

# VIGNE VINI

Rivista italiana di  
VITICOLTURA e di ENOLOGIA

Anno XIII - Supplemento al n. 12 - Dicembre 1986 - Mensile - Sped. abb. post. - Gruppo III/70 -  
Edagricole S.p.A. - c.p. 2157 - 40139 Bologna



**BARBERA × BONARDA**  
*(Incrocio della Cattedra di Viticoltura  
dell'Università Cattolica di Piacenza)*

**ATTI**  
DEL  
**4° SIMPOSIO  
INTERNAZIONALE  
DI GENETICA  
DELLA VITE**  
**VERONA (Italia)**



---

**4ème SYMPOSIUM INTERNATIONAL  
DE GENETIQUE DE LA VIGNE**

**4th INTERNATIONAL SYMPOSIUM  
ON GRAPE-VINE BREEDING**

**4° SIMPOSIO INTERNAZIONALE  
DI GENETICA DELLA VITE**

---

Vérone (Italie)  
13-18 Avril 1985

Communications - Relazioni

---

*SOUS LE PATRONAGE:*

de l'Office International de la Vigne et du Vin (O.I.V.)  
du Ministère de l'Agriculture et des Forêts (M.A.F.) - Italie  
du Conseil National des Recherches (C.N.R.) - Italie  
de l'Académie Italienne de la Vigne et du Vin (Siena - Italie)

*ORGANISE PAR:*

Cassa di Risparmio di Verona Vicenza e Belluno  
Fondation Scientifique «Sergio Bolla» de Vérone

*COMITE SCIENTIFIQUE:*

Prof. G. Alleweldt (Fed. Rep. of Germany)  
Prof. M. Fregoni (Italie)  
Dr. A. Garcia de Lujan (O.I.V. - Espagne)  
Prof. H.P. Olmo (USA)  
Dr. R. Pouget (France)

*SECRETAIRE SCIENTIFIQUE GENERAL:*

Prof. G. Alleweldt  
(B.F.A.R. - Geilweilerhof - Siebeldingen - Fed. Rep. of Germany)

*RESPONSABLE SCIENTIFIQUE POUR L'ITALIE:*

Prof. M. Fregoni  
(Chaire de Viticulture - Université Catholique S.C. - Piacenza - Italie)

*SECRETARIAT SCIENTIFIQUE DU SYMPOSIUM:*

Fondation Scientifique «Sergio Bolla»  
Piazza Cittadella, 3 - 37122 Verona  
(Dr. S. Zaninetti)  
Tel. 045/594055 - Telex: 480488 BOLLA - I

*SIEGE DES TRAVAUX:*

Sala Convegni della Cassa di Risparmio  
di Verona Vicenza e Belluno  
Via G. Garibaldi, 2 - Verona

# OUVERTURE DU SYMPOSIUM - OPENING OF THE SYMPOSIUM APERTURA DEL SIMPOSIO

Monsieur le Président de la Caisse d'Épargne de Vérone, Monsieur le Président de la Fondation «Sergio Bolla», Mesdames, Messieurs, c'est pour moi un plaisir tout particulier, en tant que Président de l'Office International de la Vigne et du Vin, de vous transmettre le plus cordial salut de nos pays membres et de féliciter les organisateurs d'avoir pris l'initiative d'organiser ce 4ème Symposium International de Génétique de la Vigne. Si notre office a donné son patronage à cette manifestation, c'est que nous étions bien conscients de l'importance des sujets qui seront traités au cours de ces prochains jours et c'est avec un très grand intérêt que les représentants de l'OIV suivront les travaux.

Je me réjouis de constater, Messieurs les Présidents, que vous avez réussi à assurer le concours des experts les plus connus du monde viticole ce qui me semble de bonne augure pour la réussite de ce symposium et je vous en félicite. La nombreuse participation de spécialistes venus de toutes les parties du monde démontre, par ailleurs, l'intérêt qu'ils apportent à votre manifestation, puisque les délégués de 24 pays nous présenteront une centaine d'exposés de grand intérêt.

De mon côté, je me permets de former mes souhaits pour un plein succès.

M. Neuhaus Beat  
(Président de l'OIV)

Ladies and Gentlemen:

On behalf of the organizing committee I welcome you to the 4th International Symposium on Grapevine Breeding.

It is a great pleasure to be guest in a country with a long and famous history, both in vine growing and wine making. Many of the grapevine varieties now grown worldwide originated from Italy. This historical background and the presence of so many colleagues ought to inspire our following discussions.

There is no doubt, breeding represents the basis for a prosperous viticulture. New breeding programs are initiated throughout the world. Moreover, a dramatic change of methods to reach the goals of breeding took place, namely the in vitro culture of grapevines and the possible manipulation of single genes. The large number of papers submitted reflects this situation.

The purpose of this Symposium is to present new results, exchange new ideas and discuss them critically. Besides this scientific aspect we should not neglect the personal aspects: renewal and establishment of friendships, communications and personal contacts.

I have the honour to thank the local organizers, particularly Dr. Fregoni, and wish all of you a most interesting meeting.

G. Alleweldt



In apertura del Simposio hanno portato il saluto il prof. Gino Barbieri (Presidente della Cassa di Risparmio di Verona, Vicenza e Belluno), il Senatore Luciano Dal Falco (Presidente della Fondazione scientifica «S. Bolla»), il Dr. Beat Neuhaus (Presidente dell'OIV) ed il Prof. G. Alleweldt (Segretario generale del Simposio). Il Prof. M. Fregoni (responsabile scientifico del Simposio) ha svolto la relazione introduttiva.



## IL CONTRIBUTO ITALIANO NEL MIGLIORAMENTO GENETICO DELLA VITE

MARIO FREGONI - LUIGI BAVARESCO

Cattedra di Viticoltura - Università Cattolica S.C.  
- Piacenza (Italia)

*In questa nota si prenderanno in considerazione le nuove varietà ottenute per incrocio intraspecifico e per ibridazione interspecifica.*

### Incrocio intraspecifico (uve da tavola e da vino)

È molto arduo trovare la patria e l'origine delle varietà coltivate e che sono state i prototipi dei lavori genetici italiani.

Probabilmente, tra le uve da tavola, sono sicuramente italiane la «Colombana» o «Verdea» (Piacenza), il «Besgano» (Piacenza), la «Barbarossa del Piemonte», il «Sagrone», l'«Olivella nera», la «Angiola», la «Dorona» e molte altre.

Tra le uve da vino invece probabilmente si sono sviluppati e costituiti in Italia numerosissimi vitigni, fra i quali si citano il «Barbera», il «Nebbiolo», il «Dolcetto», il «Canaiolo», il «Sangiovese», il «Montepulciano», i vari «Lambruschi», la «Vernaccia», il «Trebiano Toscano» ed altri vitigni minori. Forse sono oltre 1.000 le varietà italiane!

Prima che sorgesse l'idea dell'incrocio tra varietà di viti al fine di fondere i loro caratteri distintivi, non è affatto escluso che dalla semplice semina di vinaccioli si dovesse ottenere spontaneamente qualche individuo ibridato, dato che la vite ha fecondazione anemofila.

*L'opera di selezione genetica dalla fine dell'800 alla seconda guerra mondiale*

Tra i primi ibridatori di vite in Europa (assieme a E. Bouschet) è da ricordare l'italiano Barone Antonio Mendola di Favara, che operò tra il 1855 ed il 1870. Da un incrocio fra lo Zibibbo ed il Catarratto ottenne il «Moscato Catarratto» che ebbe scarsa diffusione a causa della piccola dimensione degli acini e al loro gusto leggermente tannico.

### ALBERTO PIROVANO

Alla fine del secolo scorso (1897) Luigi Pirovano partendo da pochi vinaccioli di «Moscato d'Amburgo» selezionò il «Moscato d'Adda», che è sicuramente un incrocio in quanto ha buccia molto resistente, a differenza del genitore che possiede invece una buccia molto sottile. È una varietà da tavola a bacca nera, molto diffusa nel Lazio, che presenta pregevoli caratteristiche commerciali; è a maturazione di II epoca (1<sup>a</sup> decade di settembre). Dopo di questo, in ordine cronologico, si inseriscono i primi lavori di incrocio del Prof. Alberto Pirovano, iniziati nel 1899 a Vaprio e a Canonica d'Adda (Bergamo) nelle vigne del padre Luigi. In questo vigneto era presente una collezione di uve da tavola che ospitò i lavori di miglioramento genetico fino al 1926. Passato alla direzione dell'Istituto di Frutticoltura ed Elettrogenetica di Roma, il Pirovano riprese, nel 1931, più vasti lavori di genetica viticola, orientata soprattutto verso l'ottenimento di varietà da tavola apireni.

Campi sperimentali vennero istituiti anche nell'isola di Rodi, nella villa detta del Pacha nel comune di Neapolis.

Pirovano dedicò la maggior parte del suo lavoro alle uve da tavola anche se si interessò all'ibridazione interspecifica.

Per la denominazione degli incroci da tavola, Pirovano ha adottato i numeri progressivi del catalogo di selezione preceduti dalla sigla I.P. (Incrocio Pirovano). Alle varietà più meritevoli invece è stato attribuito un nome specifico.

Il Pirovano eseguì molti incroci (più di 500) dei quali il più conosciuto non solo nel nostro Paese, ma nel mondo, è l'I.P. 65 noto con il nome di Italia. Proviene da un incrocio eseguito nel 1911 tra Bicane e Moscato d'Amburgo. Presenta un grappolo cilindrico-conico, spargolo, con qualche acinello, possiede acini molto grossi, ovali o sub-ovalari, con buccia sottile, giallo ambrata, poco bronzata al sole; polpa carnosa, leggermente croccante, dolce, a lieve gusto moscato. È una varietà molto vigorosa e produttiva, a maturazione di III epoca.

L'obiettivo che il Pirovano si era prefissato, con questo incrocio, era quello di correggere l'anomalia fiorale del Bicane. La prima produzione di uva del nuovo incrocio, che poi prese il N. 65 nel catalogo di selezione, non sembrò affatto soddisfacente: aveva grappoli compatti e la buccia soggetta a spaccature per effetto delle piogge e delle forti rugiade autunnali. Il ceppo infatti fu segnato per essere sovrinnestato. Fu soltanto per un caso, cioè per la prima guerra mondiale che fece ritardare i lavori meno necessari, che il ceppo venne risparmiato, dando tempo di vedere le successive fruttificazioni le quali corressero le prime impressioni negative. Finita la guerra, dopo aver visto per alcuni anni i suoi eccellenti prodotti, si decise di propagarla e le venne dato il nome di Italia. Attualmente è diffuso in molte regioni italiane e del mondo.

Tra gli incroci effettuati dal Pirovano, si ricordano:

— I.P. 2 (Angelo Pirovano): Chasselas rosa x Moscato d'Amburgo. (1899). Varietà a bacca rossa e sapore neutro. III epoca di maturazione.

— I.P. 7 (Primus): Maddalena Reale x Ferdinando di Leseps. (1901). Varietà a bacca bianca e sapore moscato. Precocissima. È iscritta al catalogo nazionale delle varietà.

— I.P. 46 (Delizia di Vaprio): Foster's White Seedling x Zibibbo. (1908) Varietà a bacca bianca e di sapore moscato; I epoca di maturazione. È iscritta nel catalogo nazionale delle varietà.

— I.P. 52 (Verona): Bicane x Moscato d'Amburgo. (1911). Varietà a bacca bianca e di sapore leggermente rilevato. II epoca di maturazione.

— I.P. 54 (Perlona): Bicane x Moscato d'Amburgo. (1911). Varietà a bacca bianca e sapore quasi neutro. Tardiva. È iscritta al catalogo nazionale delle varietà.

— I.P. 100 (Aurora): Olivetta Barthélet x (Sciamblese x Pizzutello di Tivoli). (1915). Varietà a bacca bianca e sapore neutro. III epoca di maturazione.

— I.P. 101 (Angelo Longo): Olivetta Barthélet x (Sciamblese x Pizzutello di Tivoli). (1915). Varietà a bacca bianca e sapore neutro. II epoca di maturazione.

— I.P. 105 (Volta): Moscato rosso di Malaga x (Precoce d'Ischia x Grecanico). (1919). Varietà a bacca rossa e sapore erbaceo. Precoce.

— I.P. 107a (Superzibibbo): Prodigiosa x Zibibbo. (1919). Varietà a bacca bianca e sapore rilevato. III epoca di maturazione.

— I.P. 109 (David): Prodigiosa x Zibibbo. (1911). Varietà a bacca bianca e sapore moscato. IV epoca di maturazione.

— I.P. 130 (Pardina): Sciamblese x Sultanina Nera. (1923). Varietà a bacca bianca e sapore lievemente rilevato. II epoca di maturazione.

— I.P. 142 (Fusca): Dorona di Venezia x (Prunella x Moscato d'Amburgo). (1923). Varietà a bacca rossa e sapore neutro. III epoca di maturazione.

— I.P. 165 (Maria Pirovano): Zibibbo x Sultanina bianca. (1926). Varietà apirena a bacca bianca e sapore moscato. I epoca di maturazione.

— I.P. 166 (Rodi): Zibibbo x Sultanina bianca. (1926). Varietà apirena a bacca bianca e sapore neutro. III epoca di maturazione.

— I.P. 192 (Teresa Pirovano): I.P. 2 x I.P. 48. (1923). Varietà a bacca rosa e sapore lievemente moscato. II epoca di maturazione.

— I.P. 205 (Marengo): I.P. 50 x Delizia di Vaprio. (1926). Varietà a bacca bianca e sapore lievemente moscato. II epoca di maturazione.

— I.P. 243 (Superfrankenthal): Frankenthal x Delizia di Vaprio. Varietà a bacca nera e sapore neutro. III epoca di maturazione.

— I.P. 264 (Impero): Moscato di Mandresfield x Ciclopica. (1928). Varietà a bacca bianca e sapore fortemente moscato. III epoca di maturazione.

— I.P. 245 (Formosa): Frankenthal x Delizia di Vaprio. (1926). Varietà a bacca nera e sapore neutro. II epoca di maturazione.

— I.P. 283 (Alba Magna): Moscato d'Adda x Foster's White Seedling. (1923). Varietà a bacca bianca e sapore neutro. II epoca di maturazione.

## GIOVANNI BOGNI

Tra i pionieri del miglioramento genetico in Italia, troviamo anche Giovanni Bogni (di Sesto Calende) il quale si interessò principalmente alle uve da tavola. Si adoperò anche alla rielaborazione di alcuni ibridi produttori diretti, ma senza fortuna. Non era un esperto in viticoltura, ma un intelligente amatore. Iniziò il suo lavoro di breeding a più di 70 anni, avendo come obiettivo la creazione di nuove varietà precoci.

Tra gli incroci di uve da tavola, merita di essere ricordato il Bogni 15 (Primus x Féher Som) ottenuto nel 1° decennio di questo secolo. Si tratta di una varietà a bacca bianca e sapore moscato, di I epoca di maturazione.

## VINCENZO PROSPERI

Sempre nei primi decenni del secolo si collocano i lavori di incrocio effettuati dal Prof. Vincenzo Prosperi (Artena 1875 - Velletri 1955). Nel 1903 fu destinato al Consorzio Antifillosserico di Barletta, dove ebbe la direzione del R. Vivaio di viti americane e legò il suo nome alla ricostituzione dei vigneti pugliesi. Nel 1924 fu chiamato alla direzione della Cantina Sperimentale di Velletri dove svolse il suo lavoro fino al 1955, anno della sua morte. Fu a Velletri che si dedicò particolarmente al miglioramento genetico delle uve da tavola, in particolare del Moscato di Terracina, il quale al di fuori delle zone sabbiose o sciolte del litorale tirrenico, che si estendono tra Terracina e Maccarese, non dava buoni risultati, soprattutto dal lato della serbevolezza del prodotto. Inoltre il Prosperi si riprometteva di trovare nuove varietà a sapore moscato e a maturazione precoce e tardiva (il Moscato di Terracina matura tra il 20 agosto ed il 15 settembre), in modo da dare a quella zona la caratteristica di una produzione uniforme, ma a maturazione scalare.

Tra le sue innumerevoli nuove varietà di uve da tavola sono degne di nota l'Incrocio Prosperi N. 285 (Bicane x Moscato di Terracina) e l'Incrocio Prosperi N. 190 o Clotilde Prosperi (Regina x Sabalkanskoi x Italia). La prima è una varietà a bacca bianca e sapore moscato ottenuta nel 1926, I epoca di maturazione. La seconda è una varietà a bacca bianca e sapore neutro, II epoca di maturazione. È iscritta nel catalogo nazionale delle varietà.

Ricordiamo ancora tra i nuovi incroci di un certo interesse il Prosperi N. 8 (Panse Precoce x Moscato Fior d'Arancio), il Prosperi N. 37 (Baresana x Regina), il Prosperi N. 95 (Bicane x Moscato di Amburgo), il Prosperi N. 102 (Regina x Zibibbo), il Prosperi N. 130 (Regina x Moscato d'Amburgo), il Prosperi N. 152 (Pergolese x Razaki), il Prosperi N. 201 (Moscato di Terracina x Bicane), il Prosperi N. 204 (Gros Colman x Moscato d'Amburgo), il Prosperi N. 262 e N. 268 (Razaki rosso x Gros Vert), il Prosperi N. 371 (Apeorgia x Regina).

## LUIGI MANZONI

Fra il 1924 e il 1928 il Prof. Luigi Manzoni, iniziò a Conegliano Veneto una prima serie di incroci tra varietà di uve da vino e da tavola, pur rimanendo lo scopo principale del suo lavoro la produzione di nuove varietà da vino. Utilizzò, per gli incroci, i vitigni a bacca rossa e bianca più diffusi nell'Italia settentrionale

— I.P. 309 (Primera): Maddalena reale x Delizia di Vaprio. (1926). Varietà a bacca bianca e sapore neutro. Precoce.

— I.P. 318 (Arturo Marescalchi): Italia x Angelo Pirovano. (1926). Varietà a bacca rossa e sapore neutro. III epoca di maturazione.

— I.P. 353 (Lombardia): Italia x Angelo Pirovano. (1928). Varietà a bacca rosa e sapore neutro. II epoca di maturazione.

— I.P. 365 (Suavis): Angelo Pirovano x Moscato rosso di Malaga. (1928). Varietà a bacca rosa e sapore moscato. II epoca di maturazione.

e in particolare nelle tre Venezie. Le nuove varietà più promettenti e che hanno avuto una certa diffusione sono l'incrocio Manzoni 2.15, l'incrocio Manzoni 1.50, l'incrocio Manzoni 6.0.13.

Il primo (I.M. 2.15) è il risultato di un incrocio tra Prosecco e Cabernet Sauvignon e ha trovato diffusione in provincia di Treviso; presenta bacca bluastrò-violacea, polpa succosa e sapore neutro. Si ottiene un vino rosso con colore non molto intenso, caldo, armonico, molto fine, talvolta un po' tannico, di sapore caratteristico tipico dei vitigni bordolesi.

Il secondo (I.M. 1.50) è il risultato di un incrocio tra Trebbiano e Traminer. Presenta bacca di colore rosso, polpa liquida molto dolce, un po' aromatico. È assai simile al Traminer, ma più vigoroso e produttivo. Il vino presenta un profumo gradevole ed un elevato grado alcolico, un aroma fruttato molto intenso (più del Traminer). Il terzo (I.M. 6.0.13) è il risultato di un incrocio tra Riesling renano e Pinot bianco; possiede acino di colore giallo tendente al verde, polpa succosa e sapore neutro. Dà un vino mediamente alcolico, di buon corpo, di colore giallo paglierino. Tra le varietà da tavola risulta di un certo interesse l'incrocio Manzoni 3-25 (Augusta); è derivato da Dattero di Beyrouth x Luglienga. Varietà a bacca bianca e sapore semplice, di I epoca di maturazione.

## RICCARDO TERZI

Un posto meritevole nel settore della creazione di nuove varietà da vino è occupato da Terzi (un viticoltore bergamasco) costituente dell'Incrocio Terzi N. 1, ottenuto incrociando il Barbera con il Cabernet Franc. Ne è derivato un vitigno con grappolo medio, piramidale, mediamente compatto, con bacca blu-nera. Il vino che si ottiene presenta un colore rubino intenso, uno spiccato odore vinoso, che talvolta ricorda i vitigni bordolesi; risulta asciutto, un po' tannico, di corpo, alcolico, con un aroma che ricorda il Barbera e suscettibile di migliorare con l'invecchiamento. È un vitigno diffuso nel bergamasco e bresciano, provato anche in Piemonte con buoni risultati.

## GIOVANNI DALMASSO

Il lavoro genetico del Prof. Dalmaso venne iniziato a Conegliano Veneto (dal 1931 al 1938) e successivamente all'Università di Torino. Gli obiettivi che il Dalmaso si proponeva di ottenere erano sostanzialmente tre:

1) correggere i vitigni «coulards» (soggetti a colatura) da vino e da tavola (Picolit, Moscato rosa e Bicane);

2) migliorare alcuni vitigni da vino delle Venezie e del Piemonte;

3) migliorare determinati vitigni per uve da tavola, incrociando varietà precocissime e precoci dal grappolo generalmente poco vistoso, con altri dai caratteri pressoché opposti; infatti anche se alcuni noti vitigni da tavola non presentavano tare gravi, non erano nemmeno privi di qualche difetto: grappoli troppo serrati ed acini facilmente soggetti al marciume (come ad esempio il Frankenthal), maturazione irregolare dei vari acini di uno stesso grappolo (Moscato d'Amburgo), presenza di acinellatura e così via.

Gli incroci da vino sono i seguenti: I.D. IV/31 (Nebbiolo x Barbera); I.D. XV/29 (Nebbiolo x Barbera); I.D. XV/31 (Nebbiolo x Barbera); I.D. XV/34 (Nebbiolo x Barbera); I.D. IV/28 (Barbera x Nebbiolo); I.D. XVI/34 (Barbera x Nebbiolo); I.D. VII/21 (Nebbiolo x Dolcetto); I.D. XVI/8 (Nebbiolo x Dolcetto); I.D. XVII/25 (Dolcetto x Nebbiolo); I.D. X/4 (Verdiso x Maddalena reale); I.D. X/10 (Verdiso x Maddalena reale); I.D. X/12 (Verdiso x Maddalena reale); I.D. XII/35 (Riesling Italico x Furmint); I.D. XII/37 (Riesling Italico x Furmint); I.D. II/32 (Furmint x Trebbiano); I.D. II/26 (Furmint x Malvasia Istriana); I.D. XII/26 (Furmint x Malvasia Trevisana); I.D. XIII/11 (Harslevelü x Malvasia Trevisana).

Tra gli incroci da tavola si ricordano:



I.D. III/34 (Franca): Moscato d'Amburgo x Regina;  
 I.D. XVIII/3 (Viola): Moscato d'Amburgo x I.P. 62;  
 I.D. XVIII/12 (Liana): Moscato d'Amburgo x I.P. 62;  
 I.D. XVIII/21 (Giovanna): Moscato d'Amburgo x I.P. 62;  
 I.D. VI/3 (Emilia): Bicane x Regina;  
 I.D. VI/6 Bicane x Regina;  
 I.D. VII/9 Bicane x Moscato di Terracina;  
 I.D. XVIII/24 (Teresita) Moscato d'Amburgo x I.P. 62.

Le varietà omologate ed iscritte al registro ampelografico CEE e nazionale, sono riportate nella tabella qui allegata (tab. 1).

## REBO RIGOTTI

Contemporaneo di Dalmasso, Rebo Rigotti svolse la sua opera di miglioramento genetico, fin dal 1920, nel settore delle uve da vino, presso la Stazione Sperimentale Agraria e Forestale di S. Michele all'Adige (TN). Il suo principale obiettivo era quello di ottenere dei vitigni migliorati dal punto di vista qualitativo ma che conservassero la produttività e la rusticità di quelli già coltivati. Tra le centinaia di incroci effettuati, il più meritevole è apparso il Rigotti 107-3 (Merlot x Marzemino) o «Rebo», costituito nel 1948. L'incrocio ha rivelato una gradazione zuccherina superiore a quella dei genitori. Il vino che si ottiene presenta colore rubino o rubino carico, un profumo delicato, gradevole ed intenso che ricorda un po' il Marzemino; è un vino morbido, di gusto delicato ed armonico.

## BRUNO BRUNI

Negli anni che stanno a cavallo del secondo conflitto mondiale, si collocano i lavori di miglioramento genetico delle uve da tavola e da vino, effettuati da Bruno Bruni. Gli incroci e le selezioni da lui effettuate sono numerosi ma, secondo l'Autore quelli più interessanti sono i seguenti:

### — Varietà da vino a bacca bianca:

Incrocio Bruni 14 (Trebiano Toscano x Sauvignon) effettuato nel 1933; Incrocio Bruni 154 (Verdicchio x Pinot bianco); Incrocio Bruni 170 (Malvasia Toscana x Biancame) effettuato nel 1937; Incrocio Bruni 185 (Trebiano Toscano x Honigler) realizzato nel 1937; Incrocio Bruni 317 (Chasselas dorato x Trebbiano Toscano) del 1940; Incrocio Bruni 450 (Verdicchio x Pinot bianco) del 1947; Incrocio Bruni 600 (Picolit x Trebbiano Toscano).

### — Varietà da vino a bacca rossa:

Incrocio Bruni 48 (Montepulciano x Aspiran Bouschet); Incrocio Bruni 60 (Sangiovese x Alicante Bouschet) (1936); Incrocio Bruni 147 (Aspiran Bouschet x Sangiovese) (1937); Incrocio Bruni 452 (Merlot x Cabernet Franc) (1947); Incrocio Bruni 480 (Incrocio Bruni 132 x Sangiovese); Incrocio Bruni 485 (Ciliegiolo x Barbera) (1948); Incrocio Bruni 506 (Lambrusco Salamino x Sangiovese).

Tra le varietà da tavola meritano di essere menzionate la Simonetta Bruni (da seme di Madeleine Angevine) che è una varietà a bacca bianca, sapore semplice e precocissima; la Apirena Bruni (Regina dei vigneti x Sultanina bianca) varietà apirena a bacca bianca e sapore neutro, di II epoca di maturazione.

### Il miglioramento varietale negli anni più recenti

Altri genetisti italiani si sono prodigati nella creazione di nuove varietà, continuando la tradizione positiva dei loro illustri predecessori ed hanno ottenuto varietà molto pregevoli, sia nel settore delle uve da vino che in quello delle uve da tavola.

Tra le nuove varietà da tavola meritano una menzione l'Annamaria e la Matilde. La prima è stata ottenuta nel 1956 da A. UBIZZONI incrociando la Perla di Csaba con il David. Si tratta di una varietà a bacca bianca e sapore lievemente moscato; matura nella III decade di luglio (precocissima) ed è iscritta nel catalogo nazionale delle varietà.

La seconda (Matilde) è stata creata da P. MANZO nel 1962

Tab. 1 - Varietà italiane di recente omologazione

Varietà	Origine genetica	Costitutore	Colore	Epoca di maturazione	Utilizzazione	Anno di omologazione
Albarossa	Nebbiolo x Barbera	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	Nero	III	da vino	1977
Bric	Barbera x Nebbiolo	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	Nero	III	»	1977
Bussanello	Riesling it. x Furmint	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	Bianco	III	»	1977
Cornarea	Barbera x Nebbiolo	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	Nero	III	»	1977
Cove	Harslevelu x Malvasia Trev.	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	Bianco	III	»	1977
Fertilia	Merlot x Roboso Ver. 108	I.S.V. Conegliano (Treviso)	Nero	Med. precoce	»	1976
Flavis	Verdiso x Riesling it. 76	I.S.V. Conegliano (Treviso)	Bianco	Med. precoce	»	1976
Fubiano	Furmint x Trebbiano	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	Bianco	III	»	1977
Italica	Verdiso x Riesling it. 103	I.S.V. Conegliano (Treviso)	Bianco	Med. precoce	»	1976
S. Martino	Nebbiolo x Dolcetto	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	Nero	II	»	1977
S. Michele	Nebbiolo x Barbera	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	Nero	III	»	1977
Nebbiera	Nebbiolo x Barbera	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	Nero	III - IV	»	1977
Nigra	Merlot x Barbera 96	I.S.V. Conegliano (Treviso)	Nero	Med. precoce	»	1976
Passau	Dolcetto x Nebbiolo	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	Nero	IV	»	1977
Procest	Merlot x Barbera 109	I.S.V. Conegliano (Treviso)	Nero	Med. precoce	»	1976
Sirio	Verdiso x Maddalena reale	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	Bianco	III	»	1977
Soperga	Nebbiolo x Barbera	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	Nero	III	»	1977
Valentino	Nebbiolo x Dolcetto	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	Nero	Tardiva	»	1977
Vega	Furmint x Malvasia istriana	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	Bianco	III	»	1977
Emilia	Bicane x Regina	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	G. ch.	II	da tavola	1977
Franca	Moscato d'Amburgo x Regina	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	V. rs.	II - III	»	1977
Giovanna	Moscato d'Amburgo x I.P. 62	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	Nero	II	»	1977
Liana	Moscato d'Amburgo x I.P. 62	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	Nero	III - IV	»	1977
Teresita	Moscato d'Amburgo x I.P. 62	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	G. v.	II - III	»	1977
Viola	Moscato d'Amburgo x I.P. 62	Dalmasso G. (C.N.R.) Torino	Nero	Tardiva	»	1977

G. ch. = Giallo chiaro; V. rs. = Violetto rossastro; G.v. = Giallo verdastro

presso l'Istituto Sperimentale per la Frutticoltura di Roma. È il risultato di un incrocio tra Italia e Cardinal; è varietà a bacca bianca e sapore dolce lievemente moscato; matura nella seconda decade di agosto ed è la migliore tra le cultivar che maturano in prima epoca.

Nel settore delle uve da tavola ricordiamo infine i lavori effettuati da F. PAULSEN (che ha ottenuto la Conca d'Oro), dai Dr. A. VIVONA e B. PASTENA presso i Vivai Governativi di Viti Americane di Palermo, dove sono conservati i loro incroci ancora in sperimentazione e da M. PALIERI (a Velletri).

Più scarsa è stata la produzione di nuovi vitigni da vino; tra questi si ricordano l'Incrocio COSMO 76 (Verdiso x Riesling Italice) e l'Incrocio COSMO 109 (Merlot x Barbera) ottenuti all'Istituto Sperimentale per la Viticoltura di Conegliano Veneto.

Infine M. FREGONI, a Piacenza, nel 1970, ha effettuato incroci tra Barbera e Bonarda che sono attualmente in fase avanzata di studio; l'obiettivo è di ottenere il Gutturino, vino a DOC dei Colli piacentini, usando un solo vitigno, in luogo del classico uvaggio di Barbera e Bonarda. Un'altra serie di incroci tende ad ottenere nuove varietà per spumanti.

Incroci per uve da vino e da tavola sono stati effettuati in molti Istituti di ricerca italiani e quasi sicuramente fra alcuni anni verranno omologati ufficialmente nuovi vitigni, che passeranno al vaglio più concreto e severo della viticoltura su larga scala.

### Ibridazione interspecifica

In seguito all'introduzione in Europa nel 1845 di una grave malattia fungina (l'Oidio della vite), si importano dalla parte orientale degli Stati Uniti alcuni vitigni resistenti a tali malattie, quali «Canada», «Catawba», «Clinton», «Concord», ecc. Assieme ad essi però arrivò in Europa (nel 1863) anche un temibile parassita, la fillossera (*Viteus vitifoliae*) che risultava relativamente innocuo alle viti americane (ospiti abituali) e letale per le viti europee. Messo da parte il primo rimedio che consisteva nell'utilizzo di sostanze insetticide, e constatata la scarsa qualità dell'uva e in certi casi la scarsa resistenza ai parassiti dei suddetti vitigni americani, si sentì la necessità di creare nuove varietà. Il lavoro dei genetisti si svolse su due piani diversi: il primo portava alla creazione di portinnesti resistenti; il secondo all'ottenimento di ibridi produttori diretti, i quali avrebbero dovuto unire la resistenza delle viti americane alle caratteristiche qualitative della vite europea.

Il Governo italiano dell'epoca, emise una lunga serie di tempestivi e validi interventi, finalizzati alla difesa del vasto patrimonio viticolo-nazionale. Oltre alla concessione ai proprietari di una congrua indennità per la estirpazione dei vigneti colpiti (leggi 3.4.1879 e 29.4.1883), il Governo stabilì norme severe per la moltiplicazione della vite, provvedendo nel 1881 alla formazione dei primi vivai di viti americane (*V. rotundifolia*, *V. cordifolia*, *V. aestivalis*, *V. riparia*, *V. cinerea*, *V. rupestris*, ecc.). Inviò giovani laureati alla famosa ENSA di Montpellier per frequentare appositi corsi di perfezionamento su questi problemi; fra questi vi fu anche il Dr. Federico Paulsen, nominato successivamente primo Direttore del Vivaio Governativo di Viti Americane di Palermo.

Il Vivaio, istituito nel luglio del 1885, fu tra i primi in Italia ad effettuare ibridazioni fra le viti americane e fra le viti americane e le europee, alla ricerca di nuovi ibridi portinnesti che fossero, oltre che resistenti al parassita, adattabili alle varie condizioni pedoclimatiche della Sicilia.

### FEDERICO PAULSEN

In questa direzione si svolse l'attività del più grande ibridatore italiano nel settore dei portinnesti, il Dr. Federico Paulsen, che diresse il Vivaio dal 1885 (anno di fondazione) al 1937. Il portinnesto più famoso e di maggiore diffusione è il 1103 P., ottenuto tra il 1894 e il 1897.

Il 1103 P. (*V. Berlandieri* Rességuier n. 2 x *V. Rupestris* du Lot) trovò inizialmente diffusione in Sicilia ed in Tunisia, anche se attualmente è usato in gran parte delle zone viticole calde del bacino del Mediterraneo. È portinnesto vigoroso che si adatta a terreni argillosi compatti anche con substrato fresco ed umido; presenta buona resistenza alla siccità e discreta al calcare attivo (20%). Assorbe bene il magnesio, mentre è sensibile alla carenza di potassio, per cui risulta resistente al disseccamento del rachide. Appare abbastanza tollerante alla salsedine. Ha buona affinità ai diversi vitigni, anche nei terreni più vari. Essendo vigoroso tende a ritardare la maturazione dell'uva, consentendo livelli di acidità dei mosti più elevati.

Tra i portinnesti ottenuti da Paulsen, del gruppo *Berlandieri* x *Rupestris*, si ricordano ancora il 770 P., il 771 P., il 775 P., il 779 P., il 1447 P.; del gruppo *Berlandieri* x (*Aramon* x *Rupestris* G. 1), il 1043 P. e il 1045 P.; del gruppo *Riparia* x *Rupestris*, il 2/A. Quest'ultimo portinnesto, comunque, costituì un caso isolato perché il Paulsen escluse in via generale l'utilità di creare ibridi *Riparia* x *Rupestris*, mentre ritenne che l'ibridazione doveva avere come base la *Berlandieri*, per la sua speciale resistenza al calcare, l'adattamento ad ambienti siccitosi e soprattutto per la potenzialità del suo sistema radicale, che permette un facile sviluppo anche in terreni compatti, quali sono generalmente quelli siciliani. Preferì, inoltre, nell'ibridazione con la *Berlandieri*, la *Rupestris*, anziché la *Riparia*, di limitatissima area di adattamento.

### ANTONINO RUGGERI

Sempre in Sicilia, alla fine del secolo scorso, a partire dal 1895 iniziano i lavori di ibridazione effettuati da un altro grande artefice della ricostituzione post-fillosserica italiana, il Prof. Antonino Ruggeri, direttore dei R. Vigneti sperimentali di Spadafora (Messina).

Il più conosciuto e diffuso dei suoi ibridi portinnesti è il 140 Ru (*Berlandieri* x *Rupestris* du Lot); per estensione di impianti è il secondo portinnesto coltivato in Italia dopo il Kober 5BB. È particolarmente indicato per terreni clorosanti e siccitosi: la sua resistenza al calcare attivo (40%) e alla siccità è infatti elevata. Presenta anche una buona resistenza ai terreni acidi. È portinnesto molto vigoroso e quindi può indurre ritardo nella maturazione dell'uva.

Si ricordano ancora, nel gruppo *Berlandieri* x *Riparia*, il 225 Ru, il 240 Ru, il 300 Ru, meno conosciuti e diffusi.

Anche se i risultati più eclatanti furono raggiunti in Sicilia, è doveroso comunque rilevare che l'intero territorio nazionale fu protagonista della ricostruzione post-fillosserica tramite le Scuole di Viticoltura ed i già menzionati Vivai di Viti americane. Presso tali organismi oltre ai già citati Paulsen e Ruggeri, altri studiosi si adoperarono nella produzione di nuovi portinnesti, quali il Dr. C. Cavazza (fra il 1888 ed il 1891) presso la Scuola di Viticoltura ed Enologia di Alba; numerosi agronomi presso la Scuola di Avelino; il Dr. C. Grimaldi (dal 1882) a Modica; E. Silva (dal 1893) e G. Persi ad Asti; C. Montoneri a Noto; A. Longo a Velletri; G. Reborà a Novi Ligure. Altri ibridatori lavorarono presso i Vivai di Acqui, Cagliari, Macomer, Nicasastro, Palmi, delle Tremiti, e presso le Scuole di Viticoltura ed Enologia di Cagliari, Conegliano, Catania, la Scuola di Pomologia ed Orticoltura di Firenze, la Scuola pratica di Grumello del Monte, ecc.; non tutti gli sperimentatori ottennero risultati rilevanti, salvo alcuni che produssero nuovi portinnesti interessanti, anche se di limitata diffusione.

### ALBERTO PIROVANO

Portinnesti di una certa importanza sono stati ottenuti, nei primi decenni del secolo, da A. Pirovano già costituente di pregevoli

varietà da tavola. Si tratta del Gagliardo (Castel 15.612\* x 420 A) e del Golia (Castel 15.612\* x Rupestris du Lot); il primo assomiglia maggiormente alla Riparia ed è più indicato per terreni profondi, freschi, di medio impasto; il secondo, piuttosto simile alla Rupestris è un portinnesto estremamente vigoroso, resistente alla siccità e mediamente alla clorosi.

## VINCENZO PROSPERI

Come si è già segnalato, il Prospero, si interessò soprattutto alla produzione di nuove varietà da tavola, ma durante il suo soggiorno a Barletta (dal 1903 al 1924) si dedicò alla creazione di ibridi portinnesti, specialmente adatti alle condizioni pedoclimatiche della Puglia. Risultato di tale lavoro è stata la produzione di qualche migliaio di nuove viti, fra le quali, dopo uno studio comparativo, perseguito per quasi un trentennio, sulle caratteristiche specifiche (resistenza alla fillossera, al calcare, alla siccità, affinità, ecc.) in confronto con i portinnesti più in uso, ne sono state selezionate 20; di queste le seguenti furono usate nella ricostruzione dei vigneti:

— Riparia x Rupestris: 16/108, 16/113.

Presentano discreta resistenza al calcare e scarsa alla siccità, anche se nel meridione hanno sostituito molto bene il 3309 per la maggior resistenza alla siccità ed al calcare. Il 16/108 appare molto lussureggiante anche in terreni con il 40% di calcare totale.

— Riparia x Berlandieri: 17/118. È portinnesto adatto ai terreni calcareo-argillosi, profondi e freschi nel sottosuolo, come lo sono i terreni del Barlettano.

— Berlandieri x Riparia-Rupestris: 11/71, 11/73. Sono resistenti al calcare ed alla siccità.

— Baresana x Berlandieri: 10/57. È adatto per terreni molto calcarei anche compatti.

I progenitori (la Riparia e la Berlandieri) dei suddetti ibridi provengono dal gruppo delle viti americane ottenute in Italia direttamente per seme e precisamente dalle selezioni di Velletri e di Barletta.

Nel secondo dopoguerra si collocano i lavori di ibridazione effettuati dal Prof. BRUNO PASTENA, direttore del Vivaio Governativo di Viti Americane dal 1968 al 1973. I suoi principali portinnesti (non ancora omologati) sono i seguenti:

— Ibrido Pastena N. 1 (1447 P. x 420 A)  
 — » » N. 2 (1447 P. x 775 P.)  
 — » » N. 3 (1447 P. x 779 P.)  
 — » » N. 4 (1447 P. x 140 Ru)

Presso la Collezione di Viti Americane, nell'azienda Pellegrina sita nel comune di Piacenza, la Cattedra di Viticoltura dell'Università Cattolica del Sacro Cuore di Piacenza, ha da tempo effettuato numerose ibridazioni, al fine di ottenere nuovi portinnesti a diversa selettività per gli elementi minerali, resistenti al calcare ed alla siccità, nonché di scarsa vigoria.

Nel campo della creazione di ibridi produttori diretti, il lavoro degli studiosi italiani è stato meno fecondo, anche se non si possono dimenticare i tentativi effettuati da alcuni ibridatori, quali il Ceccarelli che operò a Galatina (in Puglia) e il Pirovano. Quest'ultimo cercò di ottenere varietà relativamente resistenti alla peronospora, mediante ibridazioni del Grecanico con ibridi produttori diretti (Castel 15.612 e Seibel 1077); degni di un certo interesse apparvero la Pignoletta (Grecanico x Castel 15.612) e gli ibridi 501, 511, 518 (Grecanico x Seibel 1077).

Nel secondo dopoguerra il Bruni ottenne alcuni ibridi utiliz-

zando come genitori i Seibel, i Seyve Villard e varietà europee, quali Cannonau, Trebbiano Toscano, Malvasia istriana, Cilieggiolo, Barbera, Biancame, Harslevelu e qualche altro.

## BIBLIOGRAFIA

- Bruni B. (1956) - *I nuovi vitigni per uve da tavola e da vino ottenuti per incroci e per selezione da seme e clonale*. «Il Torchio», 22-23.
- Bruni B. (1957) - *I nuovi vitigni per uve da tavola e da vino ottenuti per incroci e per selezione da seme e clonale*. «Il Torchio», 1-2-3.
- Bruni B. (1973) - *Guida pratica alla viticoltura contemporanea*. «Edagricole», Bologna.
- Cosmo I. (1950) - *Contributi al miglioramento della vite*. «Atti dell'Accademia Italiana della Vite e del Vino», II (2), 186-215.
- Cosmo I., Sardi F., Calò A. (1964) - *Incrocio Manzoni 2-15. Principali vitigni da vino coltivati in Italia*. MAF, III, 29.
- Cosmo I., Comuzzi A., Polsinelli M. (1958) - *Portinnesti della vite*. Edagricole, Bologna.
- Cosmo I., Sardi F., Calò A. (1964) - *Incrocio Terzi N. 1 - Principali vitigni da vino coltivati in Italia*. MAF, III, 30.
- Dalmasso G. (1946) - *Notizie su incroci di «Vitis vinifera» ottenuti a Conegliano*. «Annuario della R. Stazione Sperimentale di Viticoltura e di Enologia di Conegliano».
- Eynard I. (1964) - *Studio ampelografico e ampelometrico di alcuni incroci da vino del Prof. Giovanni Dalmasso*. «Atti Acc. It. Vite e Vino», XVI.
- Eynard I. (1966) - *Studio ampelografico e ampelometrico di alcuni incroci da vino del Prof. Giovanni Dalmasso*. «Annali Facoltà Agraria dell'Università degli Studi di Torino», III.
- Folloni A. (1936) - *L'azione di difesa contro l'invasione fillosserica in Provincia*. «Consorzio provinciale per la viticoltura di Firenze», Firenze.
- Fregoni M. (1980) - *Criteri di scelta dei portinnesti nella viticoltura mondiale*. «Vignevini», 5, 31-38.
- Giuda A. (1936) - *Come dovrò regolarmi di fronte alla fillossera?* Manfredi C. - Editore, Mondovì.
- Grandori R. (1914) - *Risultati dei nuovi studi italiani nella fillossera della vite*. Hoepli, Milano.
- Istituto di frutticoltura e di elettrogenetica (1951) - *Nuove uve da tavola italiane*. Roma.
- Manaresi A. (1947) - *Viticultura*. «Edagricole», Bologna.
- Manzo P., Tamponi G. (1979) - *Monografia di cultivar di uve da tavola*. Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste. Roma.
- Manzoni L. (1950) - *Gli incroci tra varietà di vinifera a Conegliano*. «Atti Acc. It. Vite e Vino», II (2), 169-185.
- Marinangeli L. (1940) - *La fillossera e le nuove piantagioni di vite*. «Il Gazzettino agricolo», Padova.
- Montoneri C. (1930) - *Fillossera e viti americane in Sicilia*. «Il monitore tecnico», 1, Roma.
- Paglietta R., Quagliano A. (1976) - *Presentazione di alcuni incroci Dalmasso di uve da tavola*. «3° Convegno nazionale MIVA», Asti.
- Pastena B. (1976) - *La nuova viticoltura siciliana*. Istituto Regionale della vite e del vino, Palermo.
- Pirovano A. (1925) - *Uve da tavola*. Casa Editrice Fratelli Marescalchi, Casale Monferrato.
- Pirovano A. (1934) - *Elaborazione genetica di nuove varietà e loro comportamento agrario*. «L'Italia Agricola», 9, 819-826.
- Prosperi V. (1932) - *La scelta dei portinnesti nella coltivazione delle uve da tavola*. «I° Mostra Nazionale delle uve da tavola», Piacenza.
- Prosperi V. (1934) - *Regina-Italia-Moscato di Terracina*. «L'Italia Agricola», 9, 735-751.
- Prosperi V. (1934) - *Influenza dell'adattamento dell'affinità nella produzione delle viti innestate*. «Fed. italiana dei Consorzi Agrari», Roma.
- Prosperi V. (1940) - *Contributo alla produzione e studio di nuove varietà di uve da tavola*. «L'Italia Agricola», 11, 755-766.
- Racah V. (1911) - *Manualetto pratico del viticoltore toscano*. «Cassa centrale di risparmio e depositi», Firenze.
- Regione Siciliana (1983) - *Index vitis, vivarii collectio*. Palermo.
- Roncador I. (1980) - *«Rebo»: nuova cultivar di vite ottenuta a S. Michele*. «Almanacco Agrario», 71-76, Trento.
- Topi M. (1926) - *La fillossera della vite*. G.B. Paravia & C., Torino.
- Unione Diplomatica Istituto Agrario S. Michele (1984) - *Il portinnesto della vite*. Casa Editrice R.B.S., Trento.
- Vivona A. (1964) - *Vitigni da mensa eccellenti e loro migliori portinnesti*. Edagricole, Bologna.
- Zamboni M., Boselli M., Fregoni M. (1983) - *Risultati di incroci fra Barbera e Bonarda nel Piacentino*. «Vignevini», 1-2, 15-19.

\* Castel 15.612 = Carignan x Riparia

## RIASSUNTO

### IL CONTRIBUTO ITALIANO NEL MIGLIORAMENTO GENETICO DELLA VITE

*Nella presente recensione si rammentano le varietà ottenute in Italia per incrocio intraspecifico e per ibridazione interspecifica. Per quanto riguarda l'incrocio intraspecifico, notevoli sono stati i lavori di Pirovano (costitutore dell'Italia, uva da tavola conosciuta in tutto il mondo), di Bogni, di Prosperi, di Manzoni, di Terzi, di Dalmasso, di Rigotti e di Bruni. In anni più recenti (secondo dopoguerra) si collocano le attività di miglioramento genetico fatte da Ubizzoni, Cosmo e Manzo. Nel complesso sono state create diverse decine di nuovi vitigni da vino e da tavola.*

*Nel settore dell'ibridazione interspecifica gli italiani hanno dato un contributo molto importante; la loro opera si indirizzò soprattutto verso la produzione di nuovi ibridi portinnesti, con risultati notevoli. Si ricordano fra tutti il Paulsen e il Ruggeri, costitutori di numerosi portinnesti dei quali i più diffusi, in tutto il mondo, sono il 1103 P e il 140 Ru. Degni di nota sono anche i lavori effettuati da Prosperi e da Pirovano (costitutore del Gagliardo e del Golia).*

*Più scarsa è invece stata la produzione di ibridi produttori diretti; di un certo interesse apparvero quelli ottenuti dal Pirovano ibridando il Grecanico con il Castel 15.612 e con il Seibel 1077.*

*Vengono, infine, menzionati i lavori dei costitutori più recenti.*

## RESUME

### LA CONTRIBUTION ITALIENNE DANS L'AMELIORATION GENETIQUE DE LA VIGNE

*Dans cet exposé on rappelle les variétés obtenues en Italie par croisement intraspécifique et hybridation interspécifique. D'importance remarquable, par ce qui concerne le croisement intraspécifique, ont été les recherches de: Pirovano (constituteur de l'"Italia", raisins de table connue dans le monde entier), Bogni, Prosperi, Manzoni, Terzi, Dalmasso, Rigotti et Bruni.*

*Plus récemment (deuxième après-guerre) on trouve les activités d'amélioration génétique conduites par Ubizzoni, Cosmo et Manzoni. Globalement ont été créés plusieurs dizaines de nouveaux cépages de cuve et de table.*

*Dans le secteur de l'hybridation interspécifique les italiens ont donné une contribution très importante; ils s'adressèrent surtout vers la production de nouveaux hybrides porte-greffes avec de remarquables résultats. On rappelle: Paulsen et Ruggeri, constituteurs de nombreux porte-greffes (les plus connus sont: le 1103 P et le 140 Ru).*

*Digne d'observation sont les travaux de Prosperi et Pirovano (constituteur du Gagliardo et Golia).*

*La production d'hybrides producteur directs a été plutôt rare: intéressants sont les résultats ces obtenus par Pirovano en hybridant le Grecanico avec le Castel 15.612 et avec le Seibel 1077.*

*On nomme, enfin, les travaux des constituteurs plus récents.*

## SUMMARY

### THE ITALIAN CONTRIBUTION TO GRAPE BREEDING

*The Italian grape varieties obtained by crossing and hybridization are reviewed in this paper.*

*A lot of new grape varieties, within the "vinifera" species, were obtained by Italian breeders as Pirovano (his "Italia" table-grape variety is well-known all over the world), Bogni, Prosperi, Manzoni, Terzi, Dalmasso, Rigotti, Bruni, Ubizzoni, Cosmo, Manzo.*

*The Italian contribution to new rootstocks was very important; the most famous breeders were Paulsen and Ruggeri (their most important rootstocks are 1103 P and 140 Ru), but others worked about this subject as Prosperi and Pirovano, breeder of Gagliardo and Golia rootstocks.*

*The breeding to obtain European-American hybrids, was lacking, save Pirovano's work: he hybridized the Grecanico variety by Castel 15.612 and by Seibel 1077.*

*The paper at last reviews the late breeders' work.*

---

**RESSOURCES GENETIQUES, METHODES DE CONSERVATION  
DU GERMPLASM ET ETUDES D'AMPELOGRAPHIE**

**GENETIC RESOURCES, GERMPLASM STORAGE  
AND AMPELOGRAPHIC STUDIES**

**RISORSE GENETICHE, METODI DI CONSERVAZIONE  
DEL GERMOPLASMA E STUDI DI AMPELOGRAFIA**

---

**Culture in vitro / In vitro culture / Coltura in vitro**

**ORGANOGENESE DU CALLUS ET PERSPECTIVES DE SON EMPLOI  
DANS LA SELECTION DE LA VIGNE**

**P.Y. GOLODRIGA - A.O. MARTCHENKO - V.A. SIDOROV**  
Ministère de l'industrie et de l'alimentation de l'URSS  
Institut National de Recherches sur l'Oenologie et la Viticulture  
«Magaratch» (URSS)

RESUME

*Les tâches appliquées de la sélection de la vigne (multiplication rapide, hybridation somatique, diagnose de la spécificité génotypique, etc.) peuvent être résolues avec succès par l'emploi de la culture «in vitro» et du tissu du callus.*

*Le but de la première étape de la présente recherche a été l'obtention de la régénération des plantes du tissu du callus, provenant du cépage de vigne «Podarok Magaratcha», possédant la résistance aux facteurs biotiques et abiotiques.*

*On a utilisé en tant qu'explant le tissu des entrenoeuds des plantes «in vitro». Comme base on a pris le milieu modifié (m) de Murasige-Skoog (M-S) en augmentant le taux des vitamines dans le milieu, en excluant l'hydrolysate de coséine et en employant des différentes combinaisons de 2.4D (1-2) mg/l + BAP (0,1-2) mg/l ajouté. Le callus (c) a été cultivé pendant 30 jours dans l'obscurité, après quoi on a réalisé le passage en milieu initial (m.i.) avec le remplacement de 2,4 D par  $\alpha$ -acide naphtylacétique-2 mg/l + BAP(0,5-2) mg/l.*

*Les embryoides isolés (e.) sont apparus 40-50 jours plus tard. Ici un rôle important revient au milieu initial, dans lequel l'explant formait le callus. Ainsi, c'est seulement dans le callus avec le milieu initial (2,4 D - 1,5 + BAP - 0,5) qu'on observait la formation successive des embryoides isolés dans les différentes parties du callus, qui se développaient ensuite en plantes et formaient des racines dans le milieu sans hormones. On peut supposer que nous assistons à la formation des embryoides à partir des cellules isolées. Le callus avec le milieu initial (2,4 D - 1 + BAP - 2) a formé auprès de l'embryoïde initial une zone de cellules embryonnaires, qui donne naissance à la formation constante des embryoides, qui se développent aussi avec succès et s'enracinent.*

*Ainsi nous avons obtenu la formation des embryoides par deux voies, notamment à partir des cellules isolées et à partir de la zone des cellules embryonnaires. Les concentrations des phytohormones employées diffèrent des données qu'on trouve dans la littérature sur la vigne.*

*L'obtention de la régénération des plantes à l'aide de la seule variation des phytohormones permet d'espérer pouvoir élaborer des modèles généraux d'obtention des plantes à partir du tissu de callus de la vigne pour n'importe quel génotype.*

# LA VITE NELLA COLTURA DI TESSUTI

I. GRIBAUDO - R. JONA - R. VIGLIOCCO

Centro Miglioramento Genetico Vite - C.N.R. di Torino - (Italia)  
Istituto di Coltivazioni Arboree - Università di Torino - (Italia)

## 1. Introduzione

La coltura di tessuti è una metodica che coinvolge numerose discipline sia per la loro utilizzazione e sia per l'utilità che ha per queste. La coltura *in vitro* si basa sullo studio della biochimica e della fisiologia vegetale e si articola in una numerosa serie di metodi e problemi, ciascuno dei quali spesso costituisce quasi una disciplina autonoma; essa permette di utilizzare aspetti particolari della fisiologia delle piante oppure di aggiungere un nuovo tassello alle conoscenze che oggi si hanno su certi specifici passaggi fisiologici.

Questa ampia problematica non è uniforme per tutte le specie vegetali. Ci è quindi parso utile ed interessante fare il punto della situazione per quanto riguarda la Vite con il duplice scopo di fornire al lettore un quadro della situazione attuale ed una rassegna delle ricerche effettuate, sì che egli possa reperire facilmente le pubblicazioni riguardanti i vari settori. La rassegna quindi è risultata assai estesa perché si è voluto fosse quanto più completa possibile, in modo che il panorama risultasse anch'esso completo e quindi di utilità pratica per il lettore.

## 2. Moltiplicazione da gemme e meristemi

Il mezzo più immediato per moltiplicare *in vitro* rapidamente e su vasta scala una specie è quello di porre in coltura i suoi apici vegetativi, siano essi i meristemi apicali o le gemme ascellari. Le tecniche di micropropagazione sono riconducibili a tre principali metodologie:

- proliferazione di gemme apicali o ascellari;
- «microtaleaggio», ossia formazione ripetuta di talee dei germogli ottenuti;
- coltura di apici frammentati.

### 2.1. Proliferazione di gemme apicali o ascellari

Gli studi effettuati a questo scopo sono molti. Il primo problema che i ricercatori hanno dovuto risolvere è stato l'identificazione del mezzo di base adatto per la coltura e dei fitormoni da aggiungere al substrato per favorire lo sviluppo e la moltiplicazione dei germogli.

Galzy (1977) dopo aver valutata l'influenza delle dimensioni dell'espianto sul suo ritmo di proliferazione studia le esigenze nutrizionali di apici comprendenti tre abbozzi fogliari, giungendo a sostituire con un substrato unico la sequenza indicata in precedenza.

Harris e Stevenson (1979) indicano come ottimale per la rapida proliferazione della vite un substrato costituito dai 3/4 dei sali di Murashige e Skoog (1962) (M.S.) più 20  $\mu\text{M}$  di solfato di adenina e 1,25 mM di  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ; una prima fase della coltura avviene su mezzo agarizzato, poi su mezzo liquido. L'ormone adottato è la BA, alla concentrazione di 13  $\mu\text{M}$ , oppure di 18  $\mu\text{M}$  circa quando si effettuano colture prolungate. Molti autori indicano come fondamentale la presenza esclusiva o la prevalenza delle citochinine tra gli ormoni inducenti la proliferazione: così Jona e Val-

lania (1980), e Jako e Nitsch (1980). Questi ultimi riportano l'efficacia della contemporanea presenza di BA e IAA.

Anche Chee (1980) riporta come combinazione ottimale per lo sviluppo degli apici 5  $\mu\text{M}$  di BA e 0,5  $\mu\text{M}$  di NAA. In seguito Chee, (1982) formula un substrato che induce un aumento di proliferazione rispetto al M.S. tradizionale; Chee e Pool (1983) indicano 4 stadi di coltura: inizio della coltura, crescita dei germogli, loro moltiplicazione e infine radicazione. Nella prima fase gli ormoni sono rappresentati da BA (5  $\mu\text{M}$ ) e NAA (0,5  $\mu\text{M}$ ), poi ridotti alla sola BA. Il successo delle colture è legato al genotipo, come affermato anche da Urban et al. (1984). Secondo Goussard (1981) l'allungamento e la proliferazione dei germogli dipendono dalla presenza di citochinine: ottimale è BA 9  $\mu\text{M}$  o zeatina riboside 28  $\mu\text{M}$  oppure, se presenti entrambe, 9  $\mu\text{M}$  di BA e 5,5  $\mu\text{M}$  di zeatina riboside. Le stesse concentrazioni sono efficaci anche su successive subcolture dei germogli (Goussard, 1982).

Harris e Stevenson (1982 a) elaborano una sequenza colturale piuttosto articolata; la BA, inizialmente alla concentrazione di 13  $\mu\text{M}$ , viene ridotta a 9  $\mu\text{M}$  quando i germogli cominciano ad allungarsi e durante le subcolture per la proliferazione dei germogli stessi, al fine di conciliare le opposte esigenze di efficacia della sostanza e salvaguardia dalla vitificazione.

Li e Eaton (1984), invece, effettuano un pretrattamento con BA degli apici consistente nell'immersione per 15 minuti in soluzioni concentrate; gli apici vengono poi coltivati in substrato contenente NAA. Questo permette di avere un rapporto bilanciato tra auxine e citochinine. L'importante ruolo delle citochinine nella coltura di apici è anche confermata da Novak e Juvova (1980). La BA a concentrazioni relativamente alte provoca la proliferazione di germogli, anche in colture prolungate, mentre l'IBA sembra avere azione antagonista nei suoi confronti (Novak e Juvova, 1983).

Monette (1983 b) studia la proliferazione dei germogli dopo subcoltura, rilevando che non vi è correlazione tra lunghezza dei germogli iniziali e numero e lunghezza dei germogli ottenuti, e consiglia di porre in coltura germogli di lunghezza inferiore a 0,7 cm. La stessa conclusione è raggiunta anche da Harris e Stevenson (1982 b).

L'effetto degli ormoni presenti nel substrato è comunque in relazione al contenuto in ormoni endogeni degli espianti (Izvoriska, 1980; Izvorska e Lilov, 1981).

Fanizza et al. (1984) compiono indagini sulla fonte di espianto, riportando che la maggior parte degli apici prelevati in campo diventano necrotici, al contrario di quelli provenienti da piante in serra.

Chee e Pool (1982 a) studiano l'influenza del fotoperiodo a cui le colture di apici sono sottoposte: l'optimum risulta essere un fotoperiodo di 10 ore di luce, anche se esistono variazioni legate al genotipo (Chee e Pool, 1982 b).

Anche la dimensione dei vasi di coltura ha influenza sul tasso di proliferazione dei germogli di *V. vinifera*: in vasi grandi il numero di germogli ottenuti aumenta (Monette 1983 c).

Altri autori hanno utilizzato come materiale di partenza gemme prelevate all'ascella delle foglie di giovani germogli, anziché all'apice. Poll e Powell (1975) ottengono lo sviluppo di numerosi germogli da ogni nodo in coltura, con una concentrazione di BA di 13  $\mu\text{M}$ . Jona e Webb (1978), inoltre, riportano che la BA, alle concentrazioni di 10 e 20  $\mu\text{M}$ , induce la proliferazione dei germogli anche in subcoltura. Novak e Juvova (1983), invece, isolano i meristemi presenti nelle gemme laterali e ne inducono la proliferazione.

Le ricerche fin qui descritte hanno avuto come scopo la moltiplicazione rapida e massiccia della vite mediante impiego di apici interi, la cui lunghezza varia da 0,5 a 8 mm a seconda degli autori. La coltura di meristemi propriamente detti, lunghi 0,5 mm o meno e prelevati da piante generalmente sottoposte a termoterapia, rappresenta la metodologia più comune per la produzione *in vitro* di piante virus-esenti: per le modalità di coltura vedasi il paragrafo relativo.

## 2.2. Microtaleggio

Questo termine, di gergo, è ormai diventato di uso comune. Si riferisce al frazionamento di piante coltivate *in vitro* in un certo numero di piccole talee erbacee, le quali, poste nuovamente in coltura, danno luogo a nuove piante. Con questo sistema possono essere effettuati diversi cicli di taleggio ottenendo così una rapida moltiplicazione clonale.

Questo metodo è stato messo a punto e perfezionato dalla Galzy (1961, 1962, 1964, 1969 a, 1969 b, 1970, 1972 a, 1972 b, 1977, Galzy e Compan, 1968), sia al fine di studiare le differenze nello sviluppo e nell'organogenesi tra viti sane e viti affette dal virus dell'arricciamiento, sia per approfondire le conoscenze sulle esigenze nutrizionali della vite per quanto riguarda il saccarosio, alcune vitamine, gli ioni  $K^+$ ,  $NH_4^+$  e  $NO_3^-$ . Tali ricerche sono state condotte soprattutto su *Vitis rupestris*, su diverse varietà di *V. riparia*, su alcuni ibridi interspecifici e su vitigni di *V. vinifera*. Il substrato usato dalla Galzy si segnala per la povertà di macroelementi (la base è la soluzione di Knop a concentrazione dimezzata) e per la mancanza di fitoregolatori: esso permette la radicazione e lo sviluppo di un asse caulinare senza necessità di cambiare substrato. Viene citato un caso di *V. rupestris* in coltura da 9 anni, dopo 41 taleggi successivi.

Altri studiosi hanno adottato il sistema del microtaleggio al fine di ottenere una moltiplicazione su vasta scala. Bini (1976, 1979), pur adottando un substrato analogo a quello usato dalla Galzy (1970), ha aggiunto diversi fitormoni (BA, IBA, NAA) per migliorare la moltiplicazione e la radicazione. Le prove sono state condotte su alcuni vitigni del Chianti e vari portainnesti. Bernard e Mur (1979) utilizzano piante ottenute da colture di gemme laterali per effettuare osservazioni istologiche sulla organogenesi *in vitro*.



Fig. 1 - La vite risponde bene ai trattamenti necessari per l'allevamento *in vitro*.

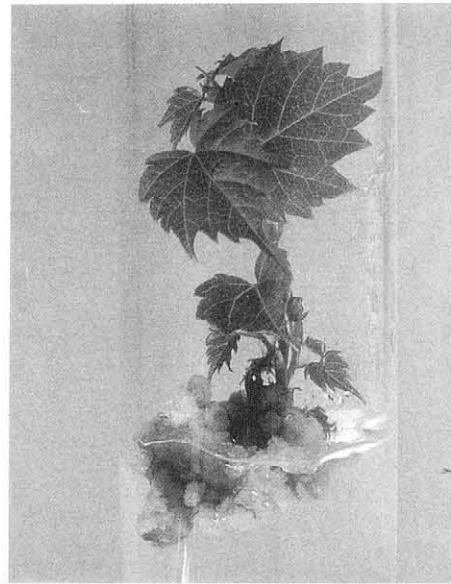


Fig. 2 - Crescita di germogli da una gemma posta su mezzo di proliferazione: durante il primo periodo il germoglio centrale tende a prevalere sugli altri che tuttavia si sviluppano dalle gemme ascellari, anche se con maggior lentezza e minor vigore a causa della evidente dominanza apicale del germoglio principale.

Cossio (1981) studia l'effetto di diverse combinazioni di ormoni (BA, IBA, GA) e della presenza di carbone attivo e di macroelementi a concentrazione dimezzata rispetto al M.S. Queste prove, condotte sul vitigno Corvina Veronese, evidenziano l'effetto della BA che da un lato consente la formazione di un maggior numero di germogli e, dall'altro, produce vitescenza rendendo difficile la manipolazione dei germoglietti.

Silvestroni (1981), pur riportando analoghi problemi nel dosaggio della BA soprattutto durante le subcolture, illustra lo schema di un possibile ciclo completo di propagazione mediante coltura *in vitro* di gemme ascellari di Vite europea. Anche questa autrice adotta il M.S. come substrato di base.

Aldwinckle e Buturac (1980 b, 1981) pongono in coltura nodi di diverse specie e cultivars di *Vitis*, al fine di ottenere piante da inoculare con patogeni obbligati; essi diminuiscono gradualmente la presenza di BA nel substrato ottenendo la proliferazione dei nodi e quindi l'allungamento e la radicazione dei germogli.

Ciccotti (1982) ottiene i migliori risultati aggiungendo al substrato di M.S.  $9\mu M$  di BA nel caso del «Moscato d'Amburgo», e  $4,5\mu M$  nel caso del «Pinot bianco»: ottiene così in media 5 nuovi germogli da ogni gemma ascellare posta in coltura.

Jona et al. (1984) illustrano un ciclo di propagazione della Vite tramite taleggi ripetuti di gemme ascellari; il substrato è costituito, in questa fase di moltiplicazione, da una modificazione del mezzo usato da Jona e Webb (1978), contenente dosi relativamente alte di auxine e citochinine.

Burgutin et al. (1984) pongono in coltura sia piccole talee da germogli erbacei che gemme ibernanti di alcune varietà di vite, ottenendone germogli poi moltiplicati per microtalee. Questi autori rilevano che le citochinine sono necessarie solo per il primo periodo di sviluppo delle gemme.

## 2.3. Coltura di apici frammentati.

Una tecnica decisamente innovativa è quella proposta da Barlass e Skene (1978, 1979, 1980 a e b, 1983; Skene e Barlass, 1980): essa si basa sulla frammentazione degli apici e la separazione dopo subcoltura dei germogli proliferanti dai frammenti. Questi formano inizialmente strutture di tipo fogliare, le quali a loro volta



**Fig. 3 - Dopo l'asportazione del germoglio principale la proliferazione è più uniforme ed intensa.**

originano i germogli avventizi quando siano trasferite dal substrato liquido a uno solido (entrambi contenenti  $10\mu\text{M}$  di BA).

L'uso del microscopio elettronico a scansione (Barlass et al., 1981; Barlass e Skene, 1982) ha dimostrato che i germogli sono di origine avventizia e se coltivati a  $35^\circ\text{C}$  (temperatura vicina a quella letale) formano strutture intermedie tra infiorescenze e viticci.

Gli scopi dell'adozione di questo sistema di coltura sono molteplici: individuare resistenze a eccesso di Na Cl (Barlass et al., 1981), l'eliminazione di virus (Barlass et al., 1982), la conservazione di germoplasma a bassa temperatura (Skene e Barlass, 1983 b) e lo studio di una chimera periclinale (Skene e Barlass, 1983 a).

#### 2.4. Rizogenesi

La rizogenesi è un fenomeno che possiamo definire relativamente facile da indurre in colture di tessuti di vite. Infatti già le prime colture di vite effettuate da Morel (1944 b, 1948) utilizzando frammenti di giovani tralci oltre a tessuto calloso, differenziarono radici. Fallot (1955 a, b) indusse rizogenesi in frammenti di internodi mediante l'aggiunta di NAA al substrato; la formazione di radici apparve legata non solo al genotipo, ma anche al momento del prelievo dalla pianta, come confermato da Brezeanu et al. (1980). Similmente Gautheret (1955) constatò la capacità rizogenica e callogena delle auxine; Pelet et al. (1960) rilevarono che



**Fig. 4 - Microtaleggio: da una gemma ascellare di un tralcio ottenuto in vitro si possono ottenere sia germogli che verranno poi fatti radicare che la proliferazione di molte delle gemme ascellari che compongono la gemma stessa.**

i tessuti normali della vite radicano con facilità, mentre i tessuti di galle provocate da insetti sviluppano solo callo.

Alleweldt e Radler (1961, 1962) misero in coltura segmenti di tralcio prelevati da viti sensibili o non sensibili al giorno corto. Mentre il trattamento subito dalla pianta madre non influenza il comportamento degli espunti di varietà non sensibili al giorno corto (che producono comunque radici), gli espunti di varietà brevidiurne in coltura producono callo se le piante madri sono state sottoposte al giorno lungo oppure radici se il fotoperiodo è stato brevidiurno.

Alleweldt (1968) constata anche che la rizogenesi ha un optimum di temperatura attorno ai  $15-25^\circ\text{C}$ , a differenza della callogenesi che è favorita da una temperatura più alta. Recentemente, anche Rajasekaran e Mullins (1981 a) hanno indotto rizogenesi in internodi coltivati *in vitro*: questa però può essere inibita dalla presenza di 2,4-D.

La rizogenesi è quasi sempre accompagnata da produzioni di callo e può avere luogo anche in espunti costituiti da frammenti di radici, di piccioli, lembi fogliari (Favre, 1976, 1977), e da callo derivato da antere (Hirabayashi et al., 1976).

In generale i germogli di vite ottenuti con la coltura *in vitro* non presentano difficoltà di radicazione. Questa ha luogo facilmente su substrato privo di ormoni (Galzy, 1962); Harris e Stevenson (1979) segnalano un miglioramento della rizogenesi con l'impiego di ponti di carta e mezzo liquido.

Jona e Barboglio (1981) riportano una discreta rizogenesi in viti mantenute al buio per 3 settimane su substrato di Jona e Webb (1978) con aggiunta di carbone attivo per consentire il loro allungamento. Anche Silvestroni (1981) ottiene la emissione di radici trasferendo i germogli sul mezzo di M.S. senza ormoni.





Fig. 5 - Camera di coltura con climatizzazione e fotoperiodo controllati per la moltiplicazione su scala industriale delle piante derivate da micro-propagazione.

Nella maggioranza dei casi, però, la rizogenesi è indotta aggiungendo una o più auxine al substrato. Secondo Barlass e Skene (1978, 1980 b) solo le cultivars «Cabernet Sauvignon» e «Cabernet Franc» radicano in assenza di auxine, mentre numerose altre cultivar richiedono auxine per sviluppare radici.

Grenan (1979 a) saggia l'effetto di diverse auxine, concludendo che la migliore per rapidità ed efficacia è l'IAA alla concentrazione di  $10\mu\text{M}$ . L'IAA è usato anche da Harris e Stevenson (1982 a); Jako e Nitsch (1980) e Jordan et al. (1984): utilizzano, insieme all'IAA, basse dosi di citochinine.

Altri autori suggeriscono l'impiego dell'IBA: Novak e Juvova 1983; Cossio, 1981; Li e Eaton, 1984. Questi ultimi effettuano un pretrattamento di radicazione immergendo i germogli in soluzioni di IBA ad alte concentrazioni. Anche l'NAA è usato per indurre rizogenesi. Chee e Pool (1982 a) usano  $10\mu\text{M}$  di NAA in assenza di citochinine. Sia Bini (1979) che Iri et al. (1982) inducono la rizogenesi trasferendo le viti su mezzo di Galzy (1964) con NAA in una prima fase e senza ormoni dopo alcuni giorni. Infatti le auxine hanno azione favorevole sullo sviluppo dei primordi radicali, ma spesso ostacolano l'allungamento delle radici stesse: il trasferimento su un substrato senza ormoni permette quindi uno sviluppo radicale più completo (Barlass e Skene, 1980 b; Jona e Valiana, 1980; Jona et al., 1984).

Pool e Powell (1975) riportano una discreta radicazione di germogli in presenza di ribosidi di citochinine. Aldwinckle e Buturac (1980 a) inducono formazione di radici abbassando drasticamente la concentrazione di BA nel substrato; Corte (1980) rileva che la rizogenesi è favorita dalla presenza di vitamina D.

Alcune difficoltà sono state segnalate per la rizogenesi di germogli provenienti da viti sottoposte a termoterapia (Gifford e Hewitt, 1961; Harris e Stevenson, 1979; Grenan, 1979 a). Decisamente difficile invece è la rizogenesi in piante virosate (Galzy, 1962, 1969 a, 1969 b).

Galzy (1969 a, b) ha inoltre approfondito le ricerche sui fattori fisici e chimici favorevoli la rizogenesi, riferiti a parametri diversi (percentuali di radicazione, velocità di emissione, velocità di crescita) di viti sane e virosate. Chee e Pool (1982 b) rilevano che differenze nella rizogenesi sono causate sia dal genotipo delle viti in coltura che dalle condizioni di illuminazione. Favre (1973) analizza i fattori esterni e interni che influenzano la rizogenesi in viti coltivate *in vitro*.

## 2.5. Caratteri di giovanilità

Un problema affrontato recentemente è quello della giovanilità manifestata da piante ottenute con colture *in vitro*. Nella fase

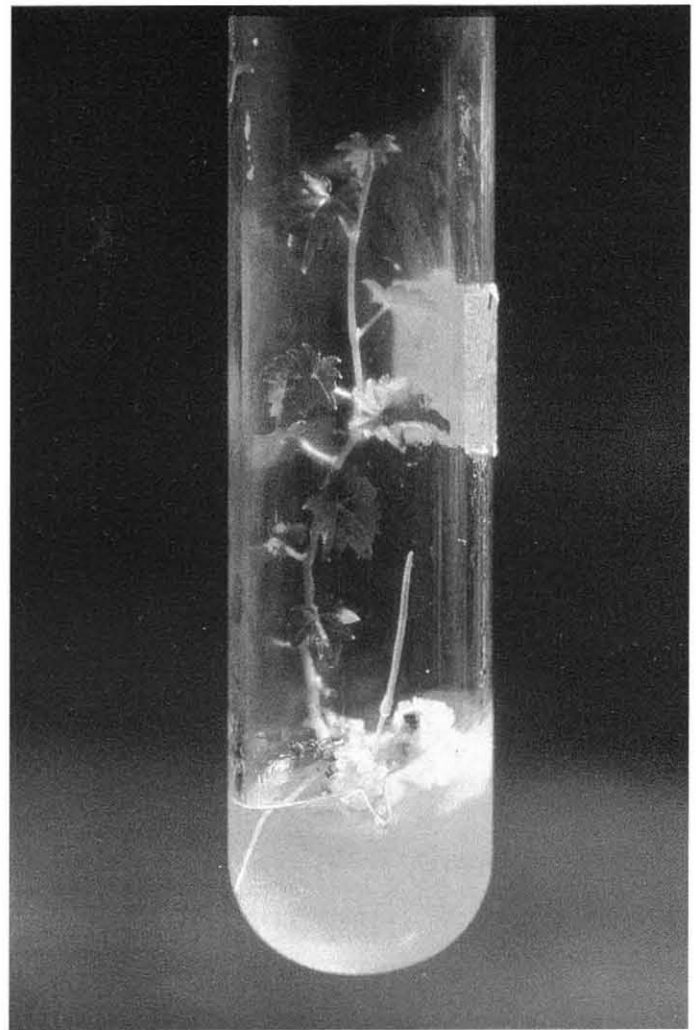


Fig. 6 - Inizio di rizogenesi in provetta. Si nota anche qualche carattere di giovanilità: mancanza di viticci e fillotassi spiralata.

giovane la vite è caratterizzata dalla fillotassi a spirale (2/5) anziché opposta, e dall'assenza di viticci e di infiorescenze. In colture *in vitro*, Mur (1978) e Favre e Grenan (1979) riferiscono che le piante di vite presentano caratteri di giovanilità se coltivate su substrati relativamente poveri in sali e vitamine, mentre il loro vigore aumenta e presentano formazione di viticci se trasferite in substrati più ricchi. Le piante ottenute *in vitro* tramite embriogenesi somatica nella nucella (Mullins e Srinivasan, 1976) e tramite frammentazione degli apici (Barlass e Skene, 1980 b) presentano le caratteristiche morfologiche della fase giovanile, così come le piante sottoposte a termoterapia *in vitro* e poi coltura di apici da Mur (1979).

Mullins et al. (1979), invece, inducono la comparsa di caratteri giovanili in viti, coltivate *in vitro* e dotate di viticci e fillotassi opposta, mediante subcolture ripetute o coltura prolungata su substrato contenente  $5\mu\text{M}$  di BA.

Anche le viti già impiantate in campo e ottenute per moltiplicazione *in vitro* associata a termoterapia presentano scarsa produttività e alcuni caratteri di giovanilità (Valat e Rives, 1973). Grenan (1982) e Nozeran et al. (1983) imputano il suo perdurare a fattori ambientali (coltura *in vitro*, clima) e agronomici (potatura).

## 3. Callogenesi

La callogenesi, ossia la produzione di cellule non differenziate

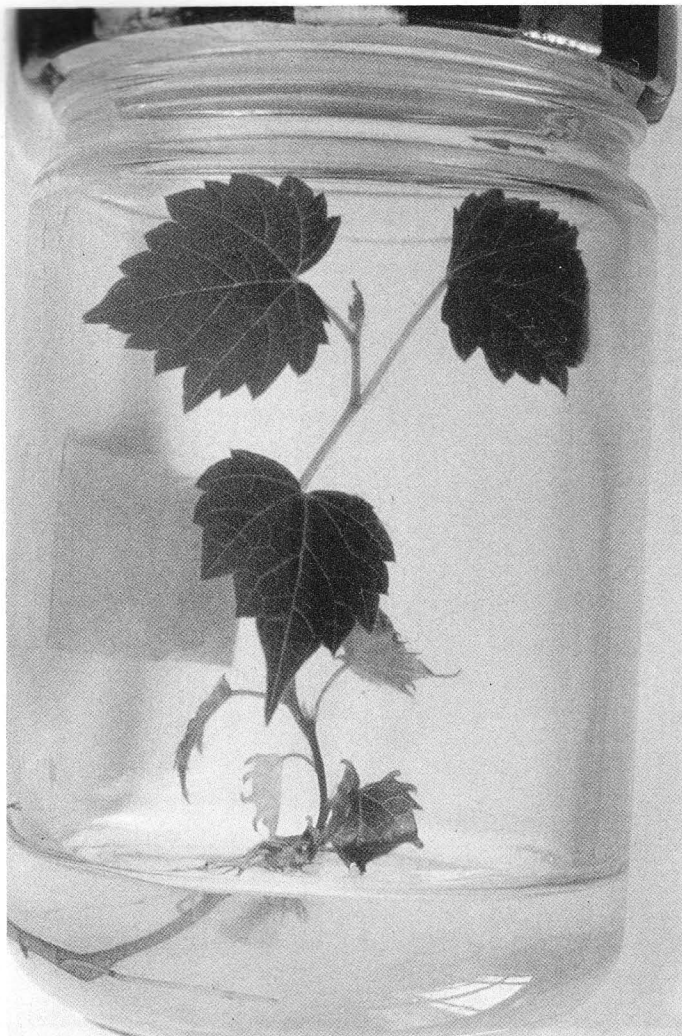


Fig. 7 - Piantina in vitro già sviluppata. La fillostassi tende a diventare più conforme alla condizione adulta con foglie opposte.

e non organizzate in tessuti ma ammassate disordinatamente, fu il risultato delle prime ricerche sulle colture di tessuti vegetali.

Le prime annotazioni sulla coltura di tessuti di Vite furono di Morel (1944 a) che coltivò frammenti di tessuto cambiale proveniente da tralci e osservò la produzione di callo in corrispondenza dell'estremità basale dell'espianto. Molte delle ricerche di quegli anni furono volte ad ottenere la proliferazione callosa. Morel (1944 b) studiò l'azione dell'IAA sulla proliferazione cellulare, e in seguito, (Morel, 1945) l'origine e i caratteri anatomici del callo ottenuto. Coltivando ripetutamente i calli su un substrato a bassa concentrazione auxinica, ottenne linee o «cloni» cellulari dal comportamento diverso: colture sensibilizzate alle auxine e colture «abituata», cioè insensibili alle auxine stesse (Morel, 1946, 1947 a, 1948). Entrambi questi tipi di colture potevano svilupparsi più o meno intensamente in assenza di auxine, al contrario delle colture normali, subito dopo l'impianto.

Kulescha (1949) dimostrò che il livello di auxine endogene delle colture «abituata» era notevolmente più alto di quello degli altri tipi di colture, mentre Duhamet (1951 b) riportò che il latte di cocco contrasta l'effetto inibitore del NAA sulla callogenesi in tessuti «abituati». Secondo i risultati di Fallot (1955 a, b) l'intensità della callogenesi e la sua polarità, in frammenti di tralcio, sono correlati al genotipo, alla presenza di NAA nel substrato e al momento del prelievo. Inoltre (Fallot, 1964) tra la divisione cellulare e la presenza di certi batteri vi sarebbe una relazione positiva.

Secondo Alleweldt (1962) l'intensità della callogenesi in fram-

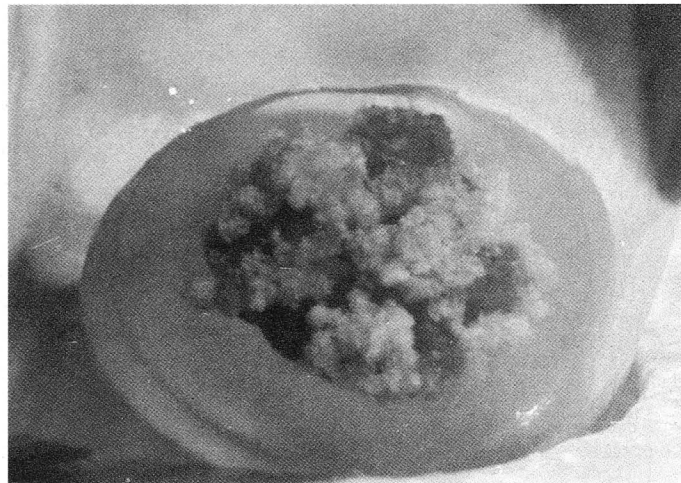


Fig. 8 - Sviluppo di callo da un frammento di tralcio.

menti di internodi dipende anche dal periodo dell'anno in cui sono prelevati dalla pianta madre.

Sono state condotte numerosissime ricerche sulle differenze fisiologiche, biochimiche e trofiche tra tessuti derivati da galle fillosseriche e tessuti normali: in proposito vedasi il capitolo dedicato alle colture di tessuti nello studio delle ampelopatie.

La callogenesi è riscontrabile in svariatissime condizioni colturali: per maggiori dettagli si rimanda ai paragrafi relativi alla coltura di antere e di protoplasti, allo studio dell'organogenesi e dell'embriogenesi somatica, alle ricerche sul ciclo vitale di alcuni parassiti della vite e alla produzione e studio dei composti metabolici. In particolare, molte prove eseguite ponendo in coltura frammenti di tralci hanno dato come risultato la produzione più o meno contemporanea di callo e radici: la descrizione di tali prove è riportata nel capitolo dedicato alla rizogenesi. Qui di seguito verranno quindi illustrate le esperienze aventi come scopo lo sviluppo di callo oppure di cellule isolate e la loro prolungata coltura.

Staudt et al. (1972) confrontano la crescita di callo diploide e tetraploide ottenuto da frammenti di tralci e piccioli delle cultivars «Riesling» e «Portugieser», constatando che la maggior crescita in volume del callo tetraploide non è accompagnata da un proporzionale aumento del peso secco dei tessuti: il maggior incremento del volume e della lunghezza delle cellule tetraploidi è dovuto all'acqua presente nelle cellule stesse.

Hawker et al. (1973) ottengono la produzione di callo a partire da frammenti di acini coltivati su mezzo solido addizionato di NAA (0,5  $\mu$ M) e kinetina (0,9  $\mu$ M). L'intensità della callogenesi dipende dallo stadio di sviluppo dell'acino (l'optimum si ha quando il suo diametro è di circa 5 mm) e dalla varietà; vengono eseguite numerose subcolture del callo così ottenuto, su substrato sia solido che liquido.

