968, **15**, 543-545.)
- BALDACCI E., BELLI G., REFATTI E., 1967. Virosi e selezione della vite. *Edizioni Agricole*, Bologna.
- BELLI G., OSLER R., FORTUSINI A., 1970. Indagini sulla validità dei cordoni endocellulari come test per la selezione sanitaria della vite. *Proc. of the IV Meeting of Internat. Council for the Study of Viruses and Virus Diseases of Grape*, Colmar (France), June 1970.
- BELLI G., REFATTI E., CESATI R., CORSINI G., 1965. Comparison of grape indicators and herbaceous hosts in detecting grape soil-borne viruses. *Proc. Int. Conf. on Virus and Vector on Perennial Hosts*, Davis, Calif., 371-377. (Vedi anche : *Riv. Pat. Veg.*, S. IV, 1967, **3**, 113-122.)
- HEWITT W. B., 1968. Viruses and virus diseases of the grapevine. *Rev. appl. mycol.*, **47**, 433-456.

# INDAGINI SULLA VALIDITA DEI CORDONI ENDOCELLULARI COME TEST PER LA SELEZIONE SANITARIA DELLA VITE

G. BELLI, R. OSLER \* e A. FORTUSINI \*\*

*Laboratorio Virus e Biosintesi Vegetali del C. N. R.,  
Milano (Italia)*

\* *Stazione Sperimentale Agraria di S. Michele all'Adige,  
Trento (Italia)*

\*\* *Istituto di Patologia Vegetale,  
Università di Milano (Italia)*

La presenza di cordoni endocellulari negli elementi xilematici di piante di vite affette da arricciamento (roncet, court-noué, fanleaf, Reisigkrankheit) fu messa in evidenza per la prima volta da PETRI (1911), il quale sottolineò pure la possibilità di utilizzare la ricerca dei cordoni come test diagnostico precoce (PETRI, 1911 ; 1912). In effetti, parecchi anni più tardi, l'uso di questo test fu adottato in un lavoro di selezione sanitaria della vite svolto in provincia di Trento (CATONI e REFATTI, 1949).

Successivamente vari ricercatori affrontarono il problema della validità dei cordoni come sintomo specifico e costante dell'arricciamento della vite e, quindi, quello del suo possibile impiego per la selezione di cloni di vite esenti dal virus dell'arricciamento (VUITTENEZ, 1954 ; GIFFORD *et al.*, 1956 ; SALERNO e MUSUMECI, 1959 ; FOGLIANI, 1962 e 1964 ; L'AMBERTI, 1963) ; i risultati però furono alquanto discordanti, tanto che recentemente HEWITT (1968) auspicò lo svolgimento di ulteriori ricerche al fine di risolvere il problema tanto discusso.

Considerato quanto sopra e tenuto conto che in precedenti nostre ricerche (BELLI *et al.*, 1965) l'indexing sulla vite indicatrice St. George (*Vitis rupestris* var. St. George) si era rivelato un test particolarmente sensibile per il virus dell'arricciamento, si è deciso di mettere a confronto questo metodo di saggio con quello basato sulla ricerca dei cordoni ; infatti un'indagine di questo tipo non ci risultava essere stata effettuata in precedenza.

## MATERIALE E METODI

Per l'esame dei cordoni sono stati scelti 18 cloni di vite che erano stati in precedenza saggiati su St. George con i metodi già descritti (BELLI *et al.*, 1965) e tenuti in osservazione per almeno due anni. Essi comprendevano sia cloni senza sintomi sia cloni con sintomi evidenti di arricciamento; sia cloni che avevano risposto positivamente su St. George sia cloni che avevano dato risposta negativa (tabella 1). Ad essi sono stati aggiunti, quasi a titolo di curiosità, anche due cloni con gravi sintomi di accartocciamento fogliare.

TABELLA I

*Risultati del confronto fra saggio su St. George e ricerca dei cordoni endocellulari*

Cloni	Specie o varietà	Sintomi	Risultati su St. George	N° di cordoni in 10 sezioni
Q-1-14	B. × R. 420-A	(assenti)	—	nessuno
12-Ba-1-15	Barbera		—	"
10-Cro-12-25	Croatina		—	"
M-10-V-21	Malvasia		—	"
5-V-3	St. George		—	"
Q-1-6	B. × R. 420-A		+	"
Q-1-16	" "		+	"
VI-Ba-5-46	Barbera		+	"
VI-Ba-5-48	"		+	"
30-Ba-2-6	"		+	"
9-Cro-13-24	Croatina		+	"
12-Cro-13-39	"		+	"
M-1-27	Malvasia		+	2
M-1-32	"		+	nessuno
5V3/Mal-S-4	St. George	schiarimenti nervali	+	"
FVS-13	(sconosciuta)	malformazioni e mosaico	+	8
105-P	Verdea	mosaico giallo	+	49
34-C-59	Castelli Romani	giallume e nanismo	+	565
84-Ba-5-34	Barbera	accartocciamento intenso	(non provato)	nessuno
44-Cro-16-5	Croatina	" "	" "	"

Per quanto riguarda il metodo per la ricerca dei cordoni, tenuto conto di quanto noto in letteratura e di nostre esperienze preliminari, abbiamo cercato di adottare un metodo sufficientemente semplice e rapido da poter essere facilmente standardizzato e applicato nella selezione su vasta scala.

Precedenti indagini comparative, effettuate da LAMBERTI (1963) su diverse varietà di *V. vinifera* e su specie da portinnesto, avevano mostrato che il 3° internodo, a partire dalla base del tralcio, è quello solitamente più ricco di cordoni. Per quanto riguarda il numero di sezioni esaminate e il loro spessore, SALERNO e MUSUMECI (1959) avevano esaminato 10 sezioni per tralcio (spessore non specificato); LAMBERTI (1963): 8 sezioni per internodo (spessore non specificato); FOGLIANI (1964): 5-10 sezioni per internodo, aventi spessore di 70-80 micron. Detti autori avevano effettuato le loro osservazioni a 100 ingrandimenti.

Da parte nostra è stato adottato il metodo seguente. Per ciascun clone di vite da esaminare è stato scelto un tralcio di un anno fra quelli asportati con la potatura invernale, scegliendo in modo che il 3° internodo di base avesse diametro compreso fra 7 e 9 mm (al fine di avere sezioni con diametro abbastanza uniforme). Da detto internodo sono state tagliate, con un microtomo, 20 sezioni dello spessore di 80 micron; le 10 sezioni meglio riuscite sono state incluse in lattofenolo ed esaminate al microscopio a 100 ingrandimenti (nei casi dubbi si è effettuato un ulteriore controllo a 200  $\times$ ).

### RISULTATI E DISCUSSIONE

Le caratteristiche dei cloni saggiati e i risultati relativi sia al saggio su St. George sia all'esame dei cordoni sono riassunti nella tabella 1. Da essa risulta che nessuno dei cinque cloni senza sintomi, che avevano dato esito negativo su St. George, ha rivelato la presenza di cordoni. Di nove cloni senza sintomi, risultati positivi (e quindi infetti) su St. George, uno soltanto ha rivelato la presenza di cordoni, ma in numero estremamente limitato (due soli cordoni in un totale di 10 sezioni). Neppure in un clone di St. George (5V-3/Mal-S-4), che era stato sperimentalmente infettato quattro anni prima e che mostrava evidenti sintomi di arricciamento, sono stati osservati cordoni. Questi sono stati infine rilevati in numero apprezzabile in tre cloni che mostravano gravi sintomi di arricciamento <sup>(1)</sup> (FVS-13, 105-P, 34C59) e che quindi manifestavano chiaramente di essere malati anche ad un semplice controllo visivo.

Sebbene i cloni saggiati non siano molti, tuttavia ci sembrano abbastanza rappresentativi delle varie situazioni che si possono incontrare nel lavoro di selezione contro l'arricciamento della vite. Ovviamente noi non escludiamo che, se si fossero esaminate molte altre sezioni in tutti gli internodi di tutti i tralci, forse si sarebbe riusciti a mettere in evidenza qualche cordone anche in quei cloni che qui risultano non averne; è evidente però che un tale tipo di esame non sarebbe assolutamente applicabile in pratica in un lavoro di selezione che può contemplare il controllo di centinaia di cloni di vite. Riteniamo pertanto che i risultati ottenuti indichino chiaramente che, ai fini del lavoro di selezione, la ricerca dei cordoni appare come un test meno sensibile e, in ogni caso, meno adatto che l'*indexing* su St. George; anzi, nelle nostre indagini non ha offerto alcun vantaggio rispetto alla semplice selezione morfologica (o visiva), sia per quanto riguarda l'arricciamento sia per quanto riguarda l'accartocciamento fogliare.

### RÉSUMÉ

#### SUR LA VALIDITÉ DE LA RECHERCHE DES CORDONS ENDOCELLULAIRES, COMME MÉTHODE DE TEST POUR LA SÉLECTION SANITAIRE DE LA VIGNE

Des recherches préliminaires ont été entreprises pour déterminer si la recherche des cordons pourraient constituer un test aussi sensible ou plus sensible que l'*indexage* sur *rupestris* St. Georges pour la sélection de clones exempts du virus du Court-Noué (fanleaf).

(1) Nel termine « arricciamento » si comprende qui anche il quadro sintomatologico spesso indicato come « mosaico giallo », essendo causato dallo stesso virus (cf. BELLÌ, 1969).

18 clones, appartenenti a 8 varietà differenti, ont été testés par indexage sur St-Georges et par examen des cordons. 5 clones sans symptômes, n'ayant pas donné de réaction sur St-Georges, ne présentaient pas non plus de cordons. Sur 9 clones sans symptômes ayant donné une réaction positive sur St-Georges, 1 seul montrait des cordons (2 cordons dans 10 coupes). Sur 4 clones qui présentaient des symptômes sévères de Court-Noué (Fanleaf) ou de Panachure (Yellow Mosaic), 3 seulement présentaient des cordons en nombre abondant.

Aucun cordon n'a jamais été trouvé dans 2 autres clones présentant des symptômes sévères d'enroulement.

Sur la base de ces résultats, les auteurs estiment que la recherche des cordons constitue un test beaucoup moins sensible que l'indexage sur *rupestris* St-Georges, et qu'elle ne semble pas donner de résultats meilleurs que la sélection visuelle.

## SUMMARY

### EXPERIMENTS ON THE RELIABILITY OF THE SEARCH FOR TRABECULAE, AS A TEST FOR SANITARY SELECTION OF GRAPEVINES

A preliminary investigation was conducted in order to know whether the search for trabeculae could be a test as much or more sensitive than indexing on St-George for the selection of clones free from fanleaf virus.

18 clones, belonging to 8 different varieties, were tested on St-George and for trabeculae. All the 5 symptomless clones which gave no reaction on St-George, did not show trabeculae. Of the 9 symptomless clones which gave reaction on St-George, only one showed trabeculae (2 trabeculae in 10 sections). Trabeculae could be frequently found only in 3 out of 4 clones which showed severe symptoms of fanleaf or yellow mosaic.

No trabeculae were ever found in the other two clones which showed severe symptoms of leafroll.

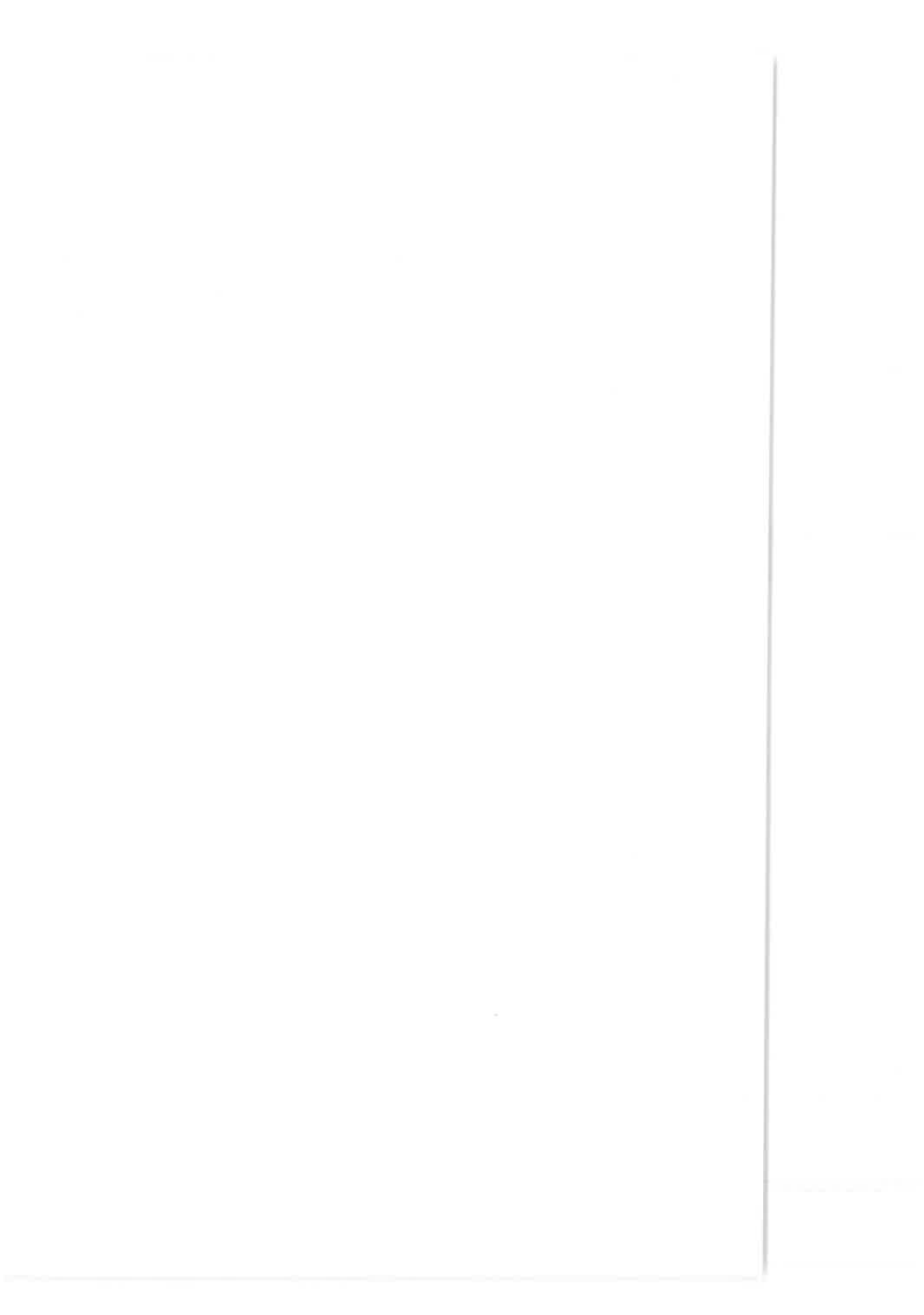
On the basis of these results, we think that trabeculae are a test much less sensitive than indexing on St-George and seem to give no better results than morphological (visual) selection.

## LETTERATURA

- BELLI G., 1969. Rassegna delle ricerche sulle virosi della vite. *Riv. Pat. Veg.*, S. IV, **5**, 17-36.
- BELLI G., REFATTI E., CESATI R., CORSINI G., 1965. Comparison of grape indicators and herbaceous hosts in detecting grape soil-borne viruses. *Proc. Int. Conf. on Virus and Vector on Perennial Hosts*, Davis, Calif., 371-377. (Vedi anche: *Riv. Pat. Veg.*, S. IV, 1967, **3**, 113-122).
- CATONI G., REFATTI E., 1949. Dati sul controllo dell'arricciamento nelle piante madri di viti in provincia di Trento. *Not. Mal. Piante*, **3**, 36-38.
- FOGLIANI G., 1962. Un metodo rapido per la diagnosi della « degenerazione infettiva » della vite: la tecnica dei cordoni endocellulari opportunamente modificata. *Atti Acc. Ital. Vite e Vino*, **14**, 169-184.
- FOGLIANI G., 1964. Ricerche sperimentali sui cordoni endocellulari della vite. Nota I: Esame su 15 cv. da portinnesto artificialmente infettate con urticado (mosaico-fanleaf) e clorose infettiosa (giallume-yellow mosaic). *Ricerca Scient.*, **34**, S. 2 (II-B), vol. 4, 417-438 (vedi anche: *Bull. Off. Int. Vigne et Vin*, **36**, 1962, 174-205).
- GIFFORD E. M. JR., HEWITT W. B., GRAHAM A. D., LAMOUREUX C. H., 1956. An internal symptom for identifying fanleaf in the grapevine. *Bull. Calif. Dep. Agric.*, **45**, 268-272.
- HEWITT W. B., 1968. Viruses and virus diseases of the grapevine. *Rev. appl. mycol.*, **47**, 433-456.
- LAMBERTI F., 1963. Osservazioni sulla distribuzione e importanza dei « cordoni endocellulari » in diversi vitigni coltivati in Puglia. *Ann. Fac. Agraria di Bari*, **17**, 267-287.



- PETRI L., 1911. Ricerche istologiche sopra le viti affette da rachitismo. *Rendic. R. Accad. Lincei* **20**, S. V, 2° sem., 155-160.
- PETRI L., 1912. Formazione e significato fisiologico dei cordoni endocellulari nelle viti affette da arricciamento. *Rendic. R. Accad. Lincei*, **21**, S. V, n° sem., 505-511.
- SALERNO M., MUSUMECI A., 1939. Contributo allo studio della « degenerazione infettiva » della vite in Sicilia. I. Indagine sui rapporti fra « cordoni endocellulari » e sintomi macroscopici della malattia. *Atti Ist. Bot. Univ. Pavia*, S. 5, **16**, 310-334.
- VUITTENEZ A., 1954. Observations sur le diagnostic anatomique de la dégénérescence infectieuse de la vigne. *C. R. Acad. Agric. de France*, **40**, 146-151.
-



# OBSERVATIONS SUR L'INFECTION PAR LE VIRUS DE L'ENROULEMENT CHEZ LES PORTE-GREFFES USUELS

D. BOUBALS

avec la collaboration technique de R. PISTRE

*Station de Recherches viticoles,  
Centre de Recherches agronomiques, I. N. R. A.,  
34 - Montpellier (France)*

---

## RÉSUMÉ

Le présent travail fait apparaître l'importance de l'infection par l'enroulement chez les porte-greffes utilisés normalement par la viticulture française.

---

## INTRODUCTION

Les porte-greffes, tout comme les espèces de *Vitis* d'origine américaine, n'extériorisent pas sur leur feuillage les symptômes caractéristiques de l'infection par la virose de l'enroulement et, en particulier, le rougissement des feuilles à l'automne. Ces vignes sont, cependant, susceptibles d'être infectées par ce virus. Par des greffages avec des variétés de *Vitis vinifera*, il était intéressant de se rendre compte de la fréquence de leur infection.

## I. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

Dans des pieds-mères de porte-greffes du sud de la France, 100 à 200 pieds vigoureux et apparemment exempts de court-noué ont été repérés pour chaque porte-greffe usuel. Du bois greffable de ces pieds a été récolté séparément pour chacun d'eux. A l'aide de celui-ci il a été réalisé dix greffés-soudés, le greffon étant constitué par du bois de clones de *Cinsaut-noir* exempt d'enroulement.

Après soudure en chambre chaude, les assemblages ont été établis en pépinière de plein champ dans un endroit peu gélif à l'automne de façon à pouvoir observer, le plus tard possible en novembre, si le feuillage du greffon Cinsaut jaunissait normalement ou rougissait à la suite de la transmission de l'enroulement à partir du bois de la souche de porte-greffe, dans le cas où celle-ci était infectée par cette virose.

L'intensité d'extériorisation des symptômes d'enroulement a été notée d'après l'échelle suivante :

1. Faible rougissement sur quelques feuilles de la base des pousses de la plupart des plants greffés-soudés d'une même série.
2. Rougissement intéressant environ trente à cinquante pour cent des feuilles des plants.
3. Rougissement intéressant pratiquement toutes les feuilles des greffés-soudés.

Une catégorie de plantes douteuses a été établie.

Les vérifications sur plusieurs années ont montré que l'enroulement s'extériorisait parfaitement dès l'année du greffage.

## II. — RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats sont donnés dans le tableau suivant :

TABLEAU I

Résultat d'un test enroulement sur un certain nombre de pieds de onze porte-greffes

Variété	Nombre de clones testés	% de clones sains	% de clones enroulés				% de clones douteux
			Total	classe 1	classe 2	classe 3	
Rupestris du Lot ..	140	63,5	17,8	7,8	7,1	2,8	18,5
3309 C .....	158	67,0	12,5	10,7	1,8	0	20,2
99 R .....	166	55,4	21,6	20,4	1,2	0	22,8
110 R .....	185	43,7	31,3	23,2	6,4	1,6	24,8
1103 P .....	159	79,5	7,0	6,5	0	0,5	13,5
140 R .....	100	35,0	54,0	22,0	29,0	3,0	11,0
SO 4 .....	172	83,1	1,1	1,1	0	0	15,6
420 A .....	82	95,1	1,2	1,2	0	0	3,6
161-49 C .....	172	94,5	2,1	2,1	0	0	3,2
41 B .....	161	80,7	9,7	1,8	5,5	2,4	9,3
G 1 .....	98	87,7	8,1	2,0	6	0	4,0

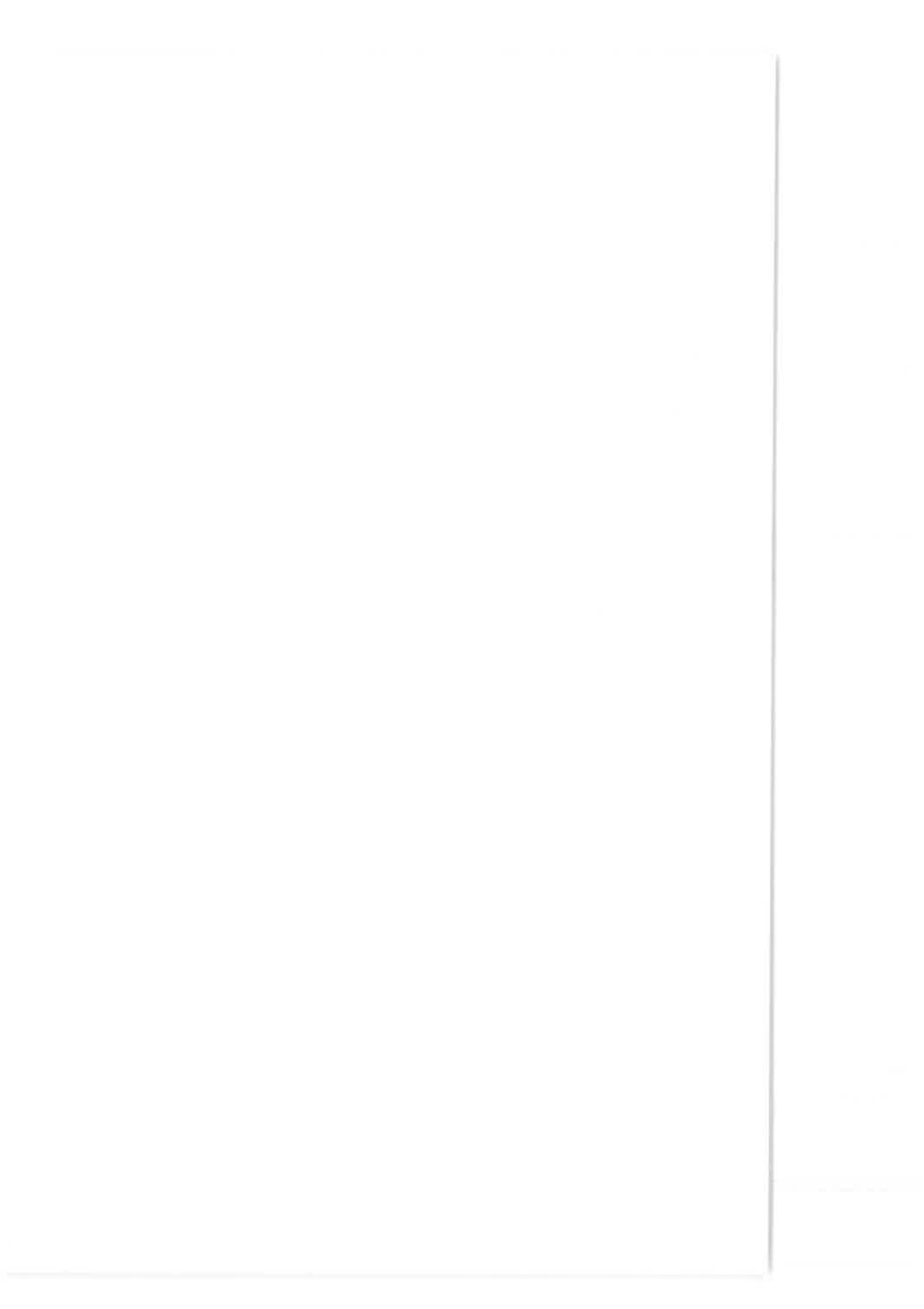
L'observation du tableau montre que la virose de l'enroulement est très répandue chez la plupart des porte-greffes. Cependant, les porte-greffes hybrides entre *Vitis riparia* et *Vitis Berlandieri* (SO<sub>4</sub>, 420 A et 161-49 C.) paraissent moins infectés que les autres variétés.

## SUMMARY

### OBSERVATIONS ON LEAFROLL-VIRUS INFECTION OF COMMONLY USED GRAPEVINE HYBRID STOCK VARIETIES

Leafroll indexing experiments carried out in South of France on *Vitis vinifera* « Cinsaut » indicator variety, revealed very high incidence of leafroll-virus infection among commonly used hybrid stock grapevine varieties. The infection percentages ranged from 1 to 54 p. 100. The less affected were *Riparia Berlandieri* hybrids.

---



# OBSERVATIONS SUR L'INFECTION PAR LE VIRUS DE L'ENROULEMENT CHEZ LE CARIGNAN ET L'ALICANTE BOUSCHET

D. BOUBALS

avec la collaboration technique de R. PISTRE

*Station de Recherches viticoles,  
Centre de Recherches agronomiques, I. N. R. A.,  
34 - Montpellier (France)*

---

## RÉSUMÉ

Le présent travail montre que des symptômes foliaires très voisins ou identiques à ceux provoqués par la virose de l'enroulement peuvent apparaître chez les variétés de *Vitis vinifera* Carignan noir et Alicante Bouschet, sans que les plantes qui les présentent soient infectées par ce virus.

---

## INTRODUCTION

La pratique de la sélection visuelle dans le cadre du Carignan noir et de l'Alicante Bouschet [(Teinturier du Cher  $\times$  Aramon)  $\times$  Grenache] nous a montré que, fréquemment, les parcelles de ces variétés rougissaient de manière généralisée à l'automne. Par bien des aspects ce rougissement rappelait ou dans certains cas était identique à celui provoqué par la virose de l'enroulement. Cependant cette maladie n'intéressant habituellement que des pieds isolés dans les vignes et jamais des parcelles entières, nous avons voulu voir, grâce à des tests de greffage mettant en œuvre des variétés indicatrices de l'enroulement, s'il ne s'agissait pas de phénomènes indépendants de la présence du virus précédent.

## I. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

Dans des parcelles de vignes situées dans les sables du cordon littoral méditerranéen, nous avons repéré en octobre des pieds qui :

- pour le Carignan noir, avaient leur feuillage rouge sans présenter d'enroulement marqué des feuilles,

— pour l'Alicante Bouschet, avaient leur feuillage enroulé et plus ou moins intensément violet.

L'année suivante, au mois de mai des bourgeons de sarments aoûtés (conservés au froid) de Cinsaut noir exempt d'enroulement ont été greffés sur la base de rameaux verts des souches précédentes. Quatre greffons ont été établis sur chacune d'elles. La réussite de ce greffage a intéressé, selon les cas, une à quatre greffes par pied. Les pousses de Cinsaut ont été rabattues à deux bourgeons lors de chaque taille.

Pendant trois ans, on a observé, tard à l'automne, le feuillage des pousses de Cinsaut se développant sur ces souches de Carignan et d'Alicante Bouschet. Il s'agissait de voir si ce feuillage jaunissait normalement ou bien rougissait, dénotant ainsi une infection par l'enroulement de la plante portant les greffes de Cinsaut.

## II. — RÉSULTATS ET DISCUSSION

### 1. — *Cas du Carignan*

Nous avons pu voir que de nombreux pieds de cette variété dont le feuillage rougissait à l'automne, n'extériorisaient jamais d'enroulement sur l'indicateur Cinsaut.

Il n'est pas possible, pour le moment, d'émettre une quelconque hypothèse valable sur la cause de ce rougissement du feuillage chez le Carignan à baies ayant une pellicule noire et à jus blanc. Cependant, on peut dire qu'il paraît lié, d'une part à la variété et, d'autre part, aux conditions de milieu dans lesquelles nous l'avons observé.

### 2. — *Cas de l'Alicante Bouschet*

Par des tests de greffage de Cinsaut sur des souches établies dans des vignobles nous avons pu montrer qu'on trouve assez facilement, dans le sud de la France, des pieds d'Alicante Bouschet non atteints par l'enroulement.

Or, toutes ces plantes apparemment saines ont le limbe des feuilles révoluté (bords retournés vers le bas) durant tout le cycle végétatif et qui rougit à l'automne.

Des observations effectuées sur les descendants de trois croisements entre des variétés de *V. vinifera* et l'Alicante Bouschet nous ont permis de constater que le caractère révoluté des feuilles tout comme la coloration rouge du limbe à l'automne sont des caractères génétiques propres à l'Alicante Bouschet. Les résultats de ces observations sont donnés dans le tableau 1 (résultats détaillés) et dans le tableau 2 (résultats groupés par caractère : coloration du jus des baies, coloration du feuillage à l'automne, limbe révoluté ou plan).

L'Alicante Bouschet étant homozygote pour la couleur noire de la pellicule, tous les descendants des trois croisements ont des grappes à baies noires.

D'après la répartition des descendants de croisements donnée dans le tableau 2, il apparaît probable que :

1° La coloration du jus des baies dépende d'un seul couple de gènes, l'Alicante Bouschet étant hétérozygote pour l'allèle dominant qui conditionne la présence d'anthocyanes dans les cellules de la pulpe. Les variétés Aramon, Carignan et Grenache sont homozygotes pour l'allèle récessif.



TABLEAU I

*Répartition des descendants de trois croisements où intervient l'Alicante Bouschet,  
d'après des caractères des baies et du feuillage  
(résultats détaillés)*

Croisements	Jus des baies	Aspect du feuillage à l'automne			
		sans rougissement		avec rougissement	
		limbe enroulé	limbe plan	limbe enroulé	limbe plan
Alicante Bouschet × Carignan noir	coloré	9	2	26	11
	incolore	45	12	9	4
Alicante Bouschet × Grenache noir	coloré	1	1	13	
	incolore	10	2	1	
Alicante Bouschet × Aramon	coloré	1	1	1	2
	incolore	3			

TABLEAU 2

*Répartition des descendants de trois croisements où intervient l'Alicante Bouschet,  
d'après des caractères des baies et du feuillage  
(groupement des résultats par caractère)*

	jus des baies		feuillage		limbe	
	coloré	incolore	rouge	jaune	enroulé	plan
Alicante Bouschet × Carignan noir	48	70	50	68	79	29
Alicante Bouschet × Grenache noir	15	13	14	14	25	3
Alicante Bouschet × Aramon	5	3	3	5	5	3

2° La coloration rouge du feuillage à l'automne dépend également d'un couple de gènes, l'Alicante Bouschet étant hétérozygote pour l'allèle dominant qui conditionne l'apparition d'anthocyanes dans les cellules du limbe des feuilles. Cependant, nos observations ont montré qu'il y avait des degrés dans l'intensité de ce rougissement.

On note également que les deux caractères, coloration du jus des baies et coloration rouge du feuillage à l'automne, ne sont pas complètement liés (voir tableau 1). Il existe en effet des plantes avec des baies à jus coloré, dont le feuillage ne rougit pas à l'automne.

3° L'enroulement du limbe des feuilles paraît avoir un conditionnement génétique plus complexe.

De toute façon, il est intéressant de remarquer, dans le tableau 1, qu'on obtient des plantes à raisins noirs dont les feuilles sont à limbe révoluté (enroulé) et sans rougissement automnal ce qui permet de penser que le caractère révoluté des feuilles d'Alicante Bouschet est d'origine génétique et non virale.

## SUMMARY

### OBSERVATIONS OF LEAFROLL INFECTION ON CARIGNAN AND ALICANTE BOUSCHET

Foliar symptoms of reddening, on Carignan and Alicante Bouschet *Vitis vinifera* varieties, can occur in absence of leafroll virus. On the latter variety reddening and downward rolling of the leaves have been proved depending on genetical characters.

---

## UN VIRUS LATENT DANS LE CHASSELAS

R. BOVEY

*Station fédérale de Recherches agronomiques de Lausanne,  
Domaine de Changins, 1260 Nyon (Suisse)*

Depuis quelques années, nous utilisons les porte-greffe *Berl. × Rip. 5 BB* et *5 C* comme plantes-test pour l'indexage des clones de vigne soumis à la thermothérapie. Ces deux porte-greffe sont en effet très sensibles au virus du court-noué qui se manifeste par des symptômes foliaires et par l'apparition de nombreux cordons endocellulaires dans les sarments. En outre, ils sont plus faciles à cultiver dans nos conditions que le *Rupestris* du Lot dont le clone « St. George » est fréquemment utilisé pour déceler le virus du court-noué ou d'autres virus (HEWITT *et al.*, 1962, BOVEY, 1965).

A plusieurs reprises, nous avons toutefois obtenu, avec ces deux indicateurs, des résultats apparemment aberrants : quelques plantes jugées saines provoquaient, lors des transmissions par greffe, des réactions plus violentes sur les plantes-test que des sources d'infection nettement atteintes de court-noué. Le cas le plus net s'est produit dans un essai effectué en 1958 avec la collaboration de la section de viticulture de notre Station, et qui était justement destiné à éprouver la valeur de ces deux variétés de porte-greffe comme plantes-test pour le court-noué de la vigne. Nous avions utilisé comme porte-greffe des sarments de Chasselas et de Gamay sains ou infectés par le virus du court-noué, et comme greffons du *5 BB* et du *5 C* sains. Le matériel « sain » de Chasselas provenait de deux clones sélectionnés pour leur haut rendement, leur absence de symptômes de dégénérescence infectieuse et l'excellente qualité de la récolte. Celui de Gamay provenait d'un clone sélectionné également sur la base des symptômes. Le matériel dégénéré provenait de nos essais antérieurs. Notre surprise fut grande de constater, dès la première année, que les plantes de *5 BB* et de *5 C* greffées sur le Chasselas « sain » présentaient une très forte inhibition de croissance et des symptômes de type virose nettement distincts de ceux du court-noué, tout en étant, en fait, plus intenses que ces derniers sur les mêmes indicateurs. En revanche, les pousses de *5 BB* et *5 C* greffes sur Gamay sain ne montraient aucun symptôme.

Des résultats identiques furent obtenus à plusieurs reprises dans les tests d'indexage par écussonnage (« chip-budding ») dans lesquels les deux indicateurs croissaient sur leurs propres racines. Il ne s'agissait donc pas d'un effet dû à la combinaison inhabituelle du porte-greffe et du greffon.

Voici une brève description des symptômes observés :

La première croissance est retardée et fortement rabougrie. Les feuilles les plus basses sont enroulées en forme de cuillère, avec des bords chlorotiques. La plupart des autres feuilles sont plus ou moins déformées, leurs nervures tertiaires s'éclaircissent par endroits, formant de petites taches translucides (« vein clearing »). Ce symptôme apparaît surtout sur les feuilles ombragées (fig. 1 et 2). Lorsque la température s'élève en juillet ou en août, les nouvelles feuilles sont de forme normale, mais plus petites que celles des plantes saines. Si la température s'abaisse pendant quelques jours, les symptômes réapparaissent. Les sarments mûrissent mal et les plantes atteintes dépérissent peu à peu. Le Chasselas lui-même ne montre aucun symptôme qui puisse être mis en relation avec cette maladie.

Des essais de transmission par inoculation mécanique à *Chenopodium quinoa* ont donné des résultats négatifs, alors que dans les mêmes conditions le virus du court-noué était facilement transmis à partir des feuilles des vignes greffées sur Chasselas dégénéré. Le contrôle des cordons endocellulaires a également donné des résultats négatifs sur les témoins, alors que les séries infectées par le virus du court-noué portent pour la plupart un nombre considérable de cordons. Enfin, des tests sérologiques aimablement effectués par le Dr VUITTENEZ et M. KUSZALA, à Colmar, avec un antiserum contre le virus du court-noué, ont donné des résultats négatifs.

Cette maladie semble donc distincte du court-noué de la vigne. Elle s'apparente par certains caractères à la mosaïque décrite récemment par VUITTENEZ (1966) et à la tacheture (« Fleck ») signalée par HEWITT *et al.*, (1962, 1970).

Nous avons pu observer récemment les symptômes du virus latent du Chasselas sur *Vitis rupestris* Saint-George (fig. 2). Les taches translucides sur les nervures de troisième ordre sont très semblables à celles qui caractérisent la tacheture (« Fleck ») de HEWITT *et al.* (1962) et les syndromes analogues décrits lors de la réunion de l'I. C. V. G. à Colmar (1970) par NEL et ENGELBRECHT et par RIVES. Pour l'instant, nous n'avons trouvé ce virus que dans les clones de Chasselas mentionnés ci-dessus, et nous ne savons pas s'il est répandu ailleurs.

Si l'on considère la gravité des symptômes que ce virus produit sur les portegreffe 5 BB et 5 C, communément utilisés en Suisse romande pour la culture du Chasselas, il est surprenant qu'il soit passé inaperçu jusqu'à maintenant, et que deux de nos meilleurs clones, de Chasselas, sélectionnés avant que l'on connaisse les virus de la vigne, en soient infectés. Son importance économique ne paraît pas considérable pour la culture du Chasselas, mais sa présence gêne beaucoup le travail d'indexage si l'on utilise comme plante-test, pour déceler le virus du court-noué, une variété qui lui est très sensible. Nous remercions le Dr VUITTENEZ et M. KUSZALA pour les tests virologiques qu'ils ont eu l'obligeance de faire à Colmar, ainsi que MM. J.-L. PITTON et J.-J. BRUGGER pour leur collaboration.

## SUMMARY

### A LATENT VIRUS ON « CHASSELAS »

In an experiment started in 1958, graft transmission of fanleaf virus was made from infected Chasselas and Gamay, taken as rootstocks, to the healthy *Berl. × Rip.* varieties 5 C and 5 BB taken as scions. To our surprise, severe symptoms different from those of fanleaf were observed every

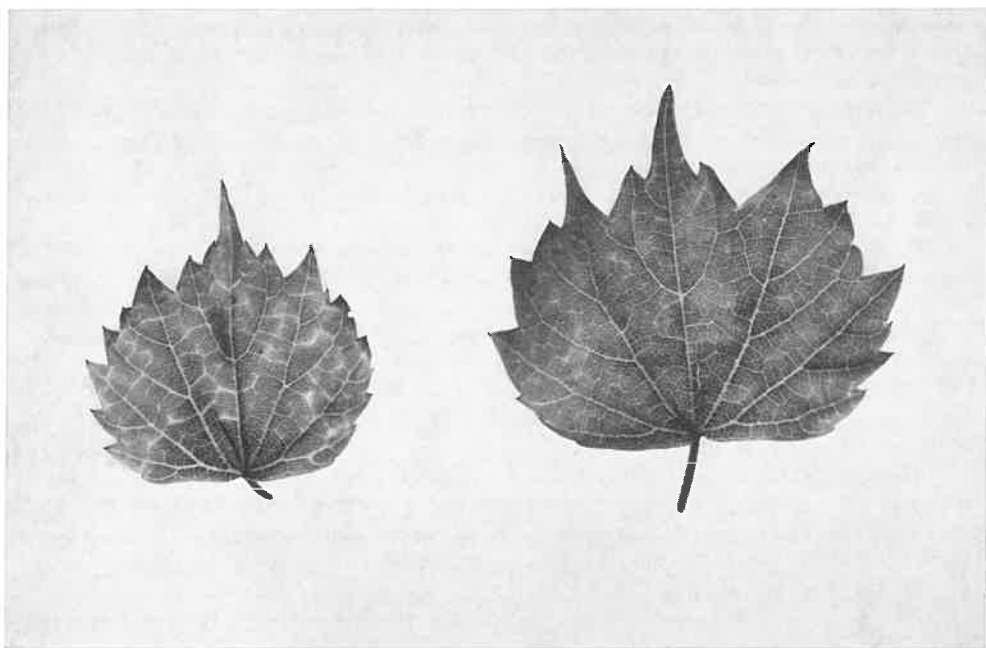


FIG. 2. — Symptômes produits par le virus latent du Chasselas sur la variété de porte-greffe *Rupestris Saint-George*

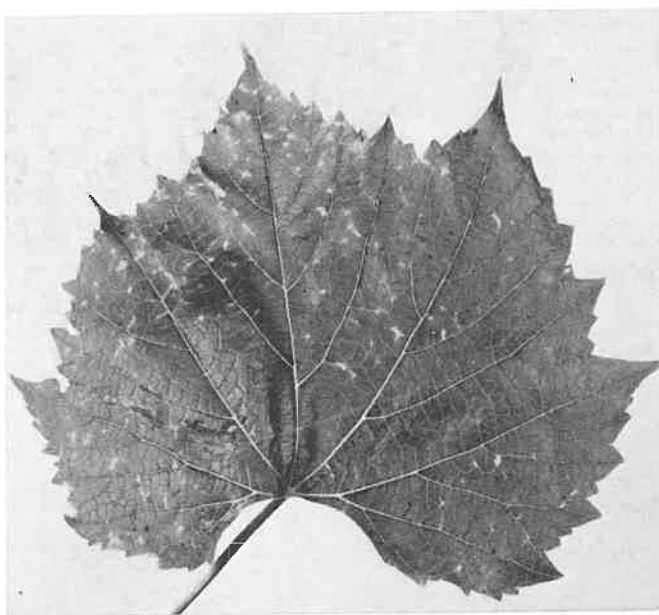


FIG. 1. — Symptômes produits par le virus latent du Chasselas sur la variété de porte-greffe *Berl. x Rip. 5 C*

year on the supposedly healthy controls made of healthy 5 C or 5 BB grafted on two clones of Chasselas that were considered as the best and had been selected for their high yield and good quality. Similar symptoms were obtained when the same clones were indexed by chip budding on 5 BB growing on its own roots.

The first growth is retarded and much stunted. Inferior leaves are cupped, with chlorotic edges. Most of the other leaves are crinkled, with vein-clearing developing mostly on shaded leaves. When the temperature raises in July and August, leaves of normal shape, but smaller than healthy leaves, will develop, but distorted leaves may appear again during a cold spell. The canes cannot mature normally and the plants die back slowly.

Infected Chasselas shows no symptom that could be linked with this disease. No virus could be transmitted mechanically to *Chenopodium*. Serological tests kindly made by Dr VUITTENEZ and Mr KUSZALA with fanleaf antiserum were negative. There are no trabeculae in shoots of 5 BB or 5 C infected with this disease, whereas the same indicators infected with fanleaf had many trabeculae.

This disease seems different from fanleaf, and it has similarities with the « Marbrure » described recently by VUITTENEZ and « Fleck » described by HEWITT *et al.* If it is due to a virus, this is a latent virus in Chasselas.

The extent of this disease in other clones of Chasselas and in non clonal Chasselas in vineyards is not known, nor is its distribution in other varieties. It is surprising that such a virus, which is very severe on two rootstocks commonly grown in Switzerland, should appear in some of our best clones of Chasselas. Whether it is just a coincidence or not will be known when virus-free infected clones are compared.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BOVEY R., 1965. Identification of viruses in clonally propagated plants having one or more viruses *Proceedings Internat. Conf. on Virus and Vectors on Perennial Hosts*, Davis, Calif., 223-227.
- HEWITT Wm. B., GOHEEN A. C., RASKI D., J., GOODING V. Jr., 1962. Studies on virus diseases of the grapevine in California. *Vitis*, **3**, 57-83.
- HEWITT Wm. B., GOHEEN A. C., CORV L., LUHN C., 1970. Grapevine fleck disease, latent in many varieties, is transmitted by graft inoculation. *IV<sup>e</sup> réunion I. C. V. G., Colmar*, 16-18 juin 1970, résumé des communications.
- NEL A. C., ENGELBRECHT D. J., 1970. Grapevine virus diseases in South Africa and the influence of latent viruses in the nursery. *IV<sup>e</sup> réunion I. C. V. G., Colmar*, 16-18 juin 1970, résumé des communications.
- RIVES M., 1970. Séparation de la marbrure et du court-noué (panachure) chez la vigne par thermothérapie. *IV<sup>e</sup> réunion I. C. V. G., Colmar*, 16-18 juin 1970, résumé des communications.
- VUITTENEZ A., 1966. Observations sur une mosaïque de la vigne, probablement indépendante du virus du court-noué. *Ann. Épiphyties*, **17**, n° hors série, 67-73.

# OSSERVAZIONI E RELAZIONI FRA TRASLOCAZIONE DEL VIRUS DEL MOSAICO GIALLO (GYMV), DELLA SCOLORAZIONE PERINERVALE (GVBV) E CORDONI ENDOCELLULARI IN PIANTE DI VITE

G. FOGLIANI

*Istituto di Patologia Vegetale della Facoltà di Agraria  
dell'Università Cattolica del S. Cuore,  
Piacenza (Italia)*

---

## RIASSUNTO

L'autore mette in evidenza la relazione diretta fra il virus del mosaico giallo (GYMV) e della scolorazione perinervale (GVBV) della vite con la formazione dei cordoni endocellulari e, approfittando della presenza di un *trauma* su di un tralcio di vite da portainnesto descrive, secondo le sue interpretazioni, come è avvenuta la replicazione e la traslocazione del o dei virus o loro ceppi indicati. Si riserva di ritornare sulle risultanze sperimentali acquisite, per compararle con la letteratura in argomento.

---

## PREMESSA

Con la presente nota intendo esporre i risultati di un lavoro sperimentale da me effettuato in Portogallo, presso la Stazione Agronomica Nazionale nell'anno 1959, su materiale da portainnesto cv. B.  $\times$  R. Kober 5 BB (E 345/4) gentilmente messo a mia disposizione dall'amico Prof. H. DIAS, che ancora ringrazio sentitamente per avermi gentilmente ospitato presso il Dipartimento di Fitopatologia in Oeiras negli anni 1957, 58, 59. Come già riferito in altra nota (FOGLIANI, 1964), ho ritenuto di studiare la relazione esistente fra sintomatologia esterna, in quell'epoca denominata « degenerazione infettiva » (precisamente, in lingua portoghese : urticado e clorose infecciosa ed inoltre, in lingua italiana : malformazioni infettive, FOGLIANI, 1957) ed oggi invece « complesso dell'arriciamento » (GFV) — sul quale termine, intendo ritornare in altra occasione — e precisamente : mosaico giallo (GYMV), scolorazione perinervale (GVBV), secondo BALDACCI e BELLI

(1967), ed il sintomo anatomico « cordoni endocellulari » da PETRI considerato sintomo specifico e legato alla malattia e soprattutto pertanto elemento diagnostico, ma non ritenuto tale da diversi ricercatori, soprattutto italiani.

Rimando al citato lavoro (FOGLIANI, 1964), per quanto riguarda il materiale studiato, la tecnica di studio e conteggio (da me messi a punto), le osservazioni particolari, ecc.

#### MATERIALE E METODO DI STUDIO

Dalla vite oggetto di studio (E 345/4, B.  $\times$  R. Kober 5 BB), coltivata dal Prof. H. DIAS nel suo « Vigneto Clorosi » e formata come segue: *portainnesto* costituito da una barbatella della cv. europea Fernão Pires, che aveva presentato in vivaio e quindi prima dell'innesto, sintomi evidenti di « clorose infecciosa », e *marza* della cv. B.  $\times$  R. Kober 5 BB, preventivamente saggiata sulle viti test sane Fernão Pires e Vital (che a seguito di queste operazioni e dopo l'innesto possiamo definire vite fortemente virosata) è stato prelevato un tralcio, in data 13-8-1959, con le modalità da me indicate (FOGLIANI, 1964). Dall'esame preliminare è risultato quanto segue:

lunghezza del tralcio m 2,61; sviluppo vegetativo vigoroso; presenza di un internodo ravvicinato al 16° internodo; a cm 140 dalla base ed in corrispondenza del 15° internodo, si osserva un trauma (il tipo di formazione lascia pensare che sia stato prodotto dagli operai, durante il passaggio per effettuare i lavori colturali), con un callo cicatriziale, che divide la parte inferiore del tralcio dalla parte superiore, la quale risulta di dimensione doppia rispetto a quella inferiore.

Di particolare rilievo poi la mancanza assoluta di manifestazioni cromatiche a carico delle foglie, situate su tutta la lunghezza del tralcio (sia sotto che sopra il trauma), come pure su tutte le foglie di tutte le femminelle situate su tutto il tralcio, ad esclusione della femminella posta sul nodo subito al disotto del trauma (foto 1, effettuata dal prof. H. DIAS) la quale presenta foglie con abbondante mosaico giallo (GYMV); che ha una colorazione molto vivace particolarmente intensa e che si manifesta, a volte, a macchie più o meno larghe, sparse variamente sulle lamine fogliari, interessandole anche in gran parte. Da notare inoltre che, in prevalenza, sono le foglie più giovani a presentarsi interessate — quasi totalmente — dal mosaico giallo.

Infine, su questa femminella, alcune foglie poste alla base, ossia formatesi per prime, presentano diverse nervature principali con scolorazioni perinervali (GVBV), anch'esse di un colore giallo intensissimo.

Dopo aver effettuato le osservazioni sopra riportate, ho proceduto, come di consueto, alla ricerca dei cordoni endocellulari nelle sezioni del tralcio prelevate al 2° internodo di base. Ecco il numero di cordoni endocellulari rilevati nelle 5 sezioni analizzate: 49; 47; 53; 51; 52. Dato che le file di vasi legnosi conteggiate erano 68, risulta una percentuale di cordoni endocellulari pari al 74,1 p. 100, che è elevatissima e tipica delle cv. recettive (come questa in esame) e particolarmente infette da virosi.

Per quanto riguarda la struttura anatomica delle sezioni si osserva quanto



segue : i vasi legnosi sono piuttosto piccoli, mal differenziati, deformati e irregolari ; ossia si osserva un disordine anatomico abbastanza accentuato.

Ho inoltre effettuato, come di consueto, anche l'analisi dei cordoni endocellulari nelle sezioni prelevate al 2° internodo di base della femminella. Questa, posta alla base del tralcio, era situata al 5° nodo ; lo sviluppo era normale e la lunghezza di cm 32.

Il numero di cordoni endocellulari, rilevati rispettivamente nelle 5 sezioni analizzate, è stato di : 7 ; 4 ; 7 ; 9 ; 6, con un numero di file di vasi legnosi costituenti la sezione, di 60, per cui risulta la percentuale dell'11,0 *p. 100* di cordoni endocellulari, che è pure molto elevata per una femminella situata alla base del tralcio. Per quanto riguarda la struttura anatomica delle sezioni, i vasi legnosi sono piccoli e mal differenziati. A questo punto ho proceduto alla ricerca dei cordoni endocellulari posti nelle sezioni dei seguenti internodi : n° 13° del tralcio e n° 2° della femminella, situati entrambi sotto il trauma e al n° 17°, situato invece sopra il trauma (vedi fig. 1). Ecco i risultati :

— Al 13° internodo, nelle 5 sezioni analizzate, sono state rilevate rispettivamente 0 ; 0 ; 0 ; 1 ; 0, cordoni endocellulari ; dato che i vasi legnosi sono 66, risulta una percentuale di 0,30 *p. 100* di cordoni endocellulari, che è praticamente nulla. Infatti — normalmente — non si rilevano mai cordoni endocellulari a queste distanze dalla base dei tralci. Per quanto riguarda la struttura anatomica delle sezioni, si notano vasi larghi ma irregolari e molto mal differenziati.

— Al 2° internodo della femminella, nelle 5 sezioni analizzate, sono stati rilevati rispettivamente : 1 ; 4 ; 3 ; 0 ; 1, cordoni endocellulari e, dato che i vasi legnosi sono 44, risulta una percentuale del 4,09 *p. 100* di cordoni endocellulari. E' questa, per una femminella, ma soprattutto in relazione alla sua posizione sul tralcio, una percentuale di cordoni endocellulari molto elevata. Dalla osservazione della struttura anatomica delle sezioni risulta che i vasi legnosi sono larghi, ma deformati.

— Al 17° internodo del tralcio, posto sopra il trauma, nelle 5 sezioni analizzate sono stati rilevati rispettivamente : 4 ; 6 ; 8 ; 4 ; 3, cordoni endocellulari e, dato che i vasi legnosi sono 66, risulta una percentuale del 7,5 *p. 100* di cordoni endocellulari, percentuale molto elevata in quanto, come detto a proposito delle analisi effettuate al 13° internodo del tralcio — normalmente — non si rilevano mai cordoni endocellulari a queste distanze dalla base dei tralci. Dalla osservazione della struttura anatomica delle sezioni risulta che i vasi legnosi sono larghi, deformati e male differenziati.

## CONCLUSIONI

1. Dalle risultanze sperimentali constato e ribadisco ancora una volta, che i cordoni endocellulari sono strettamente legati alla presenza delle virosi nelle viti. Per individuarli, bisogna applicare la tecnica da me messa a punto in tutti i suoi dettagli, nel corso del lavoro effettuato in Portogallo (FOGLIANI, 1964).

Infatti, i cordoni endocellulari, nel caso in esame, sono stati rilevati in percentuali elevate alla base del tralcio (2° internodo), che — normalmente — è la

zona in cui appaiono con maggiore frequenza, come pure alla base (2° internodo) della prima femminella, situata sul tralcio.

Va rilevato che, il tralcio in esame, era stato prelevato nel punto più alto della vite, come già da me indicato nel lavoro precedentemente citato.

Una percentuale elevata di cordoni endocellulari poi (la percentuale è elevata in relazione alla sua posizione sul tralcio) è stata osservata alla base della femminella (2° internodo), posta subito sotto il trauma (foto 1), femminella che presentava sulle foglie, con notevole intensità, manifestazioni di mosaico giallo (GYMV), come pure scolorazioni perinervali (GVBV), queste però in minor quantità.

Pressochè nulla percentuale di cordoni endocellulari riscontrata sul tralcio in corrispondenza del 13° internodo (sotto il trauma), mentre elevata è stata la percentuale rilevata in corrispondenza del 17° internodo, posto sopra il trauma.

Quali sono i motivi che giustificano questi reperti, sia nei casi positivi che in quelli negativi?

Lì passo brevemente in rassegna, riservandomi di ritornare con altra nota su questo argomento, per comparare i risultati ottenuti con la bibliografia in argomento.