Jona e Webb (1978) saggiano l'influenza di diversi substrati sulla callogenesi in frammenti di vari organi vegetativi; il substrato di base migliore risulta quello proposto da Hawker et al. (1973), cui vengono aggiunti 5,4  $\mu$ M di NAA e 0,9  $\mu$ M di kinetina. In seguito, Jona (1981) mette a punto una sequenza di vari substrati per la produzione di callo e, da questi, di cellule isolate in sospensione.

Viene descritto l'effetto sulle colture di callo di 2,4-D, di kinetina ad alte concentrazioni (Vashakidze e Bezhushvili, 1979) e di iso-pentenil amino purina e di acido feniltioureidosalicilico (Izvorska et al., 1982), oppure di fattori ambientali, quali intensità e lunghezza d'onda della luce e pH del substrato (Lai e I, 1980). Schenk e Hildebrandt (1972) coltivano tessuti callosi di vite sul substrato di loro definizione, ottenendone una buona crescita, mentre Conner e Meredith (1984) applicano alla vite un nuovo sistema di coltura consistente nell'uso di carta filtro su supporto di poliu-

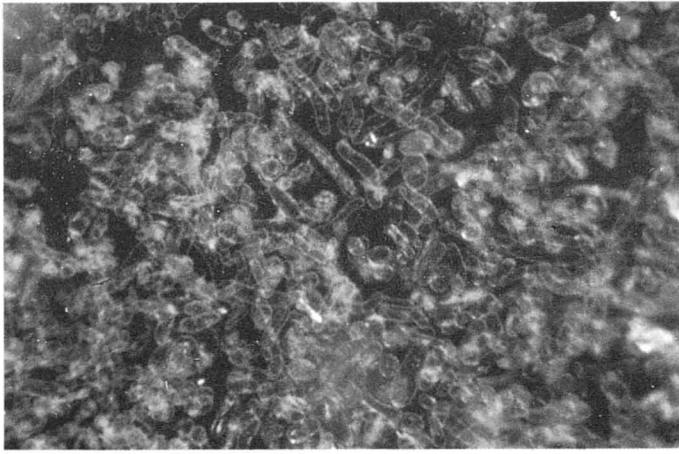


Fig. 9 - Sospensione di cellule derivate da callo di vite.

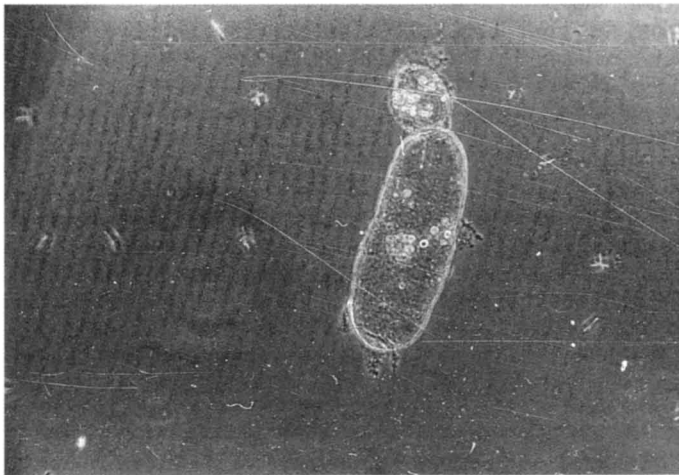


Fig. 10 - Proliferazione di una cellula derivata da callo di vite.

retano imbevuti di substrato liquido. Con tutte le tre cultivar saggiate il sistema stimola una maggiore crescita che su agar.

Alcuni studi sono stati basati sulla coltura contemporanea di calli di specie diverse per saggiarne l'affinità (Fujii e Nito, 1972; Chernyshova e Muromtsev, 1973). Izvorska e Lillov (1980) rilevano differenze nella pigmentazione del callo ottenuto da meristemi di viticci (rosso-violetto) e di germogli (incolore).

#### 4. Organogenesi avventizia

Le colture *in vitro* di tessuti diversi dai meristemi possono dare luogo, oltre che alla callogenese, alla formazione di germogli avventizi (caulogenesi). Hirabayashi et al. (1976) hanno ottenuto la formazione di germogli da callo sviluppato da antere, soprattutto quando queste siano poste in coltura durante la fase di formazione delle tetradi. Favre (1977) ha coltivato *in vitro* frammenti di picciolo e di lembo fogliare dell'ibrido 3309 C, ottenendo, oltre a callo e radici, formazione di assi fogliari. Il substrato migliore per l'organogenesi è risultato essere il M.S. con l'aggiunta di BA (0,5  $\mu\text{M}$ ) e IAA (10  $\mu\text{M}$ ).

Rajasekaran e Mullins (1981 a) hanno posto in coltura segmenti di internodi di numerose cultivars di viti e di ibridi; anche qui l'organogenesi si verifica quando gli espianti, callificati, vengono trasferiti su un substrato contenente sia auxine (2,4-D e NOA) che BA. La formazione di gemme avventizie è apparsa strettamente

legata al genotipo e alla maturità della pianta madre: infatti essa ha avuto luogo solo prelevando gli espianti da semenzali di cultivars ibride.

Anche O'Donnell et al. (1982) hanno posto in coltura internodi di *V. vinifera* cv. Grenache su un substrato contenente 20-25  $\mu\text{M}$  di NAA e 0,4  $\mu\text{M}$  di BA. Abbassando la concentrazione di auxine fino alla loro esclusione dal substrato si differenziano formazioni contenenti elementi vascolari.

Iordan et al. (1984); Brezeanu et al. (1984), invece, ottengono la formazione di germogli avventizi in segmenti di giovani raspi. Questa morfogenesi avviene solo in alcune cultivar, sul substrato di M.S. addizionato di BAP (10  $\mu\text{M}$ ) e IAA (10  $\mu\text{M}$ ).

È anche un esempio di organogenesi avventizia la formazione di germogli da apici frammentati: gli studi eseguiti da Barlas e Skene (1978, 1980 b) e da Barlass et al. (1981) dimostrano che i frammenti di primordi fogliari originano strutture di tipo fogliare, dalle quali proliferano poi i germogli avventizi.

#### 5. Embriogenesi somatica

Il primo caso di embriogenesi somatica, cioè di formazione di embrioidi a partire da cellule diverse dall'oosfera fecondata, è quello riportato da Mullins e Srinivasan (1976, 1978) in un clone di «Cabernet-Sauvignon». Essi pongono in coltura ovuli non fecondati, provocando la callificazione di cellule della nucella all'estremità micropilare; da questo callo si differenziano gli embrioidi che, successivamente, si sviluppano in plantule, realizzando così un'apomissia *in vitro*. Il migliore mezzo di coltura è quello di Nitsch (1951), liquido nella prima fase della coltura, con (2,5-5  $\mu\text{M}$ ) di BA e 5  $\mu\text{M}$  di NOA; gli embrioidi neoformati sono poi trasferiti su mezzo agarizzato, in presenza di GA (1  $\mu\text{M}$ ) e 2ip (5  $\mu\text{M}$ ).

In seguito (Srinivasan e Mullins, 1980) la tecnica è stata affinata per aumentare la produzione di embrioidi di origine secondaria e terziaria, cioè prodotti a loro volta da embrioidi di origine somatica.

La sequenza è stata modificata, ma è sempre caratterizzata da una prima fase culturale con presenza contemporanea di auxine e citochinine; la formazione degli embrioidi è ottenuta su un mezzo senza ormoni.

Krul e Worley (1977) hanno ottenuto embrioidi somatici e plantule intere dalla cultivar ibrida «Seyval». Il callo embriogenetico è in questo caso originato da organi vegetativi (frammenti di tralcio) e presumibilmente anche da parti fiorali; l'embriogenesi ha luogo quando nel mezzo di coltura M.S. il 2,4-D è sostituito dall'NAA. La produzione di embrioidi è elevata grazie alla frequente formazione di embrioidi secondari.

Krul e Myerson (1980) propongono un ciclo produttivo imperniato sulla replicazione degli embrioidi, la loro conservazione a 4°C e la successiva formazione di plantule, proponendo altresì alcune spiegazioni delle modificazioni morfologiche e del vigore presentati dalle plantule così ottenute. Anche Myerson (1981) studia diversi fattori influenzanti l'embriogenesi primaria e secondaria e lo sviluppo delle plantule, particolarmente in relazione alla dormienza degli embrioidi.

Rajasekaran e Mullins (1979, 1981 b, 1983 a, 1983 b) ottengono la formazione di embrioidi somatici da coltura di antere; il callo è originato da cellule della parete delle antere. La capacità callogenetica e embriogenetica è legata al genotipo, e gli embrioidi hanno bisogno di un periodo di tempo a 4°C per superare la dormienza e dare plantule regolarmente formate. Anche Hirabayashi e Akihama (1982) inducono la formazione di callo e quindi l'embriogenesi somatica da antere di varie *Vitis*, mentre Zou e Li (1981) ottengono l'embriogenesi e la formazione di piante aploidi da antere di *Vitis vinifera*. (V. §. «Coltura di antere»). Takeno et al. (1983) studiano anch'essi l'embriogenesi in callo prodotto da antere e il successivo sviluppo degli embrioidi, rilevando le variazioni quali-quantitative delle sostanze gibberellino-simili endogene.

## 6. Coltura di ovuli ed embrioni

Già Galzy e Galzy (1964) misero a punto una tecnica di coltura di embrioni prelevati da semi della Cv. «Aramon» autofecondata. Le plantule così ottenute servirono all'analisi genetica del carattere «screziatura bianca»; il latte di cocco risultò indispensabile per lo sviluppo degli embrioni.

Più recentemente si è cercato di utilizzare le colture di ovuli fecondati per superare i problemi posti dal miglioramento genetico delle cultivar apirene o i cui semi abortiscono prima della maturità. Cain (1980) ha ottenuto uno sviluppo, seppure parziale, degli embrioni di semi non germinabili, dimostrando che tali embrioni possono essere vitali. Ramming e Emershad (1982) ottengono lo sviluppo di plantule normali dal clone apirene P60-58, mentre la coltura di ovuli e successiva subcoltura di embrioni di «Thompson Seedless» dà luogo solamente a sviluppo di individui anormali (Emershad e Ramming, 1982).

Cain et al., (1983) rilevano che aumentando la distanza del momento del prelievo dall'antesi aumenta, di solito, lo sviluppo degli embrioni in coltura; la composizione del substrato non sembra avere influenza sullo sviluppo degli ovuli prelevati a partire da 24 giorni dopo l'antesi. Tra i numerosi cloni e cultivar di viti apireni e normali posti in coltura soltanto uno (il C35-33) ha prodotto plantule vigorose. Recentemente, Ramming e Emershad (1984) riportano che embrioni di cultivars precoci coltivati *in vitro* hanno prodotto plantule, consentendo così di incrementare la germinazione di semi normalmente poco germinabili. Nakagawa et al. (1983), invece, pongono in coltura ovari non fecondati, prelevandoli due giorni prima della fioritura. Gli ovari di una cultivar tetraploide di *V. labruscana*, si sviluppano partenocarpicamente con andamento a doppia sigmoide. Lo sviluppo degli ovari è stimolato soprattutto dalla presenza di BA, mentre estratti e succhi naturali non producono effetti di rilievo.

## 7. Coltura di antere

L'obiettivo di queste ricerche è di ottenere dai granuli pollinici piante aploidi, punto di partenza per la creazione di linee omozigoti preziose per il miglioramento genetico. Gresshoff e Doy (1974), Kim e Paek (1981) hanno ottenuto la formazione di callo da antere di alcune cultivar di *V. vinifera* con diverse combinazioni di IAA, NAA e Kinetina; non hanno però rilevato alcun caso di organogenesi. I primi due autori, oltre ad aver verificato l'aploidia del callo, segnalano che i momenti più favorevoli per l'inizio della coltura sono gli stadi di tetrade e di granulo pollinico uninucleato.

Hirabayashi et al. (1976) hanno ottenuto la differenziazione di germogli e radici da antere di *V. thunbergii*, ma non ne riportano il numero cromosomico. Hirabayashi e Akihama (1982) hanno posto in coltura antere di 28 cloni e cultivars di *Vitis spp.*: le antere di 13 di essi hanno prodotto callo e successivamente embrionidi e piante normali diploidi.

Dopo alcuni tentativi infruttuosi (Mullins, 1971), Rajasekaran e Mullins (1979) hanno messo a punto un metodo per ottenere embrionidi e quindi piante complete da antere di *V. vinifera* x *V. rupestris*; essi sottolineano l'importanza di mantenere a 4° C per un certo periodo di tempo gli embrionidi, al fine di permettere la formazione di piante morfologicamente normali. Le cultivars fisiologicamente maschili di viti ibride danno i risultati migliori; tutte le piante ottenute sono diploidi. Negli anni seguenti questi autori hanno approfondito diversi aspetti di tale metodo. Sull'origine delle piante diploidi ottenute da colture di antere sono stati eseguiti diversi studi sulla genetica, la citologia, l'assetto enzimatico e il contenuto in DNA dei nuclei (Rajasekaran e Mullins, 1981 b, 1983 b): l'ipotesi proposta è che il callo prodotto dalle antere e da cui gli embrionidi derivano sia di origine somatica. Rajasekaran e Mullins (1983 a) hanno poi confermato che la capacità delle antere di formare callo e embrionidi è legata al genotipo e all'espressione

morfologica del sesso: le viti ibride (con l'eccezione della *V. vinifera* «Grenache») e le forme maschili hanno una attitudine alla formazione di callo e embrionidi molto maggiore di quella della *V. vinifera* e delle forme ermafrodite.

Zou e Li (1981) riportano il primo caso di ottenimento di piante aploidi da antere di *V. vinifera* da cui si sviluppano embrionidi che a loro volta si sviluppano in plantule.

## 8. Protoplasti

Nonostante che l'uso dei protoplasti apra notevoli prospettive nel campo del miglioramento genetico (basti ricordare l'ibridazione somatica), poche ricerche sono state finora condotte in questo ambito sulla vite.

Mentre Benbadis e Baumann (1973) hanno ottenuto protoplasti da cellule di callo causato da tumore del colletto, Burgess e Linstead (1976) hanno studiato il legame tra concanavalina A e plasmalemma in protoplasti ottenuti da sospensioni di cellule provenienti da segmenti di tralci.

Skene (1974) segue il processo di rigenerazione della parete cellulare, che avviene già al 2° giorno dopo l'ottenimento dei protoplasti da tessuti di pericarpo, e, successivamente, le eventuali prima e seconda divisione cellulare. Con ricerche successive Skene (1975) riesce a incrementare le percentuali di divisione cellulare, giungendo ad ottenere un callo capace di successive divisioni cellulari.

Hasler et al. (1982), invece, dimostrano la validità dell'uso dei protoplasti negli studi sulla fisiologia e sulla biochimica del metabolismo nella vite. Le prove al cromatografo GLC e mediante incorporazione di  $^{14}\text{CO}_2$  indicano che i protoplasti ottenuti riflettono lo stato metabolico del tessuto di origine. Successivamente, gli stessi autori (Hasler et al., 1983) hanno effettuato uno studio istochimico al microscopio elettronico dei protoplasti da loro ottenuti, confermandone la vitalità e la mancanza di residui di parete cellulare.

## 9. Studi sul metabolismo e produzione di particolari composti

La coltura di cellule di vite è stata usata come mezzo per approfondire le ricerche sulla biogenesi di alcuni composti.

Dopo alcune esperienze preliminari (Ambid e Fallot, 1981) sull'effetto di alte concentrazioni di  $\text{CO}_2$  sulla produzione di alcuni alcoli monoterpici, Ambid et al. (1982, 1983; Fallot et al., 1982) hanno studiato il metabolismo dei monoterpini in colture cellulari di «Moscato di Frontignan», introducendo nel mezzo di coltura geraniolo e nerolo, rilevando poi con metodi cromatografici la presenza di vari composti nel substrato e nelle cellule. Gli autori giungono a proporre quindi uno schema di interconversioni per la biotrasformazione di geraniolo e nerolo in altri composti.

Un altro filone di ricerche ha approfondito la biogenesi degli antociani in colture di tessuti callosi di *Vitis spp.* Slabecka e Szweykowska (1952, 1955) hanno studiato la produzione di antociani in relazione a variazioni nel contenuto di saccarosio e nitrati del substrato e nell'illuminazione delle colture, dimostrando che l'incremento della presenza di antociani è legato all'aumento del potenziale osmotico del mezzo di coltura.

Yamakawa et al. (1982) hanno dapprima cercato di selezionare linee cellulari omogenee e stabili, capaci di produrre forti quantità di pigmenti antocianici, usando il «feeder method». In seguito (Yamakawa et al., 1983 a) sono stati identificati 3 dei 6 pigmenti antocianici prodotti da colture di callo e sospensioni cellulari di vite ibrida al buio; infine Yamakawa et al. (1983 b) hanno ricercato le condizioni ottimali di coltura di tessuti callosi al fine di ottenere una rilevante produzione di antociani. Sono stati studiati i rapporti tra 2, 4 D e kinetina,  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ , C/N e vari livelli di  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , intensità luminosa e aerazione. Sia quest'ultima ricerca che quella di Slabecka — Szweykowska (1952) hanno con-

stato che di frequente vi è proporzionalità inversa tra produzione di antociani e crescita ponderale dei tessuti.

Loveys et al. (1975) hanno indagato sulla biosintesi dell'acido abscissico a partire da acido mevalonico in cui siano stati incorporati due marcatori radioattivi ( $^{14}\text{C}$  e  $^3\text{H}$ ). Le cellule oggetto di questi studi erano sospese in substrato liquido, e l'aggiunta di manitolo al substrato creando uno stress osmotico, ha causato la plasmolisi delle singole cellule e un aumento nella produzione dell'ABA.

Pirie e Mullins (1976), invece, utilizzano frammenti (dischi) di foglie della cv. «Cabernet Sauvignon», posti su soluzioni di varie sostanze, al fine di studiare i meccanismi della biosintesi dei composti fenolici. Saccarosio e acido abscissico inducono sinergisticamente la formazione sia di polifenoli che di antociani.

## 10. Fisiologia della fioritura e della maturazione degli acini.

La coltura di tessuti ha anche contribuito all'approfondimento degli studi riguardanti la fisiologia della fioritura, in particolare per quanto riguarda l'azione dei fitormoni sulla formazione delle infiorescenze. Pool (1975) pone in coltura germogli con giovani infiorescenze o direttamente singoli fiori, al fine di studiare lo sviluppo degli organi fiorali in assenza di radici. I risultati ottenuti dimostrano l'azione positiva delle citochinine sullo sviluppo del pistillo, nonostante che non sia stato formato un sacco embrionale funzionale.

Favre e Grenan (1979) hanno osservato il comportamento di piante *in vitro*, radicate, di 31 cv. Di queste, 27 hanno formato viticci e 6 anche infiorescenze o fiori isolati: la produzione di fiori *in vitro* appare strettamente legata a quella dei viticci.

Srinivasan e Mullins (1978) ottengono la formazione di viticci in viti coltivate *in vitro*; questi viticci vengono a loro volta posti in coltura e si sviluppano in infiorescenze quando coltivati su mezzo liquido in presenza di citochinine, oppure quando le citochinine siano applicate direttamente sugli apici dei viticci stessi.

Mur (1978) ha osservato che viti coltivate su substrato relativamente ricco mostrano un maggior vigore, una migliore rizogenesi, la formazione di viticci (senza però una distribuzione regolare) e, in qualche caso, di infiorescenze. Nella cultivar «Pinot Meunier» alcuni fiori si sono evoluti in piccole bacche, il cui sviluppo si è però fermato precocemente.

Anche Lilolv e Izvorska (1978) ottengono la formazione di gemme fiorali da apici di viticci coltivati *in vitro* su substrato addizionato di 2,4-D, IAA e Kinetina.

Gli studi sulla coltura *in vitro* di acini finora eseguiti sono pochi. Radler (1964) tentò la coltura *in vitro* di piccole bacche, prelevate a 10-15 giorni dalla fioritura quando il diametro è di circa 2mm: ottenne una loro crescita fino a dimensioni di 6-7 mm di diametro (10 mm nella cv. «Sultana»), crescita comunque più lenta di quella *in vivo*. Si rivelarono favorevoli alla crescita la presenza di zuccheri e di NAA, sfavorevoli il 2,4-D e l'estratto di lievito.

Al fine di definire il ruolo degli acini nella sintesi degli acidi organici, Skene e Hale (1971) hanno indotto *in vitro* lo sviluppo di bacche di 3-5 mm di diametro sviluppatasi da fiori di *V. vinifera* cv. «Zante Currant», prelevati pochi giorni prima dell'antesi. Confrontando il loro contenuto in acido tartarico e acido malico con quello di bacche cresciute contemporaneamente in campo, è stato osservato che la sintesi di acido malico avviene normalmente in tutte le bacche, mentre l'acido tartarico è assente nelle bacche *in vitro* e presente in quelle *in vivo*.

Anche Hawker et al. (1973) coltivano *in vitro* parti di giovani bacche di vite, ma allo scopo di indurre in esse abbondante callogenesi.

## 11. Analisi genetica

Skene e Barlass (1983 a) hanno utilizzato la coltura di fram-

menti di apici per studiare il genotipo della cultivar «Meunier», una presunta chimera periclinal del «Pinot» dal quale è fenotipicamente distinguibile. Lo sviluppo di germogli caratterizzati da zone ora tomentose (cv. «Meunier»), ora glabre (cv. «Pinot»), oppure, in piccola quantità, somiglianti totalmente all'uno o all'altra cultivar, ha dimostrato che, conformemente a quanto si sospettava, la cv. «Meunier» è una chimera periclinal della cv. «Pinot». Inoltre i germogli avventizi derivati dalla proliferazione degli apici hanno origine pluricellulare che può, in molti casi, oltrepassare i limiti istologici della chimera.

## 12. Studio delle ampelopatie di origine animale o vegetale

Le applicazioni delle colture *in vitro* allo studio dei patogeni animali e vegetali della vite e della loro interazione con l'ospite sono state tra le prime ricerche effettuate nel campo della coltura di tessuti.

Morel (1944 c, 1948) ottenne per la prima volta sviluppo di peronospora o di oidio su tessuti callosi di vite coltivati *in vitro*; queste doppie colture, mantenute per lunghi periodi di tempo mediante subcolture e reinoculazioni, furono usate come fonte di inoculi in purezza per successivi esperimenti *in vivo* (Morel 1947 a, 1947 b). Boubals (1957, 1959, 1961) usò il metodo messo a punto da Morel per studiare i fenomeni di resistenza a oidio e peronospora di diverse specie e cultivars di Vitacee, rilevando che la sensibilità e la reazione ai patogeni dei tessuti callosi *in vitro* rispecchiano quelle delle piante *in vivo*.

Più recentemente, Aldwinckle e Buturac (1980 b, 1981) hanno ottenuto lo sviluppo di oidio e peronospora sulle foglie di piantine complete di diverse *Vitis* coltivate *in vitro*; analoghi risultati sono stati ottenuti da Lee e Wicks (1982) con colture di peronospora su piante *in vitro* di *V. vinifera*. Questi autori suggeriscono la possibilità di usare queste «doppie colture» per individuare nuove fonti di resistenza al patogeno e per valutare l'effetto fungicida di nuovi fitofarmaci, così come è stato fatto per il metalaxil (Lee e Wicks, 1982).

Numerosi studi sono stati fatti sui tessuti callosi ottenuti da galle di *Agrobacterium tumefaciens* («crown gall») su *V. vinifera*, a partire dalle prime ricerche di Morel (1948). Kulescha (1949) dimostrò la presenza in essi di una quantità relativamente alta di auxine endogene e Paupardin e Gautheret (1954) rilevarono che la dissociazione di tali tessuti era esaltata dalle auxine. Duhamet (1951 a) studiò la loro sensibilità a diverse concentrazioni di latte di cocco nel substrato. Furono confermate (Duhamet, 1951 b) similitudini nel comportamento fisiologico tra tessuti tumorali e tessuti «abituati» alle auxine, ma fu altresì rilevata la presenza di differenze, a livello fisiologico o ormonale, tra i due tipi di tessuto: infatti Braun e Morel (1950) riportarono che le reazioni di rametti di vite all'innesto di piccole porzioni di tali tessuti erano molto più marcate nel caso di innesto di tessuti derivati da galle. In seguito Reinert (1963) coltivò callo originato da galle batteriche su un substrato definito (senza cioè latte di cocco e altre sostanze di composizione variabile), rilevando in sospensioni cellulari differenze nel tempo necessario al verificarsi della prima divisione delle cellule.

Le esigenze fisiche e nutrizionali dei tessuti callosi derivanti da galle di Fillossera e Cecydomia su *V. riparia* sono state ampiamente studiate e comparate a quelle dei tessuti normali (Pelet et al., 1957; Pelet, 1959; Pelet et al., 1960). Hildebrandt et al. (1961) notarono che il callo ottenuto da galle di Fillossera è composto da cellule con esigenze chimiche e fisiche diverse e comportamento diverso; essi ottennero l'isolamento e la crescita *in vitro* di «cloni» di tessuto derivanti da singole cellule. Alcuni di questi cloni (tre da tessuti normali e tre da galle, con diversa velocità di accrescimento) furono usati per compiere numerose ricerche su vari aspetti delle colture, rilevando le eventuali differenze di comportamento tra tessuti normali e da galle, e, all'interno di questi, tra diversi cloni. Furono studiati gli effetti di diverse concentrazioni

di vari mono e disaccaridi nel substrato (Arya et al., 1962 a), le differenze nell'accrescimento di cloni sullo stesso mezzo di coltura in termini di peso fresco, peso secco e numero di cellule (Arya et al., 1962 b), il contenuto in acidi nucleici dei tessuti (Arya et al., 1962 c), l'effetto della presenza nel substrato di inositolo, NAA e acidi nucleici sull'accrescimento (Arya, 1963), le variazioni indotte dalla presenza di acidi nucleici nel substrato sul contenuto in acidi nucleici dei tessuti (Arya, 1964). Fu eseguita l'analisi degli zuccheri (Warick e Hildebrandt, 1964) e dei composti azotati (Warick et al., 1964; Warick e Hildebrandt, 1966) presenti nei tessuti dei singoli cloni cellulari; fu valutata l'importanza delle vitamine come fattore di crescita (Arya, 1965 a) e il generale comportamento colturale di questi tessuti *in vitro* (Arya, 1965 b); fu valutato l'effetto del NAA sul contenuto in acidi nucleici e composti azotati dei tessuti (Arya, 1965 c). Successivamente Arya e Hildebrandt (1969 a, b) studiarono le conseguenze dell'irraggiamento con  $^{60}\text{Co}$  sulla sopravvivenza delle cellule e sulla crescita del callo, adottando anche particolari sostanze y — protettivi. Goyal e Goyal (1970 a,b) rilevarono gli effetti della presenza di acidi nucleici nel substrato su cellule, nuclei e nucleoli dei vari cloni in coltura; successivamente Goyal e Goyal (1971) definirono la correlazione esistente tra il rapporto C/N (dimensioni della cellula e del nucleo) e il rapporto N/Ni (dimensioni del nucleo ed del nucleolo).

Un particolare esperimento è stato proposto da Rilling e Raddler (1960): lo studio dello sviluppo *in vitro* della Fillossera su callo di Vite. L'ambiente controllato ha permesso (Rilling, 1961) di effettuare ricerche sull'influenza dei fattori chimici sul ciclo di sviluppo del parassita.

### 13. Lotta contro le virosi

L'importanza del disporre di materiale di propagazione esente da virus è ormai ben nota. Il metodo tradizionale e largamente usato per eliminare le virosi è la termoterapia, che da non molti anni è stata affiancata dalla coltura di meristemi, in seguito alla constatazione che i meristemi apicali sono i tessuti meno invasi dal virus. Le combinazioni dei due metodi al fine di aumentarne l'efficacia sono frequenti.

Galzy (1961, 1962, 1964, 1966, 1970, Galzy e Galzy 1964) ha messo a punto una metodologia di risanamento di piante affette da arricciamento e da altre virosi, consistente nel sottoporre a termoterapia a 35° C per tre mesi le piante coltivate *in vitro* su un substrato piuttosto povero di sali e senza ormoni. Per effettuare questo trattamento si serve di stufe appositamente ideate (Galzy e Nigond, 1968). In seguito (Galzy, 1969 b) ha approfondito le ricerche sul substrato di coltura per la propagazione mediante microtaleggio delle viti risanate, comparando il comportamento su di esso di viti virosate con viti sane o risanate. Le piante virosate coltivate *in vitro* si distinguono per la deformazione delle foglie e la scarsa capacità rizogenica (Galzy 1965; Galzy e Compan, 1968). Le temperature ottimali per la crescita dei germogli e la radicazione delle viti sane e di quelle virosate differiscono tra loro (Galzy, 1969 a).

Mur et al. (1979 a), applicando la metodologia della Galzy, ottengono la guarigione dal virus dell'accartocciamento dopo 70 giorni a 38° C: la temperatura più elevata, pur comportando una più alta mortalità delle piante, consente l'eliminazione di virosi «difficili». Infatti, se il virus dell'arricciamento è eliminabile in maniera relativamente facile, altri, quali i virus dell'accartocciamento, della maculatura infettiva e in particolare della necrosi delle nervature, sono più difficili da debellare (Verdervskaya e Marinecu, 1972; Valat et al., 1979, Mur, 1979). Inoltre, la riuscita dei trattamenti contro le virosi dipende anche dal genotipo delle viti (Mur, 1979). Le viti coltivate *in vitro* e sottoposte a termoterapia presentano delle modificazioni morfologiche, quali seni fogliari e pubescenza più accentuati, colore rossiccio dei rami e bronzio delle foglie giovani. Queste modificazioni sono meno accentuate nel caso

di portainnesti (Mur et al., 1979 b). Il ritorno alla morfologia originaria è legato ad un ritmo di crescita lento e al rango alto dei nodi del tralcio (Grenan, 1979 b).

Già Mur e Markovitch (1976) hanno osservato un aumento di vigore e quindi di produzione di legno in Viti portainnesto sottoposte a termoterapia *in vitro*; tale aumento di vigore pare proporzionale al numero di periodi di termoterapia a cui le piante sono sottoposte. Valat et al. (1981) confermano questo comportamento in specie di *Vitis* portainnesto, mentre rilevano variazioni nei caratteri ampelografici e di comportamento in *Vitis vinifera* tali da rendere consigliabile un approfondimento delle ricerche in merito. Mur (1975) descrive una stufa a bagno maria utilizzata per la termoterapia delle colture *in vitro*.

Il metodo della termoterapia eseguita su Viti coltivate *in vitro* è applicato anche da Valat e Mur (1976) sulla cultivar «Cardinal Rouge», da Pena-Iglesias e Ayuso (1973) su cultivars spagnole, e da Sasahara et al. (1981). Monette (1983, a) sottopone a termoterapia viti coltivate *in vitro* nella fase di proliferazione; il trattamento consiste in una alternanza di 6 ore a 39° C e 18 ore a 22° C. Il tempo richiesto per eliminare il virus dell'accartocciamento è molto superiore a quello necessario per il virus dell'arricciamento. Al trattamento termico segue il prelievo e la coltura degli apici delle viti trattate.

Stevenson e Monette (1983) e Monette (1983 a,b,c) aggiungono al substrato di coltura DHPA, vidarabina e ribavirina che sono usate nella chemioterapia delle virosi. I risultati appaiono però piuttosto incerti: mentre DHPA e vidarabina si sono dimostrati poco efficaci e piuttosto fitotossici, la ribavirina mostra un certo potere virostatico che, combinato con la coltura di meristemi, può portare all'ottenimento di viti esenti dalla virosi dell'accartocciamento.

Altri ricercatori, invece, sottopongono a termoterapia le viti in vaso ed in seguito prelevano gli apici delle piante trattate e li coltivano *in vitro*. In tal modo vengono tra l'altro superate le difficoltà di radicazione presentate dalle viti sottoposte a termoterapia. Già Gifford e Hewitt (1961), hanno applicato questa tecnica, ottenendo viti esenti dalla virosi dell'arricciamento ma con una percentuale di radicazione attorno al 2%. In seguito, questo metodo è stato adottato da Ottenwaelter et al., (1973), da Vuittenez et al., (1974), da Legin et al. (1979) e da Mikushova (1979), su diverse cultivars affette da virosi, con percentuali più o meno alte di rizogenesi e di virusesenza delle piante ottenute. Bass e Vuittenez (1976, a,b) e Bass et al. (1976) invece prelevano e pongono in coltura l'intera parte terminale dei germogli, lunga 5-10 cm.

Recentemente è stata proposta una nuova metodologia per superare le difficoltà di sviluppo dei meristemi dovute alle loro piccolissime dimensioni. Esso consiste nel «microinnesto» *in vitro* di un meristema, prelevato da una vite sottoposta a termoterapia, su una plantula da seme (Bass et al., 1976; Bass e Vuittenez, 1976, a,b; Engelbrecht e Schwerdtfeger, 1979) o su una talea erbacea di portainnesto (Ayuso e Pena-Iglesias, 1976). In seguito, Pena-Iglesias e Ayuso (1980) propongono una modifica del metodo: l'innesto laterale del meristema, lasciando un germoglio del portainnesto con funzione di indicatore per verificare la effettiva virusesenza.

La sola coltura di meristemi, di dimensioni pari a qualche decimo di mm, è anch'essa un metodo utilizzato per l'eliminazione di alcune virosi. Hoefert e Gifford (1964) propongono un substrato per la coltura dei meristemi di vite. Aldwinckle e Buturac (1980 a) mettono a punto una sequenza colturale a partire da meristemi di viti affette da virosi. La prima fase di sviluppo dei germogli prevede la presenza di BA (6  $\mu\text{M}$ ) e NAA (0,5  $\mu\text{M}$ ) nel substrato proposto da Chee (1980) mentre la seconda fase prevede il rinnovo del mezzo per tre volte ad intervalli di un mese. Nel nuovo mezzo viene aggiunto Ca pantotenato e biotina secondo le indicazioni di Galzy (1964). Anche Iri et al. (1982) propongono una sequenza colturale in cui viene variato il rapporto tra auxine e citochinine; con tale metodo essi ottengono un notevole incremento della percentuale di piante virusesenti rispetto a quella ottenuta

con la termoterapia. Fanizza et al. (1983) effettuano quattro subcolture in sequenza di apici di *Vitis vinifera* cv. «Primitivo» affetta da accartocciamento. Il microscopio elettronico rivela l'assenza di *closterovirus* fin dalla seconda subcoltura malgrado la permanenza di corpi vescicolari. Per ottenere viti esenti da varie virosi Barlass et al. (1982) propongono l'uso del metodo di frammentazione degli apici, accompagnato o meno da termoterapia delle piante madri. Infine, Machich e Stoyan (1979), Bondarchuk et al. (1979) e Haydu (1984) riportano metodi per la rapida propagazione dei cloni virusesenti diffusi rispettivamente in Romania, in Moldavia e in Ungheria.

#### 14. Conservazione del Germoplasma

L'esigenza di conservare collezioni di viti è molto sentita negli ultimi anni a causa della crescente specializzazione delle colture e di una più diffusa coscienza naturalistica ed ecologica: di conseguenza si ricercano metodi che permettano di conservare numerose piante in piccoli spazi (Galzy, 1978). Morel (1975) propone la coltura di apici e la moltiplicazione *in vitro* per microtaleggio. Skene e Barlass (1983 b) conservano germogli multipli senza radici oppure piante singole radicate per 12 mesi a 9° C senza che compaiano alterazioni morfologiche o genetiche.

Altri sistemi applicati su altre piante (la crioconservazione, ad esempio) non sono stati invece sperimentati sulla vite.

#### 15. Rassegne

Alcuni autori hanno pubblicato saggi con una panoramica della situazione attuale, dei problemi e delle prospettive delle colture *in vitro* applicate alla vite: così Jona (1980), Fallot (1982), Bouquet et al. (1982).

Altri si sono occupati di problematiche particolari: Meredith (1981) riporta le nuove tecnologie di ingegneria genetica riferite alla vite, Alpi (1973) si occupa in particolare delle colture di meristemi apicali, e Valat e Grenan (1982) illustrano i metodi di lotta contro le virosi della vite.

#### 16. Problemi e prospettive

Malgrado la mole dei lavori fin qui illustrati, non si può dire che la Vite sia una delle specie che godono delle maggiori simpatie degli studiosi della coltura di tessuti. Molte metodologie vengono studiate ed applicate su altre specie e il trasferimento alla Vite tarda ad aver luogo o non ha luogo affatto. Viceversa gli studiosi di Viticoltura troppo spesso dimenticano le possibilità offerte dalla coltura di tessuti per la soluzione di specifici problemi. È quindi con l'intento di avvicinare queste due discipline che è stata preparata questa rassegna. La selezione, che è possibile con la micropropagazione, non deve essere spinta al massimo delle sue possibilità, ma, al contrario, è opportuno ed importante che proprio le metodologie più avanzate di salvaguardia del germoplasma in combinazione con quelle della micropropagazione (crioconservazione, conservazione a temperatura ridotta, ecc.) vengano messe in atto per salvaguardare quanto più è possibile i genomi pervenuti per tramandarli intatti, o quanto meno senza perdite, alle generazioni future.

#### BIBLIOGRAFIA

Acharya B.C., Ramji M.V. (1977) - *Experimental androgenesis in plants - a review*. Proc. Indian Acad. Sci., B, 86, (6), 337-360.  
 Aldwinckle H.S., Buturac I., (1980 a) - *Culture of grape cvs. from apical meristem*. 7 th Intern. Council for the Study of Viruses and Vines Diseases of Grapevine, Niagara Falls. Canada 8-12/9/1980 (A.J. Mc. Ginnis, ed.), 339-341, Agric. Canada Research Branch. Ottawa Canada.

Aldwinckle H.S., Buturac I. (1980 b) - «*In vitro*» techniques for studying obligate pathogens of *Vitis*. 3rd Intern. Symp. on Grape Breeding (H.P. Olmo ed.) 87-91, Dept. of Pomology & Vitic., Univ. of California, Davis.  
 Aldwinckle H.S., Buturac I. (1981) - «*In vitro*» culture of grapevine for study of obligate pathogens. Environ. Exp. Bot., 21, (3-4), 439).  
 Alleweldt G., (1968) - *Ein fruhdiagnostisches prinzip zur Ermittlung der Kallusbildung in der Unterlagenzuchtung*. Vitis, 7, 185-200.  
 Alleweldt G., Radler F., (1961) - *Das Wachstum von Gewebekulturen photoperiodisch vorbehandelter Rebenpflanzen (The growth of tissue cultures from photoperiodically treated vine plants)*. Naturwissenschaften, 48, 109.  
 Alleweldt G., Radler F., (1962) - *Interrelationship between photoperiodic behavior of grapes and growth of plant tissue culture*. Plant Physiol., 37, 376-379.  
 Alpi A., (1973) - *La coltura «in vitro» di meristemi apicali di specie arboree con particolare riferimento alla vite*. Riv. Ortoflorofruitticolt. Ital., 4, 268-280.  
 Ambid C., Fallot J., (1981) - *Role of the gaseous environment on volatile compound production by fruit cell suspensions cultured «in vitro»*. Proceeding of the Intern. Confer., Flavour 81, 3rd Weurman Symp., ed R. Schreir, Watter de Gruyter, Berlin - New York, 529-538.  
 Ambid C., Moisseff M., Fallot J., (1982) - *Biogenesis of monoterpenes - bioconversion of citral by a cell suspension culture of Muscat grapes*. Plant Cell Reports, 1, (3) 91-93.  
 Ambid C., Moisseff M., Fallot J., (1983) - *Interconversion des aldéhydes et des alcools monoterpéniques par des cellules de raisin Muscat cultivées «in vitro»*. Physiol. Végét. 21, (1), 87-92.  
 Arya H.C., (1963) - «*In vitro*» growth of *Phylloxera* gall & grape stem single cell clones with inositol, naphthalen acetic acid & nucleic acids. Indian J. Exp. Biol., 1, 148-153.  
 Arya H.C., (1964) - *Changes induced by nucleic acids in nucleic acid contents of *Phylloxera* gall and grape stem single cell clones in tissue culture*. Indian J. Exp. Biol., 2, 44-48.  
 Arya H.C., (1965 a) - *Vitamins as growth factors for *Phylloxera* gall and grape stem single cell clones in tissue culture*. Indiana J. Exp. Biol., 3, 126-129.  
 Arya H.C., (1965b) - *Cultural behavior of insect gall and normal plant single cell clones*. Tissue Culture (C. V. Ramachrishnan, ed.), 293-304, W. Junk Pub., The Hague, Netherlands.  
 Arya H.C., (1965c) - *Effect of naphthalene acetic acid on the nitrogen and nucleic acid contents of *Phylloxera* gall and normal grape stem single cell clones in tissue culture*. Tissue culture (C.V. Ramakrishanan, ed.) 382-287, W. Junk Pub., The Hague, Netherlands.  
 Arya H.C., Hildebrandt A.C., (1969a) - *Differential sensitivities to  $\gamma$ -radiation of *Phylloxera* gall and normal grape stem cells in tissue culture*. Can. J. Bot. 47, 1623-1628.  
 Arya H.C., Hildebrandt A.C., (1969 b) - *Effect of  $\gamma$ -radiation on callus growth of *Phylloxera* gall and normal grape stem tissue in culture*. Indian J. Exp. Biol., 7, 158-162.  
 Arya H.C., Hildebrandt A.C., Riker A.J., (1962a) - *Clonal variation of grape stem and *Phylloxera* gall callus growing in vitro in different concentration of sugars*. Am. J. Bot., 49, 368-372.  
 Arya H.C., Hildebrandt A.C., Riker A.J., (1962b) - *Growth in tissue culture of single cell clones from grape stem and *Phylloxera* gall*. Plant Physiol. 37, 287-392.  
 Arya H.C., Hildebrandt A.C., Riker A.J., (1962c) - *Nucleic acids in callus tissues form grape stem and *Phylloxera* gall*. Phyton, 19, 27-29.  
 Ayuso P., Pegna-Iglesias A., (1976) - *Microinjerto de meristemos: una nueva y prometeora tecnica para regenerar vides enfermas por virus*. Actas de la 6 Conferencia International sobre Virus y Virosis de la Vid, Cordoba (Esp.) 13-21/9/76, Monografía INIA n. 18, Madrid (1978) 319-323.  
 Barlass M., Skene K.G., (1978) - «*In vitro*» propagation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) from fragmented shoot apices. Vitis, 17, 335-340.  
 Barlass M., Skene K.G.M., (1979) - *Clonal propagation through tissue culture (grapevine)*. Australian Grapegrower and Winemaker, 191 (Nov), 12-13.  
 Barlass M., Skene K.G.M., (1980 a) - *Studies on the fragmented shoot apex of grapevine. I. The regenerative capacity of leaf primordial fragments «in vitro»*. J. Exp. Bot., 31, (121), 483-488.  
 Barlass M., Skene K.G.M., (1980b) - *Studies on the fragmented shoot apex of grapevine. II. Factors affecting growth and differentiation «in vitro»*. J. Exp. Bot., 31, (121), 489-495.  
 Barlass M., Skene K.G.M., (1981) - *Relative NaCl tolerances of grapevine cultivars and hybrids in vitro*. Z. Pflanzenphysiol. 102, (2), 147-156.  
 Barlass M., Skene K.G.M., (1982) - *A scanning electron microscope study of adventitious bud formation in the grapevine, 5° Intern. Congress*

- of Plant Tissue and Cell Culture. Tokio. 11-16/7/1982. 159-160.
- Barlass M., Skene K.G.M., (1983) - «In vitro» adventitious bud formation from grapevine shoot apex. Proc. 8th Aust. Plant. Breed. Conf., Adelaide, February 1983, 310-312.
- Barlass M., Skene K.G.M., Clingeffer P.R., (1981) - Studies on the fragmented shoot apex of grapevine. III. A scanning electron microscope study of adventitious bud formation «in vitro». J. Exp. Bot., 32, (130), 1079-1083.
- Barlass M., Skene K.G.M., Wood Dham R.C., Krake L.R., (1982) - Regeneration of virus-free grapevines using «in vitro» apical culture. Ann. Ap. Biol., 101, (2), 291-295.
- Bass P., Legin R., (1981) - *Thermothérapie et multiplication «in vitro» d'apex de vigne. Application à la séparation ou à l'élimination de diverses maladies de type viral et à l'évaluation des dégâts.* C.R. Acad. Agric. 922-933.
- Bass P., Vuittenez A., Legin R., (1976 a) - Amélioration de la thermothérapie des vignes virosées au moyen de la culture d'apex sur milieu nutritifs ou par greffages sur vignes de semis, obtenues aseptiquement «in vitro». Ann. Phytopathol. 9, 539-540.
- Bass P., Vuittenez A., Legin R., (1976b) - Amélioration de la thermothérapie de la vigne par culture d'extrémités de pousses sur milieu nutritifs ou par greffage d'apex sur plantules de semis cultivées aseptiquement «in vitro». Actas de la 6 Conferencia International sobre Virus y Virosis de la Vid, Cordoba, 13-21/9/76. Monografía INIA n. 18 (Madrid) 1978, 325-332.
- Benbadis A., Baumann F., (1973) - Etude comparative de protoplastes obtenus par traitement enzymatique à partir de divers tissus: Etude ultrastructurale et culture «in vitro». Colloques Internationaux du Centre National de la Rec. Sci. - Protoplastes et Fusion de Cellules Somatics Vegetales (B. Ephrussi, G. Morel et J. Templ, eds.), 189-205. Centre National de la Recherche Scientifique, Versailles, France.
- Bernard A.C., Mur G., (1979) - Observations sur l'organogenèse des bourgeons de plants de *Vitis vinifera* cultivés «in vitro» Ann. Amélior. Plant., 29, (3), 311-323.
- Bini G., (1976) - Prove di coltura «in vitro» di meristemi apicali di *Vitis Vinifera* L.). Riv. Ortoflorofrutt. Ital. 60, (5), 289-296.
- Bini G., (1979) - Prove di moltiplicazione «in vitro» della vite (*Vitis Vinifera* L.). Atti dell'incontro «Tecniche di colture in vitro per la propagazione su vasta scala delle specie ortoflorofrutticole», Pistoia 6/10/79, 203-210.
- Bondarchuk V.V. et al., (1970) - (Methods for the rapid proliferation of virus-free grapevine clones in Moldavia). Proceedings of the 1st conference on virus-free grapevines and renovation of vineyards with virus-free material, Modra (CS), 115-121.
- Boubals D., (1957) - Sur le comportement du mildiou de la vigne (*Plasmopara viticola* (B. et C.) Berl. et De T.) lors de l'inoculation de cultures de tissus de Vitacées. C.R. Acad. Sci., 244, 1816-18.
- Boubals D., (1959) - Contribution à l'étude des causes de la résistance des Vitacées au mildiou de la vigne (*Plasmopara viticola* (B. et C.) Berl. et De T.) et leur mode de transmission héréditaire. Ann. Amélior. Plant., 1, 5-233.
- Boubals D., (1961) - Etude des causes de la résistance des Vitacées à l'oidium de la vigne (*Uncinula necator* (Schw.) Burr.) et de leur mode de transmission héréditaire. Ann. Amélior. Plant., 11, (4), 401-500.
- Bouquet A., (1982) - Intérêt des techniques de culture «in vitro» pour la multiplication et l'amélioration génétique et sanitaire des variétés de vignes. 2° Colloque International sur la multiplication de la vigne. Bordeaux, 2-3-4 Septembre 1982, 38-43.
- Braun, Morel G., (1950) - Comparison of normal, habituated and crown gall tumor tissue implants in the european grape. Am. J. Bot. 37, 499-501.
- Brezeanu A., Iordan M., Rosu A., (1980) - The micropropagation of callus from tissue of somatic origin. Rev. Roum. Biol. Ser. Biol. Vegetale, 25, 135-142.
- Brezeanu A., Rosu A., Mirancea D., Iordan M., (1984) - «In vitro» morphogenesis for clonal propagation and breeding of *Vitis Vinifera* L. Intern. Symp. «Plant Tissue and Cell Cult. — Application to Crop Improvement», Olomouc (CS), 24-29/9/84 (Appendix).
- Burgess J., Linstaed P.J., (1976) - Ultrastructural studies of the binding of concanavalin A to the plasmalemma of higher plant protoplasts. Planta, 130, 73-79.
- Burgutin A.B., Butenko R.G., Mikhalevskaya O.B., (1984) - Grapevine multiplication «in vitro». Intern. Symp. on «Plant Tissue and Cell Culture - Application to Crop Improvement», Olomouc (CS) 24-29/9/84, 19.
- Cain D.W., (1980) - «In vitro» culture of seeded and abortive grape ovules. 77th Ann. Meet. A.S.H.S. Fort Collins (Colorado) 27/7-1/8/80, Hort-Science, 15, (3), 415.
- Cain D.W., Emershad R.L., Tarailo R.E., (1983) - In-ovulo embryo culture and seedling development of seeded and seedless grapes (*Vitis vinifera* L.). Vitis, 22, (1), 9-14.
- Chee R.P.A., (1980) - The effect of growth substances and photoperiod on shoot apices of *Vitis* cultured «in vitro» and their effects on sub-cultured shoot tips. M. Sc. Thesis, Cornell University. Ithaca Ny, U.S.A.
- Chee R.P.A., (1982) - «In vitro» micropropagation of *Vitis*. Ph. D. Thesis, Cornell University, Ithaca NY, U.S.A.
- Chee R.P.A., Pool R.M., (1982 a) - The effects of growth substances and photoperiod on the development of shoot apices of *Vitis* cultured in vitro. Sci. Hortic., 16, 17-27.
- Chee R.P.A., Pool R.M., (1982b) - «In vitro» micropropagation of *Vitis* - Results with species and CV (meeting abstr.) Hort Science, 17, (3), 530.
- Chee R., Pool R.M., (1983) - «In vitro» vegetative propagation of *Vitis*. Application of previously defined culture conditions to a selection of genotypes. Vitis, 22, 363-374.
- Chernyshova G.F., Muromtsev I.A., (1973) - (Callus growth of fruit plants in combined and separate culture). Nauchnye Doklady Vyshei Shkoly, biologicheskie Nuaki, 16, (3), 60-64.
- Ciccotti A.M., (1982) - Micropropagazione di *Vitis vinifera* L. cvs. Moscato d'Amburgo e Pinot bianco. Esperienze e Ricerche, Staz. Sperim. Agr. Forestale di S. Michele all'Adige, 11, 73-81.
- Conner A.J., Meredith C.P., (1984) - An improved polyurethane support system for monitoring growth in plant cell cultures. Plant Cell Tissue Organ Culture, 3, 59-68.
- Corte G., (1980) - Rizogenesis induction by vitamin D<sub>2</sub> on stem cuttings of *Vitis vinifera* L. Proc. of the 7th Meeting of the Intern Council for the Study of Viruses and Virus-like Disease of the Grapevine - Niagara Falls, Canada, 8-12/9/80 (A.J. Mc Ginnis ed.), 343-348, Agriculture Canada Research Branch, Ottawa, Canada.
- Cossio F., (1981) - Risultati preliminari sulla micropropagazione di «Corvina Veronese» (*Vitis vinifera* L.). Atti 3° Simp. Internaz. Selez. Clonale della Vite, 8-12/6/81, 51-55.
- Czosnowski J., (1952a) - Charakterystyka fsiologiczna trzech typow tkanex *Vitis vinifera*: Normalney, tumora bakeryjnego (crown gall): Tumora cheicznego hodowanych «in vitro». Proce Kom. Biol. Pozn. Tow. Przyj., 12, 189-208.
- Czosnowski J., (1952b) - Badania nad gospodarka witaminowa i zaurzostowymi typu auksyny. Proce Kom. Biol. Pozn. Tow. Przyj., 12, 209-221.
- Dechev I.D., Izvorska D.N., Belcheva R.N., (1983) - Means of stimulating organogenesis under «in vitro» conditions. C. R. Acad. Bulgare Sci., 36, (4) 481-484.
- Duhamet L., (1951a) - Action du lait de coco sur la croissance des cultures des tissus de crown-gall de vigne, de tabac, de topinambour et de scorsonère. C.R. Seances Soc. Biol., Paris, 145, 1781-3.
- Duhamet L., (1951b) - Action du lait de coco sur les tissus accoutumés aux hétéro-auxines de scorsonère, de tabac et de vigne. C.R. Acad. Seances Soc. Biol., 145, 1783-5.
- During D. (1976) - Gli ormoni endogeni della vite. Vignevini, 9, 27-30.
- Emershad R.L., Ramming D.W. (1982) - «In-ovulo» embryo culture of *Vitis vinifera* L. cv. Thompson seedless. HortScience, 17, (4), 576.
- Engelbrecht D.J., Schwerdtfeger U., (1979) - «In vitro» grafting of grapevine shoot apices as an aid to the recovery of virus-free clones. Phytophylactica, 11, (4), 183-185.
- Fallot J., (1955a) - Culture de tissus de quelques espèces et variétés du genre *Vitis* et leur comportement. Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse, 90, 163-172.
- Fallot J., (1955b) - Cultures aseptiques de tiges de vigne prélevées juste avant et pendant le repos hivernal. Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse, 90, 173-181.
- Fallot J., (1964) - Sur la prolifération des tissus de *Vitis* et d'autres végétaux. Rôle des bourgeons. Action des bactéries. Centre Nat. Rech. Sci., pp. 170.
- Fallot J., (1982) - La culture «in vitro» des organes, tissus et cellules de vigne. Intérêt et perspectives d'application pour la multiplication. 2° Colloque International sur la multiplication de la vigne, Bordeaux 2-4/9/1982, 32-37.
- Fallot J., Moisseff M., Ambid C., (1982) - Biogenesis of monoterpenes. Metabolic pathway involved in the bioconversion of citral by a cell suspension culture of muscat grape. 5° Intern. Congress of Plant Tissue and Cell Culture, Tokio 11-16/7/82, 389-390.
- Fanizza G., Tanzarella O., Castellano M., Savino V., (1983) - Coltura «in vitro» di apici vegetativi per l'ottenimento di piante esenti da virus in *Vitis*. Atti XXVII Conv. Soc. Ital. Genetica Agr. - Perugia 11-13/10/83, 44-45.
- Fanizza G., Tanzarella O., Carozzo G., Greco B., (1984) - Influence of *Vitis* source on «in vitro» shoot apex culture (technical note). Ann. Ap. Biol., 104, (3), 577-8.



- Favre J.M., (1973) - Effets corrélatifs de facteurs internes et externes sur la rhizogenèse de la vigne cultivée *in vitro*. Thèse Doctorat d'Etat, Paris Sud, pp. 111.
- Favre J.M., (1976) - Influence de l'état physiologique de la plante et de la nature de l'organe prélevé sur l'obtention de néoformations caulinaires de vigne. 101<sup>e</sup> Congrès Nat. Soc. Savantes Lille (F).
- Favre J.M., (1977) - Premiers résultats concernant l'obtention «*in vitro*» de néoformations caulinaires chez la Vigne. Ann. Amélior. Plant., 27, 151-169.
- Favre J.M., Grenan S., (1979) - Sur la production de vrilles, de fleurs et de baies chez la vigne cultivée «*in vitro*». Ann. Amélior. Plant., 29, (3), 247-252.
- Fujii T., Nito N., (1972) - Studies on the compatibility of grafting of fruit trees. I. Callus fusion between rootstock and scion. J. Japan. Soc. Hort. Sci., 41, (1), 1-10.
- Galzy R., (1961) - Confirmation de la nature virale du court-noué de la vigne par des essais de thérapie sur des cultures «*in vitro*». C.R. Acad. Sci., 253, 706-708.
- Galzy R., (1962) - Essais de thérapie du court-noué de la vigne sur des cultures «*in vitro*». 3<sup>e</sup> Conférence Intern. pour l'Etude des Maladies à Virus de la Vigne. Lisbon, Bull. OIV, 36, 41-44.
- Galzy R., (1964) - Technique de thérapie des viroses de la vigne. Ann. Epiphyt. 15, (3), 245-256.
- Galzy R., (1965) - Action de traitements thermiques courts sur la rhizogenèse «*in vitro*» d'un clone de *Vitis rupestris* court-noué. C.R. Séances Acad. Sci. (Paris), 261, 524-7.
- Galzy R., (1966) - Action de la température 35° C sur *Vitis rupestris* atteint de court-noué. Bull. Soc. Fr. Physiol. Vég., 12, 392-9.
- Galzy R., (1969a) - Recherches sur la croissance de *Vitis rupestris* Scheele sain et court-noué cultivée *in vitro* à différentes températures. Ann. Phytopathol., 1, (2), 149-166.
- Galzy R., (1969b) - Remarques sur la croissance de *Vitis rupestris* cultivée «*in vitro*» sur différents milieux nutritifs. Vitis, 8, 191-205.
- Galzy R., (1970) - Recherche sur la croissance de la vigne saine et court-nouée cultivée «*in vitro*». Thèse Doctorat d'Etat. Clermont-Ferrand, p. 58. Imprimerie G. Taris Bordeaux.
- Galzy R., (1972a) - La culture «*in vitro*» des apex de *Vitis rupestris*. C.R. Acad. Sci., T. 274, Série D, 210-213.
- Galzy R., (1972b) - Remarques sur la nutrition minérale des apex de *Vitis rupestris*. C.R. Acad. Sci., T. 275, Série D. 561-564.
- Galzy R., (1977) - Recherche d'un milieu minéral permettant la culture «*in vitro*» des apex de *Vitis rupestris* comportant trois ébauches foliaires. Extrait de «La culture des tissus et des cellules des végétaux» par Gautheret. Travaux Morel Masson, Paris, 134-146.
- Galzy R. (1978) - Establishment of gene bank. Table ronde sur la Multiplication «*in vitro*» d'espèces ligneuses Gembloux 6-8/6/78.
- Galzy R., Compan H. (1968) - Thérapie de quelques variétés de vigne présentant des symptômes de virose. Vignes Vins, 166, 13-20.
- Galzy R., Galzy P. (1964) - Action de la température sur la panachure blanche de la vigne. Progr. Agric. Vitic., 24, 271-9.
- Galzy R., Nigond J. (1968) - Description d'une enceinte éclairée et thermostatée destinée à la culture «*in vitro*» des végétaux supérieurs. Vignes Vins, 168, 11-13.
- Gautheret R.D., (1955) - Sur la variabilité des propriétés physiologiques des cultures de tissus végétaux. Rev. Gen. Bot. 62, 5-112.
- Gifford E.M., Jr., Hewitt W.B., (1961) - The use of heat therapy and «*in vitro*» shoot tip culture to eliminate fanleaf virus from the grapevine. Am. J. Enol. Vitic. 12, 129-130.
- Goussard P.G., (1981) - Effects of cytokinins on elongation, proliferation and total mass of shoot derived from shoot apices of grapevine cultured «*in vitro*». Vitis, 20, (3), 228-234.
- Goussard P.G., (1982) - Morphological responses of shoot apices of grapevine cultured «*in vitro*». Effects of cytokinins in routine subculturing. Vitis, 21, 293-298.
- Goyal S.P., Goyal A.N. (1970a) - Note on the cumulative cell nucleus, nucleoli counts in growth patterns of *Phylloxera* gall and normal grape stem single cell clones in tissue culture (Part I). Proc. Indian Natl. Sci. Acad. 36B, (2), 80-85.
- Goyal S.P., Goyal A.N. (1970b) - On the growth patterns of *Phylloxera* gall and normal grape stem single cell clones in tissue culture (Part II). Proc. Indian Natl. Sci. Acad. 36B, (5), 305-310.
- Goyal S.P., Goyal A.N. (1971) - Correlations between *Phylloxera vastatrix* gall and normal grape stem single cell clones in tissue culture. Marcellia 37, 219-224.
- Grenan S., (1979a) - Rhizogenèse de bourgeons apicaux de boutures de vigne cultivés «*in vitro*». Connaiss. Vigne Vin, 13, 125-136.
- Grenan S., (1979b) - Possibilités d'élimination des modifications foliaires apparues sur la variété «Grenache Noir, après un passage, prolongé en culture «*in vitro*». Progr. Agric. Vitic., 96, 152-157.
- Grenan S., (1982) - Quelques réflexions à propos de modifications morphogénétiques consécutives à la culture «*in vitro*» chez la vigne (*Vitis vinifera* L.). Ann. Sci. Nat., 4, (3), 135-146.
- Gresshoff P.M., Doy C.H., (1974) - Derivation of a haploid cell line from *Vitis vinifera* and the importance of the stage of meiotic development of anthers for haploid culture of this and other genera. Z. Pflanzenphysiol., 73, 132-141.
- Harris R.E., Stevenson J.H., (1979) - Virus elimination and rapid propagation of grapes «*in vitro*». Proc. Int. Plant. Prop. Soc., 29, 95-108.
- Harris R.E., Stevenson J.H., (1982a) - «*In vitro*» propagation of *Vitis*. Vitis, 21, (1), 22-32.
- Harris R.E., Stevenson J.H., (1982b) - Tissue culture of grape. Canada Agric., 1, 29-33.
- Harris R.E., Mason E.B.B., (1983) - Two machines for «*in vitro*» propagation of plants in liquid media. Can. J. Plant Sci., 63, (1), 311-316.
- Hasler M., Ruffner H.P., Rast D.M., (1982) - High-yield isolation of grape leaf protoplasts as an instrument in physiological research. Experientia, 38, (5), 564-565.
- Hasler M., Ruffner H.P., Rast D.M., (1983) - Ultrastructure of grape leaf protoplasts in comparison with the source tissue. Vitis, 22, (3), 193-201.
- Hawker J.S., Downton W.J.S., Wiskich D., Mullins M.G., (1973) - Callus and cell culture from grape berries. HortScience, 8, (5), 389-399.
- Hay Du Z. (1984) - «*In vitro*» cultures of grape (*Vitis* spp.). Intern. Symp. on «Plant Tissue and Cell Culture - Application to Crop Improvement», Olomouc (CS), 24-29/9/84, 67.
- Hildebrandt A.C., Hottinger H.H., Riker A.J. (1961) - Isolation and growth «*in vitro*» of single cell clones from grape *Phylloxera* gall and normal stem tissue (Abstr.). Plant Physiol., 36, (Suppl.), XXIX.
- Hirabayashi I., Kozaki I., Akihama T., (1976) - *In vitro* differentiation of shoots from anther callus in *Vitis*. HortScience, 11, (5), 511-512.
- Hirabayashi T., Akihama T., (1982) - *In vitro* embryogenesis and plant regeneration from the anther-derived callus of *Vitis*. 5<sup>e</sup> Intern. Congress of Plant Tissue and Cell Culture, Tokio, 11-16/7/1982, 547-548.
- Hoefert L.L., Gifford E.M. Jr., (1964) - Growth «*in vitro*» of excised stem tips of *Vitis vinifera*. Am. J. Bot., 51, 677.
- Hradilik J., Fiserova H., (1981) - Growth activity of grapevine (*Vitis vinifera*) explants. Acta Universitatis Agriculturae, Bruno, A, Facultas Agronomica, 29, (3/4), 31-49.
- Iordan M., Rosu A., Brezeanu A. (1984) - Aspects of morphogenesis in *Vitis vinifera* L. inflorescence stalks. Intern. Symp. on «Plant Tissue and Cell Culture - Application to Crop Improvement», Olomouc (CS), 24-29/9/1984 (Appendix).
- Iri M., Shimura T., Togawa M., Ueno R., (1982) - Elimination of grapevine viruses by meristem tip culture. 5<sup>e</sup> Intern. Congress of Plant Tissue and Cell culture, Tokio, 11-16/7/1982, 807-808.
- Izvorska N., (1980) - Effect of auxins and cytokinins on morphological processes in isolated meristem tissues of different plants). Fiziologiya na Rastenyata, 6, (3), 99-106.
- Izvorska N., Lillov D., (1980) - (Pigmented callus formation by isolated meristem tissue of grapevine). Fiziologiya na Rastenyata, 6, (4), 31-35.
- Izvorska N., Lillov D., (1981) - (Influence of  $Ga_3$  on induction of morphogenesis in tissues isolated from various organs of grapevine). Fiziologiya na Rastenyata, 7, (1), 23-29.
- Izvorska N., Vassilev G.N., Lillov D., (1982) - Influence of the cytokinins *p*-allyl and phenylthioureidosalicylic acids on the growth and morphogenesis of the callus tissue from vine and tomato. C.R. Acad. Bulgare Sci., 35, (3), 381-390.
- Jako N., Nitsch C., (1980) - Wechselnder Hormonbedarf von Gewebekulturen aus Tribspitzenmeristem bei *Vitis vinifera* L. cv. Sultana in Abhängigkeit von der Entwicklungsphase. (Changing hormonal requirement of tissue cultures from shoot tip meristem of *Vitis vinifera* cv. Sultana in relation to the development stage). Mitteilungen Klosterneuburg Rebe und Wein, Obstbau und Fruchtverwertung, 30, (6), 231-237.
- Jona R., Webb J.K., (1978) - Callus and axillary-bud culture of *Vitis vinifera* «Sylvaner Riesling». Sci. Hortic., 9, 55-60.
- Jona R., Valliana R., (1980) - Stem elongation and root initiation in proliferating shoots of *Vitis vinifera*. Plant Cell Cultures: Results and perspectives, F. Sala, B. Parisi, R. Cella and O. Ciferri eds., Elsevier Publ. Amsterdam, 313-315.
- Jona R. (1980) - La coltura di tessuti nel miglioramento genetico, situazione attuale e prospettive per la vite. Atti Acc. Vite e Vino, 32: 290-9.
- Jona R., (1981) - Produzione di cellule isolate di *Vitis vinifera* L. - Esperienze preliminari. Atti 3<sup>e</sup> Simp. Intern. Selez. Clonale Vite '8-12/6/1981, 56-59.

- Jona R., Barboglio A., (1981) - *Fattori stimolanti l'allungamento e la radicazione di germogli ottenuti in vitro*. Atti 3° Simp. Intern. Selez. Clonale Vite 8-12/6/1981, 61-64.
- Jona R., Gribaudo I., Vigliocco R. (1984) - *Special feature of grapevine bud proliferation*. Intern. Symp. «Plant Tissue and Cell Culture - Application to Crop Improvement», Olomouc (CS), 24-29/9/1984, 78.
- Kim S.K., Paek K.Y., (1981) - *Studies on anther culture of grapes. I. Varietal differences in callus formation*. J. Korean Soc. Hortic. Sci. 22, (2), 89-91.
- Krul W.R., Myerson J., (1980) - «*In vitro*» propagation of grape (cvs. *Seyval* and *Cabernet Sauvignon*). Proc. Conference on nursery production of fruit plants through tissue culture - Applications and feasibility, Beltsville, 21-22/4/1980, Agricultural Research Results, U.S. Department of Agriculture, 35-43.
- Krul W.R., Worley J., (1977) - *Formation of adventitious embryos in callus culture of «Seyval», a French hybrid grape*. J. Am. Soc. Hort. Sci., 102, 360-363.
- Kulescha Z. (1949) - *Recherches sur l'elaboration de substances de croissance par les cultures de tissu de vigne (Vitis vinifera L.)*. C.R. Seances Soc. Biol. Paris, 143, 1499-1500.
- Lai P.C., I H.T. (1980) - *Studies on tissue culture of grape (Vitis vinifera L.): influence of environmental factors on the growth and differentiation of grape callus*. J. Agric. Res. China, 29, (2), 157-165.
- Lee T.C., Wicks T. (1982) - *Dual culture of Plasmopara viticola and grapevine and its application to systemic fungicide evaluation*. Plant Dis. 66, (4), 308-310.
- Legin R., Bass P., Vuittenez A. (1979) - *Premiers résultats de guérison par thérapie et culture «in vitro» d'une maladie de type cannelure (legno riccio) produite par le greffage du cultivar servant de Vitis vinifera sur le porte-greffe Vitis riparia x V. berlandieri Kober 5BB. Comparaison avec diverses viroses de la vigne*. Phytopathol. Mediterr., 18, 207-210.
- Li J.R., Eaton G.W., (1984) - *Growth and rooting of grape shoot apices in vitro* HortScience, 19, (1), 64-66.
- Lilov D., Izvorska N., (1978) - *(Flower bud induction from isolated meristem tissues of grapevine tendrils)*. Fiziologiya na Rastenyata, 4, (2), 73-78.
- Loveys B.R., Brien C.J., Kriedemann P.E., (1975) - *Biosynthesis of abscisic acid under osmotic stress: studies based on a dual labelling technique*. Physiol. Plant., 33, (2), 166-170.
- Machich E., Stoyan E., (1979) - *Methods for the rapid propagation of virus-free grapevine material in Romania*. Proceeding of the 1st conference on virus-free grapevines and renovation of vineyards with virus-free material, Modra (CS), 127-134.
- Meredith C.P. (1981) - *Genetic engineering - The outlook for grapes*. Wine Investor, 5, 1-4.
- Mikushova A. (1979) - *(Technique and effectiveness of grapevine heat treatment)* Czechoslovakia, Slovenska Akademia Vied: Elimination of viruses from grapevines. Proceedings of the 1st Conference on virus-free grapevines and renovation of vineyards with virus-free material, Modra, (CS), 93-100.
- Monette P.L. (1983 a) - *Virus eradication through «in vitro» techniques*. Proc. Int. Plant Prop. Soc. 33, 90-100.
- Monette P.L., (1983b) - *Subdivision of proliferating grapevine explants using single shoots: influence of shoot size on proliferation*. Plant Propagator, 29, (2), 13-15.
- Monette P.L., (1983 c) - *Influence of size of culture vessel on «in vitro» proliferation of grape in a liquid medium*. Plant Cell Tissue Organ Culture, 2, 327-332.
- Morel G., (1944a) - *Sur le développement de tissus de Vigne cultivés «in vitro»*. C. R. Acad. Seances Biol. (Paris), 138, 62.
- Morel G. (1944 b) - *Action de l'acide indole-B-acétique sur la croissance des tissus de vigne*. C.R. Acad. Seances Soc. Biol. (Paris), 138, 93.
- Morel G. (1944c) - *Le développement du mildiou sur des tissus de vigne cultivés «in vitro»*. C.R. Hebd. Seances Acad. Sci. 218, 50-52.
- Morel G. (1945) - *Caractères anatomiques des tissus de vigne cultivés «in vitro»*. C.R. Acad. Seances Soc. Biol. (Paris), 139, 93.
- Morel G. (1946) - *Essai de laboratoire sur le mildiou de la vigne*. Rev. Vitic. (Paris), 93, 210-3.
- Morel G. (1947 a) - *Transformations des cultures de tissus de vigne produites par l'hétéro-auxine*. C.R. Acad. Seances Soc. Biol. (Paris), 141, 280-282.
- Morel G. (1947 b) - *Méthode d'essai en serre des produits de lutte contre le mildiou de la vigne*. Ann. Epiphyt. (Sér. Path. Veg.), 13, 57-66.
- Morel G., (1948) - *Recherches sur la culture associée de parasites obligatoires et de tissus végétaux*. Ann. Epiphyt., 14, 234.
- Morel G. (1975) - *Meristem culture techniques for the long-term storage of cultivated plants*. O.H. Frankel e J.G. Hawkers (eds). Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow, Cambridge University Press, Cambridge, 327-332.
- Mullins M.G. (1971) - Rep. CSIRO Division of Horticultural Research for 1969-71, 26-7.
- Mullins M.G., Srinivasan C., (1976) - *Somatic embryos and plantlets from an ancient clone of the grapevine (cv. Cabernet-Sauvignon) by apomixis in vitro*. J. Exp. Bot., 27, (100), 1022-1030.
- Mullins M.G., Srinivasan C., (1978) - *Plantlets of «Cabernet-Sauvignon» grapes by nucellar embryony «in vitro» (apomixis, somatic formation, tissue culture)*. Convegno «Grapevine genetics and breeding», Bordeaux 14/6/77, Genetique et Amelioration de la Vigne. C.R. 2° Symposium International Amelioration Vigne, Bordeaux (R. Pouget et J.P. Doazan, eds), 12-15, INRA Paris.
- Mullins M.G., Nair Y., Sampet P., (1979) - *Rejuvenation in vitro: Induction of Juvenile Characters in an Adult Clone of Vitis Vinifera L.* Ann., Bot., 44, 623-627.
- Mur G. (1975) - *Thermothérapie du court-noué*. Progr. Agric. Vitic., 17, 490-491.
- Mur G., (1978) - *Obtention de vrilles et de baies chez Vitis vinifera en culture «in vitro»*. Progr. Agric. Vitic. 95, (21), 609-611.
- Mur G., (1979) - *Thermothérapie de variétés de Vitis vinifera par la méthode de culture in vitro*. Progr. Agric. Vitic., 96, 148-151.
- Mur G., Markovitch P. (1976) - *Influence of «in vitro» thermotherapy treatment on the cuttings rootstocks (shoot and roots development)*. Actas de la 6 Conferencia Internacional sobre Virus y Virosis de la Vid, Cordoba (Esp.) 13-21/9/76, Monografia INIA n. 18, Madrid (1978) 319-323.
- Mur G., Valat C., Branas J. (1972a) - *Elimination de la pigmentation anthocyanique tardive (enroulement) par thérapie*. Progr. Agric. Vitic., 1, 4-7.
- Mur G., Valat C., Branas J. (1972b) - *Effets de la thérapie*. Progr. Agric. Vitic., 6, 125-7.
- Murashige T., Skoog F. (1962) - *A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures*. Physiol. Plant., 15, 473-497.
- Myerson J., (1981) - *Adventitious embryogenesis and plantlet development in cultures of Vitis species «Seyval»*. M.S. Thesis, Univ. of Rhode Island, Kingston.
- Nakagawa S., Kazama T., Horiuchi S., Yuda E., (1983) - *Culture of grape ovary «in vitro»*. Acta Hort., 131, 259-261.
- Nitsch J.P., (1951) - *Growth and development «in vitro» of excised ovaries*. Am. J. Bot., 38, 566-577.
- Novak F.J., Juvova Z., (1980) - *(Hormonal regulation of the development of isolated grapevine shoot tips (Vitis sp.) under «in vitro» conditions)*. Sbor. UVTIZ - Ochr. Rostl., 16, (4), 241-252.
- Novak F.J., Juvova Z., (1983) - *Clonal propagation of grapevine through «in vitro» axillary bud culture*. Sci. Hort., 18, (3), 231-240.
- Nozeran R., Grenan S., Truel P., Favre J.M., (1983) - *Morphogenèse à partir du stade juvénile de Vitis vinifera L. issu de graine ou de culture «in vitro»*. Agronomie, 3, (7), 681-684.
- O' Donnell A., Loescher, Toyama T.K., (1982) - *Vascular differentiation in grape (Vitis vinifera) callus and suspension cultures*. HortScience, 17, (1), 28-29.
- Ottenwaelter M.M., Hevin M., Doazan H.P. (1973) - *Amelioration du rendement du bouturage des extrémités après thérapie sur plantes en pots par l'utilisation de la culture sur milieu nutritif gélosé stérile*. Vitis, 12, 46-48.
- Paupardin C., Gautheret T. (1954) - *Recherches sur la dissociation des tissus végétaux cultivés «in vitro»*. C.R. Acad. Sci., T. 238, 24 2334-6.
- Pelet F.J., (1959) - *Growth «in vitro» of grape, elm, willow, poplar and oak tissue isolated from normal stem and insect galls*. Ph. D. Thesis, Univ. Wisconsin, Madison, Diss. Abstr., 20, 469-470.
- Pelet F., Hildebrandt A.C., (1957) - *Growth «in vitro» at various temperatures and acidities of tissues isolated from insect galls and normal stem of elm, grape, poplar and willow*. Phytopathol., 47, 186-195.
- Pelet F., Hildebrandt A.C., Riker A.J., Skoog F., (1960) - *Growth «in vitro» of tissue isolated from normal stems and insect galls*. Am. J. Bot., 47, 186-195.
- Peña-Iglesias A., Ayuso P. (1973) - *A new and accurate way of heat therapy of plants grown «in vitro» applied to the sanitary selection of Spanish grapevine varieties*. Riv. Patol. Veg., Sez. IV, 9, (suppl.), 172-174.
- Peña-Iglesias A., Ayuso P. (1980) - *Shoot apex (meristem) micrografting and indexing of infected grapevine varieties at the same time*. Proc. of the 7th Meeting of the Intern. Council for the Study of Viruses and Virus-like Disease of the Grapevine. Niagara Falls, Canada, 8-12/9/80 (A.J. Mc. Ginnis, ed) Agric. Canada Research Branch, Ottawa, Canada.
- Pirie A., Mullins M.G., (1976) - *Changes in anthocyanin and phenolics content of grapevine leaf and fruit tissues treated with sucrose, nitrate and abscisic acid*. Plant Physiol, 58, 468-472.

- Pool R.M., (1975) - *Effect of cytokinin on «in vitro» development of «Concord» flowers*. Am. J. Enol. Vitic., 26, (1), 43-46.
- Pool R. M., Powell L. E., (1975) - *The Influence of cytokinins on «in vitro» shoot development of «Concord» grape*. J. Am. Soc. Hort. Sci., 100, (2), 200-202.
- Radler F., (1964) - *Versuche zur kultur isolierter Beeren der Rebe (Attempts to culture isolated grapes of the vine)*. Vitis, 4, 365-367.
- Rajasekaran K., Mullins M.G., (1979) - *Embryos and plantlets from cultured anthers of hybrid grapevines*. J. Exp. Bot., 30, (116), 399-407.
- Rajasekaran K., Mullins M.G., (1981a) - *Organogenesis in internode explants of grapevine*. Vitis, 20, (3), 218-227.
- Rajasekaran K., Mullins M.G., (1981 b) - *Genetic studies on the origin of plants from cultured anthers of Vitis*. Research Report, 9, 31.
- Rajasekaran K., Mullins M.G., (1983a) - *Influence of genotype and sex-expression on formation of plantlets by cultured anthers of grapevines*. Agronomie, 3, (3), 233-238.
- Rajasekaran K., Mullins M.G. (1983b) - *The origin of embryos and plantlets from cultured anthers of hybrid grapevines*. Am. J. Vitic. Enol., 34, (2), 108-113.
- Ramming D.W., Emershad R.L., (1982) - *In ovulo embryo culture of seeded and seedless Vitis vinifera L.* HortScience, 17, (3), 487.
- Ramming D.W., Emershad R.L. (1984) - *Embryo-culture of early-ripening seeded grape genotypes*. HortScience, 19, (3), 594.
- Reinert J., (1963) - *Growth of single cells from higher plants on synthetic media*. Nature, 200, 90-91.
- Rilling G. (1961) - *Die Bedeutung von Umweltfaktoren im Entwicklungszyklus der Reblaus*. Vitis, 3, 38-47.
- Rilling G., Radler F. (1960) - *Die Kontrollierbare Aufzucht der Reblaus auf Gewebekulturem van Reben*. Naturwiss, 47, 547-8.
- Sala F., Parisi B., Cella R., Ciferri O., (1980) - *Plant cell cultures: results and perspectives*. Biomedical Press.
- Sasahara H., Tada K., Iri M., Takezawa T., Tazaki M., (1981) - *(Regeneration of plantlets by meristem tip culture for virus-free grapevine)* J. Jpn. S. Hor., 50, (2), 169-175.
- Schenk R.U., Hildebrandt A.C. (1972) - *Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures*. Can. J. Bot., 50, 199-204.
- Silvestroni O., (1981) - *Prime esperienze sulla micropropagazione della vite europea*. Vignevini, 8, (10), 31-37.
- Skene K.G.M., (1974) - *Culture of protoplasts from grapevine pericarp callus*. Austr. J. Plant Physiol., 1, 371-376.
- Skene K.G.M., (1975) - *Production of callus from protoplasts of cultured grape pericarp*. Vitis, 14, (3), 177-180.
- Skene K.G.M., Barlass M., (1980) - *Micropropagation of grapevine*. Proc. Int. Plant Prop. Soc., 30, 564-570.
- Skene K.G.M., Barlass M. (1983a) - *Studies of the fragmented shoot apex of grapevine. IV Separation of phenotypes in periclinal chimera «in vitro»*. J. Exp. Bot., 34, (147), 1271-1280.
- Skene K.G.M., Barlass M., (1983b) - *Low temperature storage of grapevine germplasm*. Plant Genetic Resources Newsletter, 53, 19-21.
- Skene K.G.M., Hale C.R., (1971) - *Organic acid synthesis by grape berries cultured «in vitro»*. Phytochemistry, 10, 1779-1781.
- Slabecka-Szweykowska A.E. (1952) - *Warunki twozzenia sie antocianu w thance Vitis vinifera hodowanej «in vitro»*. (Biogenesi degli antociani prodotto da callo di Vitis vinifera «in vitro»). Acta Soc. Bot. Pol., 21, 537-576.
- Slabecka-Szweykowska A.E., (1955) - Acta Soc. Bot. Polon. 24, 3.
- Srinivasan C., Mullins M.G., (1978) - *Control of flowering in the grapevine (Vitis vinifera L.): formation of inflorescens «in vitro» by isolated tendrils*. Plant Physiol. 61, (1), 127-130.
- Srinivasan C., Mullins M.G., (1980) - *High-frequency somatic embryo production from unfertilized ovules of grapes*. Sci. Hortic., 13, 245-252.
- Staudt G., Borner H.G., Becker H., (1972) - *Untersuchungen über die Kallusbildung von di- und tetraploiden Reben in vitro (Studies on callus growth of di- and tetraploid vines in vitro)*. Vitis, 11, 1-9.
- Stevenson J.H., Monette P.L. (1983) - *Delay of onset on leaf roll symptom expression in Vitis vinifera «Limberger» from ribavirin-treated «in vitro» cultures*. Can. J. Plant Sci., 63, 557-560.
- Takeo K; Koshioka M., Pharis R.P., Rajasekaran R., Mullins M.G. (1983) - *Endogenous gibberellin-like substances in somatic embryos of grape (Vitis vinifera x Vitis rupestris) in relation to embryogenesis and the chilling requirement for subsequent development of mature embryos*. Plant Physiol. 73, (3), 803-8.
- Urbán K., Més Áros A., Föglein F.J. (1984) - *Differences in the cytokinin sensitivity of some grape varieties «in vitro»*. Intern. Symp. «Plant Tissue and Cell Culture — Application to Crop Improv.» Olomouc (CS) 24-29/9/84, 192.
- Valat C., Grenan S., (1982) - *Techniques d'élimination des virus: utilisation et conséquences*. 2° Colloque international sur la multiplication de la vigne. Bourdeaux 2-4/9/1982, 26-31.
- Valat C., Mur G. (1976) - *Thermothérapie du Cardinal Rouge*. Progr. Agric. Vitic., 6, 200-202.
- Valat C., Rives M. (1973) - *Informations and comments on variation induced by thermotherapy*. Riv. Pathol. Vég., 4, (9), 291-293.
- Valat C., Grenan S., Auran G., Bonnet A. (1979) - *Guérison de quelques maladies à virus de la vigne par thermothérapie de plantules cultivées «in vitro»*. Vignes Vins, 284, 19-22.
- Valat C., Grenan S., Auran G. (1981) - *Thermothérapie «in vitro» premières observations sur des aptitudes de quelques variétés de porte-greffe et de Vitis vinifera traités*. Vignes Vins, 298, 17-23.
- Vashakidze L., Bezhuashvili N., (1979) - *(Cytogenetic characteristics of «in vitro» tissue culture in grape)*. Tr NII sadovod., vinogradarstva i vinodeliya Gruz SSR, 26, 199-202.
- Verderevskaya T.D., Marinesku V., (1972) - *(Methods of obtaining and maintaining virus-free grapevines)*. Referativnyi Zhurnal, 6, 55, 1090.
- Vuittenez A., Bass P., Ateb N., (1974) - *Application de la culture de fragments d'organes «in vitro» pour l'étude des virus chez la vigne et autres plantes hotes expérimentales ligneuses ou herbacées*. 7° Coll. Soc. Franc. Phytopatol., Strasbourg, 31/5/74, Ann. Phytopath., 6, 498.
- Warick R.P., Hildebrandt A.C., (1965) - *Sugar contents of single cell clones of different growth rates of normal stem and Phylloxera leaf gall tissue cultures of grape*. Plant Physiol., 40, (suppl.), lxxvii.
- Warick R.P., Hildebrandt A.C. (1966) - *Free aminoacid contents of stem and Phylloxera gall tissue cultures of grape*. Plant Physiol. 41, 573-8.
- Warick R.P., Hildebrandt A.C., Riker A.J., (1964) - *Free aminoacid contents of normal stem and Phylloxera gall tissue cultures of grape*. Plant. Physiol., 39, (Suppl.), lxii.
- Yamakawa T., Ohtsuka H., Onomichi K., Kodama T., Monoda Y., (1982) - *Production of anthocyanin pigments by grape cell culture*. 5° International Congress of Plant Tissue and Cell Culture 11-16/7/82, Tokio, 273-274.
- Yamakawa T., Ishida K., Kato S., Kodama T., Minoda Y., (1983a) - *Formation and identification of anthocyanins in cultured cells of Vitis sp.* Agricultural and Biological Chemistry, 47, (5), 997-1001.
- Yamakawa T., Kato S., Ishida K., Kodama T., Minoda Y. (1983 b) - *Production of anthocyanins by Vitis cells in suspension culture*. Agr. Biol. Ch., 47, (10), 2185-2191.
- Zou C., Li P., (1981) - *(Induction of pollen plants of grape (Vitis vinifera L.))*. Acta Botanica Sinica, 23, 79-81.