1° Come fatto di notevole importanza dobbiamo ricordare la posizione nella quale si trovava il tralcio sulla pianta prima del prelevamento, ossia nel punto più alto del ceppo, potato a testa di salice. E' qui infatti che, normalmente — per le viti da portainnesto — il germogliamento è più precoce. Pertanto la linfa greggia, proveniente dall'apparato radicale, ha esercitato in primo luogo la sua azione sulle gemme poste sulla parte apicale di questo tipo di vite, che sono state pertanto le prime a germogliare. Anche *il* o *i* virus oppure i loro ceppi sono stati convogliati in maggior concentrazione in questi punti (gemme), dove hanno avuto modo di replicarsi e di dare origine — presumibilmente — vuoi direttamente oppure indirettamente, ai cordoni endocellulari, con modalità prevalente di traslocazione lenta da cellula a cellula.

Quanto sopra vale anche per la prima femminella posta verso la base del tralcio, dove la linfa greggia, anche in quel punto ha esercitato la sua azione.

Quando invece dalla struttura primaria si è passati alla struttura secondaria si è avuta prevalentemente una traslocazione veloce e a lunga distanza del o dei virus o loro ceppi, i quali si sono mossi nel senso della circolazione della linfa.

2° Dopo la formazione del trauma al 15° internodo, fatto determinante per questa mia sperimentazione, la linfa ascendente, trovando i fasci fibro-vascolari danneggiati, è stata convogliata, in un primo tempo nella femminella posta subito sotto (vedi fig. 1) unitamente *al* o *ai* virus o loro ceppi, per cui si osserva l'intensa colorazione cromatica delle sue foglie, dovuta all'alta concentrazione virale raggiunta. Ecco i motivi per cui, al 2° internodo di base della femminella indicata, è stata riscontrata una percentuale elevata di cordoni endocellulari, mentre una percentuale quasi nulla è stata rilevata invece al 13° internodo del tralcio per nulla oppure appena interessato da una lievissima concentrazione del o dei virus o loro ceppi.

3° Altro fatto di estremo interesse è rappresentato dal notevole ingrossamento del tralcio, posto sopra il trauma, per cui la linfa elaborata non potendo scendere, a causa dei danni provocati al floema, ha ristagnato. In questo punto, 17° internodo, è stata riscontrata una elevata percentuale di cordoni endocellulari, il che fa presu-

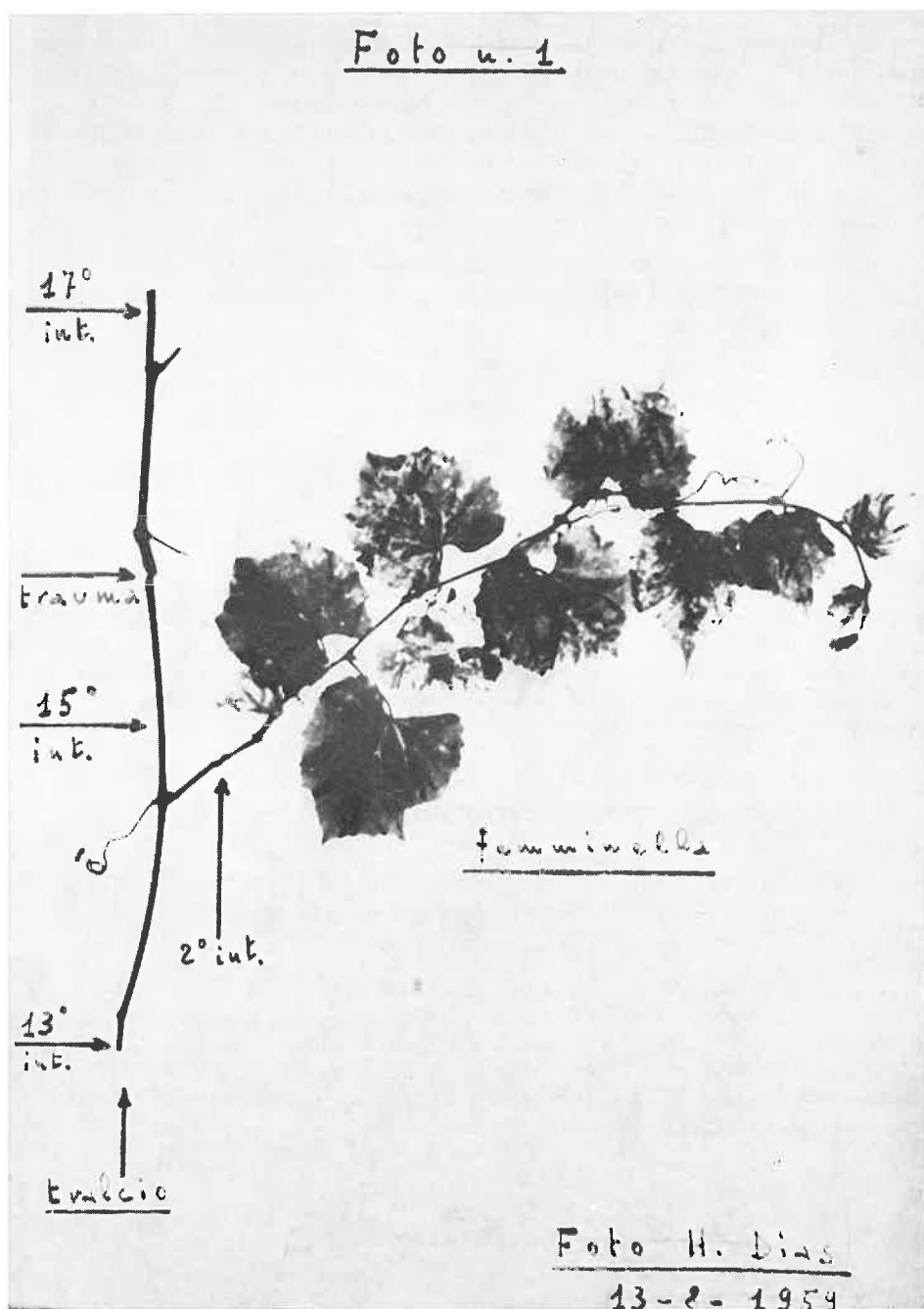


FIG. 1. — *Tralcio esaminato*  
(B. x. R. Kober 5 BB affetto da mosaico giall e da scolorazime perinervale)

mere la presenza di una certa concentrazione del o dei virus o loro ceppi in fase di trasporto discendente, — i quali però, tramite il sistema radiale, hanno avuto modo di essere traslocati nello xilema a causa della presenza del trauma, dando origine, vuoi direttamente oppure indirettamente, alla formazione dei cordoni endocellulari — concentrazione che, mentre non è stata sufficiente a manifestare nella porzione distale del tralcio, alterazioni cromatiche visibili (sia su foglie, femminelle, ecc.), ha dato origine o ha permesso invece formazione dei cordoni endocellulari osservati.

4° Rimane infine da sottolineare la relazione diretta fra traslocazione del virus del mosaico giallo (GYMV), e della scolorazione perinervale (GVBV), con la formazione dei cordoni endocellulari.

### RÉSUMÉ

#### OBSERVATIONS SUR LA RELATION ENTRE LES CORDONS ENDOVASCULAIRES ET LA TRANSMISSION DE LA PANACHURE DE LA VIGNE (GRAPE YELLOW MOSAIC ET GRAPE VEIN BANDING)

L'auteur met en évidence la relation directe entre le virus de la mosaïque jaune (GYMV) et de la décoloration périnervaire (GVBV) de la vigne, avec la formation des cordons endocellulaires, et, profitant d'un traumatisme sur un sarment de vigne porte-greffe, il décrit (suivant son interprétation) comment se sont produits la reproduction et le déplacement des deux virus indiqués.

L'auteur se réserve de revenir sur les résultats expérimentaux obtenus, afin de les comparer avec le sujet discuté ici.

### SUMMARY

#### OBSERVATIONS UPON THE TRANSMISSION OF GRAPEVINE PANACHURE (GRAPE YELLOW MOSAIC AND GRAPE VEIN BANDING), IN RELATION TO TRABECULAE

The writer puts in evidence the direct relationship between the yellow mosaic (GYMV) and the vein banding (GVBV) of the vines with the formation of the endocellular cords (trabeculae) and benefitting by the presence of a traumatism on a graftbearing vine-shoot, he explains, according to his own interpretation, how the reproduction and the moving of the two identical viruses came about. The writer, will, however, speak later about the experimental results obtained by comparing them with the literature data.

### LITTERATURA

- FOGLIANI G., 1964. Ricerche sperimentali sui cordoni endocellulari nella vite. Nota 1. *Ric. Sci.*, **34** (II B), 417-438.
- FOGLIANI G., 1957. Considerazioni sulle attuali ricerche delle malattie da virus nella vite in Portogallo *Annali Fac. Agr. Milano*, **6**.
- BALDACCINI E., BELLI G., 1967. Ricerca e identificazione di virus a basso titolo e di virus a bassa virulenza della pianta di vite. *Riv. Pat. Veg.*, S. IV, **3**.

NUOVE ACQUISIZIONI SULL'IMPIEGO DELLA TECNICA  
DEI CORDONI ENDOCELLULARI,  
IN VITI AFFETTE DAL VIRUS  
DELL'ARRICCIAMENTO (GFV),  
DEL MOSAICO GIALLO (GYMV),  
E PRESUNTE SANE

G. FOGLIANI

*Istituto di Patologia Vegetale della Facoltà di Agraria  
dell'Università Cattolica del S. Cuore  
Piacenza (Italia)*

---

RIASSUNTO

L'autore, dopo aver analizzato, ad iniziare dal 1959, tutti i tralci di n° 41 piante di viti europee appartenenti a cv. diverse, coltivate secondo distinti sistemi di allevamento ed in varie località, aventi le più differenti e presentanti le seguenti malattie da virus : arricciamento (GFV) e mosaico giallo (GYMV) come pure viti « presunte sane » (secondo una selezione effettuata per morfotipi), ha riportato su tavole i disegni di sole n. 8 cv. di viti — per brevità — con l'indicazione della posizione dei tralci sulle piante, la loro lunghezza, la presenza di sintomi di virosi e le relative percentuali di cordoni endocellulari rilevate.

Da un primo esame effettuato risulta che i cordoni endocellulari sono sempre presenti nelle sezioni dei tralci di qualsiasi pianta ; che la percentuale maggiore si rileva, normalmente, a seconda del sistema di allevamento, nei tralci posti più in alto, o più lontani dal ceppo oppure sui tralci che si formano da gemme poste nei punti di maggiore curvatura.

A seguito dei risultati ottenuti si ritiene di estrema importanza allevare viti per la propagazione vegetativa con particolari modalità indicate nel testo, previa però l'analisi del materiale con il metodo dei cordoni endocellulari.

L'autore si riserva di ritornare sull'argomento, dopo aver elaborato tutti i dati in suo possesso.

---

## RÉSUMÉ

NOUVELLES ACQUISITIONS SUR LA TECHNIQUE  
DE RECHERCHE DES CORDONS ENDOCELLULAIRES  
CHEZ LES VIGNES INFECTÉES DE COURT-NOUÉ,  
DE PANACHURE ET SUPPOSÉES SAINES

L'auteur, après avoir analysé à partir de 1959 tous les sarments de 41 picds de vignes européennes, appartenant à différentes variétés, conduites selon des procédés distincts de culture et en diverses localités, ayant les âges les plus disparates et présentant les maladies à virus suivantes : frisolée (GFV) et mosaïque jaune (GYMV), aussi bien que des vignes « présumées saines » (selon une sélection effectuée par morphotypes), a reporté sur planches les dessins de 8 cultivars de vignes portant l'indication du développement des sarments sur les plantes, leur longueur, la présence de symptômes de virose et les pourcentages relatifs de cordons endocellulaires relevés.

D'après un premier examen effectué, il résulte que les cordons endocellulaires sont toujours présents sur les sections des sarments de n'importe quelle plante ; que le plus grand pourcentage se relève, normalement selon le procédé de culture, sur les sarments placés plus haut ou plus loin du cep, ou bien sur les sarments qui se forment à partir des bourgeons se trouvant aux points de plus grande courbure.

A la suite des résultats obtenus, on retient qu'il est important de cultiver la vigne pour la propagation végétative selon des modalités particulières, de façon à procéder valablement à l'analyse du matériel selon la méthode des cordons endocellulaires.

L'auteur se réserve de revenir sur ce sujet après avoir confronté toutes les données en sa possession.

## SUMMARY

NEW RESULTS CONCERNING SEARCH TECHNIC  
FOR TRABECULAE IN FANLEAF OR YELLOW MOSAIC  
DISEASED AND PRESUMABLY HEALTHY GRAPEVINES

The writer, after having analyzed, beginning 1959, all the vine-shoots of forty one (41) European vines, belonging to different kinds, cultivated according to distinct systems of growth and in different zones, and being of the most varied ages, and presenting the following virus diseases : curling (GFV) and yellow mosaic (GYMV) as « vines presumed to be healthy » (according to a selection carried out for morphological types), the designs of 8 cultivars of vines indicating the course of the vine-shoots on the plants, their lengths, the presence of virus symptoms and the relative percentage of the endocellular-cords (trabeculae) have been reproduced.

From a preliminary record, the results are the following : the endocellular cords are always present in the sections of the vine-shoots of any plant, the highest percentage normally occurs, according to the system of growth, in vine-shoots placed higher or farther from the stump or which arose from buds found especially where they are bent.

According to the results obtained, it is believed to be important to grow the vines for vegetative propagation with particular formality if analysis of the material by the method of the endocellular cords is to be undertaken. The writer will go back to speak on the matter after having elaborated all the data in his possession.

# GRAPEVINE FLECK DISEASE, LATENT IN MANY VARIETIES, IS TRANSMITTED BY GRAFT INOCULATION

W. B. HEWITT, A. C. GOHEEN\*, L. CORY, and C. LUHN

*University of California and  
\* United States Department of Agriculture,  
Department of Plant Pathology,  
University of California, Davis (U.S.A.)*

---

## SUMMARY

Fleck was originally recognized only as a symptom of a virus or a virus complex in the indicator variety *Vitis rupestris* St. George. Results of an earlier analysis of graft transmission tests indicated the disease was similar to the vein clearing mosaic disease described by VUITTE-NEZ in 1966. However, recent, more extensive tests, demonstrate that fleck and vein clearing have different causes and are not synonymous.

The fleck disease is characterized in the indicator plant St.-George by chlorotic translucent vein break usually in the third and fourth order veins of young and medium aged leaves. The vein breaks will usually vary from one to three millimeters in length. The number of flecks on a leaf may vary from one to many. Leaves with numerous flecks are twisted and wrinkled.

Fleck has been transmitted by graft inoculation to several varieties of *Vitis vinifera* and to hybrid rootstocks. Symptoms show in St.-George and Kober 5 BB but not in many varieties tested some of which are Baco 22A, Black Malvoisie, Cardinal, Carignan, Clairette Blanche, Grand Noir, Mission and Petite Sirah. Back-inoculation to the indicator plant St.-George which showed typical symptoms of fleck demonstrated the varieties carried the virus but did not show symptoms of the disease.

Grapevine fleck virus has been recovered from many varieties collected from different areas of California. The disease has been observed in indicator plants under tests in South-Africa and in Australia.

---

Fleck was originally recognized only as a symptom in *Vitis rupestris* St. George. The symptom became evident in comparisons during indexing of grapevine varieties for the presence of viruses, only when certain clonal selections were indexed by chip-bud-graft on the indicator plant St. George (HEWITT, *et al.*, 1962). The cause or origin of the symptom was not evident at that time. The fleck symptom was often associated with other symptoms caused by grapevine fanleaf virus but not always. Results of early transmission tests indicated the fleck symptom was

similar to symptoms caused by grapevine vein-clearing virus (GVCV) (Anon. 1958; VUITTENEZ, 1966; HEWITT, 1968) and the same as marbrure du rupestris (VUITTENEZ personal communication). Result of subsequent transmission tests to different varieties show that fleck disease and vein clearing mosaïque disease (VUITTENEZ, 1966) are not synonymous, and that they are not caused by the same transmissible agent.

The fleck disease is characterized in St. George by a slightly chlorotic translucent vein break, usually in the third or fourth order veins. The number of flecks on a leaf may vary from one to many. Leaves with the numerous flecks are often wrinkled and twisted. Figure 1 shows the various symptoms associated with fleck disease.

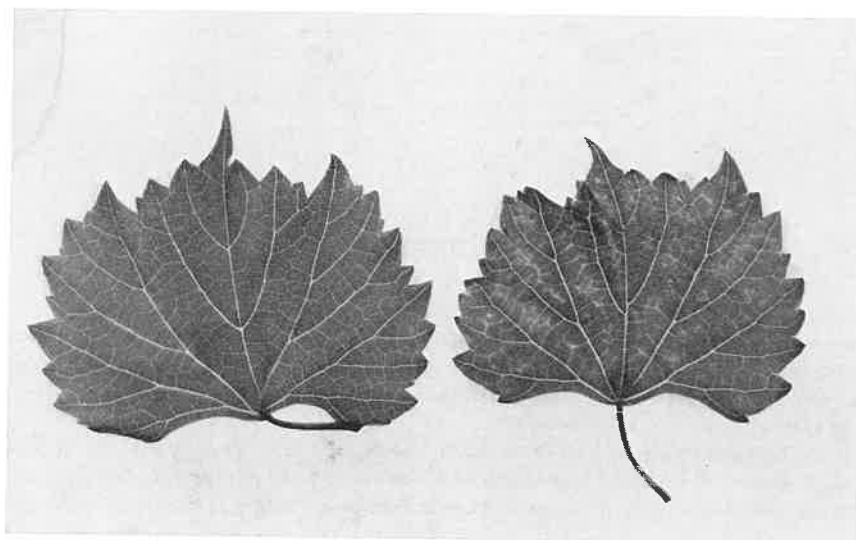


FIG. 1. — Grapevine fleck disease in *Vitis rupestris* St. George; leaf on the left is healthy and the leaf on the right shows symptoms of fleck disease

Results of indexing by chip-bud-grafting to indicator plants in the 1958 season showed that the cause of fleck was transmitted to the St. George indicator plant from only certain clonal variety selections. In 1960 five St. George indicator plants that had been graft inoculated in 1958 from five different clones namely Seibel 5279, Tokay 9 V 2, Zinfandel H 22 V 7, and H 3 V 10 and French Colombard 23 V 19 were used as donor source for fleck. These five St. George plants that had received virus inoculation from the vinifera varieties were indexed on Mission, Carignane, LN 33, Kober 5 BB and St. George. Results of indexing showed that all five clones had transmitted fleck and grapevine leafroll virus. In addition the Seibel clone transmitted fanleaf virus and a virus causing yellow speckle mottle and the Tokay clone transmitted the yellow speckle mottle.

The St. George indicator plant 0-680-1 from these same 1960 indexing tests was used as a donor source for the grapevine fleck virus (GF1kV) for the following experimental test carried out in 1967 through the spring of 1970. The original source plant for this GF1kV was Zinfandel H 22 V 57.



The variety clones and rootstocks used for transmission tests were from the University of California Foundation Vineyard Planting, Davis. All grapevines used in the experiments were propagated by rooting cuttings in sand over heating cable on the greenhouse bench. Approach grafts and chip-bud-grafts were made in the accepted manner.

TABLE I

*Transmission tests with grapevine fleck disease  
from the donor plant Vitis rupestris St. George to varieties listed in three experiments*

Variety	Experimental test <sup>(1)</sup>			
	I	II	III	
	Approach Grafted		Chip Bud Grafted	
	1967-68	1968-69	inoculated 1968-69	back indexed 1970 on St. George
Kober 5BB .....	+	+	+	+
Teleki 5A .....	—	—	—	+
Richter 99R .....	—	—	—	—
Richter 110R .....	—	—	—	—
LN-33 (Univ. of Cal. Davis) .....	—	—	—	—
<i>Vitis rupestris</i> St. George .....	+	+	+	+
V. Constantia .....	—	—	—	—
Baco 22A .....	—	—	—	+
Black Malvoisie .....	—	—	—	+
Cardinal .....	—	—	—	+
Carignane .....	—	—	—	+
Clairette Blanche .....	—	—	—	+
Emperor .....	—	—	—	+
Grand Noir .....	—	—	—	—
Italia .....	—	—	—	—
Malaga .....	—	—	—	—
Mission .....	—	—	—	—
Muscat of Alexandria .....	—	—	—	+
Petite Sirah .....	—	—	—	+
Ribier .....	—	—	—	+
St. Émilion .....	—	—	—	—
Thompson Seedless .....	—	—	—	—
Valdepenas .....	—	—	—	+
Zinfandel .....	—	—	—	—
Donor Control: Fleck, St. George	—	—	—	—
O-680-1 .....	+	+	+	+

<sup>(1)</sup> Healthy controls plants were all healthy - no symptoms of fleck were observed.  
+ = positive symptoms ; — = no symptoms.

In 1967 rootstocks and varieties were approach grafted to the donor St. George o-680-1 (table I). An individual rooting of a variety or a rootstock and a rooting of the fleck-St. George were planted together in a gallon container and grown in the greenhouse. Thus each container held a rooting of a healthy variety and a rooting of a fleck-diseased St. George plant. There were three replications of each

approach graft. Healthy plants of each variety and rootstock, and fleck-diseased St. George were carried as controls. Green shoots of each combination were approach grafted in August 1967. In the spring of 1968 the plants were pruned so that the indicator variety was dominant over the donor fleck-St. George. By June 1968, fleck symptoms showed only in the variety St. George and Kober 5 BB as shown in table 1.

The approach graft experiment was repeated in August 1968 with varieties as shown in table 1. Conditions were similar except that in February 1969 the plants were pruned and the varieties were separated leaving the indicator variety as a sign on the fleck-diseased St. George rootstock. By April 1969 fleck symptoms showed only in the variety St. George and Kober 5 BB.

In the spring of 1968, as shown in table 1, 13 varieties were inoculated by chip-bud-grafting from the fleck-St. George 0-680-1 and lined out in the field at Davis. There were three replications of each graft inoculation. Later in the season and also during 1969 the varieties St. George and Kober 5 BB were the only clones that showed fleck symptoms.

In the spring of 1970 the variety clones of this last experimental test were back-inoculated onto healthy St. George indicator plants. By April 1970 all St. George indicator plants showed symptoms of fleck disease (table 1).

During the seasons 1967-68 and 1969 sap from fleck-diseased St. George 0-680-1 were mechanically inoculated to some 31 different herbaceous plants. Results were all negative. In 1967 fleck-St. George grape shoots were approach grafted to semi woody stems of *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *Gomphrena globosa*, *Vinca rosa* and the grapevine varieties Mission and St. George. Symptoms of fleck showed only in the grapevine variety St. George. Back-inoculations of the approach grafted herbaceous plants were all negative.

## DISCUSSION AND CONCLUSIONS

Transmission tests show that fleck is a graft transmissible disease, that it meets in part the criteria indicating the disease is caused by a virus and that the grapevine fleck virus is latent in many grapevine varieties and rootstocks. The virus may occur in combination with other viruses in the grapevine. Presence of the virus in varieties can be determined by indexing on the indicator plant *Vitis rupestris*, St. George and on Kober 5 BB.

## RÉSUMÉ

LA MALADIE DU « FLECK »,  
LATENTE CHEZ DE NOMBREUSES VARIÉTÉS DE VIGNES,  
EST TRANSMISSIBLE PAR GREFFAGE

A l'origine, la maladie du « Fleck » a été reconnue seulement en tant que symptôme d'un virus, ou d'un complexe de virus, sur la variété indicatrice *Vitis rupestris* St.-George. Une analyse d'expériences de transmission de la maladie par la greffe a d'abord montré que le « Fleck » était

semblable à la maladie de type mosaïque et vein-clearing décrite par VUITTENEZ en 1966. Cependant des expériences plus complètes, réalisées récemment, démontrent que Fleck et vein-clearing, ayant des causes différentes, ne sont pas synonymes.

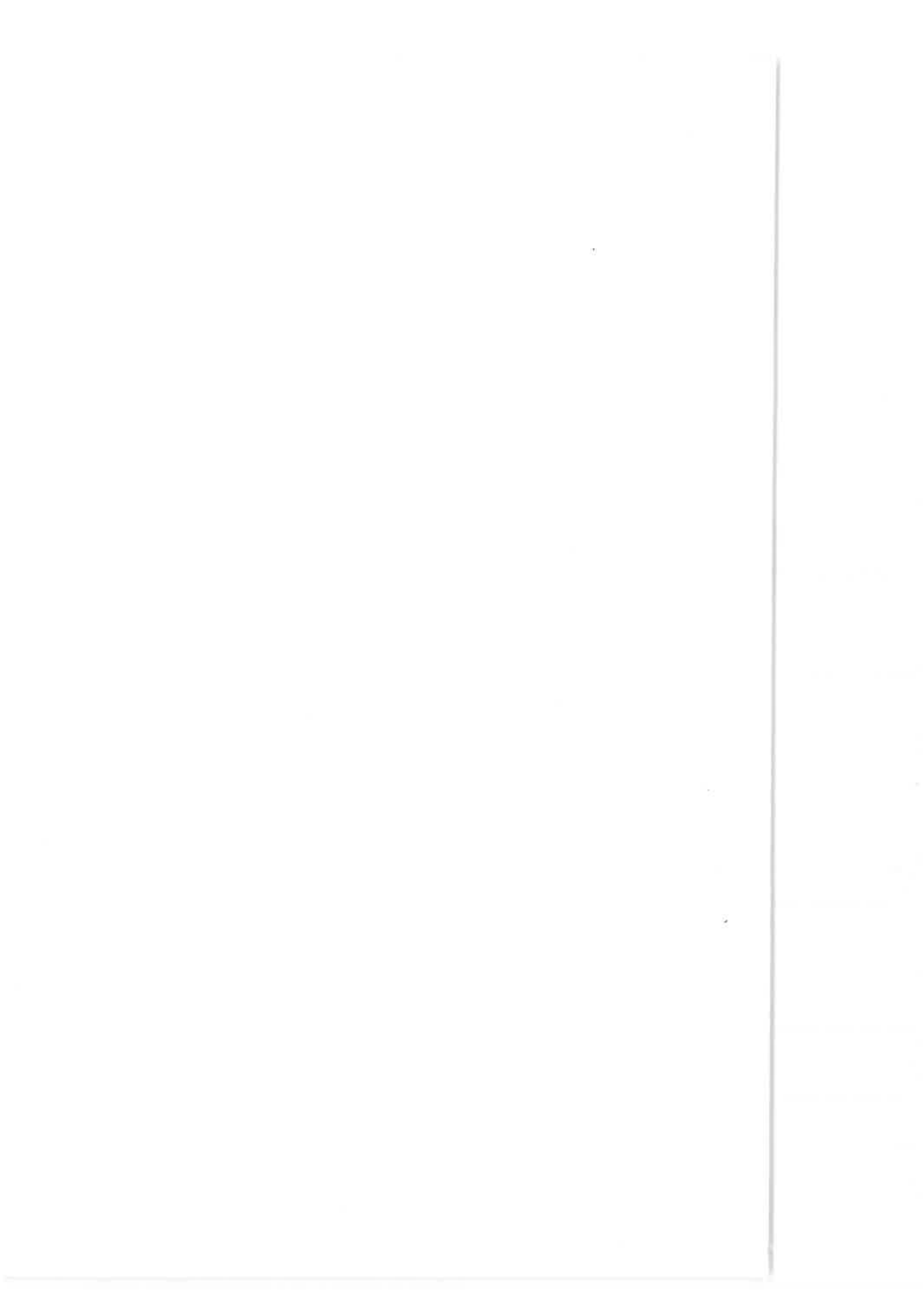
Le « Fleck » se caractérise sur la variété indicatrice St-George par une altération chlorotique translucide, le long des nervures de 3<sup>e</sup> et de 4<sup>e</sup> ordre, chez les feuilles jeunes ou d'âge moyen. Ces décolorations des nervures ont une longueur variant de 1 à 3 mm. Selon les feuilles, les taches peuvent être très nombreuses ou réduites à une seule. Les feuilles portant de nombreuses taches présentent des torsions et une surface irrégulière du limbe.

Le « Fleck » a été inoculé par greffage à plusieurs variétés de vignes : *Vitis vinifera* et hybrides porte-greffe. Des symptômes apparaissent chez St-George et chez Kober 5 BB, mais de nombreuses variétés examinées, entre autres Baco 22A, Black Malvoisie, Cardinal, Carignan, Clairette Blanche, Grand Noir, Mission et petite Sirah, ne montrent rien. La réinoculation à partir de ces vignes sur l'indicateur *V. rupestris* St-George a redonné des symptômes typiques de Fleck, montrant que les variétés en question étaient porteuses du virus, mais ne montraient pas de symptômes de la maladie.

Le virus du « Fleck » a été récupéré à partir de nombreuses variétés de vignes, prélevées en différents points de Californie. La maladie a été observée chez des vignes indicatrices servant aux tests, en Afrique du Sud et en Australie.

#### REFERENCES

- HEWITT Wm. B., GOHEEN A. C., RASKI D. J., GOODING G. V., 1962. Studies on virus diseases of the grapevine in California. *Vitis*, **3**, 57-83.
- VUITTENEZ A., 1966. Observations sur une mosaïque de la vigne, probablement indépendante du virus du court-noué. *Ann. Épiphyt.*, **17**, 67-73.
- ANON. 1958. Plant disease survey for the twelve months ending 30th June 1958. *Twenty-eighth annual report N. S. W. Dept. of Agric. Biological Branch-Div. Science Service*, 46 pp.



# EXPÉRIMENTATION POUR ÉTUDIER L'EFFET DES PRINCIPALES VIROSES SUR LA VÉGÉTATION ET LA PRODUCTION DE LA VIGNE

R. LEGIN

*Station de Pathologie végétale,  
Centre de Recherches de Colmar, I. N. R. A.,  
68 - Colmar (France)*

---

## RÉSUMÉ

En vue d'étudier l'incidence de deux viroses, le *Court-Noué* et l'*Enroulement* sur la productivité et la qualité des raisins chez les cépages « Chardonnay » et « Pinot noir », des essais comparatifs ont été mis en place dès 1961 dans différentes régions de France (Bourgogne, Jura et Alsace).

La moyenne des notations de quatre années successives, dans ces essais, laisse apparaître, pour les vignes atteintes de *court-noué*, une diminution de rendement allant jusqu'à 75 p. 100, selon la provenance des inoculums de virus utilisés ; par contre, la richesse en sucre des raisins des ceps malades est légèrement supérieure à celle des témoins sains.

En ce qui concerne l'*Enroulement*, le rendement est abaissé en moyenne de 50 p. 100 et la teneur en sucre laisse apparaître une diminution de 1 à 2 degrés alcooliques.

En dehors des deux viroses principales précédentes, des essais sont actuellement en cours pour étudier de la même façon le virus de la *Marbrure*.

En outre, de récentes observations montrent que des symptômes de cannelures du tronc ont été induits par des greffons de certaines origines de vignes (Servant et autres variétés de *V. vinifera*) qui étaient atteintes d'*Enroulement*, mais non de *Court-Noué*, de *Marbrure*, d'après les résultats de l'indexage.

Il est probable que le facteur responsable, transmissible par la greffe, est analogue à celui du « Legno riccio » de la vigne, signalé dans d'autres pays.

---

## I. — INTRODUCTION

Une grande partie des variétés de *Vitis vinifera*, et principalement les plus anciennes, se présentent actuellement sous forme d'une population assez hétérogène, surtout en ce qui concerne les caractères de productivité. Cette hétérogénéité

est due pour une part à des mutations qui ont pu se produire sur certains bourgeons utilisés pour la multiplication. Mais en dehors de cette variation, aboutissant à la création de plusieurs types à l'intérieur d'un cépage donné, d'autres causes, d'origine sanitaire, peuvent provoquer des différences de rendement et de qualité. Ainsi, les maladies à virus du Court-Noué et de l'Enroulement, qui se transmettent au cours de la multiplication végétative, occasionnent sur les souches des vignes atteintes des baisses appréciables et permanentes de productivité ou de qualité.

Pour la mise en évidence de ces effets, des essais ont été entrepris par inoculation contrôlée de ces maladies.

## II. — MÉTHODES

Dans les premières expériences, qui ont débuté en 1961, nous nous sommes limité aux deux cépages les plus importants des vignobles de Bourgogne et de Champagne, chez lesquels les maladies à virus sont particulièrement fréquentes :

- le Chardonnay en ce qui concerne le Court-Noué,
- le Chardonnay et le Pinot noir pour l'Enroulement.

Afin de permettre de déceler des différences entre souches de vignes saines et malades d'une même variété, il fallait opérer avec un matériel génétique homogène permettant seul des comparaisons rigoureuses. Pour cela, des « familles » saines de Chardonnay et de Pinot noir ont été créées en confectionnant un assemblage de greffons provenant d'un seul pied de *V. vinifera* sur des sujets issus d'une seule souche de porte-greffe.

L'inoculation expérimentale du Court-Noué à une partie des plants de chaque famille a été assurée par transmission par vecteurs (les plants ayant été maintenus un certain temps en terrain de vignoble infesté à Meursault en Côte-d'Or). Pour l'Enroulement, sur Pinot noir et Chardonnay, l'utilisation de la technique du double greffage a permis de contaminer expérimentalement un certain nombre de pieds de chaque famille, les autres servant de témoins. Dans la combinaison de ces double-greffes, le greffon inoculum provenait d'une souche déterminée de vigne malade, pour chaque expérience élémentaire.

Les essais comparatifs pour juger l'incidence du Court-Noué sur Chardonnay ont été effectués dans des plantations correspondant aux conditions normales de culture au vignoble, établies dans diverses régions, à Meursault (Bourgogne), à Arbois (Jura), à Wintzenheim (Alsace) et à Colmar (Alsace). Pour l'Enroulement, nous avons mis en place seulement un essai, établi à Colmar, en terrain de plaine.

La mise en évidence des effets causés par ces deux viroses implique la notation des symptômes, pour s'assurer de la réussite des inoculations, et, d'autre part, le contrôle du rendement et de la qualité de vendange chez les pieds inoculés et les pieds sains témoins. Nous avons relevé à chaque vendange le poids de raisins de chaque souche et la teneur en sucre de leur moût, exprimée en degrés alcooliques probables.

## III. — RÉSULTATS

*Court-Noué*

En ce qui concerne l'essai comparatif des familles de Chardonnay inoculées par le Court-Noué et des témoins sains, les résultats figurant au tableau 1 permettent de remarquer que, dans toutes les régions où ces expérimentations ont été effectuées, l'infection par le virus du Court-Noué provoque des baisses de rendement allant de 30 à 75 p. 100. Cette diminution de récolte — tout comme la gravité

TABLEAU I

*Production quantitative et qualitative  
d'une famille de Chardonnay saine et inoculée expérimentalement par le Court-Noué*  
Résultats des années 1964-1965-1966-1967

Familles	(1)	Bourgogne Meursault	Jura Arbois	Alsace Colmar	Alsace Wintzenheim	Moy.	(2)
Chardonnay court-noué 26 m	a b	0,300 11,4	— —	0,200 12,8	0,460 13,1	0,300 12,1	73 % + 0,7°
Chardonnay court-noué 26 p	a b	0,110 11,1	— —	0,100 12,3	0,140 13,5	0,110 12,1	90 % + 0,7°
Chardonnay court-noué 26 i	a b	0,380 11,1	— —	— —	— —	0,380 11,1	65 % — 0,3°
Chardonnay court-noué 26 o	a b	0,460 10,8	— —	— —	— —	0,460 10,8	58 %
Chardonnay court-noué 26 r	a b	— —	0,290 11,4	0,100 12,0	0,260 11,8	0,210 11,6	80 % + 0,2°
Chardonnay court-noué 26 q	a b	— —	— —	0,250 13,6	— —	0,250 13,6	77 % + 2,2°
Chardonnay tém. sain 26	a b	0,660 10,8	2,000 10,8	0,900 12,1	1,230 12,9	1,090 11,4	

(1) a = kilogramme de raisins par souche, b = degrés alcooliques probables du moût.

(2) a = diminution du rendement des souches inoculées en % par rapport au témoin sain.

b = augmentation (+) ou diminution (—) qualitative des souches inoculées, en degrés alcooliques probables du moût.

des symptômes foliaires — varie selon l'inoculum, montrant ainsi l'existence de degrés de virulence variable, donc de « souches » probablement différentes du virus. L'examen au réfractomètre des moûts des souches individuelles a montré que la richesse en sucre des raisins n'est pas réduite chez les ceps contaminés; elle est même très légèrement supérieure à celle des pieds témoins sains. Cependant, cette augmentation légère de la qualité du moût chez les ceps court-noués est

loin de compenser, au point de vue économique, les pertes de production quantitative. Notons que ces données chiffrées, qui portent uniquement sur un seul cépage, ne peuvent être considérées comme valables sur le plan national et pour toutes les variétés dont certaines sont nettement moins sensibles au Court-Noué que le Chardonnay.

Un autre aspect très important, la longévité de la Vigne, est à prendre en considération lorsqu'on se propose d'évaluer l'incidence économique des viroses. Nous avons pu effectuer un essai de désinfection chimique sur sol infesté par le Court-Noué à Meursault (VUITTENIZ, LEGIN, KUSZALA, 1969). Alors que dans les parcelles traitées la vigne était saine et de végétation normale, on notait dans les parcelles témoins non traitées 12 ans après la replantation : 5 p. 100 de souches sans symptômes à production normale, 50 p. 100 de souches avec symptômes moyens à production diminuée de 50 p. 100, 32 p. 100 de souches avec symptômes très graves à production diminuée de 90 p. 100, 13 p. 100 de souches mortes par suite de la maladie.

On peut donc estimer que, dans cette région du sud de la Bourgogne, une parcelle de Chardonnay infectée par le Court-Noué dès les premières années se trouve à 12 ans dans un tel état de dépérissement qu'il est préférable de l'arracher, alors que la moyenne d'âge d'une vigne saine de cette variété est de 25 à 30 ans.

### Enroulement

Les résultats concernant l'essai comparatif entre souches inoculées par l'*Enroulement* et témoins sains de même famille sont consignés pour le Chardonnay dans le tableau 2 et pour le Pinot noir dans le tableau 3.

TABLEAU 2

*Production quantitative et qualitative  
de familles de Chardonnay saines et inoculées expérimentalement par l'Enroulement*  
Résultats des années 1965-1966-1967-1968

Familles	(1)	1965	1966	1967	1968	Moy.	(2)
Chardonnay 1 inoculé	a	2,340	0,060	0,310	0,700	0,850	44 % — 1,9°
	b	7,3	10,8	12,0	9,4	8,2	
Chardonnay 1 tém. sain	a	2,510	1,410	0,800	1,260	1,490	
	b	8,1	12,4	13,0	10,0	10,1	
Chardonnay 3 inoculé	a	0,810	1,210	0,250	0,930	0,800	51 % — 1,5°
	b	8,0	10,8	10,3	9,1	9,5	
Chardonnay 3 tém. sain	a	1,780	2,240	1,250	1,150	1,600	
	b	8,7	12,2	13,1	9,9	11,0	

(1) a = kilogrammes de raisins par souche, b = degrés alcooliques probables du moût.

(2) a = diminution du rendement des souches inoculées, en % par rapport aux témoins sains.

b = diminution qualitative des souches inoculées, en degrés alcooliques probables du moût.



Pour l'un et l'autre de ces cépages, on remarque que le rendement peut être diminué de près de 50 p. 100. Contrairement au Court-Noué, l'Enroulement influe également sur la qualité. Le moût est moins sucré conduisant à un abaissement de 1 à 2 degrés alcooliques chez les plantes inoculées comparées aux témoins sains des mêmes clones génétiques. On constate d'ailleurs, certaines années, chez le Pinot noir, que les raisins des souches enroulées sont beaucoup moins colorés que ceux des souches saines.

TABLEAU 3

*Production quantitative et qualitative  
de familles de Pinot noir saines et inoculées expérimentalement par l'Enroulement*  
Résultats des années 1965-1966-1967-1968

Familles	(1)	1965	1966	1967	1968	Moy.	(2)
Pinot noir 1 inoculé	a b	0,920 7,2	0,270 12,6	0,060 11,5	1,200 9,9	0,610 9,2	52 % — 1 <sup>0</sup> / <sub>4</sub>
Pinot noir 1 tém. sain	a b	1,750 9,0	1,250 12,6	0,600 12,6	1,500 10,1	1,270 10,6	
Pinot noir 3 inoculé	a b	0,830 7,1	0,170 10,7	0,870 9,6	0,070 9,4	0,490 8,6	62 % — 1 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
Pinot noir 3 tém. sain	a b	2,460 8,3	0,820 11,8	0,570 11,6	1,190 10,1	1,260 9,6	
Pinot noir 97 inoculé	a b	1,640 7,9	— —	0,350 10,3	0,420 8,6	0,800 8,3	22 % — 0 <sup>0</sup> / <sub>8</sub>
Pinot noir 97 tém. sain	a b	2,260 8,3	— —	0,350 13,0	0,460 9,9	1,020 9,1	
Pinot noir 98 inoculé	a b	0,640 8,2	0,270 10,5	0,170 10,3	0,350 9,5	0,361 9,2	37 % — 0 <sup>0</sup> / <sub>3</sub>
Pinot noir 98 tém. sain	a b	1,340 8,5	0,310 11,8	0,300 11,3	0,330 10,3	0,570 9,5	
Pinot noir 99 inoculé	a b	2,320 7,3	— —	0,210 10,9	0,560 9,4	1,030 7,9	30 % — 1 <sup>0</sup> / <sub>5</sub>
Pinot noir 99 tém. sain	a b	2,870 8,2	— —	0,780 12,7	0,730 10,7	1,460 9,4	

(1) a = kilogrammes de raisins par souche, b = degrés alcooliques probables du moût.

(2) a = diminution du rendement des souches inoculées, en % par rapport aux témoins sains.  
b = diminution qualitative en degrés alcooliques probables du moût.

### *Symptômes particuliers sur le tronc*

Une anomalie a été observée récemment sur le tronc de certains ceps : au lieu d'avoir un bois de surface lisse, certaines souches, qui manifestent par ailleurs de forts symptômes d'enroulement du feuillage, ont un bois sillonné de cannelures,

spécialement sur la partie porte-greffe du tronc (fig. 1). Cette anomalie est déjà observée sur le matériel présent à Colmar, chez plusieurs variétés de *Vitis vinifera* (Servant, Clairette, Chardonnay, Gewürztraminer) et chez des porte-greffes (*Vitis riparia*, s. sp. *vulpina* et l'hybride *riparia-Berlandieri* Kober 5 BB). Dans un essai

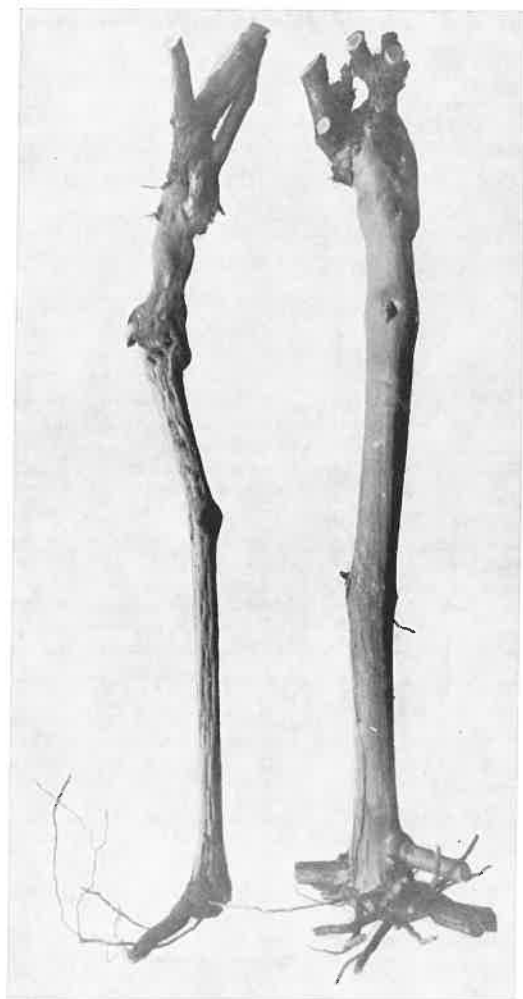


Photo : A. VUITTENEZ.

FIG. 1

- A gauche : porte-greffe Kober 5 BB ayant un greffon de « Servant » atteint d'enroulement. (Noter le faible développement et les « cannelures »).  
 A droite : porte-greffe de la même origine Kober 5 BB ayant un greffon d'une variété sans enroulement. (Bon développement et bois lisse).

commencé en 1966, à l'aide de diverses origines de greffons de *Vitis vinifera*, principalement sur la variété « Servant », on a constaté en 3<sup>e</sup> année après le greffage, la présence de cannelures, non seulement sur la base des greffons, mais également, et avec une plus grande intensité, sur le porte-greffe appartenant à la

TABLEAU 4

Transmission par greffage du symptôme de « cannelure » du tronc chez la vigne  
Greffage 1966 — Notations 1970

## A. — Inoculums avec tests enroulement positifs, court-noué et marbrure négatifs

	Exp. no.	Combinaisons de greffes	Cannelure					
			+	+	+	?	?	*
Inoculés	1	Servant A Kober 5 BB	+	+	+	+	+	+
	2	Servant A Kober 5 BB	+	+	?			
	3	Servant B Kober 5 BB	e	e	e	e		
	4	Servant B Kober 5 BB	e	e	e	e		
	5	Chardonnay A Kober 5 BB	e	?	?	?	?	—
	10	Gewurztraminer Kober 5 BB	e	e	e	e		
Témoins	1	Kober 5 BB	—					
	2	Kober 5 BB	—	—	—			
	3	Kober 5 BB	—					
	4	Kober 5 BB	—	—	—	—	—	—
	5	Kober 5 BB	—	—	—			
	10	Kober 5 BB	—	—	—	—		

## B. — Inoculums avec tests marbrure positifs, court-noué et enroulement négatifs

Inoculés	6	Syrah Kober 5 BB	—	—				
	7	V. Rupestris du Lot Kober 5 BB	—	—	—	—	—	—
Témoins	6	Kober 5 BB	—	—				
	7	Kober 5 BB	—	—	—	—	—	—

## C. — Inoculums avec tests court-noué positifs, enroulement et marbrure négatifs

Inoculés	8	Chardonnay B Kober 5 BB	—					
	9	Chardonnay C Kober 5 BB	—					
Témoins	8	Kober 5 BB	—					
	9	Kober 5 BB	—					

\* + cannelures sur le greffon

+ cannelures sur le sujet

variété de *riparia-Berlandieri* Kober 5 BB. Des boutures provenant de la même souche origine de Kober 5 BB, non greffées, ou greffées à des vignes qui se sont révélées à l'indexage, soit normales, soit atteintes d'autres virus que l'Enroulement (Marbrure ou Court-Noué), ne présentaient pas de cannelures (tabl. 4).

Les origines de greffons ayant induit la formation de cannelures, soumises à l'indexage sur les variétés indicatrices Pinot noir et *V. rupestris*, se sont toutes révélées infectées d'Enroulement, mais ni de Court-Noué ni de Marbrure. On est porté ainsi à penser que ces cannelures peuvent être un symptôme lié à l'Enroulement; des travaux anciens (RAVAZ et VERGE, 1924) ont d'ailleurs déjà décrit de telles anomalies du tronc dans le cas du « Rougeau de la Vigne » correspondant vraisemblablement à l'Enroulement. Cependant, d'autres expériences sont à poursuivre, car les greffons inoculums pouvaient bien, outre l'Enroulement, héberger un ou plusieurs autres virus non identifiés.

La maladie du « Legno riccio » observée récemment en Italie (GRANITI, 1964) et en Hongrie (LEHOCZKY *et al.*, 1967) correspond vraisemblablement à la même maladie que celle que nous signalons.

## SUMMARY

### EXPERIMENTAL STUDIES ON THE EFFECTS OF THE MOST IMPORTANT VIRUS DISEASES OF GRAPEVINES GROWTH AND PRODUCTIVITY

Since 1961, experiments have been carried out, in Burgundy, Alsace and Jura, to study incidence of the two prevalent virus diseases, grape fanleaf and grape leafroll, on growth and productivity of *V. vinifera* varieties, Chardonnay and Pinot noir.

Acquired results, after four successive years, indicate reduction of productivity up to 75 p. 100 with virulent origins of fanleaf; however quality (sugar content) was not impaired, being even significantly higher than in healthy controls of the same non-inoculated clones.

In the opposite, leafroll affected both quantity (50 p. 100 lower) and quality (1 to 2 alcoholic degree reduction).

Similar experiments for studying the possible effects of « Marbrure » virosis, are in progress.

Recent observations have revealed that a poor grafting condition accompanied by surface irregularities of the wood (stem pitting) was apparently correlated with certain forms of leafroll. The disease has been transmitted to the underground part of the stock Kober 5 BB by certain origins of « Servant » and other *Vinifera* varieties affected by leafroll, but not by fanleaf or marbrure, according to indexing experiments.

It is assumed that this disorder is related or identical to « legno riccio », a disease recorded in other countries of Europe.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- GRANITI A., 1964. Note sintomatologiche e istologiche sulle viti affette da « legno riccio ». *Phytopathol. médit.*, **3**, 19-25.
- LEHOCZKY J., MARTELLI G. P., SAROSPATAKI G., QUAGUARELLI A., 1967. Neue Beobachtungen am « legno riccio » der Reben in Ungarn. III<sup>e</sup> réunion I. C. V. G., 7-11 sept. 1967, Bernkastel/Kues (Allemagne) et 1968. *Weinb. und Keller*, **15**, 506.
- RAVAZ L., VERGE G., 1924. Le Rougeau de la Vigne. *Progr. Agric. Vitic.*, **79**, n° 1, 11-17; n° 2, 35-38; n° 4, 86-89; n° 5, 110-113; n° 6, 135-141.

- VUITTENEZ A., 1952. Transmission par double greffage d'une panachure infectieuse de la vigne. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **234**, 1084-1086.
- VUITTENEZ A., 1958. Transmission par greffage d'une virose de type « Enroulement foliaire », commune dans les vignobles de l'Est et du Centre-Est de la France. *C. R. Acad. Agric. France*, **44**, 313-316.
- VUITTENEZ A., LEGIN R., KUSZALA J., 1969. Les virozes de la Vigne. *Les Maladies des Plantes*, Journées françaises d'études et d'information A. C. T. A., Fédération nationale des Groupements de Protection des Cultures, Paris 5-7 février 1969, 557-578.
-



# DESTRUCTIVE EFFECT OF LEGNO RICCIO (RUGOSE WOOD) ON EUROPEAN GRAPEVINE VARIETIES

J. LEHOCZKY

*Research Institute for Viticulture and Oenology, Budapest (Hungary)*

---

## SUMMARY

In the vicinity of the grape-growing district of Szekszárd, near the village Bátaszék, 6 year-old vines of Italian Riesling and Bânâti rizling were attacked by legno-riccio. One part of the vines were grafts, the other part self-rooted. On the influence on the dry spring in spite of the fact that their parts above ground level and roots were living, a part of the vines did not burst in time, or only later, or not at all. The symptoms of the disease were well recognizable on all these vines. One part of the vines which did not burst at all, brought suckers in summer. The rate of the completely decayed vines increased spring till autumn from 11 p. 100 to 23 p. 100.

The phenomenon observed, seems to prove the functional insufficiency of the conducting-tissue-system, namely the insufficient water-transportation. The obvious result of the increasing proportion of the poorly differentiated tissue is the early decay of the legno riccio diseased non-tolerant vines. This inevitably takes place within 10 years and it is accelerated by droughty periods.

---

The occurrence of legno riccio in Hungary in several grape-growing-districts, mostly on young, less than 12 year-old grafts and self-rooted vines has been observed (MARTELLI *et al.*, 1967; LEHOCZKY *et al.*, 1968 *a*, 1968 *b*). The viral character of legno riccio has been proved by graft-transmission, but it has not yet been cleared whether it is caused by one virus or perhaps by the interaction of more viruses. In the latter case one of the viruses may be the fanleaf virus (GRANTI and MARTELLI, 1965).

There is very little literature on how the disease influences the culture of the grapevines. The intensive changes in the phloem and woody tissue are well known in detail (GRANTI, 1964; GRANTI and MARTELLI, 1965; MARTELLI *et al.*, 1967), and relying these findings it can be expected that the vines of non-tolerant varieties suffer severely and their vigour decreases rapidly. This is confirmed by Italian observations

on the delay in the bursting of the young diseased grafts which gradually decreases their growth, furthermore in die-back of the scions down to the union node (GRANITI and MARTELLI, 1965).

To obtain more information on the consequences of the disease, we have investigated and observed heavily diseased vines in vineyards near the grape-growing-district of Szekszárd at Bátaszék (fig. 1) at the new place of occurrence of the legno riccio, found in 1968.

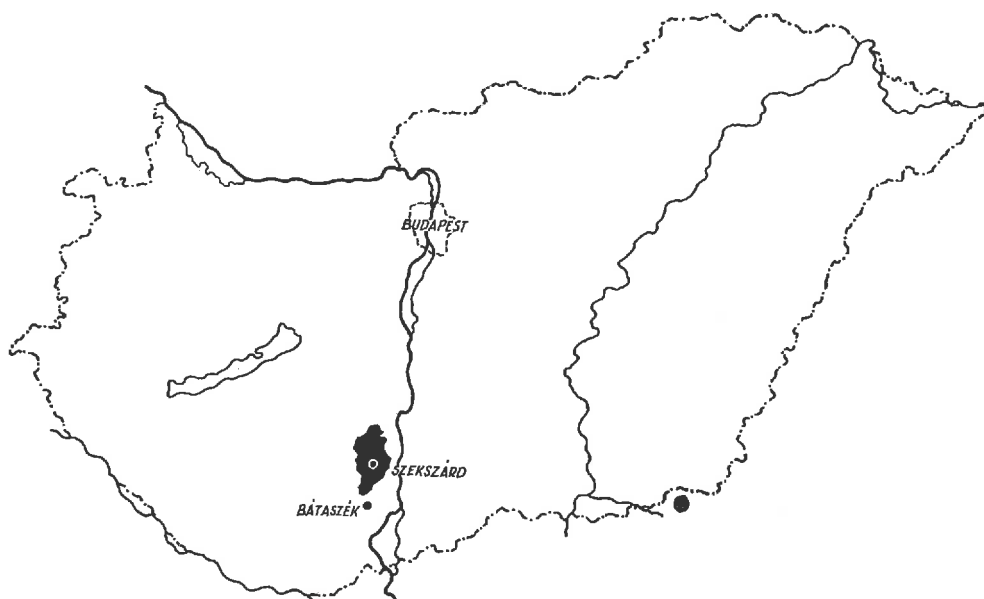


FIG. 1. — *Geographical locality of the observation*

#### DATA OF THE PLANTATION AND CHARACTERIZATION OF THE VINES

The plot of about half a hectare was planted in the spring of 1962. The vineyard includes vines of Italian Riesling, Bánáti rizling (= Riesling of Bánát) and Muscat Ottonel which are partly grafts on rootstock T-K 5 BB, partly self-rooted vines and halfhigh cordon-pruned. The vineyard where the diseased vines were noticed was one in which grapevines had been previously grown for 60 years. The soil of the vineyard had no resting period and was not fumigated before replanting. Growth of the vines was generally weak.

#### RESULTS OF THE INVESTIGATION

50-50 vines were investigated in two rows at one part of the plot, 4 times in the vegetation period; the results are to be seen on table 1.

In the spring of 1968, in the course of March and April the temperature was suitable compared to the season, but the weather was exceptionally dry at bursting



time (15-18 April) and the water-content of the soil was not sufficient. Therefore burst began generally slowly and growth was weak, too. It was conspicuous that some vines did not even burst as late as 14 days. The rate of these vines was, in comparison with the living ones, about 41,5 percent. It was interesting that the buds of these vines were still green, the tissues of canes and older woody-parts were still living without any brown discolouration in them. All vines which burst late were of Italian Riesling,

TABLE I

*Results of investigation*

Times of investigation (1968)	Number of vines investigated	Number of bursting vines	Number of non-bursting vines, but parts above ground level still living	Number of vines parts above ground level died		
				with living tap-root	living tap-root with suckers	with dead tap-root
may 2th ....	100	52	37	0	0	11
may 24th ....	100	67	0	22	0	11
june 13th ....	100	67	0	15	5	13
september 12th	100	67	0	3	7	23

Bánáti rizling and on each of them characteristic symptoms of the disease could be noticed on the collar, the many year-old trunk, as well as on the tap-root. The symptoms appear in an especially severe form on self-rooted vines (fig. 2), in some cases on older branches, too (fig. 3). There were some vines on which the conditional growth and thickening on collar was not adequate and we could observe a thinning like an atrophy (fig. 4). The scions of the diseased grafts of Italian Riesling became strongly thickened and the characteristic symptoms appeared on them (fig. 5). On some grafts the tissue of the scions had already died at the first investigation but the tissue of the root-stocks was still alive.

On the influence of rain which fell in May, still further vines burst, but their shoot growth remained weak. About 59,4 p. 100 of the vines (22 from 37), which did not burst in time, did not do it at all even later, since their parts above soil level gradually dried out. The tap-root of one part of the vines still remained alive for a long time and when several vines were dug out we could not observe any brown visible discoloration in their tissue. The side-roots were well developed and under the living bark the furrows were to be found here, too, but without any discoloration in them. One part of the vines which did not burst at all, especially the self-rooted ones, brought suckers in summer (fig. 6), while the others gradually dried out and completely decayed (fig. 7). The rate of the totally perished vines increased from spring to autumn from 11 p. 100 to 23 p. 100. The decay of the vines continued in 1969, too.

In most cases, symptoms like the syndrome of fanleaf, (e.g. prominent teeth, short internodes, double nodes) were to be found on leaves and shoots of the diseased vines. Some clusters were shelled-berried and the yield of the vines was generally very low.

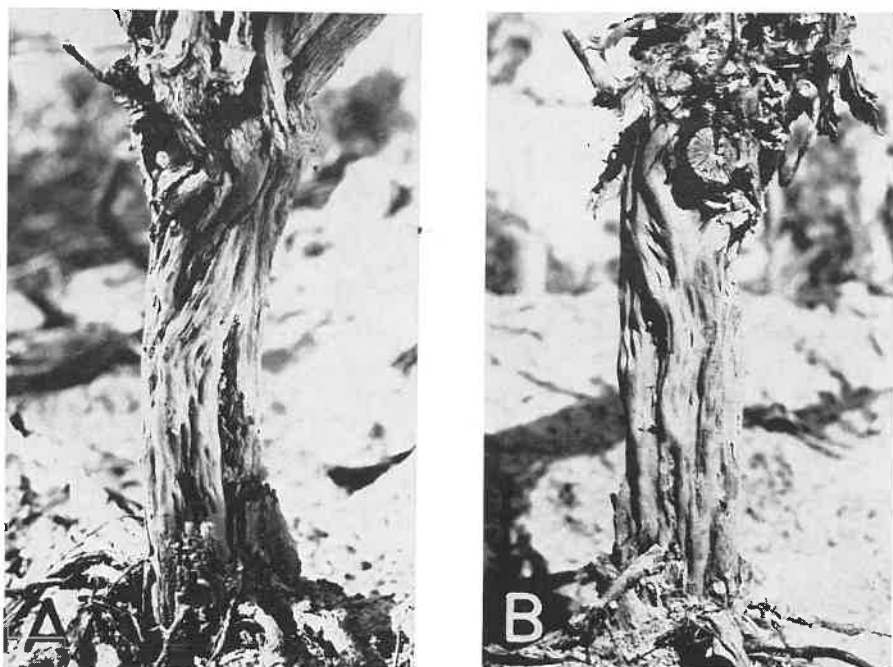


FIG. 2. — Severe symptoms of *legno riccio* on the collars of self-rooted vines (A, B)

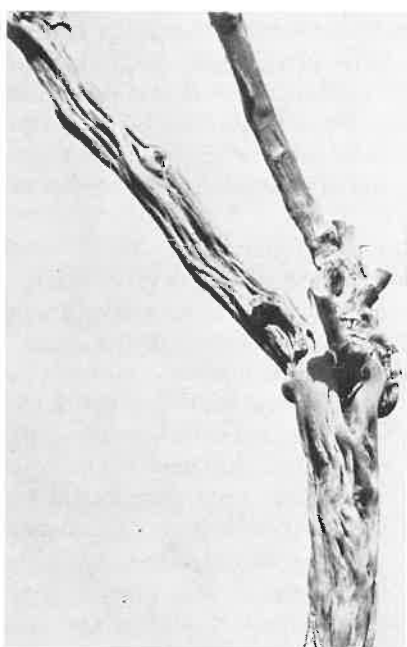


FIG. 3. — Grooving on an old branching of self-rooted vines

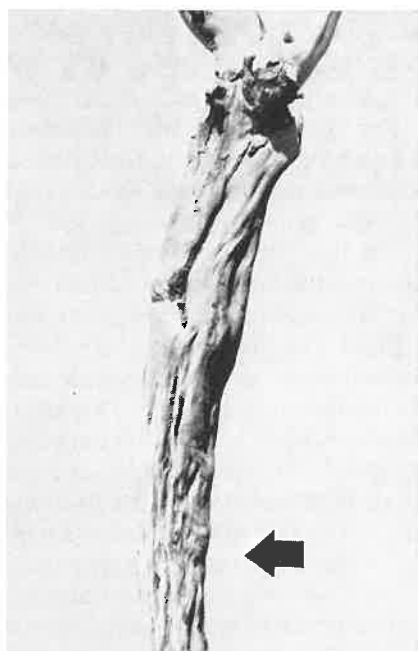


FIG. 4. — Atrophy-like symptoms on the collar of self-rooted vines

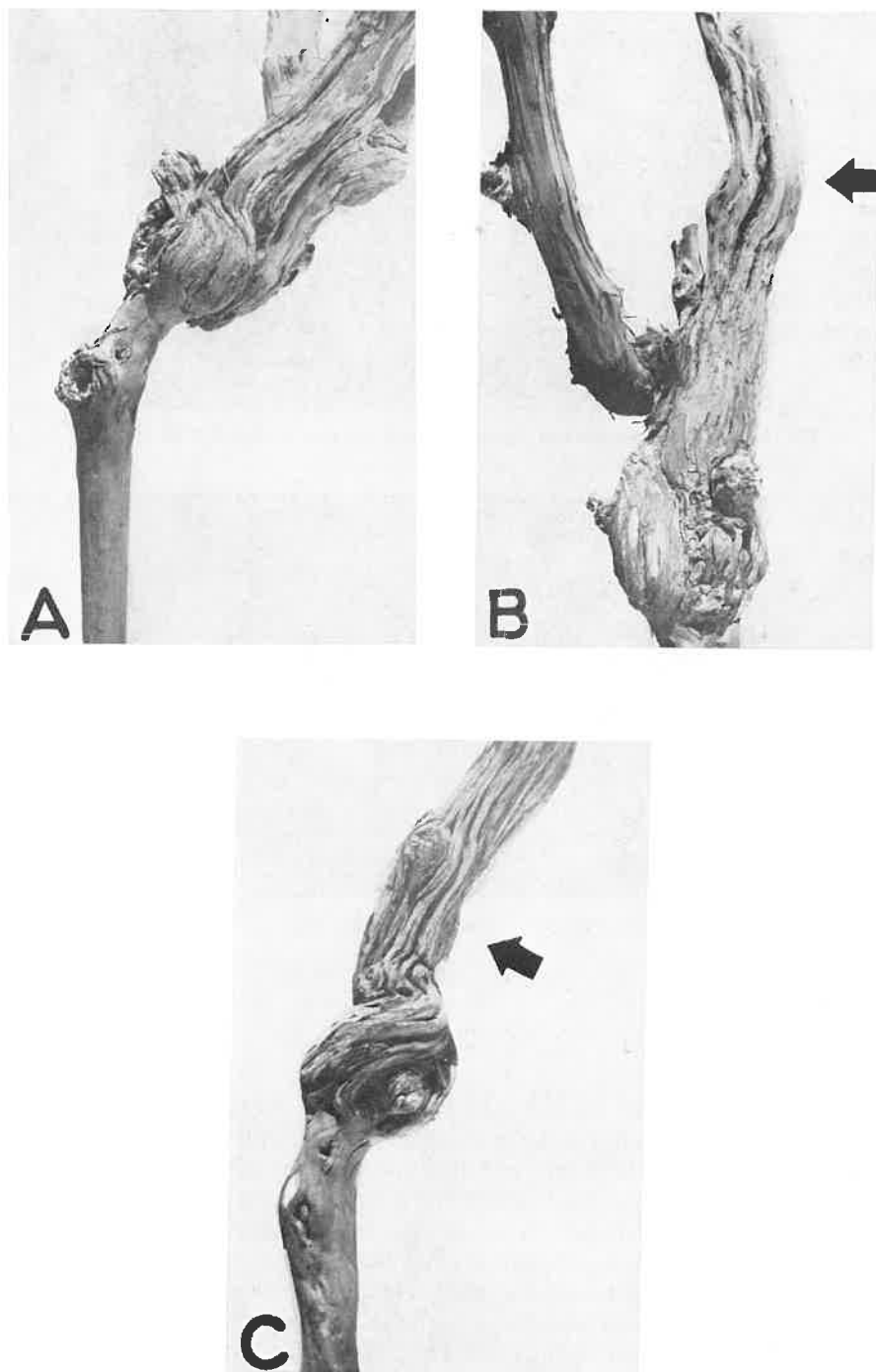


FIG. 5. — *Thickened scion of diseased grafts (A, C) and symptoms on them (B, C)*

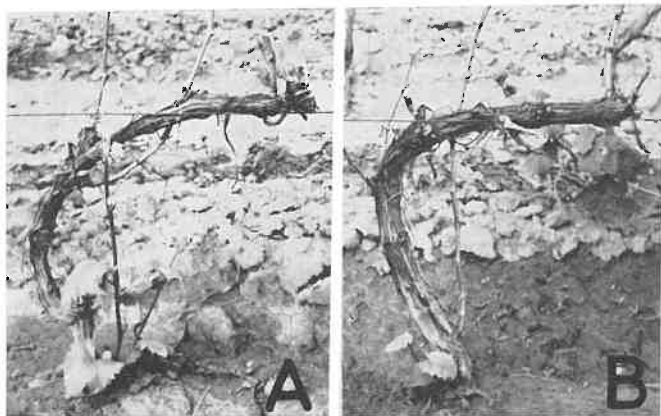


FIG. 6. — Suckers on diseased Italian Riesling (A) and Bánáti Rizling (B) vines



FIG. 7. — Completely decayed vines

### CONCLUSIONS

The late bursting of the diseased vines and the weak development of their shoots, or failure of bursting in spite of tissue of buds, canes, trunks and roots still alive, seems to prove the insufficient function of the conducting-tissue-system. It may be that this is the consequence of the deep alteration of the tissues caused by the virus infection. The characteristic phenomenon of this alteration is the poorly differentiated conducting-tissue-system, its parenchymatous condition and the reduced number of the tracheal elements. The obvious conclusion of all these facts is the insufficiency of the watertransportation which appears in case of the non-tolerant varieties e.g. Italian Riesling, Bánáti rizling, in the years following the third year, and increases to such an extent as the rate of the poorly differentiated tissue grew. This poorly differentiated tissue can be the reason for the bad affinity, too, which is to be observed

between the diseased scion and the root-stock in case of grafts and which hinders the formation of a complete functional and physiological unity. Proof of this can be the atrophical character of the root-stock.

It can be concluded from the facts described above that, on the destructive effect of the disease, the decay of the non-tolerant varieties of the vines inevitably occurs within 10 years and is accelerated by dry periods and droughty years.

## RÉSUMÉ

### GRAVITÉ DES EFFETS DU « LEGNO RICCIO » (BOIS RUGUEUX) CHEZ CERTAINES VIGNES EUROPÉENNES (*VITIS VINIFERA*)

Dans un district viticole du sud de la Hongrie (Szekszard) des vignes âgées de 6 ans appartenant aux variétés Riesling Italien et Banáti rizling sont attaquées par la maladie du « Legno riccio ». Ces vignes sont greffées ou franches de pied.

A la suite d'un printemps sec, plusieurs de ces vignes atteintes ont eu un débourrement retardé et d'autres n'ont pas débourré du tout, bien que la partie du tronc située au-dessous du niveau du sol ainsi que les racines, fussent encore vivantes. Les symptômes de la maladie (stem pitting) étaient bien reconnaissables sur toutes ces vignes. Les ceps n'ayant pas débourré au printemps ont émis des rejets au cours de l'été. Le nombre des vignes complètement décrépies est passé de 11 p. 100 au printemps à 23 p. 100 en automne.

Les phénomènes observés semblent indiquer une insuffisance fonctionnelle dans les tissus conducteurs, se traduisant par un apport insuffisant de sève brute. Le dépérissement précoce, chez les vignes non tolérantes au « Legno riccio », est lié à l'existence dans les troncs d'une forte proportion de tissus peu différenciés. Ce dépérissement survient inévitablement avant l'âge de 10 ans et est accéléré par les périodes de sécheresse.

## REFERENCES

- GRANITI A., 1964. Note sintomatologiche ed istologiche sulle viti affette da legno riccio. *Phytopathol. medit.*, **3**, 19-25.
- GRANITI A., MARTELLI G. P., 1965. Further observations on legno riccio (rugose wood) a graft-transmissible stem-pitting of Grapevine. *Proc. Intern. Conf. on virus and vectors on perennial hosts with special reference to Vitis*. University of California, Davis, 168-179.
- LEHOCZKY J., MARTELLI G. P., SÁROSPATAKI Gy., QUACQUARELLI A., 1968 a. New observations on « legno riccio » of Grapevine in Hungary. *International Council for the Study of Viruses and Virus Diseases of the grapevine* (I. C. V. G.), Bernkastel-Kues/Mosel, 1967. Ref. in *Weinb. Keller*, **15**, 506.
- LEHOCZKY J., MARTELLI G., SÁROSPATAKI Gy., QUACQUARELLI A., 1968 b. Újabb megfigyelések a faszvevőti bárázdáltság/legno riccio, rugose wood/előfordulásáról Magyarországon, sajátgyökerű szőlőtőkéken. *Országos Szőlészeti és Borászati Kutató Intézet Évkönyve*, **13**, 127-134.
- MARTELLI G. P., LEHOCZKY J., SÁROSPATAKI Gy., QUACQUARELLI A., 1967. A disorder resembling « legno riccio » (rugose wood) of Grapevine in Hungary. *Phytopathol. medit.*, **6**, 110-112.



# GRAPEVINE VIRUS DISEASES IN SOUTH AFRICA AND THE INFLUENCE OF LATENT VIRUSES IN THE NURSERY

A. C. NEL and D. J. ENGELBRECHT

*Division of Plant Pest Control, Stellenbosch, (South Africa)*

---

## SUMMARY

Corky bark virus, leafroll/redleaf virus as well as fleck virus and the fanleaf group of viruses were found to be widespread in South African wine and rootstock varieties. Out of 220, 485 candidate vines selected and subsequently screened for virus, only 40 vines, comprising three scion varieties and three rootstocks, tested negative for known viruses. This represents 0.01 p. 100 of the candidate vines. Asteroid mosaic virus was only rarely detected.

An experiment conducted over a period of two seasons on the influence of latent virus infections in grafted nursery material, produced proof of severe reactions which manifested marked degrees of tolerance in commercial rootstock/scion combinations. Incompatibilities and growth reductions were the most prominent features.

---

## INTRODUCTION

Apart from brief reports on the detection of grapevine fanleaf virus, grapevine yellow mosaic virus and grapevine corky bark virus in Cape vineyards (ENGELBRECHT, 1961; 1963; ENGELBRECHT and WOLFSWINKEL, 1967) virtually nothing has been published on the prevalence and distribution of grapevine viruses in South African grape varieties. However, a large-scale field indexing programme has been in force since 1958 with the object of procuring clonal material of both rootstock and

scion varieties free of known viruses. This was singularly motivated by the suggestion of DU PLESSIS (1950) that South African vineyards, in contrast to those of Europe and California, were still free of virus infection. Results obtained through selection and subsequent indexing of mother or candidate vines prompted experimental work on the influence of latent virus infection in nursery stocks. A preliminary report on the latter together with a brief survey of the viruses found in local commercial varieties and rootstocks form the basis of this communication.

### EXPERIMENTAL

Because the primary object of indexing was to secure healthy material, commercial plantings of scion and root-stock varieties throughout the grapevine-growing area which served as sources of budwood for propagation, were beforehand visually inspected for disease symptoms over three consecutive seasons. Only vines showing no visible abnormalities in growth and cropping were included in the screening operations.

Indexing was initially carried out on several Californian grapevine indicators including Baco 22 A, Carignan, Thompson Seedless, Rupestris var. St. George and LN-33 but for unknown reason poor results were obtained with all except the latter two. Most of the findings reported here are therefore based on the results obtained with the indicators Rupestris var. St. George and LN-33. To give meaningful value to negative readings a method of indexing was devised to make indicator growth dependent on the survival of the rooted test plant. This was achieved simply by machine (Hengl) grafting indicator on testplant, subjecting it to a three week period of callus formation, at a constant temperature of 24°C, before planting out in the field. Poor take due to incompatibility could easily be recognized and was never found to be confused with that induced by virus infection.

Readings on the indicators were taken at regular intervals throughout the growing season. In all cases Rupestris var. St. George were held over for a further season and read again. In the case of LN-33 the indexing procedure was duplicated the following year thus enabling two separate readings on each candidate plant. All experiments were performed and planted in triplicate. During the past eleven years more than 220, 485 candidate vines were selected and subsequently screened of which 40, comprising 3 scion varieties and 3 rootstocks, tested negative to the local virus flora on the indicators used.

Results of indexing showed the presence of additional viruses like vein-banding, fleck, asteroid mosaic and leafroll as well as demonstrating the very widespread prevalence of viruses like corky bark, asteroid mosaic, fleck, fanleaf group and leafroll redleaf in Western Cape vineyards (table 1).

Poor results in nurseries using selected bud-wood and the subsequent determination of the high infection rate in visually selected material prompted an assessment of the influence of latent viruses in the nursery. For this purpose material infected with known single or combinations of viruses in four rootstock varieties and one scion variety were selected and used.



Results from two season's observations strongly suggest that the two rootstock varieties Jacques and 143-B were most tolerant to virus infection in contrast to 101-14 and Richter 99 which proved to be highly susceptible (Plate 1). The detrimental effect of viruses on take and growth is amply demonstrated by various virus combinations (Plate 2) which surprisingly was in some cases dependent on the initial avenue of infection as the complete opposite effect was often obtained e.g. fleck virus in a Stein-Richter 99 combination (Plate 3).



PLATE 1. — *General effect of latent virus combinations in Stein on four rootstock varieties*

Left to right : Stein on 143-B, Richter 99, 101-14 and Jacques  
Note poor stand in central area on Richter 99 and 101-14

### CONCLUSION

The high percentage of virus infection in Cape vineyards which are practically at saturation point (99.9 p. 100) strongly suggests that, with the use of rootstocks since the turn of the century, virus built-up increased to their present level in contrast to what would have been expected with the use of single components *i.e.* rooted scion material only. This is borne out by the high infection rate of the rootstocks tested. Preliminary results (unpublished data) on certain plantings in other parts of South Africa originating from rooted scions proved to have a marked lower virus status.

Results on the influence of latent virus infection on nursery material focus attention on the necessity of virus-tested material especially in an expanding industry where alone more than 20 million vines are annually replaced.

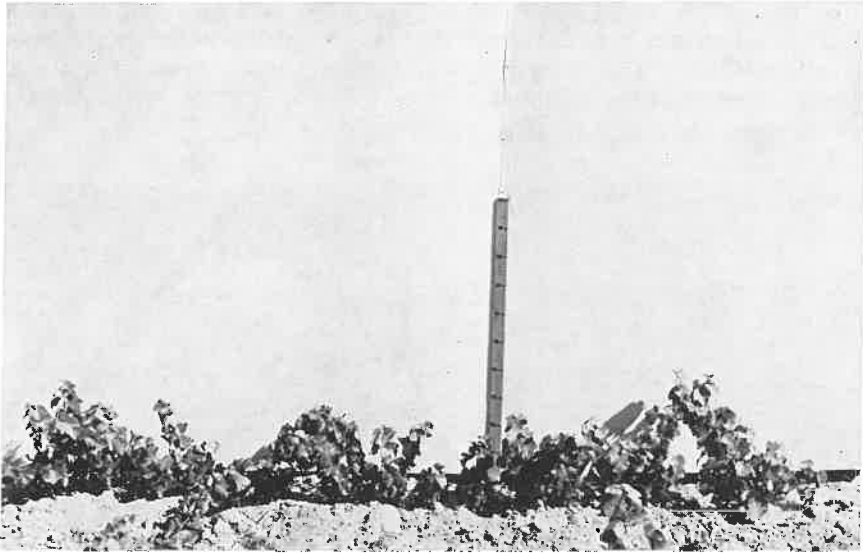
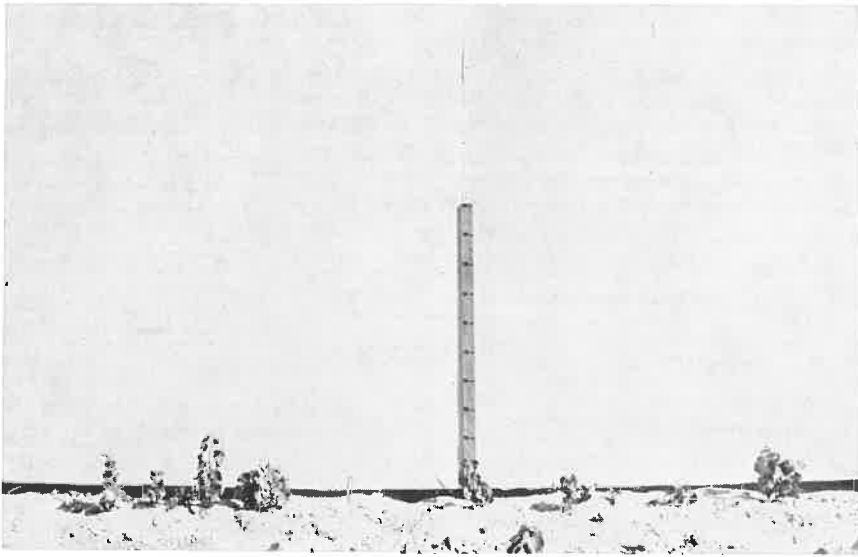
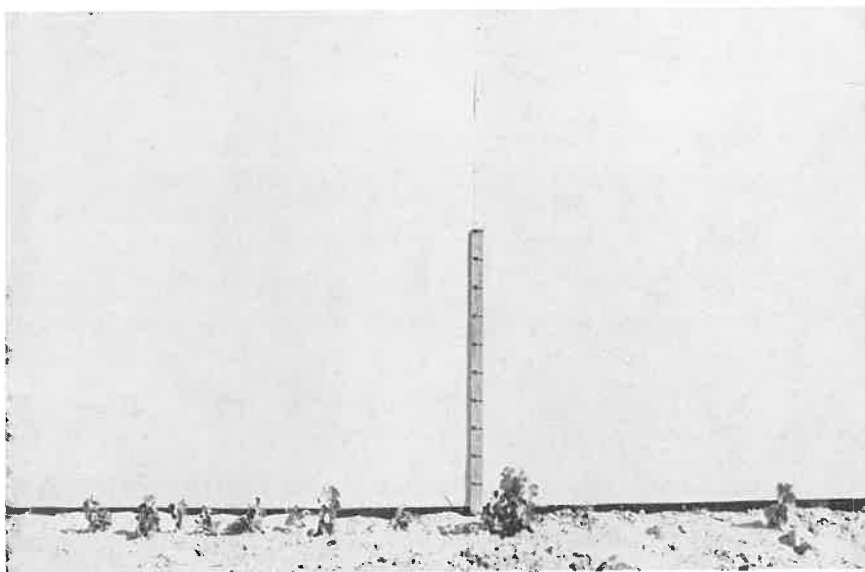
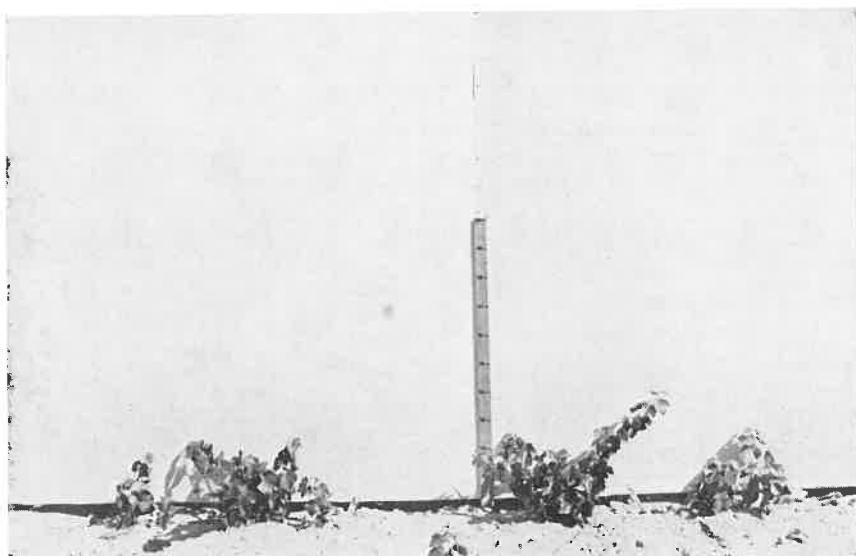
**A****B**

PLATE 2.



C



D

PLATE 2. — *Reaction of Stein infected with leafroll virus  
on different rootstock varieties all carrying fleck virus*

A : Jacques, B : 101-14  
D : 143-B, C : Richter 99

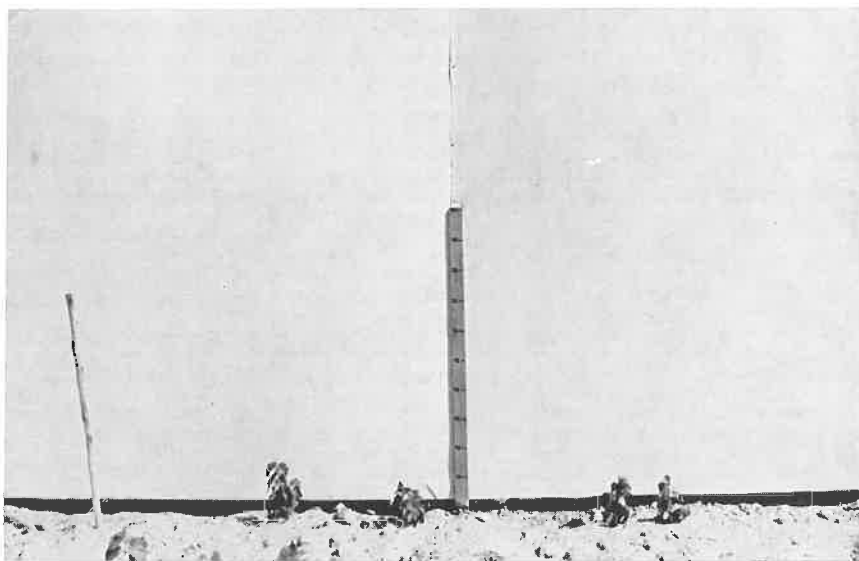
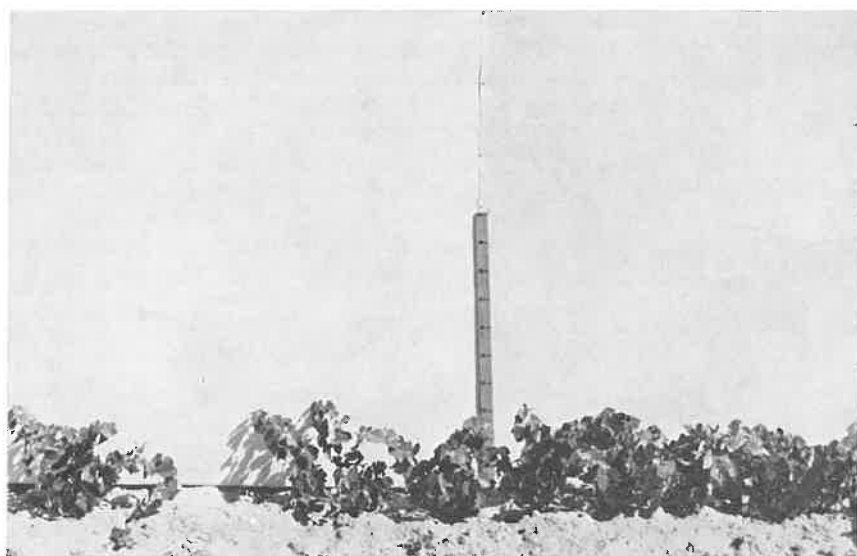
**A****B**

PLATE 3. — *Effect of inverted infection with fleck virus on a scion/rootstock combination*

A : Healthy Stein on diseased Richter 99

B : diseased Stein on virus-tested Richter 99

TABLE I  
Infection rate of grapevine viruses in commercial vine and rootstock varieties in the Western Cape of South Africa

Variety	No. of candidate vines		Percentage virus infected vines			Percentage free from detectable viruses
	Visually inspected.	Visually approved and indexed	Asteroid mosaic/fleck/fanleaf group	Corky bark	Leafroll/Redleaf	
Hermitage.....	63,459	4,395	56.09	12.51	64.30	.57
Stein .....	50,162	1,222	49.64	6.72	60.12	.49
Clairette Blanche .....	16,982	330	49.59	16.91	71.30	—
Green .....	9,024	238	62.53	—	79.48	—
Haneboot .....	6,811	142	29.16	29.97	45.16	.70
Alphonse Lavallée .....	750	9	37.50	12.50	87.50	—
French .....	57,356	1,452	18.43	3.58	400	—
Barlinka .....	3,200	52	10.23	17.50	400	—
Riesling .....	1,560	18	71.25	33.33	400	—
Pedro .....	6,600	8	42.85	—	100	—
Cabernet Sauvignon .....	1,776	48	61.36	21.66	100	—
Jacques .....	650	91	6.80	31.02	10	16.48
Richter 99 .....	925	167	52.88	1.79	400	—
101-14 .....	930	434	26.80	44.61	7.82	.69
143-B .....	300	58	11.46	13.57	.74	12.06
Total .....	220,485	5,664				
Percentage free from detectable viruses .....	0.01	0.70				

## RÉSUMÉ

MALADIES A VIRUS DE LA VIGNE PRÉSENTES EN AFRIQUE DU SUD  
ET INFLUENCE DES VIRUS LATENTS SUR LES PLANTS EN PÉPINIÈRE

Les virus du Corky Bark, de l'Enroulement, du Fleck et du Fanleaf se sont révélés très répandus en Afrique du Sud, aussi bien chez les variétés de *Vitis vinifera* que chez les porte-greffes. Sur un total de 220.485 vignes choisies, seulement 40 ont été retenues comme saines après les opérations de dépistage des virus connus (ces vignes appartiennent à 3 variétés de *vinifera* et 3 porte-greffes) ; ceci représente 0,1 p. 100 des vignes candidates à la multiplication. Le virus de la mosaïque étoilée (astéroid mosaic virus) n'a été détecté que rarement.

Une expérience a été entreprise pendant une période de deux saisons pour rechercher l'influence de l'infection par des virus latents sur les vignes greffées en pépinière. Ces virus produisaient des réactions sévères ; toutefois, certaines combinaisons de porte-greffes et greffons des variétés commerciales présentaient un certain degré de tolérance. Les phénomènes les plus évidents observés étaient des incomptabilités et des réductions de vigueur.

## REFERENCES

- DU PLESSIS S. J., 1950. Virus diseases and some symptomologically related abnormalities of the vine. *Ann. Univ. Stellenbosch.*, **26** A, 1-33.
- ENGELBRECHT D. J., 1961. A graft-transmissible disease resembling fanleaf of grapevines. *S. Afr. J. Agric. Sci.*, **4**, 631-633.
- ENGELBRECHT D. J., 1963. Sap transmission of viruses from pear, grapevine and bramble to herbaceous hosts. *S. Afr. J. Lab. Clin. Med.*, **9**, 140-141.
- ENGELBRECHT D. J., WOLFSWINKEL L. D., 1967. *Chenopodium* as host to viruses transmitted from apple, pear and grapevine. *S. Afr. J. Agric. Sci.*, **10**, 419-428.

# SÉPARATION DE LA MARBRURE ET DU COURT-NOUÉ (PANACHURE) CHEZ LA VIGNE PAR THERMOTHÉRAPIE

M. RIVES

avec la collaboration technique de J. GHITALLA, M. HEVIN,  
C. BOUSSION, Ph. LECLAIR, P. CASTERAN, J.-P. GAZEAU

*Station de Recherches de Viticulture,  
Centre de Recherches de Bordeaux, I. N. R. A.,  
33 - Pont-de-la-Maye (France)*

---

## RÉSUMÉ

Dans une expérience de thermothérapie, on a obtenu des plantes guéries de la virose du court-noué, mais non de celle de la marbrure à partir de clones atteints des deux maladies.

Cela confirme la nature différente de leurs agents causals.

---

Le court-noué est une maladie à virus de la Vigne bien connue. C'est un virus du type ring-spot (taches annulaires). Il est transmis dans le sol par le nématode *Xiphinema index*. Il se manifeste par une variété de symptômes, dont la *panachure* qui est un jaunissement du limbe réparti sans lien apparent avec la nervation, affectant tout ou partie du feuillage de la plante, depuis les taches minuscules liées aux pustules d'érinose jusqu'à la totalité des feuilles. La couleur est un jaune d'or franc qui apparaît vers la fin de mai et vire au blanc, puis disparaît fin juillet début août, moment où le feuillage redevient vert dans la plupart des cas. En général, la panachure varie en extension d'une année à l'autre sur le même cep.

Le virus du court-noué peut être mis en évidence par inoculation par greffage à la variété *Rupestris du Lot* (= *Saint Georges*) qui réagit par l'apparition de ring-spots (taches décolorées annulaires plus ou moins régulières sur les feuilles), par des déformations des feuilles (crispation, palmettes, dents aiguës) ou par des taches analogues à celles de la panachure mais de couleur vert clair et non jaune. Il n'y a pas

forcément coïncidence entre le type de symptômes observé sur l'inoculum et celui obtenu sur l'indicateur.

Le virus du court-noué peut être extrait et purifié *in vitro*, transmis par inoculation mécanique à divers hôtes, et il donne des réactions sérologiques spécifiques avec les antisérums obtenus au moyen de ses préparations purifiées.

Il peut être éliminé par thermothérapie (GIFFORD et HEWITT, 1961 ; GALZY, 1961 ; VUITTENEZ, 1962 ; GOHEEN, LUHN, HEWITT, 1965).

La marbrure est une virose mise en évidence par VUITTENEZ (1966). Elle provoque sur le *Rupestris du Lot* une mosaïque résultant de l'éclaircissement des nervures d'ordre trois et des cellules du limbe qui les entourent. Cette mosaïque est répartie dans les espaces internervaires, suivant un dessin assez caractéristique, en taches alternées le long de la bande de limbe limitée par les nervures principales. Elle s'accompagne d'un pliage de la feuille vers le haut suivant la nervure principale et, en pépinière, d'une réduction marquée de la vigueur des plantes.

Le virus responsable n'a pas encore pu être extrait et la détection repose uniquement actuellement sur l'indexage par greffage avec le *Rupestris du Lot* comme indicateur. Cette virose a été considérée comme identique à la maladie appelée *fleck* par les Californiens (HEWITT *et al.*, 1962. HEWITT, 1968). Sa guérison par thermothérapie a été annoncée par ces derniers (GOHEEN, comm. pers.) ; elle nécessiterait une exposition prolongée à 37°C.

En 1961, nous avons choisi à l'École de Viticulture, au domaine de la Tour-Blanche à Sauternes, un certain nombre de souches de *Sémillon* présentant des symptômes de panachure affectant la totalité du feuillage et connues pour le faire chaque année. Cette dernière circonstance a été vérifiée depuis.

Les sarments recueillis ont été enracinés et plantés en pots. Après avoir poussé pendant environ 3 mois, les plantes ont été placées en chambre chaude du 3-10-62 ou du 9-10-62 au 21-1-63 soit 103 ou 109 jours.

À l'issue du traitement, des boutures d'extrémités (3 à 5 cm) ont été prélevées et enracinées sous brouillard.

Après élevage en serre des plantes obtenues, celles-ci ont été plantées au champ au printemps 1964 dans un terrain n'ayant pas porté de vigne depuis plus de 25 ans.

Depuis cette date, de nombreuses notations ont été faites. Ni la panachure ni aucun des symptômes du court-noué n'ont jamais été observés.

Les plantes ont été indexées vis-à-vis du virus du court-noué par la technique sérologique par les soins de la Station de Pathologie végétale (I. N. R. A.) de Colmar. Elles ont également été indexées par greffage sur *Rupestris du Lot*.

Le diagnostic sérologique a été négatif. Sur *Rupestris du Lot*, aucun symptôme attribuable au court-noué n'a été observé. Mais dans les tests de toutes les descendances des souches d'origine, sauf une, on a observé les symptômes caractéristiques de la marbrure.

Cette dernière maladie n'étant, semble-t-il, transmissible que par la greffe et les occasions de contamination par le sol étant *a priori* exclues, on est amené à la conclusion que, présente chez les plantes d'origine en même temps que le court-noué, elle a résisté au traitement qui a éliminé cette dernière virose.

Ceci confirme et la nature différente des deux maladies, et la difficulté plus grande qu'il y a à guérir la marbrure par thermothérapie.



## SUMMARY

SEPARATION OF « MARBRURE » AND « COURT-NOUÉ »  
(YELLOW MOSAIC) IN GRAPEVINE, BY THERMOTHERAPY

Plants of grapevine, cultivar « Sémillon », originating from Yellow-mosaic infected mother plants, have been cultivated in a heat-chamber at 37°C for about 3 months. At the end of this period, the tips of the shoots have been cut off, and rooted under mist.

The plants obtained looked perfectly healthy after several years ; laboratory tests confirmed that they were actually free of fanleaf virus (GFV).

However, graft indexing on grape indicators revealed that all but one transmitted characteristic symptoms of « Marbrure » on *Vitis rupestris*. These results confirm that « Marbrure » and « Court-Noué » are caused by distinct viral agents.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- GALZY R., 1961. Confirmation de la nature virale du court-noué de la Vigne par des essais de thermothérapie sur des cultures *in vitro*. *C. R. Acad. Sci.*, **253**, 706-708.
- GIFFORD E. M., HEWITT W. B., 1961. The use of heat therapy and *in vitro* shoot tip culture to eliminate fanleaf virus from the grapevine. *Amer. J. Enol. Vitic.*, **12**, 129-130.
- GOHEEN A. C., LUHN C. F., HEWITT W. B., 1965. Inactivation of grapevine viruses *in vitro*. *Proc. Int. Conf. Virus Davis.*, 6-10, Sept. 1965.
- HEWITT W. B., 1968. Viruses and virus diseases of the grapevine. *Rev. appl. mycol.*, **47**, 433-455.
- HEWITT W. B., GOHEEN A. C., RASKI D. J., GOODING G. V. Jr., 1962. Studies on virus diseases of the grapevine in California. *Vitis*, **3**, 57-83.
- VUITTENEZ A., 1962. Essais de guérison de vignes atteintes de dégénérescence infectieuse par thermothérapie. *Et. Virol. appl.*, **3**, 23-26.
- VUITTENEZ A., 1966. Observations sur une mosaïque de la vigne, probablement indépendante du court-noué. *Et. Virol. Ann. Epiphyties*, **17** (H. S.), 67-73.



# WIE IST DIE ZUVERLASSIGKEIT DES INDEXING ZU ERHOHEN?

G. STELLMACH

*Biologische Bundesanstalt, Institut für Rebenkrankheiten  
Bernkastel/Kues, Mosel (B. D. R.)*

---

## ZUSAMMENFASSUNG

Das dargelegte Verfahren zur Steigerung der Effizienz des Indexing zeigt folgende Besonderheiten :

1. Aus einzelnen Reiseren klonaler Selektion (in denen die nicht uniforme Verteilung von Virus ohne Bedeutung ist) werden Subklone gewonnen, deren erstes Vermehrungssubstrat die leafroll- Indikatorreben sind. Die Subklone werden im Verlauf ihrer weiteren Vermehrung mit Reisern solcher Indikatoren gepfropft, die auf die übrigen, im heimischen Weinbau malignen Virose reagieren.

2. Tests auf Virusbefall und Vermehrung laufen parallel, wobei eine unkontrollierte Virus-kontamination ausgeschlossen ist.

Es wird für möglich gehalten, dass diese Konzeption des Indexing eine Steigerung der Effizienz darstellt, insbesondere dort, wo es um die Produktion hochleistungsfähiger Rebenklone geht.

---

Die einzige einigermaßen sichere Methode, die Anwesenheit der meisten Viren in Reben zu erkennen, scheint das Indexing mit Hilfe der Pfropfinokulation eines geeigneten Sortimentes von Reben-Indikatorpflanzen zu sein (HEWITT, 1968).

Das Hauptproblem des Virusnachweises durch Indexing im Rahmen der Reben-Selektion ist die lange Zeit, die notwendig ist, um zu Resultaten zu kommen. Weiterhin besteht die Möglichkeit, dass Reben, von denen Proben für die Pfropftests entnommen worden sind, während der Laufzeit der Untersuchungen nachträglich von Virus infiziert werden. Ausserdem scheinen manche Viren eine nicht einheitliche Verteilung in der Rebe zu haben, wodurch ein negatives Testergebnis Zweifel wecken kann. Diese Gesichtspunkte lenkten unser Interesse auf die Bearbeitung der Frage, wie und wodurch die Zuverlässigkeit und die Leistungsfähigkeit des Pfropftests verbessert werden können.

Das in diesem Sinne konzipierte und in der Erprobung befindliche Verfahren basiert auf der Voraussetzung, dass vegetativ vermehrte Rebenindikatoren frei von allen malignen Rebenvirosen sind. Es ist anzunehmen, dass insbesondere nach einer angemessenen Zeit der Thermotheapie die meisten Viren eines Indikator-klones eliminiert sind. Ein Restbestand von Viren kann zurückbleiben. Diese Tatsache gebietet es, mit dieser Konzeption bei wissenschaftlichen Arbeiten vorsichtig zu sein.

#### TEST AUF LEAFROLL, BEI GLEICHZEITIGER VERMEHRUNG DES GETESTETEN MATERIALS

Zuerst werden leafroll-Indikatorpflanzen herangezogen. Die Indikatoren werden mit 3-4 Augen tragenden Reisern aus visuell selektionierten Klonen gepfropft. In erster Linie wird hierbei die Seitenpfropftechnik angewendet. (HARTMANN u. KESTER, 1968) Es gibt zahlreiche Variationen dieser Technik. Wir bevorzugen die Seitenzungenfropfung und die Seitenfurnierpfropfung. Wie der Name schon sagt, wird das Reis an die Seite der Unterlage angesetzt. Wenn die Unterlage im Durchmesser grösser ist als das Reis, werden zwei Reiser eingesetzt, um maximalen Kontakt mit den Kambiumschichten zu gewährleisten. Für diese Pfropfungen haben sich besonders gut zwei Jahre alte Topfpflanzen bewährt, die im Gewächshaus in einem sterilen Medium wachsen. Wenn die Pfropfsaison im April beginnt, sind diese Reben meist schon so weit herangewachsen, dass der apikale Teil der Triebe abgeschnitten und unter intermittierendem Sprühregen zur Bewurzelung gebracht werden kann. Wenn ein leistungsfähiges Sprühsystem verfügbar ist, können Topfindikatoren bereits sehr früh im Jahre gewonnen werden. Obgleich diese Pflanzen grüne Triebe haben, gelingen Pfropfungen mit holzigen Reisern, die bis dahin kühl gehalten worden sind, zuverlässig. Trotzdem werden diese Pflanzen normalerweise erst im nächsten Frühjahr benötigt.

Werden die Pfropfreben in einem warmen, künstlich beleuchteten Raum aufgestellt, treiben die aufgepfropften Reiser bald aus. Wenn der Austrieb kräftig genug ist, wird er abgeschnitten und unter intermittierendem Sprühregen zum Bewurzeln aufgestellt. Zur gleichen Zeit werden die Unterlagen, die die holzigen Reste der Reiser tragen, zur eventuellen Symptomausprägung ins Freiland gepflanzt. Das Auspflanzen erfolgt von Juni bis Juli. Die Pfropfreben bleiben zwei Jahre lang im Freiland. Blattrollsymptome erscheinen häufig bereits im gleichen Herbst, im allgemeinen aber erst im nächsten.

#### TEST AUF DIE ÜBRIGEN MALIGNEN REBENVIROSEN BEI GLEICHZEITIGER VERMEHRUNG DES GETESTETEN MATERIALS

Die im Vorherigen genannten Reben, die aus den ausgetriebenen Reisern stammen, wachsen unter dem intermittierenden Sprühregen in Sand. Nach 3-4 Wochen haben sich Wurzeln gebildet. Im Herbst reifen dann die Pflanzen aus.

Im Spätwinter werden die bewurzelten Pflanzen in einen gedüngten, sterilen Boden umgetopft. Nach dem sie 3-4 Wochen lang im warmen Gewächshaus gewachsen waren, werden sie mit Reisern von *Vitis rupestris* var. St. George und/oder der FS-4-201-39-Selektion Bernkastel gepfropft. Diese beiden Indikatoren zeigen erfahrungsgemäss die übrigen malignen Virose an, die in Deutschland vorkommen, sofern diese nicht bei der Vorselektion bereits ausgeschieden worden sind. Hierbei wird wiederum die Seitenpfropftechnik verwendet. (Abb. 1) Wenn die Pfropfpartner zusammengewachsen sind, werden alle Teile der « Unterlage », die oberhalb der Pfropfstelle wachsen, abgeschnitten und zwar einschliesslich der holzigen Bereiche (Pfeile), und unter intermittierenden Sprühregen gestellt, damit sie sich bewurzeln. Manchmal sind in so einem Falle 2-3 Stecklinge verfügbar. Die Stecklinge ähneln einem Hammer, zusammengesetzt aus dem alten Holz und dem jungen grünen Trieb. An der Stelle, wo der grüne Trieb herauswächst, ist bei einigen Sorten die Wurzelbildung am besten. Nach Abtrennen dieser Teile bis zum Bereich der Pfropfstelle beginnen die Augen des Reises sehr üppig zu wachsen, wahrscheinlich deswegen, weil sie sich die gesamte Kraft der Unterlage und ihrer Wurzeln verfügbar machen. Es ist anzunehmen, dass unter diesen Umständen eine eventuelle Symptomausprägung auf den Indikatorreisern optimal sein dürfte (Abb. 2).

Jedesmal, wenn im Laufe der Operationen genügend Blattmaterial zur Verfügung steht, und zwar sowohl des zu untersuchenden Klonen als auch des jeweiligen Indikators, werden Blattproben zur Untersuchung auf saftübertragbare Viren aufgearbeitet (STELLMACH, 1969).

Im Hochsommer werden dann die Pfropfreben ins Freiland gepflanzt, um unter Freilandbedingungen weiter beobachtet zu werden. Eine Freilandpflanzung wird allerdings nur dann vorgenommen, wenn das Gelände vorher mit einem pflanzenverträglichen Nematizid behandelt worden war. Reben, die mit einem Indikatorreis gepfropft sind, haben in den meisten Fällen unterhalb der Pfropfstelle noch einen Trieb, der zur Vermehrung des getesteten Klonen beitragen kann.

### TEST-UND VERMEHRUNGSPROGRAMM 1968/1969

Das in den Jahren 1968/1969 durchgeführte Test- und Vermehrungsprogramm ist typisch für die hier dargelegte Konzeption :

1. Anzucht von Topfreben der leafroll-Indikatoren (Januar bis März 1968).
2. Einsetzen von Reisern klonaler Selektion mittels Seitenpfropfung in die Triebe der Indikatorreben (April 1968).
3. Auspflanzen der Pfropfreben ins Freiland zum leafroll-Test (Juli 1968).
4. Entnahme des Reisaustriebes, Bewurzeln desselben unter Sprühregen und Heranzucht zu kräftigen Topfreben (Juli 1968-März 1969).
5. Einsetzen von Reisern der Virusindikatoren *Vitis rupestris* var. St. George und FS-4-201-39 mittels Seitenpfropfung in die Topfreben aus 4. (März-April 1969).
6. Entnahme von Trieben der « Unterlage » nach 4. und Bewurzeln derselben unter Sprühregen (April-Juni 1969).



ABB. 1. — Topfrebe mit seitlich eingesetztem Indikator-Reis  
(*V. rupestris* St. George).  
Die Pfeile zeigen die Stellen, wo Stecklinge geschnitten werden

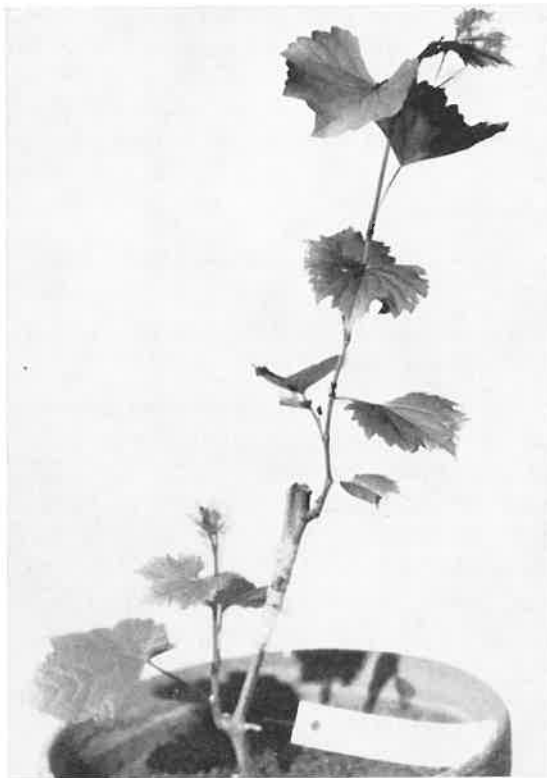


ABB. 2. — Üppig wachsendes Indikator-Reis auf Burgunder-Topfrebe

### 7. Auspflanzen der Pfropfreben ins Freiland, zum Test auf sonstige maligne Viren (Juni-Juli 1969).

Im Herbst 1969 hatten die leafroll-Indikatoren (gepfropft April 68) zwei Vegetationsperioden hinter sich, sodass der leafroll-Test abgeschlossen werden konnte. Diejenigen Subklone (vergl. 4) die sich als leafroll-verseucht erwiesen hatten, wurden verworfen, auch wenn sie sich bis dato als frei von anderen malignen Viren gezeigt hatten. Die leafroll-freien Klone seit März/April 1969 im Test auf sonstige maligne Viren (vergl. 5.)-wurden demgegenüber sofern die bis zu diesem Zeitpunkt durchgeführten Laboruntersuchungen und Freilandbeobachtungen negativ verliefen waren, in möglichst grosse Töpfe umgetopft und im Gewächshaus bis zum Vegetationsabschluss stehen gelassen.

Im darauffolgenden zeitigen Frühjahr (ab Ende Januar bis Anfang Februar) wurden die Reben im Warmhaus angetrieben und etwa Mitte Mai in entseuchte Böden als Vorstufenpflanzgut, das frei von malignen Viren ist, ausgepflanzt. Vorher wurden ihre Triebspitzen entnommen und diese unter Sprühregen zur Bewurzelung gebracht (letzter Vermehrungsschritt im Gewächshaus).

Seit Beginn des Indexing und der parallel dazu verlaufenden Vermehrung waren genau zwei Jahre vergangen. In dieser Zeit sind Pfropftests auf alle in Deutschland vorkommenden, malignen Viren durchgeführt und die getesteten Reben unter Ausschluss einer Fremdinfection vermehrt worden. .

## RÉSUMÉ

### COMMENT AMÉLIORER L'EFFICACITÉ DE L'INDEXAGE ?

En utilisant la greffe par approche, il est possible de constituer des assemblages comportant à la fois des pousses des variétés indicatrices des différentes viroses et des pousses des variétés de vignes que l'on désire soumettre à l'indexage. Ces dernières peuvent être récupérées et mises à raciner sous « mist », en vue d'obtenir des boutures qui serviront à la production des plants commerciaux de vigne.

Cette technique de multiplication et d'indexage simultanés a, selon l'auteur, l'avantage de donner des résultats plus valables et plus rapides que la méthode classique. La multiplication et le jugement sanitaire étant faits à partir d'une seule pousse, les inconvénients d'une répartition hétérogène des virus dans la souche mère sont de ce fait éliminés.

## SUMMARY

### HOW TO IMPROVE THE EFFICIENCY OF INDEXING ?

Using the side-graft and the mist-propagation techniques indexing in 1968-1969 was carried out as follows :

1. leafroll-indicator plants were established (January-March 1968),
2. scions carrying 3-4 eyes were grafted into the indicators (April 1968),
3. the grafts were planted outdoors for observation (July 1968),
4. the shoots growing out of the grafted scions were collected and placed under intermittent mist for rooting in order to get strong plants which were potted (July 1968-March 1969),

5. scions of the indicators *V. rupestris* var. St George and/or FS-4-201-39 were inserted into the plants coming from 4 (March-April 1969),
6. cuttings from the « stock » 4 growing on the upper-side of the unions, were taken off, placed under mist for rooting and propagated (April-June 1969),
7. the grafts were planted outdoors for observation (June-July 1969),
8. leafroll and other diseased grafts were discarded ; clones coming from 4) and 6) found to be free from malign virus diseases according to the results of indexing tests 3) and 7) in fall 1969 were propagated for distribution.