## RESUME

### LA VIGNE DANS LA CULTURE DES TISSUS

La vigne a été une des premières plantes à laquelle dès 1944 les chercheurs qui se consacrent à la culture des tissus se sont intéressés. Dès lors, de nombreux arguments liés de façon différente à ce type d'enquête scientifique ont été développés. Le premier argument par ordre chronologique a été le développement du tissu du callus et également de cellules isolées. La formation d'embryoides et par la suite de plantules de cellules différentes de l'ooosphère fécondée a été étudiée surtout en vue d'obtenir aussi bien des plantules aploïdes que des plantules dérivées de cellules particulières: les résultats semblent pour le moment plutôt modestes. De même l'emploi de protoplastes pose encore des problèmes, alors que les études sur la production in vitro et l'analyse de composés directement à partir de cellules comme les anthocyanes et certaines substances aromatiques ont eu plus de succès.

Un aspect très intéressant du point de vue agronomique est la production sur une grande échelle de plantes de Vigne dans le but d'obtenir rapidement du matériel parfaitement sain pour la propagation de haute qualité. Ce résultat s'obtient en utilisant différentes techniques, comme la prolifération de bourgeons apicaux et axillaires, le "micro-bouturage", c'est à dire la préparation de petites boutures in vitro et finalement la culture d'apex fragmentés. Souvent ces différentes techniques sont combinées afin d'obtenir un rendement plus élevé. Ces techniques de multiplication sont très utilisées surtout dans le cadre de la multiplication de clones exempts de virus et de clones guéris de ces virus.

La culture de tissus a également servi à approfondir les mécanismes morpho-génétiques de la Vigne en étudiant in vitro la formation de vrilles, de fleurs et de baies.

Avec un aussi large éventail de publications (200 environ), on peut raisonnablement supposer que les résultats les plus à l'avant-garde dans le domaine de la culture des tissus peuvent trouver une rapide application sur cette espèce.

# EFFECTS OF GROWTH INHIBITORS ON GRAPEVINE VARIETIES

**M. HARST**

Bundesforschungsanstalt für Rebenzüchtung Geilweilerhof 6741 Siebeldingen - (Fed. Rep. of Germany)

## Introduction

The preservation of gene material of VITIS by in vitro culture is of considerable importance. However, the methods for long-term storage are far from being satisfactory.

There are two different methods to avoid frequent transfers of plants on a new medium like cold-storage with different light intensities, growth suppression by inhibitors and the combination of both conservation methods: the storage of inhibited plants under reduced culture temperatures by varying light intensity.

In the following the effect of inhibitors on in vitro cultures of grapevine varieties will be discussed.

## Material and Methods

Our knowledge about uptake of substances by in vitro plants being insufficient, a large scale of different concentrations of two growth inhibitors (chlorocholine-chloride = CCC and daminozide = ALAR or B 995) at a temperature of 26 °C were tested.

CCC is used in agriculture to inhibit stem-growth. In viticulture *Bourquin and Alleweldt* (1970) successfully regulated vegetative growth by using CCC.

Alar is applied in orchards to shorten sprouting and to increase flowering. Alar is also used in vitro techniques to extend time between two transfers of potato plantlets (*Westcott*, 1981).

### a) Application of CCC

CCC was applied both to leaves and to roots. But application to leaves by dipping four weeks old plants in different solutions of CCC (100, 500 and 1000 ppm) was not practicable because medium was damaged by the inhibitor. For testing the uptake by roots five concentrations (100, 500, 1000, 2000 and 3000 ppm) of CCC were added directly into the still liquid medium (*Linsmaier and Skoog*, 1965) by using a sterile filter.

After cooling and hardening of the medium green-cuttings of the grapevine cultivars Optima, Bacchus and Gf. GA-51-27 (a hybride) were put into the prepared medium. The plants were observed every week until they reached top of the test tubes. Shoot-length, number of nodia per shoot, root and callus development were examined.

### b) Application of ALAR

Experience by CCC, ALAR was only applied to roots in concentrations of 1000, 2000 and 3000 ppm. The inhibitor was tested on the grapevine varieties Optima and Bacchus.

### c) Cold-storage and application of growth inhibitors

To test influence of decreased culture temperatures on inhibited in vitro-plants CCC was applied to roots.

Plants grew in the culture room at 26° C under normal light intensity ( $40 \mu E m^{-2} sec^{-1}$ , 14 hours) about three months to a

shoot-length of about 5 cm. Then plants were transferred into storage room by varying light intensity (8 °C).

## Results and discussion

### a) CCC-treatment

Concentrations of 100 and 500 ppm CCC have to be excluded because there are no significant shoot-shortenings. 1000 ppm, however reduced shoot-length conspicuously (tab. 1).

**Tab. 1 - Effect of different concentrations of CCC on shoot-length of in vitro plants of the grapevine varieties OPTIMA, BACCHUS and Gf. GA-51-27**

concentration	shoot-length (in cm)		
	OPTIMA	BACCHUS	Gf. GA-51-27
untreated	10.67	8.58	8.83
100 ppm	8.83	11.00	6.58
500 ppm	8.92	7.83	10.83
1000 ppm	2.83	3.17	5.33
2000 ppm	2.58	2.25	1.92
3000 ppm	1.83	1.42	1.08

age of plants: 7 weeks

By increasing concentration up to 2000 and 3000 ppm CCC growing-rate slowed down rapidly. There was a significant positive correlation between increasing concentrations and reducing of growing-rate (fig. 1).

Untreated in vitro-cuttings of all three cultivars did not show differences in shoot-growing. But when treated with 100 and 500 ppm CCC, Bacchus and Gf. GA-51-27 were significantly different (fig. 2).

A concentration of 1000 ppm CCC reduced growing-rate of Bacchus in the same way as Optima. The influence on Gf. GA-51-27 was much smaller. 2000 ppm CCC reduced the length of internodes at all three varieties. By increasing CCC-concentration up to 3000 ppm there was only a significant difference between Optima and Gf.-51-27.

During an observation time of 8 weeks only at higher concentration ranges from 1000 up to 3000 ppm shoot length was obviously reduced (fig. 3).

There was no effect on number of nodia.

It seemed that plants have more leaves per shoot than untreated ones. But this is only a result of decreased internodes (fig. 4).

By application of CCC all treated in vitro-plants kept alive, 1000 ppm and more, led to shoot-thickening. This phenomenon results in a decreased cell-division rate and therefore in an enrichment of chlorophyll a and b in the cell. This is due to the mode of operation of CCC in stopping synthesis of gibberellin acid.

At 2000 and 3000 ppm CCC, chlorotic and necrotic spots on leaves could be observed in several cases.

Root development was not much influenced by the growth inhibitor. Sometimes, in higher concentrations of 2000 ppm CCC, they got thicker. Gf. GA-51-27 showed better root development as untreated plants of this variety.

But callus growing was increased at higher concentrations (2000 and 3000 ppm CCC) at all three varieties.

### b) ALAR-treatment

Growing-rate was much more influenced by ALAR than CCC (fig. 5). Higher concentrations than 1000 ppm ALAR were toxic

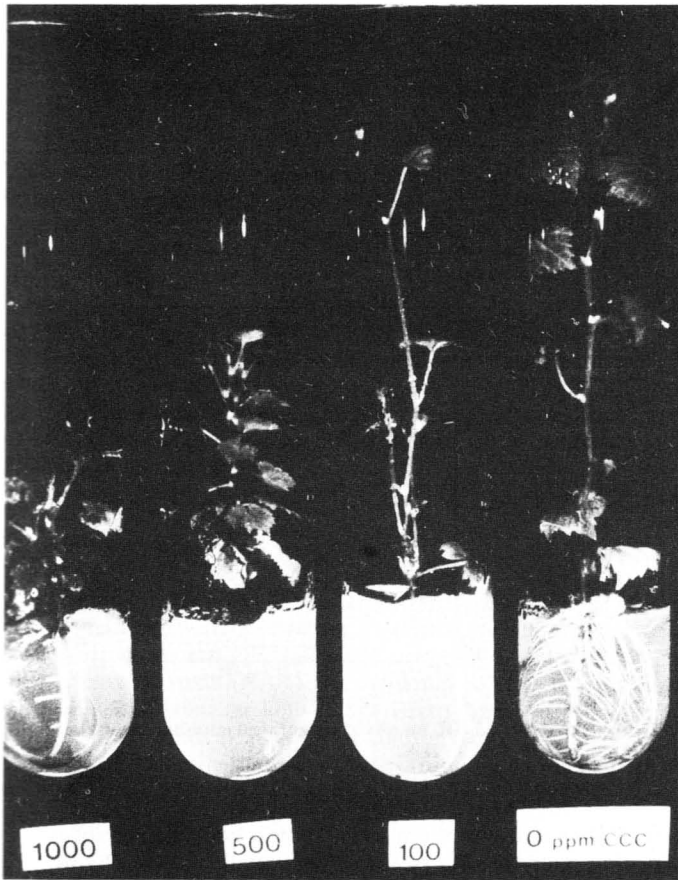
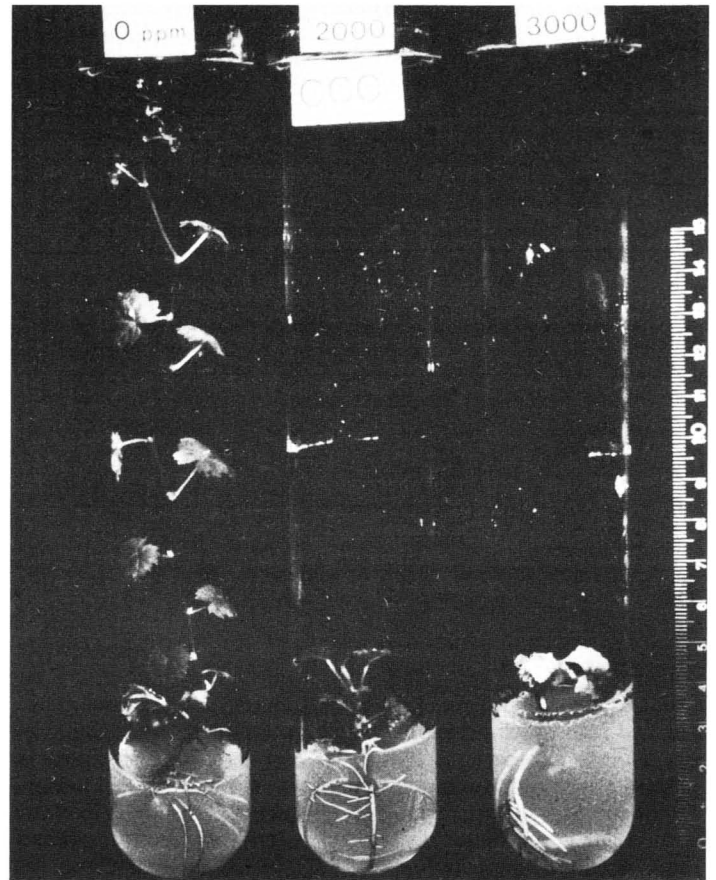


Fig. 1 - Effect of different concentration of CCC on the grapevine variety OPTIMA.



Root development was extremely influenced in all concentration ranges. Roots were underdeveloped by application of ALAR. Callus growing was absolutely suppressed.

c) Cold-storage of inhibited *in vitro* plants.

In following examination CCC-treated plants are kept in cold-storage at a temperature of 8 °C under continuous low light in-

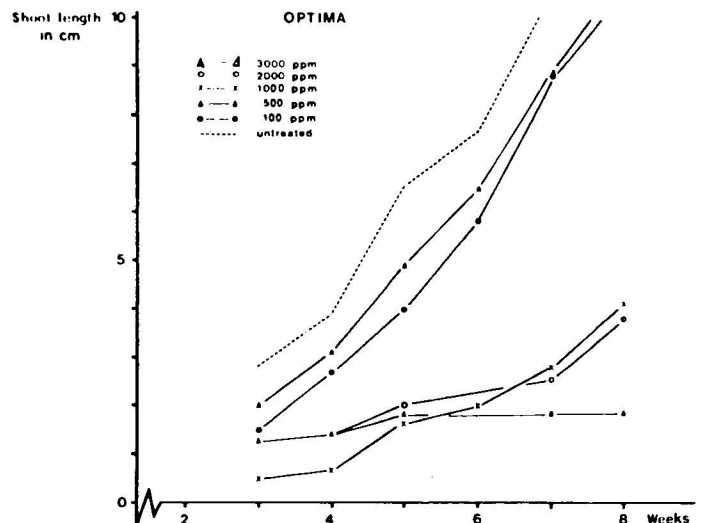


Fig. 3 - Effect of CCC on shoot-length at the grapevine variety OPTIMA.

for all plants of Optima and Bacchus. There was no significant difference between both cultivars.

Number of nodia was not reduced or increased by an ALAR-treatment (fig. 5). Time of sprouting was six weeks later in comparison with untreated plants which had first leaves 14 days after multiplication.

High concentrations of ALAR (200 ppm and more) decreased the surviving rate. At 1000 ppm 100% of plants stayed alive, at 2000 ppm about 25% and at 3000 ppm ALAR all plants were killed after six weeks (fig. 5).

All plants which did not survive, browning was observed two or three weeks after multiplication. In many cases sprouting was generally suppressed.

A shoot-thickening did not occur at an ALAR-treatment. Only internodes were reduced.

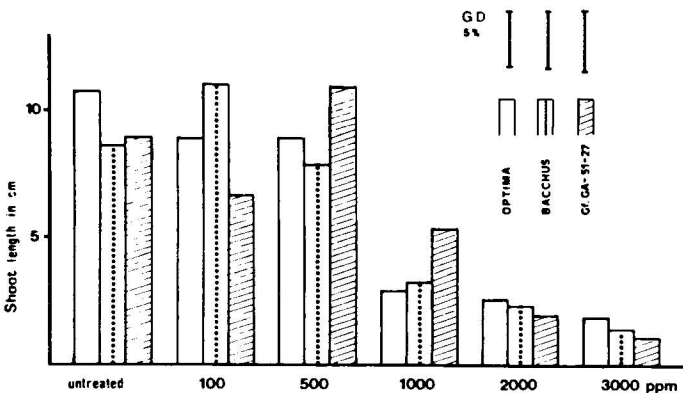


Fig. 2 - Reaction of three grapevine varieties on different concentrations of CCC (age of the plants: 7 weeks).

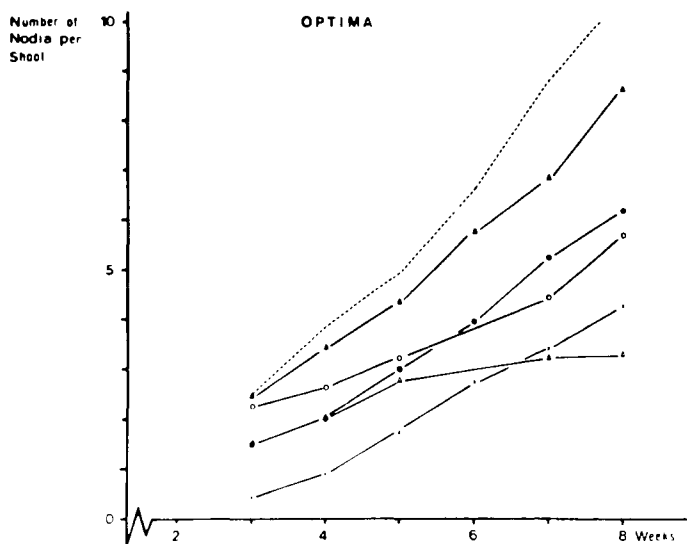


Fig. 4 - Effect of CCC on number of nodia at the grapevine variety OPTIMA.

tensity ( $20 \mu\text{E m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ ) and under continuous darkness. First results showed that plants kept in dark can be better stored under reduced culture temperatures. Under continuous low light intensity and in another purpose under low light intensity with a photoperiod of 14 hours all plants got chlorotic and the shoot-tip dried. But there are no experiences yet how long in vitro cultures of grapevine could be kept under continuous dark and reduced culture temperature of  $8^\circ\text{C}$ .

The range of storage temperature seems to be another problem. A temperature of  $8^\circ\text{C}$  may be too low for all kinds of grapevine varieties. It will be difficult to keep all grapevine varieties under the same storage conditions.

It would be also necessary to put some drops of medium into every test tube about all three months to keep plants alive for longer than one year under storage conditions. This could be a solution especially for plants kept under continuous light or under a photoperiod of 14 hours by reduced light intensities.

## Conclusion

Application of growth inhibitors in combination with cold storage on preconditioning of growth reduction to put off frequent

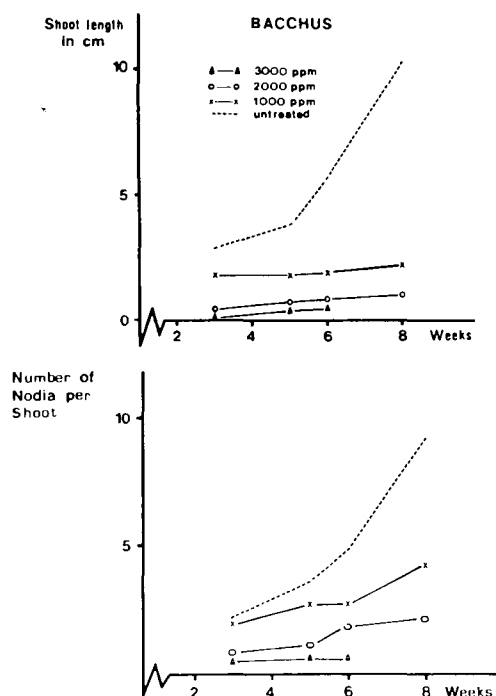


Fig. 5 - Effect of ALAR on shoot-length and number of nodia at the grapevine variety BACCHUS.

transfers on a new medium seems to be a good step to solve conservation problems. But finally storage-conditions for all grapevine varieties are not yet found. Some factors like nutrition of in vitro-plants within storage time, variation of long to short day or slowly reducing culture temperature in different stages have to be examined in future.

## LITERATURE

- Bourquin H.-D., Alleweldt G. (1970) - *Der Einfluss von CCC und B-995 auf das Triebwachstum von Reben*. Vitis 9, 105-20.  
 Linsmaier E.M., Skoog F. (1965) - *Organic growth factor requirements of tobacco tissue culture*. Physiol. Plant 18, 100-127.  
 Westcott R.F. (1981) - *Tissue culture storage of potato germplasm*. 2. Use of growth retardants, Potato Res. 24, 343-352.

## SUMMARY

### EFFECTS OF GROWTH INHIBITORS OF GRAPEVINE VARIETIES

The preservation of gene material of *Vitis* by in vitro-culture is of considerable importance. However, the methods for long-term storage are far from being satisfactory.

Growth suppression by inhibitors could provide a solution, to avoid frequent transfers of plants onto a new medium. Our knowledge on uptake of substances by in vitro plants being insufficient, we tested a large scale of different concentrations of two growth inhibitors (chlorocholine-chloride, CCC and daminozide, Alar or B 995) at  $26^\circ\text{C}$ .

CCC is applied in agriculture to inhibit stem-growth. In viticulture, Bourquin and Alleweldt (1970) successfully regulated vegetative growth with CCC. Alar is used in orchards to shorten sprouting and to increase flowering (Bettner and Mappel, 1970).

We applied CCC both to leaves, here concentrations of 100, 500 and 1000 ppm showed to be ineffective and to roots. Different concentrations (100, 500, 1000, 2000 and 3000 ppm CCC) were added to the nutrient medium of the grapevine cultivars Bacchus, Optima and GA-52-27.

A significant growth inhibition as compared to the untreated control occurred at concentrations of 1000 ppm CCC, or more. However 3000 ppm CCC showed to be the maximum, since higher concentrations stopped sprouting.

CCC reduced the length of internodes and led to shoot-thickening. Similar effects were obtained by the application of Alar. Additional experiments indicate that inhibited plants are better suited for cold storage (at  $3^\circ$  and  $8^\circ\text{C}$ ) than untreated ones.

# APPLICATION OF IN VITRO CULTURES IN THE RESEARCH ON GRAPEVINE GENETICS

Z. HAYDU

University of Horticulture - Research Institute for Viticultures and Enology - Kecskemét (Hungary)

## Introduction

There are a lot of results on the appearance of characters of whole plants at callus level, e.g. callus tissues of alkaloid producing plants produce alkaloids. Determination of some characters of bearing stocks at callus level would be of great theoretical and practical significance.

## Materials and methods

71 cultivars of *Vitis vinifera* and 6 lines - 2 of them male flower - of *V. amurensis* were used in our experiments. Callus tissues were induced from 10 mm long internode segments of green shoots at the presence of auxin (NAA) and cytokinin (BAP) on Murashige - Skoog (1962) solid medium (0,8% Bacto Agar) with half concentration of mineral salts. The cultures were illuminated by Tungsram F 33 White fluorescent tubes from the distance of 10-20 cm for 9 or 12 hours.

## Results

Red pigmentations appeared on the callus tissues of some cultivars. By the appearance of pigmentation three groups of cultivars could be distinguished (Table 1). Callus tissues were induced from 10 mm long internode segments of green shoots at the presence of auxin (NAA) and cytokinin (BAP) on Murashige - Skoog (1962) solid medium (0,8% Bacto Agar) with half concentration of mineral salts. The cultures were illuminated by Tungsram F 33 White fluorescent tubes from the distance of 10-20 cm for 9 or 12 hours.

## Results

Red pigmentations appeared on the callus tissues of some cultivars. By the appearance of pigmentation three groups of cultivars could be distinguished (Table 1). Callus pigmentation and wine colour producing capacity of cultivars showed very close correlation (Table 2). The lines of *V. amurensis* also showed pigmentation.

Tab. 1 - Classification of tissue cultures of grapevine by the appearance and the rate of pigmentation (%)

Group	Duration of culture	
	1 week	4-6 weeks
1	90-100	100
2	0-10	80-100
3	-0	0

Tab. 2 - Correlation between callus pigmentation and wine colour producing capacity

Group	Number of cultivars and type of wine		
	Teinturier	Red	White
1	10	0	0
2	0	19	4
3	0	0	36

## Conclusions

These results demonstrate that wine colour producing capacity of cultivars can be determined at callus level with the efficiency of higher than 90%. The pigmentation of calli of male flower lines of *V. amurensis* proves that characters (= genetic informations) of grapevine can be appeared and investigated at callus level. Investigations on other characters - sensitivity for photoperiodism (Alleweldt and Radler 1962), di - and tetraploid level of plants (Staudt et al. 1972), Plasmopara (Boubals 1984, personal communication) and Eutypa resistance (Belarbi and Mur 1984, personal communication) - had also resulted in differences at callus level. These facts and our results encourage us that investigations on callus tissues may increase the efficiency of genetical research of grapevine.

Introduction of protoplast technique, solution and application of protoplast - plant experimental system mean further perspectives in the genetics of *Vitis* sp.

## LITERATURE CITED

- Alleweldt G., Radler F. (1962) - *Interrelationship between photoperiodic behavior of grapes and growth of plant tissue cultures*. Plant Physiol. 37, 376-379.
- Murashige T., Skoog F. (1962) - *A revised medium for growth and bioassays with tobacco tissue cultures*. Physiol. Plant. 15, 473-497.
- Staudt G., Bonner H.-G., Becker H. (1972) - *Untersuchungen über die Kallusbildung von di - und tetraploiden Reben in vitro*. Vitis 11, 1-9.

## SUMMARY

### APPLICATION OF IN VITRO CULTURES IN THE RESEARCH ON GRAPEVINE GENETICS

*In vitro* cultures of grapevine can successfully be applied at the various fields of viticulture including the practice - micropropagation, virus elimination - and the research (genetics, physiology, pathology).

In our experiments red pigmentation of callus tissues was found. Callus pigmentation and wine colour producing capacity of varieties showed close correlation and the whitered - and teinturier-wine varieties could be distinguished with a high efficiency. Experiments made over 70 varieties proved that the genetic information of bearing plants could be investigated at callus level. Similar results were got for some characters - e.g. phytopathogen resistance - in other laboratories. These facts emphasize the significance of *in vitro* experimental systems in the research of grapevine genetics.

Application of protoplast techniques - somatic hybridization, gene transfer, etc. - may provide further perspectives.

# IN VITRO GRAPE SHOOT TIP MUTAGENESIS

S.K. KIM<sup>1</sup> - B.I. REISCH<sup>2</sup> - B.I. REISCH<sup>2</sup>  
- H.S. ALDWINCKLE<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Chungbuk National University - Cheongju 310 - Korea

<sup>2</sup> New York State Agricultural Experiment Station  
Cornell University - Geneva (USA)

## Introduction

The frequency of somaclonal variants (Larkin and Scowcroft, 1981; Reisch, 1983), defined as including the great range of variant types obtained among plants regenerated from cell cultures, is highly dependent upon medium composition, plant genotype, explant source, length of time in culture and type of cell culture system. Favre (1977) and Mullins and Srinivasan (1976) were the first to note a reversion to a juvenile form of growth among shoots from adventitious buds and somatic embryos of grapes. Krul and Worley (1977) also noted a reversion to juvenility among plants regenerated from «Seyval» callus cultures. Such transient variations, though, are only of limited importance as compared to stable genetic changes.

Rajasekaran and Mullins (1979) reported that plants derived from anther cultures of a single male clone varied in vigor, plant form, tissue color and cotyledon number. Many abnormal plants failed to survive thus it could not be determined whether abnormalities were due to haploidy or spontaneous variation. A more recent study (Rajasekaran and Mullins, 1983) indicated that, among surviving plants, there were great variations in leaf morphology. Also, 2 of 120 regenerated plants produced perfect flowers, unlike the original male clone.

In this study, we chose to focus on the production of random clonal variation within high quality grape cultivars by mutagenesis of rapidly multiplying shoots in culture. As compared to somaclonal variation techniques, this technique has the advantage of avoiding the need to regenerate plants from protoplasts or callus which may be genetically altered during the *in vitro* culture process (Reisch, 1983). Shoot tips, though, tend to be more stable genetically than undifferentiated cultured cells.

## Materials and methods

The effects of caffeine and gamma radiation were examined. Caffeine is a widely used inhibitor of DNA excision repair in plants (Soomro and Yamaguchi, 1977; Soyfer, 1981) and usually enhances mutation frequencies when used in combination with other mutagens. Caffeine was incorporated directly into the medium prior to gamma radiation (<sup>60</sup>Co source) at 0.0 - 10.0 kRad.

## Results and discussion

Gamma radiation effect were not severe four weeks following treatment. Shoot proliferation, but not shoot length, was reduced at 2 and 10 kRad (Tab. 1). Survival was 100% in all cases. Twelve weeks following treatment, proliferation of shoots treated with 2 kRad continued, however, there was complete necrosis of

all shoots treated with 10 kRad. Future experiments will examine radiation doses between 1 and 5 kRad. Shoots from the 2 kRad treatment are being established in soil and will be examined for possible phenotypic alterations.

Treatment with 5.0 mM caffeine was too severe for shoot growth and survival. There was up to 83% survival (Tab. 1) four

Tab. 1 - The effect of gamma radiation and caffeine on shoot proliferation, shoot length and survival of shoot apices of Vanessa grapes 4 and 12 weeks after treatment.

gamma rays (kR)	Caffeine			
	0,0 mM			5,0 mM
	shoots/explant	shoot length	percent survival	percent survival
<i>Initial culture - 4 weeks</i>				
0	3.4M0.47	1.8	100	75.0
2	2.5M0.23	1.6	100	83.3
10	2.6M0.10	1.8	100	66.7
<i>Subculture - 12 weeks</i>				
0	3.4M0.54	1.2	100	0
2	2.6M0.21	1.9	100	0
10	2.6M0.10	1.0	0*	0

\* Delayed killing - number and length of shoots were evaluated from the necrotic tissue.

weeks after irradiation, but after subculture there was no further growth of treated shoots. Subsequent experimentation will focus on the establishment of a treatment level with caffeine which is only partially inhibitory to further growth.

## LITERATURE CITED

- Favre J.M. (1977) - *Premiers resultats concernant l'obtention in vitro de neoformations caulinaires chez la vigne*. Ann. Amelior. Plantes 27, 151-169.
- Krull W.R. and J.F. Worley (1977) - *Formation of adventitious embryos in callus cultures of «Seyval», a French hybrid grape*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 102, 360-363.
- Larkin P.J. and J.M. Scowcroft (1981) - *Somaclonal variation - a novel source of variability from cell cultures for plant improvement*. Theor. Appl. Genet. 60, 197-214.
- Mullins M.G. and C. Srinivasan (1976) - *Somatic embryos and plantlets from an ancient clone of the grapevine (cv. «Cabernet Sauvignon») by apomixis in vitro*. J. Exp. Bot. 27, 1022-1030.
- Rajasekaran K. and M.G. Mullins (1979) - *Embryos and plantlets from cultured anthers of hybrid grapevines*. J. Exp. Bot. 30, 399-407.
- Rajasekaran K. and M.G. Mullins (1983) - *The origin of embryos and plantlets from cultured anthers of hybrid grapevines*. Am. J. Enol. Vitic. 34, 108-113.
- Reisch B. (1983) - *Genetic variability in regenerated plants*. in D.a. Evans, W.R. Sharp, P.W. Ammirato and Y. Yamada (eds.). Handbook of Plant Cell Culture. Vol. 1. Techniques for propagation and breeding. MacMillan Co., NY. pp. 748-769.
- Soomro A.M. and H. Yamaguchi (1977) - *Caffeine enhancement of the damage induced by gamma rays and alkylating agents in rice seeds*. Radioisotopes 27:13-18.
- Soyfer V.N. (1983) - *Influence of physiological conditions on DNA repair and mutagenesis in higher plants*. Physiol. Plant. 58, 373-380.

## SUMMARY

### IN VITRO GRAPE SHOOT-TIP MUTAGENESIS

Shoot apices of Vanessa Seedless (Seneca x Bath x Interlaken Seedless) and Remainly Seedless (Lady Patricia x Ontario x Russian Seedless) were treated with chemical mutagens (EMS, ethionine, and caffeine) and gamma radiation and their in vitro growth performance was studied. Number of



shoots and shoot length showed a gradual decrease as the concentration of EMS (0.2-2.0% v/v) and ethionine (1.0-20.0 mM) increased. The survival rate decreased as the concentration of ethionine increased from 1.0 to 20.0 mM. Caffeine (0.1-0.5 mM) did not affect the growth of shoot apices, caused slight inhibition at 1.0 mM, and complete inhibition at 2.0 to 5.0 mM. Shoot growth of *Vanessa Seedless grapes* was affected by 2 and 10 kR gamma radiation. The vigor was depressed when subcultured and those that received 10 kT were eventually killed. In a second experiment, shoot apices of *Vanessa Seedless* and *Remainly Seedless grapes* which were in a more active growth phase when treated were more sensitive to gamma radiation. One kR was not detrimental to growth, but 5.0 kR (in 2 hrs.) inhibited shoot proliferation and shoot length.

Possible mutations in cultured shoot apices were observed to include leaf deformations such as fan-leaf or entire leaves and rosetted growth.

## UTILISATION DE L'EMBRYOGENESE SOMATIQUE EN VUE D'AUGMENTER LA VARIABILITE CHEZ *VITIS VINIFERA* VAR. CABERNET-SAUVIGNON

M. CL. MAURO - C. NEF - C. AMBID - J. FALLOT

Laboratoire de Biotechnologie Végétale - Ecole Nationale Supérieure Agronomique - Toulouse - (France)

### Introduction

L'objectif à long terme de cette étude est d'améliorer la résistance de *Vitis vinifera* var. Cabernet-Sauvignon vis-à-vis de l'eutypiose (*Eutypa armeniaca*), tout en conservant les caractères morphologiques et technologiques de ce cépage réputé. Les méthodes classiques d'amélioration par hybridation ne pouvant être utilisées, la démarche biotechnologique est la seule possible et l'embryogenèse somatique apparaît d'un grand intérêt en vue d'amplifier la variabilité à l'intérieur de cette variété.

La technique de régénération retenue est la culture d'anthères. Largement utilisée pour la création de plantes haploïdes, elle permet chez la vigne l'obtention d'embryons somatiques (Rajasekaran et Mullins, 1979 et 1983; Bouquet et al., 1982; Hirabayashi et al. 1982). Parmi les variétés de vigne expérimentées, le Cabernet-Sauvignon figure parmi les plus rebelles, et la présente étude porte sur les différents facteurs susceptibles d'améliorer la callogenèse et l'embryogenèse chez cette variété.

Dans la bibliographie, une température de prétraitement de 4°C des boutons floraux possède chez la vigne des effets positifs selon Bouquet et al. (1982), Rajasekaran et al. (1979 et 1983), alors que Hirabayashi et al. (1982) obtiennent des embryons sans prétraitement. Dans ses travaux sur l'androgenèse de l'aubergine, Dumas De Vault et al. (1982) préconise même une température de 35°C pendant 8 jours sur des anthères mises en culture.

L'apport de substances organiques dans le milieu de culture, en particulier de certains acides aminés (Siriwardana et al. 1983), stimulerait la callogenèse et l'adénine exercerait un rôle dans l'organogenèse de la carotte (Wiggans 1954).

Enfin le stade de prélèvement des anthères semble très important, du moins dans le cas d'androgenèse (Sibi et al. 1979).

### Matériel et Méthodes

Les boutons floraux appartenant aux clones 337 et 1565 de Cabernet-Sauvignon sont prélevés à différents stades de développement.

Les anthères sont mises en culture en boîtes de Pétri sur un milieu gélosé de Murashige et Shoog (1962) dilué de moitié et additionné de 2,4-D (1 mg. l<sup>-1</sup>) et de benzylaminopurine (0,25 mg. l<sup>-1</sup>). Maintenus à l'obscurité et à 25°C pendant un mois, elles sont ensuite repiquées sur un milieu gélosé contenant 0,1 mg. l<sup>-1</sup>

d'acide naphthylacétique (A.N.A.) et 0,25 mg. l<sup>-1</sup> de B.A.P. et exposées à la lumière (photopériode 16 H de lumière). Les embryons néoformés sont repiqués en tubes sur un milieu renfermant uniquement de la B.A.P. (0,1 mg. l<sup>-1</sup>).

Les plantules sont multipliées par microbouturage *in vitro* et transférées en salle de culture pour des études ultérieures.

### Résultats

#### 1. Influence du prétraitement thermique.

Les traitements thermiques suivants ont été réalisés, soit sur boutons floraux, soit sur anthères de Cabernet-Sauvignon:

- boutons floraux à 4°C pendant 3 ou 8 jours
- anthères mises en culture sur milieu gélosé:
  - à 4°C pendant 3 ou 8 jours
  - à 35°C pendant 3 ou 8 jours
  - sans traitement thermique

Le taux de callogenèse le plus élevé (9%) a été observé pour les anthères dont les boutons floraux avaient subi un traitement de 3 jours ou 8 jours à 4°C, mais la différence avec les boutons floraux non prétraités n'est pas significative. Sur les anthères l'application de 4°C a un effet positif encore moins marqué; quant au traitement à 35°C, il se montre même inhibiteur.

#### 2. Influence de l'apport d'acides aminés et d'adénine dans le milieu de culture initial.

Dans un premier temps, afin d'augmenter la callogenèse, 6 acides aminés et de l'adénine ont été ajoutés au milieu initial de culture à trois concentrations différentes (1, 10 et 100 mg. l<sup>-1</sup>).

Un nombre de cals plus élevé par rapport au témoin est observé avec la glutamine aux trois concentrations expérimentées, avec la phénylalanine à 10 et 100 mg. l<sup>-1</sup> et dans une moindre mesure avec la tyrosine et la sérine.

En ce qui concerne l'embryogenèse, seuls les milieux supplémentés en adénine (1 mg. l<sup>-1</sup>), tryptophane (1 mg. l<sup>-1</sup>) et glutamine (1, 10, 100 mg. l<sup>-1</sup>) ont permis l'obtention d'embryons.

Avec ce dernier composé 4 à 5% des cals sont embryogènes; l'adénine et le tryptophane, beaucoup moins favorables à la callogenèse, se montrent plus actifs que la glutamine sur l'embryogenèse, puisque respectivement 10 et 8% des cals sont embryogènes.

#### 3. Etude du stade de prélèvement des anthères

Les anthères prélevées sous loupe binoculaire sont ensemencées en fonction de leur longueur, de 0,2 mm à 1 mm. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 1.

La callogenèse affecte 43% des anthères possédant une longueur de 0,5 à 0,7mm, alors que les pourcentages obtenus avec les anthères de classes inférieures ou supérieures sont significativement plus faibles. Ce stade préférentiel correspond à la phase qui précède la première mitose pollinique. Les anthères d'une longueur de 0,6 mm environ sont facilement identifiables à leur cou-

Tab. 1 - Influence de la taille des anthères de cabernet-sauvignon sur la production de cals et d'embryons en culture *in vitro*.

Longueur des anthères (en mm)	Nombre d'anthères cultivées	% d'anthères callogènes	% de cals embryogènes	% * d'embryons	% * de plantules
≤ 0,3	360	20	0	0	0
0,3 à 0,5	820	25,8	0,48	0,48	0
0,5 à 0,7	980	43,6	1,8	4,9	1,4
≤ 0,8	180	1,66	0	0	0

\* Pourcentages exprimés par rapport au nombre de cals.

leur vert-jaune. Il est à noter qu'il s'agit du stade pollinique le plus favorable à l'androgénèse.

#### 4. Association de tous les facteurs favorables précités

A la suite de l'acquisition de ce repère phénotypique simple pour la mise en culture des anthères, l'étude de l'influence de 3 des substances organiques signalées précédemment, et incorporées dans le milieu initial a été reprise avec le clone 337. La glutamine (100 mg. l<sup>-1</sup>), et la phénylalanine (10 mg. l<sup>-1</sup>) ont été retenues pour leur effet sur la callogénèse, l'adénine (1 mg. l<sup>-1</sup>) pour ses effets embryogènes. Les résultats sont résumés dans le tableau 2.

Dans les expériences indiquées, le pourcentage d'anthères callogènes est à peu près identique, de l'ordre de 25%. Pour une taille identique des anthères (0,6 mm) ce taux est plus faible que lors de l'expérience précédente (43,6%) dans laquelle aucune substance n'était ajoutée au milieu de culture. Le rôle néfaste sur la callogénèse de l'adénine, signalé précédemment, est donc confirmé ici car ce composé est présent dans les trois milieux de culture expérimentés.

Il faut signaler d'autre part que la prolifération de cals obtenus à partir d'anthères de Cabernet-Sauvignon est limitée. Comme il est difficile d'apprécier rapidement le nombre de cals de petite taille, seuls les cals d'un diamètre supérieur à 5 mm sont pris en compte dans le tableau 2. Il est à noter néanmoins que les embryons sont généralement obtenus à partir de cals présentant un faible développement et une couleur brune. Cet aspect des cals

embryogènes est souvent signalé dans le cas de la vigne, qu'il s'agisse de culture d'ovules ou d'anthères. Tout se passe comme si des tissus sénescents étaient particulièrement favorables à la formation d'embryons somatiques.

Dans les expériences présentées dans le tableau 2, l'embryogénèse n'a pu être observée qu'avec les deux milieux de culture renfermant de la glutamine.

Les 3 substances associées adénine, phénylalanine et glutamine, déterminent le meilleur pourcentage d'anthères embryogènes (4,8%), mais le nombre d'embryons reste faible, puisque chaque cal embryogène (4,8%), ne produit que deux embryons en moyenne. Cependant la quasi totalité de ces embryons se développent normalement.

A l'inverse dans le second milieu avec glutamine mais sans phénylalanine, le pourcentage d'anthères embryogènes est plus faible (2,3%), en revanche le nombre d'embryons par cal est élevé (35 en moyenne). Dans ce cas, des cotylédons anormaux et dissymétriques accompagnent souvent un arrêt de croissance.

L'obtention d'embryons en nombre élevé à partir d'un même cal et leur développement ultérieur en plantules normales apparaissent comme deux phénomènes incompatibles.

La croissance des embryons somatiques constitue actuellement un véritable goulot d'étranglement pour la régénération de plantes à partir de culture *in vitro*. Des essais de traitement par le froid souvent signalés dans la littérature (Rajasekaran et al. 1979, Bouquet et al. 1982) pendant 2, 3 ou 4 semaines aux différents stades de l'embryogénèse, ainsi que l'application de cytokinine (B.A.P.) à des doses élevées (3 et 5 mg. l<sup>-1</sup>) n'ont pas permis la reprise de croissance des embryons somatiques de Cabernet Sauvignon. Pour

Tab. 2 - Effet de l'apport d'acides aminés et d'adénine au milieu de culture *in vitro* d'anthères de cabernet-sauvignon sur la callogénèse et l'embryogénèse.

Composés ajoutés simultanément au milieu de culture	Concentration en mg/l	Nombre d'anthères cultivées	% * d'anthères callogènes Φ cal > 5 mm	% de cals embryogènes	% ** d'embryons	% ** de plantules
Phénylalanine et Adénine	10	315	21,5	1,5	1,5	0
Glutamine et Adénine	100	315	27,9	2,3	81,8	16
Phénylalanine et Glutamine	100	315	26,3	4,8	9,6	8,4
Adénine	1	180	12,2	0	0	0
Témoin		180	12,2	0	0	0

\* Les anthères ensemencées ont une longueur d'environ 0,6 mm.

\*\* Pourcentages exprimés par rapport au nombre de cals.

l'instant, seule l'ablation précoce des cotylédons anormaux a permis le départ de bourgeons axillaires sur 30% des plantules.

## Conclusion

La méthodologie proposée pour l'embryogenèse somatique à partir d'anthers, dont les rendements sont en général très faibles pour les cépages de *Vitis vinifera* et en particulier pour la variété Cabernet Sauvignon, apporte une amélioration du rendement en embryons. En effet, le prélèvement des anthers à un stade précis (0,6 mm pour le clone expérimenté) et la mise en culture dans un milieu contenant glutamine, adénine et éventuellement phénylalanine, ont permis d'augmenter la callogenèse (43 % des anthers cultivées) et l'embryogenèse (4,8% des cals).

La technique mise en oeuvre possède encore un caractère aléatoire marqué et les différentes phases de la régénération des plantules ne sont pas encore pleinement maîtrisées: callogenèse, embryogenèse, développement des embryons. Nos essais visant à améliorer ces étapes et étendre les résultats à d'autres clones de Cabernet Sauvignon se poursuivent.

A l'issue de ces expériences, une centaine d'embryons ont été obtenus; une trentaine font actuellement l'objet d'études biométriques portant sur l'analyse de leur variabilité. Notre objectif final est la régénération de plantes résistantes ou tolérantes à l'eutypiose, par incorporation de filtrats d'*Eutypa armeniacae* dans le milieu de culture des anthers. Ces filtrats sont actuellement en cours d'études, mais la bonne corrélation déjà observée entre la réaction des plantules de Cabernet-Sauvignon après inoculation de mycélium et celle observée après application de filtrats, laisse à

penser que le complexe toxique constitue un déterminant important du pouvoir pathogène du champignon, et qu'il pourra être utilisé comme outil de sélection.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bouquet A., Piganeau B., et Lamaison A.M. (1982). *Influence du génotype sur la production de cals, d'embryons, et de plantes entières par culture d'anthers in vitro dans le genre Vitis*. C.R. Acad. Sci. Paris, 295, 569 - 574.
- Dumas de Vaulx R. et Chambonnet D. (1982). *Culture in vitro d'anthers d'aubergine (Solanum melongena L.) Stimulation de la production de plantes au moyen de traitements à + 35° C associés à de faibles teneurs en substances de croissance*. Agronomie, 2, 983- 988.
- Hirabayashi T. et Akihama T. (1982) *In vitro embryogenesis and plant regeneration from the anther-derived callus of Vitis*. Proc. 5th Intl. Cong. Plant. tissue and cell culture. Plant tissue culture 547-548.
- Murashige T. et Skoog, F. (1962). *A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures*. Physiol. Plant., 15, 473-497.
- Rajasekaran K. et Mullins M.G. (1979). *Embryos and plantlets from cultured anthers of hybrid grapevines*. J. Exp. Bot., 30, 399-407.
- Rajasekaran K. et Mullins M.G. (1983). *Influence of genotype and sex-expression on formation of plantlets by cultured anthers of grapevines*. Agronomie, 3, 233-238.
- Sibi M., Dumas De Vaulx R., et Chambonnet D. (1979). *Obtention de plantes haploïdes par androgénèse in vitro chez le piment (Capsicum annum L.)*. Ann. Amélior. Plantes, 29, 583-606.
- Siriwardana S. et Nabors M.W. 1983. *Tryptophan enhancement of somatic embryogenesis in Rice*. Plant. Physiol., 73, 142-146.
- Wiggans S., (1954). *Growth and organ formation in callus tissues derived from Daucus carota*. Am. J. Bot., 41, 321.

## RESUME

### UTILISATION DE L'EMBRYOGENESE SOMATIQUE EN VUE D'AUGMENTER LA VARIABILITE CHEZ VITIS VINIFERA VAR. CABERNET-SAUVIGNON

*Le Cabernet-Sauvignon, largement cultivé dans le monde, possède de nombreuses qualités, mais présente aussi quelques défauts; il est sensible, en particulier, à l'Eutypiose (Eutypa armeniacae).*

*Dans les vignobles français d'Appellation d'Origine Contrôlée et de Vin Délimité de Qualité Supérieure, l'amélioration des variétés par hybridation est impossible.*

*Notre objectif est donc d'élargir la variabilité par la culture des tissus.*

*La technique retenue est l'obtention d'embryons diploïdes à partir de cals d'anthers (embryogénèse somatique). Différents facteurs visant à améliorer le pourcentage de réussite ont été étudiés, notamment la taille des anthers mises en culture, l'apport de diverses substances organiques (sucres, acides aminés...).*

*Les premières plantes issues de cals embryogènes font actuellement l'objet de recherches sur la mise en évidence d'une éventuelle variabilité induite in vitro. Elles portent sur l'analyse de paramètres morphologiques et biochimiques.*

## PROGRESS IN THE REGENERATION OF GRAPEVINES IN VITRO

**M. G. MULLINS**

Department of Agronomy and Horticultural Science,  
University of Sydney (Australia)

### Introduction

In many crop species there is evidence that plants regenerated *in vitro* from protoplasts, cells or callus exhibit wide variation in morphological and physiological characters (Scrowcroft et al., 1983; Evans et al., 1984). The nature of this «somaclonal» variation, whether genetic or epigenetic, is still not clear but variants of several important crops have been found which exhibit disease resistance and other agronomically-important attributes. The study

of somaclonal variation in grapes is still at an early stage but there is much interest in the possibility that tissue culture will provide new variability for clonal selection within the major cultivars of wine grapes.

A prerequisite for the exploitation of somaclonal variation, and for the application of recombinant DNA technology to viticulture, is the availability of efficient methods for regenerating grapevines from cells. This paper reports on progress in the development of techniques for formation of somatic embryos from cell suspensions and on progress in plantlet production and establishment. Regeneration of grapevines *in vitro* by organogenesis (Favre, 1977; Rajasekaran and Mullins, 1981), or by the apex fragmentation technique of Barlass and Skene (1978), will not be considered. Finally, an account will be given of variation among cell lines and plantlets produced *in vitro* by somatic embryogenesis.

### Somatic embryogenesis

The grape (*Vitis vinifera*) was among the first plants to have

been grown as a callus culture (Morel, 1944) but the regeneration of plantlets by the route of somatic embryogenesis was not reported until 1976 (Mullins and Srinivasan, 1976). The grape does not behave *in vitro* in exactly the same ways as carrot and tobacco, the species on which the theory and practice of plant tissue culture has been founded. Moreover, grape tissues do not follow the rules for induction of organized development as elucidated by Steward et al. (1964) for somatic embryogenesis and by Skoog and Miller (1957) for organogenesis. Success in regenerating grapevines *in vitro* was based on the selection of regeneratively-competent tissues rather than on the development of complex media which contain the requisite chemical triggers for differentiation.

Two tissues of grapevines have been identified which possess a high degree of regenerative competence, that is, the ability to produce somatic embryos with high frequency from cell suspension cultures. These tissues are the nucellus of both unfertilized and fertilized ovules and the vegetative tissues of isolated anthers. Included in the latter are tissues of the connective, the anther wall and the filament. Tissues from roots, shoots and leaves readily form callus and cell suspensions *in vitro* but cannot be induced to form somatic embryos. The biochemical nature of regenerative competence, and the reasons why this attribute is vested only in the vegetative tissues of reproductive organs, is still obscure.

For production of somatic embryos, isolated anthers or ovules are grown in darkness in agitated solution cultures containing a basal medium supplement with benzyladenine (BA; 1-5  $\mu$ M), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D; 2-5  $\mu$ M) and casein hydrolysate (0.1%). Callus produced by these explants is transferred to basal medium and the cultures are grown in the light. Subsequently, this callus breaks down to produce a suspension of single cells and cellular aggregates which, in turn, gives rise to somatic embryos (Srinivasan and Mullins, 1980).

#### Effects of tissue of origin, genotype and sex-expression on formation of somatic embryos

Somatic embryo formation has been achieved in a wide range of *Vitis* genotypes including *V. vinifera* cultivars, *V. rupestris* rootstocks and interspecific hybrids. (Table 1). Experience suggests that most if not all *vinifera* cultivars can be regenerated *in vitro* by use of ovule explants. In earlier work ovules were taken from unpollinated flowers so as to avoid the possibility of confusing

somatic embryos with the formation of embryos of zygotic origin. However, recent work has shown that there is degeneration of embryosacs in cultured ovules and that somatic embryos are formed with similar frequency by the nucellus tissues of both normally-fertilized ovules and ovules from flowers treated with the male gameticide, Toluidine Blue (Rajasekaran and Mullins, unpublished). Accordingly, the time of collection of flowers for extraction of ovules is less crucial than was suggested earlier (Mullins and Srinivasan, 1976) and suitable ovule explants can be obtained up to 3 days after anthesis.

In *vinifera* cultivars the production of somatic embryos from callus of anther origin is generally more difficult and less reliable than with ovules. In Cabernet Sauvignon, for example, the regenerative competence of anther tissue seems to vary with season and with mother plants. The cultivars Grenache and Shiraz (Syrah) have been the most consistent in producing large numbers of somatic embryos from cultured anthers. In *Vitis* species and hybrids the ability of anthers to form callus and embryos varies markedly with genotype (Rayasekaran and Mullins, 1983). Among the species which have been investigated for regeneration *in vitro*, *V. rupestris* and *V. longii* have the greatest propensity for somatic embryo formation. The hybrids JS-23-416 and Gloryvine are also prolific producers of somatic embryos as are the *V. rupestris* rootstocks Rupestris St George and Rupestris Metallica Cape.

Maleness, as distinct from other forms of sex expression, is a factor which favours embryo formation by cultured anthers of *Vitis*. The anthers of most male grapevines produce highly regenerative callus, but when flowers of male cultivars are feminized by cytokinin (Negi and Olmo, 1966), the anthers of the hermaphrodite flowers fail to grow *in vitro*. Finally, regenerative competence appears to be a simply-inherited character. The ability of anthers to form callus and embryos *in vitro* is manifested in  $F_1$  hybrids between non-regenerative female grapevine cultivars and regenerative male parents and is thus amenable to selection.

#### Germination of somatic embryos and plantlet establishment

The production of large numbers of somatic embryos from isolated ovules or anthers has become a routine procedure for most grapevine cultivars but the yields of plantlets produced *in vitro* are low. The main problems to be overcome are the protracted «dormancy» and variable germination of somatic embryos. The seat of the problem is the gemmule, the incipient of most genotypes but shoot emergence is highly irregular. For plantlet production, mature embryos are transferred to filter paper bridges in glass jars (300 ml) containing basal medium (Nitsch and Nitsch, 1969; 25 ml). Root growth commences immediately and may continue for several months so that the paper bridge becomes filled with a «birds-nest» of intertwined roots. Shoots appear sporadically over a period of up to 12 months. Plantlets with 3 or 4 leaves are teased from the root mass and are then transferred to glass jars (300 ml) containing sterile substrate such as coarse sand (about 100 ml) and 35-40 ml of half-strength basal medium. Initially, the lids of the jars are sealed and the plants are grown under sterile conditions. As the plants become established the lids are gradually opened (2-3 weeks) and the environment within the jar changes from sterile to non-sterile. This procedure, which provides establishment rates of 90% or better, was developed in response to the observations (i) that grapevine roots which are formed in agar do not survive in normal sand or peat-based growing media and (ii) that grapevine leaves which arise *in vitro* seldom survive when plantlets are transferred directly to the glasshouse or mist propagator. The subculture of plantlets on sterile sand-based medium has proved to be highly effective in producing hardened plants whose subsequent establishment in the glasshouse environment is both rapid and successful.

There is considerable variation among cultivars in the ease of recovery of plantlets from somatic embryos. So far, the most

Tab. 1 - Production of somatic embryos

Genotype	Tissues of origin	
	Anthers	Ovules
<i>Vitis vinifera</i> cultivars		
Cabernet Sauvignon	✓	✓
Chardonnay	—	✓
Grenache	✓	✓
Pinot Noir	—	✓
Shiraz	✓	✓
Sultana	✓	—
<i>Interspecific hybrids</i>		
JS23-416	✓	—
Villard Noir	✓	—
Villard Blanc	✓	—
Gloryvine ( <i>V. vinifera</i> x <i>V. rupestris</i> )	✓	✓
( <i>V. rupestris</i> x <i>V. cinerea</i> ) x <i>V. rupestris</i>	✓	—
<i>Rootstocks</i>		
<i>V. rupestris</i> cv. St. George	✓	—
<i>V. rupestris</i> cv. Metallica Cape	✓	—

amenable cultivars are Grenache and Gloryvine where up to 70% germination has been recorded in some experiments. Shiraz and Sultana are intermediate (up to 30% germination) and Pinot Noir, Chardonnay and Cabernet Sauvignon are difficult. Experience with Cabernet is that less than 1% of somatic embryos may produce leafy shoots and viable plantlets.

### Hormonal aspects of dormancy in somatic embryos

It is well known that newly-harvested grape seeds have a deep dormancy and require after-ripening at low temperature (5°C) for up to 3 months to induce germination (Flemion, 1937; Sing, 1961; Yeou-Der et al., 1968). Similarly, somatic embryos of *Vitis* have an intense dormancy and they have a chilling requirement for germination (2-8 weeks at 4°C) (Rajasekaran and Mullins, 1979). Dormant seeds of many species, including grapes, contain high concentrations of abscisic acid (ABA) and the level of this hormone is reduced by chilling. Conversely, there is an increase in endogenous growth promoters, especially gibberellin, during and after stratification in many cold-requiring seeds. Similar changes in the endogenous levels of abscisic acid and gibberellin were found in response to chilling in somatic embryos of the *vinifera x rupestris* hybrid, Gloryvine (Rajasekaran et al., 1982; Takeno et al., 1983). In some instances application of gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) to somatic embryos has been found to partly alleviate the chilling requirement for germination (Mullins and Srinivasan, 1976) but the responses of *vinifera* grapes to GA<sub>3</sub> have been very variable. In recent work, a wide variety of chemical and environmental treatments has been applied to somatic embryos of the major cultivars so as to hasten and synchronize shoot production but the results of these experiments have been equivocal (Vilaplana, unpublished). It now seems likely that the so-called dormancy of somatic embryos involves factors other than ABA and GA. So far as can be ascertained by vital staining the gemmules of most somatic embryos are viable and the irregular germination of somatic embryos may represent some disorder or inadequacy in differentiation. Alternatively, irregular germination may be a manifestation of somaclonal variation. In this regard, «variants» which germinate without chilling have been found in population of somatic embryos of Grenache and Shiraz. The behaviour *in vitro* of the vegetative progeny of these plants is being investigated in the hope that ease of germination *in vitro* is a selectable character.

### Somaclonal variation

Evidence of somaclonal variation in grapes has come primarily from research on genotypes which are highly regenerative *in vitro*, for example, Gloryvine. Gloryvines raised from somatic embryos exhibit abnormalities such as dwarfism and albinism. Moreover, plants produced *in vitro* show marked variations in leaf shape, including differences in petiolar sinuses and lobation. Leaf shape is normally a highly stable character in grapes and it is the basis of «ampelography», an objective method of cultivar identification (Galet, 1976). In addition, Gloryvines raised from somatic embryos show variation in sex-expression. Gloryvine is a male genotype but 3 vines among the 125 which were planted in a field trial have proved to be hermaphrodite and they have produced fruit for each of the last three years.

In research with *Rupestris* St. George, a grapevine rootstock, cell lines have been selected which grow vigorously in media containing 150 mM NaCl, a level of salt which is normally toxic or highly inhibitory to grapevines. These putative salt-tolerant cells give rise to somatic embryos but, so far, all attempts to make these embryos grow into plants have been unsuccessful (Lebrun et al., 1985). This work is continuing in the hope that salt-tolerance at cellular level will be expressed in the intact plant and that these procedures will lead to the recovery of highly salt-tolerant variants

of *Rupestris* St. George for use as rootstocks in salt-affected areas.

These results indicate that somaclonal variation occurs in *Vitis* but the usefulness of this variation for genetic improvement of wine grapes remains to be proved. A small demonstration planting of Cabernet Sauvignon raised from somatic embryos (12 vines) was made in 1977. Initially, these vines were highly variable in growth and cropping but they have become more uniform in recent years. The «Somatic Cabernet Sauvignon» are vigorous and characteristic of the cultivar but in other respects they are unremarkable, at least to the naked eye. A more extensive experiment (125 somatic vines) was planted in 1983 in which the growth and fruiting of somatic — and normally — propagated Cabernet Sauvignon is being compared. It will be two or three years before meaningful results are available.

Somaclonal variation is essentially random variation and its successful exploitation for grapevine improvement is dependent upon (i) production of plantlets in sufficient numbers for large-scale screening and (ii) the availability of effective screening methods. In wine grape cultivars the problems of irregular germination of somatic embryos and low yields of plantlets make it difficult to apply selection pressures at cellular or embryo level. However, it is possible with present techniques to screen at the plantlet level for somaclonal variation in characters such as resistance to Downy Mildew (*Plasmopara viticola*) and Powdery Mildew (*Uncinula necator*). Appropriate micropathogenicity tests are available (Morel, 1948; Lee and Wicks, 1982; Kempka et al., 1984) and this work is in progress. However, the scale of the programme is limited by the slow rate of production of plantlets.

*Acknowledgement.* This report is sponsored by the Australian Wine and Brandy Corporation.

### REFERENCES

- Barlass, M. and Skene, K.G.M. (1978) - *In vitro propagation of grapevine (Vitis vinifera L.) from fragmented shoot apices*. *Vitis* 17, 335-340.
- Favre, J. M. (1977) - *Premiers résultats concernant l'obtention in vitro de néoformations caulinaires chez la vigne*. *Ann. Amélior. Plantes* 27, 151-169.
- Evans D.A., Sharp W.R. and Medina-Filho H.P. (1984) - *Somaclonal and gametoclonal variation*. *Amer. J. Bot.* 71, 759-774.
- Flemion F. (1937) - *After ripening at 5°C favours germination of grape seeds*. *Contrib. Boyce Thompson Inst.* 9, 7-15.
- Galet P. (1976) - *Précis d'ampélographie pratique*. Montpellier pp. 250.
- Lebrun L., Rajasekaran K. and Mullins M.G. (1985) - *Selection in vitro for NaCl-tolerance in Vitis rupestris Scheele* (submitted).
- Morel G. - *Le développement de tissus de vigne cultivés in vitro*. *C.R. Seance Soc. Biol.* 138, 62.
- Mullins M.G. and Srinivasan C. (1976) - *Somatic embryos and plantlets from an ancient clone of the grapevine (cv. Cabernet Sauvignon) by apomixis in vitro*. *J. Exp. Bot.* 27, 1022-1030.
- Negi S.S., Olmo H.P. (1966) - *Sex conversion in a male Vitis vinifera L. by a kinin*. *Science* 152, 1624-1625.
- Nitsch J.P. and Nitsch C. (1969) - *Haploid plants from pollen grains*. *Science* 1963, 85-87.
- Rajasekaran K. and Mullins M.G. (1979) - *Embryos and plantlets from cultured anthers of hybrid grapevines*. *J. Exp. Bot.* 30, 399-407.
- Rajasekaran K. and Mullins M.G. (1981) - *Organogenesis in internode explants of grapevines*. *Vitis* 20, 218-227.
- Rajasekaran K. and Mullins M.G. (1983) - *Influence of genotype and sex-expression on formation of plantlets by cultured anthers of grapevines*. *Agronomie* 3, 233-238.
- Rajasekaran K., Vine J. and Mullins M.G. (1982) - *Dormancy in somatic embryos and seeds of Vitis: Changes in endogenous abscisic acid during embryogeny and germination*. *Planta* 154, 139-144.
- Scrowcroft W.R., Larkin P.J. and Brettel R.I.S. (1983) - *Genetic variation from tissue culture*. In: *Use of tissue culture and protoplasts in plant pathology*. J.P. Helgeson and B.J. Deverall (Eds). Academic Press, Australia pp. 139-162.
- Singh S.N. (1961) - *Germination of grape (Vitis vinifera L.) hybrid seeds by chilling*. *Curr. Sci.* 30, 62.

- Skoog F. and Miller C.O. (1957) - *Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro*. Symp. Soc. Exp. Biol. 11, 118-131.
- Srinivasan C. and Mullins M.G. (1980) - *High frequency somatic embryo production from unfertilized ovules of grapes*. Scientia Hort. 13, 245-252.
- Steward F.C., Mapes M.O., Kent A.E. and Holsten R.D. (1964) - *Growth and development of cultured plant cells*. Science 143, 20-27.
- Takeo K., Koshioka M., Pharis R.P., Rajasekaran K. and Mullins M.G. (1983) - *Endogenous gibberellin-like substances in somatic embryos of grape (Vitis vinifera x Vitis rupestris) in relation to embryogenesis and the chilling requirement for subsequent development of mature embryos*. Plant Physiol. 73, 803-808.
- Yeou-Der K., Weaver R.J. and Pool R.M. (1968) - *Effect of low temperature and growth regulators on germination of seeds of Tokay grapes*. Proc. Am. Soc. Hort. Sci. 92, 323-330.

## SUMMARY

### PROGRESS IN THE REGENERATION OF GRAPEVINES IN VITRO

*Somatic embryos are produced with high frequency from the nucellus tissues of unfertilized ovules and from the vegetative tissues of anthers. Plantlet production (low frequency) has also been achieved from internode explants.*

*Ease of regeneration in vitro is genotype-dependent. V. rupestris is highly regenerative from anther tissues. With a few exceptions vinifera cultivars are unresponsive. Studies on interspecific hybrids indicate that regenerative competence of anthers is simply inherited.*

*A wide range of vinifera genotypes has been regenerated from nucellus tissue including seeded and seedless (stenospermocarpic) cultivars. Plantlet production from somatic embryos is limited by abnormalities in embryo formation and by the acquisition of intense dormancy. Effects of chilling on «germination» and on changes in endogenous ABA and GA's will be discussed. Population of plants raised in vitro exhibit somaclonal variation in morphological characters (leaf-shape, sex-expression). Progress in the selection in vitro for salinity tolerance and disease resistance will be reviewed.*

## EMBRYOGENESIS FROM PETIOLE CULTURES OF «HORIZON» GRAPES

**B.I. REISCH - M.H. ROBERTS**

New York State Agricultural Experiment Station  
Cornell University - Geneva (USA)

### Introduction

To keep pace with advancing technology and to improve the efficiency of grape breeding as well as our understanding of grape genetics, studies were initiated in the applications of tissue culture techniques to grapes. The selection of improved variants of high quality cultivars via somatic cell genetics should make a very important contribution to grape improvement. It would replace the backcross breeding method which is an especially slow process with grapes requiring years between generations. In addition, tissue culture presents the possibility for systematically correcting defects in unique cultivars already acceptable among growers and consumers. At present, there is no reasonable way to improve cultivars for single traits such as disease resistance or maturity dates while maintaining the elite genotype unique to that cultivar; sports and clonal variants occur but only at low frequencies, and mutation induction studies with grapes have been largely unsuccessful to date.

In this study, we chose to focus on the development and improvement of procedures to regenerate grapes from cultured cells.

Information on regeneration via either somatic embryogenesis or adventitious shoot formation in *Vitis* sp. is scarce and relatively recent. Favre (1977) reported a low frequency of bud formation from leaf callus for two *Vitis* clones. This was the first report of adventitious shoot formation in grape. Somatic embryos of «Cabernet Sauvignon» were obtained from nucellar-derived callus (Mullins and Srinivasan, 1976) and this technique was later refined (Srinivasan and Mullins, 1980). This technique requires the availability of flowers and a 3 stage medium sequence not readily adaptable to somatic cell genetic techniques. Somatic embryogenesis has also been reported for «Seyval» (Krul and Worley, 1977). Callus was induced from internode explants of 4 cultivars, including «Cabernet Sauvignon», but only «Seyval» produced adventitious embryos from callus. Attempts to repeat this work with

«Seyval» have been unsuccessful, however, the original cell line remains embryogenic (W.R. Krul, pers. comm.).

Bud formation was obtained *in vitro* from callus derived from a group of 40 days-old seedlings of *V. vinifera* and *V. rupestris* ancestry (Rajasekaran and Mullins, 1981). No buds were obtained from cultures of plants derived from hardwood cuttings.

Plant formation has also been obtained from anther-derived cultures (Hirabayashi et al., 1976; Hirabayashi et al., 1982; Rajasekaran and Mullins, 1979; Rajasekaran and Mullins, 1983), however, in almost all cases, plants were diploid and were likely derived from sporophytic and not gametophytic tissues. Haploid plant production has been reported in *V. vinifera* in only one case (Zou and Li, 1981). Root tips from 30 plants examined showed  $2n = x = 19$ . Aneuploid root tip cells around  $2n = x = 19$  were observed as well as cells with  $2n = 2x, 3x, \text{ and } 4x$ .

### Materials and methods

Callus culture growth was examined in the presence of varying concentrations of auxins. Since Favre (1977) reported success in regeneration using indoleacetic acid (IAA), conjugates of IAA with three amino acids, alanine, phenylalanine and aspartate, were examined. These conjugates are reported to be stable, slow release sources of IAA (Hangarter et al., 1980). The auxin activity of 4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid (picloram) was also investigated. Picloram has been helpful with other species where regeneration has proven difficult (Collins et al., 1978; Luteyn and Phillips, 1982).

Rajasekaran and Mullins (1981) reported that young seedlings were capable of producing regenerable callus. Using similar techniques, petioles and leaf blades from a range of genotypes (Table 1) were used to establish callus cultures and to attempt to produce embryoids. Explants were derived from rapidly multiplying shoot tip cultures and from dormant cuttings forced in the laboratory. Cultures were initiated in both agar-and liquid-based media.

### Results and discussion

All three conjugates of IAA supported callus growth. When used in combination with 1.0  $\mu\text{M}$  6-benzyladenine, IAA-Ala supported good callus growth at 10  $\mu\text{M}$ , but excessive rooting occur-

**Tab. 1 - Genotypes used in *Vitis* callus culture experiments**

<i>Vitis Labrusca</i>	<i>Interspecific hybrids</i>
V. Labrusca Alba	Gloryvine
	Horizon
<i>Vitis Vinifera</i>	Seyval
Cabernet Sauvignon	Remaily Seedless
	Vanessa
	Vignoles

red at 100  $\mu$ M. The IAA-Asp conjugate was ineffective at 1 and 10  $\mu$ M, but produced prolific callus and root growth at 100  $\mu$ M. The IAA-Phe conjugate supported slow callus growth at 1 and 10  $\mu$ M concentrations. At 100  $\mu$ M, there was excellent yellow-tan callus production with some browning apparent at callus edges. The optimum concentration of IAA-Phe for callus growth appears to be between 10 and 100  $\mu$ M. When subcultured to high cytokinin medium, excellent callus growth continued from callus originally produced at either 100  $\mu$ M IAA-Asp or 100  $\mu$ M IAA-Phe. No regeneration of shoots was observed.

Picloram was found to be a highly effective auxin source even at very low concentrations. Using petiole explants derived from *in vitro* grown shoot cultures, excellent callus growth was obtained using 1.0  $\mu$ M 6-benzyladenine with 1.0  $\mu$ M picloram. No regeneration has yet been observed from callus cultures produced on picloram containing medium.

Petioles were used to initiate callus cultures according to the successful procedures of Rajasekaran and Mullins (1981). From the range of genotype tested, one case of embryogenesis was observed. In this case, one flask containing petiole-derived callus of the «Horizon» grape (Reisch et al., 1983) in a shaking liquid culture produced embryoids approximately 14 weeks following culture initiation. The presence of embryoids was confirmed by both macroscopic examination and by sectioning of fixed material. Examination of anatomical sections confirmed the presence of bilaterally symmetric structures with embryo-like anatomy. At-

tempts to repeat embryoid production have so far been unsuccessful.

#### LITERATURE CITED

- Collins G.B., W.E. Vian and G. C. Philips (1978) - *Use of 4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid as an auxin source in plant tissue cultures*. Crop Sci., 18, 286-288.
- Favre J.M. (1977) - *Premiers resultats concernant l'obtention in vitro de neoformations caulinaires chez la vigne*. Ann. Amelior. Plantes, 27, 151-169.
- Hangarter R.P., M.D. Peterson and N.E. Good (1980) - *Biological activities of indoleacetyl amino acids and their use as auxins in tissue cultures*. Plant Physiol, 65, 761-767.
- Hirabayashi T., I. Kozaki and T. Akihama (1976) - *In vitro differentiation of shoots from anther callus in Vitis*. HortScience, 11, 511-512.
- Hirabayashi T. and T. Akihama (1982) - *In vitro embryogenesis and plant regeneration from the anther-derived callus of Vitis*. in A. Fujiwara (ed.) Proc. 5th Int. Cong. Plant Tissue and Cell Culture, pp. 547-548. Maruzen Co., Tokyo, Japan.
- Krull W.R. and J.F. Worley (1977) - *Formation of adventitious embryos in callus cultures of «Seyval», a French hybrid grape*. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 102, 360-363.
- Luteyn K. and G.C. Phillips (1982) - *Auxin effects on onion (Allium cepa) tissue cultures* (Abstr.) HortScience, 17, 531.
- Mullins M.G. and C. Srinivasan (1976) - *Somatic embryos and plantlets from an ancient clone of the grapevine (cv. «Cabernet Sauvignon») by apomixis in vitro*. J. Exp. Bot., 27, 1022-1030.
- Rajasekaran K. and M.G. Mullins (1979) - *Embryos and plantlets from cultured anthers of hybrid grapevines*. J. Exp. Bot., 30, 399-407.
- Rajasekaran K. and M.G. Mullins (1981) - *Organogenesis in internode explants of grapevines*. Vitis, 20, 218-227.
- Rajasekaran K. and M.G. Mullins (1983) - *The origin of embryos and plantlets from cultured anthers of hybrid grapevines*. Am. J. Enol. Vitic., 34, 108-113.
- Reisch B., W.B. Robinson, K. Kimball, R. Pool and J. Watson (1983) - *«Horizon» grape*. HortScience, 18, 108-109.
- Srinivasan, C. and M.G. Mullins (1980) - *High frequency somatic embryo production from unfertilized ovules of grapes*. Scientia Hort. (Amst.) 13, 245-252.
- Zou, C.J. and P.L. Li (1981) - *Induction of pollen plants of grape (Vitis vinifera L.)*. Acta Botanica Sinica, 23, 79-81.

#### SUMMARY

##### EMBRYOGENESIS FROM PETIOLE CULTURES OF «HORIZON» GRAPES

*Callus cultures were established on Nitsch and Nitsch (1969) basal medium with hormones as described by Rajasekaran and Mullins (1981).*

*Source material included petioles from shoots multiplied in culture, petioles from shoots of dormant cuttings forced indoors, and leaves from shoot tips multiplied in culture.*

*Eight genotypes representing Vitis labrusca, V. vinifera and interspecific hybrids were tested for growth and development in liquid and solid media. Callus production from petioles was only fair. Greater amounts of callus were produced when explants larger than 3 mm were used. Callus growth was produced on both liquid and solid media. Leaf sections produced small amounts of callus on solid media, primarily from the basal end. Among concentrations of 0-10  $\mu$ M NOA and 0-10  $\mu$ M 2,4-D, growth was best with 5  $\mu$ M NOA and 5  $\mu$ M 2,4-D. One callus culture of the interspecific hybrid «Horizon» derived from petioles of in vitro grown shoot tips produced embryoids after three months of growth. From these embryoids, entire shoots with expanded leaflets were established in vitro. Attempts to repeat embryoid production have so far been unsuccessful. The possible relationship between juvenility of the explant source and embryogenesis in this and other callus culture studies will be discussed.*

# OVULE AND SEED CULTURE FROM EARLY RIPENING SEEDLESS AND SEEDED GRAPE CULTIVARS

P. SPIEGEL-ROY - N. SAHAR - I. BARON - U. LAVI  
Agricultural Research Organization  
Volcani Center Bet Dagan (Israel)

The development of seedless *Vitis vinifera* cultivars is a major goal of the grape breeding program at the Volcani Center, A.R.O. Considerable interest is also shown in the development of both seeded and seedless early ripening cultivars. In pursuing these aims, certain difficulties arise. Only a relatively small percentage of progeny from crosses between seeded and seedless cultivars yields stenospermocarpic fruit without noticeable seed traces (between 6.5 to 9.5% in our breeding program). There is scarce genetic knowledge concerning the inheritance of the character for seedlessness. It seems that seedlessness is controlled by recessive genes (5, 13) although the claim of dominant control has also been raised (8, 12), this does not seem to be borne out by the data obtained so far by us.

Raising selfed progeny or progeny from crosses between stenospermocarpic cultivars might therefore yield a higher proportion of seedless progeny. Nitsch et al. (7) and later Barritt (2) reported that embryo and/or endosperm breakdown occur about 3 weeks after bloom, in stenospermocarpic fruit. Embryos and plants have been cultured from a grape hybrid with a large abortive ovule by Cain (3) and in-ovulo embryo culture of Thompson Seedless has been recently described by Emershad and Ramming (4). Our work with 3 leading cultivars of stenospermocarpic *Vitis vinifera* in 1982 and 1983 has been reported recently (11). Main findings and work performed during 1984 will also be reported here, as well as recent results obtained with the culturing of immature embryos from seeds of early ripening seeded *Vitis vinifera* cultivars.

## Materials and methods

Ovules from open pollinated Perlette were first cultured successfully in 1982. Details of the method have been described by us (11). Ovules were cultured in petri dishes on either Nitsch medium (2) or Orchid agar. The addition of  $10^{-6}$ M GA3 +  $10^{-5}$ M IAA to either medium proved essential for successful culturing. In 1983, another medium in agar (Murashige and Skoog) was also tried. This medium has also been supplemented with 10 M GA3 and 10 M IAA. 200 Ovules were cultured from each of the 3 cultivars. «Perlette», «Flame Seedless» and «Sultanina». Another variable examined was time after anthesis (31 and 52 days for «Perlette», 28-49 days for «Flame Seedless», 25-26 days for «Sultanina»). These ovules were cultured from open pollinated flowers. In addition ovules were cultured from selfed «Perlette» and from a reciprocal cross between «Perlette» and «Flame Seedless». Germinating embryos were transplanted at the 4 leaf stage into a plastic container with a sterilized mixture of volcanic tuff, peat and perlite. A further transfer was made into 1 gallon containers placed in the greenhouse. Well established plants were then planted in the field during May-July 1984 about 10-12 months after starting the ovule culture. In 1984, a further seedless selection without noticeable traces, L 12 was also successfully cultured. Plants developed in 1984 were mainly from selfed flowers and from crosses between the 4 genotypes mentioned. A complete diallel between the 4 cultivars has not yet been established, but selfed progeny from 3 cultivars have been raised and hybrids from several combinations established.

During 1983 and on a larger scale in 1984, sterile culture in agar of immature embryos has been performed with two seeded early maturing cultivars, «Sivan» and «Cardinal». Cultures have been established 85 days after pollination with «Sivan» and 89 days after pollination with «Cardinal». A simple medium (Orchid agar) without the addition of growth substance has been employed. Transplanting procedures have been similar to those described for culturing abortive ovules of seedless cultivars: development of plants proceeded, however at a somewhat faster rate with immature embryos of seeded cultivars than with abortive ovules from seedless cultivars.

## Results

Table 1 summarizes results obtained in 1983 and 1984 by culturing ovules of «Perlette», «Flame Seedless» and «L 12». Only results for ovules from self pollinated flowers and from crosses between seedless cultivars are given in the table. Nitsch's medium with the addition of IAA and GA3 was used. Percentage of viable embryos from selfed flowers was somewhat lower than that obtained from certain crosses of the same female parent. Ovules cultured from «Flame Seedless» with «Perlette» as male parent yielded a higher number of viable embryos than ovules cultured from the reciprocal cross («Perlette» × «Flame Seedless»). About 70% of the viable embryos from this reciprocal cross were successfully established in the field during 1984. About 50% of the embryos successfully cultured during 1984 from seedless L 12 have already been transplanted into a plastic container (10.5 cm high, 8 cm in diameter) by the last week of February 1985 and will probably achieve planting size in the field by June 1985.

Tab. 1 - Percentage of viable embryos produced by cultured ovules from selfed seedless «Perlette» and seedless selection «L 12» and from different crosses with seedless male parents using «Perlette», «Flame Seedless» and «L 12» as seed parents. Ovules cultured on Nitsch's medium + 10 M GA3 + 10 M IAA.

	No. of ovules cultured	Viable embryos (%)
Perlette, selfed	220	17.2
L 12, selfed	205	13.7
Perlette x Flame Seedless	280	15.3
Flame Seedless x Perlette	300	25.6
L 12 x Perlette	93	21.5
L 12 x Flame Seedless	118	10.2
L 12 x Sultanina	102	17.6

Satisfactory results in establishing embryos from ovules of open pollinated «Perlette», «Flame Seedless» and «Sultanina» have been achieved in 1983 and likewise embryos from ovules of open pollinated L 12 have been established in large numbers in 1984.

A comparison of different media with ovule culture from open pollinated flowers of 3 cultivars was conducted in 1983. 400 ovules of each cultivar were cultured on 3 different media (2 media only with «Sultanina»). Ovules were cultured June 13 (25-31 days after anthesis). 10 M IAA + 10 M GA3 were added to each of the 3 media. With 2 of the 3 cultivars Nitsch's medium gave better results than Orchid agar. Murashige and Skoog medium gave poor results with «Perlette». On the basis of these results, Nitsch's medium was used in subsequent cultures.

So far, we have established plants in the field from selfed «Perlette» and from a reciprocal cross between «Perlette» and «Flame Seedless» as well as from open pollinated flowers of the two cultivars and from «Sultanina». Embryos cultured during 1984



will enable us to plant in addition to selfed L 12 progeny and open pollinated progeny of L 12, also hybrids from several combinations between the seedless L 12 as a female parent with other seedless cultivars (a male parent). We plan to achieve a complete or near complete diallel between the four cultivars by July 1986; however establishment of embryos and plants from «Sultanina» is slower and more difficult than with the three other cultivars mentioned.

Culturing ovules of stenospermocarpic cultivars thus extends the type of combinations that can now be performed. However in breeding for early ripening another obstacle encountered is the poor germination of underdeveloped embryos (usually below 1mm in size) common to early ripening seeded, table grape cultivars. We have, therefore, attempted to culture underdeveloped embryos from seed of 2 early ripening cultivars, «Cardinal» and «Sivan» (the latter is a named selection from a «Dabouki» x «Cardinal» cross). Seed collected was derived from flowers pollinated by either «Flame Seedless» or «L 12». In addition to the cultured control (Orchid agar) additions of either GA3 or daminozide (butanedioic acid mono 2,2 dimethylhydrazide) to the Orchid agar medium were also tried. Seed was also collected, at the same date (corresponding to the approximate ripening date) for an in vivo germination comparison. These seed lots were germinated in a mixture composed of volcanic tuff and peat. Results are given in table 2. Differences in favour of in vitro germination are highly pronounced. Moreover, while the in vivo germinated seed included only seed with comparatively developed embryos (sinkers), the in vitro germination percentage is based on embryos irrespective of size, as no attempt has been made to discard floaters before culturing. Analysis of the results of in vitro germination show that «Sivan» germinated in higher percentage than «Cardinal». There was also a significant difference in favour of seed from flowers pollinated by «Flame Seedless» compared to seed from pollination by «L 12». As to the effect of the addition of daminozide or GA3 to the medium the differences compared to the control (Orchid agar without additions) are not statistically significant, in spite of a tendency for higher germination in media with daminozide in 3 out of 4 of the genotype x male parent combinations (table 2).

Tab. 2 - Percent germinating embryos from culturing undeveloped seed of early ripening table grape cultivars «Sivan» and «Cardinal». Orchid agar medium. Sivan pollinated 2.5.84, seed cultured 25.7.84; Cardinal pollinated 29.4.84, seed cultured 25.7.84.

Genotype	Male parent (x)	Treatment (y)	Germinating embryos (%) (z)
Sivan	1 (x)	a	42
Sivan	1	b	46
Sivan	1	c	26
Sivan	2	a	28
Sivan	2	b	27
Sivan	2	c	32
Cardinal	1	a	38
Cardinal	1	b	20
Cardinal	1	c	28
Cardinal	2	a	21
Cardinal	2	b	16
Cardinal	2	c	17

(x) 1 = Flame Seedless, 2 = L 12

(y) a = daminozide  $4 \times 10^{-6}$  b = GA3 10 M c = check

(z) germination in vivo (%) Sivan 80 25, Cardinal 90 31.

## Discussion

Our work has shown that it is possible to recover viable embryos and establish hybrid plants from three seedless *Vitis vinifera*

cultivars and from a further seedless selection, all devoid of noticeable seed traces. Cain (3) reported good results in culturing a seedless selection with a large abortive ovule and seed trace. Emershad and Ramming (4) reported culturing, by a different method, in -ovulo embryos of «Thompson Seedless». While we have been successful in culturing ovules from open pollinated «Sultanina», it seems now that the culture of embryos of this cultivar (known also as «Thompson Seedless») is somewhat more difficult than culturing other stenospermocarpic genotypes, such as «Perlette», «Flame Seedless», «L 12». The addition of IAA and GA3 to the agar medium used by us proved essential to success in our experiments (11). Selfed plants have been raised so far from three cultivars and several combinations between seedless genotypes have given rise to plants in sufficient number to allow genetic analysis in the near future: it seems probable that first results for analyzing the inheritance of the seedless trait will be forthcoming in 1986. A higher percentage of seedless progeny can be expected from crosses between seedless progeny than from crosses between seeded and seedless genotypes.

We have also been able to demonstrate that a simpler medium (Orchid agar), without phytohormones will allow germination of embryos from seed of early maturing table grape cultivars in substantial numbers. Similar results have been indicated by Ramming and Emershad (9). Balthazard (1) has shown that embryos attaining a size of only 1mm or less germinate very poorly if at all in vivo. As a result of our work and progress achieved elsewhere (3, 4, 9) very early seedless cultivars can now be crossed with very early seeded ones, in both directions, thus exploiting the high heritability found for days from bloom to ripening in the grape (10).

In conclusion, ovule culture by producing viable embryos and plants in normally seedless cultivars, will facilitate breeding programs, and enable genetic analysis of seedlessness, while the embryo rescue technique with early ripening seeded genotypes will enable use of such cultivars as female parents.

## LITERATURE CITED

- Balthazard J. (1978) - *Relations entre la veraison des baies et la maturation des graines de Vigne. Génétique et amélioration de la vigne*. II Symp. International Amélioration de la Vigne, Bordeaux 1977, INRA Paris, 69-74.
- Barritt B.H. (1970) - *Ovule development in seeded and seedless grapes*. *Vitis* 9, 7-14.
- Cain D.W., R.L. Emershad and R.E. Tarailo (1983) - *In-ovulo embryo culture and seedling development of seeded and seedless grapes (Vitis vinifera L.)*. *Vitis* 22, 9-14.
- Emershad R.L. and D.W. Ramming (1984) - *In-ovulo embryo culture of Vitis vinifera L. c.v. «Thompson Seedless»*, *Amer. J. Bot.* 71, 873-877.
- Loomis N.H. and J.H. Weinberger (1979) - *Inheritance studies of seedlessness in grapes*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 104, 181-184.
- Nitsch J.P. and C. Nitsch (1969) - *Haploid plants from pollen grains*. *Science* 163, 85-87.
- Nitsch J.P., C. Pratt, C. Nitsch and N.J. Shaulis (1960) - *Natural growth substances in Concord and Concord Seedless grapes in relation to berry development*. *Amer. J. Bot.* 47, 566-576.
- Olmo H.P. and C. Baris (1973) - *Obtention de raisin de table apyrenes*. Symp. Internat. sur les Raisins de Table. Limassol 16-21 Juillet 1973, Document 20, 17pp.
- Raming D.W. and R.L. Emershad (1984) - *Embryo culture of early ripening seeded grape genotypes*. Abstract. Hort. Science, 19, 118.
- Spiegel-Roy P., R. Assaf and I. Baron (1981) - *Inheritance of some characters in progenies of Vitis vinifera from crosses with Dabouki and Alphonse Lavallee*. Proc. 3d Internat. Symp. Grape Breeding, Davis 1980, Univ. of California, 210-219.
- Spiegel-Roy P., N. Sahar, J. Baron and U. Lavi (1975) - *In vitro culture and plant formation from grape cultivars with abortive ovules and seeds*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 110.
- Stout A.B. (1936) - *Breeding for hardy seedless grapes*. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 34, 16-420.
- Weinberger J.H. and F.N. Harmon (1964) - *Seedlessness in vinifera grapes*. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 85, 270-274.

## OVULE AND SEED CULTURE FROM EARLY RIPENING SEEDLESS AND SEEDED GRAPE CULTIVARS

*Breeding stenopermocarpic seedless cultivars by crossing seeded and seedless cultivars yield a low proportion of seedless hybrids. In culture of abortive ovules and seeds of «Perlette», «Flame Seedless» and «Sultanina» and further seedless genotypes was developed, using a solid medium (Nitsch's Orchid agar) with the addition of IAA and GA.*

*Progeny from selfed «Perlette» and from reciprocal crosses between «Perlette» and «Flame Seedless» has been established in the field and will give genetic information in 1986. In vitro embryo rescue from seed of early ripening cultivars (Cardinal, Sivan, Kinnereth 2) has also been developed.*

*Percentage of plants recovered varies between 24-33% according to genotype compared to 3-6% germination in vivo.*

## BIOTECHNIQUE DE MULTIPLICATION RAPIDE DE LA VIGNE PAR LA METHODE «IN VITRO»

ZLENKO V.A. (1) - GOLODRIGA P.Y. (1) - BOUTENKO R.G. (2)  
- LÉVENKO B.A. (3)

(1) Institut National de Recherches sur l'Oenologie et la Viticulture «Magaratch» (URSS)

(2) Institut de Recherches sur la physiologie des plantes de l'Académie des Sciences (URSS)

(3) Institut de Recherches de biologie et de génétique moléculaire de l'Académie des Sciences de l'Ukraine (URSS)

## RESUME

### BIOTECHNIQUE DE MULTIPLICATION RAPIDE DE LA VIGNE PAR LA METHODE «IN VITRO»

*Les sélectionneurs-viticulteurs ont obtenu de nouveaux cépages, résistants aux facteurs biotiques et abiotiques du milieu, ainsi que des cépages précoces, possédant une productivité élevée et une bonne qualité du produit. Pourtant, les nouveaux cépages et les clones ne trouvent pas de large propagation dans la pratique, et leur pourcentage par rapport à toute la superficie des vignobles ne fait que 1,5-2% à cause du manque de méthodes de multiplication effectives. Dans certaines régions ce sont les virus qui portent un grand dommage aux viticulteurs, d'où la nécessité aiguë de rendre le matériel de plantation plus sain.*

*L'emploi des méthodes de culture «in vitro» pour la multiplication de la vigne donne la possibilité d'obtenir des centaines de milliers de plants standardisés par an à partir d'une seule plante, et de traiter le matériel contre les virus en associant la thérapie et la culture des méristèmes.*

*Nous proposons le schéma suivant en ce qui concerne la biotechnique de la multiplication rapide de la vigne:*

- 1) *Stockage des sarments aoûtés en automne ou des rameaux herbacés au cours de la croissance des plants de semis, clones de la vigne.*
- 2) *Introduction des méristèmes des bourgeons des rameaux herbacés dans le milieu liquide, comprenant la cytoquinine 6-benzylaminopurine et repiquages répétés pour la multiplication et l'obtention de la quantité nécessaire de bourgeons.*
- 3) *Enracinement des bourgeons obtenus dans le milieu nutritif solide ou liquide.*
- 4) *(éventuellement) Conservation des plantes multipliées au cours de la période d'été et d'hiver à la température de 7-8 °C, ce qui permet de faire le stockage de la quantité nécessaire de plantes pour les planter dans la serre au printemps.*
- 5) *Adaptation des plantes obtenues «in vitro». Les recherches sur le plan de perfectionnement de la biotechnique continuent.*

## ENVIRONMENTAL AND DEVELOPMENTAL FACTORS AFFECTING ADVENTITIOUS SHOOT FORMATION IN VITIS VINIFERA

YU DAN-HUA - P. MEREDITH

Department of Viticulture and Enology University of California - (USA)

In conducting experiments with field-grown grapevine shoot tips using the in vitro propagation method of Barlass and Skene (1978), we observed a great deal of browning and necrosis within the first days of culture. We have investigated this phenomenon further and report here the strong relationship between explant source and subsequent success in culture.

The influence of explant source on regeneration in vitro is well-known (Murashige 1974). Factors such as the organ used for the explant, the age of the tissue, the season in which it is taken, the nutritional and water status of the mother plant, and the genotype have all been shown to be important in many species. For in vitro propagation of grapevine, the most common explant used has been the shoot tip from vines grown in the greenhouse or shadehouse (e.g. Barlass and Skene 1978, Harris and Stevenson 1982, Monette 1983), although field-grown material has also been used (Barlass et al. 1982, Chee and Pool 1982, Fanizza 1984). With very few

exceptions, only terminal shoot tips have been used.

In our experiments we have investigated the effects of developmental position, light exposure, and vigor of the mother plant on subsequent survival and adventitious shoot production from fragmented shoot apices and found each of these factors to have a significant influence. We propose that by optimizing these factors, satisfactory results can be obtained from even the most recalcitrant genotypes.

### Materials and methods

#### Plant material and culture conditions

Shoot tips 1 to 3 cm long were collected from field-grown vines of 8 *Vitis vinifera* L. cultivars (Cabernet Sauvignon, Cardinal, Chardonnay, Chenin blanc, Italia, Pinot noir, White Riesling, Zinfandel) during July and August, 1984. Material was taken from shoots in full sun as well as those in complete shade and from both terminal and axillary positions. The axillary shoots were not elongating and the main shoots from which they grew had not been decapitated. For Italia and Cardinal only, both weak and vigorous shoots were sampled.

All shoot tips were immediately wrapped in moist tissue, stored in a plastic container, taken to the laboratory, and refrigerated until use. Within each treatment, 13 shoot tips were taken, 8 for culture and 5 for phenol analysis.

The plant material was surface sterilized by immersion in a 17%

Tab. 1 - Percent survival after 17 to 25 days of shoot tip fragments from explants differing in position and light exposure. (n = 8)

Cultivar	Terminal		Axillary		Mean
	Sun	Shade	Sun	Shade	
Chardonnay	21	27	65	89	51
Pinot noir	0	77	62	90	57
Cabernet Sauvignon	31	40	86	94	63
Chenin blanc	27	45	95	99	67
White Riesling	24	90	75	98	72
Zinfandel	49	74	91	91	76
Mean	25	59	79	94	64
Treatment means:					
Terminal	42				
Axillary	87				
Sun	52				
Shade	67				

solution of benzalkonium chloride diluted 1:22.5 with water (Zephiran chloride, Winthrop Laboratories, New York) for 15-18 minutes and then rinsed in 4 changes of sterile distilled water. The terminal 1 mm portion of each shoot tip was excised and dissected into 5 to 10 pieces with a scalpel in a 60 x 100 mm plastic petri dish containing 5 ml of liquid culture medium consisting of Murashige and Skoog salts and vitamins (Murashige and Skoog 1962), 3% (w/v) sucrose, and 2 mg/l benzyladenine. The pH was adjusted to 5.8 prior to autoclaving for 20 minutes at 103 kPa. Cultures were incubated at 25-26°C under cool-white fluorescent illumination (50-70  $\mu\text{m}^2\text{sec}^{-1}$ ) with a 16 hour daylength. They were examined after 17 to 25 days and the number of tissue pieces becoming brown in each petri dish was recorded.

After 1 month in liquid medium, surviving pieces were transferred to the same medium containing 6 g/l agar and subcultured on this same medium at monthly intervals. Continued survival, vigor, and shoot development were observed for an additional 3 months.

For one experiment, shoot tips were collected from potted vines of Cabernet Sauvignon and Cardinal growing in the greenhouse in January, 1985. Axillary, terminal, weak, and vigorous shoot tips were compared, but not in all combinations because of insufficient plant material. Due to persistent fog there was very little direct sunshine during the 2 months prior to shoot tip collection.

Daylength was extended to 16 hours by fluorescent illumination. In this experiment, the excised shoot apices were 0.5 to 0.8 mm long and were dissected into 1 to 6 pieces. Three to 6 shoot tips were cultured in each treatment. Medium and culture conditions were as described above. Cultures were examined after 10 days.

#### Phenol analysis

A 10-20 mg sample of each shoot tip was triturated in the ethanol and filtered. Total phenol content was determined by the automated procedure developed by Slinkard and Singleton (1977).

#### Results

Survival of the shoot tip fragments during the initial liquid culture stage differed markedly among the explant sources (Tab. 1). Survival was higher in axillary shoot tips versus terminal and in shaded shoot tips versus those exposed to full sun. An analysis of variance indicated that the differences were highly significant, but that light exposure and position were independent factors. The overall differences among the varieties were also significant.

Position seemed to have a stronger effect in some varieties (e.g. Chenin blanc, Zinfandel) while light exposure was more important in others (e.g. Pinot noir, White Riesling) but these interactions were not statistically significant.

Shoot tip vigor also influenced tissue survival (Tab. 2), fragments from weak shoot tips having a much higher survival than those from vigorous shoot tips. An analysis of variance of the data for Cardinal cultures indicated that differences due to vigor were highly significant.

The total phenol content differed considerably among the different shoot tip sources (Tab. 3). Phenol content was consistently higher in terminal shoot tips versus axillary and in sun-grown shoot tips versus shaded. The differences were statistically highly significant. The position effect was greater than that of light exposure

Tab. 2 - Percent survival after 17 to 25 days of shoot tip fragments from explants differing in position, light exposure, and vigor. (n = 8 to 10)

Cultivar	Terminal		Axillary		Mean
	Sun	Shade	Sun	Shade	
Italia					
Vigorous	0	0			
Weak	50	52			
Vigor not noted			72	100	
Cardinal					
Vigorous	0	32	83	69	46
Weak	39	83	96	100	80

Tab. 3 - Total phenol content ( $\mu\text{g/g}$ ) of shoot tips differing in position and light exposure. ( $n = 5$ )

Cultivar	Terminal		Axillary		Mean
	Sun	Shade	Sun	Shade	
Chardonnay	210	192	169	112	171
Pinot noir	228	178	181	123	178
Cabernet Sauvignon	196	172	181	140	172
Chenin blanc	230	203	143	140	179
White Riesling	198	145	156	122	155
Zinfandel	209	191	136	131	167
Mean	212	180	161	128	170
Treatment means:					
Terminal	196				
Axillary	145				
Sun	187				
Shade	154				

and affected some varieties (e.g. Chenin blanc, Zinfandel) more than others. However, light seemed to play a greater role in Pinot noir and White Riesling. The overall differences among varieties were not statistically significant. In both Italia and Cardinal, phenol content was much higher in vigorous shoot tips than in weak ones (Tab. 4), the difference being statistically highly significant.

There was a highly significant negative correlation ( $r = 0.87$ ) between survival and total phenol content.

The differences among the explant sources persisted beyond the initial culture stages. One month after transfer to solid medium, 63% of the initially surviving pieces from terminal/sun explants were still alive while 100% of the axillary/shade pieces survived. For terminal/shade and axillary/sun pieces, the survival was 94% and 92%.

For Cabernet Sauvignon, the growth of the cultured tissue and the extent of shoot proliferation were noted 40 days after transfer to solid medium and appeared to be inversely related. The terminal/sun cultured were the most vigorous, but produced the least shoots. They also tended to appear more brown and to produce callus. The axillary/shade cultures were the least vigorous but pro-

duced the most shoots. The terminal/shade and axillary/sun cultures were intermediate.

The effects of position and vigor were also observed in the greenhouse material (Tab. 5). In Cardinal, weak terminal shoot tips performed better than vigorous terminal and weak axillary shoot tips were better than weak terminal. In Cabernet Sauvignon, weak axillary shoot tips did well while all fragments from vigorous terminal shoots died.

#### Discussion

It is well known in other species that growing mother plants under low light intensity predisposes their explants to successful culture in vitro, although this observation has generally been restricted to protoplast culture (Binding 1984). In grapevine, it has been previously reported that field-grown shoot tips do not perform as well as those from the greenhouse or shadehouse (Fanizza et al. 1984) and, while the light exposure of this material was not noted, it is likely that the differences observed are related to light intensity.

Tab. 4 - Total phenol content ( $\mu\text{g/g}$ ) of shoot tips differing in position, and light exposure, and vigor. ( $n = 5$ )

Cultivar	Terminal		Axillary		Mean
	Sun	Shade	Sun	Shade	
Italia					
Vigorous	254	218			
Weak	194	172			
Vigor not noted			169	134	
Cardinal					
Vigorous	238	209	203	168	205
Weak	194	187	163	144	172

Tab. 5 - Percent survival after 10 days of shoot tip fragments from greenhouse grown explants differing in position and vigor. All shade grown. (--- = no shoot tips collected for that treatment) ( $n = 3$  to 6)

Cultivar	Terminal		Axillary	
	Vigorous	Weak	Vigorous	Weak
Cardinal	0	87	—	100
Cabernet Sauvignon	0	—	—	97

The effect of position that we have noted has not been generally observed. While explants from different organs have often been reported to differ in response, as have internode explants at differing node numbers away from the shoot apex (Murashige 1974), our observation that axillary shoot tips perform better than terminal shoot tips, when the other factors are held constant, has not been previously reported for any plant. In fact, in chrysanthemum, the opposite phenomenon has been observed. In this species, terminal shoot tip explants are more successful than axillary (Hollings and Stone 1968). There is one indication that this effect has been previously observed in grapevine-Novak and Juvova (1980) reported that shoot development was increasingly more successful in buds taken from nodes at increasing distance from the apex, including the terminal bud.

Similarly, the negative effect of vigor on culture success that we have observed, has also not been previously reported. It is generally considered that vigor in the mother plant is a positive factor. Harris and Stevenson (1982) noted that mother plants growing under water and nutrient stress and low light gave poorer results.

We consider that phenolic compounds may be the common thread that links all these explant factors together. We measured total phenolic content in the explants because the browning and necrosis we initially observed has generally been attributed to the oxidation of phenolic compounds in explant tissues and is a common problem in cultures of woody species (Hu and Wang 1983). We found a very high correlation between the preexisting phenolic content of the shoot tips and the subsequent success of the fragmented shoot tip procedure. Biosynthesis of phenolic compounds is known to be related to light (Smith 1973). The general relationship between phenolic content and developmental position or vigor has not been investigated to our knowledge.

The relationships between phenolic content and position, light exposure, and vigor and the effect of this relationship on the success of in vitro regeneration procedures may be applicable to species other than grape, especially to other woody species, since phenolic content is generally higher than in herbaceous species. The discrepancy between our observations and those made in other species may be due to the fact that these other observations were made in herbaceous plants in which the level of phenolic compounds is so much lower as to make other explant factors relatively more important. We suggest that the optimization of the explant

factors investigated here, along with further studies of phenolic content in explant tissues may permit increased efficiency of shoot regeneration in even very recalcitrant genotypes.

## REFERENCES

- Barlass, M. and K.G.M. Skene. (1978). *In vitro propagation of grapevine (Vitis vinifera L.) from fragmented shoot apices*. Vitis 17:335-340.
- Barlass, M., K.G.M. Skene, R.c. Woodham and L.R. Krake. (1982). *Regeneration of virus-free grapevines using in vitro apical culture*. Ann. Appl. Biol. 101:291-295.
- Binding, H. and G. Krumbiegel-Schroeren. (1984). *Isolation and culture of protoplasts: Petunia*. pp. 340-349 in I.K. Vasil, ed. *Cell culture and somatic cell genetics of plants, Vol. 1*. Academic Press, New York.
- Chee, R. and R.M. Pool. (1982). *The effects of growth substances and photoperiod on the development of shoot apices of Vitis cultured in vitro*. Scientia Hort. 16:17-27.
- Fanizza, G., O.A. Tanzarella, G. Carrozzo, and B. Greco. (1984) *Influence of Vitis source on in vitro shoot apex culture*. Ann. Appl. Biol. 104:577-578.
- Goussard, P.G. (1981). *Effects of cytokinins on elongation, proliferation and total mass of shoots derived from shoot apices of grapevine cultured in vitro*. Vitis 20:288-234.
- Harris, R.E. and J.H. Stevenson. (1982). *In vitro propagation of Vitis*. Vitis 21:22-32.
- Hollings, M. and O.M. Stone. (1968). *Techniques and problems in the production of virus-tested plant material*. Sci. Hort. 20:57-72.
- Hu, C.Y. and P.J. Wang. (1983). *Meristem, shoot tip and bud culture*. pp. 177-227 in D.A. Evans, W.R. Sharp, P. V. Ammirato, and Y. Yamada. *Handbook of plant cell culture, Vol. 1*. Macmillan Publishing Co., New York.
- Monette, P.L. (1983). *Influence of size of culture vessel on in vitro proliferation of grape in a liquid medium*. Plant Cell Tissue Organ Culture 2:327-332.
- Murashige, T. (1974). *Plant propagation through tissue cultures*. Ann. Rev. Plant Physiol. 25:135-166.
- Novak, F.J. and Z. Juvova. (1980). *Hormonal regulation of the development of isolated grapevine shoot tips (Vitis sp.) under in vitro conditions*. Sbor. Uvrtiz - Ochr. Rostl. 16:241-252.
- Slinkard, K. and V. L. Singleton. (1977). *Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods*. Amer. J. Enol. Vitic. 28:49-55.
- Smith, H. 1973. *Regulatory mechanisms in the photocontrol of flavonoid biosynthesis*. pp. 303-321 in B.V. Milborrow, ed. *Byosynthesis and its control in plants*. Academic Press, New York.

## SUMMARY

### ENVIRONMENTAL AND DEVELOPMENTAL FACTORS AFFECTING ADVENTITIOUS SHOOT FORMATION IN VITIS VINIFERA

Several factors have been found to significantly affect the formation of adventitious shoots from fragmented shoot apices cultured in vitro by the method of Barlass and Skene (1978). The developmental position of shoot tips on the vine (terminal vs. axillary), the light intensity to which the shoot tips were exposed on the vine (sun vs. shade), and the level of vegetative vigor of the shoots (vigorous vs. weak) all significantly affected subsequent performance in culture. Tissue fragments from terminal shoot tips that were exposed to the sun turned brown within 2 days after being placed in culture and subsequently died. Tissue from shaded, axillary shoot tips on the other hand, remained green and grew.

Tissue fragments from terminal/shade and axillary/sun shoot tips were intermediate in appearance. Tissue from vigorous shoots browned more than that from weak shoots. Total phenolic content was highest in terminal/sun and terminal/sun/vigorous shoot tips and lowest in axillary/shade or axillary/shade/weak shoot tips, when shoot tips representing all combinations of these factors were analyzed. The phenolic content was positively correlated with the observed browning. Eight varieties were compared - Cabernet Sauvignon, Cardinal, Chardonnay, Chenin blanc, Italia, Pinot noir, White Riesling, and Zinfandel. While the varieties differed in browning response and phenolic content, the correlation between browning and phenolic content was consistent to influence subsequent growth and differentiation of the cultures. Our observations suggest that by optimizing these variables it may be possible to achieve satisfactory results with even the most recalcitrant varieties.

## CONSERVATION OF VITIS VINIFERA L. GERMPLASM IN TURKEY

Y.S. AGAOGLU - H. ÇELİK

Department of Horticulture - Faculty of Agriculture - University of Ankara (Turkey)

### Introduction

Grape culture began in Anatolia (Asia Minor). This region is also known as the native habitat of *Vitis vinifera* L. and its world famous varieties such as Çavus (Chaouch), Razaki and Sultani Çekirdeksiz (Thompson Seedless) (7). It is also stated in Winkler et al. (8) that culture of the grape spread both to west and east from Anatolia.

Grape growing (Viticulture) is a traditional horticultural enterprise in Anatolia. Ecological conditions of Turkey are mostly very favorable for viticulture. The country is divided into 9 agricultural regions mainly based on the climatic conditions. Although these regions have their native grapes, early cultivars such as Cardinal, Perlette, Tarsus Beyazi in Mediterranean coastal area, Sultani Çekirdeksiz (Thompson Seedless) and Yuvarlak Çekirdeksiz (Round Seedless) in Aegean, seeded raisins (Besni) in Southeast, quality wine cultivars in Central Anatolia and Thrace, midseason and late table grapes (Çavus, Hafızali, Razaki, Müsküle) in Marmara are more successfully grown. In East Black Sea, only Isabella which is a cultivar of *Vitis labrusca*, is grown on trees and fences because of its resistance to fungal diseases.

Viticulture in East Anatolia which is located at the higher altitude of Turkey is of minor importance.

Although most of the vine growing areas of Turkey are infested by phylloxera, grapevines are still grown on their own roots in certain areas as in sandy soils of Gediz valley near Manisa or volcanic soils of Cappadocia.

### Populations of *Vitis vinifera* ssp. *sylvestris* Gmelin in Turkey

As shown in Fig. 1 natural populations of wild *Vinifera* have been discovered in river valleys (Sakarya, Küçük Menderes, Çoruh), along the streams, around the lakes and usually in the forests from sea level to 1600 m altitude as outlined by Alleweldt (2), Oraman (6), Davis (5), Çirpici (4). In spite of the variability in some extent, this subspecies generally has unisexual flowers, woody climber with leaf-opposed tendrils, palmately lobed (cordate at base) and coarsely toothed leaves, those of the male plant usually more deeply lobed than in female, with blackish-purple sour berry (5-7 mm) when ripe, usually 3 subglobose seeds.

### Ampelographic collection in Turkey

As a result of the detailed investigations in all grape growing areas of the country between 1965 and 1972, 1172 cultivars including indigens and introduced ones were identified. During these studies, general ampelographic characteristics of these cultivars have also been determined in their own localities, their scions have periodically been brought to Tekirdag Viticulture Research Institute in Thrace and grafted on Kober 5 BB. So, a National Collection Vineyard was established as a germ plasm of *Vitis vinifera* L. We hope that more detailed ampelographic studies on this collection will be concluded in a few years. Parallel to this huge collection, studies on establishing Regional Ampelometric Collections have reached the final stage. Following the achievement in these collections, studies on determining the yield, quality of the product, resistance to main fungal diseases (Powdery mildew, Downy mildew, Grey mould, Dead-arm), virus diseases, and low winter temperatures will be started in addition to their ampelographic characters (3).

### Clonal selection of vine cultivars

A unique clonal selection method explained by Agaoglu (1) has

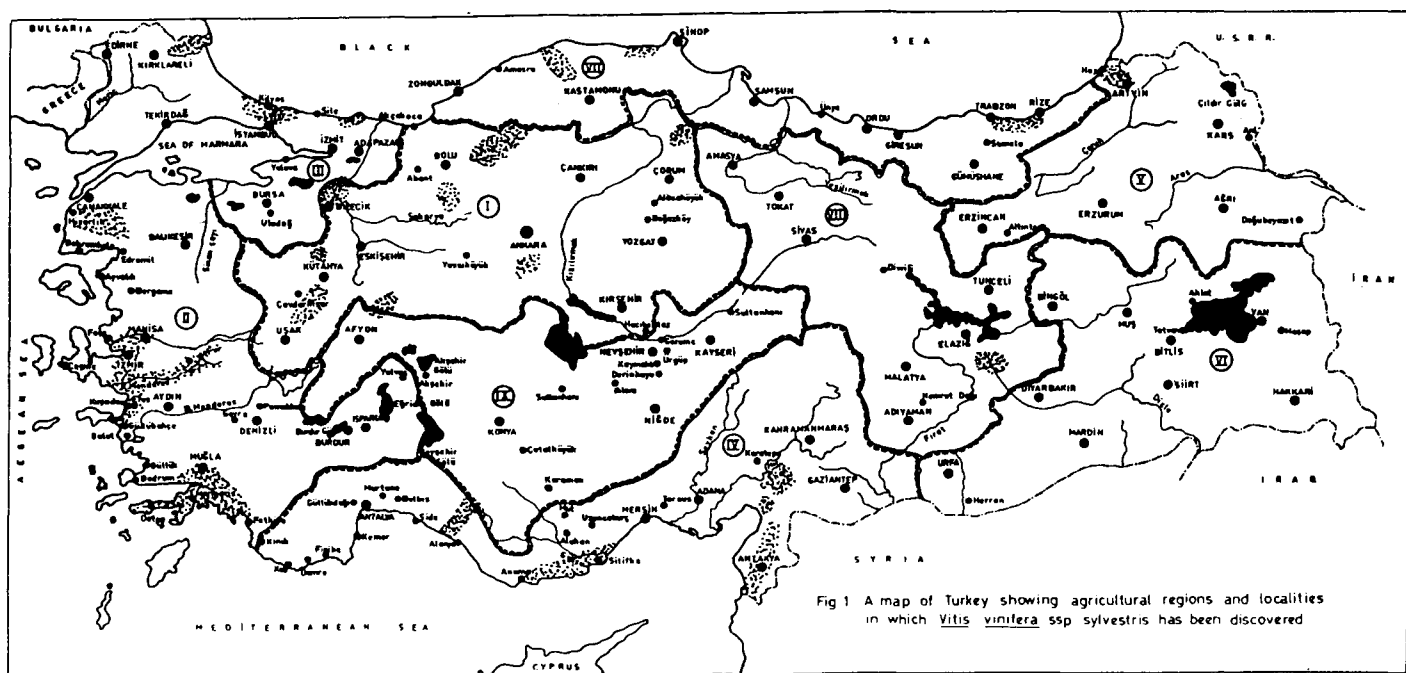


Fig 1 A map of Turkey showing agricultural regions and localities in which *Vitis vinifera* ssp. *sylvestris* has been discovered

Tab. 1 - Clonal selection programme conducted on introduced and indigenous grapevine cultivars in Turkey

Cultivar	Type	Region	Stage of Clonal Selection	Number of Clone Candidates
<b>I. Introduced</b>				
Clairette	WW	Thrace	Clone collection (A)	
Semillon	WW	Thrace	Clone Comparison (B)	5
Gamay	RW	Thrace	Clone comparison (B)	5
Muscat Hambourg	BT	Marmara	Clone comparison (B)	10
<b>II. Indigenous</b>				
Amasya	WT	Marmara	Clone collection (A)	
Beyaz Çavus (Chaouch)	WT	Marmara	Clone comparison (B)	10
B. Çavusu (Chaouch)	WT	Marmara	First selection	
Erenköy Beyazı	WT	Marmara	Clone comparison (B)	10
Hafızali	WT	Thrace	Clone collection (A)	
Hafızali	WT	Marmara	Clone comparison (B)	10
Isıklı	WT	South	First selection	selection
Kozak Beyazı	WT	Aegean	Clone collection (A)	
Müsküle	WT	Marmara	Clone comparison (B)	10
Parmak	WT	Centralsouth	First selection	
Razakı	WT	Marmara	Clone comparison (B)	10
Razakı	WT	Aegean	First selection	
Rumi	WT	Southeast	First selection	
Tarsus Beyazı	WT	South	First selection	
B. Irikarası	BT	Marmara	Clone collection (A)	
D. Siyahı	BT	Marmara	Clone comparison (B)	10
Hönüsü	RT	Southeast	First selection	
Kowak Siyahı	BT	Aegean	Clone collection (A)	
Siyah Gemre	BT	South	First selection	
Beylerce	WW	Marmara	Clone comparison (B)	10
Emir	WW	Centralsouth	First selection	
Hasandede	WW	Centralnorth	First selection	
Narince	WW	Centraleast	First selection	
Yapıncak	WW	Thrace	Clone comparison (B)	5
Adakarası	RW	Marmara	Clone collection (A)	
Bogazkere	RW	Centraleast	Clone collection (A)	
Çal Karası	RW	Aegean	First selection	
Horoz Karası	RW	Southeast	First selection	
Kalecik Karası	RW	Centralnorth	Clone collection (A)	
Karacakız	RW	Aegean	Clone collection (A)	
Öküzgözü	RW	Centraleast	First selection	
Papazkarası	RW	Thrace	Clone collection (A)	
Yuvarlak Çekirdeksiz (Round Seedless)	WR	Aegean	Clone collection (A)	
Sultani Çekirdeksiz (Thompson Seedless)	WR	Aegean	Clone collection (A)	
Besni	WR	Southeast	First selection	

WT: White Table, BT: Black Table, RT: Red Table, WW: White Wine, RW: Red Wine, WR: White Raisin.

been applied to 35 local and 4 introduced grapevine cultivars since 1964 and 95 clones of 11 important cultivars had been selected as it is shown in Table 1.

In addition to these cultivars, clonal selection on 11 other indigenous cultivars has newly been programmed (3).

#### Populations of hybrid grape seedlings

The first table grape breeding programme to obtain very early and late varieties with high yield and superior export quality was initiated in 1973 in Yalova. As a result of this hybridization programme, among 10.000 F<sub>1</sub> plants, 217 of them were selected for their promising characters (3).

Another hybridization programme on table grape cultivars to obtain high yielded seedless table grape cultivars having larger berries than the current varieties, which ripen earlier than Perlette or later than Sultani Çekirdeksiz has been under process in Tekirdag since 1974. Up to now, 110 seedless types were selected in 6000 F<sub>1</sub> hybrids. Furthermore, the inheritance of some characters such

as seedlessness, sex, berry size and colour have also been determined (3).

The third programme started in 1979 in Ankara, and it was aimed to obtain new table grape cultivars which are more suitable to the arid conditions of Central Anatolia. As a result of the first 4 years studies, 2000 F<sub>1</sub> crosses were tested, and 6 hybrids were found to be valuable.

#### LITERATURE CITED

1. Agaoglu Y.S. (1981) - *Studies on the vine clonal selection in Turkey*. 3rd International Symposium on Clonal Selection in Vines. 8-12 Giugno 1981, Conegliano, p. 7.
2. Alleweldt G. (1965) - *Über das Vorkommen von Wildreben in der Türkei*. Zeitschrift für Pflanzenzüchtung 53 (4):380-88.
3. Anonymous. (1983) - *Bağcılık Araştırmaları Ülkesel Projesi 1983 Yılı Gelisme Raporu Özeti* (Report of National Project for Viticultural Researches in 1983), p. 8.
4. Çirpici A. (1981) - *Murta dağı (Kütahya-USak)'nın florası üzerinde araştır-*

- malar* (Researches on the flora of Murat mountain (Kütahya-USak)), Tübitak Tbak-317.
5. Davis P.H. (1967) - *Flora of Turkey* 2. Edinburg Univ. Press, 22 George Square, Edinburg: 521-22.
6. Oraman M.N. (1972) - *Bagcılık Teknigi II* (Technique of Viticulture II).

- A.U. Ziraat Fak. Yayınları: 470, Ders Kitabı: 162, p. 402.
7. Perold A.J. (1927) - *A treatise on Viticulture*. Mac Millan and Co., Ltd. London, p. 696.
8. Winkler A.J., J.A. Cook, W.M. Kliever and L.A. Lider (1974) - *General Viticulture*. Univ. California Press. Berkeley, p. 710.

## SUMMARY

### CONSERVATION OF VITIS VINIFERA L. GERM PLASM IN TURKEY

Numerous native grape cultivars created by natural intraspecific hybridization are still being grown in different regions of Anatolia which is the native habitat of *Vitis vinifera*. Wild forms of this species (*ssp. sylvestris*) have also been identified along the streams and in the forests in many sections of Turkey.

An ampelographic collection vineyard, including 1172 tables, wine and raisin grape varieties still grown in different regions of Turkey has been established in Tekirdag Viticulture Research Institute in Thrace.

Clonal selection programme has been applied to 39 indigenous and introduced foreign varieties since 1964 and 95 clones of 11 important cultivars have been selected.

As a result of an extended cross-breeding programme to obtain seedless and seeded new early and late table grape varieties, 18 000 fi hybrids were obtained by inter-and intraspecific hybridization and 223 seeded and 110 seedless promising hybrids have been selected.

## PROGRAMMA DI DIFESA DELLE RISORSE GENETICHE DELLA VITE IN ITALIA

A. CALÒ<sup>(1)</sup> - A. COSTACURTA<sup>(1)</sup> - A. CERSOSIMO<sup>(1)</sup> - P. FIORINO<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Istituto Sperimentale per la Viticoltura - Conegliano (Italia)

<sup>(2)</sup> Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto sulla Propagazione delle specie legnose - Firenze (Italia)

La tensione produttiva — aspetto fra i principali nella moderna agricoltura — porta alla richiesta di biotipi sempre più specializzati nella risposta culturale. La selezione diventa il mezzo maggiormente sfruttato per ottenere questi risultati e l'abbandono di vecchie cultivars è la conseguenza più appariscente.

Da qui un allarme e la necessità di non disperdere un patrimonio genetico che può diventare interessante e quindi la necessità di raccogliarlo, classificarlo e conservarlo quale futura fonte per eventuali impieghi nel settore produttivo od in quello, più probabile, del miglioramento genetico.

Una tale necessità ha richiamato l'attenzione di molti Paesi verso la salvaguardia delle risorse genetiche e non sono mancate le iniziative di vari organismi per coordinare a livello internazionale gli sforzi di tutti (O.I.V. - (F.A.O. IBPGR) - U.P.O.V.).

In Italia, considerato l'elevato numero di specie e di cultivars che interessano la nostra penisola, il Consiglio Nazionale delle Ricerche (C.N.R.) si è reso promotore ed organizzatore, sin dal 1980/81, di un programma di lavoro che opera in una prima fase su 10 specie o gruppi di specie fra cui la Vite.

Il programma è gestito da un gruppo di coordinamento ed è articolato in 10 sezioni, una per specie.

Ogni sezione è a sua volta affidata ad un coordinatore che armonizza il lavoro dei diversi ricercatori, organizzati in Unità Operative (U.O.).

Il programma di attività della «Sezione Vite», coordinato dall'Istituto Sperimentale per la Viticoltura di Conegliano, viene svolto da 12 U.O. dislocate nelle diverse regioni italiane. Ha avuto inizio nel 1981 e prevedeva, in una prima fase, le seguenti linee operative:

I) *Indagine bibliografico-storica* delle piattaforme ampelografiche esistenti nelle diverse zone viticole;

II) *Compilazione di un inventario dei vitigni* dei quali sia documentata l'esistenza in epoche più o meno recenti;

III) *Inventario delle collezioni*, pubbliche o private, esistenti nelle zone di competenza delle U.U.O.O. e sua trasmissione all'O.I.V. per la compilazione dell'inventario mondiale delle risorse genetiche del genere *Vitis*;

IV) *Individuazione dei vecchi vitigni*;

V) *Descrizione ampelografica dei vitigni reperiti*;

VI) *Costituzione delle «Banche di geni»*.

Come si può notare, è un programma di grande interesse specialmente se si considera il fatto che la coltura della vite, in forza di norme nazionali (D.P.R. 24/12/1969, n. 1166) e comunitarie (Direttiva CEE 68/193 e Regolamento CEE n. 2005/70 e successive modifiche) è limitata ai soli vitigni iscritti nel «Catalogo Nazionale delle varietà di Vite» (C.N.V.V.) e, nell'ambito delle diverse unità amministrative (province), alle sole cultivars ivi «raccomandate» od «autorizzate».

Fra queste ultime diventa poi sempre più determinante l'impiego di materiali provenienti da cloni selezionati (mat. di Base e Certificati) a scapito di quelli geneticamente incerti (mat. Standard).

Occorre inoltre considerare che al momento della ricostituzione post-fillosserica, avvenuta all'inizio del secolo, la piattaforma ampelografica in molte zone viticole italiane ha subito profonde e sostanziali modifiche a causa della introduzione di molti vitigni da regioni viticole diverse, anche straniere, in virtù della migliore reputazione che questi godevano in quel particolare momento (Modini 1903).

Tutto ciò si è tradotto molto spesso in un lento ma continuo abbandono delle cultivars locali.

La cosa assume anche aspetti di interesse pratico se si pensa che si trattava di genotipi selezionati dall'ambiente nel corso di centinaia di anni di coltura.

Non è raro, infatti, riscontrare in letteratura (Molon; Sormani; Di Rovasenda; Bollettini Ampelografici, ecc.) notazioni di vitigni tradizionali dei quali oggi appare sempre più difficile trovare traccia.

Esiste perciò il rischio effettivo della perdita di tutto questo patrimonio genetico che in ogni caso può essere di estremo interesse catalogare, reperire, descrivere e conservare.

Sul piano operativo è iniziata in tutta Italia sin dal 1980/81, una continua opera di ricerca che ha condotto finora alla individuazione, da parte delle U.U.O.O., di circa 500 vecchi vitigni ed alla realizzazione di un inventario generale di circa 2300 cultivars ad uva da vino, da tavola, ibridi produttori diretti e vitigni portinnesti.

È stato ancora possibile verificare l'esistenza di numerose collezioni pubbliche e private (32), tutte censite dalle U.U.O.O. mentre parallelamente è proseguita la raccolta dei materiali esistenti, an-



che a livello di singola pianta «relitto», per la costituzione di una «banca di geni» o «riserva di germoplasma».

Per queste finalità è già stata avviata la preparazione delle barbatelle relative alle circa 500 vecchie cultivars recuperate, che verranno impiantate quest'anno, sia in una unica raccolta generale presso l'Azienda di Tor Mancina — Roma — dell'Istituto Sperimentale per la Viticoltura di Conegliano, sia presso le singole U.U.O.O., quale seconda ripetizione, limitatamente alle cultivars riguardanti le zone interessate.

Presso la predetta Azienda di Tor Mancina, della superficie di oltre 70 Ha, l'Istituto Sperimentale per la Viticoltura di Conegliano aveva già attuato, in forza di programmi autonomi avviati ormai da anni, una propria raccolta di germoplasma comprendente tutti i vitigni iscritti nel C.N.V.V.:

317 vitigni ad uva da vino;

52 vitigni ad uva da tavola.

innestati su tre portinnesti (Kober 5BB; 420A e 140 Ru)

32 vitigni portinnesti

ed inoltre più di 300 vecchi vitigni italiani e stranieri non iscritti nel citato catalogo.

L'aggiunta di questi 500 vecchi vitigni rappresenta pertanto un cospicuo ampliamento degli impianti esistenti, ampliamento che avrà carattere di continuità in funzione degli ulteriori recuperi che verranno effettuati in futuro e delle nuove iscrizioni nel C.N.V.V.

L'opera verrà completata quanto prima dalla raccolta nella stessa azienda di tutti i cloni delle cultivars iscritte in catalogo, regolarmente omologati dal Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste.

Per molti dei vitigni recuperati è già stata compilata la scheda dei caratteri minimi concordata con le diverse sezioni del gruppo di lavoro ed in accordo con quanto già predisposto dall'*Inventario Mondiale delle risorse genetiche del genere vitis*, promosso dall'I.B.P.G.R. (F.A.O.) e dall'O.I.V., Organismi con i quali il gruppo di lavoro ha in atto stretti rapporti collaborativi.

Il lavoro di ricatalogazione, eseguito su base internazionale comune, rappresenterà certamente uno strumento di notevole capacità per l'opera di individuazione delle omonimie e sinonimie dei vitigni in funzione delle aree di coltura.

È già possibile, tuttavia, avere una prima idea sintetica ma globale di cosa si possiede e ciò potrebbe già permettere di eliminare numerose ripetizioni.

Il lavoro fin qui effettuato mette chiaramente in evidenza l'importanza che va assumendo questo tipo di ricerca, che certamente non può ritenersi esaurita a questo stadio.

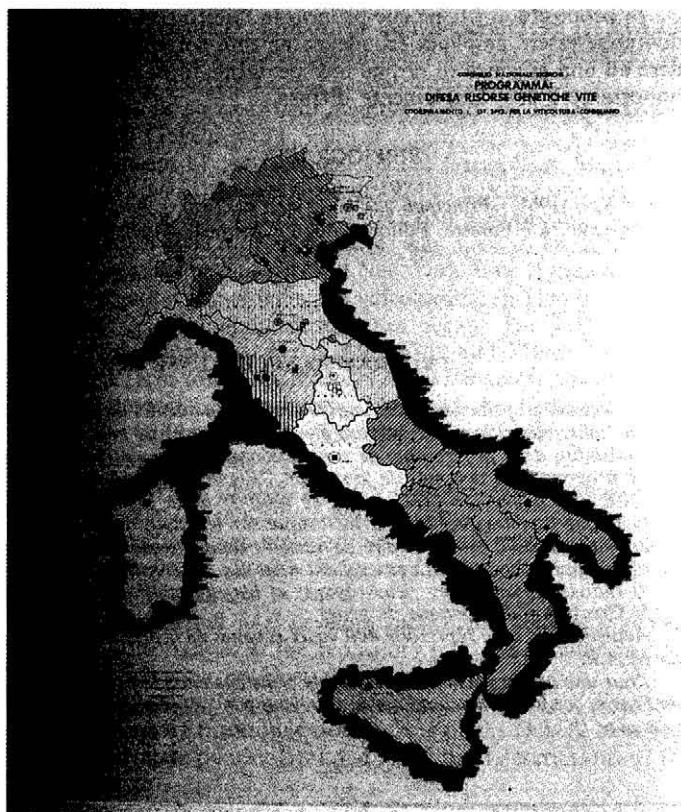
L'attenzione va ora rivolta verso una maggiore caratterizzazione del patrimonio genetico di ogni cv. essendo poco utile per le nostre finalità mantenere in vita collezioni basate su descrizioni di pochi caratteri, tradizionalmente scelti tra quelli merceologici.

La maggiore caratterizzazione permetterà di acquisire più ampie informazioni sulle caratteristiche agronomiche, sulle risposte fisiologiche, sulla resistenza agli agenti patogeni e su tutte quelle caratteristiche che nel loro complesso costituiscono la motivazione stessa di questi lavori.

L'esigenza di poter aggiornare continuamente le informazioni e soprattutto la necessità di poter informare l'utenza (ricercatori, vivaisti, ibridatori) tempestivamente ed in modo completo e continuativo, impone l'obbligo di computerizzare i dati raccolti ed incanalarli verso la creazione di una «banca dati» in grado di fornire in tempi brevi informazioni su cosa, come e dove sono disponibili specifiche risorse genetiche.

In tema di conservazione di germoplasma particolare attenzione meriterebbe poi il ricorso alle potenzialità offerte dalle più moderne tecniche delle colture «in vitro» che oltre a consentire l'impiego di spazi enormemente ridotti offrono anche il non trascurabile vantaggio di una forte capacità propagativa in grado di far fronte a richieste anche consistenti di materiali in tempi relativamente brevi.

L'adozione di un tale sistema di conservazione, che dal punto di vista moltiplicativo non presenta più grossi misteri grazie anche ai lavori di Mme Galzy resta però subordinata ad alcuni in-



terrogativi, non ancora del tutto chiariti, riguardanti la stabilità genetica dei materiali sottoposti a più cicli o addirittura ad anni di micropropagazione «in vitro».

I risultati finora acquisiti in questo particolare settore riferiscono infatti di comportamenti non ancora generalizzabili anche se lasciano intravedere una soluzione molto prossima del problema.

Si potrà allora contare su un formidabile sistema propagativo e conservativo di elevata disponibilità e rispondenza, in grado di realizzare evidenti risparmi di tempi, spazi e mezzi.

In conclusione è possibile affermare che i risultati di questi primi anni di lavoro della «Sezione vite» confortano gli sforzi compiuti dalle U.U.O.O. ed invitano a continuare sulle linee programmatiche.

Esistono infatti ancora aperti molti problemi, in parte accennati, che possiamo così riassumere e porli come obiettivi del più immediato futuro:

I) non tutte le aree viticole sono state esplorate, sia a livello di ricerca bibliografica che di campagna;

II) non sempre nelle aree oggetto di ricerca è stato possibile definire completamente i vitigni esistenti;

III) non è stato ancora possibile moltiplicare tutti i vitigni individuati per carenza del relativo materiale;

IV) il lavoro di descrizione e di impianto delle collezioni è ancora logicamente all'inizio;

V) sono necessari rilievi caratterizzanti sulle collezioni che via via verranno costituite al fine di ampliare la banca dei dati e chiarire omonimie, sinonimie, differenze tra vitigni.

Questo punto rappresenta uno dei più importanti impegni del gruppo di lavoro per portare un contributo al chiarimento dei notevoli dubbi ed incertezze esistenti sulle piattaforme ampelografiche delle diverse zone.

In proposito si ritiene che proprio in questo settore la ricerca dovrebbe essere ampliata ed adeguatamente sorretta per rispondere ad una esigenza di ordine indispensabile in una coltura così importante e così ampiamente diffusa.

#### BIBLIOGRAFIA

Autori Vari (1961) - *Principali vitigni da vino coltivati in Italia*. Ministero Agricoltura e Foreste. Editore Longo e Zoppelli, Treviso.

Ministero d'Agricoltura, Industria e Commercio (1875-1887) - «Bollettino Ampelografico» vol. da I° al IV° Roma, Tip. Botta.

Di Rovasenda G. (1877) - *Saggio di un'Ampelografia Universale*. Torino, Tip. Subalpina di Stefano Marino.

Sormani, Moretti L. (1904) - *Monografia della provincia di Verona*. Firenze, I° e II° parte.

Molon G. (1906) - *Ampelografia*. Milano Ed. Ulrico Hoepli, Vol. I° e II°.

Mondini S. (1903) - *I vitigni stranieri da vino coltivati in Italia*. Firenze, G. Barbera Ed.

#### RESUME

#### PROGRAMME DE DEFENSE DES RESSOURCES GENETIQUES DE LA VIGNE EN ITALIE

*La nécessité de préserver le patrimoine génétique a attiré l'attention de nombreux pays et organismes, encourageant ainsi les initiatives au niveau mondial. En Italie, étant donné le nombre élevé d'espèces et de cultivars qui intéressent notre péninsule, le C.N.R. a pris l'initiative de la promotion et de l'organisation d'un programme de travail coordonné qui intéresse, dans un premier temps, 10 espèces ou groupes d'espèces (sections).*

*Le programme d'activités de la section "Vigne" effectué par 12 Unités Opératives, réparties dans les différentes régions italiennes et coordonné par l'I.S.V. a débuté en 1981 et peut se résumer de la façon suivante:*

- 1) Enquête bibliographique et historique sur les plateformes ampélographiques existant traditionnellement dans les différentes zones viticoles;
- 2) Elaboration d'un inventaire de variétés dont l'existence a été documentée récemment;
- 3) Inventaire des collections existant dans les différentes zones;
- 4) Individualisation des vieux cépages et leur description ampélographique;
- 5) Création d'une banque de gènes.

*Actuellement on a répertorié 400 vieux cépages environ avec lesquels on a créé un conservatoire dans l'entreprise de Tormancina (Roma) propriété du M.A.F.*

*Pour une bonne partie d'entre eux, la fiche des caractères minimums a été remplie. Cette fiche a été élaborée par les différentes sections du Groupe de Travail conformément aux normes prévues par "l'Inventaire mondial des ressources génétiques de la Vitis" promu par le BPRG (FAO) en collaboration avec l'O.I.V.*

## PRESERVATION OF CLONAL GERMPLASM IN USA

### P. L. FORSLINE

National Clonal Germplasm

Repository of Apples & Grapes - Nysaes, Geneva (USA)

The United State Department of Agriculture recently provided funding for a national network of clonal germplasm repositories for fruit and nut crops. Vulnerability of unique germplasm exists since many breeding programs at State Universities are being discontinued. Therefore, working germplasm collections are being neglected and removed. In addition, wild germplasm throughout the world is vulnerable with population demands.

The United States has a very limited supply of native germplasm. Therefore, plant introduction activities for introducing world germplasm were begun in 1836. This was primarily for seed propagated crops.

Now the «clonals» are being made a part of that system. Plant Introduction has introduced > 500,000 accessions. The Plant Quarantine System regulates these activities in preventing entry and export of new pathogens and pests. The seven clonal repositories under development are (1) Oregon (small fruits, filberts, hops, mint and pear); (2) California - Davis (stone fruits, grapes, olives, nuts and figs); (3) New York - Geneva (apples and grapes); (4) Florida/Puerto Rico (subtropical and tropical fruits); (5) California - Riverside (citrus and dates); (6) Texas (pecan and hickory); (7) Hawaii (other subtropical and tropical fruits and nuts). Primary objectives of these repositories are (1) plant collection; (2) plant propagation (virus certification); (3) germplasm maintenance/preservation of clones and species; (4) information on accessions (GRIN computer system); (5) germplasm evaluation;

(6) germplasm distribution. Secondary objectives involve improved methodology for genetic evaluation, clonal propagation, clonal verification and germplasm preservation. Advisors for the Germplasm system include: (1) National Coordinator; (2) National Policy Committee; (3) Committee to review plant exploration; (4) Local Technical Advisory Committees (TAC) for each repository; (5) Crop Advisory Committees (CAC); (6) National Technical Advisor.

Each of the clonal repositories has a TAC with national representation which meets annually, usually at the clonal repository site. Their duties are as follows:

1. Establish procedures for committee activities including length of service for members and procedures for nominating replacements to the Committee.

2. Review and develop plans, procedures, and operations for the germplasm repository within National Plant Germplasm Committee (NPGC) policy guidelines and recommend to the National Plant Germplasm Committee policy and procedures for the operation of the repository.

3. Recommend what germplasm will be maintained, added, or discarded from individual national clonal germplasm repositories to preserve complete genetic diversity without unnecessary duplication.

4. Recommend priorities relating to research planned or needed at each repository.

5. Assist the Curators and Research Scientists with publicity on the functions and services of the repository and in the promotion of repository use.

Crop Advisory Committee (CAC) is the name for a specific national working group or selected specialists providing critical analysis, data, and advice about the necessary activities for effective conservation and use of plant genetic resources within a specific crop or group of related crops of present or future economic importance. The CACs work in close cooperation with appropriate TACs.

1. Candidates for CAC membership will be sought from State, Federal and private industry to provide a balanced group of experts with national representation.

2. Members will be appointed on the basis of knowledge and interest in plant germplasm and its uses in improvement of U.S. Agriculture and nutrition. Because U.S. agricultural products and varieties are used abroad, and because much of the primary fruit and nut germplasm is indigenous to other countries, foreign observer members should be considered for each CAC, to represent the work of the International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR) and other groups dedicated to germplasm preservation and use.

CASs will be active initially in developing a complete list of gene descriptors after having defined the genetic base and the genetic diversity for each crop. From this, lists of accessions will develop.

Other duties of the CAC include:

1. Planning effective evaluation projects on sets of descriptors and germplasm agreed by the committee and curator as being of high priority.

2. Working with the National Advisor for Clonal Germplasm in developing guidelines for collecting genetic diversity, monitoring it and maintaining it.

3. Planning and advising on germplasm resources development strategies to bring primitive germplasm to more useable status, either as cultivars or as rootstocks.

4. Serving as the main group to develop crop-specific genetic vulnerability statements and make known impending cases of crop vulnerability.

5. Assuring a uniform and comprehensive input data format of the specific crop for the Germplasm Resources Information on Network (GRIN).

6. Assisting in monitoring relate activities abroad.

7. Assisting in providing resource estimates for carrying out various aspects of the crop-specific germplasm program.

8. Carrying out other assignments related to the crop at the request of the NPGC and appropriate TAC.

National Technical Advisor for Clonal Germplasm (NTA-CG):

1. Assists the National Coordinator for Plant Germplasm and the NPGC in matters related to the clonal program.

2. Serves as an ex-officio member of all Technical Advisory Committees (TAC).

The concept of the National Clonal Germplasm Repository, Geneva, NY was first conceived in 1974 as a prime site for apples and hardy grapes. It wasn't until 1982 that a 20-hectare farm was purchased. In 1983 a Farm Manager was hired to begin developing the farm in consultation with New York State Agricultural Experiment Station pomologists and viticulturists. In 1984 the Curator was hired and building construction began. The TAC for the Geneva repository has met in May 1984 and March 1985. The 20-hectare farm will contain *Malus* and *Vitis* accessions under orchard and vineyard conditions. Many of the Genera at other repositories will be grown in pots. The campus building is scheduled for occupancy June 1985.

Initial activities involve locating domestic and foreign, virus-free accessions for immediate collection and propagation. Other accessions will be given presumptive thermotherapy and indexed for common viruses. Proposals for exploration of wild germplasm will also be developed.

As the CACs and TAC develop, and funding is made available, priorities for research at the repository must be initiated to help solve the following problems:

1. Restrictions on plant material because of virus disease.

2. Inadequate taxonomic descriptions of the Genera involved.

3. Inadequate pomological and viticultural descriptions of the collections.

4. Inadequate evaluation of the material in relation to biotic and environmental stresses.

5. Limitations on size and diversity of collections because of cost of field holdings.

## SUMMARY

### PRESERVATION OF CLONAL GERmplasm IN USA (APPLES AND GRAPES IN GENEVA, NY)

*The USDA recently provided funding for a national network of clonal germplasm repositories for fruit and nut crops.*

*Vulnerability of unique germplasm exists since many breeding programs at State Universities are being discontinued. Therefore working germplasm collections are being neglected and removed. In addition, wild germplasm throughout the world is vulnerable with population demands.*

*The germplasm system in this country has existed since 1836 primarily for seed propagated crops. Now the «clonal» are being made a part of that system. Plant Introduction has introduced > 500,000 accessions. The Plant Quarantine Service regulates these activities in preventing entry and export of new pathogens and pests. The seven clonal repositories under development are 1) Oregon (small fruits, filberts, hops, mint and pear); 2) California - Davis (stone fruits, grapes, olives, nuts and figs); 3) New York - Geneva (apples and grapes); 4) Florida/Puerto Rico (subtropical and tropical fruits); 5) California - Riverside (citrus and dates); 6) Texas (pecan and hickory); 7) Hawaii (other subtropical and tropical fruits and nuts). Primary objectives of these repositories are: 1) Plant collection; 2) Plant propagation (virus certification); 3) Germplasm maintenance/preservation of clones and species; 4) Information on accessions (GRIN computer system); 5) Germplasm evaluation; 6) Germplasm distribution. Secondary objectives involve improved methodology for genetic evaluation, clonal propagation, clonal verification and germplasm preservation. Advisors for the Germplasm system include: 1) National Coordinator; 2) National Policy Committee; 3) Committee to review plant exploration; 4) Local Technical Advisory Committees (TAC) for each repository; 5) Crop Advisory Committees (CAC); 6) National Technical Advisor.*

*CAC's will be active initially in developing a complete list of gene descriptors after having defined the genetic base and the genetic diversity for each crop. From this, lists of accessions will develop. The Geneva repository has a 20 hectare farm which will contain *Malus* and *Vitis* accessions under orchard and vineyard conditions. Many of the Genera at other repositories will be grown in pots.*

*Initial activities involve locating domestic and foreign, virus-free accessions for immediate collection and propagation. Other accessions will be given presumptive thermotherapy and indexed for common viruses. Proposals for exploration of wild germplasm will also be developed.*

# CONSERVATION IN VITRO DE LA VIGNE A BASSE TEMPERATURE: COMPARAISON ENTRE «VITIS RUPESTRIS» VAR. DU LOT ET «VITIS VINIFERA» VAR. CHARDONNAY

R. GALZY (1) - D. COMPAN (1) - R. SERRAJ (1) - J. MARCHAL (2)

(1) INRA-ENSA Laboratoire De Recherche de la Chaire de Génétique-Montpellier (France)

(2) CIRAD-IRFA Montpellier (France)

Une collection de variétés de vigne conservée *in vitro* constituerait une réserve de gènes facilement accessible pour des travaux d'amélioration génétique de la vigne et notamment pour de futurs travaux de génie génétique.

Pour être fiable et efficace, un conservatoire de ressources génétiques doit répondre à deux impératifs essentiels:

1. Il doit assurer la stabilité génétique des clones conservés. A l'heure actuelle la méthode offrant, à ce point de vue, le maximum de sécurité est le *microbouturage* sur un milieu dépourvu de substances de croissance (F. D'Amato 1978; G.G. Henshaw 1982). Il est à souligner, comme un point très positif, que la vigne est l'une des rares espèces dont la culture soit possible sur un milieu simple. Cette possibilité ne doit pas être négligée. Elle permet d'envisager la conservation *in vitro* du genre *Vitis* de façon différente et simplifiée par rapport au cas général des autres plantes ligneuses.

2. Le deuxième impératif technique imposé dans le cadre d'un conservatoire est la survie des plantes en croissance lente, pendant au moins un an, sans renouvellement du milieu de culture. En effet, la dimension réduite des plantes et l'espacement des manipulations permettent d'abaisser le coût de la collection.

La méthode de micropropagation de la vigne à partir de bourgeons axillaires est connue depuis de nombreuses années. Il reste cependant à définir un milieu de culture bien adapté à la conservation à basse température. Il est également nécessaire d'apprécier l'importance des différences variétales dans ce domaine: Pour tenter de répondre à ces questions, une expérimentation d'une durée totale de 14 mois a été entreprise. Elle porte sur deux variétés génétiquement éloignées (*Vitis rupestris* var. du Lot et *Vitis vinifera* var. Chardonnay). Elle consiste à suivre l'évolution des plantes et celle des milieux de culture au cours de la conservation.

## Matériels et méthodes

Le matériel végétal de départ est constitué par un clone de *V. rupestris* var. du Lot et un clone de *V. vinifera* var. Chardonnay qui sont conservés en culture *in vitro* depuis 1961 et 1966, respectivement. Ce stock de plantes-mères est constitué par 20 plantes de chaque clone qui sont renouvelées par micro-bouturage tous les 4 mois environ (R. Galzy 1961-1964). Ces plantes ont été multipliées pour répondre aux besoins de l'expérimentation. Lors des opérations de stockage et de multiplication, les plantes sont placées à 21° C sous un éclairage — 4000 Lux fourni par des tubes fluorescents de type lumière du jour de type Gro-Lux, en quantité égale. Les tubes de culture, de calibre 25 x 250, sont bouchés par du coton et du papier d'aluminium. Ils contiennent 25 ml du milieu suivant: Gélose 7 g/l — Saccharose 15 g/l — Solution de Knop modifiée n° 5 (voir tableau 1) — Oligo-éléments de la solution de Berthelot modifiée et complétée par du molybdène (0,1 µM) — Vitamines: Thiamine Chlorhydrate 1 mg/l, Calcium Pan-

tothénate 1 mg/l, Pyridoxine Chlorhydrate 1 mg/l, Acide nicotinique 1 mg/l, Méso-Inositol 10 mg/l, Biotine 0,01 mg/l.

Le milieu utilisé pour l'expérience de conservation à basse température diffère du précédent par une teneur plus élevée en NO<sub>3</sub><sup>-</sup> et NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (Solution de Knop modifiée n° 6 — Tableau 1). D'autre part, deux concentrations de saccharose ont été comparées: 3 g/l et 15 g/l.

La méthode de conservation expérimentée consiste à soumettre les plantes à des cycles de culture de 10 ou de 14 mois comportant trois phases:

1) Culture des jeunes boutures pendant 1 mois à 21° C sous éclairage de 4000 Lux comme pour les plantes-mères.

2) Culture pendant 8 mois ou 12 mois à 12° C sous un éclairage de 500 Lux fourni par des tubes fluorescents de type Gro-Lux.

3) Retour des plantes pendant 2 mois à 21° C sous éclairage de 4000 Lux. Pendant le dernier mois de culture la feuille d'aluminium est supprimée.

Tab. 1 - Composition ionique, exprimée en mM, des solutions minérales présentes dans les milieux de culture

	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	K <sup>+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>
Knop modifié n° 5 (Culture des plantes-mères à 21° C)	16,24	0,51	0,91	10,91	2	2,1	0,5
Knop modifié n° 6 (Expérience de longue conservation)	22,2	0,51	0,91	10,91	8	2,1	0,5

Des lots de 15 cultures (plantes et milieux) ont été prélevés à différentes époques du cycle:

- A la mise en culture
- Après 1 mois (fin de la pré-culture à 21° C)
- Après 2, 4 et 8 mois (période de culture à 12° C)
- Après 10 mois (fin de la deuxième période de culture à 21° C).

Les paramètres mesurés sont les suivants:

— Allongements des tiges et des racines et pourcentage de feuilles jaunies ou brunies.

— Poids de matière fraîche et poids de matière sèche des plantes.

— Poids de matière fraîche et poids de matière sèche du milieu.

— Glucides présents dans le milieu (saccharose, fructose et glucose) dosés par chromatographie HPLC.

— Eléments minéraux présents dans le milieu (Azote total - Azote nitrique — Phosphore, Potassium, Magnésium, Calcium, Fer, Soufre). Ces dosages ont été réalisés par le Laboratoire Central d'Analyse du CNRS.

Quelques déterminations complémentaires ont été réalisées à la fin de la période de culture à 12° C: dosage de l'ammonium dans le milieu de culture (méthode de micro-diffusion de Conway), recherche d'acides aminés dans les milieux (chromatographie sur couches minces) et dosage des sucres dans les parties aériennes des plantes (chromatographie HPLC après extraction à l'alcool).

## Résultats

Les résultats présentés ici concernent seulement le cycle de 10 mois de conservation. Le cycle de 14 mois n'est pas encore terminé. Des graphiques représentant, en fonction du temps, l'évolution des plantes et celle des éléments du milieu de culture ont été établis. Ils permettent de comparer, dans chaque cas, les résultats obtenus pour *V. rupestris* et pour *V. vinifera* var. Chardonnay.

## 1. Croissance des plantes

a) L'allongement des tiges à 12° C (figure 1) est plus important pour le Chardonnay que pour *V. rupestris*. De plus, on note un comportement très différent des deux variétés vis-à-vis de la teneur en sucre du milieu: La croissance du Chardonnay est plus rapide en présence de 15 g/l de saccharose alors que celle de *V. rupestris* est meilleure en présence de 3 g/l.

Dans le cas de *V. rupestris* on observe à partir du 4ème mois de culture une réelle toxicité du milieu le plus riche en saccharose. A ce stade, la croissance des tiges est arrêtée et des feuilles jaunies ou brunies commencent à apparaître. Leur proportion dépassera 70% de l'ensemble des feuilles après 10 mois de culture. En présence de 3 g/l de saccharose la croissance se poursuit lentement et le nombre de feuilles détériorées est moins important (45% après 10 mois). Les plantes de *V. rupestris* transférées à 21°C après 8 mois manifestent une croissance active et une réduction du pourcentage de feuilles détériorées qui correspond à la formation de nouvelles feuilles et au rétablissement d'une partie des feuilles jaunies.

Chez le Chardonnay en cours de conservation on n'observe pas de symptômes aussi nets. 40 à 50% des feuilles sont jaunes au 8ème mois de culture mais très peu de feuilles sont mortes. Les jaunissements observés sont en grande partie réversibles après retour à 21° C.

b) L'allongement des racines à 12° C, contrairement à celui des tiges est plus important chez *V. rupestris* que chez le Chardonnay (figure 2). Pour les deux cépages le milieu le plus riche en sucre est le plus favorable à la croissance des racines. Chez le Chardonnay, aucune croissance des racines n'est observée à 12° C en présence de 3 g/l de sucre.

c) Le poids de matière sèche des plantes est très différent chez les deux cépages (figure 3). Après 8 mois de culture les plantes de *V. rupestris* présentent une quantité de matière sèche 4 à 5 fois

supérieure à celles de Chardonnay. Parallèlement le rapport poids de matière sèche/poids de matière fraîche est plus élevé chez *V. rupestris*. Ce rapport augmente (de 9 à 18%) au cours de la conservation de *V. rupestris* à 12° C (alors que la quantité d'eau présente dans le milieu de culture ne change pas) et il diminue lors du retour à la croissance active à 21°. Enfin, la teneur en matière sèche est toujours plus élevée sur le milieu le plus riche en sucre.

La très faible production de matière sèche par les plantes de Chardonnay devra être expliquée. L'étude de l'évolution des milieux de culture au cours du temps ne suffira pas à résoudre ce problème. Elle apportera cependant quelques éléments utiles à la discussion.

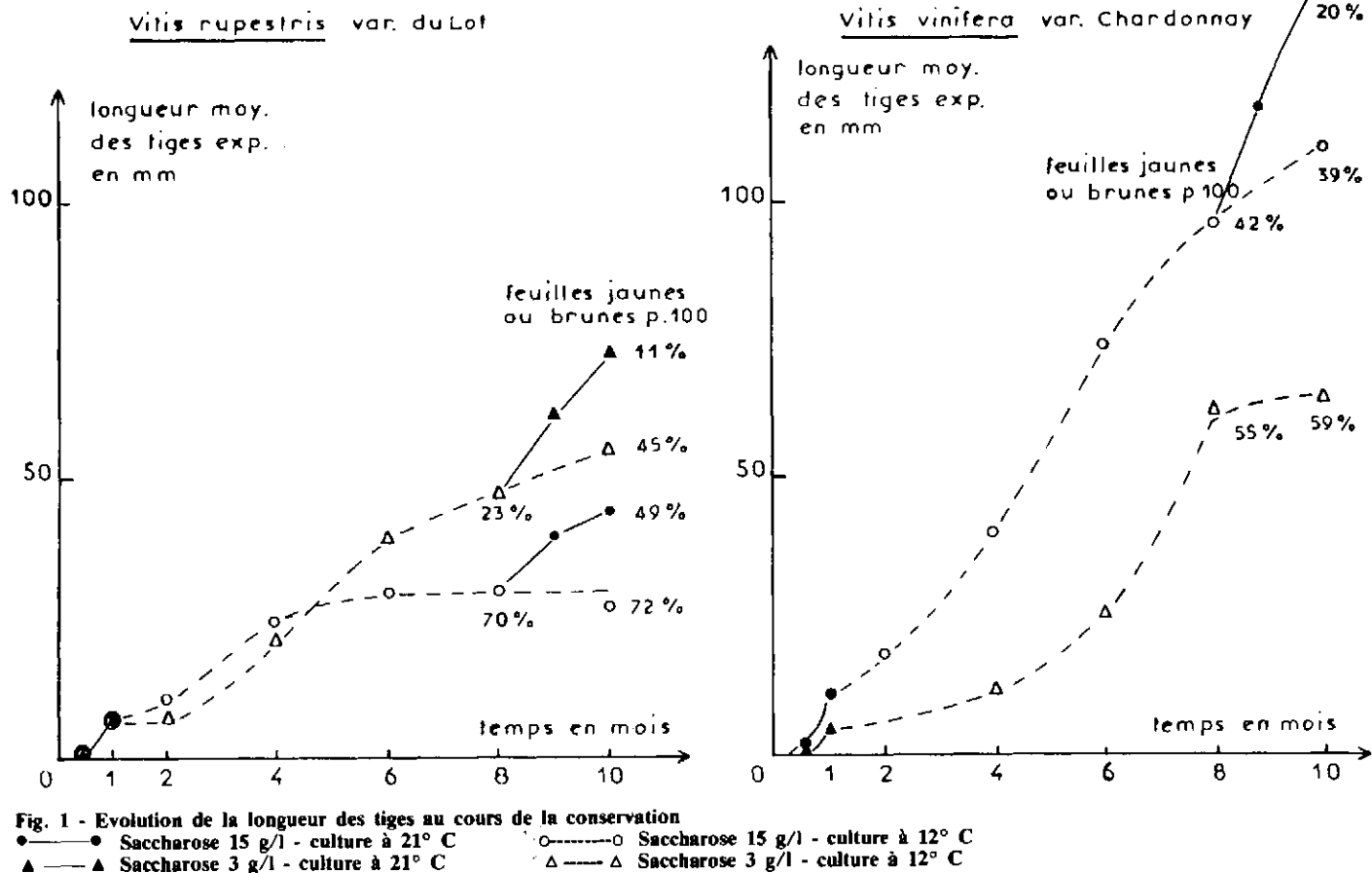
## 2. Evolution des glucides au cours de la culture

a) L'évolution des glucides dans les milieux de culture comportant 15 g/l de saccharose au temps 0, a été représentée sur la figure 4.

La quantité de saccharose diminue au cours du temps. Cette diminution est plus rapide en présence de *V. rupestris*. Dans ce cas, on ne retrouve, après 4 mois de culture, que 5% de la quantité initiale de saccharose. En présence de Chardonnay il reste, dans les mêmes conditions, 60% de la teneur initiale en saccharose.

Du glucose et du fructose apparaissent dans les milieux de culture de façon simultanée avec la diminution de la teneur en saccharose. Ces deux sucres ont été mis en évidence après 1 mois de culture et leur quantité a augmenté jusqu'au 8ème mois dans le cas de *V. rupestris* et jusqu'au 10ème mois dans le cas du Chardonnay.

On a remarqué que, dans les milieux de culture, le glucose et le fructose se trouvent toujours en quantités à peu près égales. Il n'a pas été possible de mettre en évidence une activité invertasique dans les milieux. Le saccharose serait donc absorbé par la



Vitis rupestris var. du Lot

Vitis vinifera var. Chardonnay

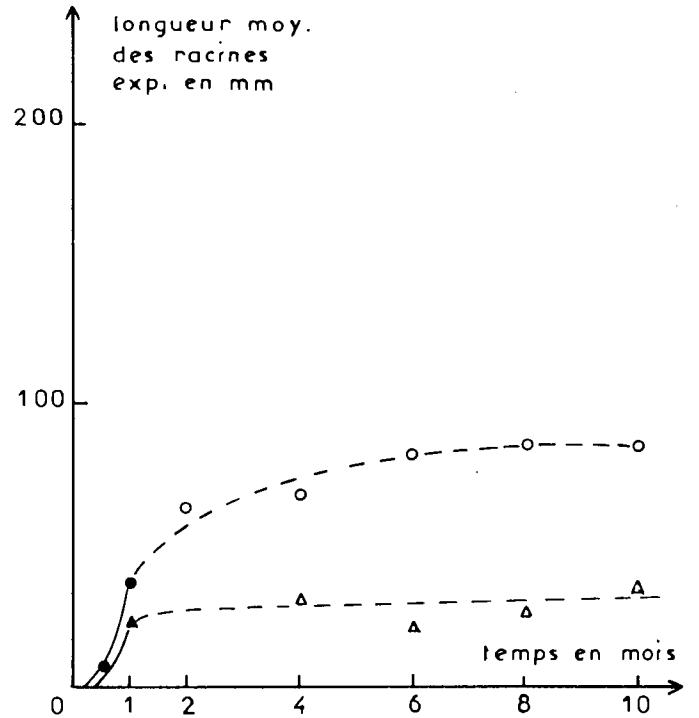
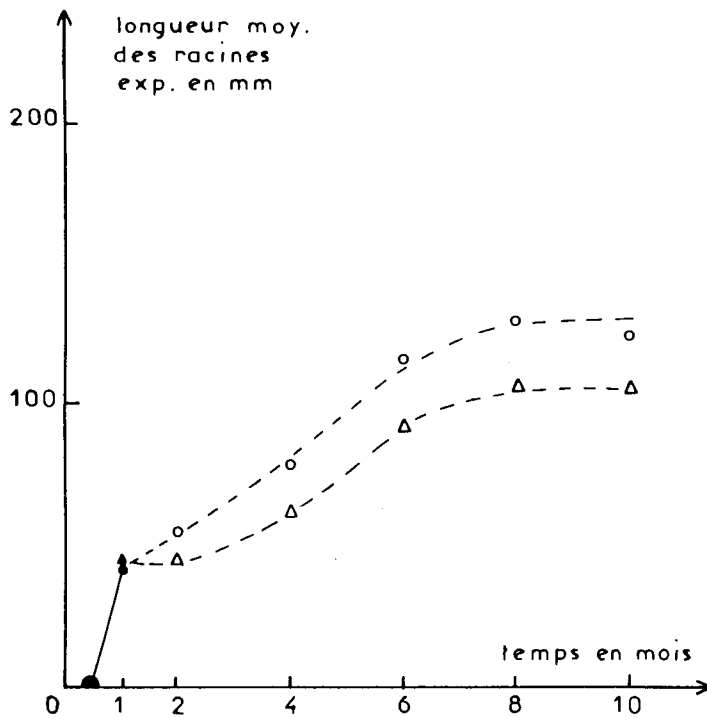


Fig. 2 - Evolution de la longueur des racines au cours de la conservation  
 ●—● Saccharose 15 g/l - culture à 21° C      ○-----○ Saccharose 15 g/l - culture à 12° C  
 ▲—▲ Saccharose 3 g/l - culture à 21° C      △-----△ Saccharose 3 g/l - culture à 12° C

Vitis rupestris var. du Lot

Vitis vinifera var. Chardonnay

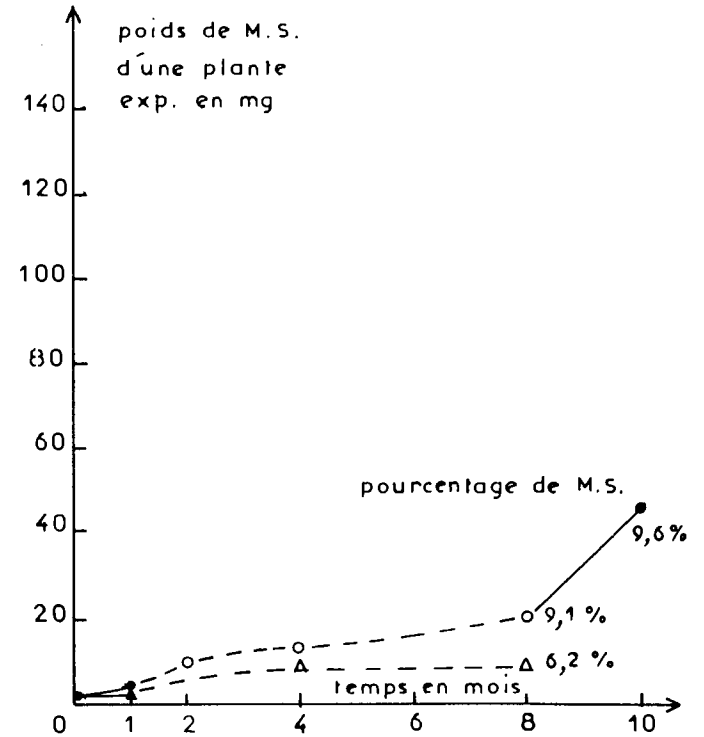
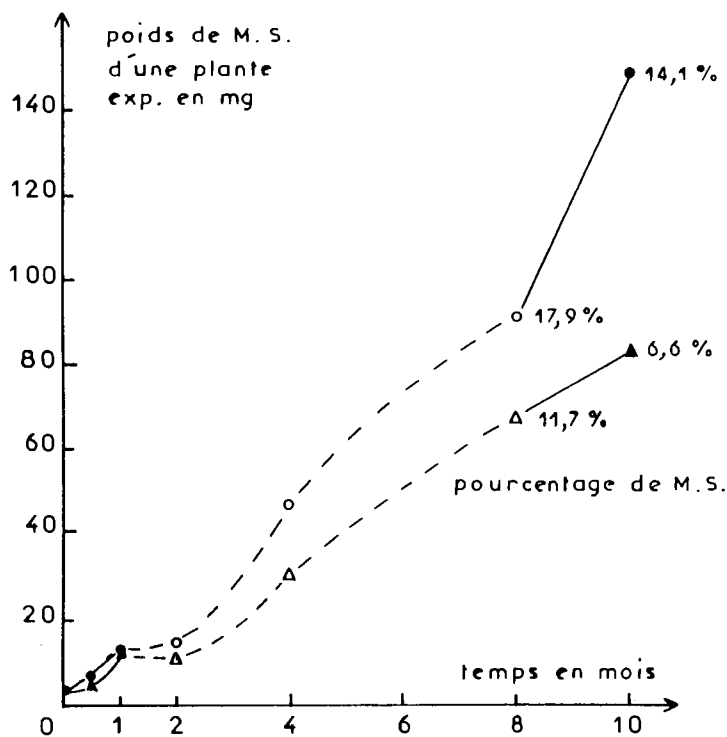


Fig. 3 - Evolution du poids de matière sèche d'une plante au cours de la conservation  
 ●—● Saccharose 15 g/l - culture à 21° C      ○-----○ Saccharose 15 g/l - culture à 12° C  
 ▲—▲ Saccharose 3 g/l - culture à 21° C      △-----△ Saccharose 3 g/l - culture à 12° C

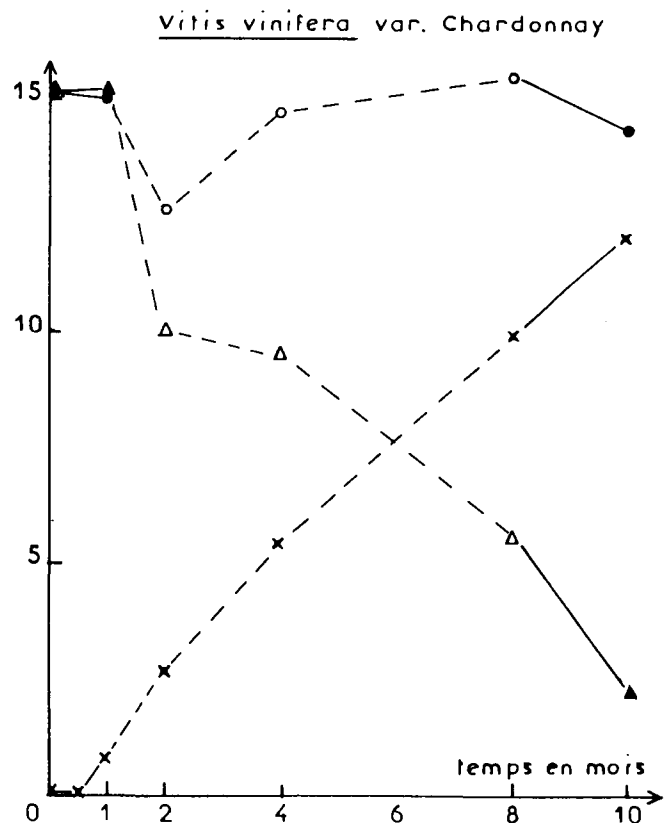
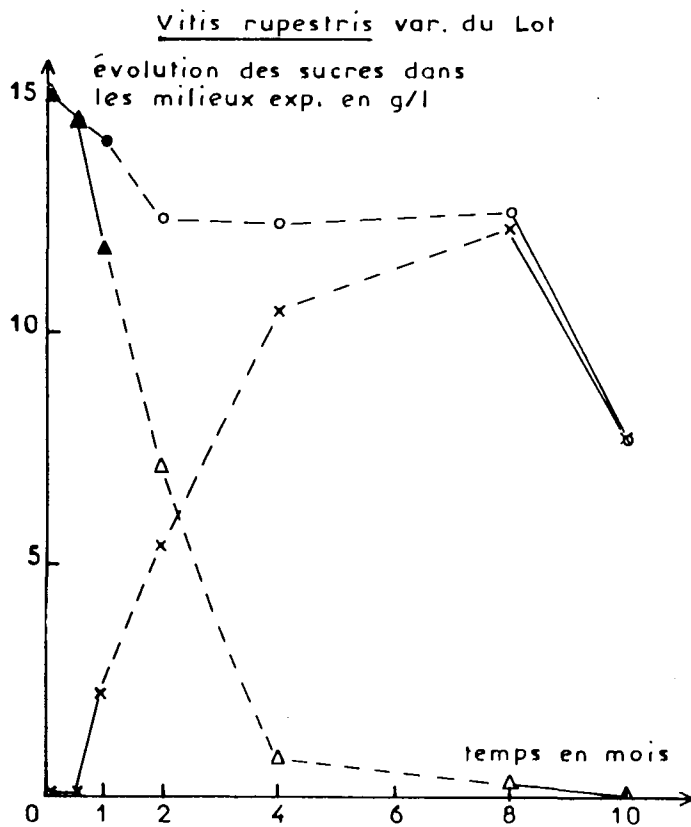


Fig. 4 - Evolution de la teneur des milieux en glucides au cours de la conservation

• Total des sucres    ▲ Saccharose    × Glucose + fructose    — Culture à 21° C    - - - - Culture à 12° C

plante, hydrolysé, puis, en grande partie, ré-excrété vers le milieu sous forme d'hexoses.

La quantité totale de sucres présente dans les milieux (saccharose + glucose + fructose) diminue peu au cours de la culture. Pour les deux cépages on observe pendant les deux premiers mois, une consommation de sucre d'environ 2,5 g/l sur les 15 g/l présents au début de la culture. Ensuite la teneur en sucres du milieu reste stable jusqu'au 8ème mois dans le cas de *V. rupestris* et elle semble remonter au niveau initial dans le cas du Chardonnay. Une consommation supplémentaire et importante (5 g/l) est observée lors du retour à 21° C (8ème - 10ème mois) dans le cas de *V. rupestris* alors que la consommation reste très faible dans le cas du Chardonnay.

b) L'évolution des sucres dans les milieux comportant 3 g/l de saccharose est comparable à celle décrite pour les milieux à 15 g/l. On notera seulement que le saccharose est épuisé en présence de *V. rupestris* après 4 mois alors qu'il reste 80% de la quantité initiale en présence de Chardonnay. De plus la teneur totale en sucres diminue d'environ 1 g/l en 8 mois en présence de *V. rupestris* alors qu'elle augmente de 1,4 g/l en présence de Chardonnay.

Il apparaît donc que la quantité de sucre prélevée par la plante dans le milieu de culture est faible ou nulle. Dans certains cas la culture aboutit même à un léger enrichissement du milieu en sucre. Lorsqu'il y a consommation du sucre, on constate que la quantité de matière sèche formée pour 1 mg de sucre absorbé peut varier entre 1 et 12 mg selon les cas. Les plantes étudiées présentent donc une activité photosynthétique certaine. Cependant le bilan global de la nutrition glucidique de ces plantes est très variable. Les principaux facteurs capables de la modifier sont la teneur en sucre du milieu, la température, l'éclairement, les échanges gazeux entre l'intérieur et l'extérieur du tube et la nutrition azotée.

Dans un premier temps il a paru utile de préciser l'influence de la teneur en sucre du milieu sur l'accumulation de sucre par les plantes.

c) Teneur en sucre des plantes après culture à 12° C. Des dosages de sucres dans les parties aériennes des plantes ont été réalisés à la fin de la période de conservation à basse température (tableau 2).

On constate, dans le cas de *V. rupestris*, que la teneur en sucre des plantes varie avec la concentration du saccharose dans le milieu. Lorsque cette concentration passe de 3 à 15 g/l la teneur des plantes en sucres (total des 3 sucres) augmente de 70%. On observe également qu'après culture sur des milieux identiques (15 g de saccharose) les plantes de Chardonnay contiennent moins de sucre que celles de *V. rupestris*. On se souvient que *V. rupestris* cultivée à 12° C sous un éclairement de 500 Lux et en présence de 15 g/l de saccharose présente après 4 mois de conservation un grand nombre de feuilles mortes. Il n'est pas impossible que ce phénomène soit lié à une accumulation excessive de sucres dans les feuilles.