This conception has the following advantages :

1. Starting with visual selected grape material, security is obtained that subclones, produced from single scions (in which the non uniform distribution of viruses becomes unessential) growing on the indicator plants are free of all serious grape virus diseases,
2. virus detection and propagation proceeds at the same time excluding uncontrolled virus contamination during the tests.

It may be a possibility to improve the efficiency of indexing particularly in the field of producing high performance grape clones.

#### LITERATUR

- HARTMANN H. T., KESTER D. E., 1968. *Plant Propagation, Principles and Practices*, 2nd Ed. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N. J., U. S. A.
- HEWITT, Wm. B., 1968. Virus and Virus Diseases of the Grapevine. *Rev. appl., mycol.*, 433-456.
- STELLMACH G., 1969. Der Nachweis saftübertragbarer Viren in alten Rebenblättern. *Wein Wiss.* **24**, 372-377.
-



## INDEXING GRAPEVINES FOR VIRUSES IN AUSTRALIA

R. H. TAYLOR and R. C. WOODHAM \*

*Victorian Plant Research Institute,  
Department of Agriculture, Burnley*

*\* Division of Horticultural Research, C. S. I. R. O., Merbein (Australia)*

Studies aimed at improving the reliability and sensitivity of detection of grapevine fanleaf virus-vein banding strain (GVBV), grapevine leafroll virus (GLRV), and a previously undescribed disease which we have tentatively named grape yellow speckle (GYS) are in progress at Burnley and Merbein. At Burnley, weather conditions particularly in summer and autumn are much cooler than at Merbein which has a typical Mediterranean climate.

*GVBV* : Comparisons in a glasshouse have been made of grafting techniques for detecting GVBV using the indicator variety *Vitis rupestris* cv. St. George. All indicators were observed for two years. When growing indicators were grafted with infected dormant buds in spring, symptoms rarely developed. Grafting infected green scions on to growing indicators in summer induced symptoms in most indicators at Burnley, but in very few at Merbein. Grafting to dormant indicator cuttings in early spring gave much better results ; almost all indicators inoculated with four isolates of GVBV developed strong symptoms in 5-7 weeks after grafting both at Burnley and Merbein.

However, mechanical inoculation of *Chenopodium quinoa* during spring with grapevine sap extracted in nicotine base or *tris* buffer was a more satisfactory indexing method than grafting. This technique consistently gave a high transmission rate which increased to 100 p. 100 when extracts were concentrated by ultracentrifugation prior to inoculation.

*GLRV* : Until recently Baco 22 A and Mission were the only indicators used to detect GLRV. However, Baco 22 A is of little value for detecting the leafroll virus strains which occur in Australia. Of 38 leafroll infected clones indexed on Baco 22 A, to date only seven (7) have induced stunting. The reaction produced by these clones on Baco 22 A is similar to that described by Californian workers.

Although Mission reacts well to some strains of GLRV, we suspect that it does not react to all strains of this virus. During the past three years, good reactions have been obtained on the indicator I,N-33 with what we consider are leafroll strains. We have not yet found any strains of leafroll which react on Mission and not on I,N-33. However, several isolates which induced symptoms on I,N-33 during the first autumn

after grafting have still not produced symptoms on Mission grafted four years ago.

LN-33 has many advantages as an indicator for leafroll. It is easy to propagate and graft, has considerable resistance to downy mildew; reactions frequently occur in the autumn after grafting whereas Mission rarely reacts before the second or third season after grafting. Furthermore, Mission is infected with GYS and frequently shows symptoms of it, whereas LN-33 is free of GYS and often develops mild symptoms when inoculated with this virus.

Several other *V. vinifera* varieties are presently being tested for their sensitivity to leafroll.

GYS: Under Australian conditions some grapevines show vein banding like symptoms but GVB cannot be transmitted from them to *C. quinoa* or to *Rupetris* St. George.

The symptoms of GYS consist of chrome yellow speckles which can occur as scattered isolated spots in interveinal areas of mature leaves or may form chrome yellow bands along the main veins and/or veinlets. The symptoms usually do not develop until late summer and can occur only in a mild form on two or three leaves of a grapevine. In some varieties the symptoms may rapidly intensify and be strong in the autumn when they may bleach from chrome yellow to a pale cream colour. The intensity of the reaction varies with the variety and with seasonal conditions.

GYS has been graft transmitted to one or more of the varieties, LN-33, Baco 22 A, Esparte and a Mission seedling, from the varieties Gordo Blanco, Waltham Cross, Sultana, Doradillo and Esparte (all of these latter varieties have been in Australia for many years), and from Mission, Grey Riesling, Merlot, Emperor, Sylvaner, Cabernet Sauvignon, Rish Baba, Black Prince, Petite Sirah, Italia and Pinot Noir (incorrectly named Gamay Beaujolais) which have been introduced from California in recent years.

The reactions on all of the varieties used as indicators are similar to, but usually milder than those seen on the candidate plants.

Esparte is the best indicator. When this variety is grafted in the spring, symptoms develop in the following autumn.

GYS is not rare. In Australia it is present in most, if not all, clones of Waltham Cross and some clones of Sultana, Gordo Blanco, Doradillo, Esparte and Bastardo (= Trousseau). Of a total of about 100 clones introduced from California during the past ten years, at least sixteen including the rootstock 1613 show symptoms of yellow speckle virus. All three clones of the indicator variety Mission introduced from California show very strong symptoms of GYS whereas in California, they only occasionally show a few yellow speckles. Californian workers refer to these symptoms as « Mission condition ». In our opinion « Mission condition » is a typical mild symptom of GYS. Similarly clones of Grey Riesling and Trousseau, which show strong GVBV-like symptoms in Australia, occasionally show mild symptoms in California. (Personal communication, HEWITT and GOVERN.)

There is no evidence of natural spread of GYS from Waltham Cross to adjacent grapevines of other varieties or from infected to healthy Sultanas which are growing side by side in the same row.

Work on the detection, heat therapy and nature of GYS is continuing.

## RÉSUMÉ

## INDEXAGE POUR LA DÉTECTION DES VIROSES DE LA VIGNE EN AUSTRALIE

Les examens ont pour but la détection du virus du fanleaf (GFV), de la souche vein-banding de ce virus (GVBV), de l'Enroulement (GLRV) et d'une maladie appelée « Grape Yellow Speckle » (GYS).

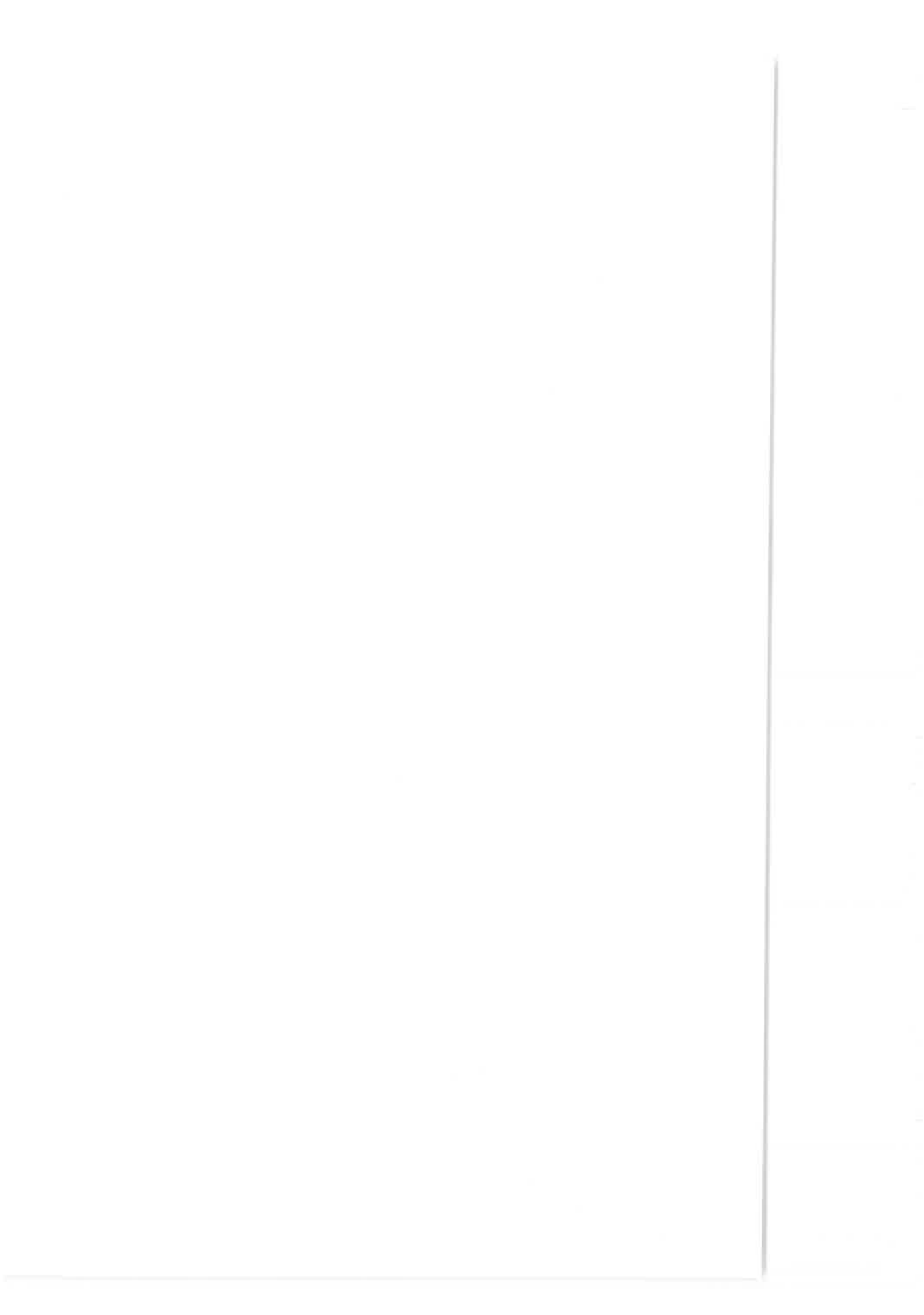
Pour le fanleaf, l'inoculation de plantes tests herbacées (*Chenopodium quinoa*) donne des résultats très satisfaisants, surtout après concentration de l'inoculum.

Pour l'indexage sur vignes indicatrices, la meilleure technique d'inoculation consiste à greffer des boutures au printemps à l'état dormant.

Les variétés indicatrices de l'Enroulement « Mission » et « Baco 22 A » ne réagissent pas suffisamment dans les conditions de l'Australie, mais d'autres variétés sont à l'étude. Le LN 33 (indicateur du Corky bark) semble donner de très bons résultats également pour le virus de l'Enroulement. Cet hybride a de sérieux avantages sur les variétés indicatrices de *Vitis vinifera*, notamment par sa résistance élevée au mildiou.

La maladie du « Yellow Speckle » a été introduite depuis une dizaine d'années avec des plants originaires de Californie, où cette maladie restait pratiquement latente. Actuellement la maladie est devenue commune en Australie, notamment chez certaines variétés « Waltham Cross » et « Mission », pratiquement atteintes en totalité. Les symptômes consistent en petites taches jaune vif, éparses sur le limbe ou bordant les nervures. La maladie est transmissible par le greffage. La variété « Esparte » semble la plus convenable pour servir à l'indexage.

---



# NOTE CONCERNANT LES TRAVAUX DE SÉLECTION SANITAIRE CONDUITS PAR L'ASSOCIATION NATIONALE TECHNIQUE POUR L'AMÉLIORATION DE LA VITICULTURE

C. VALAT

*Directeur de l'A. N. T. A. V.  
Domaine de l'Espiguette, 34 - Le Grau-du-Roi (France)*

---

## RÉSUMÉ

L'A. N. T. A. V. (Association nationale technique pour l'Amélioration de la Viticulture) a pour objectif la fourniture aux pépiniéristes et aux viticulteurs des bois de vignes de sélection clonale, présentant des qualités de végétation et de production satisfaisantes.

Cet objectif implique l'élimination des clones de vigne atteints de viroses dangereuses. Il nécessite une sélection visuelle, tests de laboratoire, indexage sur vignes indicatrices, thérapie, constitution de collections de clones et mise en prémultiplication de ceux-ci.

Les différentes variétés de *Vinifera* et de porte-greffes, actuellement à l'étude, sont atteintes dans des proportions variables par les viroses (marbrure et enroulement sont très répandus). Pour certaines variétés, il sera nécessaire de continuer la prospection dans les vignobles, réintroduire du matériel végétal d'origine étrangère (cépages de table) ou tenter la guérison du matériel disponible, par thérapie.

---

La présente note a pour but de faire état de quelques résultats obtenus depuis 1964 dans le cadre de la sélection sanitaire du matériel de multiplication végétative de la vigne.

## I. — MÉTHODES DE SÉLECTION

### 1. — *Sélection visuelle*

Elle est utilisée pour les variétés qui sont représentées par un nombre de clones important.

Chaque souche du clone reçoit une note de 0 à 5 en fonction de son état sanitaire et une deuxième note de 0 à 5 tenant compte de sa vigueur.

Chaque souche est notée aussi, en ce qui concerne le millerandage et la production. Pour certaines variétés (Grenache N., Cinsaut N., Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc, Pinot N., etc.) il est fait un contrôle enroulement.

Les moyennes de ces notes permettent de classer les clones les uns par rapport aux autres.

Ceux retenus sont soumis aux tests de laboratoire et à l'indexage.

Un certain nombre d'entre eux font l'objet de pesées et de comptage (degré et pH sur un échantillon de 200 grains par clone, pesée de la récolte par souche, comptage des grappes).

#### 2. — *Tests de laboratoire*

(sérologie et transmission aux chénopodes)

Ils sont effectués jusqu'à ce jour par le laboratoire de Pathologie végétale de l'Institut national de la Recherche agronomique à Colmar.

#### 3. — *Thermothérapie*

Certaines variétés atteintes de court-noué sont traitées par thermothérapie. Ce procédé est appliqué aux cépages clones et aux cépages populations dont le niveau sanitaire peut être difficilement amélioré par sélection visuelle, c'est-à-dire pratiquement tous les porte-greffes, les raisins de table et certaines variétés de raisins de cuve.

#### 4. — *Indexage enroulement et marbrure*

Index enroulement : Pinot noir et Cabernet Sauvignon.

Index marbrure : Rupestris du Lot.

Technique de greffage : greffage en écusson d'un œil du clone à indexer au bas de la bouture servant d'index.

#### 5. — *Prémultiplication*

Lorsqu'un clone paraît intéressant, il est mis en prémultiplication même s'il n'est pas encore agréé.

Les têtes de clones sont constituées par cinq pieds qui donnent chacun vingt souches en prémultiplication, ce qui correspond à un rang.

#### 6. — *Collections de clones*

Des collections de dix clones au maximum par variété sont mises à la disposition des adhérents de l'A. N. T. A. V. Un certain nombre de mesures : rendement, degré, fertilité, permettent d'établir les performances de ces clones mis ainsi en comparaison.

### RÉSULTATS

Il ne s'agit que de premiers résultats fragmentaires qui seront complétés au fur et à mesure du développement des travaux de l'A. N. T. A. V.

# I. — *Porte-greffes*

Variétés <sup>(1)</sup>	Tests Labo		Enroulement		Marbrure	
	Nb	S	Nb	S	Nb	S
Riparia Gloire de Montpellier .....	6	5	6	6		
Rupestris du Lot .....	3	3	2	1		
3309 C .....	1	1	2		2	2
101-14 (M et G) .....	5	5				
420 A (M et G) .....	2	2	1		1	1
161-49 C .....	1	1	1		1	1
5 BB .....	1	1	1		1	1
SO 4 .....	2	2	2	1		
5 C .....	1	1	1		1	1
RSB n° 1 .....	1	1	1		1	1
99 R .....	4	4	2	2	1	1
110 R .....	6	6	6	4	2	2
140 Ruggeri .....	1	1				
1303 Paulsen .....	1	1				
1447 Paulsen .....	2	2				
41 B (M et G) .....	4	4				
633 EM .....	1	1				
1116 C .....	1	1	1	1	1	1
216-3 Castel .....	3	3	2	1	2	2
196-17 Castel .....	3	3			1	1
44-53 Malègue .....	3	3	1	1	1	1
Vialla .....	1	1				
	53	52	29	17	15	15

<sup>(1)</sup> Le matériel porte-greffes a fait l'objet de travaux de sélection visuelle avant son introduction à P.A. N. T. A. V.

Tests laboratoire - Enroulement - Indexage : Nb : Nbre de clones testés ; S : clones sains.

## 2. — *Table*

Variétés	Sélection visuelle		Tests labo		Enroulement		Marbrure	
	(1)	(2)	Nb	S	Nb	S	Nb	S
Al. Lavallée .....	178	9	1	1	7	3	1	
Cardinal .....	94	5	1	1	5	2	4	
Chasselas .....	54	7			5	5		
Dabouki .....		6	6	6				
Dattier de Beyr. ....	69	8	8	8	6	5		
Italia .....	92	5			4	3	5	2
Muscat de Hambourg	21	6			6	3	4	2
Servant .....	108	11	5	5	11	2	10	5
Gros Vert .....	73	5	2	2	5	1	5	2
	689	62	23	23	49	24	29	11

Sélection visuelle : (1) clones en sélection.

(2) clones retenus.

Tests laboratoire - Enroulement - Indexage Nb : nombre de clones testés.

S : clones sains.

## 3. — Cuve

Variétés	Sélection visuelle		Tests labo		Enroulement		Marbrure	
	(1)	(2)	Nb	S	Nb	S	Nb	S
Arbois .....	141	5			3	3		
Aubun .....	107	7	2	2	7	1	1	
Cabernet Franc.....	185	18	3	3	5	3		
Cabernet Sauvignon..	97	16	1	1	9	9		
Carignan N. ....	166	15	13	13	14	9	10	9
Chenin .....	180	9			5	5		
Cinsaut .....	115	16	8	8	13	5	13	12
Clairette B. ....	132	12	7	7	13	7	8	8
Gamay N. ....	171	15	2	2	12	12		
Grenache N. ....	187	15	11	8	13	1	7	7
Grolleau N. ....	39	8			5	5		
Melon .....	143	26	1		23	21	3	
Piquepoul B. ....	72	9	3	3	5	2		
Piquepoul G. ....	27	8	3	3	7			
Piquepoul N. ....	8	8	7	7	3	1		
Sauvignon .....	192	14	1	1	10	6		
Syrah N. ....	122	29	8	8	25	13	24	14
	2 054	230	70	66	172	103	66	50

Sélection visuelle : (1) clones en sélection

(2) clones retenus

Tests laboratoire — Enroulement — Indexage : Nb : nombre de clones testés

S : clones sains.

## COMMENTAIRES

I. — La sélection visuelle revêt un aspect différent suivant que l'on ait affaire à un cépage clone ou à un cépage population.

La sélection sanitaire basée sur l'attribution de notes reste valable lorsqu'on se trouve en présence d'un grand nombre de clones, car elle permet de dégager rapidement les meilleurs, à condition qu'elle soit assortie d'examen portant sur la production.

Elle ne s'impose sans doute pas si l'on doit choisir entre un petit nombre de clones.

La sélection visuelle est plus délicate à appliquer dans le cas d'un cépage clone ou d'une variété introduite car dans ce cas, le niveau sanitaire est difficile à améliorer. Il faut faire appel à d'autres méthodes. C'est le cas de tous les porte-greffes et de la plupart des raisins de table, à l'exception, entre autres, du Chasselas B., du Servant et du Gros-Vert.

La sélection visuelle permet de détecter les clones atteints de court-noué, comme le confirme le contrôle par les tests de laboratoire. Par contre, elle ne convient pas, à l'heure actuelle, pour dépister, sur la plupart des variétés, les viroses de l'enroulement et de la marbrure.



II. — L'enroulement est une maladie assez répandue aussi bien chez les porte-greffes que chez les raisins de table et les raisins de cuve. Elle est autant répandue chez les cépages clone que chez les cépages population.

Elle rend :

- très difficile la sélection de l'Aubun, du Grenache N., du Muscat de Hambourg, du Piquepoul gris, du Servant, du Gros-Vert ;
- difficile la sélection du Cinsaut, de la Clairette B., du Sauvignon.

III. — La marbrure est aussi assez répandue chez les cépages de table et chez les cépages clone, moins chez les cépages de cuve et les cépages population.

Elle rend :

- très difficile la sélection du Cardinal, de l'Idéal, du Melon, du Servant, de la Syrah ;
- difficile la sélection du Muscat de Hambourg, du Gros-Vert.

Le tableau 1 montre que les porte-greffes ne sont pas affectés par la marbrure. On peut avancer l'hypothèse que la sélection visuelle élimine les clones atteints.

IV. — La mise en évidence de nouvelles viroses complique le travail de sélection à tel point que pour certaines variétés, les travaux doivent être repris. C'est le cas pour l'Aubun, le Cardinal, le Grenache N., l'Idéal, le Muscat de Hambourg, le Piquepoul gris, le Servant, la Syrah, le Gros-Vert.

De nouvelles orientations doivent donc être proposées au sélectionneur.

Nous suggérons :

- pour la plupart des variétés (Aubun, Grenache N., Piquepoul Gris, Servant, Syrah, Gros-Vert), une nouvelle prospection au vignoble ;
- pour d'autres (Cardinal, Idéal, Muscat de Hambourg), la mise en œuvre de techniques permettant leur guérison ;
- pour certaines (Cardinal, Idéal), peut-être une nouvelle introduction de matériel.

V. — L'A. N. T. A. V. se proposant de fournir aux pépiniéristes et aux viticulteurs le plus rapidement possible et en quantité suffisante du matériel de sélection clonale, la sélection ne tendrait qu'à éliminer les clones atteints de viroses jugées dangereuses et à fournir des greffons d'une productivité satisfaisante, ou présentant des qualités culturelles ou technologiques intéressantes.

## SUMMARY

### NOTE CONCERNING SANITARY SELECTION WORK IN A. N. T. A. V.

A. N. T. A. V. (National Association for Technical Improvement of Viticulture) aimed at supplying nurserymen and vinegrowers with selectioned grape-wood presenting satisfying qualities of growth and production.

This aim implies elimination of grapevines infected by dangerous virus diseases.

A. N. T. A. V. work consists in : visual selection, laboratory tests, indexing on indicator grape varieties, thermotherapy, collection and multiplication of clonal progenies.

The different *Vinifera* and stock-hybrids cultivars , which are now being studied, are infected in various proportions, principally by « Marbrure » and « Leafroll ».

For some of them it will be necessary to continue prospections in the vineyards, to reintroduce some foreign varieties (especially table varieties) or to cure the available material by thermotherapy.

---

## GROUPE II

### Virus transmissibles mécaniquement

- H. F. DIAS. — Purification and some characteristics of Peach Rosette Mosaic Virus (Grape isolate).
- H. F. DIAS. — Strains of Peach Rosette Mosaic Virus differentiated by cross absorption and immunodiffusion tests.
- B. DIMITRIJEVIĆ. — Quelques observations concernant le virus de la mosaïque du tabac chez la vigne atteinte de la Dégénérescence infectieuse, en Yougoslavie.
- A. A. FERREIRA, O. A. DE SEQUEIRA. — Preliminary studies on an undescribed grapevine virus.
- R. M. GILMER, J. K. UYEMOTO, L. J. KELTS. — Infection of grapevine, in New York, by Tobacco Ringspot Virus (abstract).
- G. P. MARTELLI, A. QUACQUARELLI. — Hungarian Chrome Mosaic of grapevine and Tomato Black Ring : two similar but unrelated plant viruses.
- AMARILIS DE MENDONÇA, O. A. DE SEQUEIRA, A. A. FERREIRA. — Sur l'isolement d'un virus à partir de cultures de tissus de vigne (résumé).
- G. STELLMACH, B. WEISCHER. — Fremdartig erkrankte Reben, aus denen ein saftübertragbares Virus isoliert wurde.
- A. VUITTENEZ, J. KUSZALA. — Expérimentation d'améliorations récentes apportées aux techniques de détection des virus chez la Vigne, par des procédés physiques et sérologiques.
-



# PURIFICATION AND SOME CHARACTERISTICS OF PEACH ROSETTE MOSAIC VIRUS (GRAPE ISOLATE)

H. F. DIAS

*Research Station, Canada Department of Agriculture,  
Vineland Station, Ontario (Canada)*

---

## SUMMARY

Highly infectious preparations of peach rosette mosaic virus (grape isolate) were obtained by grinding 100 g of leaves with 200 ml of 0.02 M phosphate buffer (pH 7) containing 0.02 M of 2-mercaptoethanol and 0.02 M of DIECA. After freezing overnight, the thawed sap was dialyzed against 20 p. 100 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> and subjected to differential centrifugation. The stability of the virus preparations was increased by further purification with G 200 Sephadex.

Partially purified virus subjected to sucrose density gradient centrifugation showed two infectious, serologically active components that sediment at different rates. The sedimentation constants of the slow (S) and the fast (F) migrating components were  $S_{20W} = 115$  and  $S_{20W} = 134$ , respectively. When F and S were isolated and inoculated separately into *C. quinoa* both components were reproduced. The ratio of absorption between F and S components is not dependent on the time after virus inoculation, suggesting that the slow form is not a precursor of the virus.

Electron micrographs of purified virus preparations containing the S and the F forms showed isometric particles ranging in size from 24 to 31 m $\mu$  and averaging 28 m $\mu$ .

---

## INTRODUCTION

Peach rosette mosaic was first reported from Michigan (CATION, 1933). The disease was graft transmissible and caused by a soil-borne virus (CATION, 1942; FULTON and CATION, 1959; KLOS *et al.*, 1967).

More recently, an undescribed virus-like disease in *Vitis labrusca* cv. « Concord » has been observed in Michigan. It was found frequently in soils in which rosette mosaic infected peaches had previously grown. Infected grapes show a delayed bud-break, asymmetric and mottled leaves, shelling of berries and the vines are stunted and may die eventually.

We have reported the transmission of viruses from both infected peaches and grapes and presented evidence that peach rosette mosaic and grape decline are caused by similar viruses (DIAS, 1968).

The present paper reports the effect of several methods of purification on the infectivity of the peach rosette mosaic virus (PRMV) preparations and described some characteristics of this virus.

## MATERIALS AND METHODS

### *Virus*

A severe isolate in *Chenopodium quinoa*, recovered from infected grapes (GDV1) was studied in detail. It was maintained on *C. quinoa* and transferred 3 to 4 weeks after inoculation.

### *Test plant*

*C. quinoa* was used to assay the various extracts and purified preparations. All plants were grown in sterilized pots and steamed soil. Inoculum was finger-rubbed over carborundum-dusted leaves. After inoculation, the leaves were rinsed with tap-water and the plants maintained in an insect-free greenhouse under natural light and fumigated at intervals with lindane smokes.

### *Purification*

Infectious sap was obtained from both inoculated and systemically infected leaves of *C. quinoa* harvested 10 to 12 days after inoculation by grinding 100 g of fresh leaves in a blender with 200 ml of 0.067 M phosphate buffer (pH 7) and 50 ml of 0.1 M ascorbic acid. The following purification procedures were tested with the infectious sap :

Procedure 1 : sap was clarified by the chloroform-pH method (DIAS and DOANE, 1968).

Procedure 2 : sap was mixed with bentonite suspension to which 0.1 M  $\text{MgSO}_4$  was added (DUNN and HITCHBORN, 1965).

Procedure 3 : sap was clarified by the butanol-chloroform method (STEELE, 1956).

Two other methods were assayed using 100 g of fresh infected leaves :

Procedure 4 : sap was prepared and clarified by FULTON method (1959).

Procedure 5 : general procedure was the same as for the purification of tomato ringspot virus (STACE-SMITH, 1965) except that the leaves were homogenized with 200 ml of 0.02 M phosphate buffer (pH 7) containing 0.02 M of 2-mercaptoethanol and 0.02 M of Dica.

The clarified sap from procedures 1, 2, 3 and 4 and the dialyzed sap from procedure 5 were centrifuged at 105, 651 g ( $R_{\text{max}}$ ) in a Spinco Model L ultra-centrifuge for 2 hours. The pellets were resuspended in 2-3 ml of 0.017 M phosphate buffer (pH 7), centrifuged at low speed and the supernatant bioassayed.

### *Column chromatography*

Further purification was obtained by passing partially purified virus through a G 200 Sephadex column (20/1 ratio) which was continuously eluted with 0.017 M phosphate buffer (pH 7). Nine 3-ml aliquots were collected and tested biologically and serologically.

*Density gradient*

0.5 to 1 ml quantities of the more infectious fractions from the Sephadex column were submitted to rate zonal density gradient centrifugation (DIAS, 1967). The final preparation will be referred to in the text as gradient purified virus.

*Electron microscopy*

Gradient-purified virus in 0.1 M ammonium acetate was examined in a Philips EM 300 electron microscope. The grids were negatively stained with 2 p. 100, phosphotungstic acid (PTA) at pH 6.5 with traces of bovine serum albumin.

*Analytical centrifugation*

The virus sedimentation constant was determined with a Spinco Model E analytical ultracentrifuge. Virus pellets resulting from one differential centrifugation or gradient purification were resuspended in 0.1 M KCl and the runs were performed at a constant temperature of 20° C (MARKHAM, 1962). The sedimenting boundary was observed with Schlieren optics at 24 600 r.p.m. and was photographed every 4 minutes.

## RESULTS

Table 1 shows that clarification by procedure 5 followed by differential centrifugation gave highly infectious preparations of GDV1. Procedure 1 and 3 greatly reduced infectivity. No virus was detected in preparations obtained by procedure 2 and 4. Virus infectivity of the preparations was correlated quantitatively with serological activity.

TABLE 1

*Effect of 5 different purification procedures on the infectivity of PMRV preparations*

Virus purification by	Dilution end-point of the virus preparations	Serological titer of the virus preparations
Procedure 1	10 <sup>a</sup>	4 <sup>b</sup>
Procedure 2	100	0
Procedure 3	100	4
Procedure 4	0	0
Procedure 5	1 000	16

Figures are the reciprocal of the end-points as determined by : *a* : bioassay ; *b* immunodiffusion test.

Procedure 5 and differential centrifugation therefore was used subsequently in virus purification of the different isolates. The resulting pellet from this method was greenish and jelly-like and when resuspended in distilled water or 0.017 M phosphate buffer (pH 7) it produced a yellowish high infectious suspension.

Partially purified preparations obtained by this method were unstable at 5°C and their infectivity often lost within 2 to 4 days. In attempts to provide stable virus, the partially purified preparations were eluted through a G 200 Sephadex column with buffer. UV absorption at 260 (fig. 1) and biological and serological tests showed that most of the virus was present in the second and third 3 ml portions that were collected. When these two fractions were bulked and subjected to differential centrifugation, the final preparation was opalescent, highly infectious and stable. These columns-purified preparations contained less normal plant protein when viewed in the electron microscope.

Partially or column purified virus preparations that were subjected to sucrose density gradient centrifugation, generally produced a double sharply defined opalescent zones 24 to 27 mm and 28 to 30 mm, respectively, below the meniscus. Ultraviolet absorption peaks, closely spaced, corresponding in position to the opalescent zones were recorded by the ultraviolet flow analyzer (fig. 3). The fastest (F) migrating component usually absorbed more than the slow (S) one. On a few occasions, the reverse was observed, but no reason was found to explain this behaviour. Sometimes, a very small peak was recorded in the 7th to 9th fraction (fig. 3). This component was biologically and serologically inactive. Electron micrographs showed capsids and partially disintegrated virus particles.

The sedimentation coefficients of S and F migrating components were  $S_{20W} = 115$  and  $S_{20W} = 134$  respectively, as determined in the analytical ultracentrifuge (fig. 5). The sedimentation constant of the non-infectious component was  $S_{20W} = 52$  (fig. 5).

Attempts were made to determine if the ratio of absorption between F and S was dependent on the time after inoculation. Figure 4 shows that the fast component always absorbed more than the slow one, regardless of the time after inoculation, indicating that the slow form is not a precursor of the virus.

Increased purity of F and S was achieved by a second density gradient purification. Biological and serological tests with F and S prepared in this way showed that both were infectious and reacted with GDVI antiserum. The precipitin lines in agar coalesced indicating identity. When these components were inoculated separately into *C. quinoa* both F and S were reproduced again.

Electron micrographs of purified virus preparations containing the S and the F components showed isometric particles ranging in size from 24 to 31 m $\mu$  averaging 28 m $\mu$  (fig. 2). The average size of the particles of the slow and the fast migrating components after two gradient centrifugations was 27 and 29 m $\mu$  respectively.

## DISCUSSION

PRMV is typical of several other ringspot viruses in being unstable *in vitro*. Stabilization of infectivity was achieved by preparing the extracts with 2-mercaptoethanol and eluting the partially purified virus through a Sephadex column.



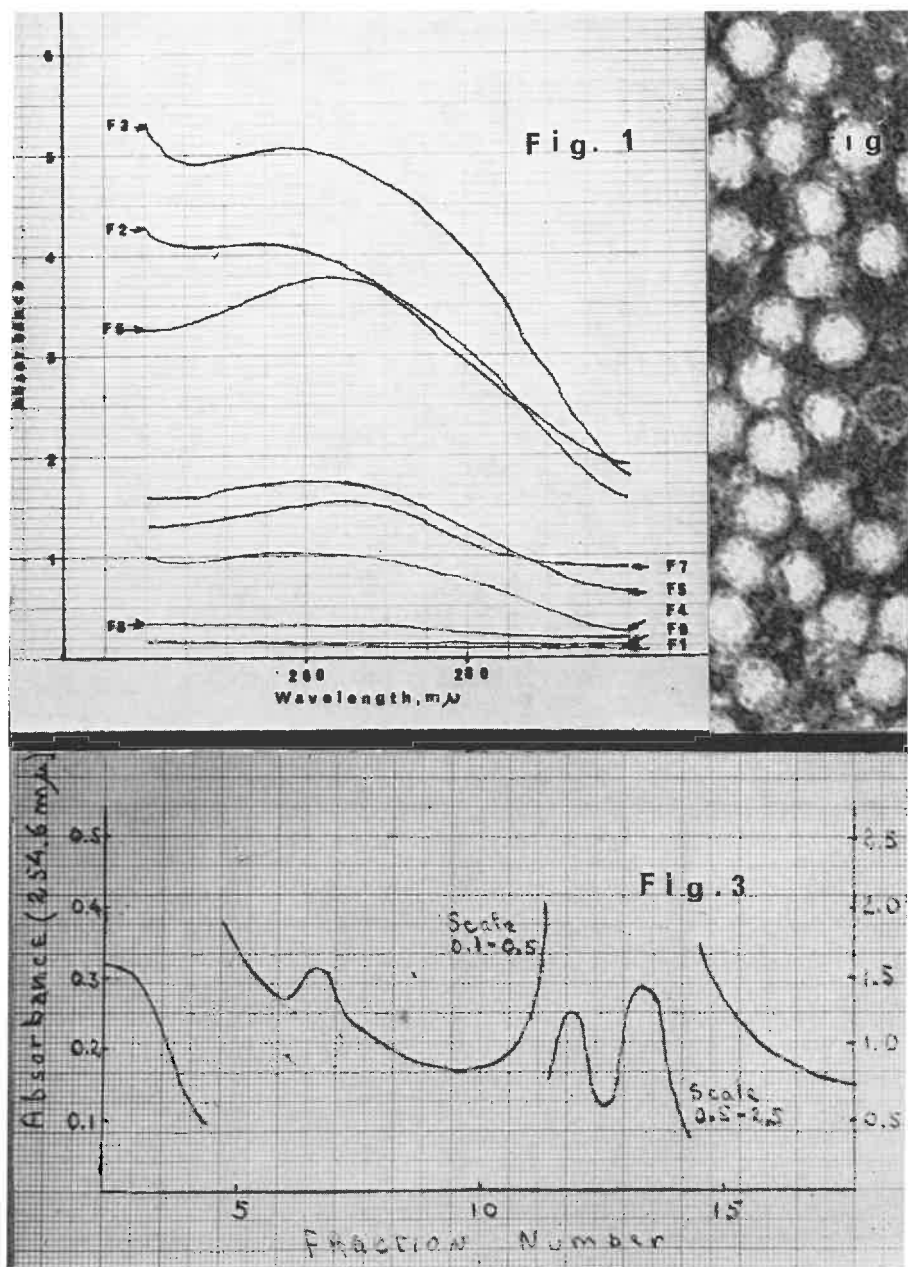


FIG. 1. — Ultraviolet absorption spectra of different fractions eluted through a G 200 Sephadex column

FIG. 2. — Electron micrographs of partially purified preparations of PRMV negatively stained with 2 p. 100 PTA

FIG. 3. — Ultraviolet absorbance scanning pattern at 254 mμ of partially purified PRMV centrifuged 2 hours at 105,651 g in a density-gradient tube of 6 to 60 p. 100 sucrose

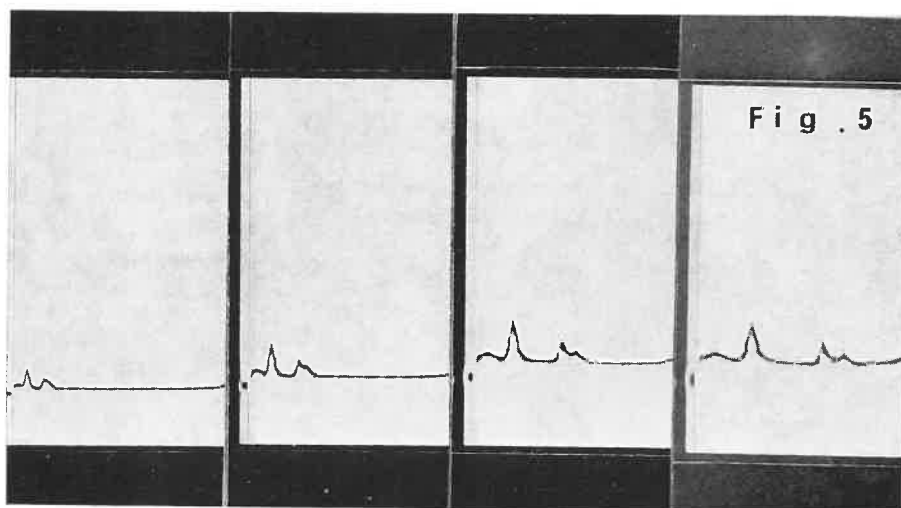
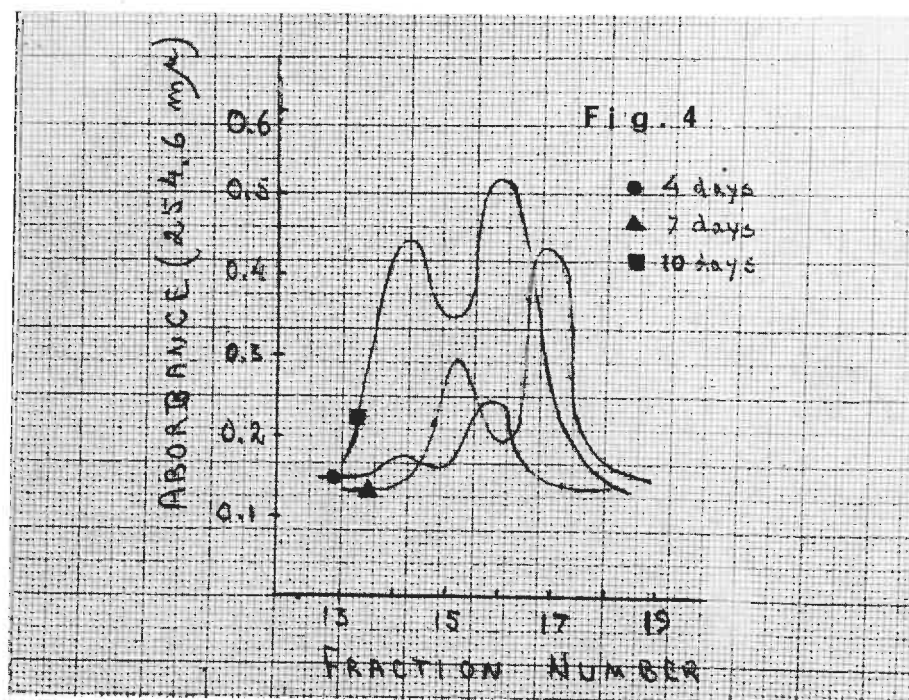


FIG. 4. — Ultraviolet absorbance scanning patterns at 254 mμ of PRMV prepared 4, 7 and 10 days after inoculation of *C. quinoa*. Partially purified virus was centrifuged 2 hours at 105,651 g in a tube with a continuous gradient from 6 to 60 p. 100 sucrose.

FIG. 5. — Sedimentation patterns of partially purified PRMV, photographed with Schlieren optics 4, 8, 16 and 24 minutes after analytical centrifuge reached 24 600 r.p.m.

Purified PRMV contains two infectious, serological active components that sediment at different rates. The slow component is not a precursor of the virus and may be partially deficient RNA particles.

## RÉSUMÉ

### PURIFICATION ET CARACTÉRISTIQUES DU VIRUS DE LA MOSAÏQUE NORD-AMÉRICAINE DU PÊCHER (PEACH ROSETTE MOSAIC VIRUS) ÉTUDE D'ISOLATS OBTENUS DE VIGNE

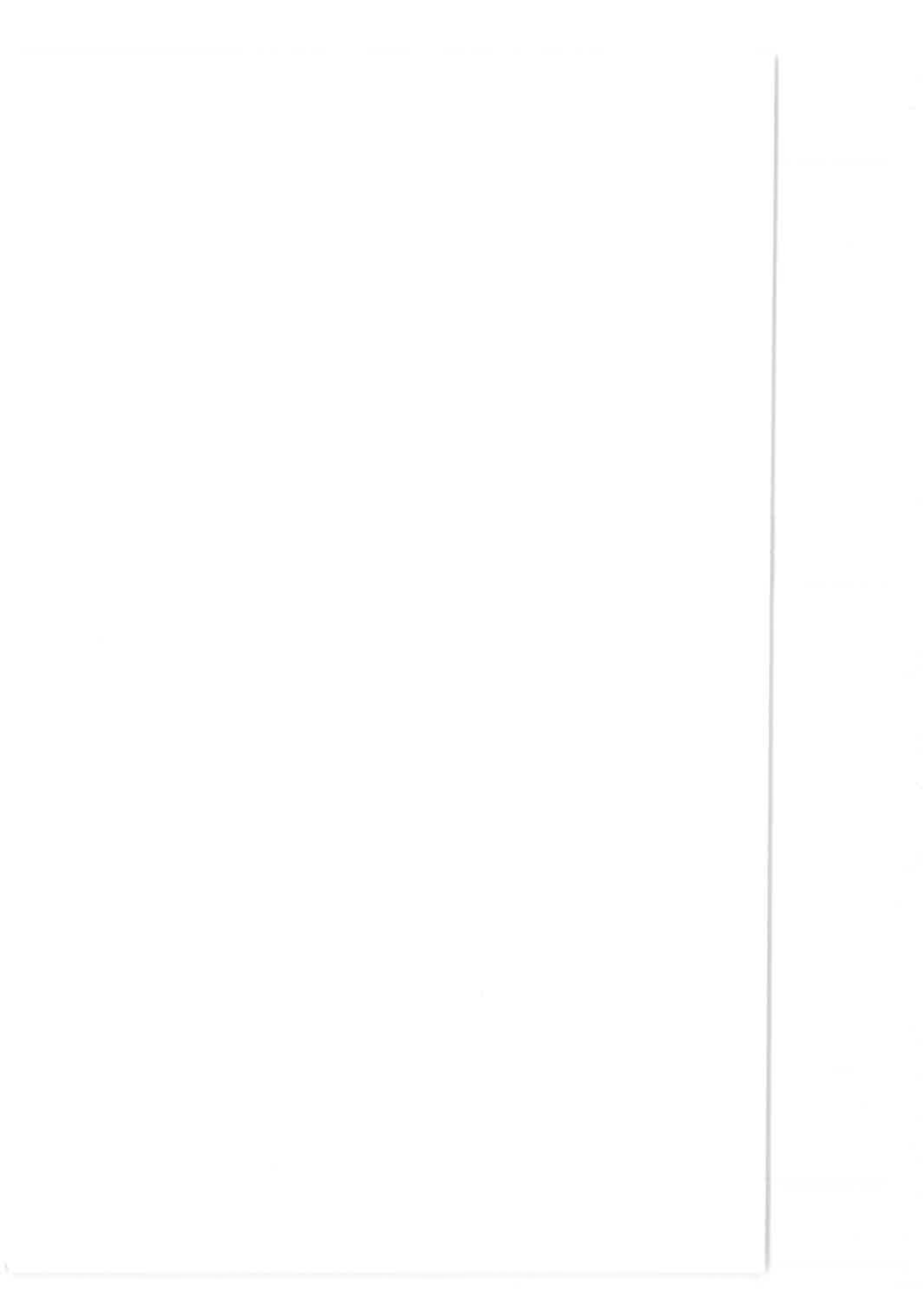
Des préparations hautement infectieuses du virus de la peach rosette mosaic (isolats de vigne) sont obtenues en broyant 100 g de feuilles de *Chenopodium quinoa* dans 200 ml de tampon phosphate 0,02 M (pH 7), contenant du 2-mercaptoéthanol 0,02 M et du Diéca 0,02 M. Après congélation pendant une nuit, le jus dégelé est dialysé contre une solution de sulfate d'ammonium à 20 p. 100, puis soumis à une centrifugation différentielle. La stabilité des préparations des virus est augmentée par une purification supplémentaire sur Sephadex G 200.

Des préparations de virus purifié, soumises à une ultracentrifugation sur un gradient de densité de saccharose, se révèlent un mélange de deux composants infectieux et actifs sérologiquement, qui séparent à des vitesses différentes (constantes de sédimentation du composant lent 115 SW et du composant rapide 134 SW). Lorsque ces deux constituants sont isolés et inoculés séparément à des *C. quinoa*, les deux types se retrouvent dans les deux cas. Les rapports d'absorption UV sont indépendants de la durée qui s'écoule après l'inoculation du virus, suggérant que le composant lent n'est pas un précurseur du virus.

Les clichés électroniques de préparation contenant le virus (composant rapide et lent) montrent des particules subsphériques, dont le diamètre varie de 24 à 31 mμ, la moyenne étant de 28 mμ.

## REFERENCES

- CATION D., 1933. An infectious rosette of peach trees. *Mich. Agr. Exp. Sta. Quart. Bull.*, **16**, 79-84.  
 CATION D., 1942. The rosette mosaic disease of peach. *Mich. Agr. Exp. Sta. Tech. Bull.*, **180**, 1-24.  
 DIAS H. F., 1968. A sap transmissible virus associated with diseases of peach and grape (Abst.). *Weinb. Keller*, **15**, 516-517.  
 DIAS H. F., WATERWORTH H. E., 1967. The identity of a seed-borne mosaic virus of *Chenopodium amaranticolor* and *C. quinoa*. *Can. J. Botany*, **45**, 1285-1295.  
 DIAS H. F., DOANE F. W., 1968. Evidence for lack of relationship between Canadian cucumber necrosis virus and tobacco necrosis virus. *Can. J. Botany*, **46**, 47-50.  
 DUNN D. B., HITCHBORN J. H., 1965. The use of bentonite in the purification of plant viruses. *Virology*, **25**, 171-192.  
 FULTON W. F., 1959. Purification of sour cherry necrotic ringspot and Prune dwarf viruses. *Virology*, **9**, 522-535.  
 FULTON R. H., CATION D., 1959. Destruction of inoculum as possible transmitting agent of peach rosette mosaic virus by soil drenching with chlordane. *Pl. Dis. Rep.*, **43**, 991-992.  
 KLOS E. J., FRONEK F., KNERIM J. A., CATION D., 1967. Peach rosette mosaic transmission and control studies. *Mich. Agr. Exp. Sta. Quart. Bull.*, **49**, 287-293.  
 MARKHAM R., 1962. The analytical ultracentrifuge as a tool for the investigation of plant viruses. *Advan. Virus Res.*, **9**, 241-270.  
 STACE-SMITH R., 1965. Purification and properties of tobacco ringspot virus and an R N A-deficient component. *Virology*, **25**, 481-494.  
 STEERE R. L., 1956. Purification and properties of tobacco ringspot virus. *Phytopathology*, **46**, 60-69.



# STRAINS OF PEACH ROSETTE MOSAIC VIRUS DIFFERENTIATED BY CROSS ABSORPTION AND IMMUNODIFFUSION TESTS

H. F. DIAS

*Research Station Canada Department of Agriculture  
Vineland Station, Ontario (Canada)*

Two isolates from grape (GDV1 and GDV2) and one from peach (PRMV1) were studied serologically in agar plates. Absorption tests were made by incubating 1 volume of antiserum with 5 volumes of the heterologous viruses for 3-4 hours at 37°C. The mixtures were incubated overnight at 5° C and then centrifuged for 5 minutes at 10,000 r.p.m. before titrating the residual antibody content of the supernatant.

*Effect of cross-absorption on the end-points of antisera to peach rosette mosaic virus isolates*

Antiserum against	Absorbed with	Test Antigen		
		GDV1	PRMV1	GDV2
GDV1	0	256 <sup>a</sup>	256	256
	PRMV1	0	0	0
	GDV2	0	0	0
PRMV1	0	256	256	256
	GDV1	0	0	0
	GDV2	0	0	0
GDV2	0	128	128	256
	GDV1	0	0	28
	PRMV1	14	16	160
	GDV2	0	0	0

<sup>a</sup>) reciprocal of the precipitin end-points as determined by immunodiffusion tests.

Each antiserum reacted at the same dilution end-point when titrated against equal concentration of the homologous or the heterologous viruses. They share many of their antigenic groups with one another but one of them, GDV2, a mild isolate from

grape has some antigenic determinates that are not present in PRMV<sub>1</sub> and GDV<sub>1</sub>, as was detected by cross absorption.

Immunodiffusion tests confirmed the results of cross absorption tests. GDV<sub>1</sub>, GDV<sub>2</sub> and PRMV<sub>1</sub> isolates produced precipitin lines with GDV<sub>1</sub> and PRMV<sub>1</sub> antisera that coalesced with the zone produced by the homologous reference isolate. However, when GDV<sub>1</sub> antiserum was used a characteristic spur was formed between GDV<sub>1</sub> and GDV<sub>2</sub> as well as between PRMV<sub>1</sub> and GDV<sub>2</sub> confirming that the antigenic constitution of GDV<sub>2</sub> is different from GDV<sub>1</sub> and PRMV<sub>1</sub>.

---

### RÉSUMÉ

MISE EN ÉVIDENCE DE SOUCHES DISTINCTES  
DU VIRUS DE LA MOSAÏQUE NORD-AMÉRICAINE DU PÊCHER  
(PEACH ROSETTE MOSAIC VIRUS)  
PAR TESTS D'ABSORPTION CROISÉE ET D'IMMUNODIFFUSION

Deux isolats obtenus de Vigne (GDV<sub>1</sub> et GDV<sub>2</sub>) et un de Pêcher (PRMV<sub>1</sub>) ont été étudiés sérologiquement en gélose. Des tests d'absorption ont été effectués en incubant pendant 3-4 heures à 37° un volume d'antisérum avec 5 volumes de préparations des virus hétérologues. Les mélanges ont été laissés ensuite pendant une nuit à 5°C, puis centrifugés pendant 5 minutes à 10 000 t/m avant d'effectuer la titration des anticorps résiduels dans le surnageant.

Chaque antisérum réagissait jusqu'à la même dilution limite, lorsqu'il était éprouvé en présence d'une quantité équivalente des isolats homologues et hétérologues. Cependant, l'isolat GDV<sub>2</sub> possédait certains déterminants antigéniques n'existant pas chez PRMV<sub>1</sub>, ni chez GDV<sub>1</sub>.

Les tests d'immunodiffusion ont montré qu'en présence des sérums GDV<sub>1</sub> et PRMV<sub>1</sub>, les isolats GDV<sub>1</sub>, PRMV<sub>1</sub> et GDV<sub>2</sub> produisaient des lignes de précipités se raccordant totalement avec l'isolat homologue de référence. Mais lorsque l'antisérum GDV<sub>2</sub> était utilisé, il se formait un éperon caractéristique d'une part entre GDV<sub>1</sub> et GDV<sub>2</sub> et d'autre part entre PRMV<sub>1</sub> et GDV<sub>2</sub>. Ceci confirme que la constitution antigénique de GDV<sub>2</sub> est distincte à la fois de celle de GDV<sub>1</sub> et de celle de PRMV<sub>1</sub>.

---

QUELQUES OBSERVATIONS  
CONCERNANT LE VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC  
CHEZ LA VIGNE  
ATTEINTE DE LA DÉGÉNÉRESCENCE INFECTIEUSE  
EN YUGOSLAVIE

B. DIMITRIJEVIĆ

*Institut pour la Protection des Plantes  
Belgrade (Yougoslavie)*

---

RÉSUMÉ

Des échantillons de Vigne malade, provenant des vignobles de Fruška Gora, ont été éprouvés pour la présence de virus. Par la méthode de greffage (l'ablactation), avec *Chenopodium murale* comme plante-test, a été effectuée la transmission d'un virus, identifié comme le Virus de la Mosaïque du Tabac (TMV). Par des rétroinoculations sur la Vigne, et des réisolations du virus, plusieurs fois répétées, a été démontrée de façon incontestable la présence du TMV sur la Vigne de cette zone viticole. Ce sont les premières observations du TMV chez la Vigne en Yougoslavie.

---

INTRODUCTION

En de nombreuses régions viticoles de Yougoslavie on observe, depuis plusieurs années déjà, des symptômes de changements dégénératifs et de dépérissement de la Vigne que l'on attribuait à différentes causes, le plus souvent aux virus (ČEČUK, 1955 ; JOSIFOVIĆ, 1958 ; BRODNIK-SPECOGNA, 1958 ; MINEV et MANČEV, 1960 ; SABADOŠ-ŠARIĆ et CORTE, 1960 ; ŠARIĆ, 1960).

Dans le territoire de Fruška Gora, l'une des régions viticoles importantes de la partie nord-est de la Yougoslavie, les manifestations de dégénérescence de la Vigne ont été constatées en proportions considérables (PERIŠIĆ et ARSIĆ, 1960). Les symptômes observés sur les plantes malades ont suggéré la conclusion qu'il s'agissait de

la dégénérescence infectieuse de la Vigne. La Vigne malade provenant de ce territoire a été éprouvée pour la présence de virus à l'Institut pour la Protection des Plantes à Belgrade. Certains résultats de ces recherches sont présentés dans cette communication.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les échantillons pour l'investigation provenant des ceps aux différents symptômes de la dégénérescence infectieuse (altérations chlorotiques sur les feuilles et altérations morphologiques sur les feuilles et les sarments) ont été apportés vers le milieu du mois de juin 1963. Comme plantes-test ont été utilisés les semis de Vigne des sortes « Silvaner » et « Muscat de Hambourg », produits au cours de l'hiver précédent dans la serre.

Les inoculations de ces plants en pots ont été réalisées par la méthode de greffage des parties superficielles du tissu (« chip budding ») de sorte que chaque plant recevait de 2 à 4 inoculums. Au cours de l'été, toutes ces plantes-test ont été gardées sous contrôle dans la serre. Environ deux mois après l'inoculation, les vignes sur lesquelles certains symptômes étaient observés sur les jeunes feuilles (mosaïque, déformations), ont été transplantées dans des pots plus grands, avec 2 ou 3 plantes de *Chenopodium murale*, en vue d'une inoculation ultérieure par la méthode d'ablactation.

La réunion avec la Vigne a été effectuée par la méthode qu'on appelle dans l'arboriculture « à la mode de Lyon » (par des incisions, en forme de languettes, qui rentrent les unes dans les autres). Au temps du greffage les plantes atteignaient la hauteur de 13-14 cm et avaient de 10 à 12 feuilles développées. L'ablactation a été effectuée d'ordinaire au-dessus de la sixième feuille.

Les inoculations mécaniques de différentes plantes-test herbacées (*Chenopodium amaranticolor*, *Ch. foetidum*, *Ch. murale*, *Ch. quinoa*, *Datura stramonium*, *Lycopersicum esculentum*, *Nicotiana glutinosa*, *N. tabacum* var. Samsun, etc.) ont été réalisées dans un tampon phosphate (0,03 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) et l'inoculum de la feuille et de la racine de la Vigne a été préparé dans une solution de nicotine à 2,5 p. 100. Comme abrasif a été utilisé le carborundum (400 mesh).

Les rétroinoculations, sur la Vigne, à partir du *Chenopodium murale* infecté, ont été effectuées également par la méthode d'ablactation, selon le même procédé que ci-dessus.

### RÉSULTATS ET DISCUSSION

Chez un des semis de Vigne, variété « Muscat de Hambourg », un mois après l'inoculation par la méthode de « chip budding », se manifestait, sur les feuilles nouvellement formées, la bigarrure chlorotique avec déformations légères. L'inoculation par l'ablactation de ce semis avec une plante saine de l'espèce *Chenopodium murale*, a été effectuée au commencement du mois de septembre. Sur la vigne on ne remarquait plus les signes de la mosaïque et les feuilles étaient atteintes de chlorose à peine perceptible.

Dix jours après l'ablactation se manifestèrent les premiers symptômes de l'infection systémique sur *Ch. murale* en forme de marbrure chlorotique (mottling) très



prononcée, sur une feuille près du sommet de la plante (fig. 1). En même temps furent observées la déformation et la chlorose d'une petite feuille de cette plante, immédiatement au-dessous de l'endroit de greffage. Deux jours plus tard, les symptômes de la maladie se manifestèrent aussi sur une feuille près de la pointe et sur une autre petite feuille au-dessous de l'endroit d'inoculation. Le nombre de feuilles à marbrure chlorotique augmente graduellement et quatre semaines après l'ablactation, les symptômes de la virose pouvaient être observés sur presque toutes les jeunes feuilles.

Par les inoculations mécaniques à partir de *Chenopodium murale* ablacté, on a effectué l'infection d'un nombre considérable de différentes plantes-test, et se basant sur les symptômes bien connus et caractéristiques sur *Nicotiana tabacum* (mosaïque), *N. glutinosa* et *Datura stramonium* (nécroses locales), *Chenopodium quinoa* et *Ch. amaranticolor* (taches chlorotiques locales), *Lycopersicum esculentum* (mosaïque et rétrécissement du limbe des feuilles) etc., on a constaté qu'il s'agissait de la mosaïque du Tabac ordinaire (Tobacco mosaic virus, TMV).

Cette diagnose représentait alors une déception totale, parce que la première idée qui nous était venue, en considération de la grande contagiosité connue du virus de la mosaïque du Tabac, était qu'il s'agissait d'une contamination fortuite de la plante-test ablactée. Cela d'autant plus qu'en ce temps-là rien encore n'était connu sur la possibilité d'une infection de la vigne par le TMV. La première donnée là-dessus, autant que nous sachions, n'a été publiée que deux ans plus tard (GILMER et KELTS, 1965), pour être plus tard confirmée aussi par les autres auteurs (WERDEREWSKI et ZWIAGINA, 1966 ; BERCKS, 1967) qui avaient observé la présence du TMV sur la Vigne.

Sous l'influence de ces connaissances, ont été continuées les expériences avec notre isolat de la région de Fruška Gora qui, heureusement, a été conservé. Après quatre ans et demi de conservation sur *Chenopodium murale*, en transférant périodiquement (3 à 5 fois par an) sur les nouvelles plantes de la même espèce, a été tentée la rétroinoculation de la Vigne par cet isolat. Au mois d'avril 1968, un exemplaire de *Chenopodium murale*, inoculé deux mois auparavant et qui montrait les symptômes très prononcés de l'infection systémique, a été réuni avec un semis sain, âgé d'un an, de Vigne de variété « Silvaner », en appliquant de nouveau la méthode d'ablactation.

Environ trois semaines plus tard, on pouvait aisément remarquer sur les jeunes feuilles de la Vigne des déformations légères et des changements de couleur. Cinq semaines après l'ablactation un essai a été fait pour transférer le virus de ce semis de la Vigne de nouveau sur *Ch. murale*, mais cette fois-ci par voie mécanique. Comme inoculum a été prise la sève d'une feuille broyée de Vigne ablactée, avec l'addition de la nicotine. Vers la fin du mois de mai, 14 jours après l'inoculation, sur 4 de 6 plantes-test se sont manifestés les signes nets de l'infection, avec les mêmes symptômes qu'auparavant.

On a fait immédiatement un autre essai de transmission mécanique du virus à partir de la Vigne sur *Ch. murale* et *Nicotiana glutinosa*, mais cette fois sans aucun succès. De même la tentative d'infection suivante, avec les mêmes matériaux, n'a donné, plus, aucun résultat positif. C'est seulement dans la troisième série d'inoculations non mécaniques, effectuées au mois de septembre, qu'on a réussi, de nouveau, à obtenir l'infection.

En vue d'obtenir la confirmation de ces résultats, on a effectué, vers la fin du mois de septembre, l'ablactation d'un nouveau semis de la Vigne, de façon identique

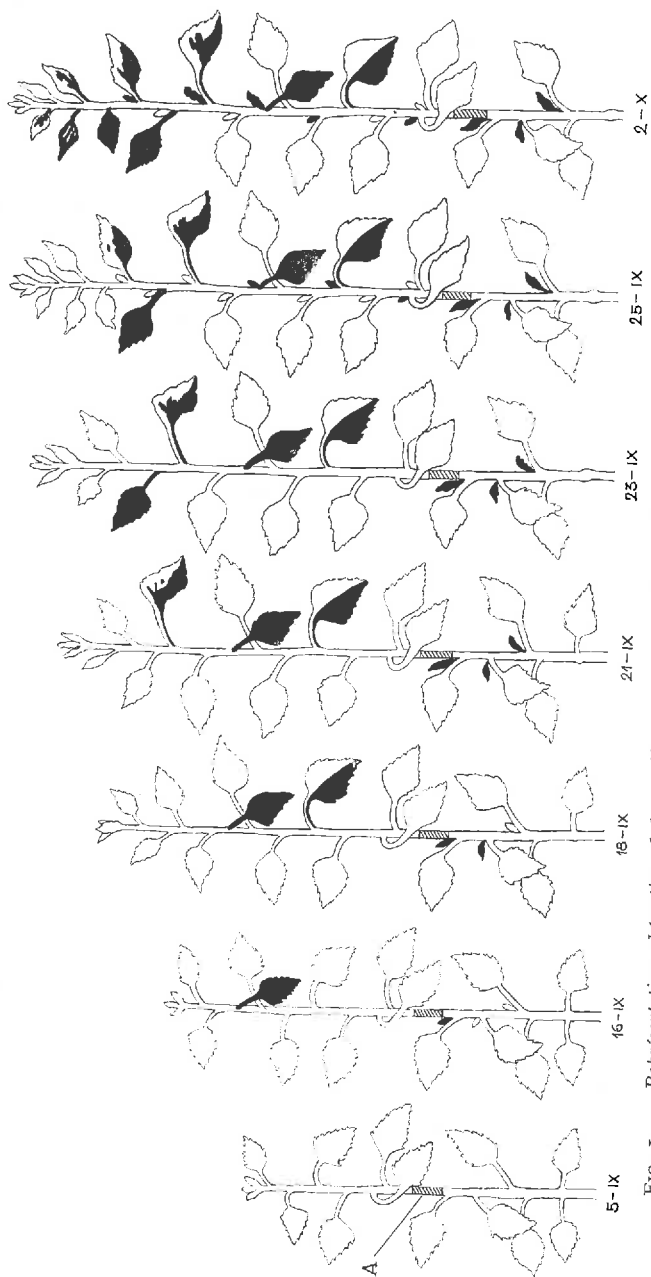


FIG. 1. — Représentation schématique de la manifestation des symptômes du TMV sur une plante de *Chenopodium murale*, inoculée le 5 septembre 1963 par l'ablation avec la Vigne.

A. : endroit d'ablation

à la fois précédente, avec une autre plante de *Ch. murale*, infectée par le même isolat du TMV. Au printemps de l'année 1969, environ six mois après l'ablactation, on a fait un nouvel essai d'inoculation mécanique des plantes *Ch. murale* avec la sève provenant du tissu de la Vigne ablactée. L'expérience a réussi lors de la première tentative et le virus de la mosaïque du Tabac fut de nouveau isolé.

Se basant sur ces résultats, on peut considérer comme entièrement démontré que le Virus de la Mosaïque du Tabac existe aussi sur la Vigne chez nous en Yougoslavie. Ce serait en même temps la première information publiée à ce sujet.

## SUMMARY

SOME OBSERVATIONS ON THE OCCURRENCE  
OF TOBACCO MOSAIC VIRUS ON GRAPEVINES IN YUGOSLAVIA

The samples of the diseased grapevine, originated from the vineyards of Fruška Gora, have been tested for the presence of the virus. By the method of grafting (ablactation) with the *Chenopodium murale* as a test-plant, the transmission of a virus, determined as the Tobacco Mosaic Virus (TMV), has been effected. By means of retro-inoculation of the grapevine and reiterated isolations of the virus the presence of the TMV on the grapevine of this viticultural zone, has been undoubtedly proved. These are the first observations of the TMV on the grapevine in Yugoslavia.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BERCKS R., 1967. Über den Nachweis des Tabakmosaik-Virus in Reben. *Z. Pflanzenkrankh.*, **74**, 346-349.
- BERCKS R., STELLMACH G., 1966. Nachweis verschiedener Viren in reisigkranken Reben. *Phytopathol. Z.*, **56**, 288-296.
- BRODNIK-SPECOGNA Tatjana, 1958. Degeneracija vinove loze na području Izole (Degeneration der Weinrebe im Gebiet von Izola). *Zašt. Bilja* (Beograd), **47-48**, 127-134.
- ČEČUK S., 1955. Court-noué ou Dégénérescence infectieuse de la vigne en Yougoslavie. *Progr. agric. vitic.*, **40-41**, 196-202.
- GILMER R. M., KELTS L. J., 1965. Isolation of tobacco mosaic virus from grape foliage and roots (Abstract). *Phytopathology*, **55**, 1283.
- JOSIFOVIĆ M., 1958. Problemi zarazne degeneracije vinove loze u Jugoslaviji (Problème de la dégénérescence infectieuse de la vigne en Yougoslavie). *Zašt. Bilja* (Beograd), **47-48**, 119-125.
- MINEV K., MANČEV J., 1960. Infektivna degeneracija na vinovata loza (Dégénérescence infectieuse de la vigne). *Socijalističko zemjodjelstvo* (Skopje) **XII**, **3**, 33-44.
- PERIŠIĆ M., ARSIĆ M., 1960. Rasprostranjenost zarazne degeneracije vinove loze u Fruškogorskom vinogorju (Distribution of the contagious degeneration of grapevines in the Fruška Gora vineyard region). *Zašt. Bilja* (Beograd), **60**, 21-27.
- SABADOŠ-ŠARIĆ Ana, CORTE A., 1960. Dati preliminari su una forma di « Degenerazione infettiva » della Vite in Istria a complesso sintomatologico insolito. *Atti. Ist. Bot. Univ. Pavia*, **17** (5), 268-273.
- STELLMACH G., 1966. Zur Methodik der experimentellen Virus-infektion von Reben. *Weinb. Keller*, **13**, 561-567.
- STELLMACH G., 1968. Die experimentelle Zusammenführung verschiedener Viren in Reben. *Weinb. Keller*, **15**, 527-529.
- ŠARIĆ Ana, 1960. Degeneracija vinove loze u Istri (Dégénérescence de la vigne en Istria). *Biljna zaštita* (Zagreb), **1**, 3-5.
- WERDEREWSKI D. D., ZWIAGINA E. A., 1966. Virusnie zabojevania vinograda v Moldavii (Maladies à virus de la vigne en Moldavie). *Trudi Vsesoj. sov. po virusnim boleznim rastenij*, Kiew, 462-469.



# PRELIMINARY STUDIES ON AN UNDESCRIBED GRAPEVINE VIRUS

A. A. FERREIRA and O. A. DE SEQUEIRA

*Estação Agronómica Nacional, Oeiras (Portugal)*

---

## SUMMARY

### PRELIMINARY STUDIES ON AN UNDESCRIBED GRAPEVINE VIRUS

During the survey on grapevine virus diseases several isolates have been transmitted mechanically. Some of them presented characteristics apparently different from the « Urticado-Chlorose Infecçiosa » group of viruses (Fanleaf type). The isolates have been recovered from grapevine plants showing symptoms of leaf-roll or yellow mosaic.

Several methods of purification were studied and obtained products were analyzed with an Isco density gradient fractionator and UV analyzer. The best methods of purification involved precipitation by polyethylene glycol, acidification, bentonite adsorption or a combination of these treatments.

Host plant material was much more difficult to remove from preparations made from plants infected with Fanleaf-type virus, and the yields of virus were much lower when the above procedures were applied.

Both Fanleaf Virus and the isolates under study sedimented to the same level on rate zonal centrifugation, but the latter presented different sedimentation profiles.

Under the electron microscope, isodiametric particles were observed (28 mμ).

No serological relationship was established to any of the viruses tested (Arabid Mosaic, Grapevine Fanleaf, Raspberry Ringspot, Tomato Black Ring, Tomato Bushy Stunt, Strawberry Latent Ringspot, Yellow Vein and Tomato Ringspot). Symptomatology and serological variations could be detected among the recovered isolates.

The virus was transmitted back to grapevine seedlings and could be reisolated in great concentration, but, so far, no conspicuous symptoms have been observed.

The reaction of the woody indicators and transmission tests with nematodes are under study.

---

## INTRODUCTION

Since the isolation of fanleaf virus (CADMAN *et al.*, 1960) nine others have been identified on grapevine, and only two of them have been conclusively associated to particular syndromes — yellow vein disease (GOODING, 1963), and tobacco ringspot disease (GILMER, 1970).

The present note concerns the isolation and preliminary studies on a mechanically transmissible virus obtained from grapevines and found not to be related to any of the viruses previously reported on that host.

## MATERIAL AND METHODS

Several isolates have been obtained from grapevines with yellow mosaic or leaf-roll symptoms and transmitted mechanically to *Chenopodium quinoa* WILLD. and other herbaceous hosts by rubbing their leaves with extracts made by grinding the grapevine leaves in 0.067 M phosphate buffer containing ascorbic acid (pH 7.5) or in 2.5 p. 100 nicotine solution. The results reported here are referred to one of the isolates (CM 112).

Infectivity tests were performed by distributing the treatments among the upper four expanded leaves of *C. quinoa* plants.

Purification was made by two cycles of differential centrifugation after clarification of extracts from *C. quinoa* infected plants by a modified bentonite treatment (de SEQUEIRA et LISTER, 1969).

Sucrose density gradient columns were prepared by layering 10, 20 30 and 40 p. 100 (w/v) sucrose (4, 7, 7 and 7 ml, respectively) in Spinco SW 25.1 tubes and allowing the diffusion overnight at 4°C. After centrifugation (23 000 r.p.m. for two hours) the columns were analyzed using an « ISCO » density gradient fractionator and UV analyzer.

For electron microscopy purified preparations stained with 2 p. 100 phosphotungstate at pH 6 were observed under a Siemens Elmiskop 1A electron microscope at 80 kV and the micrographs taken at the magnification of 20 000 ×.

Antiserum was made by injecting a rabbit with virus preparations obtained by density gradient fractionation; 1-2 ml were injected intravenously over a 2-week period, followed by one intramuscular injection after emulsification with Freund's incomplete adjuvant.

Serological tests were performed by the double diffusion method using 0.9 p. 100 Ionagar dissolved on 0.01 M phosphate buffer containing 0.85 p. 100 NaCl.

## RESULTS

### *Virus transmission*

#### *From grapevine to herbaceous hosts.*

Direct transmission from grapevine leaves was obtained to *C. quinoa* WILLD., *C. amaranticolor* COSTE et REYN., *Gomphrena globosa* L., *Nicotiana glutinosa* L., *N. tabacum* L. («Samsun», « White Burley » and « Xanthi ») and *Phaseolus vulgaris* L.

The symptoms are similar to those presented by some nematode transmitted ringspot viruses (NEPO).

*C. quinoa* and *C. amaranticolor* : 3 or 4 days after inoculation, lesions developed consisting of numerous small rings on the inoculated leaves ; systemic infection becomes apparent 1 or 2 days later, characterized by severe vein chlorosis, mosaic and distortion of the leaves ; the plant growth is checked.

*N. glutinosa* and *N. tabacum* (« Samsun » « White Burley » « Xanthi ») : 5 or 6 days after inoculation chlorotic-necrotic rings and line pattern developed on the inoculated leaves followed by systemic infection that appears 1 week later and is characterized by symptoms of a similar type.

*P. vulgaris* : usually no symptoms are observed on the inoculated primary leaves unless concentrated virus preparations are used as inoculum ; systemic infection causes vein chlorosis, chlorotic dots, and distortion of the uninoculated trifoliate leaves.

#### *Back transmission to grapevine.*

The CM 112 virus isolate was transmitted to healthy « Vital » grapevine seedlings by approach-grafting to systemically infected *C. amaranticolor* plants. No symptoms were observed on the grafted plants but the virus could be easily recovered and proved to be identical to the original isolate.

#### *Properties in vitro*

Studies on the *in vitro* properties were made with crude extracts (diluted or not) from systemically infected *C. quinoa* plants.

#### *Dilution end-point.*

In serial dilution tests, with distilled water, infectivity was lost at the dilution 1 : 400 000 but not at 1 : 200 000.

#### *Thermal inactivation point.*

Infectivity was abolished by treating the sap for 10 minutes at temperatures between 57° and 59°C.

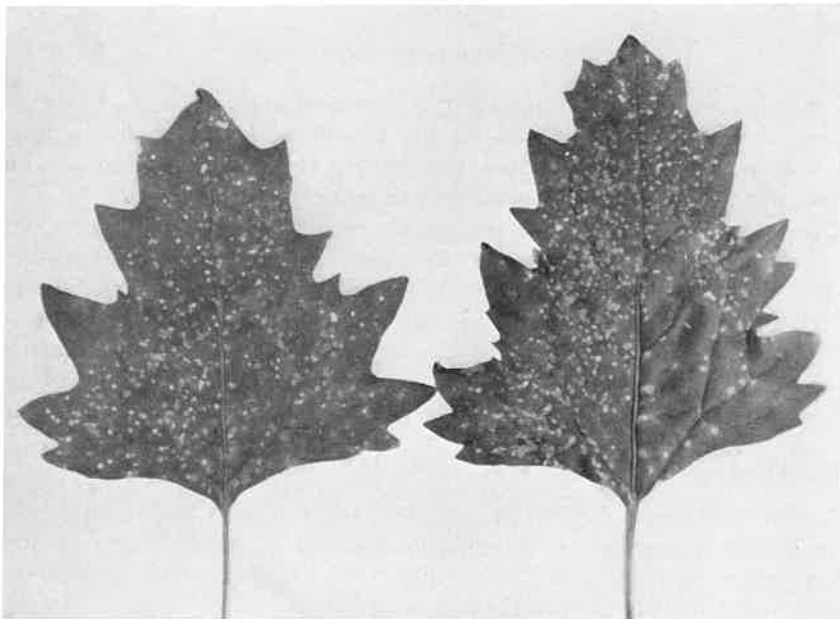
#### *Stability in vitro.*

When the crude extracts were diluted 1 : 50 with 0.02 M phosphate buffer pH 7, the virus remained infective after ageing 11 weeks at 20-22°C, but not after 12 weeks. Infectivity was lost between 7 and 8 weeks in undiluted extracts.

#### *Purification*

Extracts of *C. quinoa* infected plants, made with 0.067 M phosphate buffer pH 7.5 containing 0.05 M ascorbic acid and clarified by a bentonite treatment, gave clean preparations as shown by the scanning patterns of the gradient columns (fig. 2).

Virus preparations when submitted to density gradient centrifugation formed a band characterized by two discrete zones positioned at 2.2 and 2.4 cm from the meniscus. Infectivity was restricted to the visible band. Attempts to resolve the two zones were unsuccessful.



1 a. Local lesions on *Chenopodium quinoa*



1 b. Symptoms on *Nicotiana glutinosa*

FIG. 1. — An undescribed virus of grapevine in Portugal



The ultraviolet absorption spectra of the virus preparations were characteristic of nucleoproteins, with maxima at 260 nm and minima at 239 nm. Virus suspensions without evidence of light scattering above 320 nm had 260 : 280 absorption ratios around 1.70, indicating a high nucleic acid content.

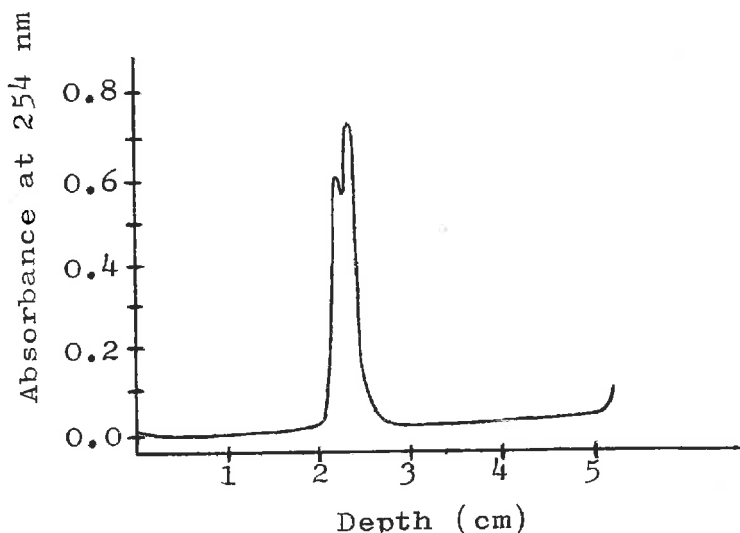


FIG. 2. — Absorbancy profile for density-gradient centrifugation of a preparation obtained from an extract of *Chenopodium quinoa* infected plants, concentrated by two cycles of differential centrifugation after clarification by bentonite treatment.

#### *Electron microscopy*

Electron micrographs of purified preparations showed isodiametric particles with an average diameter of 28 nm (78 p. 100 of the number of particles measured were between 26.6 and 29.5 nm). Some empty shells were also observed but no plant contaminants were detected, confirming the homogeneity of the virus suspensions.

#### *Serology*

The antiserum obtained had a titre of 2 048, and did not react with healthy plant material. When the antiserum was cross-reacted with two other isolates, one of them, originated from grapevine tissue culture (MENDONÇA *et al.*, 1970), formed fused precipitin lines with distinct spurs.

The CM 112 virus isolate did not react with the antisera to the following viruses : grapevine fanleaf, *Arabis* mosaic, tomato ringspot type strain and grapevine strain (= grapevine yellow vein) —, tomato black ring, peach rosette mosaic, tobacco necrosis, and strawberry latent ringspot.

Serological tests, kindly performed by Dr R. BERCKS at Braunschweig, with some of the above antisera and others, confirmed our results, further showing that the virus is not related to raspberry ringspot, sowbane mosaic, tomato bushy stunt (BS-3, *Petunia* asteroid mosaic and *Pelargonium* leaf curl strains) and tobacco ringspot viruses.

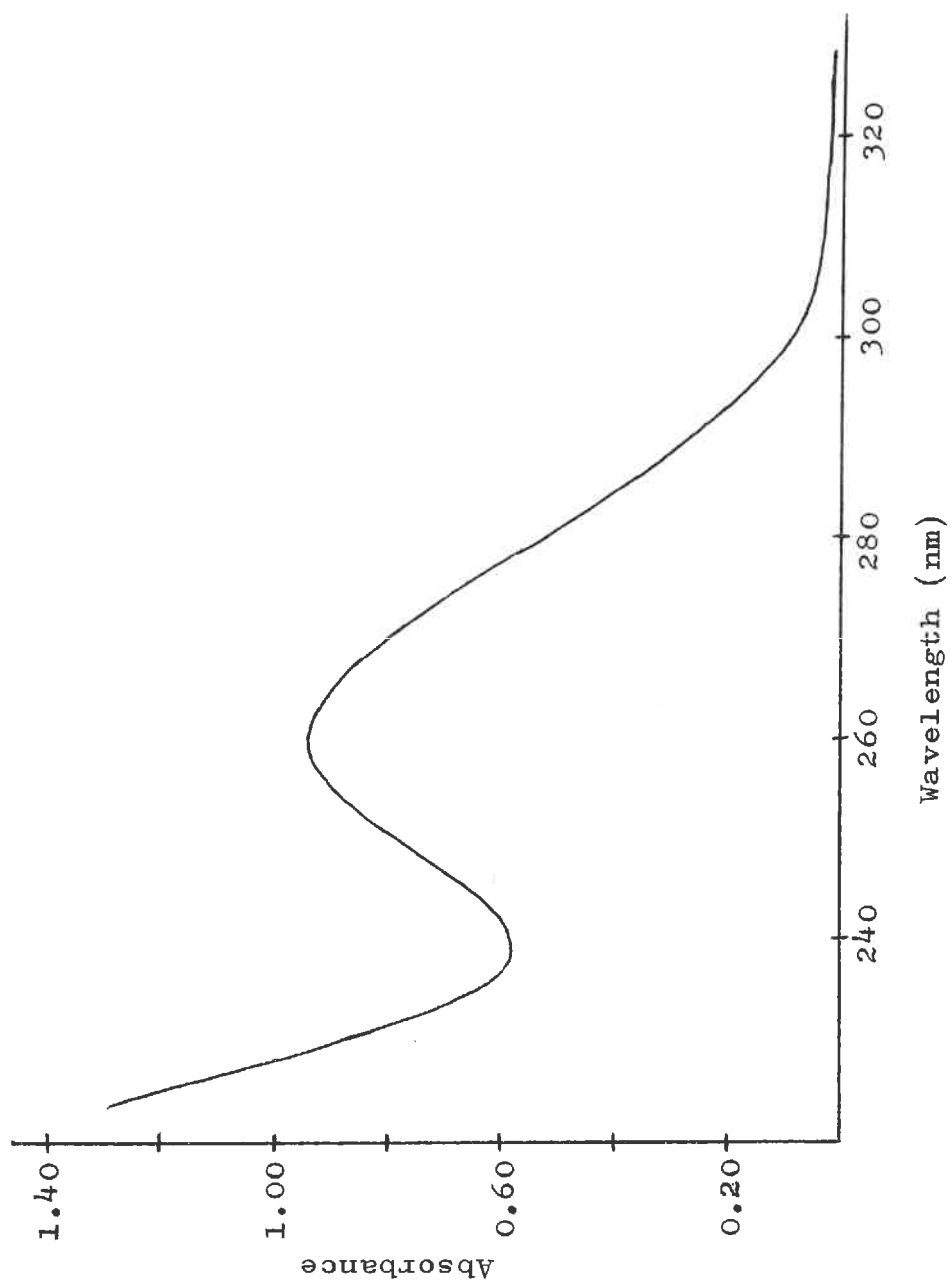


FIG. 3. — Ultraviolet absorption spectrum for the CM 112 virus isolate purified by density gradient fractionation of a preparation made by two cycles of differential centrifugation after clarification of extracts from *Chenopodium quinoa* infected plants by bentonite treatment.

## CONCLUSIONS

The general properties of the CM 112 virus isolate, the symptomatology induced on some herbaceous hosts and the characteristic icosahedral virus particles indicate that the virus could be placed among the stable ringspot viruses.

The virus was purified from *C. quinoa* infected plants by bentonite treatment and several other methods (unpublished results) giving good yields of virus. The final virus products, when analyzed by density gradient centrifugation, were shown to be free of normal plant constituents.

In cross-reaction serological tests, using antisera prepared to all isodiametric viruses already reported on grapevine, plus two others, no serological relationship was established. The results indicate that the isolate under study is a virus not previously described on grape.

The reaction of other woody indicator plants, transmission tests with nematodes, and the identification of the CM 112 virus isolate, are under study.

## ACKNOWLEDGEMENTS

We wish to thank Dr. R. BERCKS (Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Braunschweig, Germany) for having performed some of the serological tests, and Dr. G. V. GOODING JR. (North Carolina State University, Raleigh, U. S. A.) and Dr. H. F. DIAS (Vineland Station, Ontario, Canada) for supplying antisera.

## RÉSUMÉ

## ÉTUDES PRÉLIMINAIRES SUR UN NOUVEAU VIRUS DE LA VIGNE

Au cours des épreuves de recensement des viroses de la Vigne, plusieurs virus ont été transmis mécaniquement. Certains isolats, obtenus à partir de plants de vigne présentant des symptômes d'enroulement ou de mosaïque, ont des caractéristiques apparemment différentes de celles des virus du groupe « Urticado-Chlorose infectieuse » (Court-Noué).

Les extraits obtenus, à la suite de diverses méthodes de purification, ont été examinés après centrifugation dans un gradient de densité, fractionnement et analyse dans l'ultraviolet (appareil ISCO). Les meilleurs résultats ont été obtenus par précipitation au polyéthylène-glycol, acidification, adsorption sur bentonite ou par des méthodes combinant ces divers procédés.

Les constituants normaux de la plante hôte étaient beaucoup plus difficiles à éliminer lorsque les préparations provenaient de plantes infectées par le virus du fanleaf et le rendement en virus était considérablement plus faible que dans le cas du virus décrit dans cette note.

Ce virus sédimentait au même niveau que le virus du fanleaf dans les gradients, mais il présentait des profils de sédimentation différents de celui du fanleaf.

Au microscope électronique des particules isodiamétriques ont été observées (28 m $\mu$ ).

Aucun lien sérologique n'a pu être trouvé entre le virus étudié et les virus suivants : mosaïque

de l'Arabis (AMV), Fanleaf de la Vigne (GFV), Ringspot du Framboisier (RRV), Anneaux noirs de la Tomate (TBRV), Rabougrissement de la Tomate (TBSV), Virus latent du Fraisier (SLRV), Ringspot de la Tomate (Tom. R. V.). Différents isolats du virus présentaient des variations au point de vue des symptômes produits, et en sérologie.

Le virus a été retransmis à des plants de vigne de semis, à partir desquels il pouvait être re-extrait à haute concentration, sans que toutefois des symptômes évidents aient pu être observés.

Les réactions produites sur des indicateurs ligneux, ainsi que des tests de transmission avec des nématodes sont en cours d'étude.

#### REFERENCES

- CADMAN C. H., DIAS H. F., HARRISON B. D., 1960. Sap-transmissible viruses associated with diseases of grapevines in Europe and North America. *Nature*, **187**, 577-579.
- DE SEQUEIRA O. A., LISTER R. M., 1969. Purification and relationships of some filamentous viruses from apple. *Phytopathology*, **59**, 1740-1749.
- GILMER R. M., UYEMOTO J. K., KELTS L. J., 1970. A new grapevine disease induced by Tobacco ringspot virus. *Phytopathology*, **60**, 619-627.
- GOODING G. V. jr., 1963. Purification and serology of a virus associated with the grape yellow-vein disease. *Phytopathology*, **53**, 475-480.

# INFECTION OF GRAPEVINE, IN NEW YORK, BY TOBACCO RINGSPOT VIRUS

R. M. GILMER, J. K. UYEMOTO and L. J. KELTS

*Department of Plant Pathology and Pomology  
New York State Agricultural Experiment Station  
Geneva N. Y. (U. S. A.)*

---

A soil-borne disease resembling fanleaf was observed in 1968 in a vineyard planted with indexed vines in 1963. Symptoms in infected vine were : delayed initiation of growth, ring-spotting of basal leaves ; terminal leaves mottled, misshaped, small, with wide-angled petiolar sinuses ; canes slender, with shortened internodes. Diseased vines were severely injured by cold and set few or no fruits in the second year of infection. The disease spread selectivity in 3 own-rooted *V. vinifera* cultivars where 52/228 vines (22 p. 100) were infected in 1969. In 1 own-rooted *V. rupestris* and 4 own-rooted *V. Labrusca* cultivars, 0/30 and 0/336 vines were infected. The disease was found in 3 commercial vineyards in 1969, but the incidence was 0.2-0.3 p. 100 in *V. vinifera* vines on phylloxera-resistant rootstocks.

A virus was readily isolated from roots or immature leaves of infected vines. The disease syndrome was reproduced in young grape seedlings infected by mechanical transmission of single-lesion isolates. From physical properties, electron microscopy, herbaceous host range, and serology, the virus was identified as tobacco ring-spot virus, not previously reported from grapes. TRSV was isolated from cucumber and snapdragon (*Antirrhinum majus*) seedlings planted in soil from the affected vineyard. The nematode *Xiphinema americanum*, a known vector of TRSV, was abundant in the soil.

---

## RÉSUMÉ

INFECTION DE LA VIGNE, DANS L'ÉTAT DE NEW YORK,  
PAR LE VIRUS DES TACHES ANNULAIRES DU TABAC  
(TOBACCO RINGSPOT VIRUS)

Une maladie transmise par le sol ressemblant au Court-Noué (fanleaf) a été observée en 1968 dans un vignoble planté en 1963. Les symptômes chez les vignes infectées étaient les suivants : retard du départ de la végétation, apparition d'anneaux chlorotiques sur les feuilles de la base

des pousses. Feuilles terminales mosaïquées déformées, de taille réduite, avec des sinus pétiolaires très ouverts, sarments plus grêles avec des entre-nœuds raccourcis. Les vignes malades étaient gravement endommagées par le froid et ne portaient que très peu ou pas de fruits, au cours de la seconde année suivant l'infection. La maladie s'est propagée sélectivement dans 3 variétés de *Vitis vinifera* non greffées. 52, sur un total de 228, soit 22 p. 100, étaient infectées en 1969. Chez une variété non greffée de *Vitis rupestris* et chez quatre variétés non greffées de *Vitis labrusca*, il n'y avait pas de vignes malades (0/30 et 0/336 respectivement). La maladie a été trouvée en 1969 dans trois vignobles commerciaux de *Vitis vinifera* greffés sur des porte-greffes résistants au phyloxéra (0,2-0,3 p. 100 de souches malades).

Un virus a été facilement isolé à partir des racines ou des jeunes feuilles de vignes infectées. L'ensemble des symptômes de la maladie a été reproduit sur de jeunes vignes de semis inoculées par transmission mécanique avec des isolats de virus issus d'une lésion locale unique.

L'étude des propriétés physiques, l'examen au microscope électronique, le spectre des plantes hôtes et la sérologie ont permis d'identifier ce virus comme celui du ringspot du tabac (TRSV) qui n'avait pas été signalé jusqu'à présent chez la vigne.

Le TRSV a été isolé à partir de plants de Concombre et de Gueule de loup (*Antirrhinum majus*) semés dans de la terre prélevée dans un vignoble malade. Le nématode *Xiphinema americanum*, connu comme vecteur du TRSV, était abondant dans le sol.

---

# HUNGARIAN CHROME MOSAIC OF GRAPEVINE AND TOMATO BLACK RING : TWO SIMILAR BUT UNRELATED PLANT VIRUSES

G. P. MARTELLI and A. QUACQUARELLI

*Istituto di Patologia vegetale, University of Bari (Italy)*

---

## SUMMARY

Hungarian chrome mosaic (HCMV), a NEPO-like virus isolated from grapevines with macroscopic symptoms of fanleaf and yellow mosaic was comparatively studied with strains of Tomato black ring virus (TBRV) from England and Germany.

Points of similarity between HCMV and TBRV were found in the : *a*) physical properties *in vitro* ; *b*) morphology of particles, which had angular outline and a diameter of about 30 m $\mu$  ; *c*) behaviour during purification. Both viruses exhibited two light-scattering bands sedimenting at the same rate in density gradient centrifugation. These bands were infectious and had ultra-violet light absorption spectrum of nucleoproteins.

Differences were evident in the : *a*) reaction of a herbaceous host range ; *b*) reaction to pH ; *c*) electrophoretic mobility ; *d*) serological relationship. Extensive gel-diffusion and intra-gel absorption tests demonstrated that HCMV and TBRV are not serologically related. On the basis of these and other data reported in the literature, it is concluded that HCMV is a virus on its own, differing from TBRV and other known NEPO viruses, except for one of the components of the mixture of viruses of celery yellow vein.

The present cryptogram of HCMV is \* / \* : \* / \* : S / S : S / \*.

---

## INTRODUCTION

In 1964, a virus sharing morphological and many biological characteristics with members of the nematode-transmitted ringspot group (NEPO), was isolated from Hungarian grapevines displaying macroscopic symptoms of fanleaf and yellow mosaic (MARTELLI, 1965 ; MARTELLI *et al.*, 1965). At that time, serological test provided evidence that this virus was not related to grapevine fanleaf and close strains, arabis mosaic, the Scottish serotypes of tomato blackring, tomato ringspot and

tobacco ringspot viruses. It was therefore provisionally called Hungarian grapevine virus (MARTELLI, 1965). Later, owing to its very frequent association to a striking yellow condition of the naturally infected hosts, the virus was named Hungarian chrome mosaic (HCMV, MARTELLI *et al.*, 1968).

In the course of subsequent investigations, HCMV failed to cross react with 5 out of 6 sera immune to different isolates of tomato black ring (TBRV) but it specifically precipitated an antiserum to celery yellow vein virus (CYVV), a recognized strain of TBRV (HOLLINGS, 1960, 1965; HOLLINGS and STONE, 1962). Although on this evidence, the possibility that TBRV and HCMV were related entities was set forth (MARTELLI *et al.*, 1968), the results of the above serological tests were not entirely convincing, particularly because of the lack of reaction of HCMV with antisera to other strains of TBRV, known to be very closely related to CYVV (e. g. lettuce ringspot, HOLLINGS, 1965).

Further investigations were therefore undertaken with the purpose of : a) re-examining the findings previously obtained by using homologous antigens in addition to the immune sera, and : b) ascertaining the existence and, possibly, the extent of the relationship between HCMV and TBRV. In these studies, the morphology, the biological and serological characteristics and the behaviour during purification of the two viruses were compared. The results thus far obtained are reported in the present paper.

#### MATERIALS AND METHODS

The TBRV isolates used in these investigations were the celery strain from England (CYVV) and a grapevine strain from Germany (G-TBRV). The HCMV isolates were obtained locally from vines of Hungarian provenance.

For the host range studies, plants were grown in a glasshouse under shadowed conditions and were mechanically inoculated with sap from infected French beans cv. « Bountiful » or squash cv. « Striata d'Italia » or with clarified, concentrated virus preparations.

The physical properties *in vitro* were determined with standard procedures from crude sap of « Bountiful » beans and squash using the same plants or *Chenopodium quinoa* WILLD. as assay hosts.

The effect of pH was studied on extracts made by macerating infected leaves in 1 volume of phosphate buffer 0.05 M at pH 7, without addition of antioxidizing agents. The slurry was squeezed through cheesecloth and centrifuged at 8 000 g for 10 mn. Equal aliquots of the resulting supernatant were taken and the pH of each sample was adjusted at the wanted value by adding 10 p. 100 acetic acid in distilled water or 1 M potassium hydroxide dropwise with stirring. The samples were kept for 1 h in the cold (4°C) and centrifuged at 8 000 g for 10 mn. The supernatants were decanted and the pellets were resuspended in the original volume of neutral phosphate buffer. The infectivity of each sample was separately assayed on « Bountiful » bean plants at  $10^{-1}$  and  $10^{-2}$  dilution.

For purification, HCMV and TBRV were multiplied in French bean and squash, respectively. Many procedures for virus extraction and concentration were employed but the following proved the most satisfactory and was extensively used for both viruses : plants were harvested when showing severe symptoms of infection



(8-10 days after inoculation) and were stored at  $-18^{\circ}\text{C}$  or were immediately homogenized in a blender with equal amounts (1 : 1 : 1) of 0.2 M potassium phosphate monobasic and a mixture of chloroform-butanol (1 : 1) with the addition of 7 p. 100 sodium ascorbate. The homogenate was centrifuged at low speed (10 000 g) for 10-15 min on a MSE Superspeed 40, or on a Beckmann-Spinco L 50 ultracentrifuge and the supernatant was processed through 2-3 cycles of alternate low- and high-speed runs (78 000 g for 2 h, or 103 000 g for 1 hr). The pellets were resuspended in phosphate buffer 0.02 M at pH 7.2. Final separation of the virus from unwanted plant constituents was attempted by centrifugation for 2 or 2.5 h in density gradient columns made up with 10 to 40 p. 100 sucrose dissolved in 0.02 M phosphate buffer, pH 7.2. Light-scattering bands were manually withdrawn from the gradients by puncturing the side wall of the tube with a hypodermic needle or were collected by means of an ISCO density gradient fractionator. In the latter instance, the contents of the tubes were analyzed in ultraviolet light at 254 m $\mu$  and the absorption peak were recorded. After collection, the materials of the light-scattering bands were separately scanned in the ultraviolet range (320-220 m $\mu$ ) with a Beckman DB spectrophotometer.

For electron microscopy, drops of virus preparations were mixed with an equal volume of a 2 p. 100 solution of neutral potassium phosphotungstate, placed on carbon-coated grids and examined with a Hitachi HU-11 B electron microscope. The microscope was calibrated with a carbon replica of a diffraction grating.

Immunoelectrophoresis tests were done on microscope slides with a LKB-6800A apparatus, using 1 p. 100 Ionagar dissolved in veronal buffer, pH 8.6. The current was applied for 1 h at voltage of 320 V and about 1.3 mA for each cm of width of agar.

Antisera were produced by immunizing rabbits with the material of the light-scattering bands of density gradients. The immunizing schedule consisted of an intravenous injection followed, at weekly intervals, by an intramuscular injection in emulsion with Freund's adjuvant incomplete and by two additional intravenous injections. The titre of sera was determined in gel-diffusion and the serological tests were carried out in agar plates.

For intra-gel absorption tests, either of the antisera to HCMV and TBRV or a mixture of the two, was placed in the central well of a gel-diffusion pattern and let diffuse for 4-5 h. Both antigens were then contemporarily put into the same well and the plates were incubated at 20-22 $^{\circ}\text{C}$ .

In general, in the serological tests, precipitin lines began to appear within 3 or 4 hours from placement of the reactants and the reactions were clearly discernible after 10 to 12 hours.

## RESULTS

### 1. — *Host range and symptoms*

The virus isolates under study (HCMV, CYVV and G-TBRV) were assayed on a selected host range in which the most common test plants were included. The responses to infection were as follows :

*Chenopodium amaranticolor* COSTE et REYN. and *Chenopodium quinoa* WILLD. reacted in a similar fashion to all three viruses, although the intensity of symptom

expression could vary with the virus. In general, these hosts showed small chlorotic lesions, occasionally with necrotic center, 5 or 8 days after inoculation, followed by strong chlorotic mosaic mottle, necrotic speckling and buckling of the leaf blade. Necrosis of the top was sometimes observed on *C. quinoa*. The growth was stunted.

*Gomphrena globosa* L. HCMV induced chlorotic local lesions soon turning reddish and a light transient mosaic and vein clearing of the upper leaves. These symptoms were very mild and often difficult to detect. Both isolates of TBRV caused localized infections appearing as yellow-reddish spots with a white necrotic center plus an evident systemic mosaic, often accompanied by necrotic flecks.

*Cucumis sativus* L. was readily infected by CYVV and G-TBRV with production of local chlorotic spots and small rings on the cotyledons. A variously intense systemic mottle and leaf distortion followed. HCMV infections were more erratic and, when visible, they were characterized by a few, barely detectable local chlorotic lesions and by a transient yellow speckling of the non inoculated leaves.

*Cucurbita pepo* L. reacted to both TBRV strains in 5 or 7 days with mild yellowish spots on the cotyledons and a very severe mosaic mottle (pl. 1.B) with leaf puckering and distortion. By converse, HCMV induced on this plant only occasional systemic mosaic and rings (pl. 1.A).

*Phaseolus vulgaris* L. (« Bountiful », « La Victoire », « Top crop ») and *Vigna sinensis* ENDL. None of the viruses produced consistently repeatable local lesion although G-TBRV, unlike CYVV and HCMV, showed the tendency to cause yellowish spots on the inoculated primary leaves. Systemic infection on both hosts was characterized by an evident mosaic mottle, various patterns of yellow-greenish rings and specks and by rare necrotic blotches in the case of HCMV (pl. 1.C). The symptoms induced by the two isolates of TBRV were more severe and consisted of systemic chlorotic mottle, leaf puckering, yellowish or necrotic flecks, rings and line pattern (pl. 1.D).

*Datura stramonium* L. Visible local lesion were not induced by any of the viruses. Systemic symptoms appeared about two weeks after inoculation with HCMV. These were yellowish, round, zonated spots of the young leaves which disappeared in a few days. Similar responses were also induced by G-TBRV and, occasionally, by CYVV.

*Nicotiana clelandii* GRAY. Local lesions in form of necrotic rings and spots followed by systemic chlorotic mottle, flecks, line pattern and necrotic rings, resulted from infection with CYVV and G-TBRV. HCMV produced no visible symptoms or, rarely, a mild yellowish mosaic mottle and ringspot.

*Nicotiana glutinosa* L. was symptomlessly invaded or was not infected by HCMV but reacted with occasional chlorotic flecks to infection by the two strains of TBRV.

*Nicotiana tabacum* L. (« White Burley », « Samsun »). Only rare necrotic rings developed after infection by HCMV. Often no symptoms were visible. CYVV and G-TBRV caused yellow spots and rings on the inoculated leaves and conspicuous systemic symptoms characterized by various degrees of mottling, chlorotic and necrotic line pattern and ringspot.

*Petunia hybrida* VILM. Virtually no symptoms were induced by HCMV although systemic invasion sometimes occurred. Both strains of TBRV produced local spots and rings and an occasional faint mosaic mottle.

## 2. — *Properties in vitro*

Dilution end-point : the maximum infective dilution of sap from systemically infected « Bountiful » beans was  $10^{-3}$  for HCMV and CYVV and  $10^{-4}$  for G-TBRV. Sap of squash infected with CYVV lost the infectivity above  $10^{-3}$  dilution.

Thermal inactivation : crude sap of « Bountiful » beans inoculated with HCMV was still infective after 10 mn at  $60^{\circ}\text{C}$  but not  $62^{\circ}\text{C}$ . In the same host the points of thermal inactivation were  $62^{\circ}\text{C}$  for both CYVV and G-TBRV. In squash sap the latter virus survived 10 mn at  $64^{\circ}\text{C}$ .

Longevity *in vitro* : in « Bountiful » bean sap, stored at about  $22^{\circ}\text{C}$ , HCMV, CYVV and G-TBRV remained infective for 7, 14 and 14 days, respectively.

## 3. — *Cross protection tests*

Batches of at least 10 French bean plants were inoculated with HCMV and, after a few days, were challenge-inoculated with CYVV or G-TBRV. Owing to the similarity of the host response, it was difficult to ascertain symptomatologically whether or not double infection had occurred. The infected tissues were therefore harvested, minced in phosphate buffer, clarified and concentrated by centrifugation. The resuspended pellets were serologically tested against sera immune to HCMV and TBRV.

In all cases presence of both viruses was detected in the double-inoculated plants, indicating that HCMV and TBRV can multiply independently in the same host without apparent interference with one another.

## 4. — *Effect of pH*

At pH 6 and 7 the infectivity of HCMV preparations was mostly confined to the supernatant (fig. 1 A), whereas at lower values (pH 4 and 5) most of the infectivity was in the sediment (fig. 1 B). Above pH 7 this virus appeared unstable and rapidly lost the infectious power both in the supernatant and sediment.

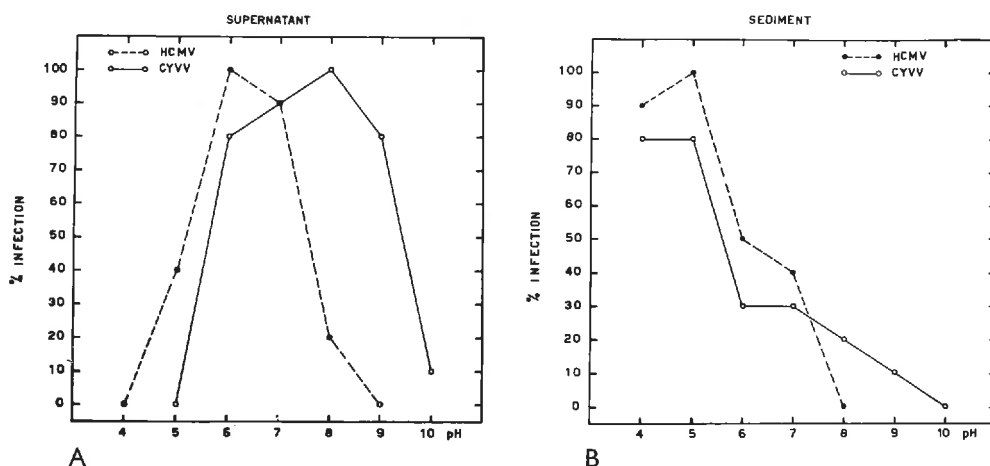


FIG. 1. — Effect of changing pH on the infectivity of supernatants (A) and sediments (B) of crude sap of HCMV- and CYVV-infected plants

The supernatant fluids of CYVV preparations were highly infectious in the pH range 6-9 (fig. 1 A). Their infectivity, however, was nihil at pH 5 and 4, when most of it was found in the sediments (fig. 1 B). Both viruses were inactivated in the high alkaline range (at and above pH 10).

These tests demonstrate that CYVV behaves like other strains of TBRV with respect to pH (HARRISON, 1957) but it differs from HCMV, which is less stable at alkaline pH values.

### 5. — *Purification*

The clarification method used in the purification of HCMV and TBRV yielded very clear preparations, containing, however, varying amounts of plant components which could not be removed by simple alternate low- and high-speed centrifugations. This was particularly true with HCMV whose preparations were, as a rule, more contaminated by host materials than those of TBRV. It should be pointed out, however, that HCMV was purified from French bean, a plant that under our conditions tends to yield more healthy components than squash, the host for purification of TBRV (MARTELLI, 1965 *a*).

Density gradient centrifugation was therefore necessary for obtaining clean virus preparations and it was done at 24 000 r.p.m. in a rotor Spinco SW 25.1. In density gradients both viruses behaved similarly, each giving rise to 2 light-scattering bands the first of which, after 2.5 hours centrifugation lied at 23-25 mm and the second at 29-31 mm from the meniscus of the tube (pl. 2 A, B). When the two viruses were centrifuged together no separation was achieved so that 2 bands at the same depth as above were again visible (pl. 2 C). The light-scattering zones were sharply defined and well separated (fig. 2 A, B). Usually no evidence was found of presence of materials with relevant absorbance in the ultraviolet range, immediately above and below the bands. Occasional « shoulders » or small peaks produced by slow-sedimenting components were noticed in the tracings from the ISCO fractionator, before the peak corresponding to the first band of HCMV gradients. The tracings reported in figure 2, however, are rather typical of normal runs for both viruses.

The density gradient bands of HCMV and TBRV were both infectious and had ultraviolet absorption spectrum of nucleoproteins (fig. 2 A, B). The following are the spectrophotometric characteristics of the bands in sucrose from a typical density gradient run :

HCMV I band :  $E_{\max} = 259 \text{ m}\mu$  ;  $E_{\min} = 242 \text{ m}\mu$  ; ratio  $E_{280}/E_{260} = 0,58$

HCMV II band :  $E_{\max} = 260 \text{ m}\mu$  ;  $E_{\min} = 240 \text{ m}\mu$  ; ratio  $E_{280}/E_{260} = 0,57$

TBRV I band :  $E_{\max} = 259 \text{ m}\mu$  ;  $E_{\min} = 242 \text{ m}\mu$  ; ratio  $E_{280}/E_{260} = 0,58$

TBRV II band :  $E_{\max} = 260 \text{ m}\mu$  ;  $E_{\min} = 240 \text{ m}\mu$  ; ratio  $E_{280}/E_{260} = 0,57$

The above data suggest that, in both viruses, the major difference between upper and lower light-scattering band lies in the relative percentage of nucleic acid, which seems to be higher in the lower zone, rather than in the nature of the constituents of the bands themselves. Furthermore, the values of the ratio  $E_{280}/E_{260}$  indicate that the nucleic acid contents of all the bands is higher than 20 p. 100.