Tab. 2 - Teneurs en sucres des parties aériennes des plantes à la fin de la période de culture à 12° C. Résultats exprimés en mg/g de matière fraîche

	<i>V. rupestris</i> sur milieu à 15 g/l de saccharose	<i>V. rupestris</i> sur milieu à 3 g/l de saccharose	Chardonnay sur milieu à 15 g/l de saccharose
Glucose	2,1	0,4	0,9
Fructose	5,6	4,3	2,0
Saccharose	6,6	3,7	5,4
Total	14,3	8,4	8,3

Les teneurs en sucres des plantes cultivées *in vitro* sont cependant inférieures à celles observées chez les feuilles de Carignan, à la période de la maturation des baies (G. Marteau 1955). On

remarque, d'autre part, que chez *V. rupestris* comme chez le Chardonnay le fructose se trouve en quantité supérieure au glucose. Au contraire chez *V. labrusca* var. Concord le glucose est plus abondant que le fructose (C.A. Swanson et B.D.H. El-Shishiny 1958).

Pour conclure ce paragraphe relatif aux glucides on doit souligner que dans des conditions permettant une croissance active (à 21° et sous un éclairciment de 4000 Lux) les diverses espèces et variétés de vignes expérimentées jusqu'à maintenant se sont développées de façon satisfaisante sur des milieux de culture comportant 15 g/l de saccharose. Il apparaît qu'à basse température la teneur optimale en saccharose peut, au contraire, varier selon les espèces et peut être même selon les variétés. Des concentrations faibles en saccharose devront être expérimentées puisque la concentration 15 g/l s'est montrée soit toxique (cas de *V. rupestris*) soit très supérieure aux besoins (cas du Chardonnay). Une expérience différente a d'ailleurs permis de vérifier qu'un milieu à 5 g/l de saccharose permet une excellente conservation du Chardonnay pendant 15 mois.

### 3. Evolution des éléments minéraux dans le milieu de culture

a) L'azote existe dans le milieu initial sous formes nitrique et ammoniacale (tableau I - Knop modifié n° 6). Les dosages réalisés en cours de culture ont porté essentiellement sur l'azote total et l'azote nitrique.

La teneur du milieu en azote total diminue lentement au cours de la conservation à basse température (figure 5). Le prélèvement d'azote dans le milieu est un peu plus important dans le cas de *V. rupestris* que dans celui du Chardonnay. Il semble également plus important en présence du milieu le plus riche en sucre.

Après le retour à 21° C (8-10<sup>e</sup> mois) on observe dans le cas de *V. rupestris* une élévation de la teneur du milieu en azote total ce qui implique une excrétion d'azote à partir des plantes.

La quantité totale d'azote prélevée dans le milieu par *V. rupestris* au cours de 10 mois de culture (environ 5 mM) représente 2% du poids de matière sèche des plantes. Une telle teneur en azote correspond approximativement aux valeurs observées dans le cas de vignes cultivées en conditions normales (A. Loue, J. Gagnard et P. Morard 1984).

La teneur du milieu en nitrates semble évoluer, dans le cas de *V. rupestris* de façon analogue à l'azote total (figure 6). Après 8 mois de culture, 30% des nitrates ont été prélevés en présence de 3 g/l de saccharose et 60% en présence de 15 g/l. Ces résultats représentent les moyennes de 4 répétitions et on doit souligner que la teneur en nitrates du milieu après 8 mois est très variable d'un tube de culture à l'autre. Les résultats sont compris entre 1,9 et 16 mM de NO<sub>3</sub> restant dans le milieu riche en sucre et entre 9 et 25 mM dans le milieu pauvre en sucre. Les dosages des formes ioniques de l'azote sont réalisés par conductométrie et assurent une précision qui est de ± 1 mM. Cette variabilité entre les plantes existe donc réellement en ce qui concerne les nitrates. Par contre la teneur en azote total est sensiblement la même dans tous les tubes, à ce stade de la culture.

Pendant la période de culture à 21°C on observe une augmentation de la teneur moyenne en nitrates qui est à rapprocher de l'augmentation de la teneur en azote total. En raison de l'hétérogénéité des cultures, il n'est pas possible d'affirmer que ce rejet de nitrates rende compte à lui seul, de l'augmentation de l'azote total du milieu. L'excrétion de nitrate vers le milieu de culture pourrait être induite par l'élévation de température (passage de 12 à 21°C). Nous verrons que, dans le cas de *V. rupestris* d'autres éléments minéraux sont également rejetés dans le milieu lors de

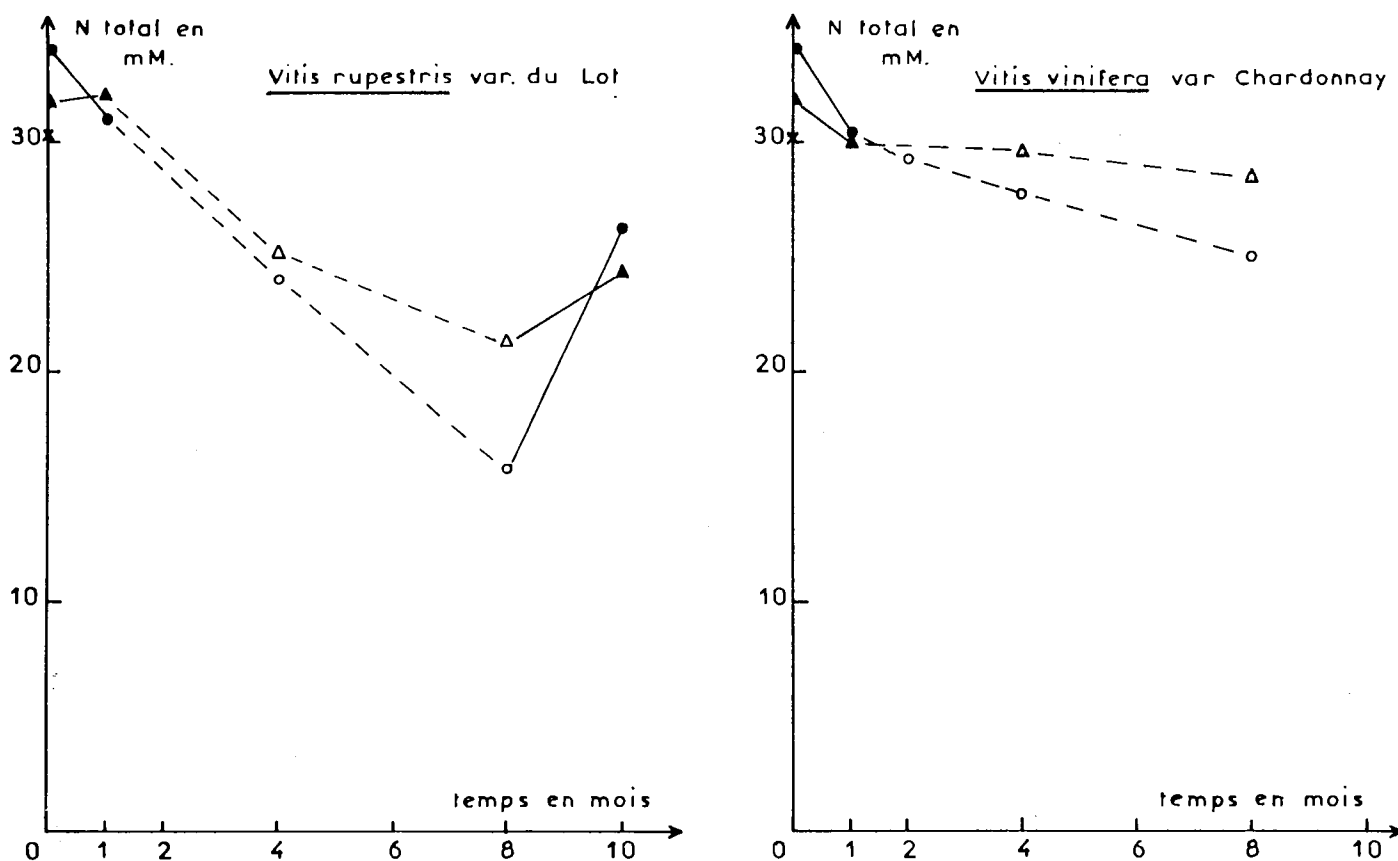


Fig. 5 - Evolution de la teneur des milieux en Azote au cours de la conservation  
 ● — ● Saccharose 15 g/l - culture à 21° C      ○ — ○ Saccharose 15 g/l - culture à 12° C  
 ▲ — ▲ Saccharose 3 g/l - culture à 21° C      △ — △ Saccharose 3 g/l - culture à 12° C



*Vitis rupestris* var. du Lot

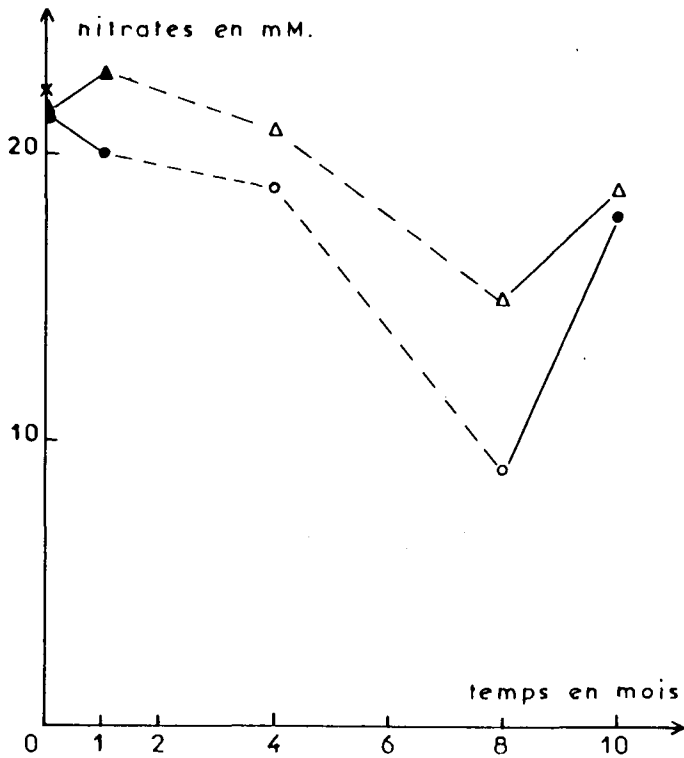


Fig. 6 - Evolution de la teneur des milieux en  $\text{NO}_3$  au cours de la conservation

- — ● Saccharose 15 g/l - culture à 21° C
- ▲ — ▲ Saccharose 3 g/l - culture à 21° C
- — ○ Saccharose 15 g/l - culture à 12° C
- △ — △ Saccharose 3 g/l - culture à 12° C

la deuxième culture à 21° C. Une observation analogue a été faite dans le cas du Bananier où une élévation de la température provoque une excrétion d'azote au niveau des racines (J. Marchal 1984).

L'évolution des nitrates dans le cas du Chardonnay ne sera pas discutée ici, une expérimentation complémentaire étant indispensable. On note par contre que la teneur en azote total du milieu diminue de façon lente et régulière: 20% de l'azote total est prélevé après 8 mois de culture. A cette date, l'azote ammoniacal a été dosé. Il apparaît que le Chardonnay a prélevé en 8 mois 40% environ de la quantité d'ammonium contenue initialement dans le milieu (dans le cas du milieu riche en sucre). Ce résultat est très reproductible d'une plante à l'autre.

Il n'est pas possible actuellement de rendre compte avec précision de l'évolution de l'azote introduit dans les milieux de culture. Il est certain cependant que des échanges entre la plante et le milieu se font dans les deux sens. Ces échanges portent sur des formes d'azote qui doivent être précisées. On peut cependant dire qu'après 8 mois de culture, les milieux ne contiennent pas de nitrites (limite de détection 1,3 mM) mais qu'ils contiennent une substance aminée plus abondante dans le cas du Chardonnay que dans celui de *V. rupestris*. Cette substance n'existe pas dans les milieux témoins, avant culture.

b) La teneur en phosphore des milieux diminue lentement au cours du stockage à 12° C (figure 7). Après retour, à 21° C on observe, dans l'un des cas, une excrétion de phosphore vers le milieu.

On a fait figurer sur ce graphique (de façon exceptionnelle) la courbe de consommation du phosphore obtenue dans le cas où *V. rupestris* est cultivé pendant 4 mois à 21° C. Il a été montré ailleurs que les éléments minéraux sont généralement prélevés plus rapidement à 21° C qu'à 12° C (R. Galzy 1985).

La différence est particulièrement nette dans le cas du phosphore. Il est curieux de constater qu'après une conservation à 12° C,

*Vitis rupestris* var du Lot

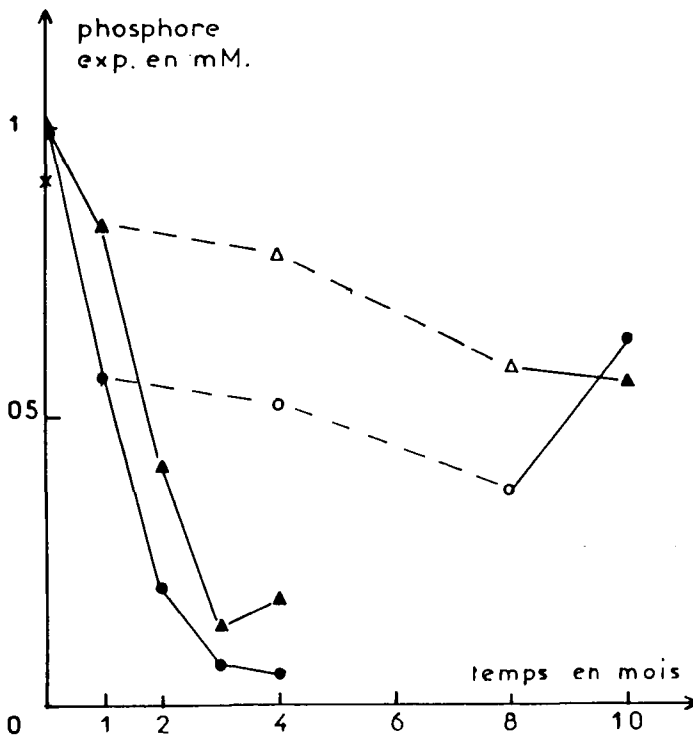
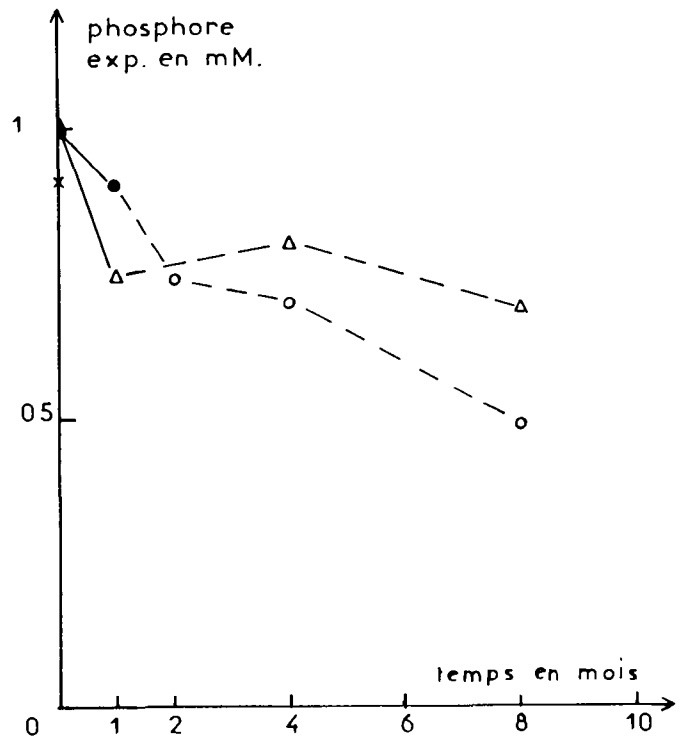


Fig. 7 - Evolution de la teneur des milieux en Phosphore au cours de la culture

- — ● Saccharose 15 g/l - culture à 21° C
- ▲ — ▲ Saccharose 3 g/l - culture à 21° C
- — ○ Saccharose 15 g/l - culture à 12° C
- △ — △ Saccharose 3 g/l - culture à 12° C

*Vitis vinifera* var Chardonnay



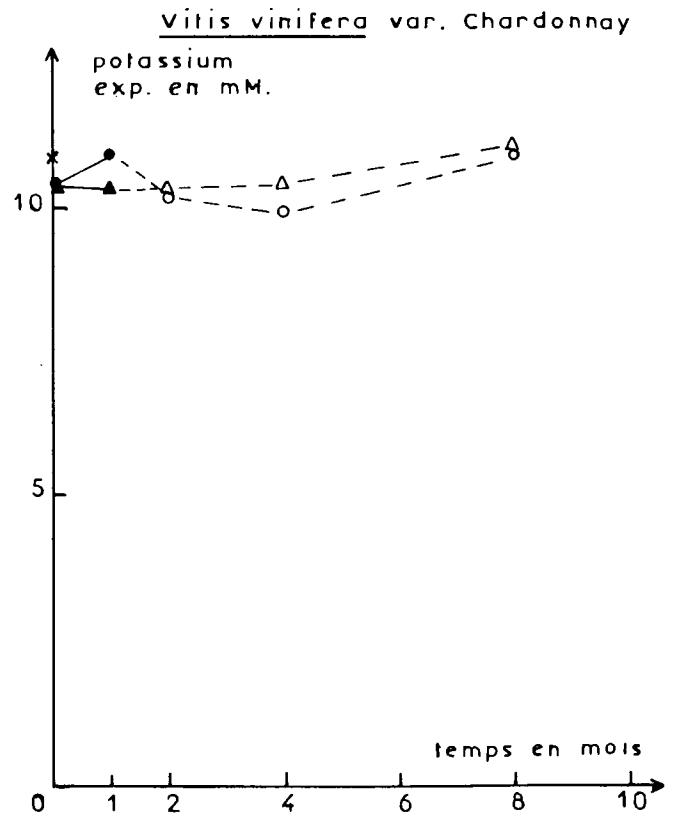
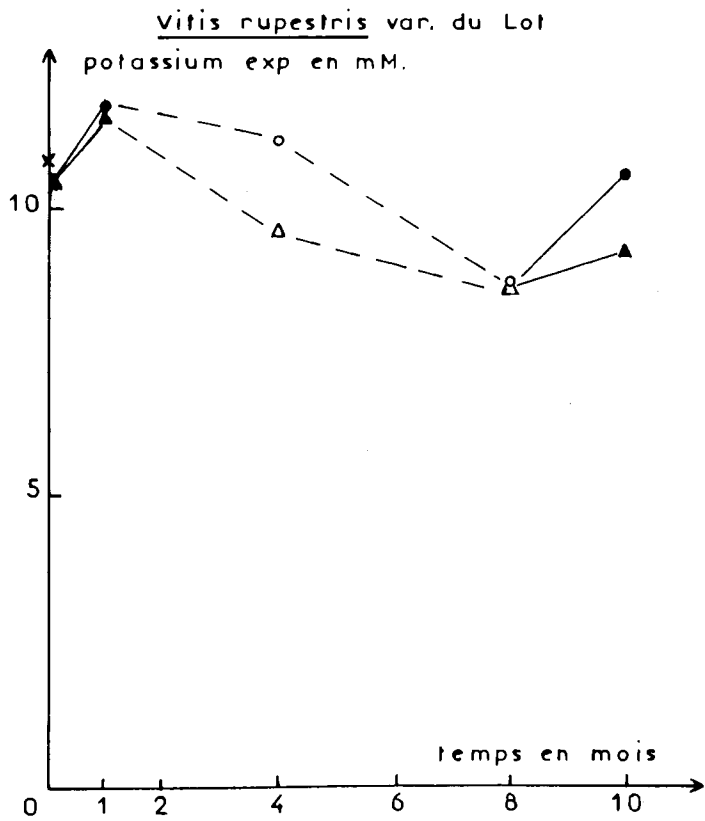


Fig. 8 - Evolution de la teneur des milieux en Potassium au cours de la conservation  
 ●—● Saccharose 15 g/l - culture à 21° C      ○—○ Saccharose 15 g/l - culture à 12° C  
 ▲—▲ Saccharose 3 g/l - culture à 21° C      △—△ Saccharose 3 g/l - culture à 12° C

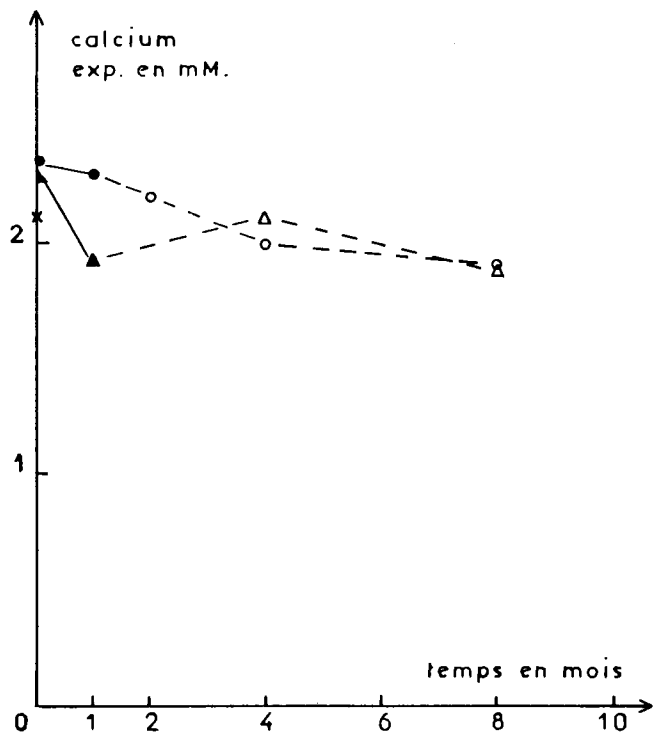
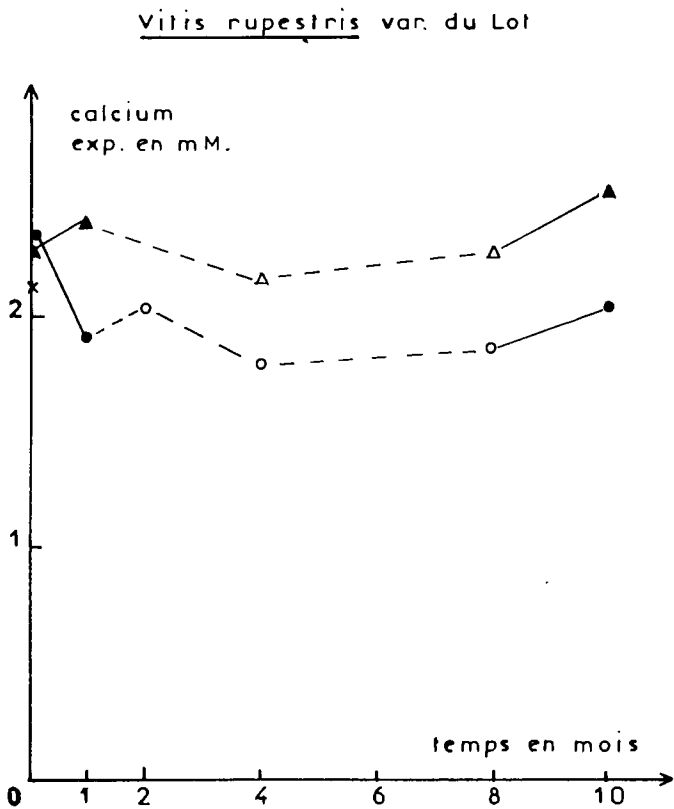


Fig. 9 - Evolution de la teneur des milieux en Calcium au cours de la conservation  
 ●—● Saccharose 15 g/l - culture à 21° C      ○—○ Saccharose 15 g/l - culture à 12° C  
 ▲—▲ Saccharose 3 g/l - culture à 21° C      △—△ Saccharose 3 g/l - culture à 12° C

le retour à 21° C ne s'accompagne pas d'une augmentation du prélevement des éléments minéraux.

c) Le potassium et le calcium (figures 8 et 9) sont peu consommés pendant la conservation à 12° C. On observe aussi, pour ces éléments, une tendance à l'excrétion vers le milieu après le retour à 21° C.

## Conclusions

Ce travail confirme l'importance des différences variétales déjà signalées en ce qui concerne la conservation de la vigne à basse température (H, Barlass et K.G.M. Skene 1983; R. Galzy 1985). Il a permis de préciser dans une certaine mesure la nature de ces différences variétales.

Les deux cépages étudiés absorbent le saccharose et rejettent les produits de son hydrolyse dans le milieu de culture. Le processus est plus rapide dans le cas de *Vitis rupestris*. Cette espèce est capable de retenir dans ses tissus des quantités de sucres supérieures à celles présentes chez le Chardonnay. Parallèlement les milieux riches en sucre (15 g/l) sont toxiques pour *V. rupestris* et non pour le Chardonnay. Ces deux espèces présentent une activité photosynthétique dans les conditions de conservation à 12° C qui leur ont été appliquées.

La quantité totale de sucre prélevée dans le milieu de culture est faible ou nulle. Il apparaît donc que des milieux contenant moins de 15 g/l de saccharose pourraient être utilisés. De la même façon, les éléments minéraux fournis à la plante ne sont jamais totalement utilisés aussi bien lors de la conservation à 12° C que lors de la culture à 21° C étudiée précédemment (R. Galzy 1985). Le seul élément dont l'épuisement soit à craindre est le phosphore. Par contre, ces expériences montrent qu'il n'est pas nécessaire d'augmenter la teneur du milieu en azote par rapport au milieu minéral habituel (Knop modifié n° 5) pour assurer une longue conservation des cultures. Ces expériences répondent donc à leur objectif qui était d'adapter la composition du milieu de culture aux besoins des plantes pendant des cycles de culture prolongée sans

renouvellement du milieu. Elles indiquent de plus que, selon le stade de la culture plusieurs substances peuvent être excrétées par les plantes vers le milieu de culture: glucose, fructose, acides aminés ou amines et différents éléments minéraux. Ces échanges entre la plante et le milieu devront être encore précisés.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Barlass M. et Skene K.G.M. (1983) - *Long-term storage of grape in vitro*. FAO/IBPGR Plant Genetic Resources Newsletter. 53, p. 19, 21.
- D'Amato F. (1978) - *Chromosome number variation in cultured cells and regenerated plants*. Frontiers of Plant Tissue Culture. 4<sup>th</sup> Intl. Congress of Plant tissue and Cell culture. p. 287, 295. Calgary. Canada.
- Galzy R. (1961) - *Confirmation de la nature virale du court-noué de la vigne par des essais de thérapie sur des cultures in vitro*. C. R. Acad. Sc. 253, p. 706, 708.
- Galzy R. (1964) - *Technique de thérapie des viroses de la vigne*. Ann. Epiphyties 15 - 3. p. 245, 256.
- Galzy R. (1985) - *Les possibilités de conservation in vitro d'une collection de clones de vigne*. 64<sup>e</sup> Assemblée Générale de l'Office International de la Vigne et du Vin. Porto 1984. Bull. O.I.V. 650 p. 377, 390.
- Henshaw G.G. (1982) - *Tissue culture methods and germplasm storage*. Proc. 5<sup>th</sup> Intl. Cong. Plant Tissue and Cell culture. Tokyo p. 789, 792.
- Loue A., Gagnard J. et Morard P. (1984) - *Dans «L'analyse végétale dans le contrôle de l'alimentation des plantes tempérées et tropicales»* par Martin-Prevel P., Gagnard J. et Gauthier P. Chapitre Vigne p. 197, 233. Lavoisier Editeur.
- Marchal J., Burgueno-Camacho J., Folliot M., Romero J., Martin-Prevel P. (1984) - *Absorption de l'Azote par le Bananier. Influence de la température et du rapport Azote nitrique/Azote ammoniacal*. VI<sup>e</sup> International colloquium for the optimization of plant nutrition. Montpellier. Proc. Vol. 0, p. 88.
- Marteau G. (1955) - *Evolution de la teneur en glucides solubles dans divers organes de la vigne au cours de la maturation des raisins*. C.R. Acad. Agric. Fr. 41: 193, 198.
- Swanson C.A. et El-Shishiny E.D.H. (1958) - *Translocation of sugars in the Concord grape*. Plant Physiol. 33: 33, 37.

## RESUME

### CONSERVATION IN VITRO DE LA VIGNE A BASSE TEMPERATURE: COMPARAISON ENTRE «VITIS RUPESTRIS» VAR. DU LOT ET «VITIS VINIFERA» VAR. CHARDONNAY

On peut actuellement envisager l'utilisation de la culture in vitro pour établir des conservatoires de clones de vigne. Ces conservatoires doivent répondre à deux nécessités techniques:

1) La conformité génétique des clones doit être maintenue. Dans le cas de la vigne, le micro-bouturage peut généralement être obtenu sur des milieux de culture dépourvus de substance de croissance. Cette méthode de culture offre les meilleures garanties possibles de stabilité génétique. Elle a donc été retenue pour des expérimentations.

2) La survie des plantes en croissance ralentie doit être assurée pendant une période d'environ un an afin de limiter le coût de l'entretien de la collection. Il convient donc de connaître les besoins nutritifs de plantes soumises à des cycles de culture comportant successivement la conservation prolongée à basse température (12° C) puis la croissance et la multiplication à température plus élevée (21° C).

Une expérimentation de longue durée a été entreprise afin de préciser, dans ces conditions de culture, le mode de croissance des plantes ainsi que la vitesse de consommation des éléments glucidiques et des éléments minéraux du milieu de culture. Cette expérience a porté sur deux cépages génétiquement éloignés: *Vitis rupestris* var. du Lot et *Vitis vinifera* var. Chardonnay.

Elle a permis de mettre en évidence des différences variétales importantes.

Ces différences portent essentiellement sur trois points:

- La vitesse de croissance à basse température.
- La réaction des plantes à la teneur en saccharose du milieu de culture.
- Le mode d'utilisation des nitrates.

# Ampélographie / Ampelography / Ampelografia

## POLLEN MORPHOLOGY OF VITIS CULTIVARS USING SCANNING ELECTRON MICROSCOPY AND THE SIGNIFICANCE OF POLLEN CLASSIFICATION IN GRAPE IMPROVEMENT PROGRAMME

M. AHMEDULLAH M.

Irrigated Agriculture Research and Extension Center Prosser - Washington State University (USA)

Leaf shape, contour, serrations, surface hairiness, inflorescence, berry and cluster shape (5), chemical characteristics (4), and isozyme patterns (11) have been studied in grapes for ampelographic descriptions. Italian scientists (7, 8) used scanning electron microscopy (SEM) to study pollen morphology of grape clusters. Amjad et al. (3) used wet pollen and light microscopy (LM) to show differences in pollen shape and size of grape cultivars in India. Ahmedullah et al. studied the pollen of 42 *Vitis vinifera* cultivars and classified them into 5 shape groups based on morphology, ultrastructure and P/E ratios of pollen grains (1). In another study (2), pollen of *Vitis labruscana* and *V. vinifera* cultivars were divided into 3 shape groups.

The present investigation was undertaken to evaluate the surface morphology and ultrastructure of pollen grains of additional cultivars of *V. labruscana*, *V. vinifera* and hybrids, and to determine whether, based on pollen morphology and surface topography, the cultivars studied can be classified into the pollen shape groups established for *Vitis* (1, 2).

### Materials and Methods

#### Collection of pollen

Pollen was collected from selected grape cultivars (Table 1) from the virus-indexed foundation block at the Irrigated Agriculture Research and Extension Center, Prosser, Washington, U.S.A. At least 15 whole flower clusters from each cultivar were harvested at full bloom (between June 1 and 21 in both 1980 and 1981), placed in plastic bags, and used for pollen collection. Clusters were struck briskly against a glass plate sterilized with 70% ethanol, which was then tipped to allow flower parts to slide off. Pollen was subsequently gathered with a razor blade. Glass plate, hands, and razor blades were washed with 70% ethanol between samples. Pollen was stored in a desiccator at 4°C. It remained viable and enzymatically active for several weeks as evidenced by germination tests (10).

For SEM study, a small quantity of pollen was placed on a metallic stub with double-sticking tape, using a flame-sterilized dissection needle. Dry pollen samples were used to eliminate inconsistencies. Dry pollen samples were used to eliminate inconsistencies resulting from equatorial swelling (9). Specimens were sputtercoated with gold (100A) and studied at 15-KV beam voltage with a 50 aperture in a Novascan 30 (Semco Instrument Co.). 50 pollen grains of each cultivar were viewed before selecting a representative pollen grain. Photographs were taken with a Polaroid-type 545 camera at a magnification of 2500 X.

Pollen grains showing «abnormal» morphology were fixed in a 2.5% glutaraldehyde and 1% osmium tetroxide, and dehydrated with alcohol (9) and critical point dried (Balzers Model FL 9496) at 600 pscm (1500 psi) before sputter coating with gold.

For LM study of grain size, a small quantity of pollen was transferred to a slide and stained with a drop of cotton blue in lactophenol. After 2-3 minutes, pollen grains had absorbed liquid and become spherical. Grains were viewed at 640 X. The polar

Tab. 1 - Polar axis, equatorial diameter, groove and exine patterns of *Vitis* pollen

Cultivars	Pollen Size (m)		P/E ratio	Furrow	Erdtman's Classification	Exine
	Polar Axis	Equatorial Diameter (E)				
Cabernet Sauvignon	26.2 ± 1.1	11.9 ± 0.6	2.20	N	I	Distinct, pits small
Caus	Abnormal			A	III	
Early Muscat	25.3 ± 1.2	12.6 ± 0.7	2.0	N	I	Distinct, pits medium
FS4	25.9 ± 1.1	13.7 ± 0.5	1.91	MN	II	Very distinct
Gamay	21.0 ± 1.3	11.6 ± 0.5	1.81	M	II	Distinct, pits small
Gamay Boujolais	22.7 ± 1.1	11.8 ± 0.6	1.89	N	II	Distinct, pits medium
GW7	Abnormal			A	III	
Green Veltliner	24.5 ± 1.4	13.8 ± 0.5	1.78	N	II	Distinct, pits medium
Isabella	24.7 ± 1.4	12.4 ± 0.4	1.99	M	I	Very distinct, pits small
Miska	23.0 ± 1.1	12.6 ± 0.6	1.83	N	II	Very distinct, pits medium
New York Muscat	22.7 ± 1.2	11.9 ± 0.6	1.90	MN	II	Distinct, pits medium
Rkatzitelli	25.2 ± 1.1	12.4 ± 0.3	2.03	N	I	Very distinct, pits small, evenly distributed
Rubired	23.4 ± 1.1	12.9 ± 0.3	1.81	N, open at ends	II	Distinct, pits medium
Sangiovese	23.2 ± 1.2	12.8 ± 0.5	1.82	N	II	Distinct, pits small
Sylvanner	25.2 ± 1.1	12.3 ± 0.3	2.06	M, open at ends	I	Distinct, pits medium
Sylvanner B	25.2 ± 1.3	12.5 ± 0.5	2.02	N	I	Distinct, pits small

N = Narrow, M = Medium, MN = Medium narrow, A = Absent

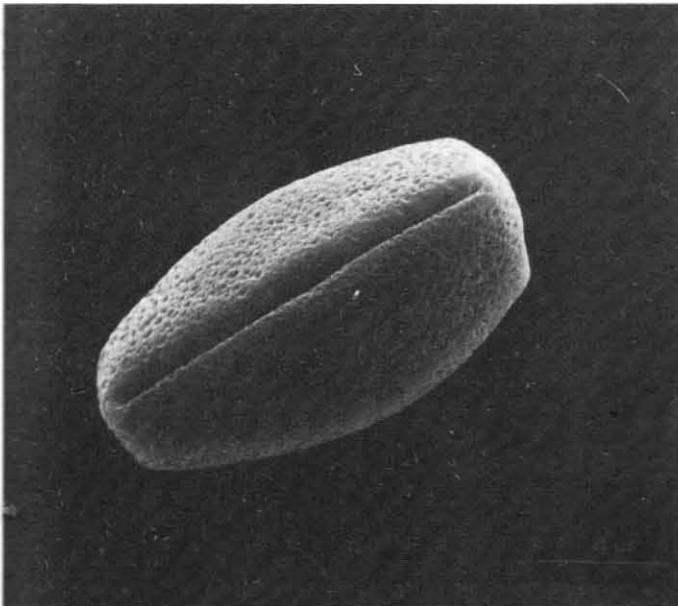
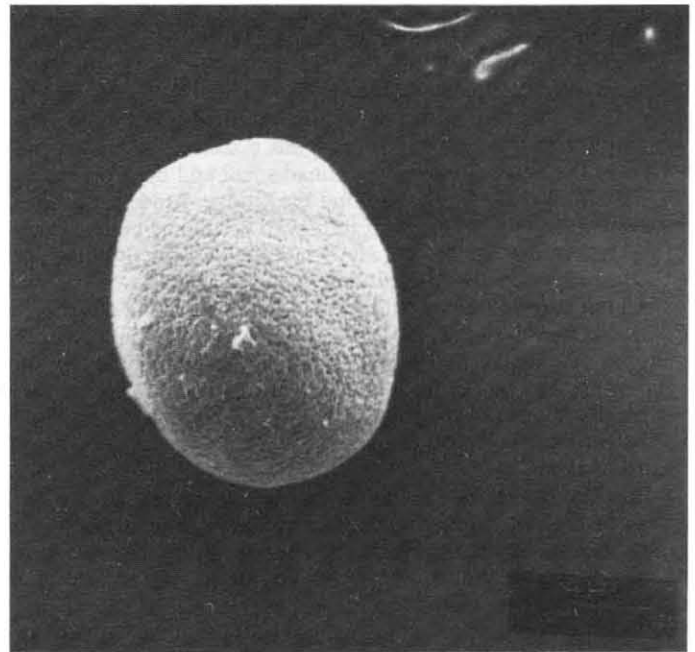
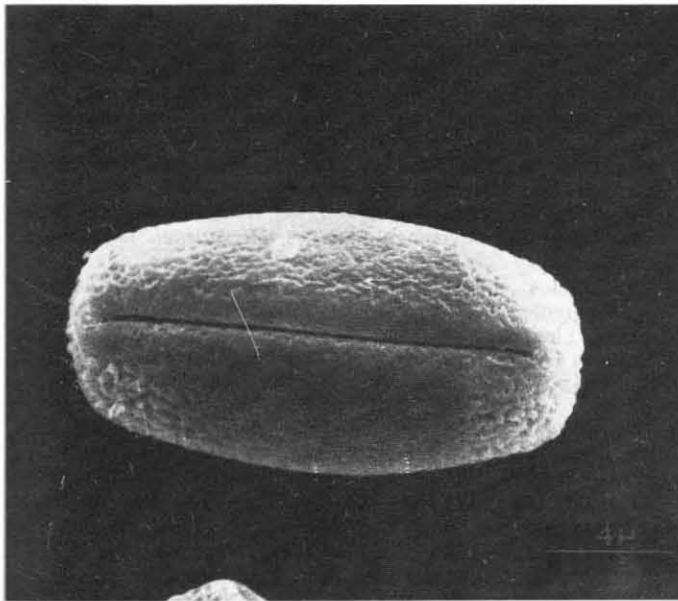


Fig. 1 - Scanning electron photomicrographs of grape pollen  
 A. «Isabella» showing 1 medium furrow in equatorial view (2500 X)  
 B. «Gamay» showing narrow furrow in equatorial view (2500 X)  
 C. «GW-7» - acolorate «abnormal» pollen lacking furrows in polar view (2500 X).

axis and equatorial diameter were measured on 10 random pollen grains for each sample, and P/E ratios were calculated (5).

## Results and Discussion

The pollen of cultivars investigated exhibited diversity in shape, size, P/E ratio, and exine characteristics. The majority of the pollen grains of any individual cultivar conformed to a typical shape; however, a few abnormal types were observed.

The morphological features important to the description of grape pollen are: 1) shape; 2) furrow (colpa); 3) sculpturing of the exine; 4) size and 5) P/E ratio.

Shape is an important parameter by which *Vitis* cultivars can be distinguished. In order to express the shape, two measurements, polar axis (P) and equatorial diameter (E) were made (1, 2, 5). The equatorial diameter was measured at the maximum breadth. The size and shape of the pollen grains were quite uniform for a given cultivar but atypical pollen grains were also found. The percentage of such atypical pollen in the majority of cultivars rang-

ed from 5 to 10 percent. The cultivars in this study were divided into 3 groups based on shape and P/E ratios.

Group I - The pollen grains are broadly elliptical and isopolar in shape but flattened at the polar ends. The P/E ratio of this group ranged from 1.92 to 2.2. A typical example is Isabella (Fig. 1-A).

Group II - The pollen is bilateral heteropolar and asymmetric at the poles as well as at the horizontal planes. The P/E ratio ranged from 1.78 to 1.90 (2, 5). A typical example is Gamay (Fig. 1-B).

Group III - The cultivars have abnormal pollen that lack furrows and are spheroidal. Pollen of some cultivars in this group are collapsed. The examples are GW7 and Caus (Fig. 1-C).

The pollen of the majority of grape cultivars studied was characteristically tricolporate (having 3 furrows). There were two cultivars which were acolorate (having no furrows). These were classified as «abnormal» types (Table 1). The pollen in polar view appeared subspherical but trilobate due to the presence of 3 furrows on their surface. In equatorial view, only 1 and occasionally 2 furrows could be seen. In the «abnormal» types, furrows were absent (Fig. 1-C). Similar pollen abnormalities have been record-

ed in certain Italian varieties (7, 8).

The outer sculptured layer of pollen wall called exine has patterns which can be used for pollen classification along with other characteristics. Typical grape pollen exine has an uneven anastomosed surface with unevenly distributed pores. The exine of majority of the cultivars studied has a distinct reticulate pattern near the poles. Some cultivars had small and deep pores near the poles with shallow pores around the groove. Inside the groove, the exine changes to a smooth texture with occasional bumps. None of the cultivars in the present study had the indistinct orange peel structure reported by Ahmedullah et al. (1).

All the grape cultivars studied could be included in Erdtman's (5) size classes minutae (10-25  $\mu$ m or mediae 25-35  $\mu$ m). No perminutae of magna pollen were found. The polar axis (P) and equatorial diameter (E) for a cultivar varied within a range among the population of pollen grains. The P/E ratio was constant along with other morphological characters and can be useful for cultivar identification.

In pollen studies care should be exercised to select mature pollen grains of a given cultivar. Polyploid cultivars have larger pollen grains than the diploid cultivars. It is important to observe a large number of pollen grains before deciding on a shape and/or size typical for a given cultivar.

Pollen shape, exine sculpturing, size and frequency of perforation of exine are valuable for taxonomic purposes. There is an ongoing search for additional parameters to identify and classify grape cultivars. Study of grape pollen using scanning and light microscopy is a valuable tool for the grape breeder. This work should be extended to other vinifera cultivars, to American and French hybrids and to other *Vitis* species to fully exploit the value of grape pollen for ampelographic purposes.

## REFERENCES

1. Ahmedullah M., L. Hayrynen and W.H. Wolfe (1982) - *Morphology and surface topography of grape pollen (Vitis vinifera) using scanning electron microscopy*. Proceedings of International Symposium. Grape and Wine. University of California, Davis. p. 63-68.
2. Ahmedullah M. (1983) - *Pollen Morphology of Selected Vitis Cultivars*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 108: 155-160.
3. Amjad S., L.S. Satyanarayana and B. Raj. (1969) - *Studies in the pollen morphology and physiology of sixty grape varieties*. J. Palynology 5:30-36.
4. Challice, J.A. and M.N. Westwood. (1975) - *Numerical taxonomic studies of the genus Pyrus using both chemical and botanical characters*. Bot. J. Linn. Soc. 67: 121-48.
5. Erdtman G. (1959) - *Handbook of Palynology (an introduction to the study of pollen grains and spores)*. Hafner Publishing Co., New York. p. 486.
6. Galet P. (1979) - *A practical ampelography: grapevine identification*. Translated by Lucie T. Morton. London. Cornell Univ. Press, Ithaca, N.Y.
7. Lombardo G., G. Gargnello, L. Carraoa and Maria Bassi. (1976) - *Ultrastructure of pollen of Vitis vinifera L. cv. «Picolit giallo» and its behavior in experiments of self and cross-pollination*. Vitis 15:73-81.
8. Lombardo G., C. Gargnello, M. Bassi, F.M. Gerola and L. Carraoa. (1978) - *Pollen ultra structure in different vine cultivars with low productivity*. Vitis 17: 221-228.
9. Milloinig G. (1976) - *Staining solutions*. p. 52-58. In: Mario Saviols (ed.). Laboratory Manual for biological electron microscopy. Vercelli, C.P. 182. Italy.
10. Randhawa G.S. and S.S. Negi (1965) - *Studies on flowering and pollination of grapes*. Indian J. Hort. 22:287-308.
11. Wolfe W.H. (1976) - *Identification of some grape varieties by isozyme banding patterns*. Amer. J. Enol. & Vitic. 27:68-73.

## SUMMARY

### POLLEN MORPHOLOGY OF VITIS CULTIVARS USING SCANNING ELECTRON MICROSCOPY AND THE SIGNIFICANCE OF POLLEN CLASSIFICATION IN GRAPE IMPROVEMENT PROGRAMME

*Pollen grains of several Vitis vinifera and V. labrusca cultivars were studied using scanning electron and light microscopy. Cultivars differed in pollen shape and size, groove and exine characteristics.*

*Atypical pollen grains in several cultivars were noted and photographed. These had no colpi. The exact causes and significance of these abnormalities are not known. The cultivars studied were divided into 5 shape groups differing in pollen shape and the ratio of polar axis and maximum breadth (P/E ratios). Pollen shape and P/E ratios were better parameters in grape ampelography than patterns and furrow characteristics. The significance of these findings in grape improvement program are discussed.*

## AMPELOGRAPHIC STUDIES TO CHARACTERIZE GRAPEVINE VARIETIES

### G. ALLEWELDT - E. DETTWEILER

Federal Research Centre for Grapevine Breeding Geilweilerhof - Siebeldingen and University Hohenheim - Stuttgart-Hohenheim (Fed. Rep. of Germany)

To identify and distinguish grapevine varieties, the International Union for the Protection of New Varieties of Plants. UPOV (1), uses altogether 36 out of 78 characteristics. In cooperation with UPOV and the International Board for Plant Genetic Resources, IBPGR (2), the Office International de la Vigne et du Vin, OIV, published a table of characteristics (3), comprising 129 single characteristics. From this, on the occasion of a meeting of IBPGR in Thessaloniki (4), 21 characteristics have been selected as so-called «Minimal List for Characterization» for the establishment of germ-

plasm collections. On the other hand the OIV Group of Experts «Grape Breeding» decided on December 3rd, 1984 to use 8 of these 21 characteristics for evaluating grapevine varieties.

These comments may demonstrate the still existing open points in describing the genotypes of the species *Vitis* and cultivars. But the distinctness with which genotypes can be identified is an important pre-requisite for the establishment of germplasm collections. Therefore, it seemed imperative to use the discriminant analysis for distinguishing grapevine varieties. A first constructed test was conducted as follows.

From mature leaves of medium insertion, 82 characteristics of 14 grapevine varieties (Table 1) from the grapevine collection of Ecole Nationale Supérieure Viticole Montpellier have been evaluated and subjected to step-by-step discriminant analysis (Dixen et al. 1981). 8 further parameters without variance (= qualitative features) could not be taken into consideration within this test. As a control, the characteristics of one plant each of the varieties D and F had been added as «new» varieties O and P to the 14 before mentioned varieties, to see if they could be adjoined to the original varieties. For limitation, only the 10 most important characteristics with a F-to-enter value of more than 4.0 had been entered.

Tab. 1

BFAR AL	Grapevine varieties used for the test	1985
Symbol	Variety	
A	Alicante Bouschet N.	
B	Aligoté B	
C	Aramon noir N	
D	Auxerrois blanc B	
E	Black Alicante N	
F	Cabernet franc N	
G	Cabernet Sauvignon N	
H	Carignan noir N	
I	Chardonnay B	
J	Chasselas doré Rs	
K	Chasselas Michael Tompa B	
L	Chasselas rouge Rg	
M	Chenin blanc B	
N	Cinsault N	

Some of the characteristics observed on leaves base upon the OIV Table of Characteristics for Grapevines (3), but far more had been adopted additionally (\*). The latter were prevalingly assessed on dried leaves. It was the aim of this proceeding to investigate if the OIV Table of Characteristics requires a completion for the distinctness of grapevine varieties.

**Results**

After calculating the mean values of the variables for all varieties (14 + 2) the standard deviation had been determined which showed to be 0 for the «varieties» 0 and P, as expected. The coefficients of variability of all features and varieties and the stepwise selection of variables according to their F-values had been determined in further calculation steps. This operation was concluded after having received the 10 best features for distinctness (Table 2, Fig. 1). According to the importance of the F-values features nos. 45, 46 and 47 were assessing features and nos. 60, 35, 10, 83, 28, 44 and 80 were measured. It has to be stated that only 4 out of 10 characters which are important for distinctness of

(\*) The valuable cooperation of Dr. Rühl and Dipl. - Ing. agr. Fredrichs is gratefully acknowledged.

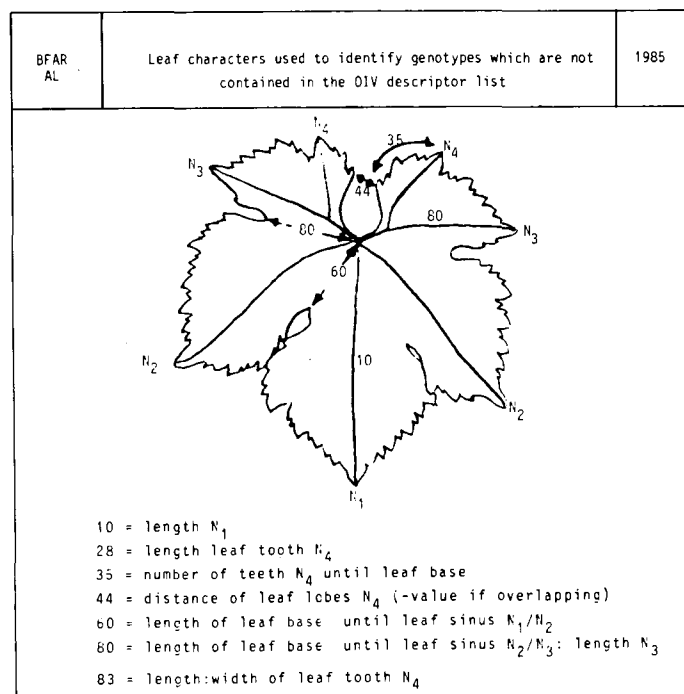


Fig. 1

grapevine varieties are listed in the OIV Table of Characteristics.

This constructed test considers only data collected within 1 year and 1 location thus not taking into account the environmental variance. It is, however, of great interest to see that features with an inferior range of variation seem suitable for varietal distinctness.

A further noteworthy observation is the fact that only 2 values of relation i.e. characteristics no. 80 and 83 have been found of importance for distinctness of grapevine varieties via discriminant analysis. Concerning the height of the F-values it should be taken into consideration that the characteristics nos. 45, 46 and 47 were assessed which means they show a lower variability than those characteristics which were measured.

Basing upon the 10 characteristics chosen by the computer, a classification of function was conducted and the single values of the variables (= characteristics) were adjoined to each variety. The percentage of correct coordination is shown in Table 3.

Only for the variety J one single value was adjoined to variety L which means that one out of 10 plants of the variety Chasselas doré has been adjoined to Chasselas rouge. It cannot be excluded

Tab. 2

BFAR	The variability of 10 out of 82 characteristics and their F-values which were used for distinctness of grapevine varieties			1985
45	prostrate hairs between the veins	084	1.0- 4.0	157.05
46	erect hairs between the veins	085	1.0- 4.2	31.72
47	erect hairs on main veins	087	1.0- 4.6	55.55
10	length of leaf: N <sub>1</sub>	066	11.2-16.2	9.50
60	length until leaf sinus N <sub>1</sub> /N <sub>2</sub>	—	3.4-10.2	10.78
80	length until leaf sinus N <sub>2</sub> /N <sub>3</sub> : length N <sub>3</sub>	—	0.5- 0.9	7.83
44	distance of petiole sinus lobes (±)	—	-4.3- +1.3	8.32
35	number of teeth: N <sub>4</sub> until petiole	—	2.7- 7.6	10.05
28	length of teeth: N <sub>4</sub>	—	6.3-12.5	8.36
83	length of teeth N <sub>4</sub> : width of teeth N <sub>4</sub>	—	0.6- 1.1	8.97

Characteristics nos. 44, 46 and 47 were assessed, the other measured; data for nos. 10, 60, 44 in cm, no. 28 in mm

that by using further characteristics a clear assignment of this replication to the variety J or L could have been achieved. Furthermore it can be seen from Table 3 that the «varieties» O and P were adjoined correctly to the varieties D and F. This demonstrates exemplarily the suitability of discriminance analysis for adjoining unknown varieties to the appertaining genotype.

In a final operation the canonical variables of the 10 characteristics and of the 14 + 2 varieties were calculated; the result is demonstrated in Fig. 2.

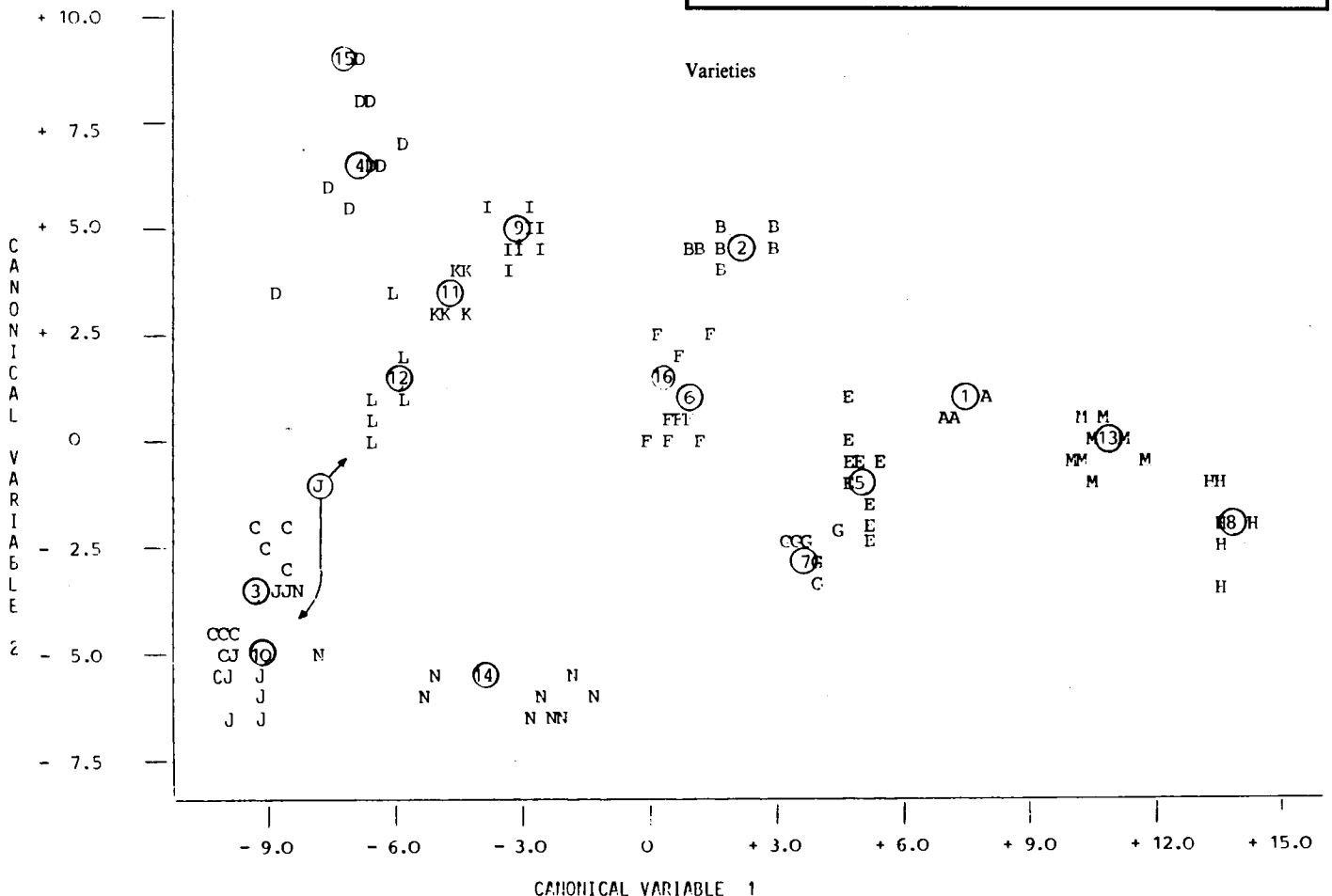
**Final conclusions**

By using the discriminance analysis for distinctness of grapevine varieties in this constructed experiment out of a group of 82 variables those characteristics which are especially suitable for distinctness could be successfully proved. It was furthermore possible by using «artificial» varieties O and P to assign them with only 10 characteristics to the proper varieties D and F. The discriminance analysis can thus contribute to the proof of identity of unknown varieties.

Meanwhile this test has been extended: It was carried out with 34 varieties. Using 10 characteristics only, 95.2% of all data were adjoined properly. This percentage could even be increased up to 99% when using 20 characteristics (Fig. 3). In this connection it is of interest that 9 out of 20 characteristics — chosen by the computer — have been already selected within the first constructed test. No consideration was paid to the characteristic no. 44 (= ± distance of basal lobes). In addition, all plants of the varieties Chasselas doré and Chasselas rouge (J, L) could now be separated

**Tab. 3**

BFAR AL	Classification matrix: Percentage of single values adjoined to the varieties A-N and O,P													1985	
	Varieties														
correctly adjoined values (%)	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	
A	100	6													
B	100		9												
C	100			9											
D	100				9										
E	100					10									
F	100						9								
G	100							10							
H	100								8						
I	100									10					
J	90										9		1		
K	100											6			
L	100												8		
M	100													10	
N	100														10
O	0								1						
P	0										1				
single values (n)		6	9	9	10	10	10	10	8	10	9	6	9	10	10



**Fig. 2 - The placement of all grapevine varieties depending on the canonical variables of characteristics and varieties. 1 plant of variety 10 (= J, Chasselas doré) has been adjoined to variety 12 (= L, Chasselas rouge).**



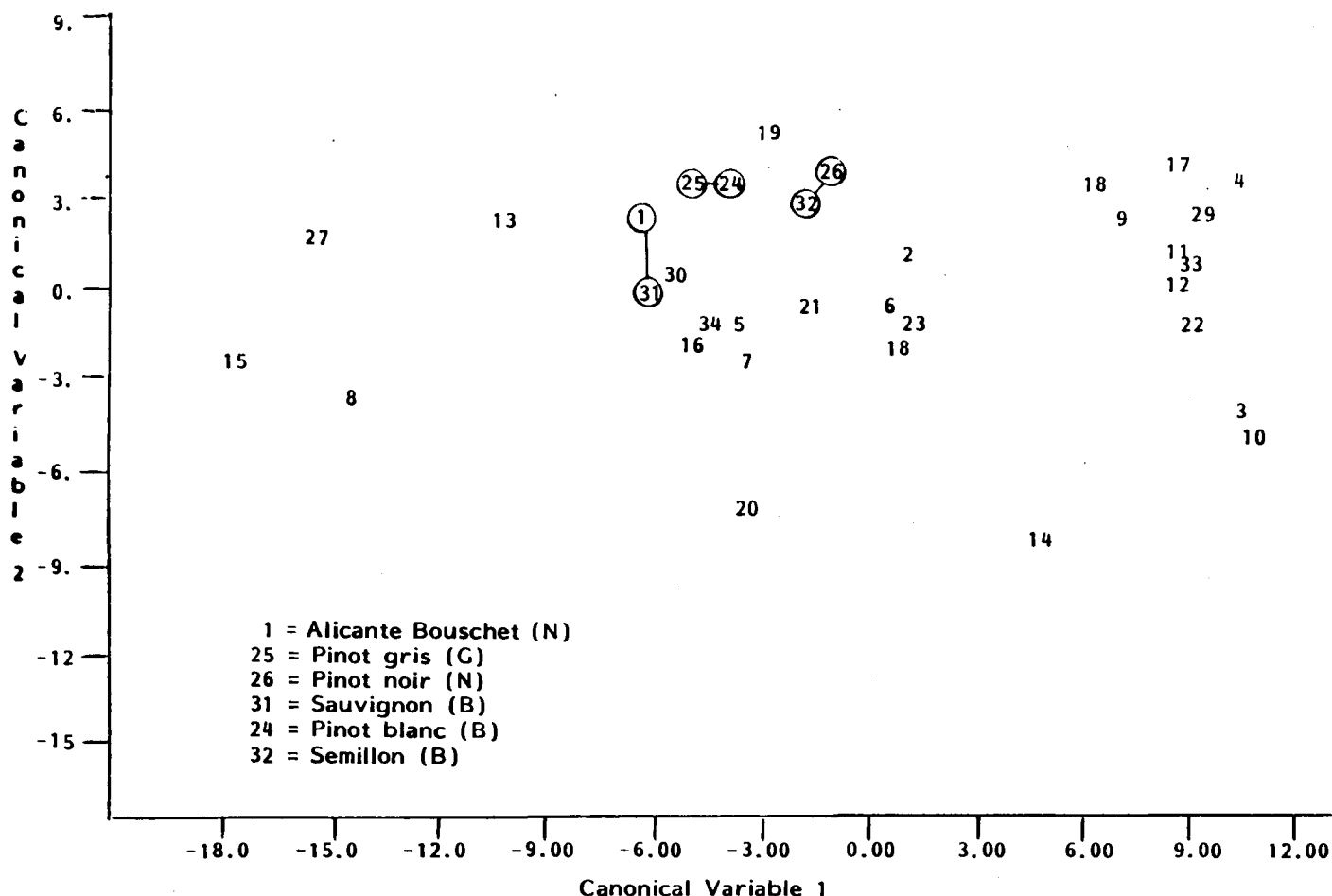


Fig. 3 - The placement of 34 varieties, separated by 20 characters.

1 out of 10 plants of the varieties Alicante Bouschet, Pinot gris and Pinot noir was assigned to Sauvignon, Pinot blanc and Semillon, resp.

properly. On the other hand, however, the computer assigned one plant each of the varieties Alicante Bouschet, Pinot gris and Pinot noir to the varieties Sauvignon, Pinot blanc and Semillon, respectively. To overcome this problem, the three qualitative features, such as berry shape (OIV code-no. 223), berry colour (OIV code-no. 225) and number of leaf lobes (OIV code-no. 068), which were excluded from the program, were now used. Three other characteristics (length  $N_2$ : length of teeth  $N_1$ , length  $N_3$ : length of teeth  $N_2$  and length of leaf sinus  $N_1/N_2$ : length of teeth  $N_2$ ) were discarded. With these 20 features a correct classification of all single values could be achieved.

The constructed model with the selection of 10 and 20 characteristics respectively with the highest F-values cannot be claimed to be generally acceptable. The procedure still needs the ascertainment of environmental variance. Furthermore, within this constructed test measured values have been used whereas generally assessed values occur in practical operation. Moreover, it has to be supplemented that qualitative characteristics, such as col-

our of berry, which cannot be used for discriminance analysis, have to be changed into quantitative features before being used for identifying grapevine varieties.

A further task is to find the minimal number of characteristics which is imperative for identification of genotypes of the species *Vitis*. By using the discriminance analysis it seems possible to find a suitable solution.

#### LITERATURE CITED

- 1) Anonymous. (1977) - *Guidelines for the conduct of tests for distinctness, homogeneity and stability: Vine (Vitis sp.)* UPOV TG/50/3, 17.11.1977.
- 2) Anonymous. (1983) - *Grape descriptors*. IBPGR Rome 83/154.
- 3) Anonymous. (1984) - *Descriptor list for grapevine varieties and Vitis species*. Office Internat. Vigne et Vin, Paris 1/265.04.16.
- 4) Anonymous. (1982) - *Working group on Vitis genetic resources Thessaloniki, Greece, 29.4.-1.5.1982*. IBPGR/83/52.
- 5) Dixen W.J. et al. (1981) - *BMDP Statistical Software*, Univ. of California Press, Berkeley.

#### SUMMARY

##### AMPELOGRAPHIC STUDIES TO CHARACTERIZE GRAPEVINE VARIETIES

82 parameters (= quantitative characteristics) of 6 to 10 plants have been recorded each for 14 grapevine varieties and were evaluated by discriminance analysis. The computer's task was to distinguish grapevine based on the 10 most important descriptors characterized by the highest F values.

13 out of 14 varieties were classified correctly (100%). Only for one variety the values of 1 plant out of 10 were added to another variety. Single data of two randomly selected varieties which were entered as «new» varieties into the discriminance analysis were identified by the computer as original varieties.

This constructed experiment shows the possibility of identification of grapevine varieties by means of the 10 most important quantitative descriptors. Further experiments, however, are necessary to calculate environmental variability of the most interesting descriptors until further recommendations to the hitherto existing «minimal lists» for distinctness of grapevine varieties, which have been elaborated by UPOV, IBPGR and OIV, can be given.

# CONSERVATION, CARACTERISATION ET EVALUATION DU GERMLASM DE VIGNE AU BRESIL

U. ALMEIDA CAMARGO (1) - M. FALCAO DIAS (2)

(1) Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho - Bento Gonçalves - Embrapa (Brasil)

(2) Instituto de Pesquisas Agronômicas da Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul - Ipagro - Bento Gonçalves (Brasil)

## Introduction

Le Brésil présente une variation climatique accentuée parmi ses régions, un climat tempéré et subtropical dans le Sud, un climat tropical humide dans le Nord et un climat tropical semi-aride dans le Nord-Est. Quoique la viticulture brésilienne soit concentrée dans le Sud du pays surtout dans les États du Rio Grande do Sul, Sao Paulo et Santa Catarina, avec 62,47%, 23,75% et 9,19% de la production nationale de raisin (605.456t — moyenne 78/80), respectivement (Annuaire Statistique du Brésil, 1982), la culture de la vigne se montre viable dans plusieurs régions. Ayant pour objectif d'amplifier les frontières viticoles du pays, l'Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária » EMBRAPA, avec le Programme National de Recherche de vitiviniculture développe, entre autres, des projets qui ont pour objectif la définition de nouvelles aires avec des conditions pour la culture de la vigne et aussi des programmes d'amélioration génétique en envisageant l'obtention de variétés qui répondent le mieux aux caractéristiques de plusieurs régions.

Pour soutenir le Programme National de Recherche de Vitiviniculture, on a dû utiliser des moyens génétiques capables de:

- a) préserver la variabilité génétique de la vigne;
- b) favoriser la caractérisation et l'évaluation du germplasm de vigne;
- c) servir de banque de gènes pour l'amélioration génétique de la vigne et d'autres recherches dans le secteur vitivinicole;
- d) éviter la manutention de diverses et onéreuses collections ampélographiques dans les différentes régions du pays.

Ayant en vue les aspects considérés, en 1976, l'EMBRAPA a créé la Banque Active de Germplasm de Vigne (BAG-UVA) sous la coordination du Centre National de Ressources Génétiques (CENARGEN) de l'EMBRAPA.

Le Centre National de Recherches de la Vigne et du Vin, ayant son siège à Bento Gonçalves, État du Rio Grande do Sul, et s'occupant exclusivement de la recherche vitivinicole, a été désigné comme siège de la Banque Active de Germplasm de Vigne, et on lui a attribué la formation du BAG et la conservation, la caractérisation, l'évaluation et la documentation du Germplasm.

## Formation du BAG-UVA

On a employé deux sources de germplasm:

a) des collections existantes dans le pays — après avoir fait l'inventaire de ces collections on a procédé à l'incorporation au BAG-UVA de tout le germplasm disponible. La plus grande partie de ces collections était constituée de matériels importés il y a plusieurs dizaines d'années et il y avait très peu d'informations concernant sa provenance, son comportement général et son ampélographie. Alors, il a été décidé de faire l'évaluation préalable du germplasm en le cultivant temporairement en pépinière.

L'étude ampélographique, effectuée avec la collaboration du Prof. Galet (1980-1982), a constaté l'existence de diverses synonymy-

mes et de faux noms, ce qui, allié à une évaluation de l'incidence des maladies causées par des champignons et des virus, a permis l'élimination de variétés malades et en double et, encore, le groupement du matériel au comportement semblable pour l'implantation définitive des collections dans les champs.

b) Des collections provenant de l'étranger — l'introduction de germplasm de l'étranger proportionne l'augmentation de la variabilité génétique de la vigne au BAG-UVA. On a introduit, de diverses provenances, des collections de variétés de *Vitis vinifera*, de *Vitis Labrusca*, de *Vitis rotundifolia*, des hybrides interspécifiques, des porte-greffes et aussi quelques espèces sauvages d'intérêt pour la recherche.

## Conservation du germplasm

La principale méthode employée pour la conservation du germplasm, est la manutention de collections vivantes dans les champs. Dans les collections, cinq plantes sont maintenues par accès dans l'aire du Centre National de Recherche de la Vigne et du Vin, qui occupent environ 1,5 hectares, à 29°15' Sud, 51°31' Ouest et à une altitude d'environ 670m. Selon Moreno (1961), le climat se situe en Cfb dans la classification de Koeppen.

Pour obtenir le comportement relatif du germplasm, les collections ont été établies, en employant le porte-greffe 101-14, le système de conduite en espalier haut avec quatre fils de fer, taille guyot double et espacement de 2,5m entre les rangs pour 1,5m entre les plantes.

Le sol est enherbé entre les rangs et dénudé au rang. Les traitements phytosanitaires pour le contrôle des maladies cryptogamiques sont réalisés avec l'assiduité exigée par les conditions climatiques de chaque année.

Étant donné que certains génotypes présentent des difficultés de conservation aux champs dues à des problèmes d'adaptation ou de hautes susceptibilités aux maladies cryptogamiques et au risque d'infection par viroses du matériel végétatif sain, on a commencé la conservation du germplasm in vitro. En employant le moyen de culture de Galzy (1964), température de 23°C, intensité lumineuse de 2.500 lux et photopériode de 12 heures, selon Dal Conte & Haas (1985), on a obtenu des résultats satisfaisants qui ont atteint même 23 mois de conservation sans besoin de repiquage pour la variété Syrah (Haas, 1983). Toutefois, d'une façon générale, la période de conservation sans repiquage se réalise entre six et douze mois, selon la variété.

Évidemment, si on pense à la conservation de tout le germplasm in vitro, il serait souhaitable d'augmenter la période de manutention du matériel sans besoin de repiquage.

## Considérations sur la caractérisation et l'évaluation

La caractérisation et l'évaluation du germplasm sont effectuées selon le Manuel des Descripteurs, élaboré ayant pour base les propositions de l'Office International de la Vigne et du Vin - OIV, de l'Union pour la Protection des Obtentions Végétales - UPOV et de l'International Board for Plant Genetic Resources - IBPGR (1983). On a adopté les éléments essentiels pour la caractérisation morphologique et la différenciation ampélographique et les caractères les plus importants du point de vue cultural, capables de fournir une aide pour l'amélioration génétique. Cela fait un total de 106 descripteurs qui renferment les données d'identification, d'ampélographie, de phénologie, d'incidence de maladies et de parasites, de production et de qualités du raisin.

Les diverses alternatives de chaque descripteur ont été définies en essayant d'imprimer le maximum de pratiques et de précisions dans la méthodologie, afin de faciliter la collecte de données et de rendre possible la réalisation du travail par différents opérateurs sans que cela implique des différences significatives dans les résultats.

Page 61 is missing

**Tab. 2 - Rapport de caractérisation et d'évaluation du germplasm de vigne**

Caracterizacao e avaliacao de uva																			
Centro nacional de pesquisa de uva e vinho - Bento Goncalves - RS:																			
Cod. produto: 09407 - Uva												Data de emissao: 27-03-85							
Cod. unidade: 00305085												Data de avaliacao: 22-12-84							
Tabela I Ramo Jovem (extremidade) e ramo (porté, cor)																			
Codigo do acesso	Cod. da especie	Ir delominacao de acesso				Ramo Jovem				Ramo									
		Forma	Distr	Int	Ppros	Peret	Porte	Cordo	Corve	Cordo	Corve	etnos	etnos	nos	nos				
Bra-0004553	00009743	00	Trebbiano	Abert	Bords	Media	Mdens	Ausen	Seret	Vdevm	Verde	Vmint	Vmcla						
Tabela II Ramo (Indumento a cor das gemas) / Folha jovem e folha adulta (Tamanho, forma, lobos)																			
Codigo do acesso	Ramo					Gavinhas		Folha Jovem				Folha adulta							
	Peret nos	Peret etnos	Ppros nos	Ppros etnos	Antoc gemas	Distr	Compr	Corsu	Int antoc	Ppros eneri	Peret eneri	Ppros sneri	Peret sneri	Taman	Compr nerme	Forma	Numer lobos		
Bra-0004553	Ausen	Ausen	Espar	Espar	Media	Dcont	Longo	Amare	Ausen	Densa	Espar	Media	Ausen	Medio	Medio	Orbic	Penta		
Tabela III Folha adulta (Cor, superficie, dentes, seio peciolar, seios superiores, indumento da face inferior)																			
Codigo do acesso	Folha adulta																		
	Corsu limbo	Antoc nersu	Antoc nerin	Gofra	Ondul enerp	Perfl	Bolho	Forma dents	Compr dents	Dents h/b	Froma speci	Base speci	Partic speci	Forma slsup	Base slsup	Ppros eneri	Peret eneri	Ppros sneri	Peret sneri
Bra-0004553	Vdcla	Ausen	Ausen	Pecio	Ausen	Plana	Media	Retil	Medio	Medio	Fech	Retil	Nenma	Fecls	Retil	Media	Espar	Media	Ausen
Tabela IV Folha adulta (indumento da face superior, peciolo) / sarmento / inflorescencia e cacho																			
Codigo do acesso	Folha adulta						Sarmiento				Inflorescencia			Cacho					
	Ppros sners	Peret sners	Ppros pecio	Peret pecio	Compr pe/nm	Compr pe/nm	Secca trans	Super ficie	Cor	Lenti celas	Peret nos	Peret etnos	Compr etnos	Flor	Inser primr	Numer /ramo	Compr proxi	Numer /ramo	Compr
Bra-0004553	Ausen	Espar	Ausen	Medio	Menor	Elipt	Lisa	Marro	Ausen	Ausen	Ausen	Longo	Herma	3-4No	1,1-2	Longo	1,1-2	Longo	
Tabela V Cacho e baga																			
Codigo do acesso	Cacho						Baga												
	Forma	Compa cidad	Compr pedun	Ligni pedum	Taman	Unifo taman	Forma	Secca trans	Cor pelic	Uncor pelic	Druin	Ponto pisti	Cor polpa	Consi polpa	Flavo	Compe pedic	Separ pedic	Semen	Peso semen
Bra-0004553	Cilin	Compa	Curto	Parci	Peqno	Nunif	Esfer	Circ	Branc	Nunif	Visiv	Ncolo	Funde	Neutr	Medio	Defic	Prese	Pegno	
Tabela VI Fenologia / Incidencia de doencas e pragas / Producao / Porta-enxerto																			
Codigo do acesso	Fenologia						Doencas fungicas				Filox	Producao				Penx			
	Brota	Flora	Inici matur	Matur comer	Matur sarme	Queda folha	Antra campo	Mildi campo	Oidio campo	Podri campo	Galic	Peso cacho	Peso baga	Produ tivid	Acuca mosto	Acide mosto	Produ estac		
Bra-0004553	Mtard	Tardi	Tardi	Tardi	Tardi	Media	Ataqm	Ataqf	Ataqm	Ataqf	Prese	Medio	Baixo	Alto	Medio	Medio			

Ainsi, immédiatement après l'entrée du germplasm dans le pays on fait l'enregistrement, où chaque accès reçoit une codification précédée du sigle BRA. Ensuite, on remplit une fiche de classification où sont notés le code d'accès, la dénomination, le synonyme, l'origine, la provenance, la quantité de matériel disponible et la généalogie (Tableau 1). Le CENARAGEN a élaboré un programme pour l'ordinateur, qui se perfectionne, pour la formation des archives et pour l'emmagasinage, en disquettes, des données de caractérisation et d'évaluation. Pour l'entrée des données et la formation des archives on utilise la codification employée aux annotations de champs ou de laboratoires, selon le Manuel des Descripteurs. Les rapports comprennent 6 tableaux; on emploie les abrégés

qui rendent possible la compréhension sans avoir besoin de consulter le Manuel (Tableau 2).

Le Centre National de Recherche de la vigne et du vin a également créé comme partie de la documentation du germplasm de vigne, l'herbier de vitacear, à sont conservées les vignes séchées provenant de tout le germplasm introduit dans le BAG-UVA.

#### BIBLIOGRAPHIE

- Anuário Estatístico Do Brasil. (1982) - Rio de Janeiro, 43:361.  
 Dal Conte A.F. & Haas J.C. (1985) - *A obtenção de plantas de videira livres de vírus pela termoterapia e a multiplicação de matrizes com sani-*

*dade comprovada*. Bento Gonçalves, EMBRAPA-UEPAE de Bento Gonçalves. (Pesquisa em Andamento, 14).

Galet P. (1956) - *Cépages et vignobles de France*. Montpellier, Paul Déhan, v. 1.

Galet P. (1971) - *Précis d'ampélographie*. 3 ed. Montpellier, Paul Déhan, p. 266.

Galet P. (1980) - *La culture de la vigne au Brésil; rapport de mission*. La France Viticole, Montpellier, 12(5):101-13.

Galet P. (1982) - *Rapport de mission*. s.l., s.ed., p. 14.

Galzy R. (1964) - *Technique de thermothérapie des viroses de la vigne*. Ann.

Épiphyties, 15 (3):245-56.

Haas J.C. (1983) - *Conservação de germplasma de videira in vitro*. In: Reuniao sobre programa nacional de biotecnologia e engenharia genética, 1. Sao Paulo, 20 abr. Resumo.

International Board for Plant Genetic Resources. (1983) - *Descriptors for grape*. Rome, p. 93.

Moreno J.A. (1961) - *Clima do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre, Secretaria da Agricultura, p. 42.

Ravaz L. (1902) - *Porte-greffes et producteurs-directs*. Montpellier, Coulet et Fils, p. 376.

## RESUME

### CONSERVATION, CARACTERISATION ET EVALUATION DU GERMLASM DE VIGNE AU BRÉSIL

*Le Brésil a une considérable variation du point de vue du climat dans ses régions; des climats tempérés et sous-tropicaux au Sud jusqu'au climat tropical humide ou tropical semi-aride au Nord et Nord-Est. Cependant, la vigne montre une bonne probabilité d'être cultivée avec succès dans une grande partie du territoire national.*

*Dans le but d'avoir égard à l'expectative présente et future de la vitiviniculture brésilienne, l'EMBRAPA (Entreprise Brésilienne de recherche Agricole) a créé le «Banc Actif de Germplasm de la Vigne (BAG-UVA)», lequel a été installé à Bento Gonçalves, État du Rio Grande do Sul, principale région vitivinicole du pays. Au BAG-UVA sont conservées des collections de cultivars issues de V. vinifera et d'autres espèces cultivées et, aussi d'hybrides producteurs interespecifics, porte-greffes et espèces sauvages de vignes intéressantes pour la recherche. La caractérisation et l'évaluation du germplasm est faite selon un manuel de description pour la vigne, fondé sur les travaux de l'Union International pour la Protection des Obtentions Végétales — OPOV, de l'Office International de la Vigne et du Vin — OIV et du Conseil International des Ressources Phytogénétiques — CIRP, avec l'inclusion ou la suppression de quelques éléments en tenant compte le plus possible de l'objectivité. 106 caractères ont été adoptés, inclus caractérisation ampélographique, phénologie, maladies à champignon et aspects liés à la production. L'informatique, grâce micro-ordinateur, est utilisée pour l'enregistrement du germplasm et pour conserver les données de caractérisation et évaluation, lesquelles peuvent être tout de suite utilisées.*

*Une fois caractérisé et évalué, le germplasm qui n'est pas objet d'utilisation immédiate pourra être conservé «in vitro», de façon que les coûts de conservation soient diminués et l'assurance sanitaire du matériel augmentée. Cette technique est objet d'études.*

## ESSAI D'AMPELOGRAPHIE GENETIQUE APPLIQUE AU SAUVIGNON AUTOFECONDE

**J. BISSON**

Station d'Expérimentation Viticole I.N.R.A.  
Cosne sur Loire (France)

### Introduction

Les Congrès réunis par l'Office international du vin à Lausanne en 1935 et à Lisbonne en 1938 recommandaient vivement la reprise et l'extension des études ampélographiques sur des bases scientifiques.

Notamment sous l'influence de Branas en France et de Dalmaso en Italie, l'ampélographie reprit son essor mais surtout dans les domaines de l'inventaire et de la description des cépages qui firent des progrès sensibles dès les dernières hostilités mondiales terminées. Par contre, les études génétiques générales après autofécondation n'avançaient guère, limitées comme elles étaient par les difficultés rencontrées par les chercheurs et qui n'étaient pas nouvelles. (Plusieurs auteurs internationaux cités par Levadoux 1950).

En effet, et bien que variables avec les cultivars, le lieu, le temps de l'année d'obtention et, par la suite, la conjoncture d'élevage des plants, les résultats demeuraient aléatoires et hors de proportion avec les moyens mis en oeuvre. D'autre part, la forte consanguinité révélée, l'hétérozygotie étendue induite après autofécondation, même chez les cépages prétendus homozygotes, les anomalies morphologiques, la perturbation des caractères culturels, notamment de la fertilité, n'encourageaient guère les chercheurs et n'incitaient pas à entreprendre des autofécondations successives (Huglin et al. 1969).

Après avoir participé dès 1950 à Bordeaux (I.N.R.A.) aux travaux de Durquety, l'auteur de la communication devait, dix ans plus tard, dans le Centre de la France, autoféconder du Sauvignon blanc dans un but ampélographique.

Ce grand cépage couvre, en France, 8000 Ha partagés également entre le Sud-Ouest et la vallée de la Loire. Il est le plus souvent considéré empiriquement comme appartenant au groupe écologico-géographique aquitain des Carmenets (Levadoux 1948 et 1956). Cependant, l'observation permanente des collections ampélographiques puis celle «in situ» de l'encépagement du centre de la France amène à considérer cette affirmation comme douteuse.

L'étude des descendance du Sauvignon autofécondé pouvait, par hypothèse, confirmer ou infirmer cette opinion.

### Matériel et Méthodes

L'autofécondation a été réalisée sur le Domaine d'expérimentation viticole I.N.R.A. de Cosne-Cours sur Loire (Nièvre) en 1963. Elle a porté sur 25 inflorescences réparties sur 5 pieds choisis pour leur bon état végétatif et sanitaire visuel dans une parcelle greffée sur Riparia-Berlandieri 161-49 C âgée de huit ans.

Les pépins récoltés et stratifiés ont été semés en serre froide au printemps 1964. Sur un lot de 392 graines obtenues, les 300 mièux conformées ont seules été mises en terre. La germination fournit 65 plantules (21,6 p 100) pour 32,4 p 100 à Bordeaux en 1950 (Durquety, comm. pers.). Finalement, 48 plants apparemment normaux furent repiqués en plein air au printemps 1965 (16 p 100).

En 1968, 20 individus étaient greffés sur un clone de Riparia-Rupestris 3.309 C et inclus, par 3 pieds, l'année suivante dans une expérimentation clonale de Sauvignon. Le greffage devait permettre de perpétuer les nouveaux cultivars, de les soustraire à l'action du phylloxéra, de les faire fructifier plus rapidement et de les comparer aux cépages cultivés dans les mêmes conditions.

Des observations visuelles sur la végétation étaient effectuées

en saison, 10 feuilles adultes de rang 9 à 12 faisaient l'objet de mesures ampélométriques par la méthode éprouvée de Ravaz (1902) reprise et précisée par Galet (1968). Les rapports les plus caractéristiques et les plus aptes à appuyer les conclusions de ce travail sont seuls employés. Il s'agit principalement de N2/N1, N3/N1 et longueur totale/largeur totale de la feuille. La représentation normalisée des longueurs de nervures (N1, N2, N3, etc.) est celle de l'O.I.V. (Code 084).

Bien que la détermination et la description ampélographiques, basées surtout sur des caractères ou des impressions subjectifs aient fait de grands progrès grâce au vocabulaire et aux fiches diffusées par l'O.I.V., la méthode relevant de l'esprit de finesse selon Pascal (Levadoux 1954) n'a jamais été véritablement considérée comme scientifique. C'est pourquoi l'étude est complétée par des données phyllométriques objectives qui rendent de grands services dans les identifications et les classifications ampélographiques en relevant de l'esprit de géométrie, toujours selon Pascal traitant de la connaissance.

La complémentarité des deux méthodes permet de fonder les hypothèses et de garantir les conclusions exprimées.