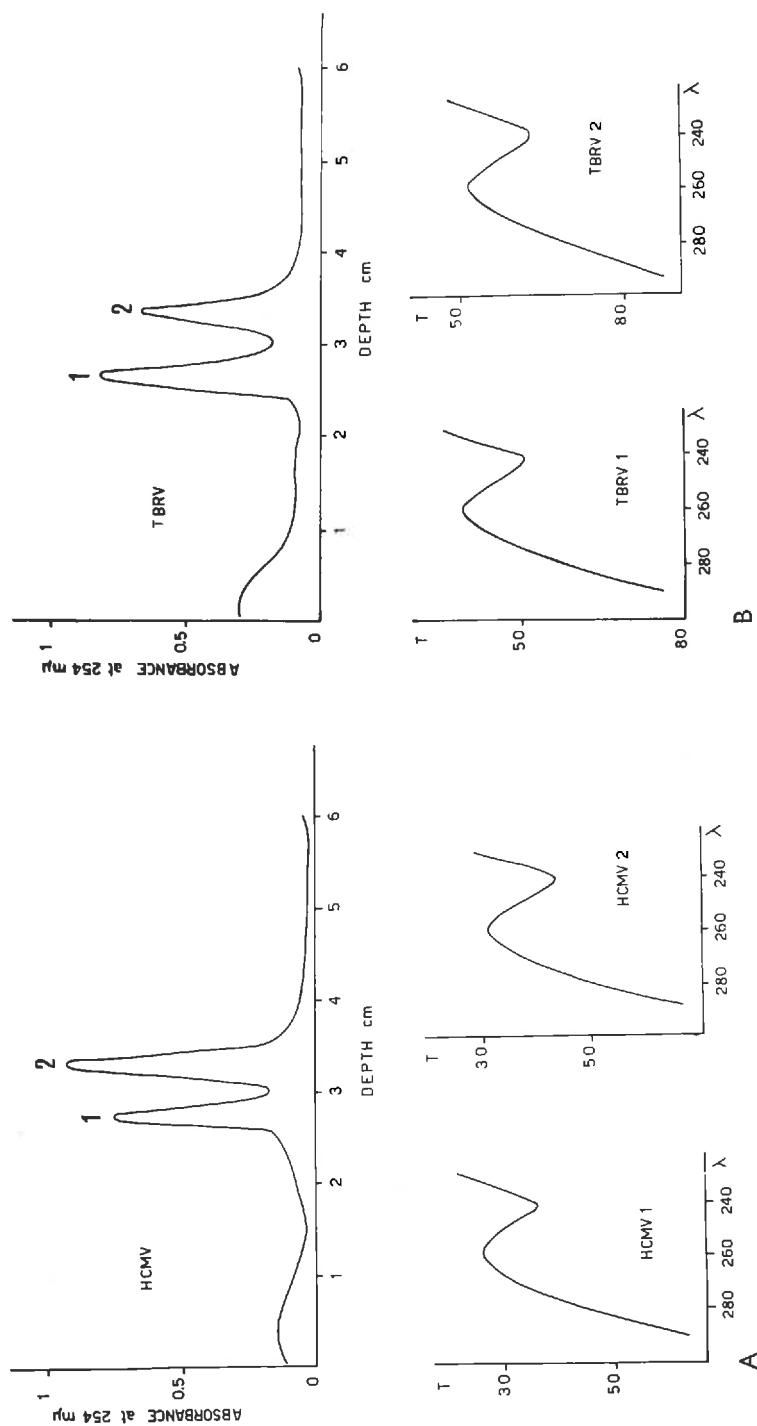


FIG. 2. — Tracings from a ISCO density gradient fractionator and from a Beckman DB spectrophotometer relative to purified preparations of HCMV (A) and TBRV (B)

In the ISCO tracings sedimentation is from left to right

6. — *electron microscopy*

When examined with the electron microscope, all the density gradient bands of TBRV and HCMV appeared to be homogeneously composed of particles about 30 m $\mu$  in diameter with a distinct angular outline (pl. 2 D, E). The particles of both viruses and of the two bands of each virus were virtually indistinguishable. Moreover, in both light-scattering zones the number of empty shells was equally very low. Contaminating material of plant origin was sometimes present particularly in the upper band of HCMV preparations after one cycle of density gradient centrifugation. This material (F<sub>1</sub> protein), however, was no longer detectable after re-cycling in density gradients.

7. — *Serology*

Several sera immune to HCMV, CYVV and G-TBRV were prepared. The two light-scattering bands obtained for each virus in density gradient centrifugation were separately collected and given to rabbits singly or in combination, in order to prepare antisera to the whole virus and to each of the two components. A complex serum was also made by immunizing animals contemporarily with CYVV and HCMV.

The immune sera were virus-specific and seldom exhibited a low titre (1 : 4, 1 : 8) to healthy plant constituents. Titres to virus were variable but showed a definite tendency to be higher for G-TBRV (1 : 1024 — 2048) and CYVV (1 : 1024 — 4096) than for HCMV (1 : 128 — 512). Within the limits of sensitivity of the serological method employed, no antigenic differences could be detected between the upper and lower density gradient fraction of any of the virus under study. In fact, the materials composing the light-scattering bands yielded antisera of comparable titre and were able to completely cross-absorb heterologous antisera, thus providing evidence of a strong serological similarity.

A number of serological tests were carried out using several gel-diffusion patterns with different arrangement of the wells and position of antigen and antisera. In these tests HCMV failed to react against sera immune to the following NEPO viruses : grapevine fanleaf, arabis mosaic, tomato ringspot, tobacco ringspot, strawberry latent, raspberry ringspot, peach rosette mosaic (pl. 3 A) and also with antisera to several strains of TBRV, *i. e.* lettuce ringspot, beet ringspot, type strain, Scottish strain, grapevine strain (pl. 3 B). It, however, showed a clear-cut reaction against the English antiserum to CYVV, producing precipitin lines that merged at the point of junction with those of the homologous antiserum (pl. 3 B).

This latter result could never be duplicated when the serological reactions were performed with the anti-CYVV serum locally prepared by us (pl. 4 B). Thus the CYVV antigen used in these studies was able to precipitate both the English (pl. 4 E, F) and the homologous (pl. 4 A) antisera but not the serum immune to HCMV (pl. 4 A), whereas HCMV antigen reacted against the English (pl. 4 E, F) but not the Italian (pl. 4 B) antiserum to CYVV.

Interestingly enough, when a mixture of HCMV and TBRV (either CYVV or G-TBRV) was allowed to diffuse against both homologous antisera contemporarily, the precipitin lines crossed at the point of junction (pl. 4 C, D). Moreover, in intra-gel absorption tests, the viruses were selectively precipitated only by homologous antisera (pl. 4 G, H), so that both antisera were needed for total repression of antigen diffusion (pl. 4 I).

Finally, by letting HCMV and TBRV (CYVV or G-TBRV) react with homologous antisera and with the English serum anti CYVV, two precipitin lines were formed against the latter serum, each independently merging with the single specific line produced against sera immune to HCMV and TBRV (Italian CYVV or G-TBRV). The independence of such reactions was also demonstrated by the crossing of precipitin lines at the point of intersection (pl. 4 E, F). Similar results were obtained when the complex serum immune to HCMV and TBRV was used, in a pattern like that of plate 4 E, in place of the English serum anti CYVV. This latter serum had a titre of 1:512 — 1:024 and 1:254 — 512 to CYVV and HCMV, respectively.

#### 8. — *Immunoelectrophoresis*

In immunoelectrophoresis, performed under the conditions specified before, HCMV moved towards the cathode at a faster rate than TBRV, which exhibited, instead, a slower migration to the anode (pl. 3 C, D). The virus preparations used in these tests contained both components separable in zonal density gradient centrifugation. They, however, gave rise to a single precipitin line, showing electrophoretic homogeneity.

### DISCUSSION AND CONCLUSIONS

One of the most intriguing results of the present investigation is the surprising difference in the serological behaviour of HCMV and TBRV depending upon the antiserum employed in the tests. In accordance with previous findings (MARTELLI *et al.*, 1968), whenever the reactant is the English antiserum to CYVV a close relationship appears to exist between HCMV and TBRV (CYVV or G-TBRV). Conversely, all gel-diffusion and intra-gel absorption tests performed with the Italian serum immune to CYVV, in place of the comparable English antiserum, consistently indicate lack of such relationship between the two viruses.

This discrepancy might be explained in either of two ways: *a*) the CYVV isolate used in our tests is not a strain of TBRV or it differs considerably from the isolate to which the English antiserum was prepared or, *b*) the English serum contains antibodies to both TBRV and HCMV.

The first hypothesis is unlikely. It can be discarded on the ground of the general behaviour of the CYVV isolate and on the results of serological tests demonstrating, beyond doubt, that it is indeed a strain of TBRV able to react with many different antisera immune to this virus, including the English serum anti CYVV. Moreover, its homologous antiserum precipitates heterologous TBRV antigens.

The second possibility is primarily based on the bulk of evidence accumulated in the serological tests, which have amply demonstrated the occurrence, in the English serum, of two sets of antibodies, independently reacting with TBRV and HCMV antigens. This idea finds a confirmation in a recent report by HOLLINGS *et al.* (1969) who have discovered in the original cultures of CYVV, a second virus related to HCMV but not to TBRV. It is then probable, that, owing to the similarity of the two viruses and to the practical impossibility of separating them during purification, a mixture of antigens was accidentally used in the preparation of the ori-

ginal antiserum. The same workers (HOLLINGS *et al.*, 1969) also report that some of the CYVV cultures in their possession contain only the TBRV component. This helps explaining why the CYVV isolate supplied to us proved to be a typical TBRV strain bearing no relationship to HCMV. Incidentally, it should be pointed out that absence of the HCMV-related virus in the CYVV culture used in the present studies has greatly facilitated the interpretation of results that otherwise would have been very misleading.

Despite the serological unrelatedness and other differences such as the reaction of host plants to infection, the differential influence of pH on the infectivity of crude sap and the electrophoretic mobility, HCMV and TBRV have points of similarity.

The most striking of these is the occurrence in both viruses of two components sedimenting at a different rate in zonal density gradient centrifugation but having apparently similar composition (differences may exist in the percentage of nucleic acid) and infectivity (for TBRV see also : HARRISON and NIXON, 1960 ; HOLLINGS, 1965). This characteristic is not uncommon in the viruses of the NEPO group and its biological significance, which unlike other multicomponent plant viruses has not yet been elucidated, is now being studied.

The findings of this investigation and those of HOLLINGS *et al.* (1969) lead to the conclusion that HCMV is a virus on its own, serologically unrelated to many viruses with similar particles (over 30 according to HOLLINGS *et al.*, 1969) and to all known NEPO entities except for one of the components of the mixture of viruses of celery yellow vein.

Actually, although there is a strong circumstantial evidence that HCMV is soil-borne (MARTELLI *et al.*, 1968 ; MARTELLI and SAROSPATAKI, 1969 ; SAROSPATAKI *et al.*, 1969) final experimental proof of it is still lacking. For this reason and also because of missing information on most physico-chemical characteristics of HCMV, its present cryptogram is : \* / \* : \* / \* : S / S : S / \*.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by a grant of the Consiglio Nazionale delle Ricerche.

The authors are grateful to Dr. M. Russo for taking the electron micrographs and to Mr. N. GRECO for the technical assistance. Thanks are also due to : Dr. M. HOLLINGS, Glasshouse Crops Research Institute, Littlehampton ; Dr. C. H. CADMAN, Scottish Horticultural Research Institute, Invergowrie ; Prof. R. BERCKS, Biologische Bundesanstalt, Braunschweig ; Dr. G. STELLMACH, Biologische Bundesanstalt, Bernkastel/Kues ; Dr. H. DIAS, Canada Department of Agriculture, St. Catharines for supplying some of the virus isolates and antisera used in this study.

#### RÉSUMÉ

#### LE VIRUS DE LA MOSAÏQUE JAUNE-CHROME DE HONGRIE ET LE TOMATO BLACK-RING, DEUX VIRUS SEMBLABLES MAIS NON APPARENTÉS

Le virus de la mosaïque jaune-chrome de Hongrie (HCMV), isolé des vignes montrant des symptômes de court-noué et de panachure, a été comparé à des souches anglaises et allemandes du virus du Tomato black ring (TBRV).



Une ressemblance a été trouvée entre HCMV et TBRV en ce qui concerne : a) les propriétés physiques *in vitro* ; b) la morphologie des particules qui présentaient un contour angulaire et un diamètre d'environ 30 m $\mu$  ; c) le comportement pendant la purification. Les deux virus montraient deux bandes opalescentes après centrifugation en gradient de densité de saccharose. Ces bandes étaient infectieuses et avaient un spectre d'absorption UV de nucléoprotéines.

On a trouvé des différences dans : a) la réaction des hôtes herbacés ; b) la réaction au pH ; c) la mobilité électrophorétique ; d) la parenté sérologique. Des essais de diffusion et d'absorption croisée en gélose ont montré que HCMV et TBRV ne sont pas sérologiquement apparentés. Sur la base de ces données et d'autres rapportées dans la littérature, on peut conclure que HCMV est un virus tout à fait nouveau qui diffère de TBRV et des autres virus NEPO connus.

## REFERENCES

- HARRISON B. D., 1957. Studies on the host range, properties and mode of transmission of beet ringspot virus. *Ann. appl. biol.*, **45**, 462-472.
- HARRISON B. D., NIXON H. L., 1960. Purification and electron microscopy of three soil-borne plant viruses. *Virology*, **12**, 104-117.
- HOLLINGS M., 1960. Celery viruses. *Rep. Glasshouse Crops Res. Inst.*, 1959, 73.
- HOLLINGS M., 1965. Some properties of celery yellow vein, a virus serologically related to tomato black ring virus. *Ann. appl. Biol.*, **55**, 459-470.
- HOLLINGS M., STONE O. M., 1962. Use of formalin-treated antigen in the production of antiserum to a plant virus. *Nature*, **194**, 607.
- HOLLINGS M., STONE O. M., MARTELLI G. P., 1969. Celery yellow vein and Hungarian chrome mosaic viruses. *Rep. Glasshouse Crops Res. Inst.*, 1968, 102-103.
- MARTELLI G. P., 1965. Preliminary report on the purification and serology of a virus associated with Hungarian grapevines showing macroscopic symptoms of fanleaf and yellow mosaic. *Proc. Int. Conf. on Virus and Vector on Perennial Host, Davis, Calif.*, 402-410.
- MARTELLI G. P., 1965 a. Isolation, purification and identification of viruses of *Vitis*. *Proc. Int. Conf. on Virus and Vector on Perennial Hosts, Davis, Calif.*, 180-194.
- MARTELLI G. P., SAROSPATAKI G., 1969. Nematodes of the Family Longidoridae (THORNE, 1935) MEYER 1960 found in Hungarian vineyards and virus transmission trials with *Xiphinema index* THORNE et ALLEN. *Phytopathol. medit.*, **8**, 1-7.
- MARTELLI G. P., LEHOCZKY J., QUACQUARELLI A., 1965. Host range and properties of a virus associated with Hungarian grapevines showing macroscopic symptoms of fanleaf and yellow mosaic. *Proc. Int. Conf. on Virus and Vector on Perennial Hosts, Davis, Calif.*, 389-401.
- MARTELLI G. P., QUACQUARELLI A., LEHOCZKY J., 1968. Serologische Verwandtschaft eines mit dem ungarischen « Chrome mosaic » vergesellschafteten Virus mit einem Stamm des « tomato black ring virus ». *Weinb. Keller*, **15**, 505.
- MARTELLI G. P., LEHOCZKY J., QUACQUARELLI A., SAROSPATAKI G., 1968. Das Problem des « yellow mosaic » der Reben in Ungarn. *Weinb. Keller*, **15**, 506-507.
- SAROSPATAKI G., MARTELLI G. P., LEHOCZKY J., 1968. Presence of parasitic nematodes of grapevine in the soil of Hungarian vine districts with special consideration to virus vector species. *Ann. Res. Inst. Vitic. Enol. Budapest*, **13**, 135-150.

## PLATE I

Leaves of squash and « Bountiful » bean plants with systemic symptoms induced by HCMV (A and C) and TBRV (B and D).

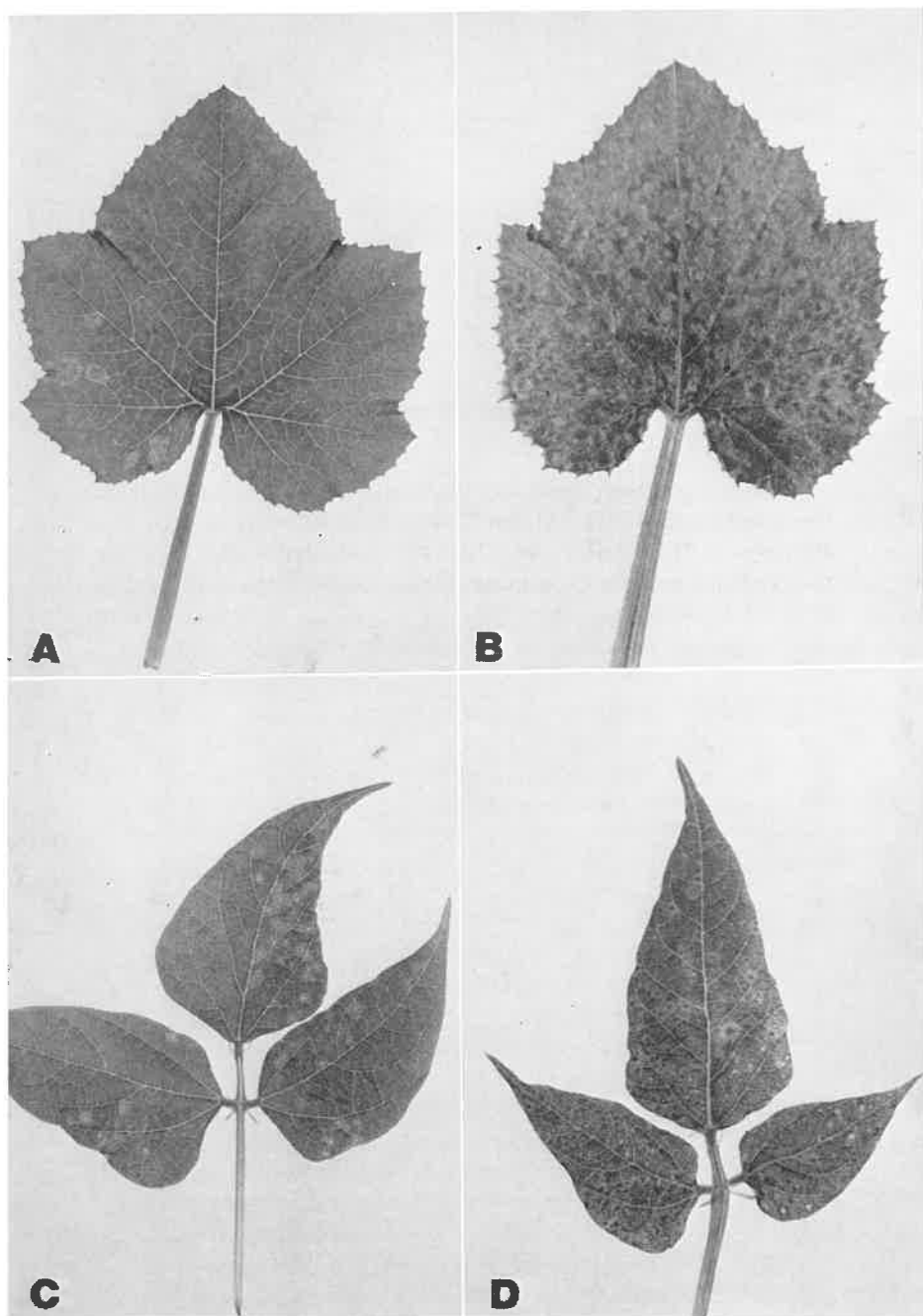


PLATE I

## PLATE 2

Light-scattering bands obtained in sucrose density gradient by centrifuging HCMV (A) and TBRV (B) alone or in mixture (C). Particles of HCMV (D) and TBRV (E) negatively stained. Both preparations contain occasional smaller bodies with dark centre, believed to be  $F_1$  protein.

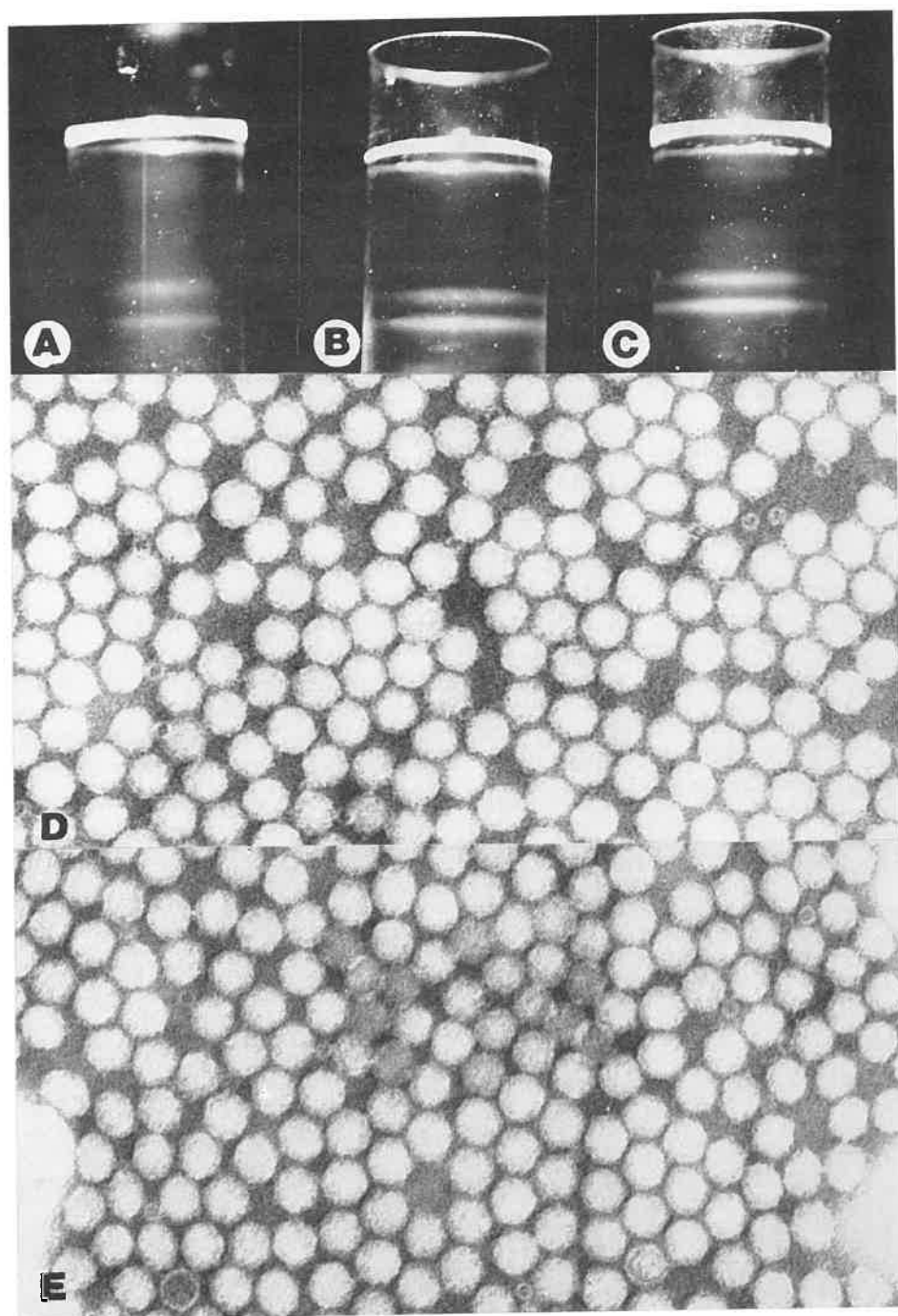


PLATE 2

## PLATE 3

A : Evidence that HCMV (antigen in central well) is not serologically related to the following NEPO viruses : grapevine fanleaf (2), arabis mosaic (3), tomato ringspot (4), tobacco ringspot (5), strawberry latent (6), raspberry ringspot (7), peach rosette mosaic (8). A precipitin line was formed only against the homologous antiserum (1). Antisera in lateral wells.

B : HCMV (antigen in central well) precipitates specifically the homologous antiserum (1 and 5) and the English antiserum to CYVV (2) but not the anti CYVV serum locally prepared (3) nor sera immune to the following TBRV strains : lettuce ring-spot (4), beet ringspot (6), Scottish strain (7), grapevine strain (8).

C and D : Immunoelectrophoretic patterns of TBRV (C) which moves slowly towards the anode and HCMV (D) showing a slightly faster migration towards the cathode.

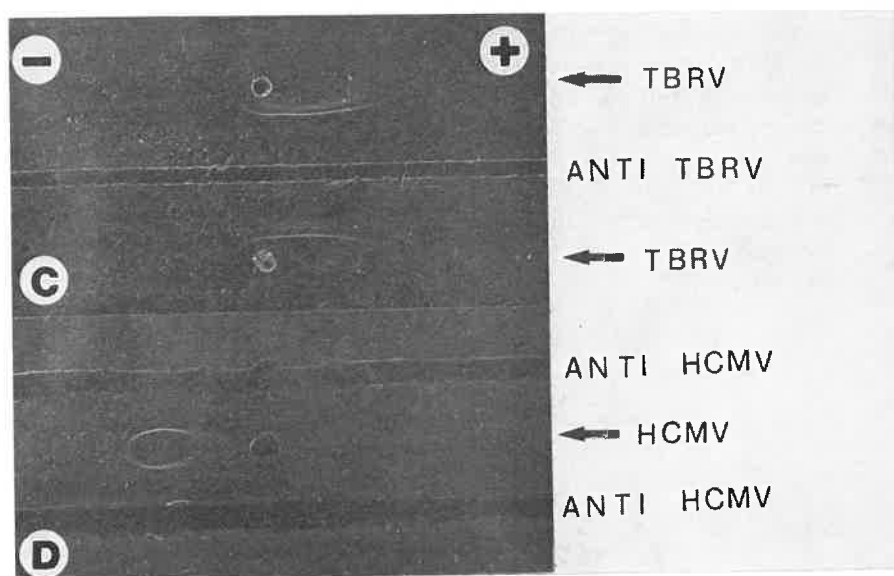
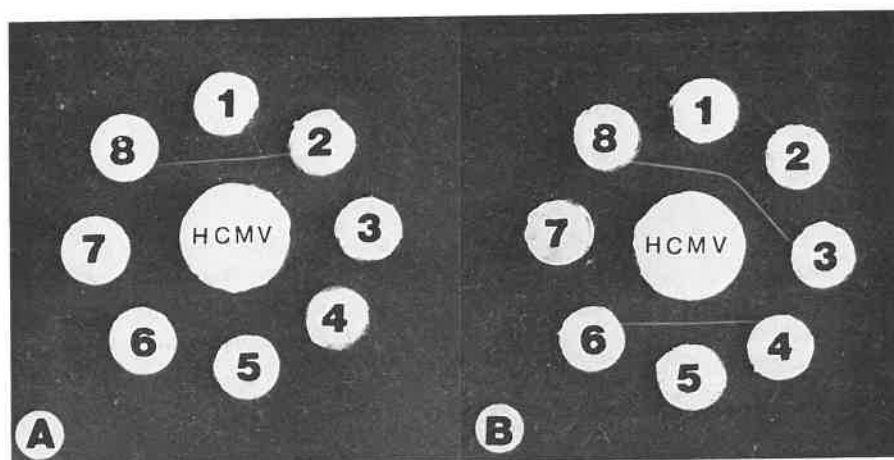


PLATE 3

## PLATE 4

All wells marked A contain TBRV antiserum (either anti CYVV or G-TBRV prepared locally), wells B the antiserum to HCMV and well C (in fig. E) the English antiserum to CYVV. Figures D and F are the diagrammatic interpretations of patterns C and E respectively.

Gel-diffusion patterns A and B demonstrate that TBRV and HCMV precipitate only homologous antisera. When a mixture of both antigens is allowed to react with both antisera, the precipitin lines intersect at the point of junction indicating lack of relationship (C and D). Pattern E demonstrates that the English serum immune to CYVV contains antibodies specific for HCMV and TBRV which independently react with the relative homologous antigens (E and F). Figures G, H and I demonstrate selective intragel absorption of HCMV and TBRV by homologous antisera. In central wells either one (anti HCMV in 1; anti TBRV in 2) or both (3) antisera were placed and were allowed to diffuse before adding HCMV and TBRV antigens together. Only heterologous antigens could diffuse and displayed a visible precipitin line (G and H).



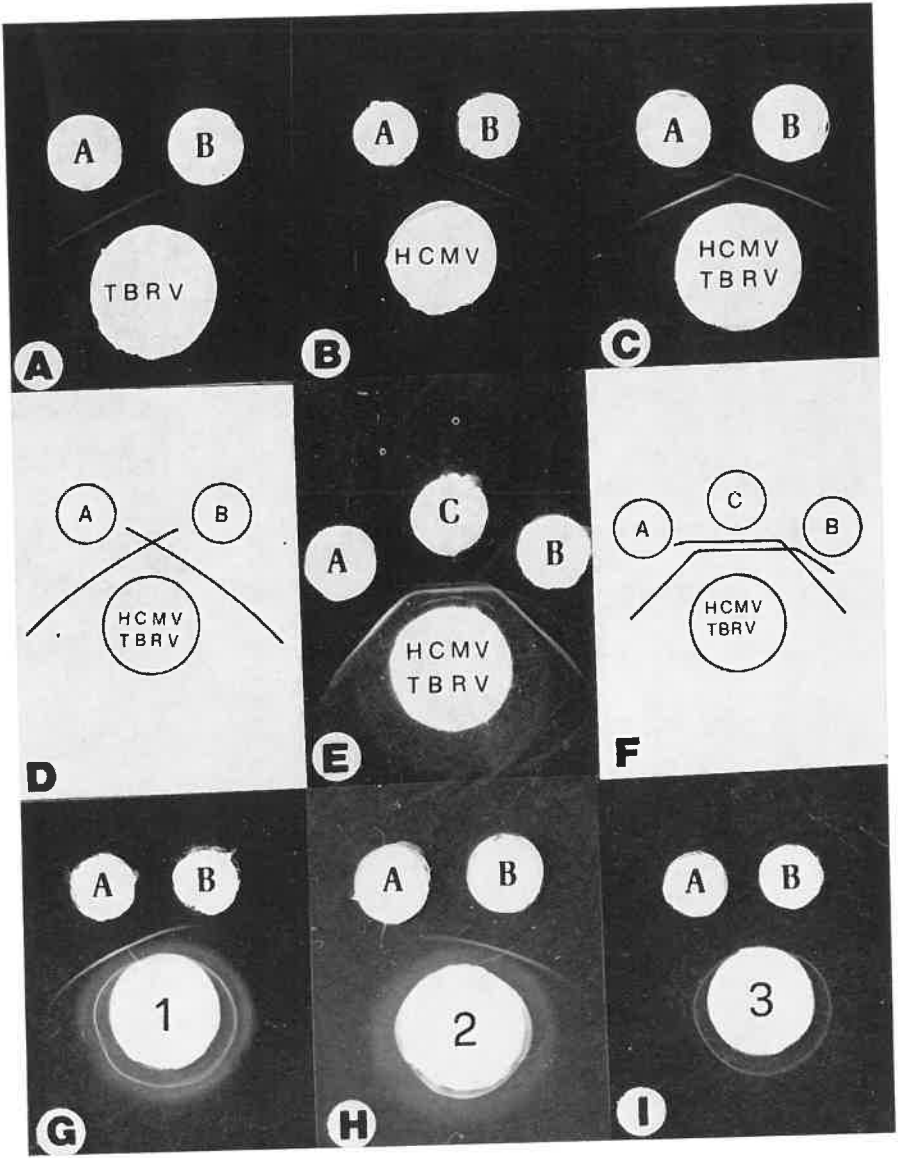


PLATE 4



## SUR L'ISOLEMENT D'UN VIRUS A PARTIR DE CULTURES DE TISSUS DE VIGNE

Amarilis de MENDONÇA, O. A. DE SEQUEIRA et A. A. FERREIRA

*Estação Agronómica Nacional, Oeiras (Portugal)*

Un virus a été isolé de cultures de tissus provenant d'un plant de vigne (*Vitis vinifera*) infecté expérimentalement avec une souche ordinaire du virus de la Panachure (Clorose Infeciosa).

Ce virus inoculé à des plantes herbacées (*Chenopodium quinoa*, *Lycopersicon esculentum*, *Nicotiana glutinosa* et *N. tabacum*) a donné une symptomatologie différente de celle du virus de la Panachure (G.F.V.).

Les suspensions de virus purifié se sont comportées dans des gradients de densité de façon différente de celle du virus de la Panachure et ont montré au microscope électronique des particules sphériques.

Les tests sérologiques ont prouvé que le virus isolé n'est pas apparenté au virus de la Panachure et qu'il l'est, par contre, à un autre virus de la vigne décrit récemment.

A partir de la culture de tissus, jamais le virus de la Panachure n'a été isolé, bien que la plante originelle fût infectée par ce virus.

Nous avons mis en culture des fragments de tiges herbacées d'une plante de vigne (*Vitis vinifera* L.) cultivée en plein air et infectée expérimentalement par une souche ordinaire du virus de la Panachure (Clorose Infeciosa).

Comme milieux de culture nous avons utilisé ceux de MOREL (MOREL, 1948) et de MURASHIGE et SKOOG (MURASHIGE T. et SKOOG F., 1962) mais c'est seulement dans ce dernier que nous avons réussi à entretenir le développement des tissus lequel était cependant toujours plus faible que celui de cultures provenant de plantes saines.

Les cultures ont été maintenues à 24°C sous éclairage artificiel et des repiquages furent pratiqués tous les deux mois.

La présence du virus dans les cultures a été testée en broyant les tissus dans du tampon phosphate ou dans une solution à 2,5 p. 100 de nicotine et en inoculant mécaniquement l'extrait à *Chenopodium amaranticolor* COSTE et REIN. ou à *C. quinoa* WILLD.

Après six passages, les cultures étaient encore infectieuses, mais leur développement était si réduit qu'elles n'ont pas survécu.

Au bout de 48 heures après l'inoculation, *C. quinoa* donnait des symptômes d'infection locale sur les feuilles inoculées, lesquels consistaient en de nombreuses lésions nécrotiques. Des symptômes systémiques sont apparus dix jours plus tard : épinastie des feuilles, déformations, mosaïque et parfois mort du sommet végétatif de la plante.

La symptomatologie observée sur d'autres hôtes herbacés était également différente de celle de la Panachure.

*Lycopersicon esculentum* MILL. s'est montré capable d'être infecté par le virus isolé de la culture de tissus ; *Nicotiana glutinosa* L. a donné des lésions locales de type *ringspot* et les symptômes systémiques étaient aussi de type *ringspot* ; *N. tabacum* L. (var. « White Burley », « Xanthi » et « Samsun ») a donné des symptômes analogues.

Pour faire l'identification du virus nous l'avons purifié par la méthode au butanol-chloroforme (HARRISON et NIXON, 1960) utilisant comme source de virus des plantes de *N. glutinosa* infectées systémiquement.

Dans des gradients de densité de saccharose, la sédimentation des deux virus a eu lieu à égale distance du ménisque (22-24 mm), mais tandis que pour le virus de la Panachure une seule bande était visible, pour le nôtre deux bandes se sont nettement formées. L'examen des courbes de sédimentation données par l'analyseur-fractionateur ISCO a fait voir qu'elles n'étaient pas identiques.

Les suspensions de virus purifié ont montré au microscope électronique des particules sphériques de 28 à 29 nm de diamètre.

Les tests sérologiques n'ont pas donné de réactions croisées entre le virus de la Panachure et le nôtre, lequel a réagi, par contre, avec un autre virus isolé de la vigne et décrit récemment (FERREIRA et SEQUEIRA, 1970).

Il est intéressant de remarquer que nous n'avons jamais isolé le virus de la Panachure à partir des tissus de culture, bien que la plante originelle fût infectée par ce virus.

Notre virus se multiplie dans des cultures de tissus de tabac, où il est cultivé maintenant.

## SUMMARY

### ISOLATION OF A VIRUS FROM GRAPEVINE TISSUE CULTURES

A virus was isolated from tissue cultures of a grapevine plant infected experimentally with a field source of Yellow Mosaic (Clorose Infecçiosa).

The isolate recovered induced a symptomatology distinct from that of Fanleaf-Yellow Mosaic on herbaceous plants (*Chenopodium quinoa*, *Lycopersicon esculentum*, *Nicotiana glutinosa* and *N. tabacum*).

Partially purified preparations of this isolate also behaved differently on density gradient centrifugation.

Under the electron microscope the preparations revealed isodiametric particles.

Serological tests showed that the virus recovered from the tissue cultures was not related to Yellow Mosaic but to some viruses isolated from grapevine and so far not identified.

Although the original grapevine plant was infected with Yellow Mosaic this virus was never recovered from tissue cultures.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- FERREIRA A. A., DE SEQUEIRA O. A., 1970. Preliminary Studies on an undescribed Grapevine Virus  
*IVth Meeting of International Council for Studies of Viruses Diseases of Grape*, Colmar (France), 16-18 juin 1970.
- HARRISON B. D., NIXON R. L., 1960. Purification and electron microscopy of three soil-borne plant viruses. *Virology*, **12**, 104-117.
- MOREL G., 1948. Recherches sur la culture associée de parasites obligatoires et de tissus végétaux. *Ann. Épiphyt. N. S.*, **14**, 123-234.
- MURASHIGE T., SKOOG F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, **15**, 473-497.
-



# FREMDARTIG ERKRANKTE REBEN, AUS DENEN EIN SAFTÜBERTRAGBARES VIRUS ISOLIERT WURDE

G. STELLMACH und B. WEISCHER\*

*Biologische Bundesanstalt, Institut für Rebenkrankheiten, Bernkastel/Kues (B. R. D.)*

\* *Biologische Bundesanstalt, Institut für Nematoden-Forschung, Münster (B. R. D.)*

Seit dem Jahre 1968 beobachten wir in einem Weinberg der Sorte Elbling, im Moselgebiet von Deutschland, eine durch zitronenfarbige Blattveränderungen und durch interkostale Nekrosen charakterisierte Erkrankung der Reben. Die Reben wachsen in einem Gebiet, wo früher Obst und Gemüse kultiviert wurden. Im Frühling ähnelt die Farbabweichung der Blätter derjenigen, die vom Rebenyellow vein- Virus hervorgerufen wird. Später wird das ganze Blatt fahl, und in den Interkostalfeldern erscheinen braungefärbte, nekrotische Flecke (Abb. 1-5). Die symptomtragenden Blätter sind auf den Bereich der mittleren Stockhöhe begrenzt. Die Trauben sind ohne Ertrag. (Abb. 6) Erkrankte Pflanzen stehen herdförmig zusammen. Die Herde vergrössern sich. Das deutet auf die bodenbürtige Natur der Krankheit hin.

In Bodenproben wurde der Nährstoffgehalt des Weinberges geprüft. Es konnte festgestellt werden, dass er mit Nährstoffen gut versorgt ist.

Die chemische Blattanalyse, die im Herbst mit schwererkrankten Elblingblättern durchgeführt wurde, brachte ein überraschendes Ergebnis: Der Phosphorgehalt war 10 mal höher als normal. Dieses Ergebnis muss allerdings noch bestätigt werden.

Von Blättern, die nur schwache Farbabweichungen zeigten, wurde im Frühjahr ein Virus auf *Ch. quinoa* und *Ch. murale* übertragen. Diese Pflanzen erkrankten systemisch und zeigten Symptome, die auch von anderen bodenbürtigen Viren hervorgerufen werden. Von einer systemisch infizierten *Ch. murale*-Pflanze (Abb. 7) wurde ein Inokulum durch Homogenisieren in 0,1 M Phosphat-Puffer gewonnen und auf eine Gruppe verschiedener krautiger Pflanzen verimpft. Das Ergebnis der Wirtspflanzenstudien ist in Tabelle 1 zusammengefasst.

Die Tatsache, dass *Ch. amaranticolor* nicht reagiert hat, scheint darauf hinzuweisen, dass ein seltenes Virus isoliert worden war. Nach THORNBERRY (1961) gibt es nur wenige Viren, die *Ch. amaranticolor* nicht infizieren.

Untersuchungen zur weiteren Charakterisierung des isolierten Virus, insbesondere Prämunitätstests, zeigten, dass Arabis-Mosaik-Virus und Fanleaf-Virus eine Superinfektion mit dem isolierten Virus nicht verhindern. Weitere Untersuchungen sind im Gange.

TABELLE I

Krautiger Wirt	Reaktion	$\left\{ \begin{array}{l} + = \text{positiv, } - = \text{negativ} \\ l = \text{Lokalläsionen} \\ s = \text{systemisch} \end{array} \right.$
<i>Amaranthus caudatus</i> .....	—	
<i>Antirrhinum majus</i> .....	—	
<i>Callistephus chinensis</i> .....	—	
<i>Chenopodium amaranticolor</i> ....	—	
<i>Chenopodium murale</i> .....	+ s	
<i>Chenopodium quinoa</i> .....	+ s	
<i>Cucumis sativus</i> .....	—	
<i>Dahlia variabilis</i> .....	—	
<i>Helychrysium arenarium</i> .....	—	
<i>Lycopersicon esculentum</i> .....	—	
<i>Phaseolus vulgaris</i> .....	—	

Im Sommer 1969 wurden virusfreie bewurzelte Stecklinge von *Vitis rupestris* var. St. George und FS-4-201-39 mit Reisern von erkrankten Elblingreben gepfropft. Im Frühjahr 1970 reagierte der letztgenannte Rebenindikator mit sehr heftigen Symptomen, die ähnlich denjenigen sind, die von hochvirulenten Herkünften der Reisigkrankheit oder durch 2,4-D-Kontamination hervorgerufen werden. (Abb. 8-10) Obgleich in den St. George-Pfropfungen erfolgreiche Zusammenwachsung festgestellt werden konnte, zeigten sich 9 Monate nach der Pfropfung auf diesen Indikatoren keine Symptome. Es müssen allerdings noch weitere Untersuchungen in diesem Sinne durchgeführt werden.

Die braungefärbten nekrotischen Blattflecken auf den Elblingreben legten den Verdacht nahe, dass sie von Bakterien hervorgerufen sind. Um eine solche Ursache auszuschliessen, wurden lichtmikroskopische Untersuchungen durchgeführt, die negativ verliefen. Während der Übertragungsversuche auf krautige Pflanzen wurde ein Inokulum mit  $36\,000 \times g$  zentrifugiert in der Absicht, Bakterien auszuschalten. Der Überstand wurde auf Blätter von *Ch. murale* verimpft, die positiv reagierten. Das deutet auf die viröse Natur des Erregers hin.

In dem besagten Elbling-Weinberg wurden zahlreiche Nematoden der Art *Paralongidorus maximus* und einige der Art *Xiphinema Vuittenzezi* gefunden. Die grösste Populationsdichte wurde in der Rhizosphäre von solchen Reben ermittelt, von denen die Ausbreitung der Krankheit ausging. Versuche, die Krankheit durch Einzeltiere von *P. maximus* und *X. Vuittenzezi* von kranken Reben auf Testpflanzen zu übertragen, schlugen bis jetzt fehl. Dieser Misserfolg ist nicht zuletzt darauf zurückzuführen, dass bis heute keine Wirtspflanzen, die sich sowohl für das Virus (den Viruskomplex?) als auch für die Nematoden eignen, gefunden werden konnten. Die Übertragungsversuche werden fortgesetzt.



## RÉSUMÉ

ISOLEMENT D'UN VIRUS TRANSMISSIBLE MÉCANIQUEMENT  
A PARTIR DE VIGNES PRÉSENTANT UNE CURIEUSE MALADIE

Des symptômes foliaires, consistant en une coloration jaune-citron du limbe accompagnée de nécroses entre les nervures, ont été observés depuis 1968 dans une parcelle du vignoble allemand de Moselle, sur la variété Elbling.

Au printemps, la décoloration des feuilles est semblable aux symptômes produits par le virus du Yellow vein. Plus tard, toute la feuille devient plus pâle et des taches nécrotiques de couleur brune apparaissent entre les nervures. La vigne ne porte pratiquement pas de fruits. Les souches malades sont groupées en petites zones qui s'accroissent ; on a donc de fortes chances de croire que cette maladie se propage dans le sol.

A partir des vignes malades, un virus a été transmis mécaniquement à *Chenopodium quinoa* et à *C. murale*. Ces espèces de Chenopodes ont été infectées de façon généralisée, montrant des symptômes analogues à ceux d'autres virus de la vigne, transmissibles par le sol. Mais aucun symptôme n'a été obtenu sur *Chenopodium amaranticolor*. Ce fait semble montrer qu'un virus particulier a été isolé. Des tests de prémunition croisée montrent que ni le virus de la mosaïque de l'Arabis (AMV), ni le virus du Court-Noué (GFV) ne protégeaient contre une surinfection par le virus décrit ici.

La variété de vigne indicatrice FS 4 réagit de façon très intense à l'infection, avec des symptômes analogues à ceux produits par des origines très virulentes de « Reisigkrankheit » ou par des dégâts de 2,4-D.

De nombreux nématodes des espèces *Paralongidorus maximus* et *Xiphinema Vuittenezi* ont été trouvés dans le sol du vignoble malade. Ils étaient les plus abondants dans la rhizosphère des vignes à partir desquelles la propagation des symptômes de la maladie avait débuté. Des tentatives pour transmettre la maladie à des plantes tests à l'aide de spécimens de *P. maximus* et de *X. Vuittenezi*, provenant de vignes infectées, n'ont montré aucun résultat jusqu'à présent. Cet échec est dû, au moins en partie, à ce que, jusqu'à présent, aucune plante hôte convenant à la fois pour les nématodes et pour le virus (ou le complexe de virus), n'a pu être trouvée. Les expériences de transmission sont poursuivies.

## SUMMARY

REMARKABLE DISEASED GRAPES  
FROM WHICH A SAP TRANSMISSIBLE VIRUS WAS ISOLATED

A lemon-coloured and intercostal necrotic condition of grape vine leaves had been observed since 1968 in a vineyard of the variety Elbling in the Moselle region of Germany. In spring the discoloration of the leaves is similar to that produced by the grapevine yellow vein virus. Later in the season the whole leaf becomes fade, and in the intercostal regions brown coloured necrotic spots appear. The fruit clusters are without yield. Diseased plants occur in patches which were spreading. This strongly suggested the soil-borne nature of the disorder.

A virus was transmitted to *Chenopodium quinoa* and *Chenopodium murale*. The *Chenopodium* plants have been infected systemically with symptoms similar to other soil borne viruses from grape. *Chenopodium amaranticolor* has not reacted. This fact seems to indicate that a seldom

virus has been isolated. Cross protection tests show that AMV and FV did not protect against a superinfection with the virus.

The FS 4 grape indicator reacted with very strong symptoms similar to those produced by high virulent sources of « Reisigkrankheit » or by 2,4-D contamination.

Numerous *Paralongidorus maximus* and *Xiphinema Vuittenesei* have been found in this Elbling vineyard. The highest numbers were encountered in the rhizosphere of the grapes from which the spread of symptoms started. Attempts to transmit the disease by specimens of *P. maximus* and *X. Vuittenesei* from infested grapes to test plants failed so far. This failure is at least partly due to the fact that until now no host plants suitable for both the nematodes and the virus (-complex) could be found out. The transmission experiments are continued.

#### LITERATUR

- THORNBERRY H. H., 1961. Suggested procedures and differential hosts for identifying viruses. *Proc. 2nd Conf. Intern. Organization Citrus Virol.*, 256-259.

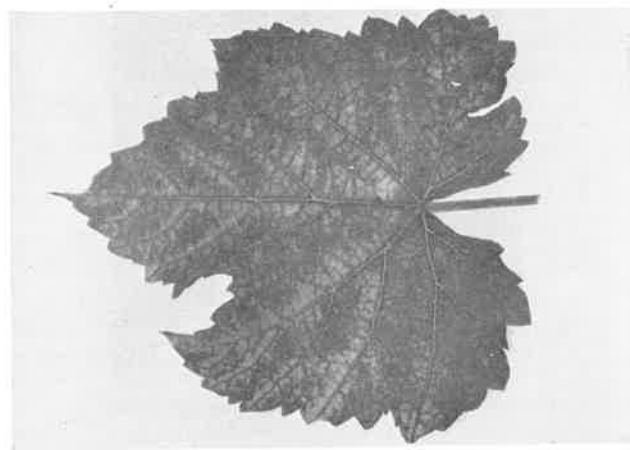
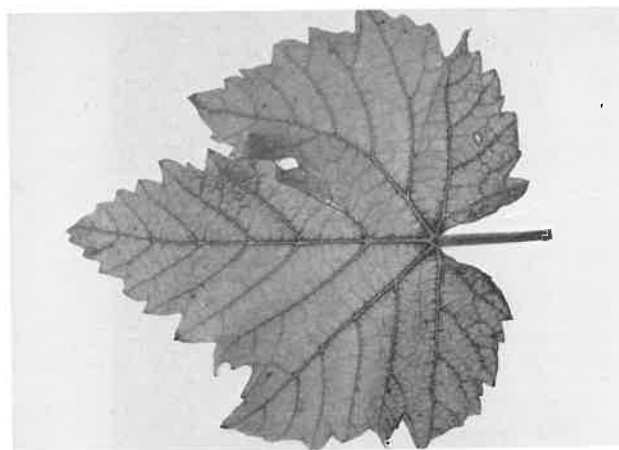
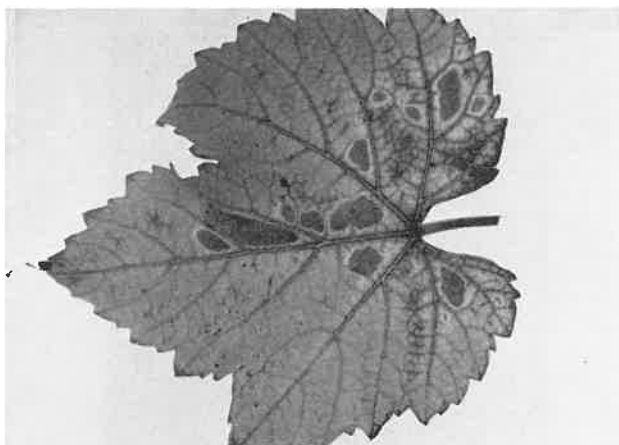


Abb. 1-3. — Fortschreitende Symptomenausprägung an Blättern der Sorte Elbling



Abb. 4 und 5. — *Details der Symptome auf Elbling*

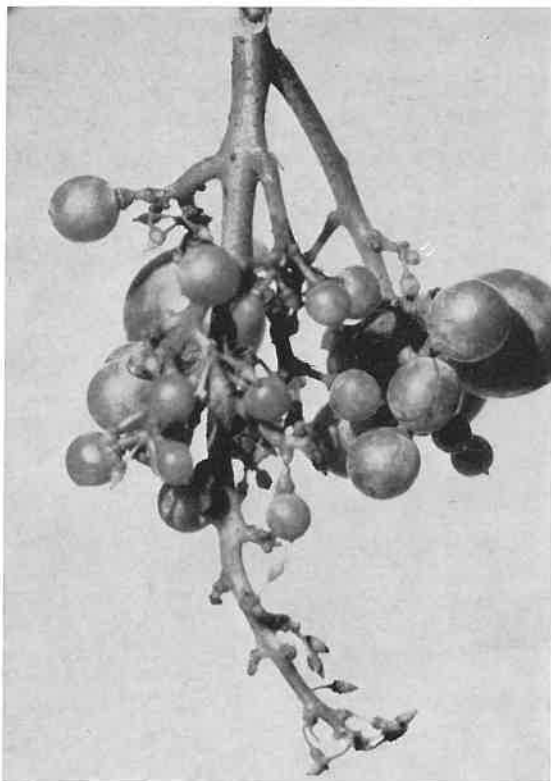


Abb. 6. — Traube an erkranktem Elbling



Abb. 7. — *Chenopodium murale* systemisch erkrankt

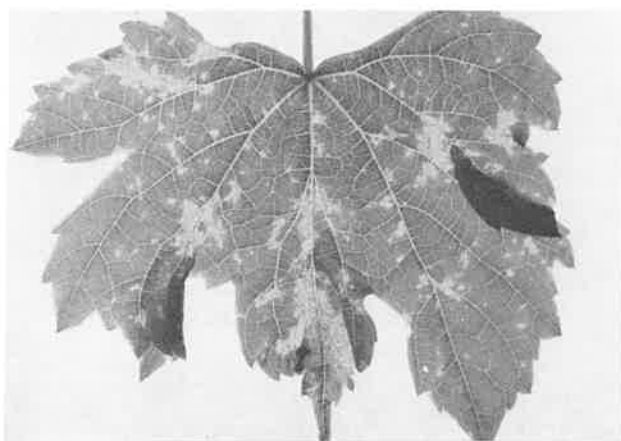
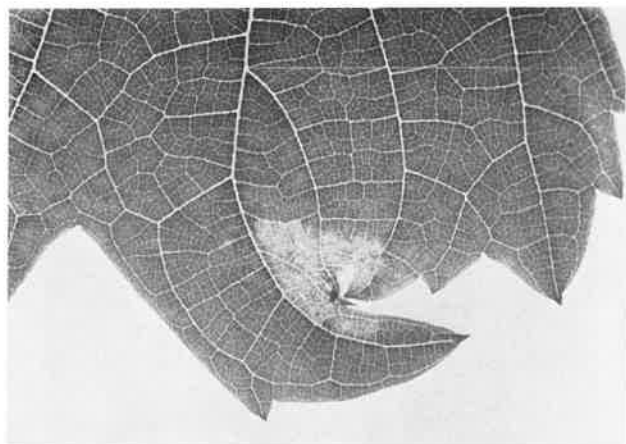


Abb. 8-10. — Fortschreitende Erkrankung des Indikators FS-4-201-39

# EXPÉRIMENTATION D'AMÉLIORATIONS RÉCENTES APPORTÉES AUX TECHNIQUES DE DÉTECTION DES VIRUS CHEZ LA VIGNE, PAR DES PROCÉDÉS PHYSIQUES ET SÉROLOGIQUES

A. VUITTENEZ et J. KUSZALA

*Station de Pathologie végétale,  
Centre de Recherches, I.N.R.A.,  
68-Colmar (France)*

Le diagnostic des infections virales chez la Vigne, par des tests de laboratoire — principalement des tests sérologiques — reste encore actuellement limité par des difficultés particulières, inhérentes aux plantes ligneuses. Néanmoins, le perfectionnement des techniques permet d'envisager une nette amélioration de la sensibilité pour les virus du groupe « NEPO », où ces tests sont déjà utilisés, et, peut-être, d'étendre leur domaine d'application à d'autres virus.

## I. — TEST SÉROLOGIQUE AU LATEX

Le test sérologique par floculation de particules de latex sensibilisé selon la technique de BERCKS (1967) nous a donné d'excellents résultats avec différents virus parasphériques, en particulier les deux virus de type ringspot du groupe « NEPO » communs en France sur la Vigne, celui du Court-Noué (GFV) et celui de la Mosaïque de l'Arabis (AMV).

Les extraits de plantes à examiner sont préparés en série par broyage des feuilles au broyeur à cylindres, en présence de nicotine (1 ml de solution à 10 p. 100 de nicotine base pour 1 g de feuilles de vigne), ou directement s'il s'agit de feuilles de chénopodes. Le jus est extrait par une courte centrifugation du broyat, puis clarifié par une nouvelle centrifugation de 15 minutes à 6 000 g. Un chauffage préalable du jus, pendant 5 minutes à 55°C, facilite la clarification, sans réduction de l'activité antigénique.