## Résultats

La fragilité des plantes issues d'autofécondation n'est plus à démontrer. Ainsi sur 60 greffés-soudés mis en place il en subsiste actuellement 31, soit 49 p 100 de perte pour 9 p 100 seulement chez les Sauvignon voisins établis la même année sur le même clone porte greffe. C'est finalement sur quinze individualités que les observations ont pu être effectuées.

Phénotypiquement, les vignes se répartissent ainsi que l'indique le tableau 1.

Tab. 1 - Répartition phénotypique de plants de Sauvignon autofécondé

Phénotype	Sauvignon	Chenin	Meslier	Colombard	Anormal
nombre:	6	3	2	2	2
% :	40,0	20,0	13,3	13,2	13,3

Dans le cas, les plantes issues de Sauvignon autofécondé reproduisent morphologiquement, hors le cépage-mère (40 p 100), des cultivars du Centre de la France (Chenin et Meslier: 33 p 100) et du Centre-Ouest (Colombard: 13 p 100), toutes des variétés à raisin blanc. Aucune ne rappelle les cépages aquitains, noirs pour la plupart.

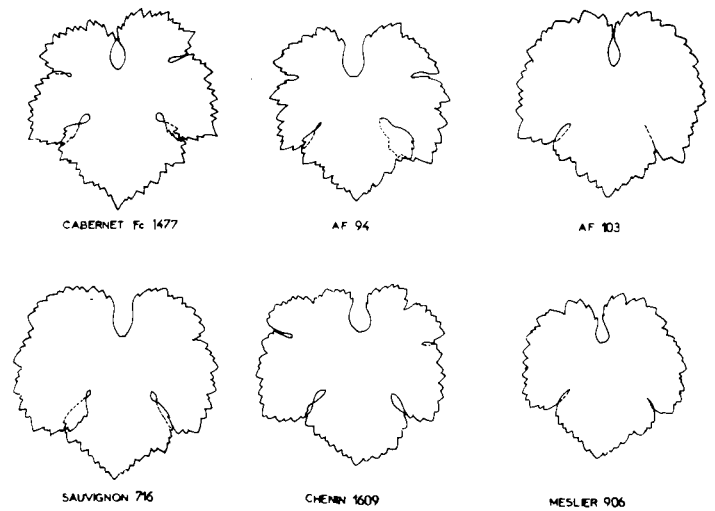
Le tableau 2 représente quelques exemples de feuilles-types des autofécondations obtenues et comparées au Sauvignon et au Cabernet-franc.

Les feuilles des cinq cépages les plus représentatifs des Carmenets du Sud-Ouest (Cabernet franc, Cabernet-Sauvignon, Merlau, Fer Servadou et Verdau) révèlent les rapports moyens suivants: N2/N1 = 0,84, N3/N1 = 0,63, L/1 = 1,03. Par contre, pour cinq cultivars typiques de la vallée de la Loire (Chenin, Arbois, Aunis, Béquignol et Sauvignon) les rapports apparaissent: N2/N1 = 0,89, N3/N1 = 0,67, L/1 = 0,97.

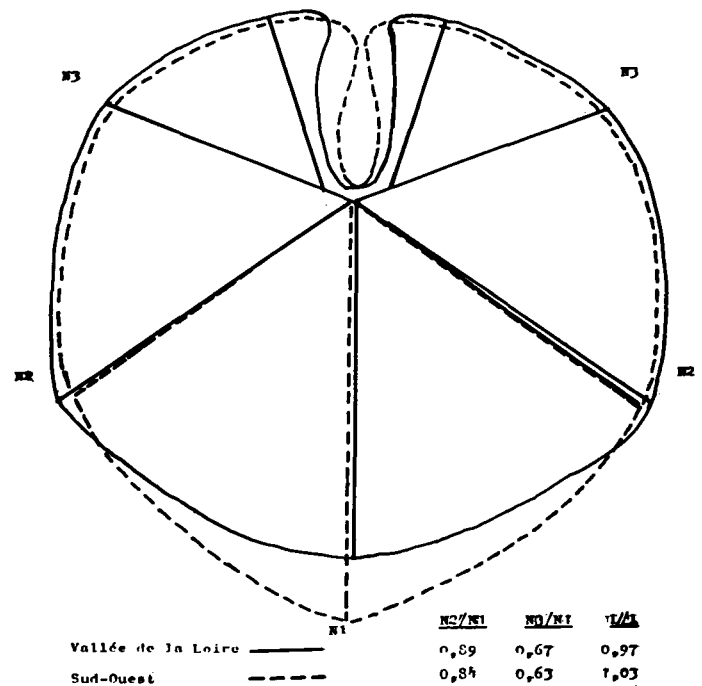
On constate ainsi que les feuilles de ces derniers sont plus orbiculaires que celles des précédents et leurs nervures 2 plus grandes donnent aux limbes, mis à plat, une largeur supérieure à la longueur. Le tableau 3 schématise ces résultats.

Par leurs rapports correspondants regroupés dans le tableau 4, les descendants autofécondés du Sauvignon s'intègrent bien dans le deuxième groupe. Les deux écarts observables sur le tableau 2 se rapportent à des plants présentant le phénotype Colombard, cultivar appartenant au groupe écologico-géographique des Folles et

Tab. 2 - Schémas de feuilles-types



Tab. 3 - Schémas ampélométriques de deux groupes écologico-géographiques (Cinq cultivars par groupe)



qui peut servir de liaison entre ce dernier et celui des Chenin-Sauvignon mais toujours pas avec les Carmenets.

La présence, dans toute descendance de vigne autofécondée, de plants à morphologie anormale mais végétant fort bien (feuille très tourmentée, frisée, etc.) ne rappelant aucun cépage classique connu, a déjà été définie comme une conséquence probable de l'homozygotie de gènes plus ou moins létaux (Huglin et al. 1969).

## Conclusions

Malgré les difficultés et la lenteur de la démarche, les résultats présentés dans ce travail montrent la possibilité d'obtenir par autofécondation, donc par voie génétique, des renseignements concernant les relations ampélographiques d'un cultivar en révélant, au

Tab. 4 - Rapports phyllométriques de plants de Sauvignon A.F. et de cépages-témoins

Cultivar	N2/N1	N3/N1	L/1	Phénotype
A F 85	0,91	0,69	0,96	Sauvignon
A F 86	0,92	0,72	0,95	Chenin
A F 87	0,90	0,69	0,94	Meslier
A F 91	0,91	0,61	0,99	Sauvignon
A F 93	0,92	0,71	0,96	Sauvignon
A F 94	0,92	0,72	0,94	Chenin
A F 99	0,91	0,70	0,97	Sauvignon
A F 101	0,90	0,67	0,98	Chenin
A F 103	0,92	0,69	0,96	Meslier
A F 105	0,93	0,73	0,94	Chenin
A F 108	0,89	0,71	0,95	Colombard
A F 109	0,91	0,62	1,02	Colombard
A F 111	0,91	0,71	0,98	Sauvignon
moyenne A F	0,91	0,69	0,96	
Sauvignon	0,92	0,69	0,94	
Cabernet franc	0,85	0,62	1,03	

moins partiellement, son patrimoine héréditaire grâce à son hétérozygotie.

L'hypothèse avancée par Bisson (1962) est confirmée. Le Sauvignon appartient à un groupe écologico-géographique ou sorto - type (Negrul 1938) de la Loire moyenne que des travaux ultérieurs devront préciser. Ce groupe assure la liaison entre plusieurs unités taxonomiques de l'Ouest, du Centre et de l'Est de la France. Son étude contribuera à une classification synthétique plus rationnelle de l'encépagement autochtone qu'il faudra compléter.

#### BIBLIOGRAPHIE

- Bisson J. (1962) - *Monographie du Merlau*. Vignes Vins, 111 et 112.  
 Galet P. (1968) - *Précis d'ampélographie pratique*. Déhan, Montpellier.  
 Huglin P. et al. (1969) - *Génétique et amélioration de la vigne*. Bul. O.I.V., 42, 456, 113.  
 Levadoux L. (1948) - *Les cépages à raisins de cuve*. Bul. O.I.V., 21, 203, 39.  
 Levadoux L. (1950) - *La sélection et l'hybridation chez la vigne*. Ann. Ec. nat. agric. Montpellier, 28, 3 et 4.  
 Levadoux L. (1954) - *La connaissance des cépages*. Chambres agric., 25, sup. 49.  
 Levadoux L. (1956) - *Les populations sauvages et cultivées de Vitis vinifera L.* Ann. Amélior. Plantes, 1, 59.  
 Negrul A.M. (1938) - *Cité par Levadoux L., 1956*.  
 Ravaz L. (1902) - *Les vignes américaines. Porte-greffes et producteurs directs*. Coulet. Montpellier.

#### RESUME

#### ESSAI D'AMPELOGRAPHIE GENETIQUE APPLIQUE AU SAUVIGNON AUTOFECONDE

En conseillant la reprise d'études ampélographiques modernes sous l'égide de l'Office International du Vin, à la veille de la seconde guerre mondiale, quelques spécialistes préconisèrent d'établir les travaux sur des bases scientifiques en remontant aux types purs homozygotes desquels proviendraient nos cultivars hétérozygotes (Carpentieri et Franchino, Roussopoulos, etc.)

Pourtant, peu avant ou dans le même temps, les chercheurs travaillant dans cette voie à des fins génétiques, signalaient les difficultés rencontrées (Dalmasso, Steingruber, Ziegler, Negrul, etc.)

A partir d'autofécondations de Sauvignon blanc effectuées dans un but phylogénique, nous nous sommes heurtés aux mêmes écueils que nos devanciers mais en procédant à l'étude visuelle classique des descendants obtenus en première génération et à leurs mensurations phyllométriques (Ravaz) nous avons cependant pu:

- conclure que l'autofécondation pouvait apporter d'intéressants enseignements concernant la phylogénie du cultivar,
- établir la position systématique du cépage en précisant le groupe écologico-géographique (Levadoux) auquel il appartient,
- fonder sur des bases plus certaines les hypothèses avancées jusqu'ici.

## DIFFERENZIAZIONE TASSONOMICA DELLE VARIETÀ DI VITE MEDIANTE L'ELETTROFORESI DI ESTRATTI VEGETALI (1° contributo)

M. BOSELLI - M. FREGONI - B. VOLPE

Cattedra di Viticoltura - Università Cattolica S.C. - Piacenza (Italia)

L'esigenza di una metodologia precisa per differenziare le varietà ed i cloni di vite, con sufficiente sicurezza, è stata sempre molto sentita, tanto che intorno all'argomento sono fioriti numerosi gli studi. Dal secolo XVIII fino ai giorni nostri sono stati proposti più di 100 metodi di classificazione delle varietà di vite, ma per la tassonomia la vite presenta particolari problemi (47). Infatti i metodi ampelografici ed ampelometrici impiegati per la descrizione ed il riconoscimento dei vitigni sono spesso inadeguati a fornire elementi di diagnosi sufficientemente oggettivi (22) e molti

dei criteri impiegati per definire la specie, come il numero cromosomico, l'infertilità degli ibridi e la distribuzione geografica, non possono essere applicati alla vite. Per la vite sono stati descritti pochissimi «markers» genetico-qualitativi.

Nella descrizione di una varietà è utile l'indicazione delle principali fasi fenologiche: il germogliamento, la fioritura, l'invaiaura e la maturazione, sebbene tale metodo non sempre risponde a criteri di precisione, poiché lo sviluppo della vite è influenzato dalla variabilità climatica, dalle tecniche colturali, dai problemi patologici, dalle combinazioni di innesto, tutti elementi, tra l'altro, che sono spesso correlati fra loro e dei quali non è sempre possibile discriminare l'effetto (38).

Un altro tipo di approccio al problema della caratterizzazione dei vitigni, ha portato a considerare alcuni componenti chimici dell'uva e del mosto, preferibilmente quelli meno soggetti a processi di degradazione e trasformazione chimica, enzimatica o microbiologica e più correlati a caratteri genetici.

Ad esempio gli studi sui composti fenolici, cioè la materia colorante ed i tannini, hanno dimostrato che queste sostanze, e soprattutto gli antociani, sono legate all'origine genetica, in particolare per quanto concerne i loro rapporti quantitativi (2, 6, 7, 9, 12, 21, 23, 30, 50, 51, 52, 53, 54, 64, 67, 73).

Una interessante suddivisione fra le varietà è stata operata re-

centemente riguardo il potenziale di imbrunimento (ossidazione) e l'attività della polifenolossidasi (58).

Anche i caratteri dell'acidità malica e dell'acidità tartarica del mosto presentano variazioni legate da un canto alle condizioni ambientali, dall'altro al genotipo (63).

Un'altra categoria di composti che può consentire di differenziare vitigni e cloni è quella delle sostanze aromatiche. Le ricerche condotte sull'argomento hanno portato ad individuare nell'uva oltre 400 composti volatili dei quali 260 sono stati identificati dal punto di vista chimico (51).

Con l'alto numero di componenti aromatiche esaminate e con la buona riproducibilità del metodo vengono a crearsi le premesse per una caratterizzazione analitica dei diversi vitigni e/o per un giudizio qualitativo.

Per distinguere le varietà di vite, è stata applicata con successo un'analisi statistica multivariata, l'analisi discriminante «step-wise» (SDA). Rispetto ai metodi statistici univariati relativi al confronto fra gruppi, l'analisi discriminante consente di rilevare più di una variabile per unità di osservazione (28, 35, 60, 61).

Un altro tipo di analisi statistica multivariata usata per l'interpretazione dei dati ottenuti da qualsiasi tipo di indagine, è l'analisi delle componenti principali (PCA) che è stata applicata ai dati delle frazioni volatili in studi sul vino (42, 55, 56) e sulle mele (71).

Per classificare le varietà, l'origine e l'anno di vendemmia è risultato un buon strumento anche la tassonomia numerica (66).

D'altronde i metodi tassonomici impiegati per le specie e le varietà di vite si basano sulla descrizione di caratteri qualitativi e quantitativi o morfologici che si rivelano essere molto influenzati dai fattori ambientali e dall'età dei tessuti, causando un'ampia variazione nel fenotipo. Si è pertanto pensato di studiare il pool proteico di un organo vegetale di vite, ed in particolare quelle molecole dotate di attività enzimatica. La tecnica analitica adottata a tale scopo è quella dell'elettroforesi, che ha il vantaggio rispetto alle tecniche descrittive classiche, di determinare direttamente la composizione genetica di organi indipendentemente dalle influenze ambientali, liberando il ricercatore dai giudizi sulle caratteristiche fenotipiche (25) e di incrementare l'efficienza ed il potere risolutivo (46).

Il maggior problema nell'applicazione di questa tecnica è rappresentato dai cambiamenti qualitativi e quantitativi degli enzimi, che comportano la comparsa di nuove bande e la scomparsa di altre, durante la crescita e lo sviluppo della pianta (26, 72). Tuttavia in certi organi le proteine sono molto stabili e quindi particolarmente utili nella tassonomia elettroforetica (33, 34). Infatti la separazione elettroforetica delle proteine è stata impiegata con successo negli studi genetici di molte popolazioni in piante ed animali (29, 34, 36, 47, 65) e nella descrizione tassonomica di molte specie.

Con tale metodo, diversi Autori hanno potuto caratterizzare e distinguere varietà di *Citrus* (68), di pistacchio (34), di grano (11, 13, 15, 16, 48), di orzo (3, 41), di mais (24), di rosa (5, 27), di patata (20), di ananas (8), di garofano (37), di erba medica (19), di olivo (49), di pesco (10), di melo (39), di pecan (40).

Numerosi sono anche i lavori di chemiotassonomia effettuati sulla vite.

Già nel 1967, Pallavicini (43), studiò la distribuzione di alcuni enzimi negli acini di 4 varietà di vite. Successivamente vennero portati a compimento numerosi lavori di tassonomia mediante la elettroforesi o l'IEF di isoenzimi delle bacche di varietà vite (1, 14, 17, 44, 45, 72). Dal Belin Peruffo et al. (18) hanno studiato tre cloni della varietà di vite «Corvina» dimostrando che i profili isoenzimatici della fosfatasi acida e della perossidasi, in estratti di foglia, presentano delle differenze sufficienti per consentire di distinguere i cloni fra loro.

Analogamente Stavarakakis (69) è riuscito a distinguere varietà di cloni di «Regina» provenienti da aree differenti di coltivazione, mediante le bande isoenzimatiche del polline.

Attraverso il profilo isoenzimatico degli enzimi del polline

Schwennesen et al. (62) hanno caratterizzato alcune varietà di uva da tavola.

Recentemente Stavarakakis e Loukas (70) hanno impiegato la elettroforesi su gel di amido per la descrizione tassonomica di 37 varietà di vite.

Il presente lavoro riporta l'esame di varietà da vino di *V. vinifera* sulla base della separazione elettroforetica delle proteine delle bacche mature.

## Materiale e metodo

**Estrazione delle proteine:** bacche mature ed integre di 20 varietà sono state raccolte da piante della collezione della Cattedra di Viticoltura e conservate in sacchetti di plastica a  $-20^{\circ}\text{C}$  fino all'impiego. Le proteine sono state estratte dalle bacche secondo la procedura di Schwennesen et al. (62), modificata.

Bacche intere devinacciolate per un peso complessivo di 28-32 g sono state omogeneizzate con 30 ml di tampone (0,35 M tampone fosfato e 0,01 M cisteina, pH 7,2) per 60 secondi a freddo. L'omogenato è stato filtrato e centrifugato per 10 minuti a  $10.000 \times g$ . Il surnatante è stato scartato ed il residuo sciacquato con acqua distillata a  $0^{\circ}\text{C}$ . Il residuo è stato poi riomogeneizzato in 5 ml di tampone di estrazione (0,01 M tampone fosfato, 0,01 M cisteina, pH 7,0 con il 2% di polietilenglicole 4000) e centrifugato di nuovo per 20' a  $20.000 \times g$ . Il surnatante è stato impiegato per l'elettroforesi.

Nella presente prova sono state prese in esame le seguenti varietà bianche:

- Molinelli
- Sauvignon
- Pinot bianco
- ed i seguenti incroci:
- Müller-Thurgau (Riesling r.  $\times$  Silvaner)
- Morio Muskat (Silvaner  $\times$  Pinot bianco)
- Faber (Pinot bianco  $\times$  Müller-Thurgau)
- Kerner (Trollinger  $\times$  Riesling r.)

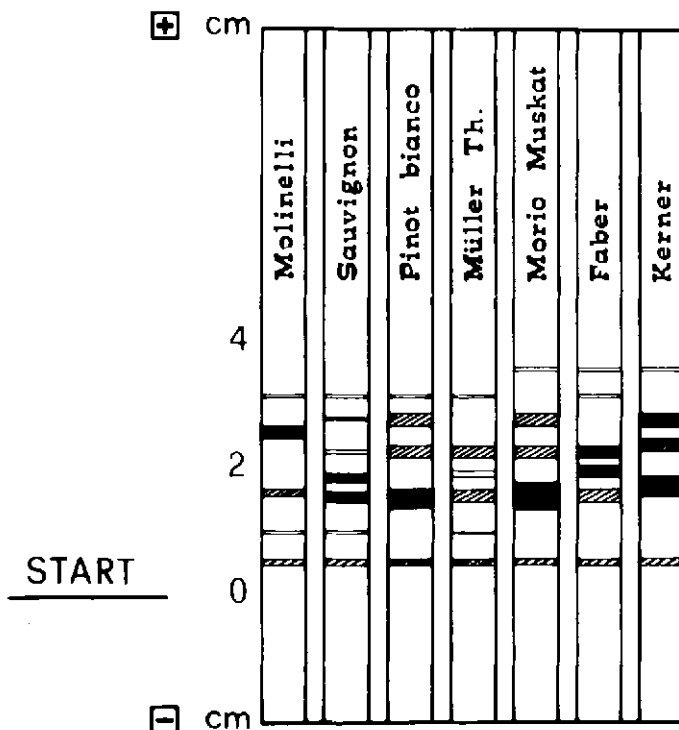


Fig. 1 - Rappresentazione diagrammatica di pattern proteico ricavato in base al peso molecolare di 7 varietà di *V. vinifera* ed eseguito mediante elettroforesi su gel di poliacrilamide.



**Elettroforesi:** è stata eseguita in orizzontale impiegando gel poliaccrilamide con tampone di corsa TRIS/glicina.

Per l'esecuzione delle analisi elettroforetiche è stato impiegato un alimentatore ad alta tensione LKB 2197 (LKB Instruments, Inc.) ed un'unità base per elettroforesi LKB 2117 Multiphor. Il gel era al 7,5% di acrilamide in accordo a quanto indicato da LKB Application Note 306 (31) con un volume finale di 60 ml. I campioni sono stati iniettati nelle apposite tasche ricavate sul gel nella quantità di 15 µl ciascuno. Con l'aumento della concentrazione delle proteine si hanno risultati migliori per quanto riguarda la visibilità di alcune bande, scure e non ben definite.

Il gel è stato termostato a +2°C per tutto il tempo della analisi elettroforetica con un criotermostato a flusso. Per l'esecuzione della prova è stato applicato un campo elettrico di 300 V a circa 65 mA, per il tempo necessario alla completa migrazione delle proteine.

Dopo il completamento della corsa elettroforetica, il gel è stato rimosso dall'unità base ed immerso in una soluzione di fissaggio per 1 h a temperatura ambiente.

Il gel è quindi stato messo nella soluzione colorante a base di Coomassie Blue per 2 ore a temperatura ambiente e l'eccesso di colore è stato poi tolto con una soluzione decolorante costituita da etanolo e acido acetico (3: 1 v/v).

Il gel dopo essere stato immerso in una soluzione preservante (etanolo, acido acetico, glicerolo 3 : 1 : 1 v/v/v), può essere conservato avvolto in un leggero film plastico trasparente.

## Risultati e discussione

Uno dei problemi principali che sorgono in questo tipo di indagine sui tessuti vegetali delle piante superiori, come la vite, è la possibile inattivazione degli enzimi da parte di qualche componente cellulare (4, 32); sono probabilmente i tannini solubili che fanno precipitare in modo reversibile gli enzimi. Questi possono però essere resi nuovamente solubili, con il trattamento con polietilenglicole, detergenti non ionici (Triton × 100 o Tween 80) o polimeri fenolico-assorbenti, come polivinilpirrolidone. Nelle esperienze preliminari l'analisi del surnatante iniziale dell'omogenato di bacche mature risultò negativa per qualsiasi attività enzimatica, attività che è stata successivamente ritrovata nel precipitato.

La precipitazione delle proteine può essere impedita includendo polietilenglicole nel tampone iniziale, come è stato fatto anche da Schaefer (59). Il vantaggio del metodo impiegato risiede nella buona concentrazione degli enzimi che sono a concentrazione ridotta nelle bacche, nella parziale purificazione degli enzimi mediante la loro precipitazione preliminare, e nella qualità delle bande proteiche evidenziate. La figura 1 dà la rappresentazione diagrammatica della configurazione delle bande proteiche di 7 varietà di vite.

In questo primo approccio al problema è stato rilevato che con il tipo di estrazione adottata e con il sistema di colorazione scelto le proteine evidenziate sono a carica netta negativa e migrano verso l'anodo in base al proprio peso molecolare. Sono state osservate

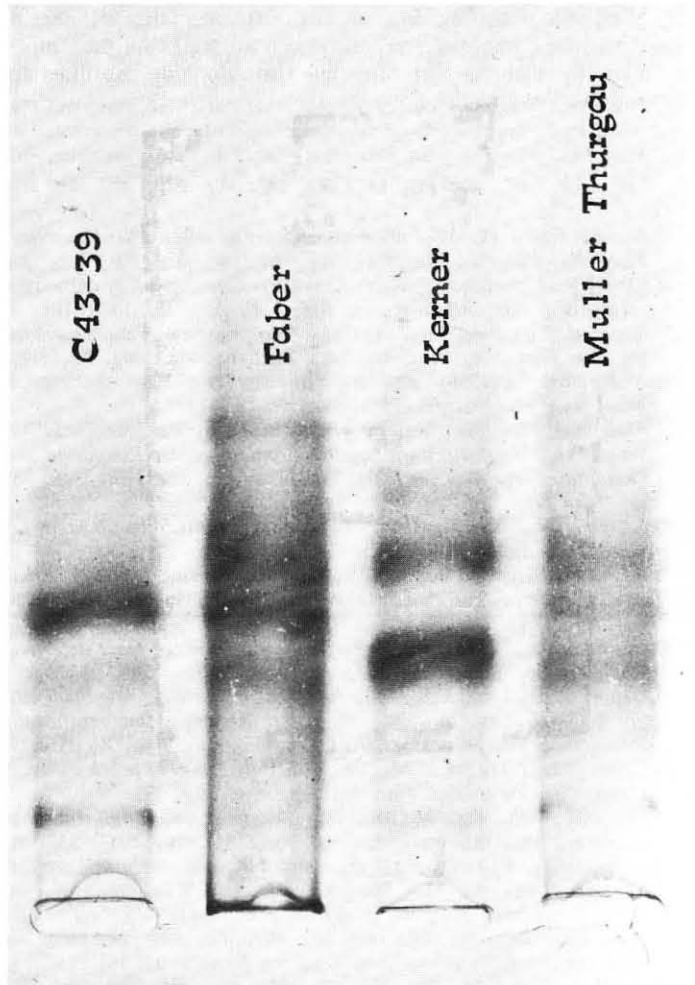
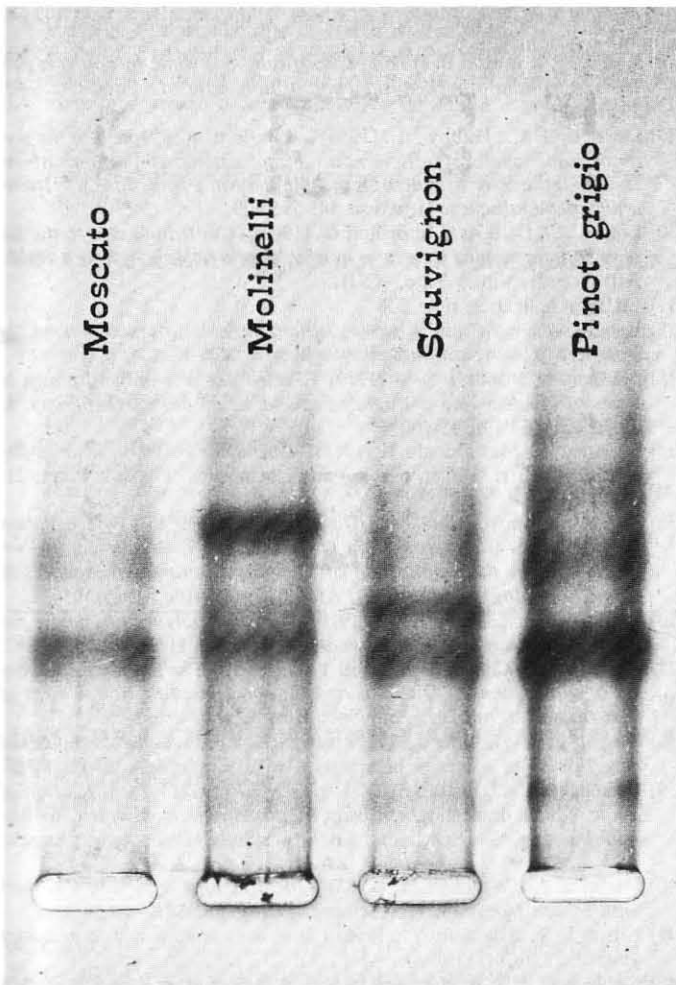


Fig. 1 e 2 - Separazione elettroforetica su gel di poliaccrilamide di 4 varietà e 4 incroci di *V. vinifera* a confronto.

sensibili differenze fra le varietà se si considera anche che ogni banda rappresenta il valore medio di almeno tre prove. Esistono tra le varietà delle bande comuni ed altre completamente disaffini, che consentono una attendibile diversificazione dei genotipi. Le sette varietà scelte per questa prova particolare sono molto diverse sotto il profilo proteico, ma esistono delle similitudini molto significative fra le varietà e gli incroci che da esse sono derivati. Osservando il Morio Muskat (Silvaner × Pinot bianco), per esempio, si rilevano bande omologhe al Pinot bianco come anche il Faber (Pinot bianco × Müller-Thurgau).

Nella fotografia n. 1 sono a confronto le varietà Moscato e Pinot grigio con Molinelli e Sauvignon, e tutte mostrano una buona separazione delle bande proteiche. Nella foto n. 2 invece sono esaminati tre incroci (Faber, Kerner e Müller-Thurgau) ed un ibrido (C 43-39) con la medesima buona risoluzione delle bande.

Le varietà osservate non presentano alcuna possibilità di confusione se esaminate sotto il profilo proteico, risultato che fa ben sperare nella prosecuzione e nell'estensione del lavoro, sulla base di quanto già ottenuto.

L'analisi elettroforetica di differenti varietà di *V. vinifera* consente quindi di ottenere profili proteici che possono essere usati come validi strumenti di identificazione. Il diagramma elettroforetico è infatti un carattere varietale, cioè il numero delle bande e la loro posizione sono caratteristici della varietà; possiede tutti i requisiti di riproducibilità, specificità e polimorfismo per costituire l'impronta digitale delle varietà.

Il risultato più rilevante dell'indagine è rappresentato dal fatto che al più tradizionale bagaglio di metodologie disponibili, si può aggiungere l'analisi elettroforetica di estratti vegetali, come strumento delle indagini finalizzato alla selezione.

L'estensione dell'indagine all'analisi isoenzimatica e l'identificazione delle componenti proteiche con «markers» a peso molecolare noto potranno perfezionare la risoluzione dei profili ed approfondire l'analisi del problema.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1) Ahmedullah M. (1983) - *Pollen morphology of selected Vitis cultivars*. J. Am. Soc. Hort. Sci., 108 (1): 155-160.
- 2) Albach R.G., Kepner R., Webb A. (1959) - *Comparison of anthocyan pigments of red vinifera grapes*. Am. J. Enol. Vitic., 10: 164.
- 3) Almgard G., Landegren U. (1974) - *Isoenzymatic variation used for the identification of barley cultivars*. Z. Pflanzenzüchtung, 72: 63-73.
- 4) Anderson J.W. (1968) - *Extraction of enzymes and subcellular organelles from plant tissues*. Phytochem. 7: 1973-88.
- 5) Asen S. (1982) - *Identification of Flavonoid chemical Markers in Roses and their High Pressure Liquid Chromatographic Resolution and Quantitation for Cultivar Identification*. J. Am. Soc. Hort. Sci., 107 (5): 744-750.
- 6) Astegiano V., Ciolfi G. (1974) - *Indagine sui costituenti antocianici dei vini rossi piemontesi*. Riv. Vit. Enol., 27: 496.
- 7) Boubals D., Truel P., Bourzeix M., Kovoc V., Giosano T. (1968) - *Etude de différentes couleurs de baies chez la vigne (Vitis vinifera)*. Ann. Technol. Agric., 17: 257-260.
- 8) Brewbaker J.L. (1966) - *Enzyme fingerprints for the plant detective*. Hawaiian Bot. Soc. Newsletter, V (1), 1-3.
- 9) Cappelleri G., Liuni C.S., Calò A. (1966) - *Esame dei principali vitigni da vino coltivati in Italia per mezzo della carta-cromatografica dei loro componenti antocianici*. Atti Acc. It. Vite e Vino, XVIII: 425.
- 10) Carter G.E.Jr., Brock M.M. (1980) - *Identification of peach cultivars through protein analysis*. HortScience, 15 (3): 292-293.
- 11) Chojceki A.J.S., Gale M.D. (1982) - *Genetic control of glucose phosphate isomerase in wheat and related species*. Heredity, 49 (3): 337-347.
- 12) Colagrande O., Grandi G. (1960) - *Contributo allo studio dei pigmenti antocianici dell'uva*. Ann. Sperim. Agr., 14: 325.
- 13) Dal Belin Peruffo A., Bovo G., Pogna N.E. (1981) - *Eterogeneità intravarietale del pattern gliadinico in campioni di seme pre-base di varietà italiane di frumento duro*. Genetica Agraria, 35: 191-194.
- 14) Dal Belin Peruffo A., Pallavicini C. (1975) - *Enzymatic changes associated with ripening of grape berries*. J. Sci. Fd. Agric., 26: 559.
- 15) Dal Belin Peruffo A., Pallavicini C., Varanini Z., Pogna N.E. (1981) - *Analisi delle varietà di frumento mediante elettroforesi delle gliadi-*

- ne. I. *Catalogo delle formule di identificazione di 29 varietà di frumento tenero coltivate in Italia*. Genetica Agraria, 35: 195-208.
- 16) Dal Belin Peruffo A., Pogna N.E. (1981) - *Analisi differenziale delle varietà di grano duro Capeiti 8 e Patrizio 6 mediante tecniche elettroforetiche*. Sementi elette, 27 (2): 11-13.
- 17) Dal Belin Peruffo A., Renosto F., Pallavicini C. (1978) - *Alfa-glucosidase from grape berries*. Planta, 142: 195.
- 18) Dal Belin Peruffo A., Varanini Z., Maggioni A. (1981) - *Caractérisation d'espèces, variétés et clones de vigne au moyen de l'électrophorèse d'extraits enzymatiques de feuilles*. 3° Symposium Int. sur la Sélection Clonale de la Vigne, Venise, 8-12 juin: 31-40.
- 19) Damerval C. (1983) - *Comparaison de six espèces de luzernes annuelles à l'aide de caractères biométriques et enzymatiques*. «Agronomie», 3 (10): 971-982.
- 20) Desborough S., Peloquin S.J. (1968) - *Potato variety identification by use of electrophoretic patterns of Tuber proteins and enzymes*. J. Expt. Bot., 18: 100-109.
- 21) Drawert F. (1961) - *Über Anthocyane in Trauben, Mosten und Weinen*. Vitis, 2: 288-304.
- 22) Eynard I. (1969) - *Ampelografia e metodi ampelometrici*. Quaderni di Viticoltura, n. 9, Univ. di Pisa: 1-38.
- 23) Golodriga E., Doubovienko N.P. (1978) - *Anthocyanes et génotype chez la vigne*. II Symp. Int. Amél. Vigne, INRA, Paris: 413-416.
- 24) Goodman M.M., Stuber C.W. (1980) - *Genetic identification of lines and crosses using isoenzyme electrophoresis*. Annual Corn Sorghum Res. Conf. Proc., 35: 10-31.
- 25) Gottlieb L.D. (1971) - *Gel electrophoresis: nex approach to the study of evolution*. BioScience, 21: 938-44.
- 26) Hard G.E., Bhatia C.R. (1967) - *Acrylamide gel electrophoresis of soluble leaf proteins and enzymes from Nicotiana species*. Canadian Journal of Cytology, 9: 367-374.
- 27) Kuhns L.J., Fretz T.A. (1978) - *Distinguishing Rose Cultivars by Polyacrylamide Gel Electrophoresis. I. Extraction and storage of Protein and active enzymes from Rose Leaves*. J. Am. Soc. Hort. Sci., 103 (4): 503-508.
- 28) Kwan W., Kowalski B. (1978) - *Classification of wines by applying pattern recognition to chemical composition data*. J. Food Sci., 43: 1320-1323.
- 29) Lewontin R.C., Hubby J.L. (1969) - *A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of Drosophila pseudoobscura*. Genetics, 54: 595-609.
- 30) Liuni C.S., Calò A., Cappelleri G. (1966) - *Contributo allo studio sui pigmenti antocianici di alcune specie del genere Vitis e di loro ibridi*. Atti Acc. It. Vite e Vino, XVIII.
- 31) LKB - Application note 306.
- 32) Loomis W.D., Battaile J. (1976) - *Plant phenolic compounds and the isolation of plant enzymes*. Phytochem, 5: 423-38.
- 33) Loukas M., Pontikis C.A. (1979) - *Pollen isozyme polymorphism in types of Pistacia vera and related species as an aid to Taxonomy*. J. Hort. Sci., 54 (2): 95-102.
- 34) Mäkinen Y., Mac Donald T. (1968) - *Isoenzyme polymorphism in flowering plant. II. Pollen enzyme and isoenzymes*. Physiol. Plant, 21: 477-486.
- 35) Marais J., Rooyen van P.C., Du Plessis C.S. (1981) - *Diferentiation between wines Originating from Different Red Wine cultivars and wine Regions by the Application of Stepwise Discriminant Analysis to Gas Chromatographic data*. S. Afr. J. Enol. Vitic., 2 (1): 19-23.
- 36) Marshall D.R., Allard R.W. (1970) - *Isozyme polymorphisms in natural populations of Avena fatua and A. barbata*. Heredity, 25: 373-82.
- 37) Mc Cown B.N., Beck G.E., Hall T.C. (1969) - *The hardening responses of three clones of Dianthus and the corresponding complement of peroxidase isozymes*. J. Am. Soc. Hort. Sci., 94: 691-693.
- 38) Mc Intyre G.N., Lider L.A., Ferrari N.L. (1982) - *The chronological classification of grapevine phenology*. Am. J. Enol. Vitic., 33 (2): 80-85.
- 39) Menendez R.A., Fritts Jr. R., Larsen F.E. (1982) - *Identification of apple (Malus domestica) cultivars by protein electrophoresis*. 69 Annual Meeting Am. Soc. Hort. Sci., Iowa State Univ., Ames, August: 8-13.
- 40) Mielke E.A., Wolfe W.H. (1982) - *Identification of Pecan Cultivars with Pollen Isozymes*. HortScience, 17 (3): 382-383.
- 41) Nilson L.R., Hermelin T. (1966) - *Isozyme variations in some barley varieties*. Lantbrukshögsk. Ann., 32: 297-308.
- 42) Noble A.C. (1980) - *Uso dell'analisi delle componenti principali delle frazioni volatili dello spazio di testa dei vini nella classificazione varietale*. Atti Symp. Enologia, Trento: 279-308.
- 43) Pallavicini C. (1967) - *Distribuzione degli enzimi fenolasi, fosfatasi, pro-*

- teinasi e saccarasi nelle parti costituenti gli acini di 4 uve e nei vini provenienti dalle uve stesse. *Industrie Agrarie*, 11: 603.
- 44) Pallavicini C., Dal Belin Peruffo A. (1975) - *Comparative investigations on soluble proteins and malate dehydrogenase of four grape varieties by isoelectric focusing*. *Vitis*, 14: 27-35.
- 45) Pallavicini C., Dal Belin Peruffo A. (1977) - *Proteolytic enzymes in grapes berries*. *Agrochimica*, 21: 180.
- 46) Peirce L.C., Brewbaker J.L. (1973) - *Application of Isozyme Analysis in Horticultural Science*. *HortScience*, 8 (1): 17-22.
- 47) Planchon J.E. (1887) - *Ampelidae*. In: *Monographiae Phanerogamarum di De Candolle*.
- 48) Pogna, Dal Belin Peruffo A. (1980) - *Un nuovo metodo per identificare le varietà di grano*. *Inf. Agrario*, XXXVI: 12131-32.
- 49) Pontikis C.A., Loukas M., Kousounis G. (1980) - *The use of biochemical markers to distinguish olive cultivars*. *J. Hort. Sci.*, 5 (4): 333-343.
- 50) Rankine B.C., Kepner R., Webb A.D. (1958) - *Comparison of anthocyan pigments of Vinifera grapes*. *Am. J. Enol. Vitic.*, 9: 105.
- 51) Rapp A., Knipser W., Hastrich H., Engel L. (1980) - *Untersuchungen über die Aromastoffe von Wein und Winbeeren Möglichkeiten zur Sortencharakterisierung*. *Atti Symp. di Enologia*, Trento: 15-56.
- 52) Ribereau-Gayon P. (1959) - *Recherches sur les anthocyanes des végétaux. Application à genre Vitis*. *Librairie générale de l'enseignement*, Paris.
- 53) Ribereau-Gayon P. (1964) - *Les composés phénoliques du raisin et du vin*. *Ann. Physiol. vég.*, INRA, Paris.
- 54) Ribereau-Gayon P. (1968) - *Les composés phénoliques des végétaux*. *Dunod*, Paris.
- 55) Rooyen van, P.C. (1982) - *Evaluation of the Nietvoorby Wine score Card and Experimental wine panelist utilizing Pattern Recognition techniques*. *S. Afr. J. Enol. Viti.*, 3 (1): 29-36.
- 56) Rooyen van, P.C., Wet De P., Wyk van, C.J., Tromp A. (1982) - *Chenin blanc wine volatiles and the intensity of a Guava-like Flavon*. *S. Afric. J. Enol. Viti.*, 3 (1): 1-7.
- 57) Rudin D., Rasmuson B. (1973) - *Genetic variation in esterases from needles of Pinus silvestris L.* *Hereditas* 73: 89-98.
- 58) Sapis J.C., Macheix J.J., Cordonnier R.E. (1983) - *The browning capacity of Grapes. II. Browning potential and polyphenol oxidase activities in different mature grape varieties*. *Am. J. Enol. Vitic.*, 34 (3): 157-162.
- 59) Schaeffer H. (1969) - *Untersuchungen zur Methodik der Extraktion und Disk-Elektrophorese der Blätterweisse der Gattung Vitis*. *Wein-Wissen.*, 24: 205-32.
- 60) Schreier P., Drawert F., Junker A., Reiner L. (1976) - *Anwendung der multiplen diskriminanzanalyse zur differenzierung von Rebsorten an Hand der Quantitativen verteilung flüchtiger weinhaltsstoffe*. *Mitt. Klosterneuburg*, 26: 225-234.
- 61) Schreier P., Reiner L. (1979) - *Characterisation and differentiation of grape brandies by multiple discriminant analysis*. *J. Sci. Food Agric.*, 30: 319-327.
- 62) Schwenesen J., Mielke E.A., Wolfe W.H. (1982) - *Identification of seedless Table Grape Cultivars and a Bud Spot with berry Isozymes*. *HortScience*, 17 (3): 366-368.
- 63) Scienza A., Casassa M.T., Conca E., Boselli M., Dorotea G., Montesani G., Volpe B., Zamboni M. (1984) - *L'interazione tra vitigno e ambiente nella qualità delle basi spumanti*. *VigneVini*, 11 (10): 33-38.
- 64) Scienza A., Piergiorgio L., Visai C., Conca E., Romano F. (1985) - *Il profilo antocianico delle uve quale mezzo tassonomico per il riconoscimento dei vitigni rossi*. *Atti 4th Int. Symp. Grapevine Breeding*, Verona, 13-18/4.
- 65) Selander R., Yang S. (1971) - *Polymorphism in Peromyscus polionotus*. *Univ. of Texas Publ.*, 7103: 40-49.
- 66) Siegmund H., Bächmann K. (1978) - *Anwendung der numerischen taxonomie für die klassifizierung von weinen*. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 166: 298-303.
- 67) Singleton V., Esau P. (1969) - *Phenolic substances in grape and wine and their significance*. *Academic Press*, New York.
- 68) Soost K., Williams T., Torres A. (1980) - *Identification of nuclear and zygotic seedling of citrus with leaf isozymes*. *HortScience*, 15 (6): 728-729.
- 69) Stavrakakis M. (1982) - *Use of enzyme polymorphisms in the identification of vinifera grape varieties*. *Symp. Int. raisins de table et raisins sec*, Crète.
- 70) Stavrakakis M., Loukas M. (1983) - *The between - and within - grape cultivars genetic variation*. *Scientia Hort.*, 19: 321-334.
- 71) Williams A.H. (1982) - *Chemical evidence from the flavonoids relevant to the classification of Malus species*. *«Botan. J. of the Linnean Soc.*, 84 (1): 31-39.
- 72) Wolfe W.H. (1976) - *Identification of grape varieties by isozyme banding patterns*. *Am. J. En. Viti.*, 27 (2): 68-73.
- 73) Zamorani A., Pifferi G. (1964) - *Contributo alla conoscenza della sostanza colorante dei vini, identificazione e valutazione quantitativa degli antociani di vini di Vitis vinifera (Merlot) e di ibridi (Clinto e Baco)*. *Riv. Vitic. Enol.*, 17: 85-93.

## RESUME

### DIFFERENCIATION TAXONOMIQUE DES VARIETES DE VIGNES GRACE A L'ELECTROPHORESE D'EXTRAITS VEGETAUX (1ère contribution)

L'exigence d'une méthodologie précise pour différencier les variétés et les clones de vigne avec une marge de sécurité suffisante a toujours été très ressentie, c'est pourquoi de nombreuses études ont été effectuées sur ce thème.

Les méthodes taxonomiques utilisées qui se basaient sur la description des caractères qualitatifs et quantitatifs ou morphologiques se révélèrent très influencées par les facteurs ambiants et par l'âge des tissus.

C'est pour cette raison que l'on a jugé utile d'étudier le pool protéique d'un organe végétal de vigne, et en particulier les molécules dotées d'une activité enzymatique.

La technique analytique adoptée à cet effet est l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide.

Dans la présente étude, on a décrit la technique d'extraction, d'isolation et d'électrophorèse de protéines prélevées dans les baies de vignes.

Grâce à l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide, il est possible de différencier les protéines de vignes pour établir les différences génétiques. Les diagrammes électrophorétiques des protéines de certaines vignes sont présentés.

## STUDIO SULL'APPLICAZIONE DEL CODICE INTERNAZIONALE PER LA DESCRIZIONE STANDARDIZZATA DELLE VARIETÀ DI VITI

A. CALÒ (1) - A. COSTACURTA (1) - A. CERSOSIMO (1) - M. GIUSTI (1) - S. MARCHETTI (2) - L. SERAFIN (1)

(1) Istituto Sperimentale Viticoltura - Conegliano Veneto (Italia)

(2) Istituto Produzione Vegetale - Università degli Studi di Udine (Italia)

Con il presente lavoro vogliamo dare conto di un primo tentativo di utilizzo della nuova scheda ampelografica concordata in sede O.I.V., al fine di:

- trovare un metodo di classificazione dei vitigni
- trovare un sistema per il loro riconoscimento.

A tal fine sono state compilate le schede di un campione di 100 vitigni presenti nella Collezione ampelografica dell'Istituto Sperimentale per la Viticoltura in Conegliano (TV) con la rilevazione dei sottoelencati 54 caratteri:

Cod. O.I.V.

001 - Forma dell'estremità dell'apice del germoglio

003 - Intensità delle pig. antocianica dell'apice del germoglio

004 - Densità dei peli distesi dell'apice del germoglio

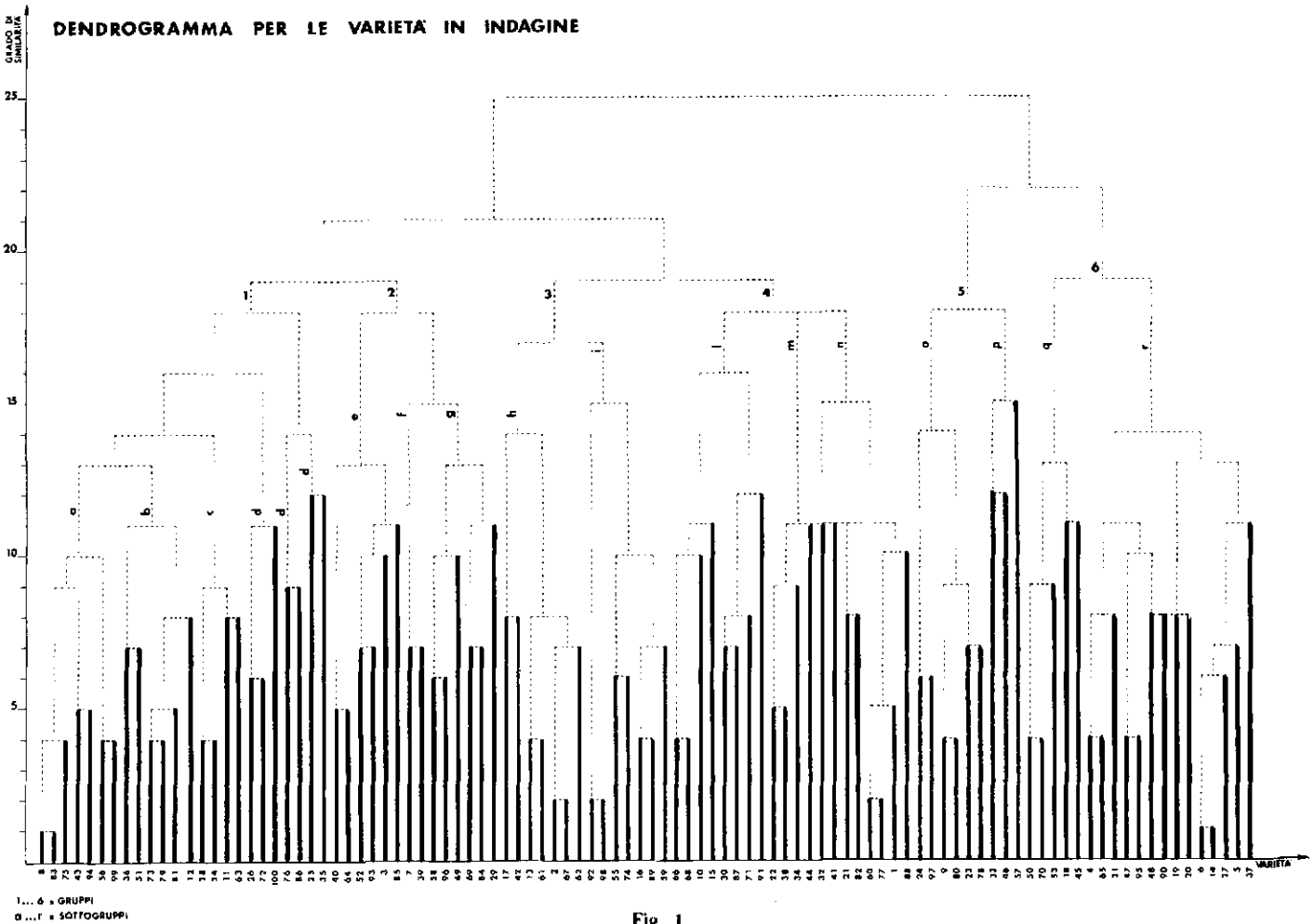
005 - Densità dei peli diritti dell'apice del germoglio

- 008 - Colore della faccia ventrale degli internodi del tralcio erbaceo
- 010 - Colore della faccia ventrale dei nodi del tralcio erbaceo
- 011 - Densità dei peli diritti dei nodi del tralcio erbaceo
- 012 - Densità dei peli diritti degli internodi del tralcio erbaceo
- 013 - Densità dei peli distesi dei nodi del tralcio erbaceo
- 014 - Densità dei peli distesi degli internodi del tralcio erbaceo
- 016 - Distribuzione dei viticci sul tralcio
- 065 - Grandezza della foglia adulta
- 067 - Forma del lembo della foglia adulta
- 068 - Numero dei lobi della foglia adulta
- 069 - Colore della pagina superiore della foglia adulta
- 076 - Forma dei denti della foglia adulta
- 079 - Forma del seno peziolare della foglia adulta
- 084 - Densità dei peli distesi tra le nervature (pag. inf.) della foglia adulta
- 085 - Densità dei peli diritti tra le nervature (pag. inf.) della foglia adulta
- 092 - Lunghezza del picciolo nella foglia adulta
- 101 - Sezione trasversale del tralcio legnoso
- 102 - Superficie del tralcio legnoso
- 103 - Colore generale del tralcio legnoso
- 151 - Sesso del fiore
- 153 - Numero di infiorescenze per germoglio
- 202 - Grandezza del grappolo
- 204 - Compattezza del grappolo
- 206 - Lunghezza del peduncolo del grappolo
- 207 - Lignificazione del peduncolo del grappolo
- 220 - Grossezza dell'acino
- 223 - Forma dell'acino
- 224 - Sezione trasversale dell'acino

- 225 - Colore della buccia dell'acino
- 227 - Pruina dell'acino
- 229 - Ombellico dell'acino
- 236 - Particolarità del sapore dell'acino
- 237 - Classificazione del sapore dell'acino
- 241 - Presenza di vinaccioli nell'acino
- 301 - Epoca di germogliamento
- 302 - Epoca di fioritura
- 303 - Epoca di invaiatura
- 304 - Epoca di maturazione fisiologica
- 351 - Vigoria
- 353 - Lunghezza degli internodi
- 452 - Grado di resistenza alla peronospora (foglia)
- 453 - Grado di resistenza alla peronospora (grappolo)
- 455 - Grado di resistenza all'oidio (foglia)
- 456 - Grado di resistenza all'oidio (grappolo)
- 458 - Grado di resistenza alla botrytis (foglia)
- 459 - Grado di resistenza alla botrytis (grappolo)
- 502 - Peso di un grappolo
- 503 - Peso di un acino
- 505 - Zuccheri riduttori %
- 506 - Acidità totale %.

**Materiali e metodi**

Le schede compilate secondo quanto detto più sopra sono state utilizzate per essere elaborate dal Centro di Calcolo dell'Università degli Studi di Trieste, secondo i pacchetti di programmi THREE-PA, sviluppati presso lo stesso Centro (M. Longonegro e E. Feoli — 1984), che dovevano portare ad un ordinamento e



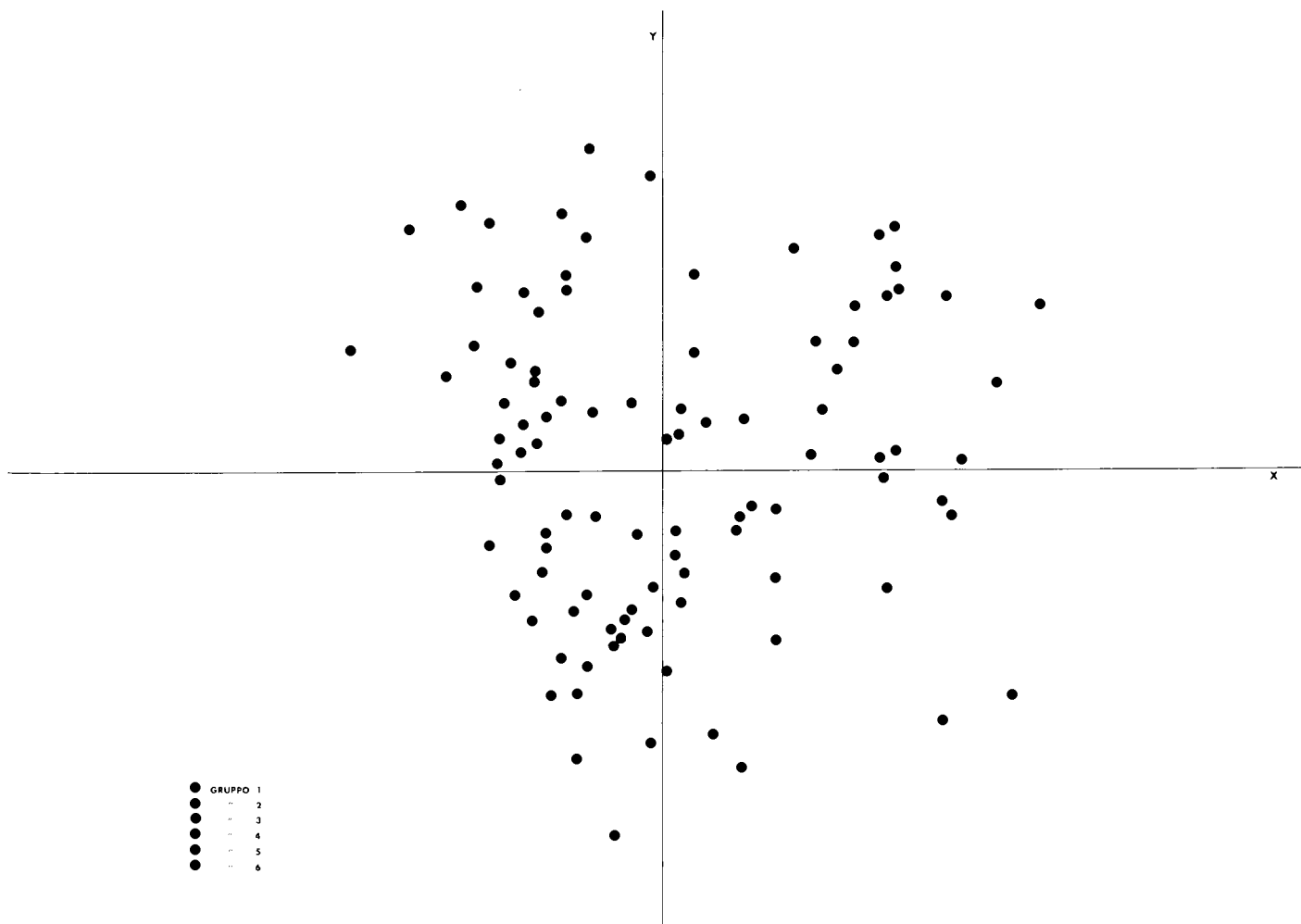


Fig. 2 - Distribuzione spaziale dei gruppi di vitigni

classificazione dei dati. Ciascun indice numerico impiegato per descrivere le varietà sottoposte ad indagine è stato considerato come facente parte di una scala nominale di valori.

### Risultati e discussione

I dati sono stati sistemati in matrice (varietà  $\times$  carattere) in modo da ottenere un confronto di ogni varietà con le rimanenti per ciascun carattere ed il tipo di legame utilizzato nel raggruppamento di vitigni è stato quello «completo» (complete linkage).

In base ai risultati di questa analisi è stato costruito il dendrogramma (graf. n. 1) nel quale si possono osservare 6 raggruppamenti di cultivars, composti ciascuno da due o più sottogruppi ad un livello di similarità maggiore.

Questi raggruppamenti sono stati ottenuti tagliando il dendrogramma a livello 19 del grado di similarità dei gruppi e fra 12 e 16 per i sottogruppi.

In seguito si è provveduto a rappresentare la distribuzione dei vitigni nello spazio allo scopo di ricavare alcune ulteriori informazioni circa la struttura dei gruppi individuati. Tale distribuzione è stata proiettata su un piano che meglio rispondeva allo scopo (graf. n. 2), con risultati soddisfacenti, anche se la più corretta rappresentazione sarebbe stata quella tridimensionale.

Dopo questa prima fase dell'elaborazione, che ha permesso di effettuare alcuni raggruppamenti, la matrice riordinata delle varietà in base all'esito dei raggruppamenti stessi (graf. n. 3) consente di constatare in base a quali caratteri le varietà di un gruppo risultavano simili tra loro a tal punto da determinare la riu-

nione.

Dall'esame di questa matrice riordinata si può notare che, fra quelli esaminati esistono caratteri con potere discriminante fra gruppi ed entro i gruppi.

Fra i primi sono: la *pelosità del tralcio*, il  *Sesso del fiore*, la *presenza di vinaccioli*.

Fra i secondi dimostrano un certo interesse: la *sezione trasversale del tralcio*, l'*intensità della pigmentazione dell'apice*, la *vigorietà*, la *lunghezza degli internodi*, la *forma del seno peziolare*.

Questa serie di analisi ha permesso di mettere in evidenza la pratica possibilità di raggruppamenti o classificazioni utilizzando analisi multivariate adeguate, ma ha anche ribadito alcune difficoltà di base che devono essere superate al fine di proporre raggruppamenti validi e coerenti.

Ci vogliamo riferire soprattutto:

a) alla necessità di individuare una serie di caratteri valutabili in modo oggettivo e senza incertezze descrittive, dovute alla variabilità riscontrabile in campo.

b) alla necessità di stabilire il peso percentuale diverso che devono avere necessariamente alcuni caratteri sempre nella finalità di raggruppamenti coerenti. È significativa sia la presenza osservata di caratteristiche ridondanti che la scarsa discriminazione effettuata, per esempio, dal carattere *colore della bacca* che pure è assolutamente importante almeno per un raggruppamento fra uve di colore diverso.

Riteniamo quindi che il lavoro debba continuare su questa via e che lo studio vada indirizzato su un numero di caratteri ben individuabili e su livelli di espressione, all'interno di ogni carattere, piuttosto ampi e limitati nel numero.



# DIVERSITY ANALYSIS FOR SEED FATTY ACID COMPOSITION IN «VITIS VINIFERA»

G. FANIZZA (1) - C. INTRIERI (2) - F. IODICE (1)

(1) Institute of Plant Breeding - University of Bari - (Italia)

(2) Institute of Pomology - University of Bologna (Italia)

The importance of divergent parents for successful hybridization has been long recognized both in self and cross-pollinated crops. Consequently, strong evidence for the diversity of the introduced and local genotypes should be recognized before proceeding in a breeding program.

In recent years, numerical taxonomy and its related multivariate methods have been used to assist plant breeder Sneath (1973, 1976), Whitehouse (1971). Multivariate studies in grapes (Fanizza, 1980) and in other species (Fanizza and Bogyo, 1971), based in morphological characters, have been aimed to classify genotypes into divergent groups but they have not indicated some correspondence between geographic areas and genetic diversity. The absence of relationships between geographical regions and phonetic similarity might be due to the fact that morphological characters, used to discriminate populations, are affected by environmental variation. In this work the fatty acid composition of seed grapes have been used because they are little affected by environment (Jellum and Marion, 1966) and they might be more appropriate traits to study variety diversity.

## Material and Methods

23 wine grape varieties of different geographic regions (Lambrusco Salamini, Cilieggiolo, Trebbiano, Primitivo, Negro Amaro, Malvasia Nera, Malvasia Bianca, Bombino Bianco, Bombino Nero, Bianco Alessano, Verdeca, Barbera, Nebbiolo, Aglianico, Montepulciano, Sangiovese, Sangiovese Compatto, Pinot Bianco, Chémín Blanc, French Colombard, Peverella, Ruby Cabernet, Riesling itálico) were grown in a completely random block design at the experimental station of the University of Bari. About 20 random plants were separated from 5 random clusters of each plant. The seed oil content was determined by the soxlet method. The fatty acid components — Miristic acid (C14 : 0), palmitic (C16 : 0), palmitoleic (C16 : 1), stearic (C18 : 0), oleic (C18 : 1), linoleic (C18 : 2), linolenic (C18 : 3) — were measured by means of gas-chromatographic procedure: trans-methylation, isotherm 190°C, FID-detector.

Supported by M.P.I. grant (40%) n. 358/1984.

The fatty acid composition was used to discriminate the wine grape varieties by a multivariate analysis (canonical analysis). This analysis has been conducted with a computer program (SAS 1982) because it is lengthy, it requires matrices resolution, in particular the reduction of two quadratic matrices to a canonical form (Marriott, 1974).

## Results and Discussion

Table 1 reports the means and the coefficient of variation of seed fatty acid composition in the wine grape varieties under consideration.

The variability among varieties in the fatty acid content indicates that these traits are useful to discriminate wine grape varieties by the canonical analysis. The use of this analysis is appropriate because the fatty acid content is little affected by environment variation, which might give bias result in the interpretation of the differences among varieties.

Tab. 1 - Means and coefficients of variation (C.V.%) of fatty acid components in wine grape seeds

Traits	Mean	C.V. (%)
Miristic acid (C14 : 0)	0.38 ± 0.10	80
Palmitic acid (C16 : 0)	8.08 ± 0.9	15
Palmitoleic acid (C16 : 1)	0.49 ± 0.12	30
Stearic acid (C16 : 1)	4.32 ± 0.59	20
Oleic acid (C18 : 1)	.18 ± 2.13	14
Linoleic acid (C18 : 2)	67 ± 2.9	8
Linoleic acid (C18 : 3)	0.56 ± 0.18	32
Oil content (%)	14 ± 1.9	13

The canonical analysis consists in the transformation of the original data into a set of uncorrelated (canonical) variables. The first canonical variable is one of the linear combinations with all the original variables (fatty acids) and which presents the maximum correlation. The second canonical variable is similarly defined but with the characteristic of not being correlated with the first one; the other canonical variables are also defined in the same way. The results of this analysis is a set of coordinates (canonicals) which define the position of each variety into a multidimensional space; as these coordinates exceed three in number, they arise a problem in the interpretation of the differences among varieties but in practice the first two axes are considered because they explain about 80% of these differences. In this work the first two canonical variables explain 77% (Tab. 2) of the differences among varieties. Thus the estimate of the distribution of our wine grape populations can be obtained by plotting the coordinate of each variety on the first two canonical axis. The canonical diagram (Fig. 1) is useful to illustrate the relative distance among varieties and gives

Tab. 2 - Distribution of information (%) of each canonical variable and correlation coefficients between each canonical variable and fatty acid components

Canonical		Miristic	Palmitic	Plamitoleic	Stearic	Oleic	Linoleic	Linolenic
Variables	% Information							
Var. ≠ 1	51.0	-0.166	0.130	0.049	-0.144	-0.596	0.457	0.007
Var. ≠ 2	26.9	0.001	-0.175	0.194	0.559	0.129	0.073	-0.030
Var. ≠ 3	10.4	0.269	0.470	0.256	-0.347	-0.377	0.112	0.14
Var. ≠ 4	5.0	-0.227	-0.370	0.366	0.290	-0.029	0.701	0.35
Var. ≠ 5	3.1	0.055	0.167	0.079	0.386	0.207	-0.290	0.73
Var. ≠ 6	2.1	0.559	-0.405	-0.241	-0.307	-0.342	0.330	0.25
Var. ≠ 7	1.5	0.418	0.326	0.057	0.264	0.257	0.220	0.35

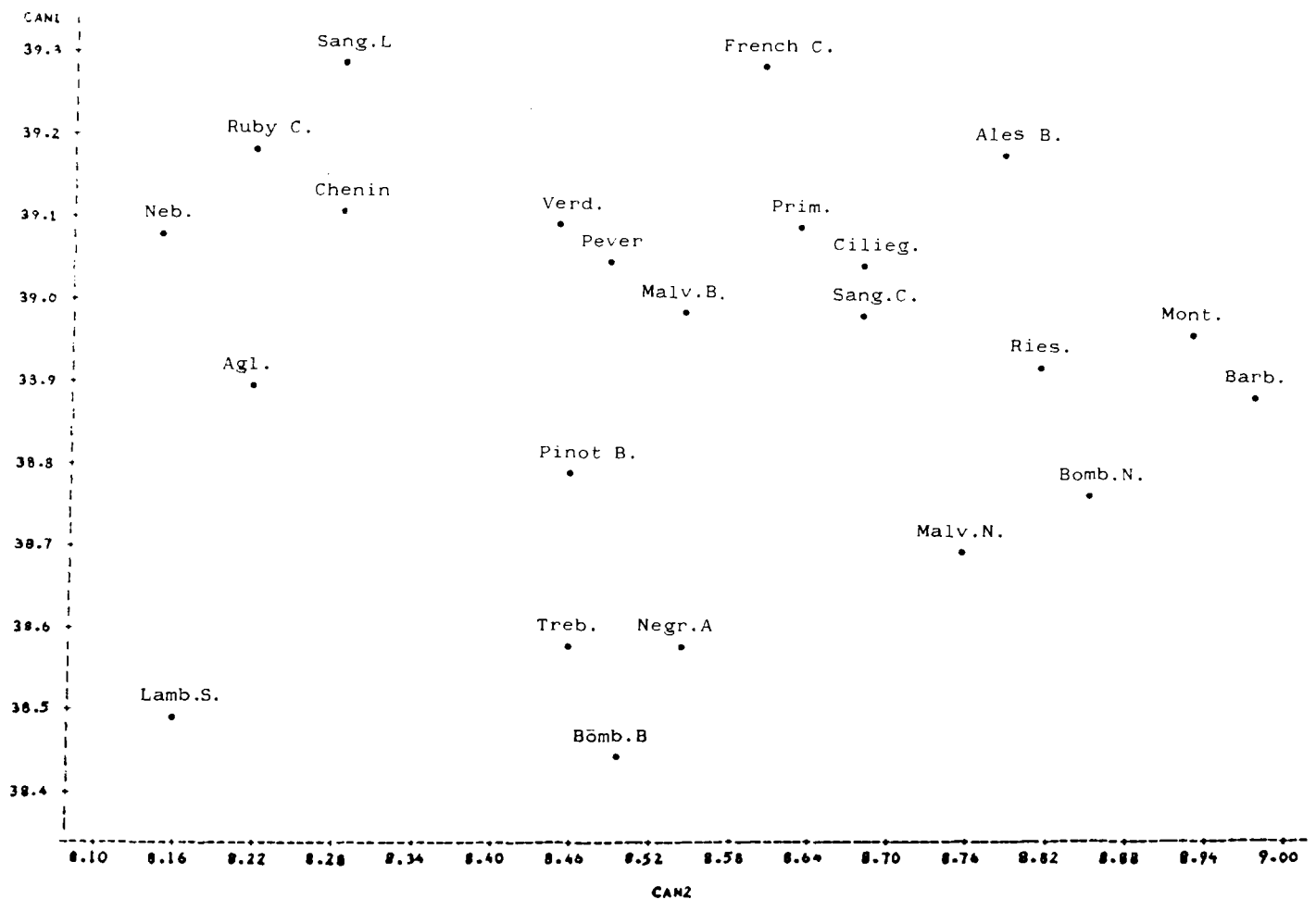


Fig. 1 - Canonical Diagram (Plot Can 1 \* Can 2)

information about similarities among these varieties which would be hard to discover by inspection of the data.

The diagram shows that some grouping can be recognized. One group can be formed by Trebbiano, Negro Amaro and Bombino Bianco. The positions of Verdeca, Peverella, Malvasia Bianca and Primitivo are close together to form a group as well as those of Ciliegiolo, Sangiovese Compatto and Bianco Alessano. Two more groups might be considered; one is formed by Riesling italo, Montepulciano, Barbera, Bombino Nero and Malvasia Nera, the other group by Sangiovese, Ruby Cabernet, Chenin Blanc, Nebbiolo. The following varieties: Aglianico, Lambrusco Salamini, Pinot Bianco and French Colombard are separated one from the other and are not linked to any other group either. The study of this diagram reveals that some red and wine grapes are grouped together as well as varieties of different geographic regions. Thus the fatty acid components don't discriminate the wine grape varieties according to their geographic regions of cultivation. A possible explanation could be found in gene associations, which, according to Brown (1979), are much more possible in self than out-cross species. The wine grape varieties, considered time and therefore they didn't have the possibility for some gene recombination and to form linkage between genes.

Thus the lack of relationship between genetic similarities and geographic regions might be due to the absence of linkage between genes which control fatty acid content and genes responsible for the adaptability of particular variety to a geographic area.

Another aspect of the canonical analysis is that it gives information to the plant breeder on the characters which play an im-

portant role in the defined canonical variables, Table 2, which reports the correlation between each canonical variable and the dependent variables, shows that the oleic and linoleic acid are the most important traits of the first canonical variable. The stearic acid is correlated with the second canonical variable and the palmitic acids with the third canonical variable.

#### REFERENCES

- Brown A.H.D. (1979) - *Enzyme polymorphism in plant populations*. Theor. Popul. Biol., 15: 1-42.
- Fanizza G. and Bogyo T.P. (1976) - *A cluster analysis of almond varieties in Apulia*. Riv. Ortoflorfrutt. Italiana, 5; 277-81.
- Fanizza G. (1980) - *Multivariate analysis to estimate the genetic diversity of wine grapes (Vitis vinifera) for cross breeding in southern Italy*. Proceed. III Symp. Grape Breeding, pp. 105-110.
- Jellum and Marion. (1966) - *Factors affecting oil content and oil composition for corn grain*. Crop Science, 6: 41-42.
- Marriott F.H.C. (1974) - *The interpretation of multiple observations*. Edit. Academic Press, pp. 26-31.
- Sas. (1982) - *User's Guide to Statistics*. SAS Institute Inc., Cary North Caroline.
- Sachan K.S. and Sharma R.J. (1971) - *Multivariate analysis of genetic divergence in tomato*. Indian J. Genet. and Plant Breeding, 31: 86-93.
- Sneath P.H.A. and Sokal R.R. (1973) - *Numerical taxonomy W.H. Freeman*. San Francisco.
- Sneath P.H.A. (1976) - *Some applications of numerical taxonomy to plant breeding*. Z. für Pflanzenzüchtung, 76: 19-46.
- Whitehouse R.N.H. (1971) - *Canonical analysis as an aid to plant breeding*. In R.A. Nilan (ed.) Barley Genetics II. Washington State Univ. Press, Pullman.

#### SUMMARY

#### DIVERSITY ANALYSIS FOR SEED FATTY ACID COMPOSITION IN «VITIS VINIFERA»

*A multivariate procedure (canonical analysis) has been applied in Vitis vinifera using seed fatty acid composition to discriminate wine grape varieties and to investigate on the relationships between geographic regions and genetic diversity. The canonical diagram, obtained by plotting the coordinate of the transformed data of each variety on the first two canonical axes, shows that some groups among varieties can be recognized but that the fatty acid components don't discriminate varieties according to their geographic distribution.*

*This analysis indicates also that oleic, linoleic, palmitic and stearic acids are important traits for the first two canonical variables.*



# IL PROFILO ANTOCIANICO DELLE UVE QUALE MEZZO TASSONOMICO PER IL RICONOSCIMENTO DEI VITIGNI ROSSI

A. SCIENZA (1) - L. PIERGIOVANNI (2) - C. VISAI (1) - E. CONCA (1) - F. ROMANO (1)

(1) Istituto di Coltivazioni Arboree - Università degli Studi di Milano (Italia)

(2) Istituto di Industrie Agrarie - Università degli Studi di Milano (Italia)

## 1. Introduzione

I metodi ampelografici ed ampelometrici, quali tecniche di descrizione e riconoscimento dei vitigni, si mostrano spesso inadeguati a fornire elementi diagnostici sufficientemente oggettivi e probatori (Eynard, 1969).

Nello studio dei caratteri morfologici, progressi recenti sono stati conseguiti dalla microscopia elettronica a scansione, per l'osservazione, ad esempio delle sculture del granulo di polline (Linder-Linskens, 1978) e della codificazione e computerizzazione dei caratteri morfologici.

I caratteri biochimici, anche per il considerevole sviluppo delle tecniche analitiche, rappresentano attualmente dei mezzi molto efficaci per integrare le descrizioni morfologiche. Vengono a questo proposito utilizzati, lo studio delle sequenze aminoacidiche e proteiche, l'ibridazione degli acidi nucleici e la sierologia comparata (Egnauer, 1962-1969; Turner, 1969).

In particolare sono i cosiddetti «metaboliti secondari» della pianta, secondo una definizione di Czapek (1913-1921), ad essere maggiormente impiegati nella chemiotassonomia. (Egnauer, l.c.).

Questi composti chimici (fenoli, chinoni, olii essenziali, resine, saponine, alcaloidi) non sono di norma fondamentali per la vita della pianta, ma rappresentano l'espressione dell'adattamento ad un particolare ambiente o il risultato di una diversa pressione selettiva. Inoltre questi «metaboliti secondari» si sono notevolmente differenziati nei «taxa», nel corso dell'evoluzione.

Per la vite, recentemente, sono state impiegate tecniche di separazione elettroforica delle proteine, riguardanti in particolare lo studio dei «pattern isoenzimatici», (Wolf, 1976 Almedullah-Wolf, 1981; Dal Belin Peruffo e coll., 1981; Schwennesen e coll., 1982; Stavrakakis, 1982), il profilo aromatico di mosti e vini (Bayer-Bassler, 1961; Leforet, 1980; Rapp e coll., 1980) e lo studio dei costituenti antocianici (Ribereau-Gayon P., 1953; Ribereau-Gayon P. e coll., 1955).

Le ricerche di chemiotassonomia relative al genere «Vitis», soprattutto con lo studio dei costituenti fenolici sono state sviluppate nel corso degli ultimi 30 anni, parallelamente ai progressi ottenuti dalla cromatografia su carta e su strato sottile, per merito inizialmente di Ribereau-Gayon P. (1959, 1964, 1968), il quale per primo riuscì a dimostrare l'esistenza di differenze significative tra la presenza relativa dei diversi pigmenti antocianici dell'uva di numerose specie di «Vitacee» e vitigni della «Vitis vinifera».

Numerosi altri studi hanno affrontato soprattutto, le differenze nell'ambito della «Vitis vinifera» (Rankine e coll., 1958; Albach e coll., 1959; Colagrande-Grandi, 1960; Drawert F., 1961; Zamorani-Pifferi, 1964; Boubals e coll., 1968; Astegiano-Ciolfi, 1974; Golodriga-Dobovienko, 1978).

Le ricerche di Cappelleri e coll. (1966-1967) e Liuni e coll. (1965), hanno inoltre permesso, in base ai cromatogrammi del patrimonio antocianico, di accertare l'esistenza di raggruppamenti omogenei tra i vitigni. Le differenze tra i genotipi, come appare da un'ampia ricerca bibliografica curata da Singleton e Esau (1969),

sono valutabili nei diversi rapporti quantitativi tra le antocianine diidrossilate (cianina e peonina) e triidrossilate (delfina, petunina e malvina), dal loro grado di metilazione, dalla presenza o assenza, (come nel caso del «Pinot nero»), delle antocianine acilate, (Danko-Asvany, 1982). Tale patrimonio antocianico, soprattutto da un punto di vista qualitativo, è relativamente costante per ciascuna varietà ed è indipendente delle condizioni ambientali, in quanto controllato in modo molto rigido da un biochimismo enzimatico (Harborne, 1967).

Nella «Vitis vinifera», l'antociano più diffuso è la malvina, mentre ad esempio nella «Vitis aestivalis», la «Vitis coriacea» e la «Vitis lincencumii» è la cianina (Ribereau-Gayon P., 1964).

Più recentemente Di Stefano e Corino (1984) hanno accertato un'ampia variabilità nel contenuto di antociani fra diversi vitigni ed in alcuni di essi l'antociano prevalente non era la malvina, ma la peonina.

Il progresso delle tecniche cromatografiche raggiunto con l'H.P.L.C. ha consentito una migliore conoscenza del profilo antocianico, sia da un punto di vista qualitativo che quantitativo. Si sono così potuti separare accanto ai mono e diglucosidi delle antocianine (cianina, peonina, delfina, petunina e malvina), anche i pigmenti acilati, nei quali al radicale glucidico è di volta in volta legato l'acido caffeico o acido cumarico o acido acetico (Anderson e coll., 1970; Hrazdina-Frazese, 1974; Wulf-Nagel, 1976-1978; Wilkinson e coll., 1978; Mc Closkey-Yengoyan, 1981).

Sarebbe comunque un errore ritenere che un solo carattere chimico (i cosiddetti «finger-print») possa essere capace di fornire sempre chiare indicazioni sull'affinità di «taxa» diversi, soprattutto nel riconoscimento di nuovi legami filogenetici.

Grazie alla sistematica moderna, che tende sempre più ad impiegare assieme alle descrizioni morfologiche, i metodi biochimici quantitativi, introducendo l'uso dei calcolatori elettronici e il calcolo fattoriale, è possibile mettere in risalto con maggior precisione affinità genetiche fra le cultivars.

## 2. Materiale e metodo

Le ricerche sono state condotte nel triennio 1981-1983 su grappoli raccolti alla maturazione, rispettivamente nelle collezioni dell'Istituto di Coltivazioni arboree dell'Università degli Studi di Milano presso la Fondazione Gallini a Riccagioia (Pavia) e della Stazione Sperimentale Agraria e Forestale di S. Michele all'Adige (Trento).

I vitigni, scelti in base alla loro origine geografica (vitigni bordolesi, della pianura padana, del Trentino-Alto Adige, della Puglia ecc.), o per la loro appartenenza ad un gruppo più o meno omogeneo (i «Lambruschi» e «Groppelli») sono stati i seguenti: Aglianico, Bombino, Cabernet franc, Cabernet sauvignon, Ciliegio, Croatina, Groppello di Santo Stefano, Groppello Mocasina, Groppellone, Lagrein, Lambrusco a foglia frastagliata, Lambrusco grasparossa, Lambrusco Oliva, Lambrusco Maestri, Lambrusco Marani, Lambrusco Salamino, Lambrusco Sorbara, Lambrusco Viadense, Lancellotta, Malbec, Marzemino, Merlot, Montepulciano, Moscato rosa, Negrara trentina, Negro amaro, Petit verdot, Pinot nero, Sangiovese, Schiava gentile, Schiava grossa, Teroldego, Uva di Troia.

Le analisi hanno riguardato:

1) identificazione degli antociani per H.P.L.C., in estratti purificati, mediante il metodo di Piergiovanni-Volonterio, (1981).

La qualità di antocianine è stata espressa in malvidol-5-monoglucoside.

2) La determinazione della tonalità di colore per riflettanza mediante l'apparecchio HUNTER Lab.;

I risultati sono stati elaborati attraverso l'analisi della varianza ad un criterio di classificazione, l'analisi a grappolo («cluster analysis»), e l'analisi dei componenti principali (PCA) mediante programmi B.M.D.P. e S.P.S.S.

Tab. 1 - Risultati dell'analisi della varianza relativi ai contenuti di antocianine in funzione dell'annata e del vitigno

Fonti di variazione	G d L	Delfina		Cianina		Petunina		Peonina		Malvina		Df ac.	
		Var. media	F	Var. media	F	Var. media	F	Var. media	F	Var. media	F	Var. media	F
<i>Anni</i>													
Var. spieg.	2	7.84	ns	0.54	ns	11.55	**	13.93	ns	142.37	***	2.48	*
Var. resid.	51	2.62		0.28		1.87		11.27		18.70		0.92	
Var. totale	53	2.82		0.29		2.23		11.37		23.37		0.98	
<i>Vitigni</i>													
Var. spieg.	7	21.42	***	1.20	**	19.43	***	13.01	***	125.47	***	1.22	*
Var. resid.	72	4.30		0.32		2.95		3.10		15.72		0.48	
Var. totale	79	5.82		0.40		4.41		3.98		25.45		0.55	

\*\*\* : P ≥ 0.001

\*\* : P ≥ 0.01

\* : P ≥ 0.05

ns : non significativo

### 3. Risultati

#### 3.1. Il contenuto di antocianine

Il contenuto delle antocianine sia libere che acilate è controllato dall'annata e dal genotipo. In particolare, i vitigni presentano delle differenze statisticamente significative per quasi tutte le antocianine, ad eccezione della cianina acilata, la petunina acilata e la malvina acilata (tab. 1).

Per quanto riguarda le annate le differenze sono statisticamente significative solo per la petunina, sia libera che acilata, la malvina, la peonina acilata, le forme cumarate e cinammate. Ciò significa che il contenuto di alcune antocianine non viene modificato dall'andamento stagionale e quindi è maggiormente controllato dal genotipo (tab. 1).

Dalla tabella dei valori medi (tab. 2), si nota che i «Lambruschi» presentano i più alti valori di delfina, cianina, petunina e malvina (sia libere che acilate), mentre la peonina è particolarmente presente nella «Schiava grossa» e «gentile». I «Groppelli» sono invece ricchi di malvina acilata e i «Cabernets» di malvina cumarata.

#### 3.2. Tonalità di colore (secondo Hunter)

L'impiego del colorimetro a riflettanza di Hunter, attraverso l'espressione del valore delle tonalità cromatiche nelle scale continue di colore uniforme di «a» (rosso) e «b» (giallo), consente di operare una buona separazione tra i vitigni. Nelle fig. 1 e 2 i vitigni si distribuiscono lungo una retta ideale che parte dall'origine degli assi. I «Lambruschi» presentano i valori più elevati nel rosso, assieme al «Montepulciano», «Marzemino», «Teroldego» e «Lagrein»; per contro la «Schiava grossa» la «Schiava gentile» ed il «Moscato rosa» hanno i valori più alti nel giallo.

Il comportamento dei vitigni in base alla loro origine («Lambruschi», vitigni bordolesi, «Groppelli», vitigni trentini) è apparso abbastanza omogeneo. Fanno eccezione il «Lambrusco a foglia frastagliata» e di «Sorbara», la «Negrara trentina», il «Pinot nero» ed il «Montepulciano», che sono notevolmente discosti dai rispettivi gruppi di appartenenza geografica.

#### 3.3. Tassonomia numerica mediante l'analisi dei componenti principali e «cluster analysis»

Matematicamente l'analisi discriminante è individuata da un

numero ridotto di variabili, legate fra di loro linearmente, che massimizzano la funzione data dal rapporto tra la varianza dei gruppi e la varianza nei gruppi. I gruppi sono rappresentati dai vitigni, legati fra di loro da rapporti di affinità genetica o di origine geografica.

La scelta delle funzioni discriminanti è il risultato di un compromesso tra il grado di accuratezza richiesto e il tipo di determinazione analitica disponibile. La scelta delle variabili avviene per «step-wise» e l'ottimizzazione della procedura di classificazione si attua in base alla  $\lambda$  di Wilks. Utilizzando i componenti antocianici, via via in modo diverso (come antocianine libere, antocianine acilate) e come rapporti tra le antocianine libere e acilate è stato possibile individuare, due fattori principali che giustificano assieme, dal 76 all'86% delle variabili di base. Queste due componenti consentono così di visualizzare la dispersione tra i gruppi e di caratterizzarli in base al significato che viene attribuito alle due variabili stesse.

Considerando le antocianine libere di alcuni vitigni scelti tra i più rappresentativi tra quelli analizzati per la loro diversa origine, è stato possibile individuare due fattori principali che giustificano circa il 76% della variabilità (tab. 3). Dall'analisi della struttura discriminante si evidenziano sulla prima componente ( $F_1$ ) la peonina e la delfina, mentre sul secondo asse ( $F_2$ ), a minor capacità discriminante, la petunina e la malvina.

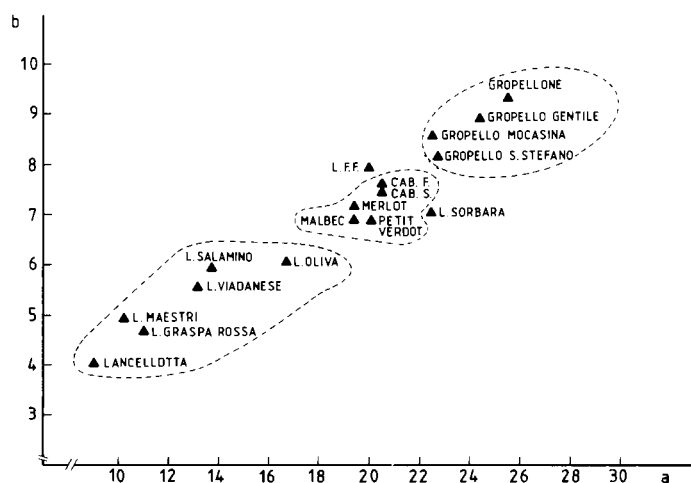


Fig. 1 - Distribuzione dei vitigni in funzione della a e b di Hunter.

Cn ac.		Pt ac.		Pn ac.		Mv ac.		Cinammati		Pn cum.		Mv cum.	
Var. media	F	Var. media	F	Var. media	F	Var. media	F	Var. media	F	Var. media	F	Var. media	F
	ns		*		*		ns		**		*		*
1	0.48	2.69	4.53	0.28	5.37	17.41	2.56	2.07	5.75	0.177	3.72	11.98	4.08
2		0.59		0.053		6.79		0.36		0.48		2.94	
3		0.67		0.062		7.19		0.42		0.53		9.28	
	ns		***		ns		ns		*		**		*
1	1.56	1.35	3.87	7.31	0.60	16.56	1.18	0.68	2.65	0.124	2.88	5.96	2.70
2		0.35		12.33		13.99		0.26		0.043		2.21	
3		0.44		11.80		14.21		0.30		0.050		2.54	

Tab. 2 - Valori medi delle antocianine delle bucce in funzione degli anni e dei vitigni

Fonti di variazione	Df	Cn	Pt	Pn	Mv	Df ac	Cn ac	Pt ac	Pn ac	Mv ca	Cinn.	Pn cu	Mv cu	
<i>Anni</i>														
1	2.24	0.82	2.21	3.58	8.06	1.13	0.25	0.99	0.64	3.22	0.97	0.49	1.73	
2	3.42	0.86	3.38	3.83	12.56	1.53	0.26	1.46	0.66	5.03	1.38	0.47	3.09	
3	2.32	0.54	1.85	2.19	7.40	0.79	0.19	0.70	0.44	5.45	0.69	0.31	1.64	
D M S 0.05	ns	ns	1.09	ns	4.36	ns	ns	ns	0.18	ns	0,48	ns	ns	
<i>Vitigni</i>														
Aglianico	0.383	0.073	0.493	0.676	5.618	0.112	0.019	0.055	0.088	0.631	0.371	0.224	2.248	
Bombino	0.049	0.014	0.064	0.087	1.161	0.087	0.006	0.019	0.034	0.167	0.269	0.054	0.645	
Cabernet franc	3.650	0.405	3.525	1.900	16.135	1.445	0.107	1.255	0.585	6.130	2.020	0.660	6.550	
Cabernet sauvignon	0.724	0.162	0.534	0.675	2.830	0.289	0.058	0.223	0.245	1.715	0.214	0.103	0.434	
Ciliegiolo	0.607	0.243	0.863	0.986	6.008	0.092	0.008	0.060	0.039	0.188	0.116	0.102	0.394	
Croatina	2.610	0.350	2.500	2.100	10.710	0.560	0.065	0.530	0.250	1.795	0.635	0.360	2.300	
Groppello gentile	0.507	0.970	0.489	1.928	1.446	0.070	0.068	0.046	0.089	0.148	0.270	0.182	0.142	
Groppello S. Stefano	0.637	1.079	0.629	2.000	1.781	0.056	0.072	0.059	0.103	0.182	0.309	0.234	0.200	
Groppellone	0.452	0.513	0.516	2.231	2.852	0.082	0.049	0.065	0.137	0.232	0.231	0.205	0.305	
Lagrein	3.920	0.803	3.409	2.906	9.436	0.934	0.181	0.984	0.550	2.799	0.851	0.353	1.527	
Lambrusco foglia frastagliata	2.008	1.713	1.835	7.594	5.115	0.244	0.133	0.187	0.411	0.542	0.383	0.380	0.404	
Lambrusco Grasparossa	6.855	1.925	6.811	6.751	18.709	0.699	0.057	0.458	0.215	1.302	0.658	0.386	1.338	
Lambrusco Maestri	8.624	1.851	7.174	2.982	12.887	3.459	0.519	3.074	0.757	5.977	1.311	0.559	2.492	
Lambrusco Marani	1.155	0.187	1.342	1.335	6.009	0.173	0.049	0.258	0.200	1.102	0.313	0.274	0.954	
Lambrusco Oliva	6.609	1.549	5.731	1.072	11.033	1.359	0.557	1.618	0.168	3.363	1.163	0.146	1.560	
Lambrusco Salamino	3.497	0.288	3.073	0.293	8.901	0.487	0.101	0.941	0.066	2.690	0.480	0.048	1.016	
Lambrusco Sorbara	1.707	0.408	1.702	1.775	8.454	0.228	0.081	0.307	0.238	1.354	0.479	0.294	1.207	
Lambrusco Viadanese	1.426	0.366	2.501	0.775	13.441	0.482	0.221	0.893	0.357	5.509	1.261	0.345	5.012	
Lancellotta	12.648	1.338	9.574	3.047	21.827	2.126	0.228	1.836	3.733	2.428	2.623	0.728	4.703	
Malbec	1.845	0.339	1.535	1.075	7.540	0.682	0.186	0.635	0.485	3.486	1.065	0.472	2.714	
Marzemino	5.552	0.581	3.864	1.618	14.791	2.407	0.277	1.984	0.643	8.901	1.193	0.439	3.780	
Merlot	1.215	0.237	1.112	1.054	6.843	0.376	0.091	0.448	0.385	2.952	0.619	0.380	1.687	
Montepulciano	5.866	1.395	4.994	2.234	10.281	1.442	0.364	1.411	0.388	3.515	1.335	0.617	2.527	
Moscato rosa	0.186	0.328	0.262	6.194	2.840	0.014	0.035	0.013	0.040	0.045	0.138	0.283	0.136	
Negrara trentina	0.659	0.505	0.854	2.391	3.714	0.033	0.028	0.039	0.074	0.039	0.192	0.182	0.169	
Negro amaro	0.551	0.537	0.731	0.706	2.844	0.063	0.038	0.060	0.032	0.273	0.380	0.129	0.664	
Petit Verdot	1.323	0.139	1.492	0.677	6.717	0.872	0.071	0.884	0.359	3.787	0.511	0.208	1.432	
Pinot nero	2.260	0.712	2.408	4.856	9.571	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
Sangiovese	0.976	2.033	1.269	2.201	3.565	0.069	0.039	0.023	0.047	0.059	0.129	0.062	0.108	
Schiava gentile	0.080	0.180	0.115	5.350	0.530	0.050	0.55	0.135	0.185	0.075	0.160	0.225	0.045	
Schiava grossa	0.330	1.620	0.560	9.300	2.600	0.100	0.070	0.475	0.245	0.130	0.390	0.775	0.145	
Teroldego	4.494	0.626	3.513	1.450	11.036	1.359	0.193	1.332	0.445	5.114	1.218	0.361	2.434	
Uva di Troia	0.750	0.086	0.698	0.377	4.926	0.323	0.101	0.367	0.290	3.930	1.218	0.411	5.336	
D.M.S. 0.05	4.03	0.21	2.78	3.11	5.81	0.97	ns	0.36	ns	2.12	0.57	0.63	1.02	

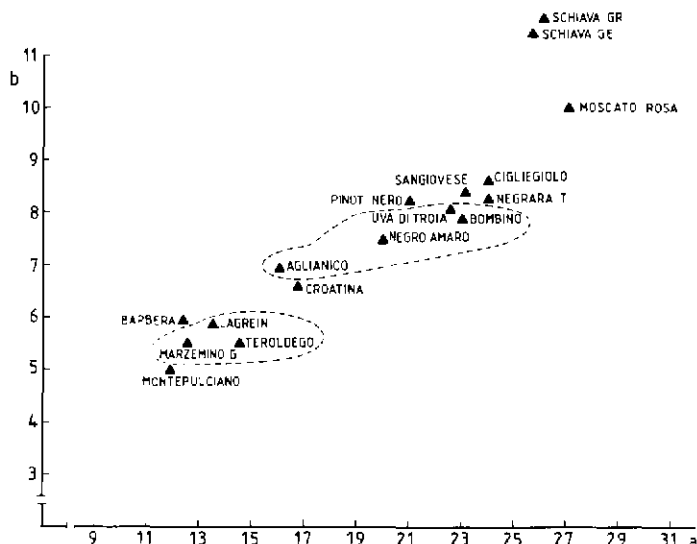


Fig. 2 - Distribuzione dei vitigni in funzione della a e b di Hunter.

Tab. 3 - Coefficienti delle prime due funzioni discriminanti standardizzate e relativi autovalori delle antocianine libere

Parametri	Funzione 1	Funzione 2
Delfina	-0.64	-1.80
Cianina	0.25	0.71
Petunina	0.17	3.93
Peonina	0.87	-0.67
Malvina	-0.34	-1.95
Autovalori	9.87	4.21
% variabilità	53.44	22.81

Dall'analisi della mappa dei centroidi dei genotipi è possibile differenziare sulla prima funzione la «Schiava grossa», la «Schiava gentile», il «Lambrusco a foglia frastagliata», il «Merlot» ed il «Marzemino», mentre sulla seconda il «Teroldego» ed il «Malbec» (fig. 3).

Analizzando le forme acilate delle antocianine, si possono evidenziare anche per queste, due fattori principali che giustificano circa l'80% della variabilità. I parametri di maggior peso discriminante sono sul primo asse, la petunina acilata e la peonina acilata.

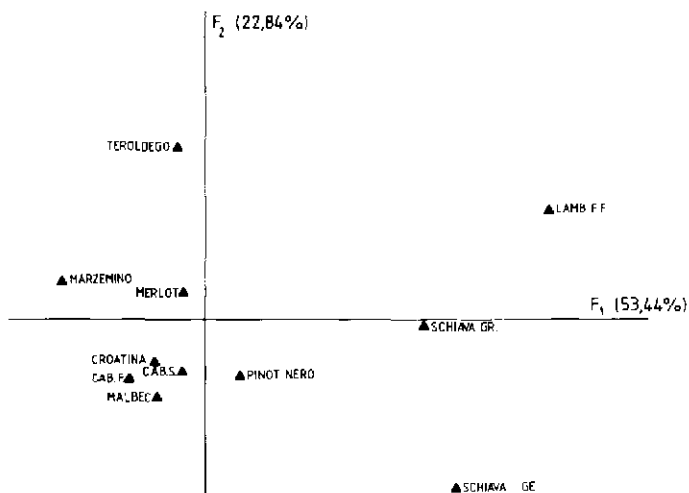


Fig. 3 - Distribuzione di alcuni vitigni saggianti sulle prime due funzioni discriminanti mediante l'impiego delle antocianine libere.

Tab. 4 - Coefficienti delle prime due funzioni discriminanti standardizzate e relativi autovalori delle antocianine acilate

Parametri	Funzione 1	Funzione 2
Delfina acilata	0.17	-0.44
Cianina acilata	0.11	0.30
Petunina acilata	2.03	-0.13
Peonina acilata	-1.35	0.93
Malvina acilata	-0.59	0.39
Autovalori	9.56	4.29
% variabilità	59.25	24.78

lata, mentre sul secondo asse è la peonina acilata (tab. 4). Sulla prima funzione si differenziano la «Schiava gentile», il «Marzemino», il «Lambrusco a foglia frastagliata», mentre sulla seconda funzione il «Teroldego» ed il «Pinot nero» (fig. 4). Anche l'impiego dei rapporti tra le forme acilate e libere delle antocianine, consente di individuare due fattori principali che giustificano circa l'86% della variabilità. Il maggior potere discriminante è offerto sulla prima componente del rapporto malvina acilata / malvina + malvina acilata; mentre sul secondo asse prevale il rapporto petunina acilata / petunina + petunina acilata (tab. 5).

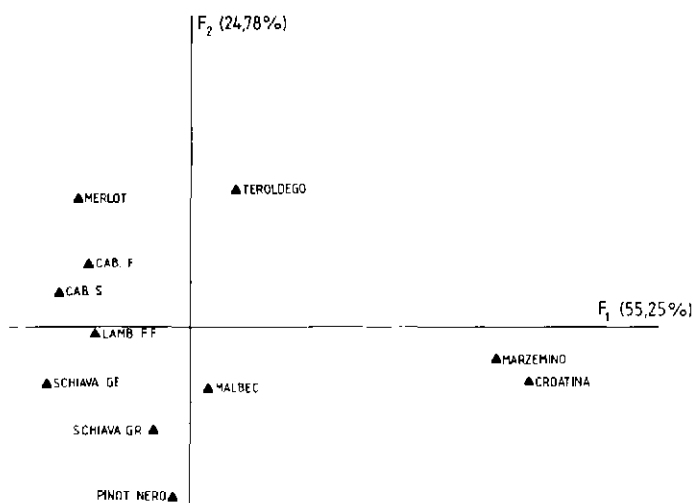


Fig. 4 - Distribuzione di alcuni vitigni saggianti sulle prime due funzioni discriminanti mediante l'impiego delle antocianine acilate.

Tab. 5 - Coefficienti delle prime due funzioni discriminanti standardizzate e relativi autovalori dei rapporti tra antocianine libere ed acilate

Parametri	Funzione 1	Funzione 2
Df ac/df + df ac	0.09	-0.13
Cn ac/cn + cn ac	0.21	-0.11
Pt ac/pt + pt ac	-0.10	1.03
Pn ac/pn + pn ac	0.18	0.52
Mv ac/mv + mv ac	0.85	0.13
Autovalori	18.88	4.83
% variabilità	68.65	17.58

Adottando un sistema di variabili più complesso, costituito cioè dagli antociani liberi, acilati e relativi rapporti e considerando tutti i vitigni, si evidenzia una struttura discriminante formata da due assi che giustificano circa il 74% della variabilità complessiva.

Appaiono ben discriminati i gruppi costituiti dai «Lambruschi», dai vitigni bordolesi, trentini e pugliesi, mentre per gli altri rag-

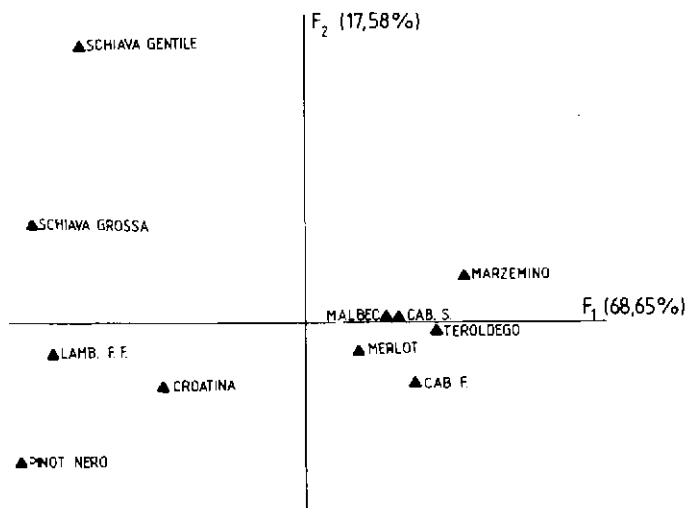


Fig. 5 - Distribuzione dei vitigni sulle prime due funzioni discriminanti mediante l'impiego dei rapporti  $RdF = Df_{ac}/Df + Df_{ac}$ ;  $RcN = Rn_{ac}/Cn + Cn_{ac}$ ;  $RpT = Pt_{ac}/Pt + Pt_{ac}$ ;  $RpN = Pn_{ac}/Pn + Pn_{ac}$ ;  $RmV = Mv_{ac}/Mv + Mv_{ac}$ .

Tab. 6 - Coefficienti delle prime due funzioni discriminanti standardizzate e relativi autovalori dei costituenti antocianici delle bucce (forme libere ed acilate)

Parametri	Funzione 1	Funzione 2	Funzione 3
Delfina	0.1752	3.6821	-2.9938
Cianina	-0.2677	-0.0116	1.3789
Petunina	-0.5462	-6.3474	0.7272
Peonina	0.6891	0.4896	-0.8071
Malvina	1.8477	1.4646	1.0837
Delfina Ac.	-2.0996	0.3185	0.6028
Petunina Ac.	2.7262	-0.1478	-0.3369
Malvina Ac.	0.0176	0.4408	0.8911
Cinammati	-0.5657	2.4844	1.9951
Malvina Cumarato	-1.2120	-1.9423	-2.4496
Autovalori	2.6882	1.2329	0.7361
% variabilità	50.86	23.33	13.93

raggruppamenti non è possibile tracciare delimitazioni così precise (fig. 5 e tab. 6).

Operando su una struttura discriminante a tre assi, viene confermato quanto era rimasto da una struttura a due assi e viene messo in evidenza il comportamento dei raggruppamenti 1 e 3, leggermente diversi da tutti gli altri (fig. 7 e tab. 6).

L'analisi a grappolo («cluster analysis») conferma in larga parte la suddivisione in raggruppamenti per origine geografica fatta dall'analisi dei componenti principali e ciò significa che vi è una sostanziale omogeneità nelle differenze tra i raggruppamenti. Si nota una maggiore differenziazione del raggruppamento costituito dalla «Vitis silvestris». È inoltre possibile individuare nel «cluster» una zona centrale di raggruppamenti poco differenziati, (vitigni trentini, vitigni toscani, vitigni padani e vitigni bordolesi), mentre i raggruppamenti costituiti dai vitigni pugliesi, «Groppelli» e «Lambruschi» si differenziano abbastanza, sia dalla zona centrale che dal raggruppamento costituito dalla «Vitis silvestris» (fig. 8).

#### 4. Conclusioni

La possibilità di costituire dei raggruppamenti omogenei di genotipi, in base alla loro origine geografica, attraverso l'applica-

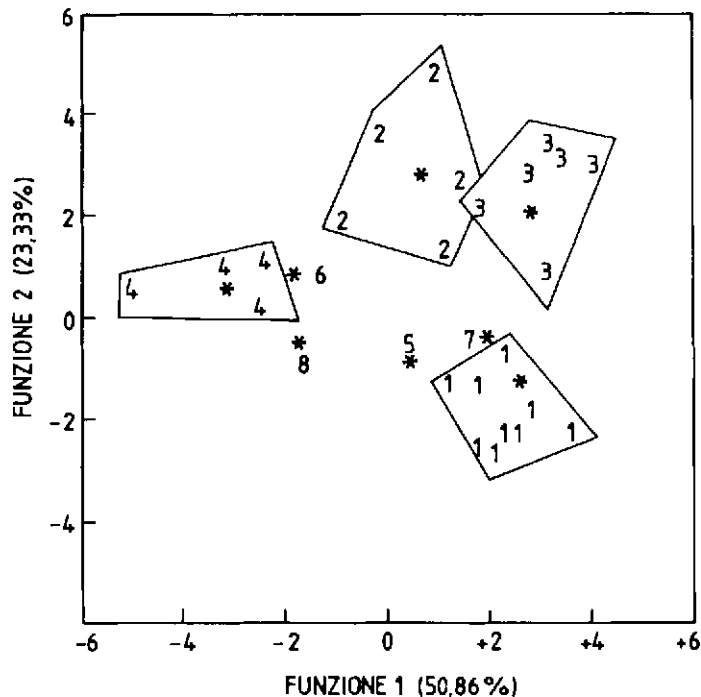


Fig. 6 - Distribuzione dei raggruppamenti dei vitigni nello spazio discriminante rappresentato dalle due prime funzioni. Sono riportati per intero solo i raggruppamenti più omogenei e ben differenziati. Sono stati impiegati i risultati relativi alle antocianine libere, acilate ed ai rapporti tra di esse.  
 1) «Lambruschi» 5) Vitigni toscani  
 2) Vitigni bordolesi 6) «Groppelli»  
 3) Vitigni trentini 7) Vitigni padani  
 4) Vitigni pugliesi 8) «Vitis silvestris»

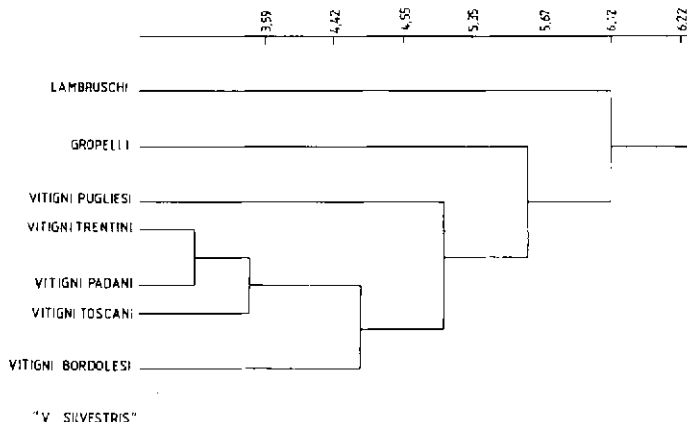


Fig. 7 - Classificazione gerarchica tra i raggruppamenti di vitigni in funzione della loro origine geografica.

zione dell'analisi discriminante, è essenzialmente legata alla capacità di alcuni «metaboliti secondari» (esempio antocianine), di operare un'adeguata differenziazione e classificazione dei vitigni. A tale scopo è necessario che per i diversi costituenti antocianici esista un'adeguata variabilità tra i vitigni e che questa variabilità sia per contro dovuta in misura modesta al fenotipo (annata). In particolare alcune antocianine appaiono controllate più di altre dal genotipo (petunina, malvina, i cinammati e le forme cumarate).

L'analisi multivariata, eseguita su 4 gruppi omogenei di parametri, ha consentito di differenziare i vitigni saggiati. I migliori risultati sono stati raggiunti utilizzando rispettivamente sia i rapporti tra le forme libere ed acilate, sia tutte le antocianine, separate per cromatografia liquida ad alta pressione. Attraverso que-

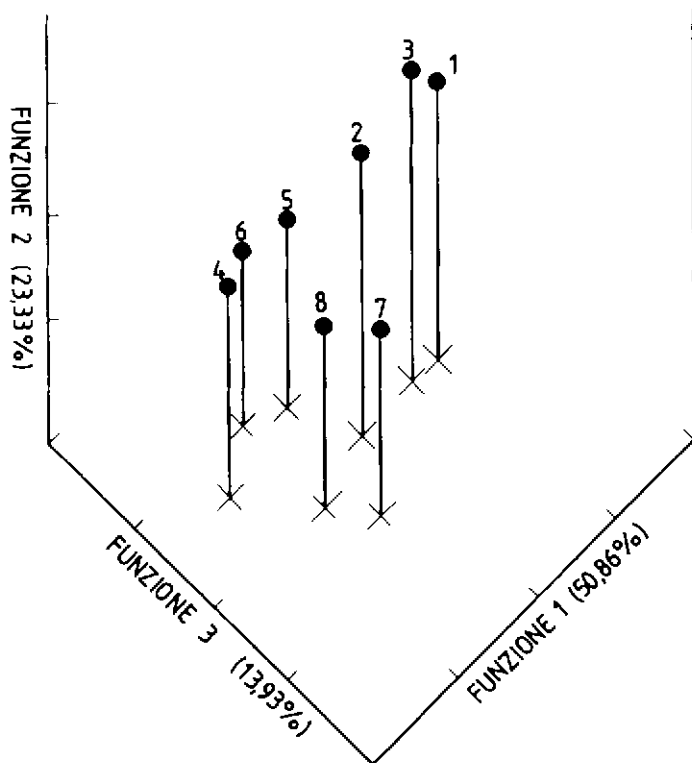


Fig. 8 - Distribuzione dei centroidi dei raggruppamenti dei vitigni sulle prime tre funzioni discriminanti in funzione della loro origine geografica.

- |                      |                       |
|----------------------|-----------------------|
| 1) «Lambruschi»      | 5) Vitigni toscani    |
| 2) Vitigni bordolesi | 6) «Groppelli»        |
| 3) Vitigni trentini  | 7) Vitigni padani     |
| 4) Vitigni pugliesi  | 8) «Vitis silvestris» |

st'ultima struttura discriminante si sono potuti raggruppare i vitigni a seconda della loro comune origine geografica («Lambruschi», vitigni bordolesi, vitigni trentini, vitigni pugliesi, «Groppelli» ecc.). L'analisi multivariata, ha quindi suddiviso i vari genotipi in gruppi aventi fra di loro diversi caratteri di dissimilarità ed ha operato un'efficace distinzione tra questi, in base ad uno o più composti antocianinici, cosiddetti discriminanti.

Quest'ultimi appaiono molto importanti per il riconoscimento e l'accertamento dell'origine ancestrale dei diversi vitigni.

Anche una tecnica semplice, come analisi del colore secondo Hunter, permette una buona separazione tra i vitigni.

Tali accertati trattamenti biochimici possono quindi affiancare vantaggiosamente metodologie ampelografiche descrittive, soprattutto nel riconoscimento dei vitigni, nelle sinonimie errate e negli studi di filogenesi viticola.

#### BIBLIOGRAFIA

- Albach R.G., Kepner R., Webb A. (1959) - *Comparison of anthocyan pigments of red vinifera grapes*. Amer. J. Enol. Vitic. 10, 164.
- Almedullah M., Wolfe W.H. (1981) - *Starch gel elettrophoresis of grape pollen*. Horticultural Science. 16 (3).
- Anderson D.V., Gueffroy D.E., Webb A.D., Kepner R.E. (1970) - *Identification of acetic acid as an acylating agent of anthocyanin pigments in grapes*. Phytochemistry, 9: 1579-1583.
- Astegiano V., Ciolfi G. (1974) - *Indagine sui costituenti antocianici dei vini rossi piemontesi*. Riv. Vit. Enol., 27: 496.
- Bayer E., Bassler E. (1961) - *Systematische Identifizierung von Estern in Weinaroma*. Zeitung Anal. Chem. 181: 418-424.
- Boubals D., Truel P., Bourzeix M., Kovoc V., Giosano T. (1968) - *Etude de différentes couleurs de baies chez la vigne Vitis vinifera*. Ann. Technol. Agric., 17: 257-260.
- Cappelleri G., Liuni C.S., Calò A. (1966) - *Esame dei principali vitigni*

- da vino coltivati in Italia per mezzo della carta-cromatografica dei loro componenti antocianici*. Atti Acc. Ital. Vite e Vino, XXVIII, 425.
- Colagrande O., Grandi G. (1960) - *Contributo allo studio dei pigmenti antocianici dell'uva*. Ann. Sperim. Agr. 14: 325.
- Czapek F. (1913-1921) - *Biochemie der Pflanzen*. Vol. I-II, 2nd. Edn. G. Fischer, Jena.
- Dal Belin Peruffo A., Varanini Z., Maggioni A. (1981) - *Caractérisation d'espèces, variétés et clones de vignes au moyen de l'électrophorèse d'extraits enzymatique de feuilles*. IIème Symp. Int. sur la sélection clonale de la vigne, 31-40.
- Danko E., Asvany. (1982) - *Pigments in the red wine grape varieties of Hungary*. Szőlőtermesztés és Borászat. 3: 4-10.
- Di Stefano B., Corino L. (1984) - *Terpeni ed antociani di alcune uve rosse aromatiche*. Riv. Vitic. Enol., 10: 581-595.
- Drawert F. (1961) - *Über Anthocyane in Trauben, Mosten und Weinen*. Vitis. 2: 288-304.
- Eynard I. (1969) - *Ampelografia e metodi ampelometrici*. Quaderni di Viticoltura n. 9, Università di Pisa 1-38.
- Golodriga E., Doubovicenko N.P. (1978) - *Anthocyanes et génotype chez la Vigne*. II Symp. Int. Amel. Vigne INRA, Paris, 413-416.
- Harboren J.B. (1967) - *Comparative biochemistry of the flavonoids*. Academic Press, New York.
- Hegnauer R. (1961-69) - *Chemotaxonomie der Pflanzen: eine Übersicht über die Verbreitung und die Systematische Bedeutung der Pflanzenstoffe*. Birkhäuser, Basel u. Stuttgart 5 Vol.
- Hrazdina G., Frazese A.J. (1974) - *Structure and properties of the acylated anthocyanins from Vitis species*. Phytochemistry, 13: 225-229.
- Lefort P.L. (1980) - *Biometrical analysis of must aromograms: application to grape breeding*. Proc. of the Third Int. Symp. on grape breeding. Davis, 120-129.
- Linder R., Linskens H.F. (1978) - *Le pollen de vigne d'Alsace*. Génétique et amélioration de la vigne. INRA, 75-79.
- Liuni C.S., Calò A., Cappelleri G. (1966) - *Contributo allo studio sui pigmenti antocianici di alcune specie del genere Vitis e di loro ibridi*. Atti Acc. Ital. Vite e Vino, XVIII.
- Mc Closkey P.L., Yengoyan L.S. (1981) - *Analysis of anthocyanins in Vitis vinifera wine and red color versus aging HPLC and spectrophotometry*. Am. J. Enol. Vitic., 32: 257-261.
- Piergiorgio L., Volonterio G. (1981) - *Studio della frazione antocianica delle uve*. Nota I Vignevini 8: 49-53.
- Rankine B.C., Kepner R., Webb A.D. (1958) - *Comparison of anthocyan pigments of Vinifera grapes*. Amer. J. Enol. Vitic., 9: 105.
- Rapp A., Knipser W., Hastrich H., Engel L. (1980) - *Ricerche sugli aromi del vino e delle bacche d'uva. Possibilità di caratterizzazione varietale*. Symp. di Enologia. S. Michele a/A, 7: 56.
- Ribereau-Gayon P. (1953) - *Différenciation des matières colorantes des raisins et des vins des cépages français et hybrides*. C.R. Acad. Agric. de France, 39: 800-807.
- Ribereau-Gayon P., Sudraud P., Duraquety M. (1955) - *Relation entre génétique et nature chimique des pigments anthocyaniques de la baie dans le genre Vitis*. Rev. Gen. Bot., 62: 624-667.
- Ribereau-Gayon P. (1959) - *Recherches sur les anthocyanes des végétaux. Application à genre Vitis*. Librairie générale de l'enseignement, Paris.
- Ribereau-Gayon P. (1964) - *Les composés phénoliques du raisin et du vin*. Ann. Physiol. vég. INRA Paris (tiré à part).
- Ribereau-Gayon P., Stonestreet E. (1965) - *Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge*. Bull. Soc. Chim. Franc. 419: 2648-2652.
- Ribereau-Gayon P. (1968) - *Les composés phénoliques des végétaux*. Dunod, Paris.
- Ribereau-Gayon P. (1970) - *Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges*. Chim. Aal. 56.
- Ribereau-Gayon P. (1976) - *The chemistry of Winemaking*. (A.D. Webb ed.) Adv. in Chem. Sez. 137: 50-87 American chemical Soc. Washing.
- Samaan L.G., Wallace D.H. (1981) - *Taxonomic affinities of 5 cultivars of Vitis vinifera as aided by serological analysis of pollen proteins*. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 106: 804-809.
- Schwenneken J., Mielke E.A., Wolfe W.H. (1982) - *Identification of seedless table grape cultivars and a bud sport with berry isozymes*. Hort-Science, 17: 366-368.
- Singleton V., Esau P. (1969) - *Phenolic substances in grape and wine and their significance*. Academic Press. New York.
- Turner B. (1969) - *Chemosystematics: recent developments*. Taxon, 18: 134-151.
- Wilkinson M., Sweeny J.G., Iacobucci G.A. (1977) - *High-pressure liquid chromatography of anthocyanidins*. J. of chromatography: 132: 349-351.
- Wolfe W.H. (1976) - *Identification of grape varieties by isozyme banding patterns*. Am. Jour. Enol. Vit., 27/68-73.

Wulf L.W., Nagel C.W. (1978) - *High-pressure liquid chromatographic separation of anthocyanins of Vitis vinifera*. Am. J. Enol. Vitic., 29: 42-49.

Wulf L.W., Nagel C.W. (1976) - *Analysis of phenolic acids and flavonoids by high-pressure liquid chromatography*. J. of chromatography, 116:

271-279.

Zamorani A., Pifferi G. (1964) - *Contributo alla conoscenza della sostanza colorante dei vini, identificazione e valutazione quantitativa degli antociani di vini di Vitis vinifera (Merlot) e da ibridi (Clinto e Baco)*. Riv. Vitic. Enol., 17: 85-93.

## RESUME

### LE PROFIL ANTHOCYANIQUE DES RAISINS COMME METHODE TAXONOMIQUE POUR DIFFERENCIER LES CEPAGES ROUGES

Les systèmes actuels d'identification et de classification des cépages sont basés sur des méthodes ampélographiques. Les progrès récents réalisés dans ce domaine se limitent à enregistrer sur ordinateur des descriptions morphologiques. Les améliorations réalisées ces dernières années par les techniques analytiques permettent un emploi plus généralisé des méthodes chimiques applicables aux études taxonomiques (chimiotaxonomie).

La présente recherche, utilisant d'un côté les résultats analytiques relatifs à la fraction anthocyanique de la peau (anthocyanes libres et estérifiés différemment) déterminés par HPLC et d'un autre côté l'analyse multivariée (analyse des principaux composants) a permis la caractérisation et la séparation de 35 cépages et croisements environ en groupes bien distincts. Le pouvoir discriminant maximum a été offert par le rapport entre les formes libres et estérifiées des anthocyanes.

La séparation de cépages en groupes a été effectuée en fonction de leur origine géographique (cépages du Sud-Ouest de la France, du Trentin, de Bourgogne, de la Plaine du Pô, etc.), même s'il existe quelques exceptions.

Le groupe des croisements obtenus par les cépages bordelais et trentins est dans une position intermédiaire entre les géniteurs.

## ETUDES SUR LE MATERIEL INTRODUIT DANS LES COLLECTIONS AMPELOGRAPHIQUES EN VUE DE SON IDENTIFICATION ET DE LA RECHERCHE DES SYNONYMES

P. TRUEL (1) - J.M. BOURSICQUOT (2)

(1) Station de Recherches Viticoles - I.N.R.A. - Marseillan (France)

(2) Chaire de Viticulture - E.N.S.A.M. - Montpellier ( France)

L'identification des cépages a toujours été nécessaire, aussi bien au niveau de l'application des règlements et du contrôle des plantations, qu'à celui de la recherche et de l'expérimentation. La raison principale en est l'influence primordiale des variétés sur les caractéristiques de la production viticole.

Il n'est pas nécessaire de connaître exactement le nombre de cultivars, qui d'ailleurs peut s'accroître indéfiniment du fait de la création variétale, mais il suffit de savoir qu'il se chiffre par milliers à l'intérieur d'une même espèce *Vitis Vinifera*, pour juger les difficultés qui peuvent se présenter au cours des identifications.

La mémoire visuelle est incapable de reconnaître la totalité de ce matériel et de nombreux auteurs ont procédé à des descriptions pour établir des références durables, auxquelles il est possible de se reporter pour vérifier l'identité du matériel rencontré dans les vignobles.

Mais le problème le plus fréquent et le plus difficile à résoudre est celui de l'identification des cépages inconnus. Là aussi la mémoire visuelle permet dans certains cas de trouver la solution, mais ses limites sont atteintes assez rapidement.

Vu le nombre important de cépages, il paraît indispensable de trouver un moyen de lui venir en aide et, pour cela, d'exploiter les informations recueillies au cours des descriptions.

C'est surtout ce second aspect de l'utilisation des descriptions que nous proposons d'examiner, après avoir indiqué rapidement la manière dont elles ont été effectuées et la confiance qui peut leur être accordée pour vérifier l'identité des cépages.

### Descriptions

Dans la collection établie sur le domaine de Vassal il a été procédé à environ 7.500 descriptions, dont 5.500 concernent les clones de 2.100 variétés de *Vitis vinifera*.

Ces descriptions ont été réalisées en suivant le schéma établi en 1951 par la commission ampélographique de l'O.I.V. en vue des publications dans le Registre Ampélographique International.

Au total 65 caractères, pour lesquels 267 niveaux d'expression ont été définis, ont fait l'objet d'une description.

Ils se répartissent ainsi sur les différents organes:

jeune rameau	3 caractères et	17 niveaux d'expression
jeune feuille	6 caractères et	41 niveaux d'expression
rameau	7 caractères et	26 niveaux d'expression
inflorescence	1 caractère et	3 niveaux d'expression
feuille adulte	26 caractères et	105 niveaux d'expression
grappe	5 caractères et	14 niveaux d'expression
baie	17 caractères et	61 niveaux d'expression

On remarquera que les descriptions portent essentiellement sur les caractères de la feuille adulte et de la baie.

Les caractères de la feuille adulte ont l'avantage d'être visibles pendant une longue période de végétation (plus de 3 mois) et par ailleurs un certain nombre d'entre eux peuvent être observés sur les feuilles séchées en herbier dont la conservation peut durer plusieurs dizaines d'années.

L'observations des grappes est d'une durée plus limitée puisque la plupart des caractères ne peuvent être notés avec précision qu'au stade de la maturité des baies. Mais certains tels que la couleur, la forme, la saveur et la grosseur des baies, la coloration de la pulpe, sont relativement fiables et souvent pris en considération parce que leur influence sur les caractéristiques de la production viticole est primordiale.

Les descriptions sont utilisées le plus souvent pour vérifier l'identité d'un cépage. Il est cependant rare de pouvoir affirmer, avec une certitude absolue, l'identité d'une variété par comparaison avec une description.

Cette identité est d'autant plus probable que le nombre de caractères présentant la même valeur est plus élevé, mais le fait que beaucoup de caractères décrits montrent sur une même variété une fluctuation plus ou moins grande ne permet pas en général d'être plus affirmatif.

Lorsqu'il subsiste un doute, l'identité ne peut, en fait, être établie avec certitude, que par la comparaison dans un même lieu du cépage à identifier et des variétés de référence. Cette possibi-

lité d'effectuer ces comparaisons est un des avantages présentés par les collections de plein champ par rapport aux autres formes de conservation du matériel végétal.

Par contre, en ce référant à une description, il est possible d'affirmer l'inexactitude d'une dénomination variétale. Il suffit pour cela de s'appuyer sur deux niveaux d'expression nettement distincts d'un caractère qui ne présente pas, ou peu, de fluctuation. C'est le cas, par exemple, pour la couleur, la forme, la grosseur ou la saveur des baies.

Plus la fluctuation est importante, plus la différence sur laquelle repose la distinction doit être grande. Il faut estimer les limites probables de la fluctuation d'après l'examen de l'échantillon et, s'il est évident qu'elles n'englobent pas le niveau d'expression du caractère indiqué dans la description, on en déduit que les deux variétés sont distinctes. Il en est ainsi pour la découpe et la villosité des feuilles.

Sans minimiser l'intérêt des descriptions, particulièrement lorsqu'elles sont illustrées de photographies de feuilles et de grappes, pour contrôler l'identité des cépages trouvés dans le vignoble sous diverses dénominations, il semble encore plus intéressant de voir de quelle manière elles pourraient être utilisées pour faciliter l'identification de cépages inconnus.

### Identification

C'est le problème qui est le plus fréquemment posé au spécialiste de l'ampélographie, auquel on remet généralement un ou plusieurs rameaux porteurs de grappes en lui demandant d'identifier la cépage.

Il fait alors appel à sa mémoire qui peut lui suggérer une hypothèse quant à l'identité recherchée, et il procède ensuite à la comparaison de l'échantillon au matériel de référence dont il dispose.

Il est évident que les chances d'identification sont, dans ces conditions, limitées par la mémoire de l'opérateur et, pour en augmenter le nombre, on peut envisager de rechercher, dans un fichier de références, les variétés dont la description est identique ou proche de celle du cépage inconnu. L'ensemble des descriptions ayant été enregistrés sur support magnétique (cartouche), cette opération est grandement facilitée par l'utilisation d'un ordinateur.

Théoriquement, si le niveau d'expression des caractères décrits était unique et stable pour une même variété, et si la population des cépages se distribuait d'une manière homogène entre les divers niveaux d'expression, il suffirait d'exploiter un petit nombre de caractères pour obtenir son identité ou tout au moins une liste réduite de cépages avec lesquels l'exemplaire inconnu pourrait être comparé.

En effet  $\left(\frac{1}{4}\right)^6 = \frac{1}{4096}$ ,  $\left(\frac{1}{3}\right)^8 = \frac{1}{6561}$  et  $\left(\frac{1}{2}\right)^{12} = \frac{1}{4096}$

alors que le nombre de descriptions est de 5.500. Cela signifie que la prise en compte de 6, 8 ou 12 caractères présentant 4, 3 ou 2 niveaux d'expression pourrait aboutir à l'identification.

En réalité il est loin d'en être ainsi pour de nombreuses raisons.

### Fluctuations des caractères

La plupart des caractères morphologiques présentent une fluctuation qui peut, sur un même cépage, intéresser plusieurs niveaux d'expression.

Sur 65 caractères décrits il s'en trouve seulement 6 dont la fluctuation peut être considérée comme nulle ou généralement faible.

Ces caractères sont:

- sexe des fleurs
- couleur de la pellicule des baies
- coloration de la pulpe
- forme des baies
- saveur des baies
- présence de pépins.

Encore faut-il noter que:

- pour la couleur des baies, les niveaux d'expression gris, rose et rouge peuvent parfois se rencontrer dans la description d'une même variété.
- pour la forme, une certaine fluctuation peut apparaître entre les baies sphériques et légèrement ellipsoïdes: Grenache, Carignan, Pinot.
- pour la saveur, la différence entre aromatique et musqué n'est pas toujours nettement perçue.

La fluctuation qui se manifeste sur tous les autres caractères est plus ou moins importante selon le caractère, mais aussi selon le cépage.

En effet on peut estimer l'importance de cette fluctuation par les fréquences relatives dans deux ou plusieurs niveaux d'expression contigus. Il est évident que, selon le cépage, la fluctuation apparente sera plus ou moins forte selon que la valeur moyenne d'un caractère se situera plus ou moins près d'une limite entre les niveaux d'expression.

Ce caractère ne pourra donc être utilisé que dans certains cas, et ce sera l'examen de l'échantillon inconnu qui permettra de choisir les caractères retenus pour la recherche des références.

Un exemple concret devrait permettre d'illustrer cette manière de procéder.

On considèrera l'angle que forment, sur les feuilles d'herbier, les nervures principales  $L_1$  et  $L_2$ , qui peut être:

inférieur à  $180^\circ$ : niveau d'expression 2  
égal ou supérieur à  $180^\circ$ : niveau d'expression 3.

Les mesures faites sur des échantillons de 10 feuilles de différents cépages se distribuent ainsi:

	Chenin	Ugni b	Chardonnay	Clairette	Chasselas
niveau d'expression 2	20	9	20	3	8
niveau d'expression 3	0	11	0	17	12

S'il s'agissait d'échantillons de cépages inconnus, ce caractère pourrait être utilisé dans le cas du Chenin, du Chardonnay et de la Clairette, mais serait inutilisable pour l'Ugni blanc et le Chasselas.

Un autre exemple de la façon dont un caractère fluctuant peut être utilisé concerne la découpe des feuilles qui est exprimée par le nombre de lobes.

Il a été attribué à ce caractère 5 niveaux d'expression:

feuille	entière:	niveau	d'expression	12
»	à 3 lobes:	»	»	13
»	à 5 lobes:	»	»	14
»	à 7 lobes:	»	»	15
»	à 9 lobes:	»	»	16.

Les comptages effectués comme précédemment, sur des échantillons de 10 feuilles, ont donné les résultats suivants:

niveau d'expression		Cab.					
		Sauv.	Syrah	Chardon.	Dattier	Cot	Panse
niveau d'expression 12		0	0	6	0	1	0
»	» 13	0	0	2	4	4	1
»	» 14	3	10	2	5	5	3
»	» 15	3	0	0	1	0	5
»	» 16	4	0	0	0	0	1

Sur ce caractère la fluctuation semble, d'une manière générale, assez importante, mais il doit être tenu compte du nombre assez élevé de niveaux d'expression (5).

Il est possible dans ce cas d'effectuer la recherche des références qui présentent deux niveaux d'expression au lieu d'un seul. Ainsi pour un échantillon du type Cabernet Sauvignon on recherchera les variétés qui présentent les niveaux 15 et 16, et les niveaux 12 et 13 pour un cépage du type Chardonnay.

On pourrait également procéder par élimination et écarter toutes les références qui présentent les niveaux d'expression:



12 et 13 dans le cas du Cabernet Sauvignon  
15 et 16 dans le cas du Chardonnay et du Cot.

Par contre l'utilisation du niveau d'expression 14 pour la Syrah ne présenterait que peu d'intérêt à cause de sa faible sélectivité.

### Sélectivité des niveaux d'expression

Dans l'hypothèse théorique la plus favorable nous avons supposé que la population des cépages se distribuait, pour chaque caractère, d'une manière homogène entre les divers niveaux d'expression. Or dans la réalité il est loin d'en être ainsi.

La première opération réalisée après l'enregistrement sur cartouche des descriptions a été d'établir la fréquence relative de chacun des 267 niveaux d'expression sur l'ensemble de la population des clones de *V. vinifera* dont la description a été enregistrée (5.226). Elle varie de 0,8 p. mille (fleurs mâles sur des lambrusques) à 97,9% (nervures non dégarnies au fond du sinus pétiolaire de la feuille adulte).

Il est évident que les niveaux d'expression avec des fréquences relatives faibles sont les plus sélectifs.

Mais chaque caractère a des niveaux d'expression qui sont sélectifs et d'autres qui ne le sont pas, puisque la somme des fréquences relatives est théoriquement égale à 1 et souvent supérieure à cause de la fluctuation.

Dans le cas de la découpeure des feuilles, les fréquences relatives sont les suivantes:

niveau d'expression 12 (feuille entière)	=	0,0511
» » 13 (3 lobes)	=	0,2822
» » 14 (5 lobes)	=	0,8290
» » 15 (7 lobes)	=	0,3522
» » 16 (9 lobes)	=	0,1296
S	=	1,6441

Leur somme relativement élevée est la conséquence d'une fluctuation importante qui couvre souvent 2 et parfois 3 niveaux d'expression comme nous l'avons vu sur les exemples précédents.

On notera le manque de sélectivité du niveau d'expression 14 (5 lobes).

Par contre les 4 autres niveaux d'expression sont assez sélectifs pour être utilisés. En effet, en se basant sur une fréquence relative moyenne de 0,5 pour chaque niveau d'expression, on peut calculer qu'après une opération de recherche portant sur 7 caractères, il ne resterait plus qu'à comparer l'échantillon inconnu à une quarantaine de cépages, ce qui est facilement réalisable

$$\left(\frac{1}{2}\right)^7 = \frac{1}{128}$$

### Processus d'identification

Sans entrer plus avant dans les détails, il semble possible d'après ces quelques observations sur la fluctuation des caractères et la sélectivité des niveaux d'expression, d'envisager sous quelles conditions il pourrait être fait appel aux descriptions des variétés de référence dans un processus d'identification.

L'exemplaire inconnu doit faire l'objet d'un échantillonnage suffisant pour qu'il soit possible d'estimer la fluctuation de chaque caractère décrit.

On déterminera ainsi ceux dont la fluctuation est la plus faible, qui devront être utilisés en priorité puisqu'il est fortement probable que, si le cépage inconnu a été décrit dans le fichier de référence, il présente le même niveau d'expression que l'échantillon analysé. Il faut rappeler en effet que ce fichier a été établi en inscrivant pour chaque caractère toutes les valeurs observées.

Mais il est également souhaitable que le niveau d'expression utilisé dans chaque opération de recherche soit sélectif sur l'ensemble de la population de clones décrits.

L'idéal est de trouver sur l'échantillon inconnu un caractère

peu fluctuant qui présente un niveau d'expression très sélectif. C'est le cas du fond du sinus pétiolaire du Chardonnay qui est souvent limité par les nervures (absence du limbe).

La distribution de ce caractère sur une échantillon de 10 feuilles de Chardonnay est la suivante:

48. fond limité par les nervures de chaque côté du point pétiolaire	7
49. fond limité par du limbe	0
50. fond limité par une nervure sur un côté.	3

La fréquence de ces niveaux d'expression dans l'ensemble de la population décrite est la suivante:

48. 0,0469
49. 0,9790
50. 0,0933.

Une opération de recherche sur le niveau d'expression 48 ou sur les deux niveaux 48 et 50 est très sélective et ne comporte que peu de risque de perte de la référence.

Les niveaux d'expression très sélectifs sont ceux qui correspondent à une particularité du cépage, qui le distingue nettement des autres variétés.

Chaque fois qu'un cépage inconnu présente une telle particularité, il est avantageux de l'utiliser en premier, car elle diminue le nombre d'opérations et par conséquent les risques de perdre la référence. Elle doit cependant être assez fréquente sur l'échantillon pour que sa présence dans le fichier de référence soit assurée. Par exemple la présence une fois sur 10 d'une dent au fond du sinus pétiolaire n'est pas suffisante.

Outre l'exemple déjà cité du sinus pétiolaire, d'autres caractères peu fluctuants présentent des valeurs très sélectives sur la population de *Vitis vinifera* considérée:

Caractère	Valeur (s) sélective (s)
sexe des fleurs:	femelle et mâle (très rare)
grosueur des baies:	très grosse et très petite (très rare)
couleur des baies:	grise, rose, rouge
forme des baies:	discoïde, ovoïde, troncovoïde, cylindrique, fusiforme, arquée.
couleur de la pulpe:	colorée
saveur des baies:	musquée, aromatique, herbacée, spéciale.

Si l'échantillon du cépage inconnu à identifier ne présente pas une de ces particularités, il sera fait appel en priorité à des caractères stables ou généralement peu fluctuants, à condition que leurs niveau d'expression soit assez sélectif.

On peu citer comme exemples:

Caractères	niveaux d'expression	fréquence
couleur des baies	87 blanche	0.46
	91 noire	0.43
	autres	0.13
grosueur de baies	83 grosse	0.33
	84 moyenne	0.73
	85 petite	0.15
forme de baies	96 sphérique	0.54
	97 ellipsoïde	0.47
	autres	0.17
Forme des dents	40 à côtés rectilignes	0.83
	41 à côtés convexes	0.40.

La somme des fréquences montre que seule la couleur des baies est pratiquement stable. Il s'en suit que les autres caractères ne pourront pas être utilisés dans certains cas: lorsque la grosueur des baies se situe à proximité de la limite de deux classes, ou si la forme des dents est variable.

On peut ensuite opérer sur des caractères stables dont le niveau d'expression est peu sélectif.

Caractère	niveau d'expression	fréquence
sexe des fleurs	6 hermaphrodite	0.93
couleur de la pulpe	105 incolore	0.95
savoir des baies	112 neutre	0.91.

Enfin, parmi les très nombreux caractères qui présentent une fluctuation, le choix se portera de préférence sur ceux dont la variation est importante sur l'ensemble de la population, alors qu'elle reste relativement faible sur un même cépage, et en particulier sur l'échantillon considéré.

Parmi les caractères décrits, ceux qui paraissent le mieux répondre à ces exigences sont les suivants:

- les angles entre les nervures principales de la feuille adulte
- les rapports de longueur des nervures principales
- le nombre de lobes
- la forme du sinus pétiolaire
- la longueur des dents par rapport à leur largeur à la base
- la grosseur des grappes
- la villosité des feuilles adultes
- la coloration des nervures sur les feuilles adultes.

Le choix de ces caractères a été effectué de manière à ce qu'il n'exite pas entre eux, a priori, de liaison très nette. Seules certaines formes du sinus pétiolaire peuvent montrer une corrélation avec l'angle des nervures principales.

### Résultats de simulations

Des simulations de recherche d'échantillon inconnu ont été effectuées en utilisant la totalité ou seulement une partie des 15 caractères précédemment examinés.

Ces simulations ont porté sur 19 échantillons constitués chacun par dix feuilles d'herbier, une ou plusieurs descriptions de grappe et de feuille adulte.

Ces échantillons appartiennent à des cépages qui sont représentés dans le fichier de référence par plus de 20 clones, qu'il est possible de considérer comme autant de références de la même variété, si on néglige les différences entre clones.

Les résultats du tableau I montrent que, suivant le cépage, l'utilisation de 5 à 15 caractères (Muscat d'Alexandrie - Cabernet franc) a permis de sélectionner dans une population de 5.226 clones, un nombre variable d'individus dont les niveaux d'expression sont identiques à ceux de l'échantillon considéré. Ils représentent l'ensemble des hypothèses à vérifier.

L'examen de ce tableau suggère quelques remarques.

1°) Le nombre total de clones à la fin du tri est élevé dans certains cas. Il dépend du nombre de caractères utilisés et surtout de leur niveau d'expression plus ou moins sélectif.

Il est possible, en faisant le produit des fréquences relatives des niveaux d'expression, d'évaluer approximativement ce nombre total de clones, à condition qu'il n'y ait pas de liaison entre les caractères utilisés.

2°) Pour chaque cas de simulation, le rapport du nombre de clones du cépage considéré figurant parmi les hypothèses, au nombre total de clones décrits dans le fichier de référence, peut être considéré comme une estimation du succès de l'opération.

Cette réussite est très variable puisque, sur les 19 cas considérés, ce rapport est 6 fois supérieur à 1/2, 6 fois compris entre 1/5 et 1/2, 7 fois inférieur à 1/5.

Les meilleurs résultats ont été obtenus avec le Muscat d'Alexandrie, le Muscat de Frontignan, le Pinot gris.

Ceci confirme l'intérêt, déjà signalé, d'utiliser en priorité les particularités des cépages lorsqu'elles sont stables, ce qui est le cas de la saveur musquée et de la couleur grise des baies.

Par contre, dans les cas où la proportion de clones exacts est très faible, il a été constaté que les caractères suivants étaient plus

Tab. 1 - Résultats de simulations

	I	II	III	IV		
				$< \frac{1}{5}$	$\frac{1}{5} \text{ à } \frac{1}{2}$	$> \frac{1}{2}$
Cabernet franc	15	32	1/40	+		
Cabernet Sauvignon	13	13	4/23	+		
Chardonnay	11	36	12/36		+	
Chasselas blanc	13	17	4/42	+		
Chasselas rouge	11	11	4/20		+	
Chenin	12	124	31/42			+
Cot	13	77	5/43	+		
Dattier	11	52	12/27		+	
Fer	14	60	2/21	+		
Grenache n	9	55	8/20		+	
Muscat d'Alexandrie	5	53	23/33			+
Muscat de Frontignan	9	48	30/40			+
Panse de Provence	12	27	14/36		+	
Pinot gris	9	29	18/24			+
Savagnin b	12	20	11/21		+	
Sauvignon b	11	64	25/39			+
Sultanine b	13	3	3/28	+		
Syrah	13	68	6/27		+	
Ugni blanc	12	23	6/33	+		

I = nombre de caractères utilisés

II = nombre total de clones à la fin du tri (hypothèses à vérifier)

III = nombre de clones à la fin du tri/nombre de clones du fichier de référence (pour le cépage considéré).

IV = distribution des taux de réussite.

souvent à l'origine de la perte des bonnes hypothèses.

- le nombre de lobes.
- la longueur des dents par rapport à leur largeur à la base, qui n'est pratiquement pas mesurable, et dont l'appréciation peut varier selon l'observateur.
- la forme des dents (côtés rectilignes ou convexes) lorsqu'elle est ambiguë sur l'échantillon.
- la grosseur des grappes qui varie beaucoup plus que la grosseur des baies.
- la forme des baies qui peuvent être sphériques ou légèrement ellipsoïdes sur certains cépages.

Ceci n'implique pas que l'utilisation de ces caractères doit être abandonnée systématiquement, mais il faut limiter leur usage aux cas où leur niveau d'expression est bien net.

L'impossibilité d'utiliser ces caractères dans certains cas nécessite l'emploi d'autres caractères fiables qui ne sont pas encore déterminés.

Une étude du fichier caractère par caractère, rendue possible par l'ordinateur, doit permettre de mieux apprécier la fiabilité des autres caractères et d'en tirer des informations sur la possibilité et la manière de les utiliser.

La définition de certains caractères tels que la forme du sinus pétiolaire et des sinus latéraux peut être améliorée pour rendre leur utilisation plus efficace et plus fiable.

### Conclusions

Les résultats de ces simulations montrent que le taux de réussite dans la recherche des bonnes hypothèses qui permettraient une identification est très variable.

Pour favoriser cette identification il est nécessaire d'observer quelques règles.

Un certain nombre de caractères, concernant principalement la description des baies, peuvent être utilisés dans presque tous les cas. Lorsque ces caractères présentent un niveau d'expression

très sélectif ils seront utilisés en priorité.

Les caractères qui sont généralement soumis à la fluctuation ne seront utilisés que lorsque cette fluctuation sera faible sur l'échantillon considéré, ce qui implique que le choix des caractères utilisés sera fait en fonction de l'échantillon.

Pour augmenter le taux de réussite il peut être envisagé de procéder à des recherches en utilisant plusieurs échantillons du cépage

à identifier. En effet la référence étant elle-même constituée par un échantillon qui ne peut pas être représentatif du cépage tout entier, la fait de multiplier les opérations en faisant varier l'échantillon augmente les possibilités d'en décrire un identique à la référence.

Enfin la recherche et l'étude des caractères descriptifs doivent être poursuivies.

## RESUME

### ETUDES SUR LE MATERIEL INTRODUIT DANS LES COLLECTIONS AMPELOGRAPHIQUES EN VUE DE SON IDENTIFICATION ET DE LA RECHERCHE DES SYNONYMES

*L'identification des variétés de vigne a été de tout temps un sujet d'études dont l'importance s'accroît avec le développement des échanges entre les divers pays et l'augmentation du nombre de variétés provenant de croisements intra ou interspécifiques.*

*L'introduction et l'étude des cépages dans une collection ampélographique rendent possible leur comparaison, le contrôle de leur identité et la mise en évidence des synonymes.*

#### Description

*Les descriptions sont absolument nécessaires car la connaissance qui peut être acquise par un examen répété et prolongé des divers cépages, ne permet d'en reconnaître qu'un nombre relativement restreint et variable selon les circonstances.*

*Les caractères sur lesquels portent ces descriptions sont bien connus et c'est surtout la manière d'utiliser les descriptions au cours de l'identification qui mérite une attention particulière.*

#### Identification

*Elle consiste à rapprocher un échantillon inconnu d'un cépage déterminé et se décompose en deux opérations:*

– *une hypothèse sur l'identité de l'échantillon inconnu;*

– *une comparaison avec la référence cultivée en collection.*

*L'hypothèse peut être formulée grâce à la mémoire visuelle, mais quand celle-ci est défaillante, il est possible de procéder à des comparaisons entre la description de l'échantillon inconnu et celle des variétés de référence.*

*La réussite de l'opération peut dépendre du choix des caractères.*

*En effet la plupart des caractères décrits sont soumis à une certaine fluctuation qui rend les rapprochements entre variétés plus ou moins incertains.*

*Les caractères les plus fiables sont ceux qui ne présentent pas ou peu de fluctuation: couleur et forme des baies, sexe des fleurs...*

*D'un autre côté la distribution des valeurs prises par un caractère détermine leur sélectivité. Les valeurs ou classes dont la fréquence est la plus faible sont les plus sélectives.*

*Une augmentation du nombre de classes accroît leur sélectivité, mais en contrepartie augmente l'imprécision due à la fluctuation.*

#### Recherche des synonymes

*Elle consiste à appliquer les procédés de l'identification aux cépages concernés par cette recherche.*

*Le champ exploré est d'autant plus vaste que le nombre de variétés en collection est plus important et les possibilités de résultats d'autant plus nombreuses que les descriptions ont été réalisées dans un même lieu où la fluctuation des caractères est moins importante.*

#### Application

*Lorsque le nombre de descriptions est élevé, il est nécessaire d'utiliser un procédé informatique pour effectuer les comparaisons.*

*L'établissement de programmes de comparaison doit permettre de tester les possibilités d'identification des cépages par cette voie et éventuellement suggérer une amélioration des schémas de description.*

---

## Vignes sauvages / Wild vines / Viti selvatiche

### ETUDES SUR LA VIGNE SAUVAGE - VITIS SILVESTRIS GMEL - EN BULGARIE

I. BONEVA (1) - I. KOVATCHEV (2)

(1) Institut d'introduction et de ressources végétales «K. Malkov», Sadovo (Bulgarie)

(2) Institut supérieur d'agriculture «V. Kolarov», Plovdiv (Bulgarie)

## RESUME

### ETUDES SUR LA VIGNE SAUVAGE - VITIS SILVESTRIS GMEL - EN BULGARIE

*On a représenté l'expansion de la vigne sauvage en Bulgarie et la nécessité de prendre des mesures décisives pour révéler et conserver des étalons de qualités génétiques précieuses.*

*On a étudié les résultats des expériences agrobiologiques et technologiques de cinq formes intéressantes choisies de vignes sauvages, qu'on a caractérisées comme donateurs de caractères de résistance au gel, fructification élevée et accumulation intense de sucres.*

*On a étudié aussi les méthodes morphologiques et biochimiques pour pouvoir distinguer les formes vraiment sauvages des formes devenues sauvages: des formes hybrides naturelles dans la population des vignes croissant à l'état sauvage.*

# BANQUE INTERNATIONALE DE DONNEES: METHODOLOGIE DE COLLECTE, D'ACCUMULATION ET D'EMPLOI DE L'INFORMATION

P.Y. GOLODRIGA - N.G. NILOV - N.P. DOUBOVENKO  
Institut National de Recherches sur l'Oenologie et la Viticulture  
«Magaratch» - (URSS)

## RESUME

### BANQUE INTERNATIONALE DE DONNEES: METHODOLOGIE DE COLLECTE, D'ACCUMULATION ET D'EMPLOI DE L'INFORMATION

Actuellement la collecte de l'information sur le fonds génétique de la vigne est réalisée conformément aux exigences de la description ampélographique, qui est, malgré son caractère vif et souple, insuffisamment précise. Ceci rend difficile les contacts entre spécialistes, réduit les possibilités de collecte, d'accumulation et d'emploi des données, y compris l'utilisation des calculatrices. La méthodologie proposée constitue un pas vers la résolution de ces problèmes. Chaque plante est représentée à l'aide des matrices comme vecteur de l'espace multidimensionnel, dont les coordonnées sont le degré de manifestation de l'indice, exprimé en points. Pour avantager les indices les plus importants on leur attribue un coefficient plus grand. Chaque semis, cépage ou clone reçoit des matrices individuelles qui comprennent leurs indices codifiés. Les données contenues dans la matrice sont ensuite transmises dans la mémoire de la calculatrice. Les données accumulées d'après les matrices unifiées des mêmes indices des cépages étudiés et des formes initiales, dans les années qui se distinguent par leurs conditions climatiques et dans les régions différentes du monde, constituent justement la Banque Internationale des Données (BID).

Dans ce cas le travail d'introduction des cépages de vigne se limite au calcul du maximum de la fonction de discrimination. Le travail d'obtention de nouveaux cépages est facilité par les méthodes morphologiques de recherche avec l'emploi des algorithmes et des euresiques déjà connus dans la génétique de la vigne, et qui sont dictés par l'expérience et les connaissances du spécialiste qui fait usage de la BID. Il serait difficile de surestimer le service d'une pareille calculatrice pour la sélection de la vigne. De plus, la valeur de la BID ne peut qu'augmenter avec le temps.

## DIFFUSIONE E CARATTERISTICHE DELLA «VITIS VINIFERA SILVESTRIS» GMELIN IN ITALIA

A. SCIENZA - A. PROTTI - E. CONCA - F. ROMANO

Istituto di Coltivazioni Arboree - Università degli Studi - Milano  
(Italia)

### 1. Introduzione

La «Vitis V. Silvestris» è una sottospecie della «Vitis Vinifera» appartenente alla flora spontanea europea, nord-africana e centro-asiatica. È stata infatti localizzata e descritta, anche in tempi recenti, in Germania (Schumann, 1968, 1974), in Turchia (Alleweldt, 1956, Schumann 1977), Jugoslavia (Zimmermann, 1959; Turkovic, 1962), Grecia (Logothetis, 1962), Romania (Jacob, 1978), sud-ovest della Francia e nord-Africa (Levadoux, 1954), Tagikistan (Negrul, 1960) e Daghestan (Pirmagomedou, 1974).

Per l'Italia tali studi si fermano a circa 50 anni fa (se si esclude una ricerca sugli apparati radicali della «Vitis silvestris» del Breviglieri del 1955) e prendono in considerazione solo alcune popolazioni di viti spontanee dell'Italia centrale, (Appennino bolognese, Maremma toscana) (Longo, 1921, Franchino, 1935).

La «Vitis silvestris» è giunta fino a noi, perché nelle regioni cosiddette di «rifugio» dell'epoca glaciale, la pressione antropica, non è stata così forte come in altre zone dell'Europa, dove la vite selvatica è invece da anni ormai scomparsa.

L'esistenza di due sottospecie nella «Vitis vinifera» è nota da molto tempo e ha profonde radici storiografiche. Infatti già il medico greco Dioscoride, denominava la «Vitis vinifera sativa», come «Oenophoros ampelos» per distinguerla dalla «Agria ampelos» («Vitis vinifera silvestris»), descritta precedentemente da Teofrasto.

Non è comunque facile distinguere le due sottospecie fra loro e la dioicia non è sufficiente a stabilire tra le due popolazioni una differenza specifica. Basti pensare ai vitigni ginoidi coltivati, come l'«Ohanéz», la «Madeleine angevine», il «Picolit» ecc. Così

descrizioni anatomiche o morfologiche, come la pubescenza delle foglie o dell'apice del germoglio, il seno peziolare delle foglie, ecc. non possono essere utilmente impiegate per distinguere la «Vitis silvestris» dalla «Vitis sativa».

Solo la forma del vinacciolo può rappresentare un criterio diagnostico di qualche interesse (Levadoux, 1954, 1956).

Particolare attenzione va riservata al contributo dato dalla «Vitis silvestris» alla formazione delle attuali varietà di vite. Queste infatti possono essere derivate esclusivamente dalla «Vitis silvestris» o dalla «Vitis sativa» o essere piuttosto il risultato di introgressioni geniche, compiute con l'introduzione della «Vitis sativa» di origine orientale, in popolazioni spontanee di «Vitis silvestris», autoctone (Rives, 1973).

Rilevanti appaiono inoltre per l'Italia, i rapporti tra la presenza spontanea della «Vitis silvestris» in alcune zone e la stratificazione storico-culturale. Infatti, a parte il presumibile neoeendemismo, rappresentato dalla «Vitis silvestris» del bacino dell'Aviana (Monte Baldo), risultato delle pulsazioni glaciali del quaternario (Scienza e coll., in litteris) ed il relitto dell'ultima foresta umida di pianura, di Policoro sul fiume Sinni, i maggiori ritrovamenti di vite selvatica si identificano con il territorio segnato dalla civiltà etrusca e dalla colonizzazione paleolitica (Scienza, 1983).

### 2. Materiali e metodi

Le ricerche sono iniziate nel 1982 ed hanno riguardato inizialmente la localizzazione delle stazioni forestali, dove la «Vitis silvestris» era presente. Ci si è avvalsi in questa fase di notizie, sia di origine bibliografica, sia soprattutto, di indicazioni fornite da cacciatori ed agricoltori, che utilizzano talvolta queste viti selvatiche, o come richiamo per le prede o per vinificarne l'uva. Nell'identificazione degli individui, si sono seguiti i criteri suggeriti da Marshall e Brown (1982), esplorando il maggior numero di siti possibili, in modo però non definitivo e sviluppando un piano dettagliato di esplorazione solo per due siti (Montalcino e valle dell'Aviana).

Con questa modalità si sono localizzati in Italia, 13 siti distinti in 3 aree ( settentrionale, centrale e meridionale). Il numero di piante per sito è invece noto solo a Montalcino e nella valle dell'Aviana.

La scelta di queste strategie di esplorazione, classificazione e valutazione, è stata suggerita dalle finalità della ricerca, che in-



Fig. 1 - Localizzazione delle «Vitis silvestris» nelle diverse regioni italiane. Il primo numero rappresenta gli individui femminili, il secondo quelli maschili.

tendeva valutare la variabilità genetica dei diversi topodemi e gamodemi della «Vitis silvestris». La descrizione dell'ambiente nel quale è stata localizzata la «Vitis silvestris» è stata effettuata mediante la scheda segnaletica del Consiglio d'Europa e della Regione Lombardia, per l'identificazione e valutazione dei paesaggi.

Di ogni stazione è stata rilevata la localizzazione topografica, su carte militari in scala 1:25.000, la consistenza numerica degli individui, il sesso e gli aspetti fitosociologici. Dopo la fioritura, alcuni grappoli allegati (circa 8-10 per ceppo) sono stati protetti con sacchetti di garza, per evitare gli eventuali danni provocati dagli uccelli.

La diversità genetica è stata determinata, tra gli individui di un sito e tra i siti, mediante il calcolo della varianza di alcuni caratteri quantitativi. Questi hanno riguardato il peso medio del grappolo, il peso medio della bacca, il diametro polare ed equatoriale della bacche, il pH del mosto, la sua acidità titolabile (espressa in acido tartarico), il contenuto in zuccheri rifrattometrici, i livelli di acido malico e tartarico (gr/l), determinati il primo per via enzimatica e il secondo secondo Rebelein, modificato da Lipka-Tanner (1974), gli antociani totali (espressi in mg di cloruro di cianidina per 100 gr di buccia, secondo Ribereau-Gayon e Stonestreet, 1965), i polifenoli totali (espressi in mg di catechina per 100 gr di buccia), mediante il reattivo di Folin-Ciocalteu, la tonalità di colore per riflettanza mediante l'apparecchio di Hunter (a: rosso, b: giallo). Sui vinaccioli è stata determinata la lunghezza totale e quella del becco. Inoltre sulle bacche di «Vitis silvestris» della Toscana (Carige e Canino), di una «Vitis silvestris» della Basilicata (Sinni) e di due vitigni coltivati nella Toscana («Colorino» e «Canaiolo»), sono stati determinati il profilo antocianico, secondo Piergiovanni e Volonterio (1981).

Le caratteristiche fogliari (lobatura, forma, dimensione) sono state valutate con il metodo proposto da Grenan (1984).

I risultati sono stati sottoposti ad analisi della varianza ad un

Tab. 1 - Analisi della varianza delle caratteristiche morfologiche delle foglie delle «Vitis silvestris» italiane

Variabili	G.d.L.	Coefficienti lobatura foglie				Coefficienti forma e dimensioni delle foglie			
		media scarti	a F	media scarti	b F	media scarti	c F	media scarti	d F
<i>Siti</i>									
Var. spiegata	7	0.84	4.397**	0.97	6.48***	0.006	3.203*	0.004	0.463 ns
Var. residua	64	0.19		0.015		0.002		0.005	
Var. totale	71	0.25		0.023		0.002		0.005	
<i>Genotipi</i>									
Var. spiegata	17	0.068	12.467***	0.056	8.082***	0.003	2.218*	0.009	3.363
Var. residua	36	0.005		0.007		0.001		0.003	
Var. totale	53	0.25		0.23		0.002		0.005	

\*\*\*:  $P \geq 0.001$

\*\* :  $P \geq 0.01$

\* :  $P \geq 0.05$

n.s.: non significativa

$$a = \frac{\sum S_1}{\sum L_2}; b = \frac{\sum S_2}{\sum L_3}$$

$S_1$ ;  $S_2$ : Coefficienti della profondità del seno lat. sup.

$L_2$ ;  $L_3$ : Coefficienti della profondità del seno lat. inf.

$$c = \frac{L_1}{\sum L_2} : \text{coefficiente della lunghezza delle nervature principali.}$$

$$d = \frac{1}{\sum L_2} : \text{coefficiente della distanza delle prime nervature principali.}$$

Tab. 2 - Analisi della varianza delle caratteristiche del grappolo, della bacca e del vinacciolo delle «Vitis silvestris» italiane

Variabili	G d L	Ø Equat. bacca (cm)		Ø Polare bacca (cm)		Peso M bacca (gr)		Peso M grappolo (gr)		Lungh. becco (mm)		Lungh. tot. seme (mm)	
		media scarti	F	media scarti	F	media scarti	F	media scarti	F	media scarti	F	media scarti	F
<i>Siti</i>													
Var. spiegata	7	0.419	15.423***	1.427	2.637*	1.149	15.23***	10.853	7.152***	0.71	8.91***	1.454	4.46***
Var. residua	64	0.27		0.541		0.75		1517.58		0.80		0.326	
Var. totale	71	0.066		0.628		0.181		2398.37		0.142		0.437	
<i>Genotipi</i>													
Var. spiegata	23	0.184	20.224***	0.897	1.797*	0.523	29.51***	5712.20	6.853***	0.407	28.05***	1.105	9.425***
Var. residua	48	0.009		0.500		0.018		833.51		0.015		0.117	
Var. totale	71	0.66		0.628		0.181		2398.37		0.142		0.437	

\*\*\*: P ≥ 0.001

\*\* : P ≥ 0.01

\* : P ≥ 0.05

n.s.: non significativa

criterio di classificazione per evidenziare le differenze tra gli individui di un sito e tra i siti.

Al fine di chiarire eventuali rapporti filogenetici tra le «Vitis silvestris» della Toscana, della Basilicata, ed i vitigni coltivati, è stata applicata la «cluster analysis», secondo il programma BMDP, e l'analisi dei componenti principali, utilizzando un programma SPSS.

### 3. Risultati

#### 3.1. Caratteristiche ecologiche della «Vitis silvestris»

##### 3.1.1. Areale di diffusione

La diffusione della vite selvatica in Italia non è omogenea. Essa è particolarmente presente nella zona centrale del litorale tirrenico, basso senese e nel basso Trentino, con sporadici individui nell'alto veronese, Lombardia sud-occidentale e Basilicata meridionale (fig. 1). È invece assente lungo la dorsale appenninica orientale e la riviera adriatica.

Il limite settentrionale dell'areale attuale è posto ad Aldeno (Trento), in prossimità del 45° parallelo, mentre quello meridionale è a Policoro (Matera) poco sopra il 40° parallelo.

##### 3.1.2. Le esigenze climatiche e pedologiche

La vite selvatica non mostra particolari esigenze di clima e di terreno. Prospera di preferenza negli ambienti temperati, né troppo freddi, né troppo caldi. Infatti qualche individuo nel corso dell'inverno 1984-1985, particolarmente rigido (con punte di -20° e -23°C), non ha sopportato le minime termiche. Le elevate esigenze luminose della «Vitis silvestris» localizzano la maggior parte degli individui ai margini dei boschi e delle radure.

Se si sviluppano all'interno della vegetazione, esse portano tutto il loro apparato fogliare alla sommità delle piante arboree che fanno loro da tutori.

Manifestano inoltre rilevanti fabbisogni idrici per cui sono particolarmente diffuse lungo torrenti, in prossimità di sorgenti, in terreni comunque dove possono espandere il loro rilevante apparato radicale. Riguardo alla composizione fisico-chimica del ter-

Tab. 3 - Analisi della varianza delle caratteristiche chimiche del mosto delle «Vitis silvestris» italiane

Variabili	G d L	pH		Zuccheri rifratt. (Brix)		Ac. Titol. (‰)		Acido Malico (g/l)		Acido Tartarico (g/l)	
		media scarti	F	media scarti	F	media scarti	F	media scarti	F	media scarti	F
<i>Siti</i>											
Var. spiegata	7	3.387	0.738 n.s.	101.049	11.589***	311.715	22.771***	179.805	16.226***	0.575	12.461***
Var. residua	64	4.591		8.719		13.689		11.082		0.046	
Var. totale	71	4.472		17.822		43.072		27.716		0.098	
<i>Genotipi</i>											
Var. spiegata	23	3.86	0.810 n.s.	53.221	61.895***	132.372	468.127***	85.352	861.386***	0.301	222.727***
Var. residua	48	4.765		0.860		0.283		0.099		0.001	
Var. totale	71	4.472		17.822		43.072		27.716		0.098	

\*\*\*: P ≥ 0.001

\*\* : P ≥ 0.01

\* : P ≥ 0.05

n.s.: non significativa

Tab. 4 - Analisi della varianza del contenuto in antociani e delle caratteristiche del colore delle bucce delle «Vitis silvestris» italiane

Variabili	G d L	Hunter Lab									
		Polifenoli totali		Antoc. totali		L		a		b	
		media scarti	F	media scarti	F	media scarti	F	media scarti	F	media scarti	F
<i>Siti</i>											
Var. spiegata	4	16946.13	7.285***	2920.151	23.328***	57.142	12.171***	47.523	33.49***	38.56	12.511***
Var. residua	40	2326.26		125.177		4.695		1.419		3.082	
Var. totale	44	3655.34		379.266		9.463		5.610		6.516	
<i>Genotipi</i>											
Var. spiegata	14	11430.6	425.578***	1191.979	86.023***	29.702	1690.63***	17.368	140.874***	20.167	1366.5***
Var. residua	30	26.859		0.000		0.018		0.123		0.015	
Var. totale	44	3655.34		379.266		9.463		5.610		6.516	

\*\*\*: P ≥ 0.001

\*\* : P ≥ 0.01

\* : P ≥ 0.05

n.s.: non significativa

reno, la vite selvatica predilige terreni ricchi e profondi, pur sviluppandosi su suoli di origine geologica molto diversa. Si riscontra infatti sulle rendzine calcareo-dolomitiche del Trentino, sulle argille plioceniche ed eoceniche della Toscana, sulle sabbie litora-

nee della Basilicata. Non sono stati rilevati sintomi di carenze nutrizionali. È inoltre diffusa in diverse condizioni orografiche, come le pendici scoscese della Valle dell'Aviana (fino a 800-1000 m s.l.m.), l'entroterra livornese e grossetano, le zone interne dell'Appennino del Lazio settentrionale e la pianura alluvionale, soggetta ad inondazioni periodiche, della foce del Sinni.

### 3.1.3. Le fitocenosi

Le fitocenosi delle quali la «Vitis silvestris» è un costituente essenziale, sono formate da specie arboree ed arbustive molto diverse, tipiche dei vari ambienti forestali della penisola. Nell'Italia

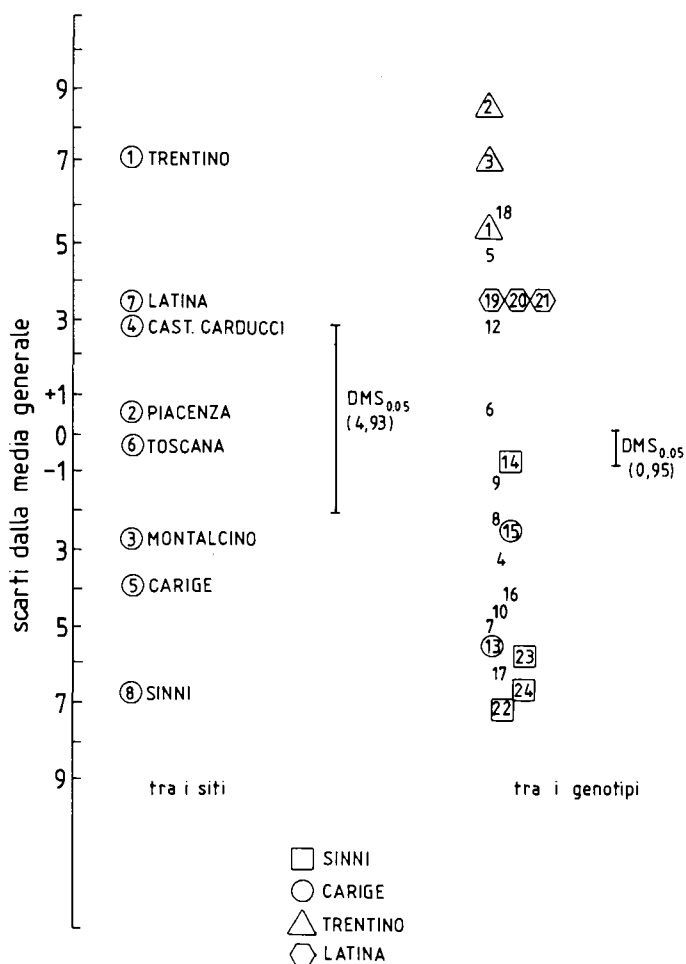


Fig. 2 - Scarti della media dei contenuti di ac. malico del mosto nei siti e tra i genotipi.

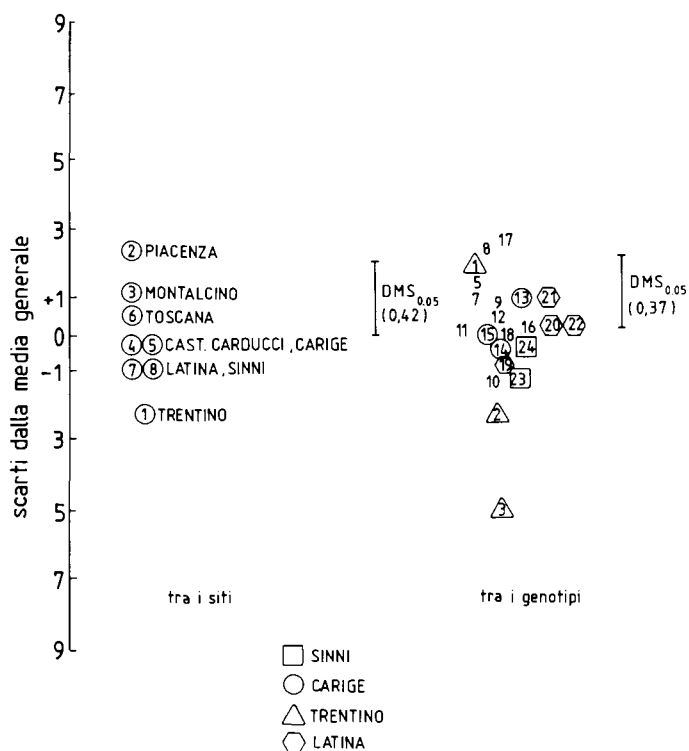


Fig. 3 - Scarti della media della lunghezza del becco del vinacciolo nei siti e tra i genotipi.

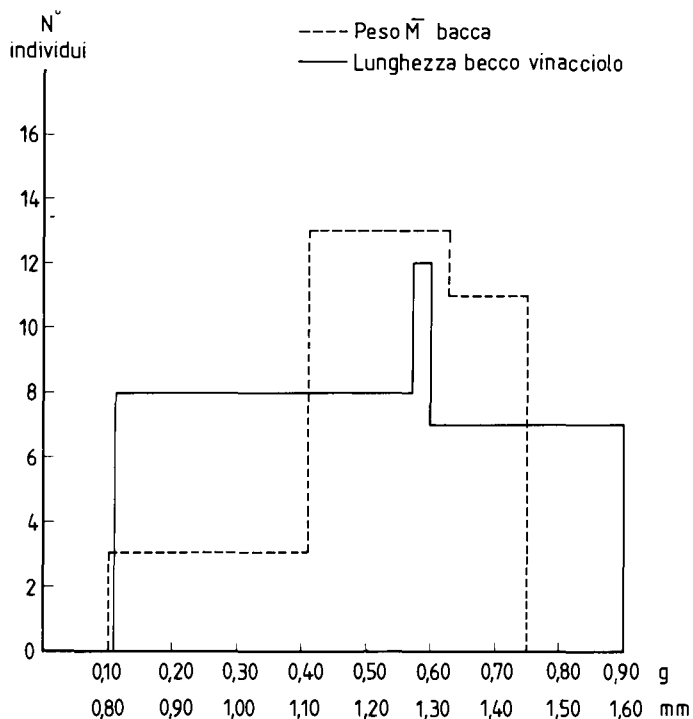


Fig. 4 - Distribuzione delle frequenze del peso medio della bacca (g) e della lunghezza del becco del vinacciolo (mm) delle "Vitis silvestris" italiane indagate (n = 34).