L'épreuve sérologique est effectuée en cupules de matière plastique transparente (plaques de Kline en perspex épais, ou feuilles de plastique mince moulé, à jeter après usage), en mêlant, pour chaque épreuve, deux gouttes de jus clarifié et une

goutte de suspension de latex sensibilisé au virus recherché (0,1 ml de jus et 0,05 ml de latex).

Avec les jus de plantes infectées, une précipitation spécifique apparaît au bout de une à deux heures, sous forme de flocons granuleux, s'agglomérant en stries irrégulières, qui commencent à se déposer à la périphérie des cupules (fig. 1). Au contraire, dans un test négatif, le latex sédimente seulement au bout de 5 à 6 heures et se rassemble finalement en « boutons » au fond des cupules. En cas d'extraits fortement colorés en brun, avec certains échantillons de vigne (et surtout d'arbres fruitiers comme le Cerisier), un examen à la loupe facilite la lecture des résultats.

Pour le virus du Court-Noué (GFV), on obtient facilement des tests positifs avec les jus de vigne dilués jusqu'au 1/16 et avec les jus de chénopodes jusqu'au 1/80. Pour le virus de la mosaïque de l'Arabidopsis (AMV), les tests étaient encore positifs pour une dilution de 1/64 avec les jus de vigne (ou de Cerisier). A titre de comparaison, le virus de la mosaïque des chénopodes (Sowbane Mosaic Virus), réagissait en présence du latex homologue, jusqu'à une dilution de 1/1 000 des jus de *Chenopodium quinoa*. Ce virus, très concentré, constitue un matériel de choix pour se familiariser avec cette méthode de test remarquable.

## II. — FRACTIONNEMENT DES EXTRAITS ET DÉTECTION DES VIRUS PAR ABSORPTION DANS L'ULTRA VIOLET

L'examen d'extraits foliaires fractionnés par des méthodes physiques (ultracentrifugation, électrophorèse) pour individualiser les divers constituants, permet également une distinction des plantes saines des plantes virosées, ces dernières possédant une fraction absorbante spécifique dans l'ultraviolet, faisant défaut chez les plantes saines. Cette fraction est constituée par le virus lui-même. Des essais effectués avec le virus du Court-Noué purifié, montrent que l'absorption est surtout le fait d'un constituant principal — le plus lourd — du virus, dont la sédimentation est la plus rapide au cours de l'ultracentrifugation (fig. 3 A) : il correspond vraisemblablement aux virions intacts.

La centrifugation au sein d'un gradient de densité de saccharose a constitué la méthode de fractionnement que nous avons choisie pour individualiser le virus du Court-Noué (GFV) dans les extraits de plantes examinées, vignes ou chénopodes. Chaque épreuve est réalisée en déposant 1 ml d'extrait sur un gradient 10 p. 100-60 p. 100 de saccharose, centrifugation de 6 heures (ou moins) à 25 000 t/mn (Spinco Rotor SW 25.1). Avec des préparations de virus partiellement purifié, ou des extraits de chénopodes infectés, on constate que la fraction virale se stabilise dans une zone bien nette, environ 30 mm en dessous de la surface, soit dans les 22-24 ml de soutirage (fig. 2). L'analyse sérologique confirme qu'il s'agit bien du virus.

Dans le cas d'extraits de feuilles de vigne, la technique ne permet pas de déceler à l'œil la formation de la zone d'accumulation du virus ; mais celle-ci peut être repérée en mesurant l'absorption UV des différentes zones formées au cours de l'ultracentrifugation au sein du gradient, par refoulement du contenu des tubes



dans un appareil automatique de mesure à cellule photo-électrique (fractionneur et enregistreur d'absorption UV, ISCO). La nicotine et les divers ingrédients incorporés dans la solution d'extraction des feuilles demeurent, avec les constituants protéiques à petites molécules de la plante, près de la surface en haut du gradient. L'enregistrement UV (254 m $\mu$ ) individualise différents pics communs aux plantes saines et malades, mais on retrouve au niveau déterminé précédemment (profondeur 30 mm) le pic du virus chez les plantes malades.

Selon les échantillons et les périodes de l'année la détection du pic caractéristique du virus est plus ou moins facile en raison de la présence variable de matériel absorbant non spécifique, localisé à des profondeurs voisines dans le gradient. Néanmoins, chez les vignes atteintes du virus du Court-Noué (ou de la mosaïque de l'Arabis), ce pic caractéristique reste perceptible pendant toute la période de végétation active de la vigne — de mai à juillet. Puis la réduction de concentration du virus dans les feuilles ne permet plus de distinguer les vignes malades et saines par cette méthode, après l'arrivée des fortes chaleurs.

La figure 3 montre les résultats obtenus pour la détection du virus du Court-Noué dans des extraits concentrés de *Chenopodium quinoa* (fig. 3 A à E), extraits concentrés de Vigne (fig. 3 F à I), et dans un simple jus de broyage de feuilles de Vigne malade 1 g de feuilles + 1 ml de nicotine 10 p. 100 (fig. 3 J).

Cette technique de détection des virus par leur pic d'absorption dans l'UV n'a évidemment pas d'intérêt pratique immédiat chez la vigne, car elle est bien trop longue pour servir au diagnostic courant. Mais nous pensons qu'elle mérite d'être expérimentée pour chercher à mettre en évidence directement dans les extraits de vigne ou autres plantes ligneuses des virus n'appartenant pas au groupe du « ringspot NEPO », — tels l'Enroulement et la Marbrure de la vigne — qu'on ne sait pas isoler pour l'instant, ni détecter par sérologie ou par transmission à des plantes test herbacées.

## SUMMARY

### NEW IMPROVEMENTS IN PHYSICAL AND SEROLOGICAL TECHNIQUES FOR DETECTING VIRUSES IN GRAPEVINES

Serological tests with antibody-sensitized latex, according to Bercks method, proved an excellent way for detecting fanleaf (GVF) or Arabis Mosaic (AMV) infected Grapevines or herbaceous hosts. For preparing antigen-extracts with herbaceous hosts, like Chenopods, crude sap clarified at low speed centrifugation can be used without additional purification. For Grapevines, leaves must be at first homogenized (1 : 1) in 10 p. 100 nicotine solution.

Density-gradient ultracentrifugation of extracts of Chenopods or Grapevines (concentrated or not) make possible to separate different layers of protein components. UV analysis and automatic recording of absorbancy at 254 m $\mu$  reveals a characteristic peak, corresponding to the virus particles, lacking in extracts from healthy plants. GVF and AMV viruses can be so detected in Grape throughout the active growth period, till mid July. This method is too long for routine diagnosis, but it may be convenient to investigate in the future some non ringspot viruses of Grape, where till now serological or infectivity tests on herbaceous hosts failed.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BERCKS R., 1967. Methodische Untersuchungen über den serologischen Nachweis pflanzenpathogener Viren mit dem Bentonit-Flockungstest, dem Latex Test und dem Bariumsulfat Test. *Phytopathol. Z.*, **58**, 1-17.
- BERCKS R., QUERFURTH G., 1969. Weitere methodische Untersuchungen über den Latex Test zum serologischen Nachweis pflanzenpathogener Viren. *Phytopathol. Z.*, **65**, 243-256.
- BRÄKKE M. K., 1951. Density gradient centrifugation : a new separation technique. *J. Amer. Chem. Soc.*, **73**, 1847.
- BRÄKKE M. K., 1960. Density gradient centrifugation and its application to plant viruses. *Advances in Virus Research*, **7**, 193-224.
- CORBETT M. K., ROBERTS D. A., 1962. A rapid method for purifying Tobacco ringspot virus, and its morphology as determined by electron microscopy and negative staining. *Phytopathology*, **52**, 902-905.
- CORBETT M. K., GRANT T. J., 1967. Purification of Citrus variegation virus. *Phytopathology*, **57**, 137-143.
- FLECK L., EVENCHIK Z., 1962. Latex agglutination test with Brucella antigen and antiserum. *Nature*, **194**, 548-5.
- LISTER R. M., BANCROFT J. B., NADAKAVUKAREN, 1965. Some sap transmissible viruses from Apple. *Phytopathology*, **55**, 857-870.
- MARTELLI G. P., HEWITT W. B., 1963. Purification and serology of Italian strains of grape fanleaf virus (GFV). *Phytopathol. medit.*, **2**, 1-11.
- SEQUEIRA DE O. A., LISTER R. M., 1969. Applicability of Latex flocculation serological testing to apple viruses. *Phytopathology*, **59**, 572-574.
- SINGER J. M., PLOTZ C. M., 1956. The Latex fixation test. I. Application to the serological diagnosis of Rheumatoid Arthritis. *American Journal of Medic.*, **21**, 888-892.

FIG. 1

Réactions sérologiques avec extraits nicotinés de feuilles de Vigne et une suspension de latex, sensibilisé par un immun-sérum du virus du Court-Noué (GFV) (Technique de BERCKS, 1967) :

de gauche à droite : un extrait de vigne saine (S) et 3 extraits de vignes infectées (M);

de haut en bas : dilution des extraits de Vigne 1/2, 1/4, 1/8, 1/16...

Dans chaque trou 0,1 ml d'extrait nicotiné de feuilles de Vigne est mêlé à 0,05 ml de suspension de latex.

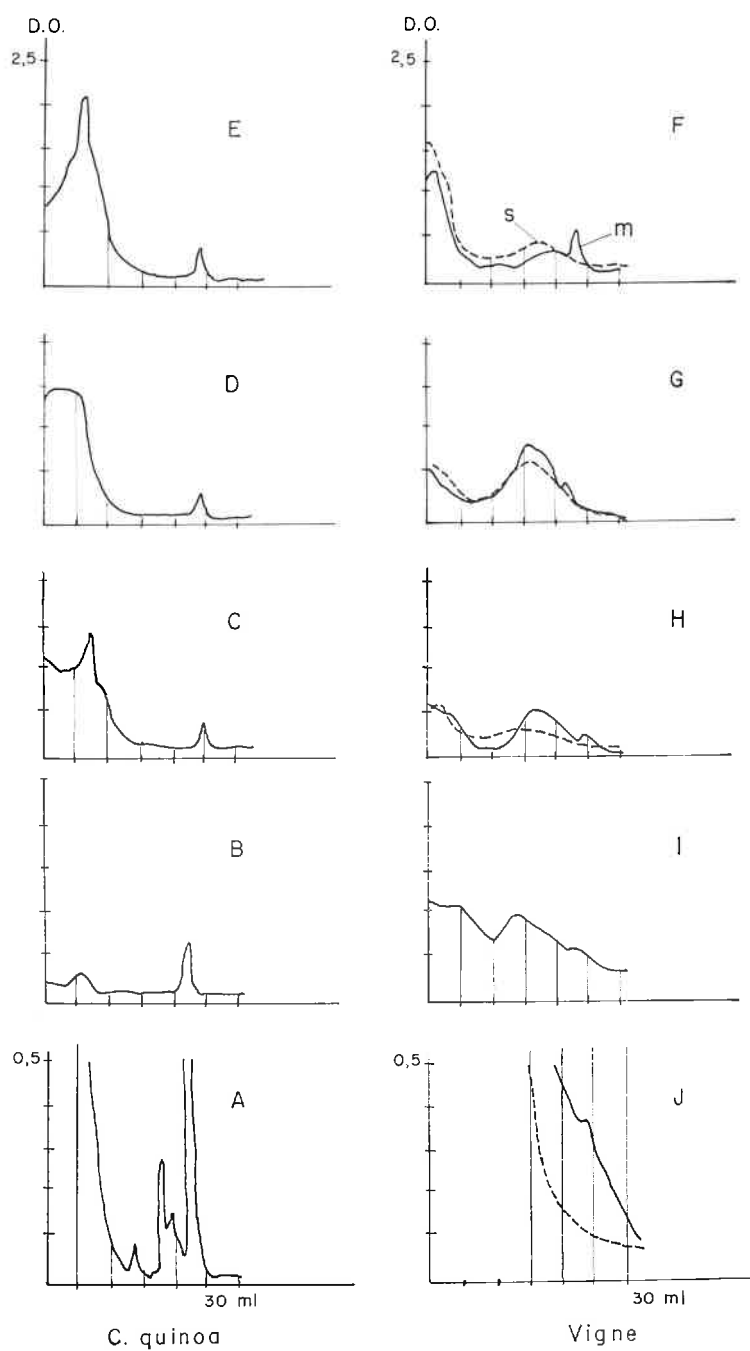


FIG. 3



### GROUPE III

#### Maladies rappelant les viroses.

#### Animaux vecteurs. Observations diverses.

- R. BOVEY. — Présence de la Flavescence dorée en Suisse et relations possibles de cette maladie avec le « Corky-bark. »
- A. CAUDWELL, Catherine KUSZALA, J. LARRUE, J.-C. BACHELIER. — Responsabilité d'un vecteur aérien dans l'épidémiologie du Bois noir de la vigne. Étude de l'existence de ceps sensibles et de ceps tolérants, expliquant la permanence de la maladie sur les mêmes ceps.
- A. CAUDWELL, Catherine KUSZALA, J. LARRUE, J.-C. BACHELIER. — Transmission de la Flavescence dorée de la fève à la fève (*Vicia faba* L.) par des cicadelles des genres *Euscelis* et *Euscelidius*. Intervention possible de ces insectes dans l'épidémiologie du Bois noir en Bourgogne.
- KRNJAIC. — The distribution of *Xiphinema*, *Longidorus*, and *Trichodorus* species in vineyards in Yugoslavia.
- W. GÄRTEL. — Présentation de symptômes de maladies ou d'attaques parasitaires rappelant les viroses chez la Vigne.
-

## PRÉSENCE DE LA FLAVESCENCE DORÉE EN SUISSE ET RELATIONS POSSIBLES DE CETTE MALADIE AVEC LE « CORKY BARK »

R. BOVEY

*Station fédérale de Recherches agronomiques de Lausanne,  
Domaine de Changins, 1260 Nyon (Suisse)*

La flavescence dorée de la vigne a été signalée en France, en Allemagne, en Israël et en Suisse (CAUDWELL, 1957, 1964 ; GÄRTEL, 1965 ; ANONYME, 1969). La maladie du « corky bark » existe en Californie, au Mexique, en Italie, en Yougoslavie en Afrique du Sud (HEWITT, 1954 ; BEUKMAN et GOHEEN, 1965, 1970). Ces deux maladies présentent des analogies qui ont été mises en évidence par GOHEEN (1968) : maturation irrégulière et incomplète des sarments, enroulement des feuilles, coloration rougeâtre du limbe chez les cépages rouges, fissures corticales des sarments. Toutefois, les taches jaunes qui caractérisent la flavescence dorée sur les cépages blancs ne se produisent pas avec le « corky bark ».

CAUDWELL (1968) a transmis la flavescence dorée par des cicadelles à l'hybride interspécifique LN 33 (Couderc 1613  $\times$  Thompson Seedless) utilisé en Californie comme indicateur du « corky bark ». Sur 4 plantes inoculées, 2 ont présenté des symptômes de flavescence dorée. Il s'agissait de la forme épidémique du sud-ouest de la France, transmise par *Scaphoideus littoralis* BALL. (CAUDWELL, comm. pers.). Il semble, d'autre part, que la flavescence dorée (il s'agit également de la forme épidémique) soit assez facilement guérissable par la thérapie (CAUDWELL, 1966) alors que l'élimination du « corky bark » nécessite un traitement prolongé (BEUKMAN et GOHEEN, 1970).

En Suisse, le premier cas de flavescence dorée a été trouvé en 1962 lors d'une visite de MM. CAUDWELL et GÄRTEL au domaine viticole de notre Station à Pully. Une plante de la collection de Chardonnay présentait des symptômes nets qui disparurent par la suite. Depuis lors, nous avons trouvé plusieurs cas typiques de flavescence dorée sur Gamay et Pinot dans le même domaine de Pully, sur Chardonnay à Lavaux et en Valais, et sur deux cépages blancs cultivés localement en Valais, l'Amigne et l'Arvine. Sur les cépages rouges, la maladie était caractérisée par un enroulement et un rougissement intense des feuilles, une maturation irrégulière des sarments, un flétrissement partiel des grappes et un dépérissement pro-

gressif. Les symptômes foliaires étaient nettement différents de ceux que provoque le virus de l'enroulement. Dans ce dernier cas, le limbe se colore progressivement en rouge violacé, mais il reste en général une étroite bande verte le long des nervures primaires et secondaires. Sur les plantes atteintes de flavescence, toute la feuille était rouge, y compris les nervures. Sur le Chardonnay (fig. 1), l'Amigne et l'Arvine, les symptômes étaient tout à fait identiques à ceux qui ont été décrits en France et en Allemagne. Enfin, une anomalie du Chasselas, caractérisée par un mauvais aoûtement d'une partie des sarments et une chlorose des feuilles, mais sans flétrissement des grappes, présentait certaines analogies avec la flavescence dorée.

Seize plantes suspectes ou portant des symptômes nets de flavescence dorée furent marquées en 1967, et un essai de transmission par greffe fut effectué au printemps 1968 à Changins. Chaque source d'infection fut inoculée par écussonnage, selon la méthode de « chip-bud » décrite par HEWITT *et al.* (1962) à 3-6 boutures de LN 33, Chardonnay, Pinot noir (sélection de l'Institut Oberlin de Colmar) et Baco 22 A. Après deux années d'observations, les résultats sont les suivants : sur 37 boutures de LN 33 inoculées, 3 montrent des symptômes de corky bark, dans deux groupes différents. Dans le premier groupe, infecté à partir d'une plante de Chardonnay montrant des symptômes très typiques de flavescence dorée (fig. 1) deux plantes de LN 33 ont des symptômes de « corky bark » (fig. 2), avec rougissement et enroulement des feuilles, fissures de l'écorce, lignification déficiente et nanisme de la plante. La troisième plante de LN 33 de ce groupe est morte. Dans le deuxième groupe, une bouture de LN 33 a montré de faibles symptômes de corky bark et une bouture a dépéri. Dans ces deux groupes, les boutures de Chardonnay et de Baco 22 A sont restées saines, tandis que deux boutures de Pinot montraient un léger rougissement des feuilles et l'une d'elles une maturation inégale des sarments. Aucun symptôme de flavescence dorée ou de « corky bark » n'est apparu sur les 144 boutures des 14 autres groupes. Deux groupes ont présenté des symptômes de panachure et deux autres de l'enroulement, d'ailleurs faible. Tous les témoins non inoculés sont restés sains.

En France, CAUDWELL (1961, 1964) a distingué deux formes de flavescence dorée, la forme épidémique du Sud-Ouest, transmise par *Scaphoideus littoralis* BALL., et la forme endémique ou « Bois noir » en Bourgogne, dans le Jura et dans l'Aube, sans vecteur connu. En Allemagne, la flavescence dorée observée et étudiée par GÄRTEL (1965) s'apparente à la forme endémique de France ; le vecteur est encore inconnu.

En Suisse, la cicadelle *Scaphoideus littoralis* BALL. a été trouvée dans deux foyers au Tessin (BAGGIOLINI *et al.*, 1968), mais jamais en Suisse romande, malgré des piégeages nombreux effectués dans les vignes du Valais (BAGGIOLINI, comm. pers.). Nous avons donc, en Suisse, la situation suivante : au sud des Alpes, le vecteur de la forme épidémique de la flavescence dorée existe, mais il n'y a pas de flavescence, tandis qu'au nord de cette chaîne, nous avons des cas de flavescence sans vecteur connu. Les observations récentes montrent que la flavescence dorée a en Suisse romande les mêmes caractères que les formes endémiques de cette maladie dans l'est de la France et en Allemagne.

Le très faible taux de transmission obtenu dans cet essai n'est guère étonnant ; on ne peut, en effet, utiliser comme source d'infection que le bois aoûté de plantes malades, et non les sarments malades. Le fait que des symptômes typiques de



FIG. 1. — Sarment de Chardonnay avec symptômes typiques de *Flavescence dorée* au Désaley près de Rivaz (Vd). Taches jaunes sur les feuilles, avec enroulement du limbe, et aoûtement irrégulier du sarment.



FIG. 2. — Symptômes de *corky bark* sur LN 33 infecté à partir de la plante de Chardonnay de la figure 1. Noter les fissures de l'écorce et la forte inhibition de croissance. Les feuilles sont peu enroulées, mais rougeâtres.



« corky bark » aient été produits sur LN 33 à partir d'une infection caractéristique de flavescence dorée est intéressant, même si, en raison du petit nombre de plantes infectées, il ne permet pas de tirer des conclusions définitives sur les relations entre la flavescence dorée et le « corky bark ».

A moins d'admettre que les sources d'infection contenaient à la fois les agents de la flavescence dorée et du « corky bark », ce dernier seul étant transmis, on ne peut éviter la conclusion que ces résultats renforcent l'hypothèse d'une identité entre la maladie du « corky bark » et certaines formes de flavescence dorée.

## SUMMARY

### OCCURRENCE OF « FLAVESCENCE DORÉE » IN SWITZERLAND AND POSSIBLE RELATIONSHIPS OF THIS DISEASE TO « CORKY BARK »

Several cases of « Flavescence dorée » were found in vineyards near the Lake Lemman and in Valais (Switzerland) on the white varieties Chardonnay, Amigne and Arvine, and also on the red varieties Gamay and Pinot. In a graft transmission experiment made in 1968 using LN 33, Chardonnay, Pinot noir and Baco 22 A as indicators, clear symptoms appeared only on a few plants of LN 33. They were typical for corky bark.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANONYME, 1969. Vigne, flavescence dorée. Rapp. Activité 1966-1968, Station fédérale de Recherches agronomiques de Lausanne. *Ann. Agric. Suisse*, N. S. **18**, 347.
- BAGGIOLINI M., CANEVASCINI V., CACCIA R., TENCALLA Y., SOBRIO G., 1968. Présence dans le vignoble du Tessin d'une cicadelle néarctique nouvelle pour la Suisse, *Scaphoideus littoralis* BALL. (Hom., Jassidae), vecteur possible de la flavescence dorée. *Bull. Soc. Entomol. Suisse*, **40** (3-4), 270-275.
- BEUKMAN E. F., GOHEEN A. C., 1965. Corky bark, a tumor-inducing virus of grapevines. *Proceedings Internat. Conf. on Virus and Vector on Perennial Hosts*, Davis, Calif., 164-166.
- BEUKMAN E. F., GOHEEN A. C., 1970. Grape corky bark. *Virus Diseases of Small Fruits and Grapevines* (A Handbook) Univ. of Calif. Div. Agr. Sci., Berkeley, Calif., U. S. A., 207-209.
- CAUDWELL A., 1957. Deux années d'études sur la flavescence dorée, nouvelle maladie grave de la vigne. *Ann. Amélior. Plantes*, **12**, 359-393.
- CAUDWELL A., 1961. Étude sur la maladie du bois noir de la vigne : ses rapports avec la flavescence dorée. *Ann. Épiphyties*, **12**, 241-262.
- CAUDWELL A., 1964. Identification d'une nouvelle maladie à virus de la vigne, la flavescence dorée. Étude des phénomènes de localisation des symptômes et de rétablissement. *Ann. Épiphyties*, **15** (N° hors série 1), 1-193.
- CAUDWELL A., 1966. L'inhibition *in vivo* du virus de la flavescence dorée. *Ann. Épiphyties*, **17** (N° hors série), 61-66.
- CAUDWELL A., 1968. Flavescence dorée und corky bark. *Weinb. Keller*, **15**, 509-510.
- GÄRTEL W., 1965. Untersuchungen über das Auftreten und das Verhalten der *Flavescence dorée* in den Weinbaugebieten an Mosel und Rhein. *Weinb. Keller*, **12**, 347-376.
- GOHEEN A. C., 1968. Virustest auf corky bark in den U. S. A. *Weinb. Keller*, **15**, 510-514.
- HEWITT Wm. B., 1954. Some virus and virus-like diseases of grapevines. *Bull. Dept. Agric. California*, **43**, 47-64.
- HEWITT Wm. B., GOHEEN A. C., RASKI D. J., GOODING G. V. Jr., 1962. Studies on virus diseases of the grapevine in California. *Vitis*, **3**, 57-83.

**RESPONSABILITÉ D'UN VECTEUR AÉRIEN  
DANS L'ÉPIDÉMIOLOGIE DU BOIS NOIR DE LA VIGNE  
ÉTUDE DE L'EXISTENCE DE CEPS SENSIBLES  
ET DE CEPS TOLÉRANTS,  
EXPLIQUANT LA PERMANENCE DE LA MALADIE  
SUR LES MÊMES CEPS**

A. CAUDWELL, Catherine KUSZALA, J. LARRUE  
et J.-C. BACHELIER

*Station de Pathologie végétale,  
Centre de Recherches I. N. R. A.,  
68 - Colmar (France)*

---

**RÉSUMÉ**

Des témoignages déjà anciens faisaient état d'une propagation rapide de la maladie du Bois noir de la Vigne en Bourgogne et dans le Jura vers 1946. Actuellement, la permanence de la maladie, toujours sur les mêmes ceps, ne suggère plus du tout une épidémie, et deux hypothèses sont étudiées pour expliquer cet état de chose :

1. — *La maladie serait apportée par les bois à la plantation*

Un vignoble expérimental de 1864 ceps a été établi en partant de bois (boutures ou greffons) de souches malades ou voisines des malades. Sur ce total, un seul cep présente encore des symptômes trois ans après la plantation. Il semble impossible d'apporter le Bois noir par les plants, même en partant du pire matériel.

2. — *La maladie serait amenée et réinoculée régulièrement par un vecteur*

Cette hypothèse a pu être étayée par l'étude d'un jeune vignoble où le Bois noir est actuellement épidémique.

Elle est confirmée par le fait que, dans des plantations clonales, les malades apparaissent en des points très éloignés les uns des autres, et sans rapport avec l'origine des bois.

Dans ces deux cas, l'épidémiologie suggère un vecteur aérien.

3. — Si le Bois noir n'apparaît et ne se maintient que par les réinoculations d'un vecteur aérien, comme c'est le cas pour la Flavescence dorée, il faut obligatoirement supposer qu'en Bourgogne *certaines ceps, régulièrement malades, sont sensibles, tandis que les autres, toujours sains d'aspect, sont tolérants*. Une vérification expérimentale de ce corollaire de l'existence

d'un vecteur est apportée par l'inoculation comparée de boutures sensibles et de boutures supposées tolérantes. Une moindre sensibilité de ces dernières est régulièrement notée.

La nature de cette tolérance est discutée, ainsi que son intérêt dans la défense du vignoble contre le Bois noir et contre la Flavescence dorée.

## INTRODUCTION

Le syndrome de la Flavescence dorée existe dans deux régions françaises, le Sud-Ouest et le Centre-Est. Il a reçu les noms locaux de Flavescence dorée en Gascogne et de Bois noir en Bourgogne. L'épidémiologie de ces deux maladies est très sensiblement différente, au moins en apparence.

Dans le Sud-Ouest, la maladie s'est propagée très rapidement. On a vu souvent le nombre de ceps atteints multiplié par sept dans une parcelle, d'une année à la suivante. L'évolution de la maladie est caractéristique. Inoculés pour la première fois, les ceps présentent une crise avec des symptômes très graves et généralisés. Dans les années ultérieures, ils ne montrent que des symptômes localisés à certains rameaux, ou aucun symptôme, selon qu'ils aient ou qu'ils n'aient pas été réinoculés. L'une ou l'autre de ces deux éventualités apparaît chaque année de façon fortuite (CAUDWELL, 1957, 1964).

Ce schéma rend mal compte de l'épidémiologie de la maladie du Bois noir telle qu'elle se présente actuellement. Des témoignages dignes de foi ont fait état en 1946-47 d'une propagation rapide de la maladie en Bourgogne et dans le Jura, mais actuellement ce sont tous les ans les mêmes ceps qui montrent des symptômes, généralement limités à quelques rameaux groupés. Il y a, sur certains ceps, des interruptions d'une ou plusieurs années, mais la maladie réapparaît ensuite sur les mêmes plantes, et non sur celles qui les entourent, qui restent saines d'année en année (CAUDWELL, 1961). Ce comportement actuel ne suggère plus du tout une épidémie. Trois hypothèses pourraient l'expliquer.

1. La maladie serait apportée par les bois à la plantation, et il n'y aurait pas de vecteur. Dans ce cas, le Bois noir se distinguerait de la Flavescence dorée par le fait qu'il n'y aurait pas de rétablissement.

2. Il y aurait réinoculation régulière des mêmes ceps par un vecteur immobile, ou qui ne serait infectieux qu'à un stade immobile. Cette hypothèse expliquerait mal les interruptions de symptômes pendant plusieurs années, puis le retour de la maladie sur les mêmes ceps. Elle ne peut rendre compte des épidémies de 1946.

3. Enfin, il pourrait exister un vecteur aérien, vraisemblablement une Cicadelle, qui inoculerait au hasard les ceps des vignobles. Dans ces conditions, il faudrait supposer que certaines plantes sont tolérantes (ou résistantes), et les autres sensibles. Cette troisième hypothèse rapprocherait considérablement le cas du Bois noir de celui de la Flavescence dorée.

Nous voudrions apporter des éléments concernant la première et la troisième de ces hypothèses qui sont *a priori* les plus vraisemblables.

I. — ÉTUDE DE L'HYPOTHÈSE  
D'UN APPORT DE LA MALADIE DU BOIS NOIR  
PAR LES PLANTS

Nous disposions en 1964, en Bourgogne et dans le Jura, de notations de vignobles qui avaient été poursuivies tous les ans depuis 1958.

Il était donc possible de sélectionner plusieurs catégories de ceps afin de voir comment se comportaient leurs bois de taille utilisés pour une plantation en bouturage ou en greffage.

En se plaçant dans le cas du viticulteur le plus malchanceux, qui n'aurait prélevé ses greffons que sur des ceps actuellement malades, nous avons réalisé une plantation de 556 boutures appartenant à 71 ceps malades de Bourgogne. Sur ces effectifs, dix-huit boutures sont devenues malades dans l'année de la plantation (1966), et elles sont toutes mortes durant l'hiver suivant. Aucun symptôme n'était plus perceptible sur aucune plante en 1967. Par contre, en 1968, un cep a montré quelques symptômes, qui se sont confirmés en 1969. Il n'est pas possible d'émettre une opinion catégorique sur l'origine de la maladie à partir de cet unique individu. Il reste que la plantation finale ne compte qu'un seul pied atteint du Bois noir (tabl. 1). En admettant qu'il eût été possible, par des soins particuliers, ou en des conditions climatiques spéciales, de maintenir en vie les 18 malades de première année, nous aurions au mieux 18 ceps malades. Encore faudrait-il admettre qu'ils ne se rétablissent pas tôt ou tard, ce qui est contraire à toutes les observations. Au grand maximum, nous aurions donc 18 malades. Or, dans certains vignobles de Bourgogne, il y a eu jusqu'à 90 p. 100 de ceps malades, et aucun viticulteur n'aurait fait un choix de boutures aussi mauvais que celui qui a été retenu dans cette expérience.

TABLEAU I

*Évolution du Bois noir dans une plantation faite avec des boutures de ceps qui étaient malades, au moment du prélèvement des bois*

Effectif total de plantes en 1966	Nombre de pieds malades en 1966	Nombre de pieds malades en 1967	Nombre de pieds malades en 1968	Nombre de pieds malades en 1969
556 boutures provenant de 71 ceps malades de Bourgogne	18 (tous morts dans l'hiver 1966-67)	0	1	1 (pied déjà malade en 1968)

S'il paraît très improbable qu'un vigneron ait prélevé tous ses greffons sur des ceps malades, il serait, par contre, très vraisemblable qu'il les ait taillés sur des vignes sans symptômes et vigoureuses, rétablies de la maladie depuis plusieurs années. Nous avons fait cette expérience en 1967. Les bois ont été pris sur 190 souches

que l'on avait régulièrement notées malades et qui s'étaient rétablies depuis au moins deux ans. Il en a été fait 236 greffes et 668 boutures. Ces dernières ont été placées sous deux climats très différents, d'une part près de Colmar dans la plaine d'Alsace, d'autre part dans les Vosges à 700 m d'altitude. Nous avons pensé que l'ensoleillement automnal de ces montagnes pourrait favoriser les symptômes. Aucune trace de Bois noir n'a été perceptible chez aucun de ces 904 ceps ni en 1967, ni en 1968, ni en 1969.

Dans le même esprit, nous avons planté au printemps 1967 un vignoble établi uniquement avec les bois de ceps « T ». Nous avons appelé « T » les ceps qui restent régulièrement sains d'année en année, tout en étant entourés de pieds malades. Nous avons fait 70 greffes et 163 boutures, celles-ci réparties entre la plaine et la montagne. Ces 233 plantes étaient issues des bois de 42 ceps T de Bourgogne. Aucun symptôme n'a été noté depuis la plantation.

Enfin, pour être complet, nous avons ramassé les bois sur 30 ceps régulièrement sains en Bourgogne, et bien isolés de tous côtés des ceps malades par plusieurs autres ceps sains. Nous avons fait 52 greffes et 119 boutures, celles-ci toujours partagées entre la plaine et l'altitude. Sur le total des 171 plantes ainsi obtenues, aucune n'a montré de symptômes.

La plantation, dans son ensemble, compte 1864 ceps de vignes dont les bois provenaient tous de vignobles malades et pour une grande majorité de ceps malades ou de ceps qui ont été malades dans le passé. Sur ces 1864 pieds, un seul montre actuellement des symptômes.

Il paraît donc impossible d'obtenir un vignoble malade, même en partant du pire matériel végétal. Dans le cas très rare où le plant peut se développer avec des symptômes, il se rétablit. Un apport de la maladie avec les bois paraît donc tout à fait improbable. Cela ne pourrait, en tout état de cause, expliquer le fait que dans les années 1946-1947 certains vignobles de Bourgogne étaient atteints à 90 p. 100. L'hypothèse de la présence d'un vecteur mobile semble donc très vraisemblable, et ceci nous amène à étudier la troisième hypothèse formulée plus haut.

## II. — ÉTUDE DE L'HYPOTHÈSE D'UN APPORT DE LA MALADIE PAR UN VECTEUR

Plusieurs éléments importants peuvent être apportés à l'appui de cette hypothèse. Nous étudierons ici le cas d'un vignoble jeune de Bourgogne où le Bois noir semble actuellement épidémique. Nous verrons ensuite comment la maladie se manifeste dans une plantation établie de façon clonale. Enfin, nous rendrons compte de la vérification expérimentale d'un corollaire de cette hypothèse, l'existence de ceps sensibles et de ceps tolérants.

### I. — Une épidémie dans un vignoble jeune de Bourgogne

Nous avons eu l'occasion de montrer (CAUDWELL, 1961) les différences existant entre les vignobles du Sud-Ouest où la maladie est épidémique et ceux de Bourgogne où elle semble ne plus l'être. Chez les premiers, la Flavescence dorée apparais-

sait en taches, et le nombre de ceps concernés augmentait d'année en année. Ce n'était pas le cas des quatre vignobles étudiés, atteints du Bois noir, qui représentaient bien la moyenne de ce que l'on observait dans le Centre-Est de la France.

Le hasard a voulu que nous trouvions en 1966 un vignoble où le Bois noir semblait actuellement épidémique comme en Gascogne. Il avait été planté en 1962 sur une terre laissée vierge pendant au moins quinze ans. Sur 504 ceps au total, ce vignoble comptait, en 1966, 109 pieds malades, souvent gravement atteints à l'image des crises de Flavescence dorée dans le Sud-Ouest. Comme dans cette région, les malades étaient groupés en foyers peu denses, suggérant une transmission aérienne.

Ces caractères typiques des épidémies de Flavescence dorée nous ont incité à poursuivre les notations. En 1967, nous avons noté 58 nouveaux malades. Beaucoup d'entre eux montraient des symptômes graves et généralisés rappelant les crises de la Flavescence dorée. Nous avons encore relevé 40 nouveaux malades en 1968 et 12 en 1969. Il y a donc progression régulière du nombre de malades, bien que les plus atteints soient annuellement arrachés dans ce vignoble.

Il semble à peu près certain que nous ayons affaire, dans ce cas particulier au moins, à une épidémie de Bois noir. L'image des foyers suggère fortement un vecteur aérien.

Nous avons vu que le Bois noir était considéré en Bourgogne comme une maladie à « extension rapide » dans les années 1946-1947, selon les termes de M. IRMANN, ingénieur des Services agricoles en Saône-et-Loire. Certaines vignes ont été atteintes à 90 p. 100. Plus tard la maladie s'est stabilisée et a présenté l'aspect endémique que nous lui reconnaissons. Une évolution semblable a été reconnue dans le Jura

AUDWELL, 1961). Dans tous les cas, il y a eu progression du nombre de malades, une fois les plantations établies. Toutes les vignes de Chardonnay de Bourgogne et du Jura ont donc probablement subi, vers 1946, des épidémies de Bois noir semblables à celles que nous venons de décrire pour cette jeune plantation de 1962.

## 2. — Apparition du Bois noir dans une plantation clonée

Le cas du jeune vignoble que nous venons d'étudier laisse planer un doute, car l'origine des bois nous était inconnue. Il n'en est pas de même dans une plantation clonale. Nous avons suivi l'apparition de quelques cas de Bois noir dans une telle plantation de Chardonnay établie en Bourgogne. Chacun des clones est représenté par une dizaine de ceps au moins, tous greffés sur les bois d'un même cep porte-greffe. Tous les pieds de vigne d'un même clone étaient donc à l'origine identiques du point de vue génétique et sanitaire.

En 1966, trois ceps isolés (*a*, *b*, *c*), appartenant à trois clones différents, ont montré des symptômes nets de Bois noir (tabl. 2). Deux d'entre eux (*a* et *b*) se sont rétablis dès l'année suivante et n'ont plus été malades depuis. Le troisième (*c*) a encore montré des symptômes faibles en 1967, puis il s'est rétabli à son tour.

En 1967, aucun nouveau cep n'a montré de symptôme. Par contre, un pied isolé d'un quatrième clone (*d*) est devenu malade en 1968, et un autre (*e*) d'un cinquième clone l'a suivi en 1969.

Une jeune plantation de 1 300 souches, faite à partir des mêmes clones et établie à Colmar en 1967, n'a montré aucun symptôme en trois ans.

Ces observations confirment que la maladie du Bois noir n'est pas apportée avec

les bois. Chacun des cinq ceps malades, apparus en Bourgogne, appartient à un clone différent, et il n'y a donc aucune liaison entre l'apparition des symptômes et l'origine des plants. En second lieu, les ceps malades se rétablissent assez vite. La persistance de la maladie dans les vignobles atteints de Bois noir ne se conçoit donc que par le jeu de réinoculations comme c'était le cas pour la Flavescence dorée en Armagnac. L'apparition de symptômes sur des ceps isolés, éloignés les uns des autres, implique un vecteur aérien.

### 3. — *Essai de vérification expérimentale de l'existence de ceps sensibles et de ceps tolérants*

S'il existe un vecteur aérien comment expliquer que la maladie reste actuellement localisée dans les vignobles tous les ans sur les mêmes ceps ? Le rétablissement, nous l'avons vu, intervient toujours en quelques années, et l'on ne peut pas invoquer une permanence de la maladie sur les ceps inoculés. Comme nous l'avons dit au départ, l'hypothèse d'un vecteur mobile implique obligatoirement que certains ceps soient sensibles (S), et les autres tolérants (T). Les uns et les autres seraient réinoculés régulièrement, mais les premiers seuls seraient capables de montrer des symptômes. Ce corollaire de l'existence d'un vecteur peut être vérifié de deux façons différentes.

En premier lieu, nous avons planté dans les vignobles malades des pieds S et des pieds T en comparaison. De tels essais ont été réalisés à partir de 1967, mais ils n'ont pas encore livré de résultats. La méthode est longue, mais elle a l'avantage de nous placer dans des conditions absolument naturelles. Elle utilise, en effet, le vecteur de la maladie du Bois noir de Bourgogne, qui n'est pas encore connu, et qui n'est donc pas encore utilisable expérimentalement.

En second lieu, nous avons envisagé d'inoculer la maladie du Bois noir à des vignes S et T comparables, à l'aide de la Cicadelle vectrice de la Flavescence dorée, *Scaphoideus littoralis* (BALL). Cette méthode n'est pas applicable, car nous n'avons pu transmettre la maladie du Bois noir avec cet insecte, même en nous plaçant dans les meilleures conditions.

Nous avons donc tenté d'inoculer non le Bois noir, mais la Flavescence dorée à des vignes S et à des vignes T, à l'aide de *Scaphoideus littoralis*. L'expérience ainsi conduite n'est pas parfaite, mais il est vraisemblable qu'elle constitue une épreuve valable et simple de la tolérance des vignes T.

Les vignes S ont été choisies parmi les clones de Chardonnay sélectionnés, reconnus préalablement comme sensibles. Les vignes T sont représentées par les bois de ceps régulièrement sains et entourés de part et d'autre de pieds malades. Certains clones T apparemment virosés (court-noué, enroulement) ont été éliminés et ne rentrent pas dans l'expérience.

L'inoculation des couples S et T a été réalisée dans des conditions rigoureusement identiques. Les Cicadelles de même stade, infectées sur la même plante malade, sont utilisées en nombre égal (10) pendant le même temps (7 jours).

Les résultats sont présentés dans le tableau 3.

Les vignes tolérantes (T) ont montré très régulièrement des symptômes plus tard et plus faiblement que les vignes sensibles. Dans certains cas, elles n'ont jamais montré de symptômes nets. Parfois, elles se rétablissent au bout de quelques jours.

TABLEAU 2

*Évolution de la maladie du Bois noir  
sur les cinq cepes malades de la plantation clonale de Chardonnay*

	1966	1967	1968	1969
Cep <i>a</i> (clone I) . . . .	BN	rétabli	rétabli	rétabli
Cep <i>b</i> (clone II) . . . .	BN	—	—	—
Cep <i>c</i> (clone III) . . .	BN	BN	—	—
Cep <i>d</i> (clone IV) . . . .			BN	BN
Cep <i>e</i> (clone V) . . . .				BN

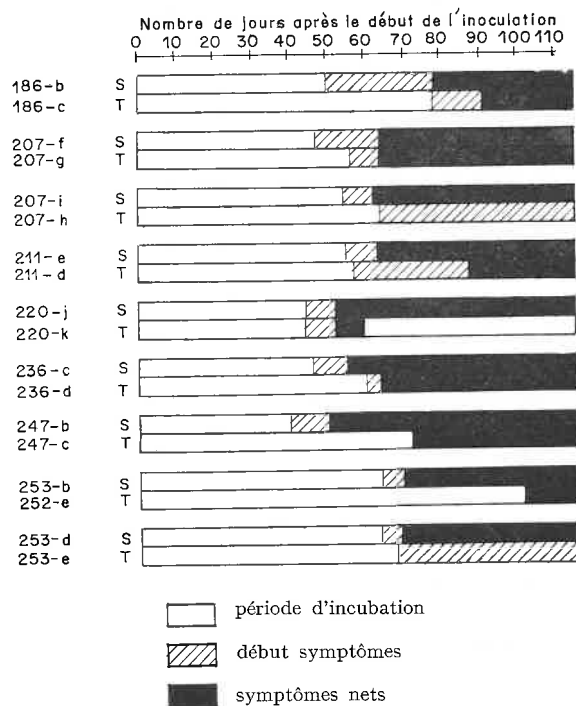
BN = Cep atteint du Bois noir.

TABLEAU 3

*Résultats de l'inoculation comparée de vignes sensibles (S) et tolérantes (T)*

Les 9 couples présentés ici sont la totalité des essais réalisés fin 1969.

Très régulièrement les vignes tolérantes montrent les symptômes plus tard et plus faiblement que les sensibles. Dans certains cas, elles ne montrent jamais de symptômes nets, ou elles se rétablissent au bout de quelques jours.





Nous attirons l'attention sur le fait que ces vignes sont tenues en serre, où les temps d'incubation sont très nettement plus courts qu'en plein champ. Il est donc probable que ces expériences représentent réellement la différence entre les vignes sensibles et tolérantes au Bois noir. En plein champ, ces dernières n'auraient pas le temps de présenter les symptômes, et garderaient, même inoculées, une apparence saine d'année en année. Ceci justifie la dénomination tolérante et non résistante, car la faible sensibilité de ces vignes en serre montre que l'agent infectieux est bien présent dans la plante.

### III. — DISCUSSION

Nous avons vu qu'il est impossible d'apporter la maladie du Bois noir avec les bois, greffons ou boutures. Ceci nous est montré par la plantation expérimentale de 1864 ceps, dont les bois provenaient de vignobles malades. Nous avons pu le confirmer en montrant que, dans une plantation clonale, les symptômes du Bois noir apparaissent ici et là, sans qu'il y ait aucun rapport avec les clones de départ, que l'on considère le greffon ou le porte-greffe.

L'hypothèse inverse, à savoir la responsabilité d'un vecteur dans l'arrivée du Bois noir dans les vignobles, semble au contraire bien confirmée. En effet, nous savions déjà (CAUDWELL, 1961), selon certains témoignages, que le Bois noir avait un peu partout, en Bourgogne et dans le Jura, un caractère épidémique dans les années 1946-47. Certains vignobles ont eu progressivement jusqu'à 90 p. 100 leurs souches malades. Le stade où l'épidémie est visible peut encore être observé dans certains cas, tel celui du vignoble planté en 1962, que nous avons décrit, et celui de la plantation clonale, que nous venons d'étudier.

L'intervention d'un vecteur aérien, inoculant les ceps selon les hasards de ses déplacements explique mal, nous l'avons souligné au départ, que dans les vignobles de Bourgogne et du Jura la maladie du Bois noir apparaît toujours sur les mêmes ceps, les autres restant sains d'année en année. L'existence du vecteur implique donc obligatoirement comme corollaire que certains ceps soient sensibles et les autres tolérants. En inoculant comparativement, non le Bois noir, mais la Flavescence dorée à des plantes supposées sensibles, et à d'autres supposées tolérantes, nous avons montré qu'il existait bien, en fait, une différence de sensibilité entre les unes et les autres.

Tous les caractères de l'épidémiologie du Bois noir trouvent ainsi leur explication. On conçoit bien, en effet, que certains ceps montrent des symptômes tous les ans, d'autres avec des interruptions d'une ou plusieurs années.

Il est important maintenant de rechercher le vecteur du Bois noir. Nous apporterons des éléments à ce travail dans notre seconde communication.

Il est nécessaire aussi de connaître la nature de la tolérance des vignes T. Nous pouvons, à ce propos, évoquer une certaine tolérance qui a été mise en évidence chez les vignes atteintes de Flavescence dorée. Les symptômes graves et généralisés de cette maladie n'apparaissent que si le cep n'est pas atteint de la virose du Court-Noué (CAUDWELL, 1960 et 1964) et s'il n'a pas subi récemment une autre attaque de Flavescence dorée (CAUDWELL, 1964). L'interaction du

Court-Noué ou d'une attaque antérieure de Flavescence dorée provoque donc une certaine tolérance. Un mécanisme de ce genre pourrait très bien expliquer la tolérance totale des ceps T au Bois noir en Bourgogne. On peut imaginer aussi que les ceps T, se distinguant des S pour une raison quelconque, génétique ou pathologique, ne présentent qu'un rétablissement incomplet qui les protège contre les réinoculations, selon le modèle du Ringspot du Tabac (PRICE, 1932), ou du Curly Top de la betterave sur le tabac (WALLACE, 1939). Les ceps sensibles (S) auraient, au contraire, un rétablissement complet, comme celui de la Flavescence dorée, avec disparition de l'agent infectieux, ce qui amènerait leur sensibilité continue aux réinoculations. Cette hypothèse rendrait bien compte du fait que dans certains vignobles 90 p. 100 des ceps étaient malades en 1946. Les uns seraient ensuite devenus T, les autres S.

La responsabilité d'un vecteur dans l'apparition des symptômes du Bois noir dans les vignobles, et l'existence de différence de sensibilité entre les ceps, rapproche considérablement le cas du Bois noir de tout ce que nous connaissons de la Flavescence dorée du sud-ouest de la France. L'existence de ceps tolérants pourrait apporter l'espoir de l'utilisation possible de ce caractère dans la lutte contre le Bois noir et contre la Flavescence dorée. En effet, si l'existence de cette tolérance nous a été suggérée par l'épidémiologie du Bois noir, sa réalité a été montrée expérimentalement par l'inoculation de la Flavescence dorée. Elle concerne donc également ces deux maladies.

#### SUMMARY

##### RESPONSIBILITY OF AN AERIAL VECTOR IN THE EPIDEMIOLOGY OF BLACK WOOD OF THE VINE.

##### STUDY OF THE EXISTENCE OF SENSITIVE AND TOLERANT PLANTS EXPLAINING THE PERMANENCE OF THE DISEASE ON THE SAME PLANTS

From early evidence, a rapid propagation of the Black Wood disease in the vine was noted in the Burgundy and Jura regions around 1946. At the present time the permanence of the disease, always on the same plants, no longer suggests an epidemic; two hypotheses are to explain these circumstances studied:

1. *The disease is brought into the plantation by the wood.*

An experimental vineyard of 1864 plants was established from the wood (cuttings or grafts) of diseased stock and stock closely related to the diseased stock. Out of the total, one plant only continued to show symptoms three years after plantation. It seems impossible to bring in Black Wood by the plants, even from the worst material.

2. *The disease is brought and reinoculated regularly by a vector.*

This hypothesis was supported by the study of a young vineyard where Black Wood is at the present time epidemical.

It is born out by the fact that, in clonal plantations, the diseased plants appear far away from each other, and with no relation to the origin of the wood.

In both cases, epidemiology suggests an aerial vector.

3. *If Black Wood appears and remains due only to the reinoculations of an aerial vector, as it is the case for Golden Flavescence, it must necessarily be supposed that in Burgundy*

some plants, regularly diseased, are sensitive whereas the others, always healthy-looking, are tolerant. Experimental proof of this corollary of the existence of a vector is given by compared inoculation of sensitive and cuttings supposed tolerant cuttings. A lesser sensitivity of the latter was regularly noted.

The nature of this tolerance is discussed and its advantage in the defense of the vineyard against Black Wood and Golden Flavescence as well.

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CAUDWELL A., 1957. Deux années d'études sur la Flavescence dorée, nouvelle maladie grave de la Vigne. *Ann. Amélior. Plantes*, **4**, 359-393.
- CAUDWELL A., POITOU N., 1960. Interaction entre Court-Noué et Flavescence dorée. *C. R. Acad. Agric. Fr.*, **46**, 958-963.
- CAUDWELL A., 1961. Étude sur la maladie du bois noir de la Vigne : ses rapports avec la Flavescence dorée. *Ann. Épiphyties*, **12**, 241-262.
- CAUDWELL A., 1964. Identification d'une nouvelle maladie à virus de la Vigne, la « Flavescence dorée ». Étude des phénomènes de localisation des symptômes et de rétablissement. *Ann. Épiphyties*, **15**, n° hors série.
- PRICE W. C., 1932. Acquired immunity to Ringspot in *Nicotiana*. *Contrib. Boyce Thompson Inst. Plant Res.*, **4**, 359-403.
- WALLACE J. M., 1939. Recovery from an acquired tolerance of curly top in *Nicotiana tabacum*. *Phytopathology* **29**, 743-749.

**TRANSMISSION DE LA FLAVESCENCE DORÉE  
DE LA FÈVE A LA FÈVE PAR DES CICADELLES  
DES GENRES *EUSCELIS* ET *EUSCELIDIUS*.  
INTERVENTION POSSIBLE DE CES INSECTES  
DANS L'ÉPIDÉMIOLOGIE DU BOIS NOIR EN BOURGOGNE**

A. CAUDWELL, Catherine KUSZALA, J. LARRUE  
et J.-C. BACHELIER

*Station de Pathologie végétale,  
Centre de Recherches I. N. R. A.,  
68 - Colmar (France)*

---

**RÉSUMÉ**

La transmission de la Flavescence dorée à la Fève, obtenue récemment, peut apporter un moyen d'avancer la recherche du vecteur du Bois noir. En l'absence d'un insecte intimement lié à la Vigne, on peut en effet soupçonner un vecteur qui passerait de la Vigne à des plantes herbacées et réciproquement. Il était donc important d'éprouver, dans un premier temps, la capacité vectrice des insectes de Bourgogne pour la Flavescence dorée, indépendamment de la plante hôte. La Fève, qui convient à de nombreuses espèces de Cicadelles, pouvait jouer ce rôle d'hôte « quelconque ». Il s'agissait donc de tenter des transmissions de fèves à fèves, puis d'étudier si, occasionnellement, les insectes pouvaient infecter la Vigne.

Des prospections nombreuses ont permis de remarquer des Cicadelles des genres *Euscelis* et *Euscelidius* dans les vignes de Bourgogne et autour d'elles. Ces espèces ont été mises en élevage en « mélange », puis séparées selon les larves.

Le « mélange » a transmis la Flavescence dorée de Fève à Fève dans 90 p. 100 des cas, tandis qu'avec les *Euscelidius* qui en provenaient, nous n'avons atteint que 68 p. 100. Cela semble impliquer que les *Euscelidius* ne sont pas les plus actifs du mélange. Des *Euscelidius variegatus* et des *Euscelis plebejus* d'élevage éprouvés en comparaison n'ont transmis la maladie que dans 28 et 16 p. 100 des cas respectivement. Les Cicadelles de Bourgogne constituent donc au moins des biotypes différents, et il est intéressant de noter que les biotypes à forte capacité vectrice ont été justement trouvés là où ils étaient cherchés comme tels.

Le retour de l'agent infectieux des fèves inoculées par ces espèces à la Vigne est aisé en utilisant le *Scaphoideus*. Les vignes montrent à leur tour les symptômes typiques de la Flavescence dorée. Il n'y a donc pas de doute quant à la nature de symptômes obtenus.

La possibilité d'intervention de ces Cicadelles dans l'épidémiologie du Bois noir est discutée, ainsi que leur intérêt dans l'étude des relations vecteurs-agent infectieux chez la Flavescence dorée. La longévité, la polyphagie et la très grande capacité vectrice des biotypes ramenés de Bourgogne en font des auxiliaires précieux pour les études sur la Flavescence dorée.

## I. — INTRODUCTION

Dans une communication récente (CAUDWELL *et al.*, 1970) nous avons fait état de la transmission de la Flavescence dorée à la Fève (*Vicia faba*), et au Chrysanthème (*Chrysanthemum carinatum*). La première de ces espèces est particulièrement intéressante parce qu'elle peut être facilement obtenue par semis, elle pousse rapidement, et les symptômes peuvent s'y développer en moins d'un mois. En outre, la Fève s'est révélée une bonne source de l'agent infectieux de la Flavescence dorée. Les Cicadelles *Scaphoideus littoralis* (BALL) placées sur des fèves malades s'y infectent plus rapidement que sur la Vigne et en plus grande proportion. La transmission de la Flavescence dorée à la Fève permet d'envisager de nouvelles voies de recherches. Ainsi, l'étiologie de la maladie peut être éclairée par ce moyen. Nous savons que des organismes ressemblant à des Mycoplasmes ont été découverts chez les vignes malades et non chez les témoins sains (GIANOTTI *et al.*, 1969). Nous étudions, en collaboration avec la station de Cytopathologie de Saint-Christol-les-Alès la présence de ces agents dans les fèves inoculées ou non. Les résultats de ces recherches feront l'objet d'une publication ultérieure.

Nous voudrions montrer ici que l'obtention de la Flavescence dorée sur la Fève peut permettre d'étudier les rapports des différentes formes de cette maladie avec les insectes vecteurs, et d'avancer les recherches sur sa propagation en Bourgogne et dans le Jura.

Jusqu'à ce jour, la Cicadelle *Scaphoideus littoralis* (BALL) était le seul vecteur connu (SCHVESTER *et al.*, 1961). Son rôle semble être, pour le moment, limité au sud-ouest de la France. Malgré tous nos efforts, nous n'avons pu transmettre expérimentalement le Bois noir, forme bourguignonne de la maladie avec cette Cicadelle (CAUDWELL, *et coll.*, non publié). Celle-ci n'existe d'ailleurs ni en Bourgogne, ni dans le Jura. Or, nous avons vu dans notre première communication de ce congrès que le Bois noir est certainement, comme la Flavescence dorée, transmis par un insecte aérien. La question des vecteurs pour les diverses formes locales de cette maladie n'est donc pas encore résolue dans son ensemble.

Le *Scaphoideus littoralis* effectue la totalité de son cycle sur la Vigne. Il ne semble pas exister en Bourgogne et dans le Jura d'espèces liées aussi intimement à la plante. Mais on peut concevoir que des Cicadelles puissent être vectrices en ayant une bonne survie sur la Vigne, mais sans que cette plante soit un hôte exclusif. Cette survie leur permettrait d'y acquérir l'agent infectieux et de le réinoculer. A la limite, une espèce qui survivrait peu de jours sur la Vigne pourrait être également vectrice. Elle demeurerait normalement sur un autre végétal, porteur ou non de l'agent infectieux, et inoculerait la Vigne de façon accidentelle. Un tel comportement serait suggéré par l'apparition de ceps malades très éloignés les uns des autres et ne faisant pas foyer dans la plantation clonale de Bourgogne que nous avons décrite dans la première communication de ce congrès. Notons que cette figure de l'épidémie n'est pas la seule observable. Il existe aussi des foyers dans d'autres vignobles.

Il résulte de ces remarques qu'au lieu de chercher, comme cela a été fait en Gascogne, les Cicadelles qui ne vivent que sur la Vigne, ou y effectuent la totalité

de leur cycle, il serait possible de faire la démarche inverse. Nous pouvons étudier, dans un premier temps, s'il y a compatibilité entre l'insecte et l'agent infectieux, c'est-à-dire, si le premier peut assurer la transmission du second, indépendamment de l'hôte végétal qui peut être quelconque. Cette méthode est prudente, car elle peut permettre de découvrir des vecteurs qui ne viendraient sur la Vigne qu'occasionnellement.

C'est dans cette optique que l'obtention de la Flavescence dorée sur la Fève peut aider à découvrir d'éventuels vecteurs. Cette espèce végétale est, en effet, un hôte possible pour de nombreuses Cicadelles, et peut jouer le rôle d'hôte « quelconque » qui vient d'être évoqué. Nous nous proposons, dans cette communication, de faire le point sur cette voie de recherche.

## II. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le souci de découvrir le vecteur du Bois noir nous a amené à nous intéresser particulièrement aux espèces que l'on trouve dans les Vignes de Bourgogne et du Jura infestées du Bois noir, au voisinage de ces vignes, dans les interlignes et sur les bordures. Des prospections nombreuses en 1968 et 1969 ont permis de remarquer entre autres des Cicadelles des genres *Euscelis* et *Euscelidius*. Les espèces de ces genres se ressemblant beaucoup, nous les appellerons provisoirement *Euscelis* sp. et *Euscelidius* sp. Les résultats des essais de transmission justifieront, nous allons voir, cette réserve.

Nous avons vérifié que ces insectes vivaient bien sur la Fève, et il était aisé de tenter avec eux, dans un premier temps, la transmission de la Flavescence dorée des fèves malades aux fèves saines. La nature des symptômes obtenus chez ces dernières peut être vérifiée par des essais de retour de ces fèves inoculées à la Vigne, en utilisant le *Scaphoideus littoralis* (BALL). La réussite de ces premières opérations conduira par la suite à rechercher les modalités expérimentales de la transmission de la maladie à la Vigne par ces Cicadelles de Bourgogne — modalités qui pourraient être l'image de la contamination naturelle dans cette région.

Les Cicadelles utilisées sont essentiellement ces insectes *Euscelis* sp. et *Euscelidius* sp. ramenés de Bourgogne et du Jura. Leur élevage a d'abord été fait en mélange avant que l'on ne s'aperçoive qu'il existait deux formes de larves aisément séparables. A partir de ce moment, des élevages distincts ont été entrepris. L'hiver a retardé considérablement le départ de la colonie d'*Euscelis* sp., du fait de la diapause des imagos. Nous ne pourrions donc rendre compte ici que des essais de transmission réalisés en 1969 avec le « mélange » (*Euscelis* + *Euscelidius*), et depuis avec les *Euscelidius* sp. qui en proviennent.

Nous avons pu disposer de quelques *Euscelis plebejus* FALL. et *Euscelidius variegatus* KBM, originaires de la région de Montpellier. Le petit nombre d'insectes reçus vivants et les problèmes de diapause chez *Euscelis* ont retardé, ici aussi, l'utilisation de ces nouveaux élevages. Ce n'est que tout récemment qu'ils ont atteint un niveau de population utilisable. Nous ne pourrions donc faire état que de quelques essais récents.

Tous ces insectes sont élevés en cages sur des graminées, issues de semis,

destinées à recevoir les pontes, et sur des fèves qui sont changées toutes les semaines. Les cages sont installées en pièce d'élevage à une température qui varie de 20 à 28°C, et sous un éclairage artificiel de 16 heures par jour.

Les essais de transmission n'utilisent que les mâles triés à la loupe après anesthésie au gaz carbonique. Ceci permet d'éviter la naissance de larves sur les plantes inoculées et la contamination accidentelle des témoins. Les espèces de Cicadelles utilisées vivant bien sur la Fève, nous les mettons à s'infecter durant deux semaines sur les fèves malades. Nous comptons sept jours supplémentaires pour l'achèvement de l'incubation de l'agent infectieux dans l'insecte. Ces trois semaines passées, les plantes sont inoculées avec une moyenne de 10 Cicadelles pendant une semaine.

### III. — RÉSULTATS

Nous présenterons d'abord les essais de transmission de Fève à Fève réalisés en infectant des Cicadelles (*Euscelis* sp. et *Euscelidius* sp.) sur des fèves atteintes de la Flavescence dorée.

Ces essais seront suivis de la vérification de la nature des symptômes obtenus sur les fèves inoculées. Nous le ferons en effectuant le retour à la Vigne à l'aide du *Scaphoideus littoralis*.

#### I. — Les essais de transmission de Fève malade à Fève saine réalisés avec les espèces *Euscelis* sp. et *Euscelidius* sp.

Quatre élevages d'insectes ont pu être utilisés pour les transmissions de fève à fèves. Les essais les plus nombreux ont été réalisés avec le mélange (*Euscelis* sp. et *Euscelidius* sp.) originaire de Bourgogne et du Jura (tabl. 1). Quelques essais ont pu être faits par la suite avec les *Euscelidius* sp. de même origine (tabl. 2), et enfin, tout récemment avec les *Euscelidius variegatus* de Montpellier (tabl. 3) et les *Euscelis plebejus* d'Alès (tabl. 4).

TABLÉAU I

Transmissions de fèves malades à fèves saines effectuées avec le mélange (*Euscelis* sp. + *Euscelidius* sp.) originaire de Bourgogne

En première colonne, le numéro de l'essai.

En seconde colonne, le nombre de fèves inoculées dans chaque essai.

En troisième colonne, le nombre de fèves inoculées, qui ont réagi en montrant les symptômes de la Flavescence dorée (FD).

	Fèves inoculées	Fèves FD
Essai 1 .....	6	5
Essai 2 .....	9	8
Essai 3 .....	6	6
Essai 4 .....	8	8
Essai 5 .....	2	1
Total .....	31	28

TABLEAU 2

*Transmissions de fèves malades à fèves saines effectuées avec Euscelidius sp. originaire de Bourgogne*

En première colonne, le numéro de l'essai.

En seconde colonne, le nombre de fèves inoculées dans chaque essai.

En troisième colonne, le nombre de fèves inoculées, qui ont réagi en montrant les symptômes de la Flavescence dorée (FD).

	Fèves inoculées	Fèves FD
Essai 6 .....	7	6
Essai 7 .....	6	3
Essai 8 .....	6	4
Total .....	19	13

TABLEAU 3

*Transmissions de fèves malades à fèves saines effectuées avec Euscelidius variegatus (Élevage de F. LECLANT, I. N. R. A., Montpellier)*

En première colonne, le numéro de l'essai.

En seconde colonne, le nombre de fèves inoculées dans chaque essai.

En troisième colonne, le nombre de fèves inoculées, qui ont réagi en montrant les symptômes de la Flavescence dorée (FD).

	Fèves inoculées	Fèves FD
Essai 9 .....	6	3
Essai 10 .....	14	2
Essai 11 .....	5	2
Total .....	25	7

TABLEAU 4

*Transmissions de fèves malades à fèves saines effectuées avec Euscelis plebejus (Élevage de J. GIANNOTTI, I. N. R. A., Alès)*

En première colonne, le numéro de l'essai.

En seconde colonne, le nombre de fèves inoculées dans dans chaque essai.

En troisième colonne, le nombre de fèves inoculées, qui ont réagi en montrant les symptômes de la Flavescence dorée (FD).

	Fèves inoculées	Fèves FD
Essai 12 .....	7	1
Essai 13 .....	6	0
Essai 14 .....	12	3
Total .....	25	4



La comparaison des tableaux 1, 2, 3 et 4 montre immédiatement que le « mélange » de Bourgogne a donné les meilleurs résultats (tabl. 1). Sur 31 fèves inoculées au total, 28 ont réagi. Le pourcentage de transmissions est ainsi de 90 p. 100, c'est-à-dire supérieur à tout ce que nous avons pu observer jusqu'à ce jour, même dans les essais de retour de la Fève à la Vigne effectués avec le *Scaphoideus littoralis* (CAUDWELL *et al.*, 1970).

Les *Euscelidius* sp. de Bourgogne issues de ce « mélange » ont donné 68 p. 100 de transmissions (tabl. 2). Si la différence par rapport au mélange se confirme, cela laisserait supposer que *Euscelis* sp., l'autre élément du mélange, serait meilleur vecteur qu'*Euscelidius* sp. Il n'est guère probable, en effet, qu'un troisième composant ait pu participer en masse aux essais 1 à 5 (tabl. 1) et échapper à notre attention. Pour l'instant, les résultats des essais réalisés avec *Euscelis* sp. de Bourgogne ne sont pas encore disponibles et ne permettent pas de trancher.

*Euscelidius variegatus* (origine Montpellier) n'apparaît pas comme un bon vecteur. Selon le tableau 3, nous n'avons obtenu avec elle que  $7/25 = 28$  p. 100 de transmission. Il en est de même pour *Euscelis plebejus* (origine Alès) qui n'a donné que 16 p. 100 de transmission (tabl. 4). Il semble donc exister une différence entre ces Cicadelles et celles que nous avons appelées *Euscelidius* sp. et *Euscelis* sp., originaires de Bourgogne (68 p. 100 et 90 p. 100 de transmission). Ces différences ne paraissent pas fortuites, car elles ne sont pas dues à un essai particulier, mais elles se retrouvent régulièrement d'un essai à l'autre dans les tableaux 2 et 3 et dans les tableaux 1 et 4. Elles peuvent être dues au fait qu'il s'agit d'espèces différentes, ce qui justifierait notre dénomination *sp.* pour les insectes originaires de Bourgogne. Il peut aussi s'agir, plus probablement, de biotypes distincts, et il est intéressant de noter que les plus efficaces comme vecteurs ont été justement trouvés à proximité des vignes où ils étaient recherchés comme tels. Ceci constituerait un argument en faveur de l'intervention de ces Cicadelles de Bourgogne et du Jura dans l'épidémiologie du Bois noir.

Dans tous ces essais, des fèves témoins ont été prévues. Elles ont reçu des Cicadelles des mêmes élevages en même nombre que les fèves inoculées. En aucun cas ces témoins n'ont présenté les symptômes de la Flavescence dorée.

Par contre, les symptômes obtenus sur les fèves inoculées sont absolument identiques à ceux que nous avons décrits dans les essais de passage de la Flavescence dorée de la Vigne à la Fève par le *Scaphoideus littoralis* (CAUDWELL *et al.*, 1970).

## 2. — Les essais de retour des Fèves inoculées par *Euscelis* et *Euscelidius* à la Vigne avec *Scaphoideus littoralis*

Afin d'établir de façon définitive que les symptômes obtenus sur les fèves inoculées par les *Euscelis* sp. et *Euscelidius* sp. de Bourgogne sont bien ceux de la Flavescence dorée, il fallait tenter le retour de la maladie à la Vigne. Le plus simple était d'effectuer ce retour à l'aide de la Cicadelle *Scaphoideus littoralis* qui vit bien sur la Fève et sur la Vigne.

Les résultats de ces essais sont présentés dans le tableau 5. Le retour à la Vigne se fait parfaitement à partir des fèves inoculées par les *Euscelis* et *Euscelidius* de Bourgogne. Nous avons obtenu 27 vignes malades sur 36, ce qui fait 75 p. 100 de transmissions (tabl. 5).

Les symptômes de Flavescence dorée obtenus sur les vignes sont tout à fait typiques. C'est donc bien cette maladie qui a été transmise précédemment de Fève à Fève par les *Euscelis* et *Euscelidius* de Bourgogne et du Jura.

TABLEAU 5

*Essai de retour des Fèves inoculées par Euscelis  
et Euscelis de Bourgogne à la Vigne, avec Scaphoideus littoralis*

En première colonne, le numéro de l'essai.

En seconde colonne, le nombre de fèves inoculées dans chaque essai.

En troisième colonne, le nombre de fèves inoculées, qui ont réagi en montrant les symptômes de la Flavescence dorée (FD).

	Vignes inoculées	Vignes FD
Essai 15 .....	11	7
Essai 16 .....	5	2
Essai 17 .....	3	3
Essai 18 .....	4	4
Essai 19 .....	6	6
Essai 20 .....	7	5
Total .....	36	27

## DISCUSSION

Les Cicadelles de Bourgogne et du Jura, désignées sous les noms de *Euscelis* sp. et *Euscelidius* sp. sont des vecteurs très efficaces dans la transmission de la Flavescence dorée de plante herbacée à plante herbacée. Leur survie relative sur la Vigne, et leur abondance pourraient en faire des vecteurs de cette maladie dans les vignobles de Bourgogne.

Le problème de l'épidémiologie du Bois noir n'est pourtant pas entièrement résolu, car dans les essais que nous venons de présenter c'est la Flavescence dorée et non le Bois noir qui a été transmis. Cependant, une même espèce pourrait très bien transmettre ces deux maladies. Le fait que le *Scaphoideus littoralis* transmet la Flavescence dorée et non le Bois noir n'implique pas qu'une telle spécificité se retrouve pour d'autres Cicadelles. Il est important de noter que les biotypes trouvés dans les vignobles de Bourgogne sont de bien meilleurs vecteurs que les souches d'élevage. Cela semblerait indiquer que les premiers agiraient bien comme vecteurs à l'endroit où on les a précisément cherchés comme tels.

Les essais que nous venons de présenter éclairent d'un jour nouveau le problème des relations vecteur-agent infectieux, chez la Flavescence dorée. Jusqu'à ce jour, cette maladie n'était transmise que par un seul vecteur qui était lié à la Vigne pour tout son cycle. Le fait était volontiers pris comme argument en faveur de la théorie qui voudrait que les maladies localisées au liber n'aient souvent qu'un seul vecteur, contrairement à celles qui sont localisées au bois (maladie de

Pierce) qui pourraient en avoir plusieurs. Il apparaît maintenant que la Flavescence dorée peut avoir d'autres vecteurs. Aucune raison biologique ne semble s'y opposer.

La transmission de la Flavescence dorée par les insectes des genres *Euscelis* et *Euscelidius* va faciliter l'étude de cette maladie. Ces insectes ont une très longue vie adulte, et une robustesse bien supérieure au *Scaphoideus*. Il n'est donc plus nécessaire d'infecter un grand nombre d'insectes pour en obtenir quelques-uns d'infectieux. Ces espèces sont en outre très polyphages, et l'on peut entrevoir ainsi la possibilité de transmettre la maladie à d'autres plantes hôtes intéressantes. Enfin, les pourcentages de transmission obtenus indiquent qu'une grande proportion des insectes mis à s'infecter devient réellement infectieuse.

## REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier nos collègues de l'I. N. R. A. : F. LECLANT de la Station de Zoologie du Centre de Recherches de Montpellier et J. GIANNOTTI de la Station de Recherches de Cytopathologie de Saint-Christol-les-Alès pour les individus des espèces *Euscelis plebejus* et *Euscelidius variegatus*, qu'ils ont bien voulu nous faire parvenir pour les dépôts des élevages du Midi.

## SUMMARY

### TRANSMISSION OF GOLDEN FLAVESCENCE FROM *VICIA FABA* TO *VICIA FABA* BY CICADELLES OF THE GENERA *EUSCELIS* AND *EUSCELIDIUS*. POSSIBLE INTERVENTION OF THESE INSECTS IN THE EPIDEMIOLOGY OF BLACK WOOD IN BURGUNDY

The recently obtained transmission of Golden Flavescence to the broad bean may provide a means of promoting research on the Black Wood vector. The absence of any insect closely linked with the vine does indeed suggest a vector which passes from the vine to herbaceous plants and vice versa. It was, therefore, important first of all to test the vector capacity for Golden Flavescence of the insects in Burgundy, independently of the plant host. The broad bean, which is suitable for numerous leafhoppers species was able to play the part of this « general » host. It was consequently necessary to attempt transmissions from broad bean to broad bean and then to study whether the insects could on occasion infect the vine.

After numerous experiments, leafhoppers of the *Euscelis* and *Euscelidius* genera were observed in and around the Burgundy vines. These species were allowed to breed together, then were separated according to the larvae.

Golden Flavescence was transmitted by the « mixture » from broad bean to broad bean in 90 p. 100 of cases, whereas with the *Euscelidius* from the mixture the figure was only 68 p. 100, which seems to imply that *Euscelidius* do not form the most active part of the mixture. *Euscelidius variegatus* and *Euscelis plebejus*, from controlled breeding, in comparison, only transmitted the disease in 28 p. 100 and 16 p. 100 of cases respectively. Therefore the leafhoppers from Burgundy represent at last biotypes which are different, and it is interesting to note that the biotypes with high vector capacity have been found precisely where they were expected.

The return to the vine of the infecting agent from the broad beans inoculated by these species is

easy using *Scaphoideus*. The vines, in their turn, show the symptoms typical of Golden Flavescence. There is, therefore, no doubt as to the nature of the symptoms obtained.

The possibility of these leafhoppers intervening in the epidemiology of Black Wood is discussed, as well as their use in the study of vector-infecting agent relations in Golden Flavescence. Life duration, polyphagia and the high vector capacity of the biotypes from Burgundy are valuable aids for studies of Golden Flavescence.

#### RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CAUDWELL A., KUSZALA Catherine, BACHELIER J.-C., LARRUE J., 1970. Transmission de la Flavescence dorée de la Vigne aux plantes herbacées par l'allongement du temps d'utilisation de la Cicadelle *Scaphoideus littoralis* BALL et l'étude de sa survie sur un grand nombre d'espèces végétales. *Ann. Phytopathol.*, **2**, 415-428.
- GIANNOTTI J., CAUDWELL A., VAGO C., DUTHOIT J.-L., 1969. Isolement et purification de micro-organismes de type mycoplasme à partir de vignes atteintes de Flavescence dorée. *C. R. Acad. Sci.*, **268**, 843-847.
- SCHVESTER D., CARLE P., MOUTOUS Gilberte, 1961. Sur la transmission de la Flavescence dorée des vignes par une Cicadelle. *C. R. Acad. Agr. Fr.*, 20 déc. 1961, 1021-1024.

# THE DISTRIBUTION OF *XIPHINEMA*, *LONGIDORUS* AND *TRICHODORUS* SPECIES IN VINEYARDS IN YUGOSLAVIA

D. KRNJAIC

*Institut for Plant Protection*  
*Beograd (Yugoslavia)*

---

## SUMMARY

In the last few years, more intensive investigations were initiated on the occurrence of precocious decay of vine. Besides determination of this occurrence as a virus disease, investigations were purposed to determine the virus vectors, primarily nematodes. In a number of different biogeographic and climatic regions of vine growing, soil samplings were carried out in the zone of the root system of plants with or without disease symptoms.

Besides a number of vector species of the genus *Xiphinema* and *Longidorus*, few *Cricone-moides* (s.l.) species were determined that could be capable to contribute to the occurrence of precocious vine decay.

---

Among the first ten vine-growing countries in the world Yugoslavia is present, with an area of vine-growing that measures over 250 000 ha. A range of biogeographic and climatic regions in continental and Mediterranean parts of the country are favourable for the growing of this plant. In these regions, besides a rich assortment and system of vine-growing, there are vineyards of different ages.

In more recent dated vineyards, especially when they were established on the same areas without soil fumigation performed, occurrence has been observed of precocious decay of certain vines and stocks of vines, so that small patches of empty places have been produced. Every year, such places have been more increasing with drying of new plants. This occurrence was pointed out in 1955 (2), then in 1957 (1, 4, 3), 1965 (6), etc.

The work by HEWITT, RASKI and GOHEEN (1958) (5) proved *Xiphinema index* to be vector of fanleaf virus on grapevine, consequently followed by a range of other works. We were mainly directed by the former in our investigations. It could be stated that since 1963 this complex occurrence on vine has become the subject of more intense and universal investigation. On the base of it there are two components; pathogen (viruses) on one side, and vectors (nematodes and other organisms) on the other side.

Within the other component, the role was investigated of certain groups and species of nematodes in occurrence of vine decay. It was started with investigation of invading places of vine nematodes in different vine-growing regions, vineyards of different age and condition. Samples of soil and root-system parts were collected in the profile to the depth of 100 cm in different periods of vegetative growth and in almost all more important vine-growing regions.

Data on distribution were obtained by this way for certain groups and species of nematodes in vineyards of different parts of the country. Data were also obtained on frequency of appearance for certain *Xiphinema*, *Longidorus* and *Trichodorus* species, as well as on their vertical distribution. Overspreading of vine decay occurrence was followed simultaneously in the before-stated and new localities.

With regard to qualitative constitution, species were determined as follows:

1. *Xiphinema americanum* (s. l.) COBB, 1913.
2. *Xiphinema mediterraneum* LIMA, 1965.
3. *Xiphinema Vuittenezi* LUC, LIMA, WEISCHER and FLEG, 1964.
4. *Xiphinema index* THORNE et ALLEN, 1950.
5. *Xiphinema mammilatum* S. STEKHOVEN, TEUNSSSEN, 1938.
6. *Xiphinema italiae* (MEYL, 1953) MARTELLI et COHN and DALMASSO, 1966.
7. *Longidorus elongatus* (DE MAN, 1876) THORNE and SWAGNER, 1936.
8. *Trichodorus* sp.

A wide spectre of variations in basic morphological and taxonomic characteristics of *Xiphinema americanum*-group permits, eventually, to isolate another species besides *X. mediterraneum*. The fact is that these two species have appeared so far in almost all vine-growing regions, that *Xiphinema americanum*-group has appeared in all investigated vineyards in the phase of decay. It is also important to point out that *X. americanum*-group has appeared in all climatic regions in the country, on different soil types with the highest frequency. The greatest number of individuals are in the sediment of 35-70 cm of depth.

*X. Vuittenezi* is encountered in 95 p. 100 investigated localities in continental part of the country. In the Mediterranean region it has been found in the locality of Metković. It has been frequently found in mixed populations with *X. americanum*-group, in high abundance.

*X. mammilatum* was detected in two localities of the Mediterranean region (Split and Bilaje) with a low number of individuals in soil samples.

*X. index* was the main focus at all sample collectings and sample washing. However, this species has been rarely found. To be more precise, it was detected in one single locality of Middle Adriatic Coast (Kaštel Sućura, Mediterranean region) and nowhere else.

*X. italiae* was detected on sandy soil type in continental part of the country (Deliblato Sand). A large number of them was often found in deeper sediments (over 70 cm).

In the zone of vine root-system individual specimens can be found of *Longidorus elongatus* in continental part of the country (Horgoš, Deliblato Sand and Radmilovac), the same for *L. teres* in the Mediterranean part of the country (Hercegnovi).

Simultaneously with these investigations of distribution of certain species of nematodes as potential vectors of viruses of grapevine, investigations were carried out of vector capacities of *X. americanum*-group and *X. Vuittenzei* in transmission of grapevine viruses. These investigations have been in progress.

## CONCLUSION

On the base of data on geographical distribution and quantitative ratio of certain genera (*Xiphinema*, *Longidorus* and *Trichodorus*) and species of nematodes as actual or potential vectors of soil-borne viruses, genus *Xiphinema* is outstanding for its importance. Of six detected species, *Xiphinema americanum*-group (with *X. mediterraneum*) and *Xiphinema Vuittenzei* can be specially pointed for their distribution and frequency of occurrence as well as their abundance. All other species can be found more rarely, or sporadically, in the zone of grapevine root-system. *X. index* is specially concerned.

## RÉSUMÉ

### SUR LA DISTRIBUTION DES ESPÈCES *XIPHINEMA*, *LONGIDORUS* ET *TRICHODORUS* DANS LES VIGNOBLES DE YOUGOSLAVIE

Au cours des dernières années, des recherches ont été entreprises en Yougoslavie pour étudier des dépérissements précoces de la Vigne.

Dans l'éventualité où ces manifestations seraient dues à des viroses, on a recherché des vecteurs possibles, principalement dans le groupe des nématodes.

Dans un certain nombre de régions viticoles du pays, présentant des caractéristiques climatiques et biogéographiques différentes, on a effectué des prélèvements de sol au voisinage des racines de vignes ayant ou non des symptômes de maladie.

L'espèce *Xiphinema index* a été plus spécialement recherchée, mais elle n'a été trouvée qu'une seule fois (localité de la côte Adriatique). *X. americanum* s. l. est commun partout, *X. Vuittenzei* existe dans les régions continentales et *X. Italiae* dans les sols sableux.

## RÉFÉRENCES

1. BRODNIK-SPECOGNA T., 1958. Degeneracije vinove loze na području Izole. *Zašt. Bilja*, **47-48**, 127-134.
2. ČEČUK S., 1955. Court-noué ou dégénérescence infectieuse de la vigne en Yougoslavie. *Progr. agric. vitic.*, **144**, 196-202 et 227-230.
3. ČEČUK S., 1963. Zarazne degeneracije vinove loze. *Polj. pregled XII*, Sarajevo.

4. JOSIFOVIĆ M., 1957. Problemi zarazne degeneracije vinove loze u Jugoslaviji. *Zašt. bilja*, **47-48**, 119-125.
5. HEWITT W. B., RASKI D. J., GOHEEN A. C., 1958. Nematode vector of soil-borne fanleaf virus of grapevines. *Phytopathology*, **48**, 586-595.
6. KRNJAIC D. J., 1967. Uloga nematoda u preranom propadanju vinove loze. *Kongr. Vinogradarstva i Vinarstva. Ohrid*.
7. LIMA M. B., 1965. A numerical approach to the *Xiphinema americanum* complex. C. R. *VIII. Int. Nematol. Symp. Antibes*, 30.
8. WEISCHER B., 1968. Virusübertragung durch Nematoden. *Mitt. Biol. Bundesant. Land- u. Forst-wirtsch.*, **128**, 24-38.



PRÉSENTATION DE SYMPTÔMES  
DE MALADIES OU D'ATTAQUES  
PARASITAIRES RAPPELANT DES VIROSES  
CHEZ LA VIGNE

W. GÄRTEL

*Biologische Bundesanstalt, Institut für Rebenkrankheiten  
Bernkastel/Kues, Mosel (B. R. D.)*

---

1. Sur l'existence de la Flavescence dorée dans la région du El Tambo (Elquital-Chili).
  2. Déformations et réduction de la surface foliaire chez le « Moscatel rosado de Talca », dans la région au nord de Santiago du Chili.
  3. Symptômes ressemblant au « corky bark » sur les sarments mûrs, à la suite d'une forte carence en bore.
  4. Fort Enroulement des feuilles de Vigne à la suite d'une attaque de *Eriophyes vitis*.
- 

VIRUS-LIKE SYMPTOMS CORRELATED WITH DISEASES  
OR PARASITIC INJURY OF GRAPEVINES

1. Occurrence of Golden flavescence in El Tambo area (Elquital, Chile).
  2. Malformations and reduction of foliar surface in grape variety « Moscatel rosado of Talca », in the area northern Santiago (Chile).
  3. « Corky bark »-like symptoms on lignified grapevine woods correlated with a strong boron deficiency.
  4. Strong rolling of grape leaves resulting from *Eriophyes vitis* damages.
-

## TABLE RONDE

En préparation de la réunion du 21 juin 1970 à Montpellier avec les représentants de l'O. I. V., une libre discussion a été engagée au cours de la dernière séance du colloque à Colmar sur le thème :

« Méthodes de diagnostic utilisables en pratique pour le dépistage des viroses de la Vigne ; usage de ces méthodes dans le programme de sélection clonale et de certification sanitaire des bois et plants de vigne. »

Il était d'abord important de savoir quelles maladies devaient être, par priorité, éliminées en raison de leur gravité. Dans les régions où elle a d'abord été étudiée, la Flavescence dorée a constitué une très grave maladie et elle reste encore maintenant localement importante. Parmi les viroses, on considère tantôt le Court-Noué, tantôt l'Enroulement comme le plus dangereux, selon les pays. De façon générale, en Europe, les virus du groupe du « ringspot » sont plus spécialement redoutés, car ils infestent de grandes surfaces de vignobles et se conservent dans les sols. L'Enroulement est également grave et répandu, mais il attire encore plus fortement l'attention dans certaines régions du monde, où la création plus récente du vignoble à partir d'un petit nombre d'exemplaires de *V. vinifera* ou de porte-greffes, introduits malades, a rendu cette virose quasi générale sur certains cépages. Mais les autres viroses ne doivent pas pour autant être négligées dans les programmes de sélection. Le Dr HEWITT fait remarquer que les virologistes ont une responsabilité et ne peuvent accepter de laisser multiplier des plantes malades. Pour toutes les variétés de Vigne, il faudrait au moins sélectionner et maintenir en réserve du matériel exempt de toutes les viroses connues.

### I. — Indexage

Parmi les méthodes de diagnostic, permettant de mettre en évidence les viroses de la Vigne, l'*indexage sur variétés de vignes indicatrices* est la plus générale. Différentes techniques d'inoculation par greffage en pépinière ou en serre sont disponibles, permettant d'obtenir les résultats de l'indexage dans un délai acceptable. Les variétés indicatrices ne sont pas également favorables dans tous les pays. *Vitis rupestris* est considéré partout très intéressant pour la détection du « Fan-leaf » et d'un certain nombre d'autres maladies de type mosaïque, en particulier de la Marbrure (« Fleck »). Par contre, en ce qui concerne les indicateurs de l'Enroulement, l'intérêt de « Mission » et de « Baco 22 A » n'apparaît pas en Europe, où des variétés de *V. vinifera* (Pinot noir, Cabernet, Gamay) leur sont supérieures. La variété hybride américaine LN 33 se révèle très intéressante et polyvalente,

déTECTANT à la fois le Corky bark et l'Enroulement. Elle mérite que l'on développe son emploi en Europe. En Allemagne, la variété hybride « SF 4 », qui donne des réactions foliaires de type « palmettes », après transmission de nombreux virus de type ringspot transmis par le sol (fanleaf, arabis mosaic, tomato black ring, raspberry ringspot), constitue également un indicateur intéressant.

## 2. — Inoculation des plantes test herbacées

Pour les virus auxquels elle est applicable, la méthode d'inoculation mécanique des plantes herbacées est très intéressante en raison de sa rapidité. Elle possède une bonne sensibilité pratique lorsque le broyage des tissus de feuilles de vigne est effectué en présence d'alcaloïdes, préservant le virus dans l'inoculum. Il faut également des plantes test très sensibles, telles que *Chenopodium quinoa* et *Chenopodium murale*. Dans certains pays *Gomphrena globosa* et *Chenopodium amaranticolor* ont également la faveur. L'idée d'isoler des lignées génétiques de plantes herbacées, particulièrement réactives vis-à-vis des virus, est émise, mais il est bien difficile de penser créer des types de plantes test très sensibles à tous les virus recherchés. Par contre, la sélection de lignées de plantes test, qui seraient peu sensibles à la photo-période, serait certainement très intéressante pour améliorer les conditions de travail avec les chénopodes, notamment pendant l'hiver où ces plantes ont une croissance très difficile, même avec éclairage d'appoint. Le problème de contamination accidentelle des plantes test par des maladies indésirables est évoqué. Il est maintenant prouvé que le virus de la mosaïque des chénopodes, qui constitue souvent un de ces contaminants gênants, peut effectivement être isolé de vigne (BERCKS, 1969). Différents expérimentateurs ont tenté de comparer les résultats obtenus pour le diagnostic du Court-Noué avec l'indexage sur *V. Rupestris* et avec l'inoculation mécanique des chénopodes. L'indexage du *Rupestris* a été jugé moins sensible en Australie, équivalent au Canada et beaucoup plus sensible en Italie du Nord (mais dans ce dernier cas, les pourcentages d'infection comptés d'après les symptômes notés sur *Rupestris* correspondent peut-être pour une part à la Marbrure, dont l'agent est sans rapport avec le virus du Court-Noué et ne se transmet pas aux chénopodes).

## 3. — Tests sérologiques

Parmi les méthodes de diagnostic sérologique, l'immunodiffusion en gélose et la floculation de latex sont également utilisables pour la détection des virus du groupe du ringspot chez les plantes test inoculées expérimentalement et chez la Vigne elle-même. Elles ont été expérimentées sur une échelle importante depuis plusieurs années dans certains pays, notamment en France et en Allemagne. La méthode en gélose a l'avantage d'employer des extraits grossiers (pourvu qu'ils soient suffisamment concentrés en virus), tels que broyats de jeunes feuilles au début de la végétation ou extraits concentrés par ultracentrifugation ou précipitation chimique. La méthode au latex demande, par contre, des extraits limpides et stables, mais ne nécessite aucune concentration préalable en raison de sa sensibilité

très supérieure à la méthode en gélose. La question, de savoir si la sérologie est plus sensible que l'inoculation des plantes test herbacées, ne peut être tranchée, l'avantage revenant à l'une ou l'autre méthode selon les périodes de l'année. La méthode sérologique présente, de toute façon, un avantage pratique considérable sur la méthode des plantes test, car elle est réalisable en toute saison et donne des résultats extrêmement rapides. Comme dans le cas de la Pomme de terre, il est probablement possible d'envisager, dans l'avenir, l'emploi pratique d'épreuves sérologiques, au cours des opérations de multiplication dans les établissements de sélection de la Vigne. Dans ce programme, on pourrait proposer de commencer la sélection sanitaire immédiatement après la sélection visuelle par le test sérologique, dont les résultats sont obtenus très rapidement.

Résumé établi par A. VUITTENEZ.

## RÉUNION ADMINISTRATIVE

Une brève réunion administrative a eu lieu à Colmar en vue de discuter les diverses activités de l'I. C. V. G. et de décider où et quand se tiendra la prochaine conférence.

Voici les principaux points discutés et les décisions prises :

### Comité

Le comité de l'I. C. V. G. est réélu sans modifications. Ses membres sont :

Prof. Wm. B. HEWITT, président, San Joaquin Valley Agricultural Research and Extension Center, 9240 So. Riverbend Avenue, *Parlier*, California 93648 U. S. A.

Dr R. BOVEY, secrétaire, Station fédérale de Recherches agronomiques, CH-1260 *Nyon*, Suisse.

Prof. E. BALDACCI, Istituto di Patologia vegetale, Via Celoria 2, *Milano*, Italia.

P<sup>r</sup> A. CICCARONE, Istituto di Patologia vegetale, Via Amendola 165/A, *Bari*, Italia.

M<sup>r</sup> J. F. DIAS, Canada Agriculture Research Station, P. O. Box 185, *Vineland Station*, Ontario, Canada.

Dr W. GÄRTEL, Institut für Rebenkrankheiten, *Bernkastel/Kues*, Mosel, Deutschland.

Dr A. VUITTENEZ, Institut national de la Recherche agronomique, Station de Pathologie végétale 28, rue de Herrlisheim, 68 - *Colmar*, France.

### Prochaine réunion de l'I. C. V. G.

Comme il avait été convenu précédemment, la prochaine réunion de l'I. C. V. G. aura lieu en Italie en septembre 1973. Le professeur BALDACCI, directeur de l'Institut de Pathologie végétale de Milan, se chargera, avec la collaboration des membres de son Institut, de l'organisation de la conférence de trois jours, qui aura lieu probablement à Varenna, sur les bords du Lac de Côme. Cette réunion scientifique sera suivie d'un voyage d'études de 3 à 4 jours dans le sud de l'Italie, qui permettra de visiter les principales régions viticoles et l'Institut de Pathologie végétale de Bari. La date définitive sera fixée ultérieurement.

### Bibliographie

Pour compléter la « Bibliographie des viroses de la vigne des origines à 1965 », rassemblée par M. A. CAUDWELL et publiée par l'Office international de la Vigne et du Vin en juin 1965, une nouvelle liste de références bibliographiques a été préparée par M. CAUDWELL et sera publiée prochainement.

### Liste d'échanges de matériel testé

Une nouvelle liste, complétant les listes antérieures, sera distribuée aux membres de l'I. C. V. G. en 1971.

### Liste d'antisérums

M. G. MARTELLI s'est chargé de préparer une liste d'antisérums disponibles pour l'échange, et distribuera cette liste aux membres de l'I. C. V. G. dès qu'il aura reçu toutes les réponses au questionnaire envoyé aux collègues.

### Manuel pratique sur les maladies à virus et à mycoplasmes de la vigne

Le Pr. HEWITT propose que l'I. C. V. G. édite un manuel pratique sur les maladies à virus et à mycoplasmes de la vigne, ainsi que sur les autres affections de la vigne pouvant être confondues avec ces dernières. Destiné principalement aux praticiens, ce livre, édité en format de poche, devrait faciliter le diagnostic lors des travaux de sélection. Il comprendrait des planches photographiques en couleurs et en noir-blanc, ainsi qu'un bref texte explicatif en français, allemand, italien, espagnol et anglais. MM. HEWITT et BOVEY se chargent de la préparation de ce manuel avec la collaboration de membres de l'I. C. V. G., et ils entreprendront des démarches auprès d'une maison d'édition.

Résumé établi par R. BOVEY.

---

## ADMINISTRATIVE MEETING

A short meeting has been held, at the end of the symposium, in Colmar, to discuss the different activities of the I. C. V. G. and to decide the date and place of the next conference.

### 1. — Committee

The I. C. V. G. committee has been re-elected and remains unchanged. Members are :

Prof. Wm. B. HEWITT, président, San Joaquin Valley Agricultural Research and Extension Center, 9240 So. Riverbend Avenue, *Parlier*, California 93648 U. S. A.

Dr R. BOVEY, secrétaire, Station fédérale de Recherches agronomiques, CH-1260 *Nyon*, Suisse.

Prof. E. BALDACCI, Istituto di Patologia vegetale, Via Celoria 2, *Milano*, Italia.

Prof. A. CICCARONE, Istituto di Patologia vegetale, Via Amendola 165/A, *Bari*, Italia.

Dr C. F. DIAS, Canada Agriculture Research Station, P. O. Box 185, *Vineland Station*, Ontario, Canada.

Dr W. GÄRTEL, Institut für Rebenkrankheiten, *Bernkastel-Kues*, Mosel, Deutschland.

Dr A. VUITTENEZ, Institut national de la Recherche agronomique, Station de Pathologie végétale, 28, rue de Herrlisheim, 68 - *Colmar*, France.

### 2. — Next Conference

As previously planned, this conference will be held in September 1973 in Italy. Professor BALDACCI, Head of the Plant Pathology Institute of Milano and the staff of his Institute, will organize a 3 days Symposium, probably in Varenna, on the side of lake of Como. This scientific meeting will be followed by a 3-4 days study-journey, to observe the main vine growing areas of Italy, and to visit the Plant Pathology Institute of Bari. The definite date will be decided later.

### 3. — Bibliography

For completing the pamphlet « Bibliographie des viroses de la Vigne, des origines à 1965 » collected by Dr. A. CAUDWELL and published by O. I. V. in June 1965, a new list of references has been prepared by Dr. CAUDWELL and will be published soon.

### 4. — Exchange list of indexed plant material

A new additional list has been completed and will be distributed to I. C. V. G. members in 1971.

**5. — List of available antisera**

Dr. G. MARTELLI accepted to establish a list of antisera available for distribution and will distribute, when he has received all the answers to the forms he sent to his colleagues of the I. C. V. G.

**6. — Practical book on virus and mycoplasma diseases of Grapevine**

Professor HEWITT proposes that a practical manual on virus and mycoplasma diseases of grapevines, as well as on similar disorders or parasitic injuries possibly confused with them, be edited by the I. C. V. G.

This pocket-book, principally intended for growers, would be a usefull help for diagnosis purposes in selection work.

It would include colour and black and white photographic plates and a short text of explanations in french, german, italian, spanish and english. Dr HEWITT and Dr BOVEY accept to prepare this manual in connection with members of the I. C. V. G and to contact an Editor.

R. BOVEY.



## REMERCIEMENTS

Les participants du IV<sup>e</sup> Congrès International pour l'Étude des virus et des viroses de la Vigne remercient chaleureusement :

M. le Maire de Colmar pour l'amabilité de l'accueil de la municipalité,

L'Institut National de la Recherche Agronomique, qui nous a permis de nous rencontrer au Centre de Recherches de Colmar et qui a témoigné sa sympathie en offrant un déjeuner aux participants,

M. A. VUITTENEZ et le personnel de la Station de Pathologie végétale qui ont eu la charge d'organiser le Congrès et œuvré pour que le séjour à Colmar soit aussi utile qu'agréable,

M<sup>me</sup> la directrice du Collège agricole féminin de Wintzenheim, pour leur excellent et charmant service des repas,

M. P. HUGLIN et la Station de Viticulture de Colmar, pour la franche gaieté de la dégustation de vins et pour nous avoir apporté la preuve que les virus peuvent parfois contribuer à produire d'excellents vins,

Le Comité Interprofessionnel du Vin d'Alsace, pour le vin d'honneur offert aux participants,

Les nombreux viticulteurs et pépiniéristes de la région qui nous ont permis d'envahir leurs domaines,

Enfin, le Dr R. BOVEY et le Dr C. MARTELLI qui ont assuré avec une parfaite maîtrise la charge d'interprètes.

## A RESOLUTION OF APPRECIATION

Participants of the IVth meeting of the International Council for the Study of Viruses and Virus Diseases of the Grapevine offer their warmest thanks :

to the Mayor of the city of Colmar for the kind hospitality offered by the Municipality ;

to I. N. R. A. for having made it possible for us to gather at the Colmar Research Center and for the kindness shown offering a lunch to the participants ;

to Dr VUITTENEZ and the staff of the Plant Pathology Station, who have worked so hard and efficiently in organizing the meetings and in making the stay in Colmar so pleasant and profitable;

to the Principal and the students of the « Collège agricole de Winzenheim » for the excellent meals and charming service ;

to Mr HUGLIN and the Station of Viticulture for their convivial wine tasting reception and for providing evidence of the significance of viruses in producing outstanding wines ;

to the Interprofessional Wine Committee of Alsace for the cocktail hour ;

and finally to many growers and nurserymen of the region for allowing the invasion of their properties ;

Special thanks are also extended to Dr BOVEY and Dr MARTELLI for their excellent translation service.

---

## TABLE DES MATIÈRES

### Liste des participants

### Compte rendu du colloque scientifique

### Communications

#### Groupe I

#### GÉNÉRALITÉS, MÉTHODES DE SÉLECTION, VIRUS NON TRANSMISSIBLES MÉCANIQUEMENT

E. BALDACCI, G. BELLI, A. FORTUSINI, R. OSLER. — La sélection sanitaire de la vigne en Italie septentrionale : résultats et observations .....	13
G. BELLI, R. OSLER, A. FORTUSINI. — Sur la validité de la recherche des cordons endocellulaires comme méthode de test pour la sélection sanitaire de la vigne .....	17
D. BOUBALS. — Observations sur l'infection par le virus de l'Enroulement chez les porte-greffes usuels .....	23
D. BOUBALS. — Observations sur l'infection par le virus de l'Enroulement chez le Carignan et l'Alicante Bouschet .....	27
R. BOVEY. — Un virus latent dans le Chasselas .....	31
G. FOGLIANI. — Observations sur la relation entre les cordons endovasculaires et la transmission de la Panachure de la vigne (Grape Yellow Mosaic and Grape Vein Banding) .....	35
G. FOGLIANI. — Nouvelles acquisitions sur la technique de recherche des cordons endocellulaires chez les vignes infectées de Court-noué, de Panachure et supposées saines (résumé) .....	41
W. B. HEWITT, A. C. GOHEEN, L. CORY, C. LUHN. — La maladie du « Fleck », latente chez de nombreuses variétés de vignes, est transmissible par greffage .....	43
R. LEGIN. — Expérimentation pour étudier l'effet des principales viroses sur la végétation et la production de la vigne .....	49
J. LEHOCZKY. — Gravité des effets du « Legno riccio » (bois rugueux) chez certaines variétés de vignes européennes ( <i>Vitis vinifera</i> ) .....	59
A. C. NEL, D. J. ENGELBRECHT. — Maladies à virus de la vigne présentes en Afrique du Sud, et influence des virus latents sur les plants en pépinière .....	67
M. RIVES. — Séparation de la Marbrure et du Court-Noué (Panachure) chez la vigne par thermothérapie .....	75
G. STELLMACH. — Comment améliorer l'efficacité de l'indexage ? .....	79

R. H. TAYLOR, R. C. WOODHAM. — Indexage pour la détection des viroses de la vigne en Australie .....	85
C. VALAT. — Note concernant les travaux de sélection sanitaire conduits par l'Association Nationale Technique pour l'Amélioration de la Viticulture (A. N. T. A. V.) ..	89

## Groupe II

### VIRUS TRANSMISSIBLES MÉCANIQUEMENT

H. F. DIAS. — Purification et caractéristiques du virus de la mosaïque Nord-Américaine du Pêcher (Peach Rosette Mosaic Virus). Étude d'isolats obtenus de vigne.....	97
H. F. DIAS. — Mise en évidence de souches distinctes du virus de la mosaïque Nord-Américaine du Pêcher (Peach Rosette Mosaic Virus) par tests d'absorption croisée et d'immunodiffusion (résumé) .....	105
B. DIMITRIJEVIC. — Quelques observations concernant le virus de la mosaïque du Tabac chez la vigne atteinte de dégénérescence infectieuse, en Yougoslavie .....	107
A. A. FERREIRA, O. A. DE SEQUEIRA. — Etudes préliminaires sur un nouveau virus de la vigne .....	113
R. M. GILMER, J. K. UYEMOTO, L. J. KELTS. — Infection de la vigne, dans l'État de New York, par le virus des taches annulaires du Tabac (Tobacco Ringspot Virus) (résumé) .....	121
G. P. MARTELLI, A. QUACQUARELLI. — Le virus de la mosaïque jaune-chrome de Hongrie et le Tomato Black-Ring : deux virus semblables, mais non apparentés .....	121
AMARILIS DE MENDONÇA, O. A. DE SEQUEIRA, A. A. FERREIRA. — Sur l'isolement d'un Virus à partir de cultures de tissus de vigne (résumé) .....	143
G. STELLMACH, B. WEISCHER. — Isolement d'un virus transmissible mécaniquement à partir de vignes présentant une curieuse maladie .....	147
A. VUITTENEZ, J. KUSZALA. — Expérimentation d'améliorations récentes apportées aux techniques de détection des virus, chez la vigne, par des procédés physiques et sérologiques .....	155

## Groupe III

### MALADIES RAPPELANT LES VIROSES, ANIMAUX VECTEURS, OBSERVATIONS DIVERSES

R. BOVEY. — Présence de la Flavescence dorée en Suisse et relations possibles de cette maladie avec le «Corky bark» .....	167
A. CAUDWELL, Catherine KUSZALA, J. LARRUE, J.-C. BACHELIER. — Responsabilité d'un aérien dans l'épidémiologie du Bois noir de la vigne. Étude de l'existence de vecteur ceps sensibles et de ceps tolérants, expliquant la permanence de la maladie sur les mêmesceps .....	171
A. CAUDWELL, Catherine KUSZALA, J. LARRUE, J.-C. BACHELIER. — Transmission de la Flavescence dorée de la fève à la fève ( <i>Vicia faba</i> L.) par des cicadelles des genres <i>Euscelis</i> et <i>Euscelidius</i> . Intervention possible de ces insectes dans l'épidémiologie du Bois noir en Bourgogne .....	181

## CONTENTS

### List of participants

### Report on the scientific colloquium

### Communications

#### Part I

##### GENERAL METHODS OF SELECTION.

##### NOT MECHANICALLY TRANSMISSIBLE VIRUSES

✓ E. BALDACCI, G. BELLI, A. FORTUSINI, R. OSLER. — Clonal selection of virus-free grapevines in Northern Italy : results and observations .....	13
✓ G. BELLI, R. OSLER, A. FORTUSINI. — Experiments on the reliability of the search for trabeculae, as a test for sanitary selection of grapevines .....	17
✓ D. BOUBALS. — Observations on Leafroll-virus infection of commonly used grapevine hybrid stock varieties .....	23
✓ D. BOUBALS. — Observation on Leafroll infection on « Carignan » and « Alicante Bouschet » .....	27
✓ R. BÔVEY. — A latent virus on « Chasselas » .....	31
✓ G. FOGLIANI. — Observations upon the transmission of Grapevine Panachure (Grape Yellow Mosaic and Grape Vein Banding), in relation to trabeculae .....	35
✓ G. FOGLIANI. — New results concerning search technic for trabeculae in fanleaf or yellow mosaic diseased and presumably healthy grapevines (abstract) .....	41
✓ W. B. HEWITT, A. C. GOHEEN, L. CORY, C. LUHN. — Grapevine Fleck disease, latent in many varieties, is transmitted by graft inoculation .....	43
✓ R. LEGIN. — Experimental studies on the effects of the most important virus diseases on grapevines' growth and productivity .....	49
✓ J. LEHOCZKY. — Destructive effect of Legno riccio (rugose wood) on European grapevine varieties .....	59
✓ A. C. NEL, D. J. ENGELBRECHT. — Grapevine virus diseases in South Africa and the influence of latent viruses in the nursery .....	67
✓ M. RIVES. — Separation of « Marbrure » and « Court-Noué » (Yellow-Mosaic) in grapevine, by thermotherapy .....	75
✓ G. STELLMACH. — How to improve the efficiency of indexing? .....	79
✓ R. H. TAYLOR, R. C. WOODHAM. — Indexing grapevines for viruses in Australia .....	85
✓ C. VALAT. — Note concerning sanitary selection work in A. N. T. A. V. (National Association for Technical Advances in Viticulture) .....	89

D. KRŃJAIC. — Sur la distribution des espèces <i>Xiphinema</i> , <i>Longidorus</i> et <i>Trichodorus</i> dans les vignobles de Yougoslavie .....	191
W. GÄRTEL. — Présentation de symptômes de maladies ou d'attaques parasitaires rappelant les viroses, chez la vigne .....	195

**Table ronde****Réunion administrative****Remerciements**

---

## Part II

## MECHANICALLY TRANSMISSIBLE VIRUSES

✓ H. F. DIAS. — Purification and some characteristics of Peach Rosette Mosaic Virus (Grape isolate) .....	97
✓ H. F. DIAS. — Strains of Peach Rosette Mosaic Virus differentiated by cross absorption and immunodiffusion tests (abstract) .....	105
✓ B. DIMITRIJEVIC. — Some observations on the occurrence of Tobacco Mosaic Virus on grapevines in Yugoslavia .....	107
✓ A. A. FERREIRA, O. A. DE SEQUEIRA. — Preliminary studies on an undescribed grapevine virus .....	113
✓ R. M. GILMER, J. K. UYEMOTO, L. J. KELTS. — Infection of grapevines, in New York, by Tobacco Ringspot Virus (abstract) .....	121
✓ G. P. MARTELLI, A. QUACQUARELLI. — Hungarian Chrome Mosaic of grapevine and Tomato Black Ring : two similar but unrelated plant viruses .....	123
✓ Amarilis. DE MENDONÇA, O. A. DE SEQUEIRA, A. A. FERREIRA. — Isolation of a virus from grapevine tissue cultures (abstract) .....	143
✓ G. STELLMACH, B. WEISCHER. — Remarkable diseased grapes from which a sap transmissible virus was isolated .....	147
✓ A. VUITTENEZ, J. KUSZALA. — New improvements in physical and serological technics for detecting viruses in grapevines .....	155

## Part III

VIRUS-LIKE DISEASES, VECTORS,  
MISCELLANEOUS OBSERVATIONS

✓ R. BOVEY. — Occurrence of « Flavescence dorée » in Switzerland and possible relationships of this disease to « Corky Bark » .....	167
✓ A. CAUDWELL, Catherine KUSZALA, J. LARRUE, J.-C. BACHELIER. — Responsibility of an aerial vector in the epidemiology of Black Wood of the vine. Study on the existence of sensitive and tolerant plants explaining the permanence of the disease on the same plants. ....	171
✓ A. CAUDWELL, Catherine KUSZALA, J. LARRUE, J.-C. BACHELIER. — Transmission of golden Flavescence from <i>Vicia faba</i> to <i>vicia faba</i> by cicadelles of the genera <i>Euscelis</i> and <i>Euscelidius</i> . Possible intervention of these insects in the epidemiology of Black Wood in Burgundy .....	181
✓ D. KRNJAIĆ. — The distribution of <i>Xiphinema</i> , <i>Longidorus</i> and <i>Trichodorus</i> species in vineyards in Yugoslavia .....	191
✓ W. GÄRTEL. — Virus-like symptoms correlated with diseases or parasitic injury of grapevines .....	195

## Debate

## Administrative meeting

## A resolution of appreciation

Imprimerie Bussière à Saint-Amand (Cher), France. — 9-1972.

*Dépôt légal: 3<sup>e</sup> trimestre 1972. N° d'impression: 1782.*