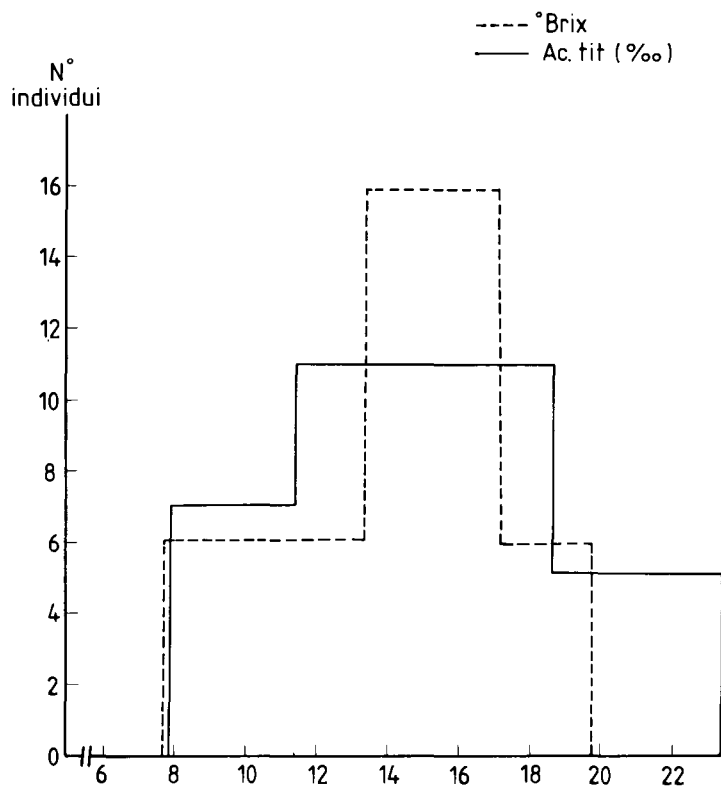


Fig. 5 - Distribuzione delle frequenze dei livelli di zucchero rifrattometrico (Brix) e dell'acidità titolabile (%o) del mosto delle "Vitis silvestris" italiane indagate (n = 33).

settentrionale le specie che più frequentemente fanno da tutori alla «Vitis silvestris» e con lei convivono in associazioni forestali sono il carpino, la roverella, l'acero campestre, il frassino e il tasso. Nel centro-sud sono alcune essenze costituenti la macchia me-

Tab. 5 - Valori medi dei coefficienti della lobatura delle foglie, della forma e delle dimensioni suddivisi tra i siti e tra i genotipi

Variabili	Coefficienti lobatura fogliare		Coefficienti della forma e dimensioni foglie	
	a	b	c	d
<i>Siti</i>				
1 Trentino	0.46	0.66	0.57	0.62
3 Montalcino	0.56	0.73	0.57	0.64
4 { Castagneto Carducci	0.67	0.80	0.58	0.64
5 Carige	0.59	0.81	0.54	0.65
6 { Vitigni coltivati Toscana e V.s.	0.46	0.61	0.61	0.59
8 Sinni	0.68	0.89	0.55	0.64
<i>Genotipi</i>				
1	0.28	0.45	0.57	0.63
2 } Trentino	0.59	0.73	0.57	0.63
3 } Trentino	0.53	0.79	0.56	0.62
7	0.36	0.53	0.57	0.63
8 } Montalcino	0.57	0.78	0.56	0.64
9 } Montalcino	0.75	0.89	0.59	0.63
10 } Castagneto	0.80	0.84	0.55	0.69
11 } Carducci	0.51	0.76	0.54	0.66
12 } Carducci	0.69	0.81	0.66	0.57
13 } Carige	0.77	0.81	0.55	0.66
14 } Carige	0.51	0.80	0.54	0.66
15 } Carige	0.51	0.82	0.53	0.67
16 } Vitigni	0.53	0.68	0.60	0.47
17 } Coltivati	0.38	0.55	0.63	0.73
18 } Toscana e viti sel.	0.46	0.61	0.61	0.58
22 } Sinni	0.77	0.97	0.56	0.63
23 } Sinni	0.60	0.81	0.55	0.65
24 } Sinni	0.68	0.89	0.55	0.64
M̄	0.57	0.75	0.57	0.63

diterranea, come il leccio, la quercia da sughero, il corbezzolo, l'erica, il mirto, il perastro ed il lentisco.

Non sono mai state riscontrate viti selvatiche in zone disboscate e in presenza di vegetazione degradata.

### 3.2. Le caratteristiche morfologiche e produttive della «Vitis silvestris»

#### 3.2.1. Le caratteristiche della pianta

Lo sviluppo delle viti selvatiche è di norma rilevante giungendo in taluni casi a 10-15 m di altezza sulle piante tutrici dalle quali ricadono formando un complesso di vegetazione simile alle liane. Solo in casi rari ricoprono e colonizzano cespugli bassi. Il diametro del fusto è di norma esile, non superando i 7-15 cm di circonferenza e solo in individui eccezionali si raggiungono i 50-60 cm. Lo sviluppo della pianta è garantito da alcuni germogli apicali, di norma sterili, mentre le infiorescenze sono portate da germogli laterali, normalmente molto sottili e abbastanza lunghi.

Le foglie manifestano una elevata variabilità nelle forme, anche se la forma intera è prevalente. Vi sono comunque anche in popolazioni di uno stesso sito, individui con foglie 3-5 lobate. La dioicia non è apparsa rilevante nel modificare la forma delle foglie. Le dimensioni sono di norma ridotte e solo in individui molto vigorosi esse sono comparabili con quelle delle viti coltivate.

L'analisi della varianza delle caratteristiche fogliari (lobatura,



Tab. 6 - Valori medi delle caratteristiche del grappolo della bacca e del vinacciolo, suddivisi tra i siti e tra i genotipi

Variabili	Equat. seme (mm)	Lungh. tot. seme (mm)	Ø Equat. bacca (cm)	Ø Polare bacca (cm)	Peso medio bacca (g)	Peso medio grap. (g)
<i>Siti</i>						
1 Trentino	0.73	5.06	0.72	0.82	0.35	20.89
2 Piacenza	1.68	6.27	1.27	1.95	1.24	
3 Montalcino	1.39	5.96	0.96	0.96	0.56	8.46
4 { Castagneto Carducci	1.11	5.79	0.79	0.81	0.41	5.15
5 Carige	1.10	6.21	0.84	0.91	0.38	9.55
6 { Vitigni coltivati e V.s.	1.32	6.13	1.15	1.17	1.06	94.45
7 Latina	1.05	6.14	0.75	0.78	0.29	9.00
8 Sinni	1.07	5.53	0.75	0.75	0.44	8.09
<i>Genotipi</i>						
1 } Trentino	1.50	6.41	1.05	0.72	1.03	22.71
2 } Trentino	0.64	4.41	0.55	0.21	0.84	4.82
3 } Trentino	0.07	6.54	0.57	0.12	0.60	13.83
4 } Piacenza	1.91	5.98	1.37	1.68	3.41	—
5 } Piacenza	1.38	6.29	1.18	0.83	1.17	—
6 } Piacenza	1.75	5.34	1.27	1.23	1.27	—
7 } Montalcino	1.33	6.40	0.85	0.45	0.86	2.57
8 } Montalcino	1.53	6.12	1.08	0.75	1.06	11.50
9 } Montalcino	1.30	5.59	0.95	0.49	0.95	11.02
10 } Castagneto	0.92	6.07	0.82	0.41	0.85	4.97
11 } Carducci	1.18	5.68	0.82	0.55	0.80	6.48
12 } Carducci	1.23	6.72	0.73	0.26	0.79	3.70
13 } Carige	1.30	6.11	1.04	0.44	1.11	11.3
14 } Carige	1.02	5.47	0.77	0.43	0.85	13.07
15 } Carige	0.97	5.72	0.72	0.28	0.78	3.97
16 } Vitigni	1.26	6.75	1.27	0.94	1.15	173.63
17 } Coltivati	1.54	5.90	1.41	1.66	1.44	100.83
18 } Toscana e viti sel.	1.15	5.98	0.92	0.56	0.91	8.57
19 } Latina	0.97	6.35	0.63	0.21	0.65	—
20 } Latina	1.12	6.07	0.87	0.37	0.91	—
21 } Latina	1.05	5.56	0.75	0.29	0.78	—
22 } Sinni	1.21	5.52	0.82	0.48	0.82	3.77
23 } Sinni	0.93	5.49	0.69	0.40	0.69	12.2
24 } Sinni	1.07	5.54	0.75	0.44	0.75	7.99
$\bar{M}$	1.18	5.87	0.91	1.02	0.59	24.33

forma e dimensioni) eseguita separatamente tra i siti e tra i genotipi, mostra che le foglie della «*Vitis silvestris*» differiscono significativamente sia tra i siti indagati, che all'interno dei genotipi dei diversi siti (tabb. 1,5).

Le infiorescenze sono di norma di piccole dimensioni. Quelle maschili sono più grandi di quelle femminili. Le ramificazioni sono molto frequenti. I fiori sono quasi sempre dioici. Non sono stati mai riscontrati individui a fiori funzionalmente ermafroditi. La proporzione tra i due sessi è di 70 (fiori maschili) a 30 (fiori femminili).

### 3.2.2. Caratteristiche del frutto e del mosto

L'analisi della varianza eseguita sulle caratteristiche del grappolo (peso medio del grappolo, peso medio delle bacche, diametro equatoriale e polare della bacca, lunghezza totale del becco del vinacciolo) (tabb. 2,6), del mosto (pH, zuccheri rifrattometrici, acidità titolabile, acido malico, acido tartarico, polifenoli) (tabb. 3,7), della buccia (antociani totali, HunterLab, antocianine) (tabb. 4,8) mostra che sia i siti che i genotipi dei diversi siti, si differenziano in modo significativo. Ciò consente di affermare che esiste una notevole variabilità sia fenotipica che genotipica nelle «*Vitis silvestris*», appartenenti a siti diversi e ad uno stesso sito.

Per due caratteri che hanno mostrato una variabilità statisti-

camente significativa (lunghezza del becco del vinacciolo ed acido malico del mosto) attraverso lo studio degli scarti dalla media generale ed il calcolo della differenza minima significativa ( $p \geq 0.05$ ) si sono potuti individuare quattro siti, tra loro statisticamente diversi: 1 = Trentino; 3 = Montalcino; 8 = Sinni; 6 = Toscana. (Fig. 2,3).

Considerando la variabile «lunghezza del becco», i genotipi del sito 1 si differenziano notevolmente da quelli dei siti 3, 6 e 8. Inoltre i genotipi della località 1 hanno una notevole variabilità interna.

L'elevata affinità riscontrata tra i siti 3 e 6 consente di affermare che i due vitigni coltivati («Canaiolo» e «Colorino»), compresi nel sito 6, derivano probabilmente dalla «*Vitis silvestris*» (fig. 2).

La lunghezza del becco del vinacciolo è comunque un carattere, unitamente al peso medio della bacca, dotato di scarsa variabilità nell'ambito della popolazioni di viti selvatiche italiane (fig. 4).

Per quanto riguarda l'acido malico del mosto, il sito 1 (Trentino) si differenzia notevolmente del sito 8 (Sinni) e dai siti 3 e 6 (fig. 3).

I siti 3 e 6 inoltre, sono simili tra loro, sia come media che per i genotipi in essi contenuti (fig. 5). Molto meno variabile è il carattere «acido tartarico del mosto» sia tra i siti che tra i genotipi (fig. 6), mentre la variabilità del carattere «titolo zuccherino del mosto» ed «acidità titolabile del mosto» è molto simile (fig. 5).

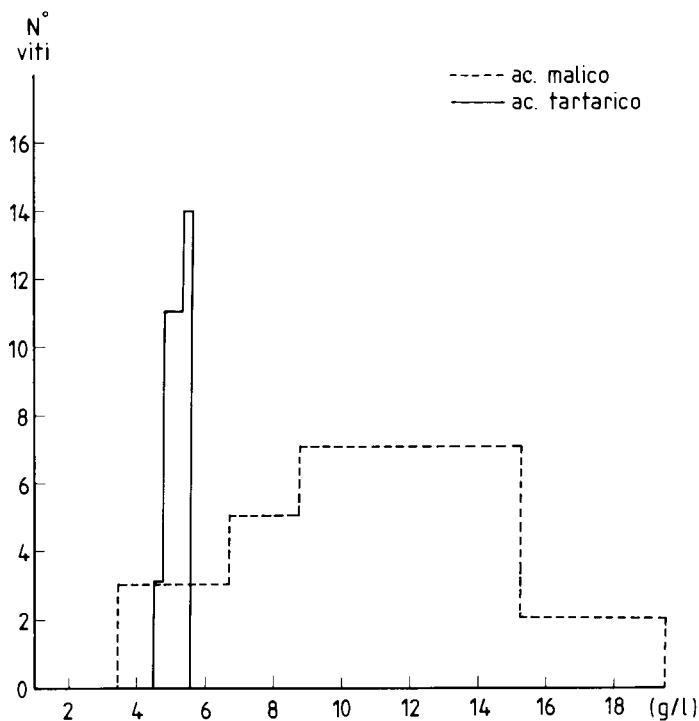


Fig. 6 - Distribuzione delle frequenze dei livelli di acido malico e tartarico (g/l) del mosto delle "Vitis silvestris" italiane indagate (n. = 30).

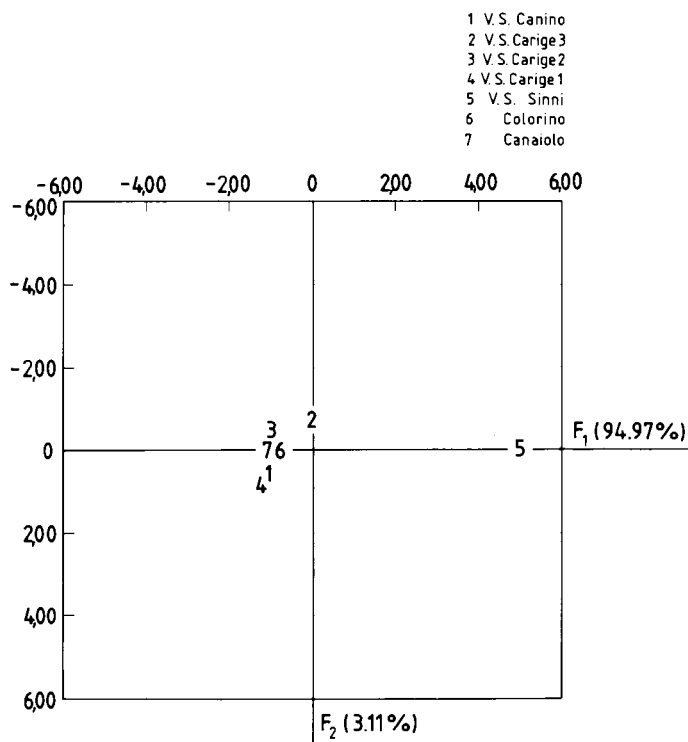


Fig. 7 - Distribuzione delle cinque "Vitis v. silvestris" e dei due vitigni coltivati ("Canaiole" e "Colorino") nelle prime due funzioni discriminanti relativamente alla frazione antocianica delle bucce. I numeri rappresentano i centroidi dei gruppi.

### 3.3. Possibili relazioni tra la «Vitis silvestris» ed alcuni vitigni coltivati

Attraverso la «cluster analysis», l'analisi multivariata (PCA) e l'analisi del colore secondo Hunter, utilizzando tutti i parametri

Tab. 7 - Valori medi della composizione chimica del mosto delle "Vitis silvestris" italiane, suddivisi tra i siti e tra i genotipi

Variabili	pH	Zucc. rifrat. (Brix)	Ac. titolab. (‰)	Ac. malico (gr/l)	Ac. tartarico (gr/l)
<i>Siti</i>					
1	2.95	13.45	24.96	17.06	5.06
2	2.97	13.00	17.68	10.62	5.35
3	3.28	13.72	13.33	7.10	4.94
4	3.17	10.90	15.90	12.96	4.77
5	3.12	10.60	10.10	5.98	4.67
6	3.07	15.47	13.56	9.58	5.01
7	3.40	18.56	15.68	13.50	4.73
8	3.60	18.10	4.61	3.41	4.57
<i>Genotipi</i>					
1	2.95	16	22.65	15.58	5.51
2	2.95	12.13	27.27	10.55	4.62
3	2.95	12.20	24.96	17.06	5.06
4	3.00	12.00	12.14	6.45	5.42
5	2.95	11.56	23.22	14.8	5.29
6	2.97	13.00	17.68	10.62	5.35
7	3.2	10.00	12.21	5.2	5.05
8	3.4	16.80	13.44	7.36	4.55
9	3.23	11.19	14.33	8.75	5.24
10	3.20	13.40	10.46	5.44	4.76
11	3.10	10.00	25.33	20.49	4.79
12	3.20	9.30	11.91	12.96	4.78
13	3.40	15.0	9.73	4.71	4.68
14	3.00	6.0	10.84	7.21	4.52
15	2.95	10.8	9.73	5.86	4.83
16	3.30	18.4	10.32	9.04	4.70
17	3.00	20.0	9.63	3.88	5.36
18	2.90	8.0	20.72	15.81	4.98
19	3.4	7.00	15.68	13.5	4.73
20	3.4	7.00	15.68	13.5	4.73
21	3.4	7.00	15.68	13.4	4.73
22	3.4	17.2	4.0	2.65	4.71
23	3.06	19.0	5.21	4.17	4.44
24	3.26	18.1	4.60	3.41	4.57
M	3.19	12.78	14.48	10.02	4.89

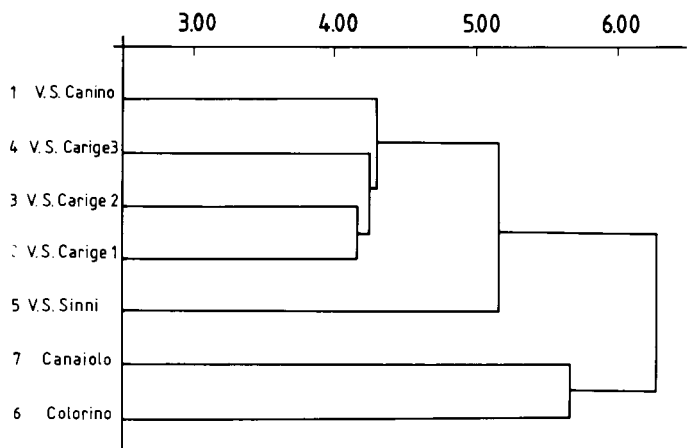


Fig. 8 - Classificazione gerarchica dei rapporti tra le "Vitis silvestris" ed i vitigni coltivati toscani.

morfologici relativi a foglie, bacche, vinaccioli e biochimici (composizione chimica del mosto ed antocianica della buccia) è stato possibile distinguere statisticamente fra di loro alcune «Vitis silvestris» della Toscana (Canino, Carige 1, Carige 2, Carige 3), del Sinni (Policoro), dai due vitigni coltivati toscani («Colorino» e

Tab. 8 - Valori medi del contenuto in polifenoli ed in antociani e delle caratteristiche di colore delle bucce delle "Vitis silvestris" italiane

Variabili	Polifen. totali (mg/1000 g)	Antoc. totali (mg/1000 g)	Hunter Lab		
			L	a	b
<i>Siti</i>					
1	306.0	1732.6	9.97	34.36	2.78
3	301.33	1154.3	10.71	33.91	3.84
4	302.00	811.0	12.28	34.89	4.87
6	264.57	817.57	10.22	32.40	2.09
8	204.00	170.50	16.06	38.69	8.13
<i>Genotipi</i>					
1	306	1732.6	9.97	34.36	2.78
2	306	1732.6	9.97	34.36	2.78
3	306	1731.6	9.97	34.36	2.78
7	301.33	1154.3	11.92	34.55	4.79
8	275.33	1907.7	8.94	33.89	2.50
9	327.33	400.9	11.28	33.30	4.23
10	302	811	12.28	34.89	4.87
11	302	811	12.28	34.89	4.87
12	302	811	12.28	34.89	4.87
16	316.6	1152.0	6.76	29.77	-1.17
17	351.6	1078.3	7.51	31.9	0.56
18	126	222.6	16.4	35.52	6.87
22	204	170.5	16.06	38.69	8.13
23	204	170.5	16.06	38.69	8.13
24	204	170.5	16.06	38.69	8.13
M	275.58	937.21	11.85	34.83	4.34

Tab. 9 - Coefficienti delle prime due funzioni discriminanti standardizzate e dei relativi autovalori della composizione antocianica delle bucce delle 5 "Vitis silvestris" e dei 2 vitigni coltivati ("Colorino" e "Canaiolo")

Parametri	Funzione 1	Funzione 2
Hunter Lab	2.170	1.277
Cianina	30.704	-1.482
Petunina	-2.455	11.527
Peonina	-15.776	-5.495
Petunina acilata	4.237	2.898
Peonina acilata	-13.171	-5.346
Autovalori	77525.7	2538.1
% della variabilità	94.97	3.11

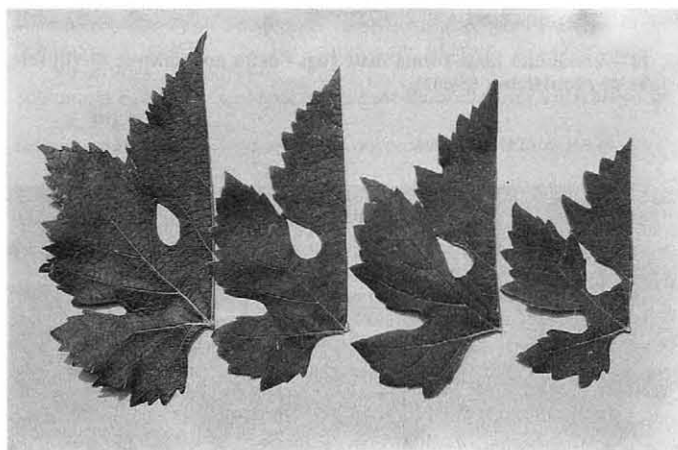


Fig. 10 - Variabilità nella forma delle foglie della popolazione di viti selvatiche della valle dell'Aviana (Trento).

Canaiolo») scelti per alcune analogie morfologiche con la «Vitis silvestris».

L'analisi a grappolo (fig. 8) mostra l'esistenza nell'ambito della Vitis silvestris di una notevole eterogeneità. Tuttavia le «Vitis silvestris» Carige 1 e Carige 2, sono tra di loro le più simili. La Vitis silvestris Sinni è notevolmente diversa dalle altre viti selvatiche.

Anche i due vitigni coltivati («Colorino» e «Canaiolo»), pur manifestando qualche legame con la «Vitis silvestris», sono da queste ben differenziati.

L'analisi discriminante consente di ridurre il sistema delle variabili impiegate alle prime due funzioni discriminanti che spiegano rispettivamente il 94,97% ed il 3,11%, giustificando in tal modo circa il 98% della variabilità totale del sistema. Delle 33 variabili

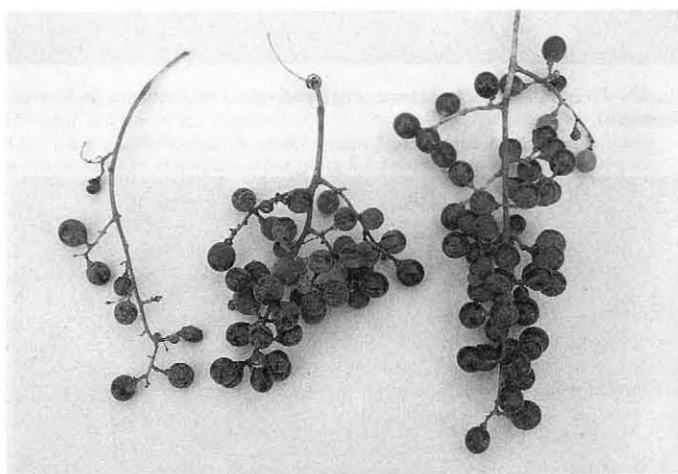


Fig. 11 - Caratteristiche dei grappoli delle viti selvatiche della valle d'Aviana (Trento).

impiegate, quelle più idonee a differenziare tra loro i vitigni sono apparse la cianina, la petunina acilata, il diametro equatoriale, l'HunterLab, la peonina acilata e la petunina (tab. 9).

La «Vitis silvestris» del Sinni è quella che maggiormente si differenzia dagli altri genotipi. Anche la «Vitis silvestris» Carige 1 e Carige 2 sono apparse abbastanza diverse. Non sono differenziati invece dalla «Vitis silvestris» della Toscana, il «Colorino» ed il «Canaiolo» (fig. 7).

Una certa discordanza a questo proposito tra i risultati della

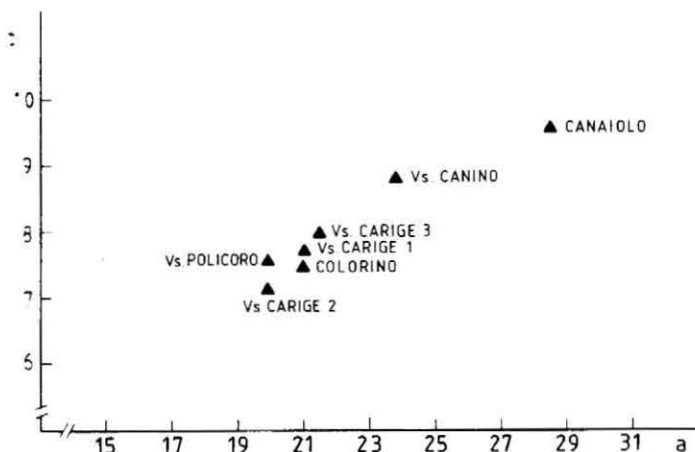


Fig. 9 - Distribuzione delle "Vitis silvestris" e dei vitigni coltivati in funzione dell'a e b di Hunter.

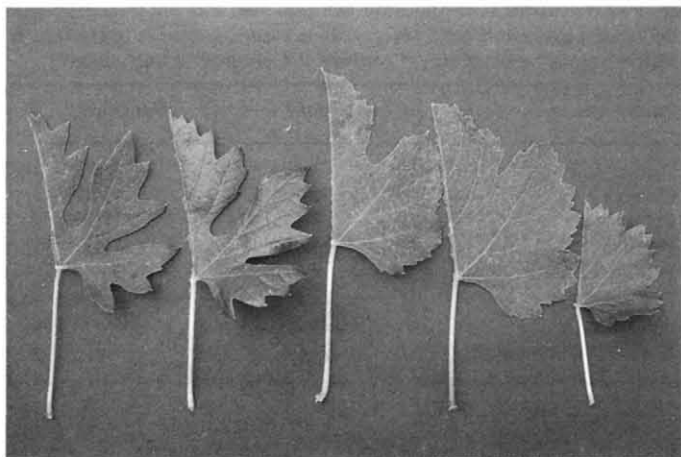


Fig. 12 - Variabilità nella forma delle foglie della popolazione di viti selvatiche di Montalcino (Siena).

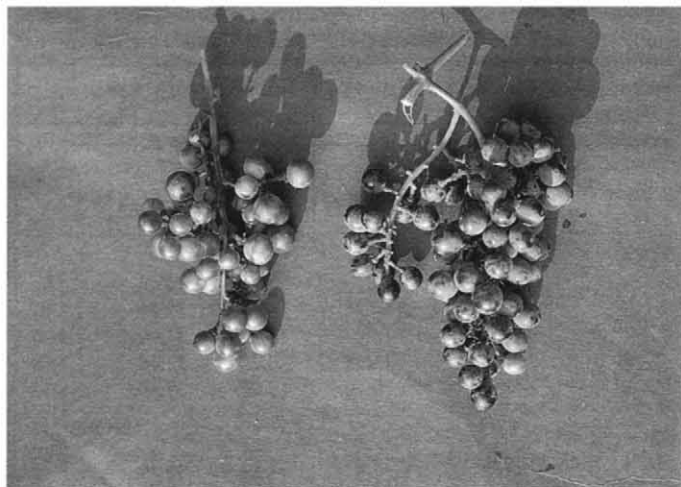


Fig. 15 - Diverso grado di maturazione dell'uva proveniente da viti selvatiche del Sinni (Matera).



Fig. 13 - Grappoli, a bacca bianca, di vite selvatica proveniente da Carige (Grosseto).

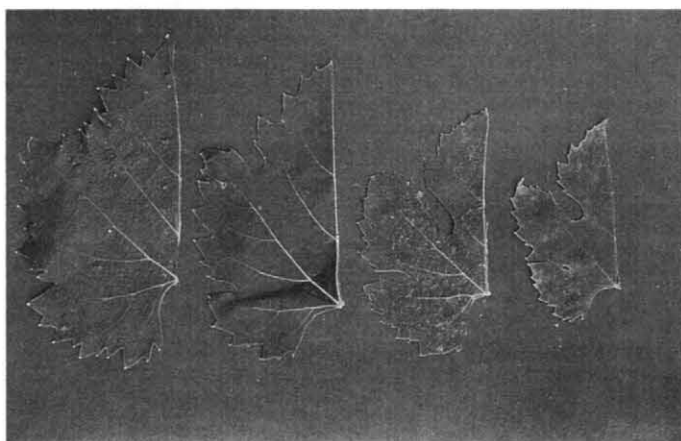


Fig. 14 - Variabilità nella forma delle foglie delle popolazioni di viti selvatiche del Sinni (Matera).

«cluster analysis» e dell'«analisi dei componenti principali», può essere giustificata dal fatto che, mentre nel «cluster» le distanze si sono ottenute tenendo conto di tutte le variabili, la funzione discriminante è stata costituita solo con alcune variabili scelte per

«step-wise», tra quelle che maggiormente consentono una distinzione dei genotipi.

Meno efficace è la separazione operata dall'analisi del colore secondo Hunter, anche se viene confermata l'appartenenza del «Colorino» al gruppo della «*Vitis silvestris*» toscana. Molto distante è invece il «Canaiolo» (fig. 9).

#### 4. Conclusioni

In questa prima ricerca sistematica della localizzazione della «*Vitis silvestris*» in Italia, ci si è posti come obiettivo principale l'identificazione del maggior numero di siti dove questa specie è presente. Solo in due di essi è stata valutata in dettaglio la presenza della «*Vitis silvestris*» all'interno del sito. Pur essendo una sottospecie ubiquitaria, in quanto presente dal clima temperato del Trentino a quello mediterraneo della piana di Policoro, essa è particolarmente diffusa in Toscana, alto Lazio e Umbria occidentale. È invece assente sul versante orientale della penisola. L'Italia rappresenta quindi secondo una definizione di Vavilov (1926), un «serbatoio di variabilità genetica» per la «*Vitis silvestris*» di estremo interesse scientifico.

I risultati esposti consentono di affermare che nell'ambito delle popolazioni italiane di viti spontanee, vi è un'elevata variabilità nei caratteri considerati, soprattutto tra i siti, ma spesso anche nell'ambito del sito. I caratteri dotati di maggiore variabilità sembrano essere la lunghezza del becco del vinacciolo (soprattutto considerando la sua scarsa reattività ambientale) e l'acido malico del mosto. Quest'ultimo è però più espressione fenotipica che risultato del controllo genetico.

Appare comunque rilevante l'interazione tra genotipo ed ambiente nel controllo di questo carattere come dimostra, all'interno di alcuni siti, l'ampia variabilità tra i genotipi. La tassonomia numerica con i metodi di analisi multivariata e la «cluster analysis», ha consentito di analizzare e classificare alcuni genotipi di «*Vitis silvestris*» di varia provenienza nonché due vitigni coltivati. Le indicazioni che sono emerse permettono di affermare che esiste tra i genotipi saggiati una similarità fenotipica che riflette una similarità genotipica.

Il raggruppamento dei genotipi fatto con il «cluster» dimostra per alcuni di essi, un'origine genetica comune, dovuta ad analoghe pressioni selettive (naturali o artificiali), mutazioni e «genetic drift». Verosimilmente il «Colorino» ed il «Canaiolo» sono il risultato della messa a coltura di viti spontanee toscane. Benché l'inventario delle viti selvatiche italiane sia lungi dall'essere completo, è però necessario approntare una strategia di salvaguardia per evitare che le dimensioni dell'erosione genetica, rappresentata

dai disboscamenti, dal taglio periodico dei boschi e dagli incendi boschivi, raggiungano livelli inaccettabili. Mentre l'istituzione di riserve, dove il materiale genetico possa continuare la sua evoluzione, rappresenta una soluzione oggi troppo costosa e di difficile attuazione, molto più praticabile è invece la costituzione di collezioni da conservare sotto condizioni, che assicurino l'integrità genetica delle popolazioni originali (Porceddu, 1974). Ciò in accordo con i suggerimenti dell'IBPGR espressi a Tessalonie nel 1982 e teorizzati da Alleweldt (1982) e Van Sloten (1982).

A questo proposito sta sorgendo presso un'azienda privata nel Comune di Montalcino, per iniziativa dell'Istituto di Coltivazioni arboree dell'Università degli Studi di Milano, una collezione che raggruppa tutti i genotipi di «Vitis silvestris» identificati in Italia, unitamente ad alcune viti selvatiche provenienti da Germania, Turchia, Jugoslavia, Francia e Nord-Africa.

#### BIBLIOGRAFIA

- Alleweldt G. (1956) - *Über das Vorkommen von Wildreben in der Türkei* Zeitschrift für Pflanzenzüchtung, 53, 380-388.
- Alleweldt G. (1982) - *Collection, conservation et mise en valeur des ressources de gènes de la vigne* Bull. Oiv, 622.
- Breviglieri N., 1955 - *Ricerche sui sistemi radicali della vite*, Atti Acc. It. Vite e Vino, VII, 93.
- Franchino A. (1935) - *La Vitis vinifera silvestris-Gmel. Descrizione delle viti selvatiche studiate sull'Appennino Bolognese*, Roma, 1-45.
- Grenan S. (1984) - *Polymorphisme foliaire consécutif à la culture in vitro de Vitis vinifera L.* Vitis, 23, 159-174.
- Jacob M. (1978) - *Quelques particularités écologiques et biologiques de la vigne sauvage en Roumanie*. Ecologie de la vigne, 1er Symp. Int. sur l'Ecologie de la Vigne, Constanza: 305-315.
- Levadoux L. (1954) - *Les Lambrusques* Bull. Soc. Hort. des B. de R., 10: 12-15; 11: 9-12.
- Levadoux L. (1956) - *Les populations sauvages et cultivées de Vitis Vinifera*. Annales de l'Amélioration des Plantes, 1: 59-118.
- Lipka Z., Tanner H. (1974) - *Une nouvelle méthode de dosage rapide de l'acide tartrique dans les moûts des vins et d'autres boissons (selon Rebelein)*. Rev. Suisse de Vit. Arb. VI: 5-10.

- Logothetis B. (1962) - *Les vignes sauvages en tant que matériel primitif viticole en Grèce*. Tessalonie: 1-43.
- Longo B. (1921) - *Sulla vite selvatica in Maremma R.* Accademia dei Lincei, Vol. XXX, fasc. X.
- Marshall D.R., Brown M.D. (1982) - *Optimum sampling strategies in genetic conservation*. "Grop genetic resources for today and tomorrow". 53-80.
- Negrul A.M. (1960) - *Nuove indagini sull'origine delle varietà centro-asiatiche della vite*. Atti Acc. It. Vite e Vino XII: 113.
- Piergiorgio L., Volonterio G. (1981) - *Studio della frazione antocianica delle uve*. Nota I Vignevini 8: 49-53.
- Pirmagomedou P.M. (1984) - *The Daghestan local grape varieties*. Izvestiya Timiryazvskor sel' skokh uk 2, 114-116.
- Porceddu E. (1974) - *Le risorse genetiche vegetali. II: Intervento per la loro salvaguardia*. Giornale Botanico italiano, 108: 259-271.
- Ribereau-Gayon P., Stonestreet E. (1965) - *Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge*. Bull. Soc. Chim. Franc. 419: 2648-2652.
- Rives M. (1973) - *Les vignes sauvages comme sources de gènes pour l'amélioration*. I Int. Symp. über Rebenzüchtung, Geilweilerhof, 25-30/9.
- Schumann F. (1968) - *Die Verbreitung der Wildrebe am Oberrhein*. Die Wein-Wiss. 23: 487-497.
- Schumann F. (1974) - *Untersuchungen an Wildreben in Deutschland*. Vitis 13: 198-205.
- Schumann F. (1977) - *Notizen zum Vorkommen von Wildreben in der Türkei*. Die Wein-Wiss. 32: 169-173.
- Scienza. (1983) - *Notizie ed importanza di alcuni recenti ritrovamenti di Vitis vinifera silvestris Gmelin in Italia*. Notiziario di Ortoflorofruitt. 6: 297-301.
- Scienza A., Conca E., Romano F., Moretti G. - *Localizzazione della Vitis silvestris in Trentino e rapporti filogenetici con i vitigni coltivati (in litteris)*.
- Sloten Van D.A. (1982) - *Collection et conservation des ressources génétiques et recommandations concernant le matériel génétique de Vitis*. Bull. O.I.V.: 622.
- Turkovic Z. (1962) - *Die Wildrebe (Vitis Silvestris G.) in Steimark, Slowenien und Kroatien*. Mitt. Klosterneuburg A., 12: 1-6.
- Vavilov N.I. (1926) - *Studies on the origin of cultivated plants*. Bull. App. Bot. Gen. and Plant Breeding 16: 1-248.
- Zimmermann J. (1956) - *Eine Studienreise zu den Wildreben (Vitis silvestris G.) in Jugoslavia*. Dt. Weinbaukal: 43-46.

#### RESUME

#### DIFFUSION ET CARACTERISTIQUE DE LA «VITIS VINIFERA SILVESTRIS» GMELLIN EN ITALIE

Les recherches relatives à la présence de la «Vitis V. Silvestris» en Italie ont été dans le passé très irrégulières. Elles se sont limitées à décrire certains biotypes présents dans le centre de l'Italie (Apennins toscans et émiiliens et littoral toscan et du Latium).

Grâce à une étude approfondie effectuée dans toute l'Italie de 1982 à 1984, on a pu identifier de nombreuses forêts dans lesquelles la «Vitis V. Silvestris» est un composant essentiel. La présence de la Vitis V. Silvestris en Italie se note essentiellement dans les zones où la densité de population est plus faible. Elle est diffuse dans le sud du Trentin, dans la région de Vérone, le long du littoral toscan et du Latium, dans le centre de la Toscane, en Campanie et en Basilicate. Aucun exemplaire n'a par contre été identifié le long de la côte adriatique.

Par rapport à la distribution tracée par Levadoux en 1956 et qui se réfère à 1850, les nouvelles découvertes élargissent la diffusion de la «Vitis V. Silvestris» en Italie à des zones plus septentrionales (Trente et Vérone) et plus méridionales (Basilicate). Les biotypes découverts (150 dont 70% à fleurs mâles) ont été décrits par les techniques de la taxonomie numérique et de la chimiotaxonomie. Les exemplaires les plus intéressants seront propagés et recueillis dans une collection.

De nombreux dangers (déboisements à des fins agricoles, taille périodique des bois et incendies) menacent dramatiquement l'intégrité de ce «pool génétique» pour lequel des stratégies de conservation particulièrement urgentes et efficaces sont nécessaires.

## IDENTIFICAZIONE E CONSERVAZIONE DEI VITIGNI LOCALI (Vitis vinifera L.) IN EMILIA ROMAGNA

**O. SILVESTRONI - B. MARANGONI - F. FACCIOLI**  
Centro Ricerche Viticole ed Enologiche - Sez. Viticola  
Ist. Coltivazioni Arboree - Università di Bologna (Italia)

L'evoluzione della viticoltura in Emilia-Romagna a partire dall'ultimo dopoguerra, ha progressivamente condotto all'eliminazione

quasi totale della coltivazione promiscua ed al corrispondente espandersi di quella specializzata. Parallelamente, anche sotto la spinta dell'applicazione, a partire dal 1963, del D.P.R. 930 riguardante la tutela della denominazione di origine dei vini, si è registrata una forte riduzione del numero di vitigni coltivati, molti dei quali erano diffusi in aree circoscritte e spesso venivano utilizzati solo nell'ambito della famiglia rurale.

Per effetto combinato di questi ed altri fattori, la base ampelografica della Regione è attualmente caratterizzata da un numero limitato di vitigni, mentre le indicazioni bibliografiche risalenti alla fine del secolo scorso ed agli inizi del novecento (Agazzotti, 1867; Boll. Amp. Min. Agr. Ind. Comm., 1875-87; Rovasenda, 1877; Molon, 1906; Viala e Vermorel, 1910) riportano la presenza di circa centocinquanta vitigni, in gran parte scomparsi oppure sporadicamente presenti in vecchi filari alberati prossimi all'estirpazione.

**Tab. 1 - Vitigni ad uva bianca reperiti nel corso della ricognizione effettuata nelle province emiliano-romagnole di Reggio Emilia, Modena, Bologna, Ravenna, Forlì e Ferrara. Per ogni vitigno vengono riportati i sinonimi più diffusi ed i principali riferimenti bibliografici**

Vitigno	Sinonimi	Principali riferimenti bibliografici
Albana del Paniere	—	Rovasenda, 1877
Alionza	Aleonza, Leonza...	Boll. Amp. XII 1879; Viala e Vermorel 1910; Molon 1906; Faccioli et al., 1982
Alionzina	identificata come Pignoletto	—
Angela Bolognese	Angiola bianca, Angela	Rovasenda 1877; Boll. Amp. XIX, 1885
Angela Romagnola	Angela bianca, Uva angela	Boll. Amp. X, 1879
Bentinora	Rossola, Uva di Bertinoro, Bianchino di Bertinoro	Boll. Amp. X, 1879; Acerbi, 1825
Bianchello	Biancame	Boll. Amp. XIX 1885; Marzotto, 1925
Biondello	—	Boll. Amp. X, 1879
Bsolla	Bsola	Boll. Amp. X, 1879
Canino	—	Boll. Amp. X e XII, 1879; Acerbi, 1825
Cargarello	Caricarello	Acerbi, 1825; Rovasenda, 1877
Cavecia (1, 3)	Caveccia	—
Ciocca	Chiocca, Checca, Ciocchella (?), Cioclare (?), Signora bianca (?)	Rovasenda, 1877
Cor D'Usel (1, 3)	Cuor d'usel	—
Durona (2)	—	Rovasenda, 1877
Fogliona	Sgranarona (?)	Boll. Amp. XII, 1879 (?)
Forcella	Forcelluta, Forcellina, Sforcella	Acerbi, 1825; Rovasenda, 1877; Zannoni, 1905; Cavazza, 1904
Gatta	Uva gatta	Rovasenda, 1877; Boll. Amp. XII, 1879
Gradesana	Retica, Uva retica, Gratigiana, Gradsana	Agazzotti 1867; Rovasenda, 1877; Ramazzini, 1887
Lanzesa	—	Boll. Amp. XI, 1879
Luglienga	Lugiadega, Lignenga, Uva pastora, Fresa di Mensa, S. Anna di Lipsia (?)	Rovasenda, 1877; Boll. Amp. XIX, 1885; Cosmo et al., 1960 (?)
Maligia	Malisia, Malisa, Malica	Rovasenda, 1877; Viala e Vermorel, 1910
Malvasia profumata	Malvasia odorosissima (?) Malvasia di Scandiano (?)	Agazzotti, 1867; Rovasenda, 1877
Moscato B.	Moscato forlivese, Moscato di S. Maria, Moscato bianco, Moscatello bianco	Boll. Amp. X, 1879
Occhio di Gatto	Occhio di gatta	Acerbi, 1825; Malavasi, 1879; Ramazzini, 1887; Rovasenda, 1877
Pagadebiti	Empibotte, Panzone, Uva barile, Pagadebitto, Gonfiabotte, Sfasciabotte	Boll. Amp. X, 1879; Rovasenda, 1877; Acerbi, 1825
Paradisa	Baccarina, Uva di stuoia, Uva di Venezia	Boll. Amp. X, 1879; Rovasenda, 1877; Pulliat, 1888
Pellegrina	Pissotta, Sampelgrina, Uva Pelegrina	Agazzotti, 1867; Rovasenda, 1877
Pignoletto	Alionzina, Pignolo, Pignoletto bolognese	Faccioli, Marangoni, 1978
Querciola	Querzola, Querciola bianca	Acerbi, 1825; Rovasenda, 1877
Rambella	Rambela, Rambelina (?), Rambola (?), Rambolina (?), Heunisch (?)	Rovasenda, 1877; Marzotto, 1925
Ribolla	—	Boll. Amp. X, 1879
Ruginosa	—	Ramazzini, 1887; Cons. Prov. Ec. Corp. di MO, 1928
Scacco	Squacquero, Scacolino	Boll. Amp. X, 1879
Scarsafoglia	Squarciafoglia	Agazzotti, 1867; Rovasenda, 1877; Bertozzi, 1840
Spaltarina (1)	—	—
Termarina	Uva passerina, Uva di Corinto, Tramarina	Agazzotti, 1867; Zannoni, 1905; Rovasenda, 1877; Ramazzini, 1887
Tognona (1)	—	—
Trebbiano di Spagna	—	Agazzotti, 1867; Malavasi, 1879; Rovasenda, 1877
Trebbiano Romano	Trebbiano giallo di Velletri, Trebbiano dei Castelli	—
Uva Aceto	Uva d'aceto	—
Uva di S. Andrea (1)	—	—
Uva Grilli	identificata come Pignoletto	—
Uva nebbia	Uva della nebbia	Boll. Amp. X, 1879

(1) Vitigno non citato, almeno con questo nome, nelle opere consultate.

(2) Le descrizioni riportate in letteratura non sono sufficienti per identificare con certezza il vitigno in esame.

(3) Il vitigno deriva probabilmente da un semenzale nato in azienda o nelle vicinanze, lasciato sviluppare e successivamente diffuso in un'area molto ristretta.

Il patrimonio ampelografico costituito da questi «vitigni minori», pur avendo oggi una limitata importanza sotto il profilo economico, è certamente di estremo interesse sotto quello genetico e storico, poiché, come più volte lamentato, si va sempre più

restringendo l'entità del germoplasma che da secoli caratterizza la viticoltura italiana.

Nell'ambito di un ampio programma sulla difesa delle risorse genetiche nazionali, si è quindi ritenuto opportuno completare, a

**Tab. 2 - Vitigni ad uva nera reperiti nel corso della ricognizione effettuata nelle province emiliano-romagnole di Reggio Emilia, Modena, Bologna, Ravenna, Forlì e Ferrara. Per ogni vitigno vengono riportati i sinonimi più diffusi ed i principali riferimenti bibliografici**

Vitigno	Sinonimi	Principali riferimenti bibliografici
Albana nera	Albana rossa, Albanina	Acerbi, 1825, Boll. Amp. X e XI, XII, 1879; Molon 1906; Cavazza, 1914
Albanina Nera	—	—
Amabile (Malbo Gentile) (1)	Malbech (?)	—
Balugana (1)	—	—
Balsamina	Balsamino, Barzamino, Balsamica	Acerbi, 1825, Boll. Amp. XX, 1885; Viala e Vermorel, 1910
Balzamino	Balzameno, Balzemino	Acerbi, 1825
Barbarossa (2)	—	Viala e Vermorel, 1910; Rovasenda, 1877
Barghia (1)	—	—
Basgana	Besgano (?)	Acerbi, 1825
Becco Rosso	—	Maini, 1854; Bertozzi, 1840
Bermestone	Bermestone rosso, Bermestia nera (?)	Boll. Amp. XIX, 1885; Agazzotti, 1867; Rovasenda, 1877
Brugnola	Brogna (?)	Acerbi, 1825; Rovasenda, 1877
Bura (1)	—	—
Burghisana (1)	—	—
Cagnina	Terrano, Refosco, Magnacan	Boll. Amp. X, 1879; Marzotto, 1925
Canina (3 biotipi)	Cannina, Canina dal raspo	Boll. Amp. X e XI, XII, 1879; Rovasenda, 1877
Cornacchia	Gruone, Cornacchiola, Cornaiola	Boll. Amp. X e XII, 1879
Covra	Covra gentile, Negrone, Nigrera	Maini, 1854; Agazzotti, 1867; Bertozzi, 1840
Covrina	Covera gentile (?)	Bertozzi, 1840
Dura (2)	—	Rovasenda, 1877
Fogarina	Passetta, Uva di Gualtieri	Zannoni, 1905; Marzotto, 1925
Frattini (3)	—	—
Gialmona (1)	—	—
Grillone (2 biotipi)	Grilla nera (?), Rubiola (?), Margignana (?)	Acerbi, 1825; Boll. Amp. X, 1879
Groppello Ruberti	Lambrusco Viadanese (?)	Zannoni, 1905; Marzotto, 1925
Lambruschin D'German (1, 3)	—	—
Lambrusco Ancellottato (1, 3)	—	—
Lambrusco Benatti	—	Bergonzini, 1978
Lambrusco di Fiorano	Lambruscone, Lambrusco Oliva grosso	Acerbi, 1825; Agazzotti, 1867; Malavasi, 1879
Lambrusco a foglia frastagliata	Lambrusco nostrano	Com. vit. prov. Trento, 1954
Lambrusco Maiolo	Maiolo	Malavasi, 1879; Agazzotti, 1867
Lambrusco di Montericco	Selvatica di Montericco	Pizzi, 1891
Lambrusco Rossina	Rossera (?); Rossana (?)	Bertozzi, 1840; Pizzi, 1891
Lambrusco dal picciolo rosso(1)	—	—
Madalona (1)	—	—
Marzemino	Berzemino Capolico, Berzemino, Marzemina, Uva tedesca	Rovasenda, 1877; Viala e Vermorel, 1910; Agazzotti, 1867
Montanara (1)	—	—
Moscattello N.	Moscateo nero forlivese, Moscatella, Moscato nero	Boll. Amp. X, 1879
Negretta	—	Agazzotti, 1867; Cons. Prov. Ec. Corp. di MO, 1928
Negretto	Negrettino, Neretto	Boll. Amp. X, 1879; Rovasenda, 1877
Nera Grossa	Boudalès (?), Ulliade noir (?)	Pulliat, 1888; Rovasenda, 1877
Pergolone	Pergola rossa, Bermestia (?)	Acerbi, 1825; Boll. Amp. XIX, 1885
Pisighina (1)	—	—
Posticcia	—	Maini, 1854; Zanelli, 1876; Dalla Fossa, 1811
Refosal (1)	Rafosal	—
Rossiola	Rusciola (?)	Acerbi, 1825
Scorzamara	Amaraguscia (?)	Agazzotti, 1867; Rovasenda, 1877; Bertozzi, 1840
Selvatica (3)	—	—
Sgavetta	Sganetta, Lambrusco Sgavetta	Ramazzini, 1887; Toni, 1927; Cosmo e Sardi, 1962
Simonina (1)	—	Bertozzi, 1840
Tosca	Uva tosca, Tosco	Agazzotti, 1867; Maini, 1854; Tanaro, 1658
Uva rosa (2)	Pulera	Rovasenda, 1877

(1) Vitigno non citato, almeno con questo nome, nelle opere consultate.

(2) Le descrizioni riportate in letteratura non sono sufficienti per identificare con certezza il vitigno in esame.

(3) Il vitigno deriva probabilmente da un semenzale nato in azienda o nelle vicinanze, lasciato sviluppare e successivamente diffuso in un'area molto ristretta.

proseguimento delle indagini condotte fino dal 1965 (Capucci, Facioli, Marangoni, 1967), una sistematica ricognizione delle diverse aree viticole dell'Emilia-Romagna allo scopo di reperire, identificare, caratterizzare e fissare in campi collezione il maggior numero possibile di vitigni «minori», molti dei quali, come già detto, prossimi all'estinzione definitiva nelle nostre aree di coltura.

## Metodologia

L'indagine è stata avviata prendendo inizialmente in considerazione i vitigni romagnoli, dopodiché è stata estesa anche a quelli della fascia emiliana comprendente le province di Bologna, Modena, Reggio Emilia e Ferrara.





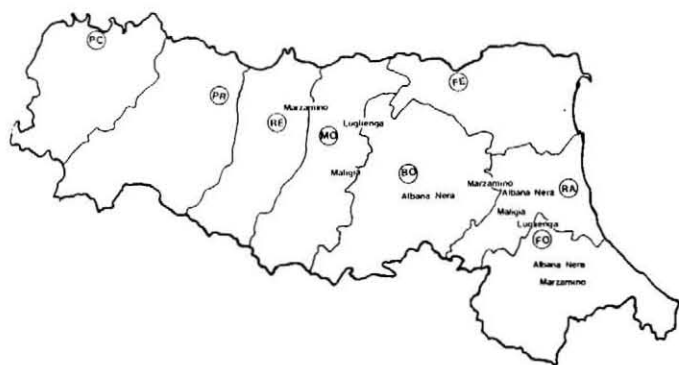


Fig. 3 - Distribuzione geografica dei vitigni «minori» coltivati in più aree della regione Emilia-Romagna.

li: «Paradisa», «Gradesana», «Bertinora», «Canino», «Uva di S. Andrea». Per queste uve ad «uso mangereccio» veniva attribuita particolare importanza all'epoca di maturazione; infatti in ogni azienda erano presenti più vitigni quali «Luglienga», «Cornacchia», «Burghisana», «Bermestone», «Pergolone», «Angela bolognese», «Angela romagnola», «Bianchello», «Canino», che maturando scolarmente, fornivano uva utilizzata fresca dalla famiglia e commercializzata giornalmente al mercato locale. La parte di produzione, non utilizzata per il consumo diretto, veniva destinata alla vinificazione; in particolare, i vitigni a maturazione precoce, servivano a produrre dei vini che possono essere definiti «di congiunzione», perché di pronta beva ed utilizzati nel periodo in cui, consumati i vini dell'anno precedente, non erano ancora disponibili per la vinificazione le uve dei vitigni principali (Lambruschi, Sangiovese, Trebbiano romagnolo, ecc.).

#### Aspetti economici e prospettive

Alcuni dei vitigni da vino (tabelle 1 e 2) rivestono ancora una certa importanza, in aree viticole di limitata estensione, per le produzioni di vini richiesti generalmente da consumatori locali, ma

altamente remunerativi per il produttore; è il caso di cultivars come «Barbarossa», «Ribolla», «Canino», «Cargarello», «Alionza», «Pagadebiti», «Cagnina» (Terrano), «Negretto», «Uva toscana». Di questi solamente gli ultimi tre nel 1977 erano stati inclusi nel «catalogo nazionale delle varietà» che ne rendeva possibile la coltivazione attraverso la loro preventiva introduzione nell'«Elenco Ufficiale dei vitigni consigliati per l'Emilia-Romagna».

#### Descrizioni ampelografiche

Per ciascuno dei novanta vitigni reperiti sono state stilate delle brevi descrizioni, corredate anche da una parte iconografica (fig. 4), che verrà ampliata nel completamento delle indagini. La seconda fase del lavoro prevede infatti, per tutti i vitigni in collezione, la definitiva stesura delle descrizioni ampelografiche.

#### Conclusioni

La raccolta e la conservazione dei vitigni «locali» diffusi in Emilia-Romagna, anche se ancora in via di completamento, hanno consentito la salvaguardia di un patrimonio viticolo multiforme che non è solamente una testimonianza storica dell'evoluzione subita dalla nostra viticoltura, ma rappresenta una preziosa riserva di materiale genetico già adattato alle nostre condizioni pedoclimatiche. Non bisogna sottovalutare, inoltre, l'importanza dell'inserimento nel catalogo ufficiale delle varietà di alcuni vitigni che, presi in considerazione nel corso dell'indagine, si sono dimostrati validi per la coltivazione; si tratta di «Pagadebiti», «Cagnina», «Negretto», «Pignoletto» e «Alionza» i cui vini, prodotti in quantità limitate, sono molto richiesti, almeno da parte di consumatori locali.

Il lavoro finora condotto dovrà proseguire per giungere ad una sicura identificazione dei vitigni reperiti, perché le numerose sinonimie ed omonimie, peraltro già tanto frequenti anche un secolo fa, e la non rara mancanza, in bibliografia, di descrizioni sufficientemente dettagliate non hanno permesso di fugare tutti i dubbi esistenti. A questo scopo non basterà ricorrere a più approfondite ricerche storico-bibliografiche, ma si renderà probabilmente ne-

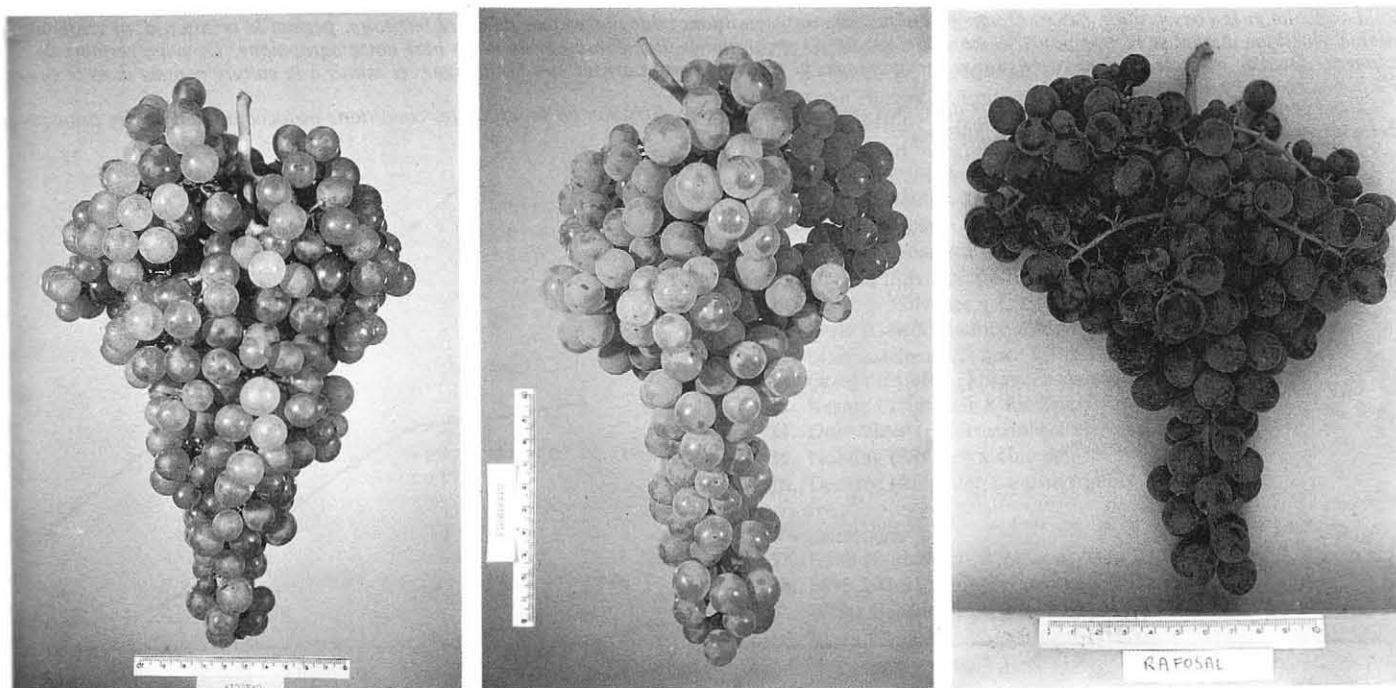


Fig. 4 - A titolo esemplificativo si riportano le fotografie dei grappoli di alcuni Vitigni «minori» ritenuti di un certo interesse: a) «Cavacia»; b) «Biondello»; c) «Refosal».

cessario riunire i vitigni «simili» in uno stesso ambiente di coltura al fine di procedere ad una loro sistematica comparazione.

Indagine effettuata con il contributo finanziario del Comune di Faenza, dell'Ente Tutela Vini Romagnoli, dell'E.S.A.V.E. e ultimamente del Consiglio Nazionale delle Ricerche-Gruppo Difesa delle Risorse Genetiche delle Piante Legnose.

#### BIBLIOGRAFIA

- Acerbi G. (1825) - *Delle vite italiane: ossia Materiali per servire alla classificazione; monografia e sinonimia preceduti dal tentativo di una classificazione geponica delle Viti*, Milano.
- Agazzotti F. (1867) - *Catalogo descrittivo delle principali varietà di uve coltivate presso il Cav. Avv. Francesco Agazzotti del Colombaro*, Modena.
- Bergonzini R. (1978) - *Campogalliano e la sua Cantina Sociale, 1908-1978*, Modena.
- Bertozzi V. (1940) - *Viti della provincia di Reggio Emilia*, Reggio Emilia, 1840 (manoscritto).
- Capucci C., Faccioli F., Marangoni B. (1967) - *Panorama ampelografico romagnolo*, da La Romagna dei vini, Ed. Alfa, Bologna.
- Cavazza D. (1892) - *Il vino di famiglia*, Piacenza.
- Cavazza D. (1904) - *Albana nera e Sampiera*, estratto dall'«Italia agricola», Giornale di Agricoltura, Piacenza.
- Cavazza D. (1904) - *Il Montù e la Forcella*, in Studi ampelografici, Tip. V., Porta, Piacenza.
- Cavazza D. (1914) - *Viticoltura*, U.T.E.T., Torino.
- Comitato Viticolo di Trento (1954) - *Indirizzi vitivinicoli per la provincia di Trento*, Fascicolo n. 1, Trento.
- Consiglio Nazionale dell'Economia Corporativa di Modena (1928) - *Usi e consuetudini dell'uva e del vino*, Modena.
- Cosmo I., Sardi G. (1962) - *Sgavetta*, Annali della Stazione Sperimentale di Viticoltura ed Enologia di Conegliano.
- Dalla Fossa C. (1811) - *Opuscoli agrari di Claudio Dalla Fossa, professore di agricoltura e botanica nel Regio liceo di Reggio E.*, Reggio E.
- Faccioli F., Marangoni B. (1978) - *Pignoletto Bolognese - caratterizzazione ampelografica e sua comparazione con il «Riesling italico»*, La mercanzia, 2.
- Faccioli F., Marangoni B., Silvestroni O. (1982) - *Alionza, un vitigno bianco dimenticato*, Vignevini, 9.
- International Board for Plant Genetic Resources (1983) - *Grape descriptors*, Roma.
- Maini L. (1854) - *Catalogo alfabetico di quasi tutte le uve coltivate e conosciute nelle province di Modena e Reggio Emilia*, Modena.
- Malvasi L. (1879) - *Contributo all'ampelografia modenese*, Modena.
- Marzotto N. (1925) - *Uve da vino*, vol. 2, Vicenza.
- Marzotto N. (1935) - *Uve da mensa*, Vicenza.
- Ministero dell'Agricoltura e Foreste (1952) - *Annali della sperimentazione agraria*. Vol. I, Roma.
- Ministero dell'Agricoltura e Foreste (1965) - *Principali vitigni di vino coltivati in Italia*, Roma.
- Ministero dell'Agricoltura, Industria e Commercio (1875/1887) - *Bollettino Ampelografico*, Roma.
- Molon G. (1906) - *Ampelografia*, Hoepli, Milano.
- Pizzi A. (1892) - *Studi sulle uve e sui mosti della Provincia*, Boll. del Comitato Agrario n. 7.
- Pulliat V. (1888) - *Milles variétés de vignes*, Parigi.
- Ramazzini E. (1887) - *Uve principali della pianura modenese*, Modena.
- Rovasenda G. (1877) - *Saggio di una ampelografia universale*, Torino.
- Tanara V. (1658) - *L'economia del cittadino in villa*, Bologna.
- Toni G. (1927) - *Viticoltura ed enologia emiliana*, It. Agr.
- Viala P., Vermorel V. (1901-1910) - *Ampélographie*, Ed. Masson, Parigi.
- Zanelli A. (1870) - *Relazione all'assemblea degli azionisti della società Enologica sull'operato della direzione nel 1875-76*, Reggio.
- Zannoni I. (1905) - *La viticoltura nel Basso modenese. Studi, ricerche, risultati*, Modena.

#### RESUME

##### IDENTIFICATION ET CONSERVATION DES CEPAGES LOCAUX (VITIS VINIFERA L.) EN EMILIE ROMAGNE

Une recherche importante dans les aires viticoles d'Emilie Romagne comprises entre la côte adriatique et la Reggienne a débuté il y a vingt ans et a permis grâce à de nombreuses informations fournies par les techniciens du secteur et par des viticulteurs, d'individualiser et de recueillir plus de cent cépages locaux dont la culture diminuait petit à petit et était souvent limitée à peu de cépages cultivés sur de vieilles rangées de vignes s'appuyant sur des arbres.

Pour chaque cépage individualisé, une plante représentative a été choisie et a servi de matériel de multiplication végétative pour la création de conservatoires qui ont facilité la description ampélographique définitive des plantes après leur entrée en production. Les déterminations concernant les principaux composants organiques et minéraux ont été effectuées sur les moûts et sur les vins afin d'évaluer les caractéristiques technologiques de chaque cépage.

La récolte et la conservation de ces cépages, déjà adaptés aux conditions pédoclimatiques de notre territoire, permet la création d'un vaste patrimoine génétique auquel se référer pour l'élaboration des futurs programmes d'amélioration de notre base ampélographique. De plus, certains de ces cépages, dotés de remarquables caractéristiques agronomiques et oenologiques pourront être homologués et admis à la culture comme dans le cas de l'Alionza et du Pignoletto.

Dans cette note, nous avons reporté pour différents cépages, les aires de diffusion en fonction des conditions pédoclimatiques et des principales caractéristiques ampélographiques et technologiques.

## RESISTANCES GENETIQUES ABIOTIQUES

## ABIOTIC GENETIC RESISTANCE

## RESISTENZE GENETICHE ABIOTICHE

## Résistance au froid / Freeze resistance / Resistenza al freddo

FROST RESISTANCE OF DIFFERENT  
GRAPEVINE CULTIVARS

H. BECKER - R. RIES

Institut for Grapevine Breeding and Grafting - Forschungsanstalt  
- Geisenheim - (Fed. Rep. of Germany)

Germany is one of the northern countries with grapevine production. Knowledge about the frost resistance of grapevine varieties is very important. It is known that large differences are existing between the varieties. But only a few investigations were made to classify the varieties in groups with high or little frost-resistance. It was not the aim of our work to get informations about the mechanisms of frost resistance but only about the real hardness against frost in a cooling chamber.

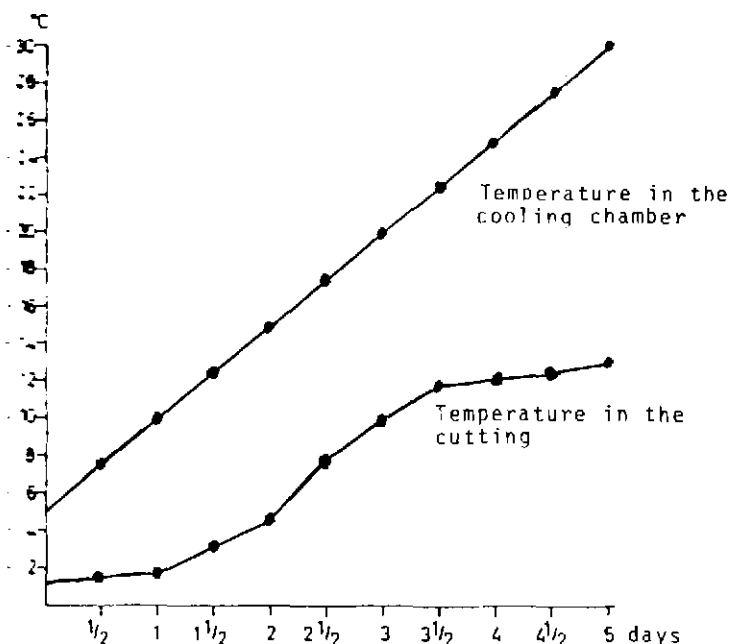


Fig. 1 - Relations between temperatures in the wood and the surrounding air.

Tab. 1 - List of used varieties during investigations

## A. Standardsorten

1. Elbling
2. Wei er Gutedel
3. Gelber Muskateller
4. Auxerrois
5. Müller-Thurgau
6. Riesling Klon 239 Gm
7. Silvaner Klon Valler 99
8. Roter Traminer
9. Rul nder
10. Wei er Burgunder
11. Blauer Frühburgunder
12. Blauer Spätburgunder
13. Blauer Trollinger
14. Blauer Limberger
15. Blauer Portugieser

## B. Neuzuchten

16. Ehrenfelser (Riesling x Silvaner)
17. Rotberger (Trollinger x Riesling)
18. Osteiner (Riesling x Silvaner)
19. Arnsburger (Riesling x Riesling)
20. Schönburger (Spätburgunder x Birovano I)
21. Oraniensteiner (Riesling x Silvaner)
22. Dunkelfelder (Kreuzung unbekannt)
23. Faber (Wei burgunder x Müller-Thurgau)
24. Scheurebe (Silvaner x Riesling)
25. Kanzler (Müller-Thurgau x Silvaner)
26. Huxel (Wei er Gutedel x Courtillier musque)
27. Morio Muskat (Silvaner x Weißburgunder)
28. Optima (Silvaner x Riesling) x Müller-Thurgau
29. Bacchus (Silvaner x Riesling) x Müller-Thurgau
30. Perle (Gewürztraminer x Müller-Thurgau)
31. Mariensteiner (Silvaner x Rieslaner)
32. Ortega (Müller-Thurgau x Siegerrebe)
33. Kerner (Trollinger x Riesling)
34. Dornfelder (Helfensteiner x Heroldrebe)
35. Nobling (Silvaner x Gutedel)
36. Deckrot (Rul nder x Farbertraube)

## C. Vergleichssorte

37. 5 BB (Berlandieri x Riparia) Klon 21 u. 34
38. 6495-3 Gm (Malingre precoce x V. amurensis) x (Fosters White Seedling F<sub>2</sub> x Prachttraube)

In the winter 1979-1980 we started these investigations and interrupted them in 1984-1985. The results are based on investiga-

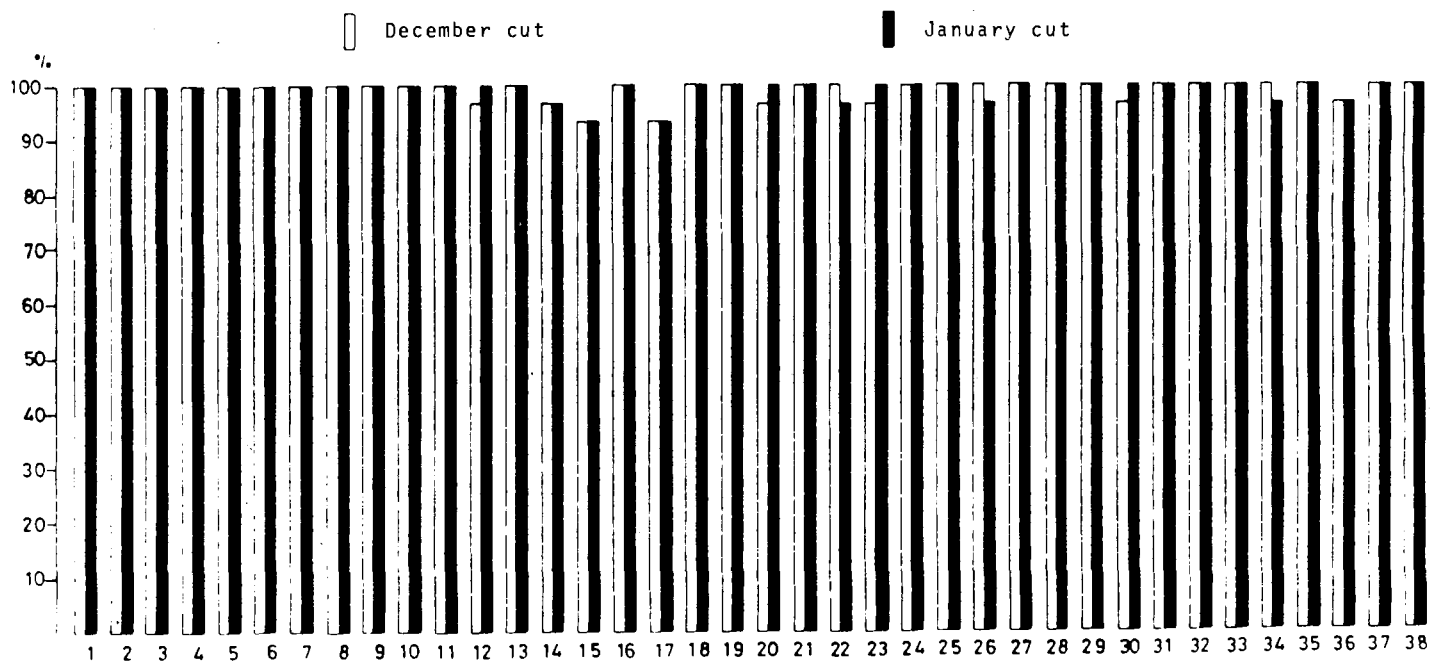


Fig. 2 - Nondestroyed main buds in % after artificial freezing at  $-15^{\circ}\text{C}$ .

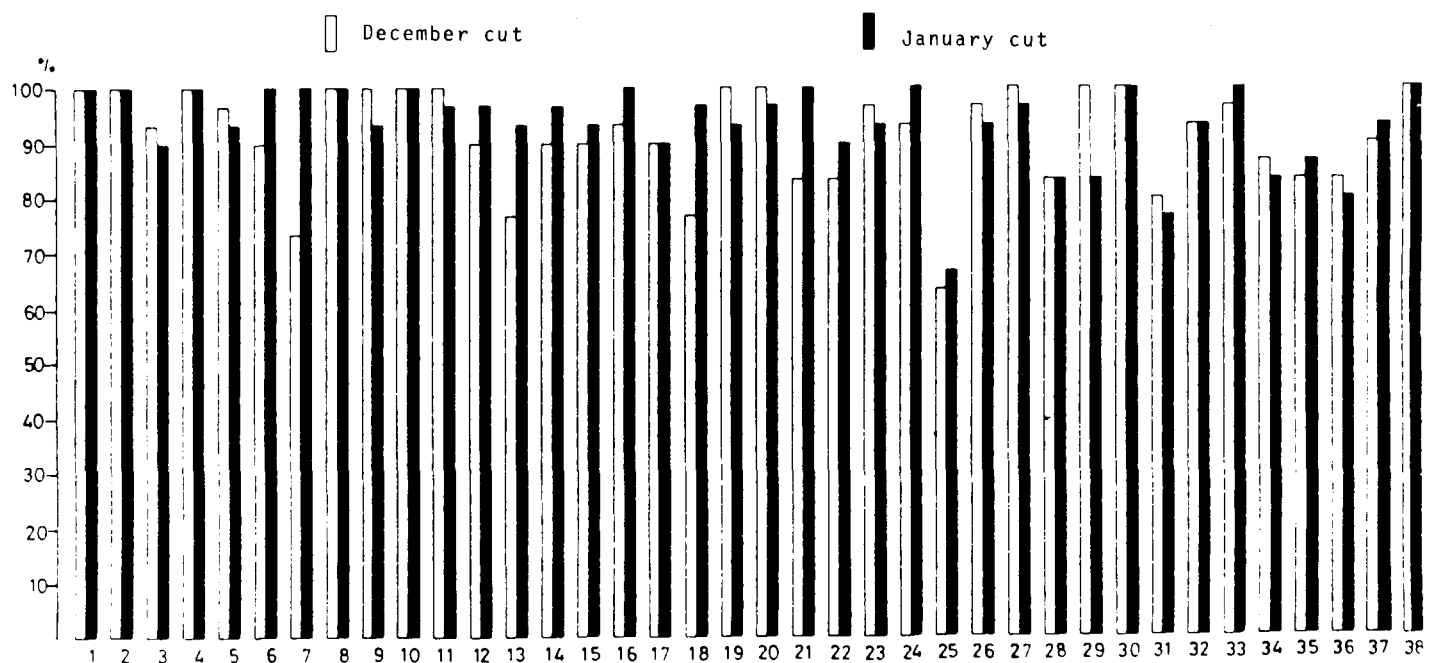


Fig. 3 - Nondestroyed main buds in % after artificial freezing at  $-15^{\circ}\text{C}$ .

tions during the winter 1979-1980. In these years a lot of work was done to improve the techniques.

For all investigations a cooling chamber for artificial freezing was used in the Institute for Grapevine Breeding and Grafting in Geisenheim. The chamber provides the possibility to freeze down to  $-40^{\circ}\text{C}$  in a minimum of 30 minutes. The temperature drift in the chamber was never more than  $1,5^{\circ}\text{C}$  between the corners in the chamber.

Normally intervals of  $-5^{\circ}\text{C}$  were used as freezing steps from one temperature to the next. A time of freezing of minimum 6 hours was used per step.

During 1979-1980 38 different varieties were used for investigations. The list of the varieties is given in Table 1. We did not on-

ly test old standard varieties but also new not released varieties. Besides of new grape varieties some rootstock clones were also tested.

To distinguish damaged and nondamaged parts of the cuttings buds and other parts of the cuttings were compared two weeks after freezing.

Fig. 1 presents the drop of temperature in the inner part of the cuttings and the surrounding air during 5 days of freezing. It is obvious that at the fifth day the temperature in the inner parts just reached  $-12^{\circ}\text{C}$  although the temperature in the freezing chamber was already  $-30^{\circ}\text{C}$ . This fact gives an idea of the high isolating capability of the wood and might explain frost damage in old trunks under special conditions.

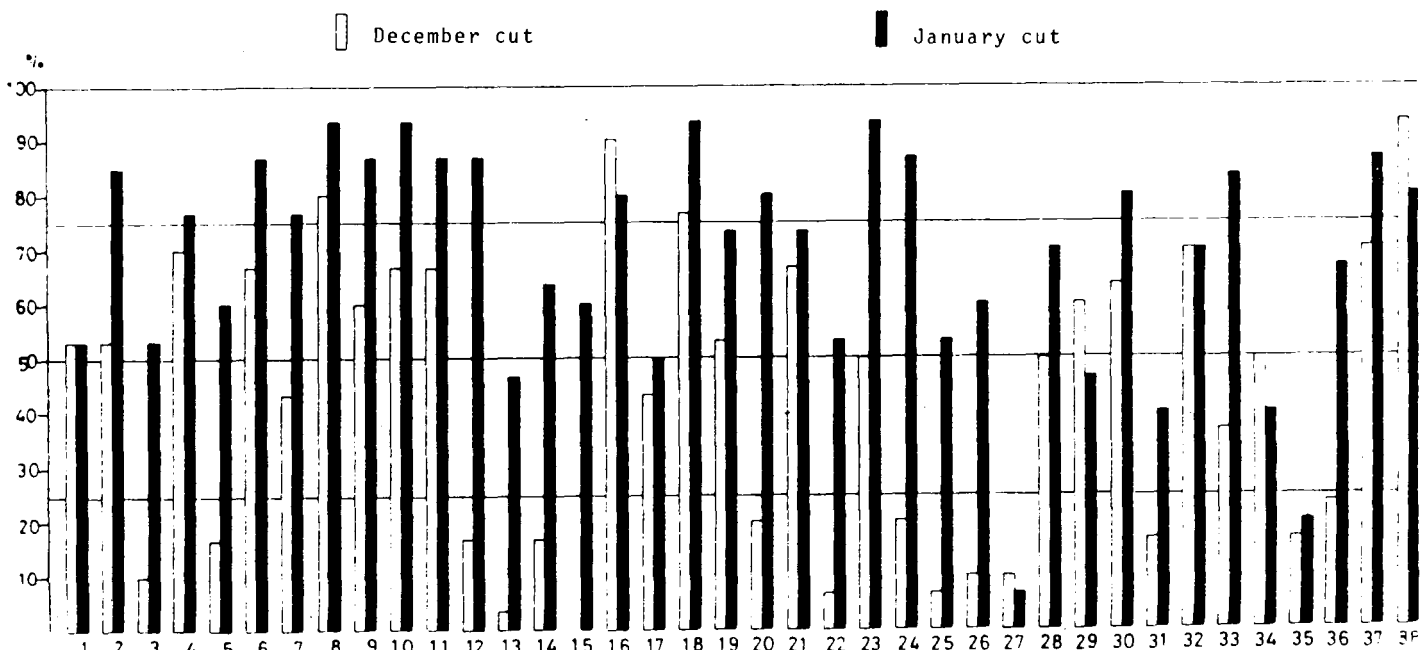


Fig. 4 - Nondestroyed main buds in % after artificial freezing at  $-20^{\circ}\text{C}$ .

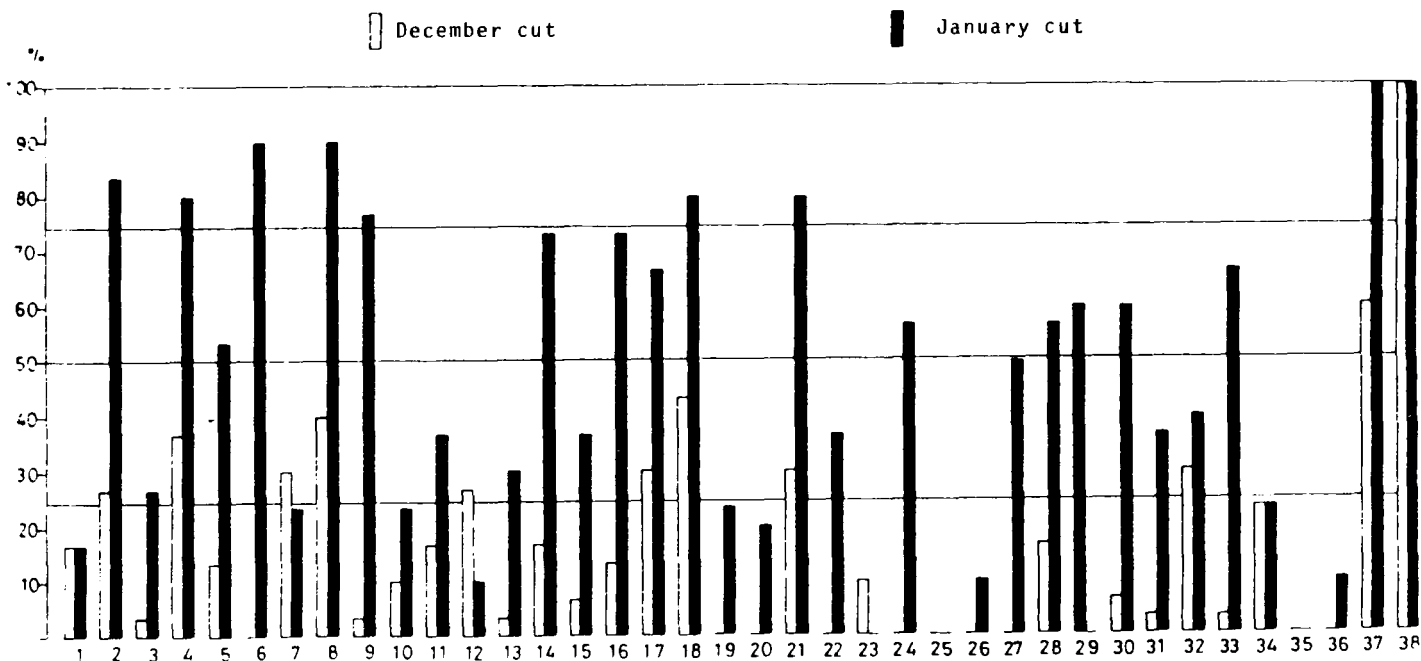


Fig. 5 - Nondestroyed main buds in % after artificial freezing at  $-25^{\circ}\text{C}$ .

As shown in Table 1 we investigated 38 varieties in the winter 1979 to 1980. The numbers given in that figure correspond to those used in all pictures. Variety 1 to 15 are standard cultivars. 16 to 36 are new crossings or less known varieties.

Fig. 2 shows the results of artificial freezing at  $-10^{\circ}\text{C}$ . The black bars represent the cuttings taken in January, the white bars those taken in December. Both show the percentage of surviving. At  $-10^{\circ}\text{C}$  was no big difference between all varieties. Most buds were not damaged.

Fig. 3 gives the same situation for the  $-15^{\circ}\text{C}$ -step. There are some varieties still not having damaged buds. Number 25 is the cultivar «Kanzler» with a loss of about 40%.

On Fig. 4 the results for  $-20^{\circ}\text{C}$  are given. Most of the varieties had less frost damage at January pruning time compared with

December. This corresponds to the results of Lacher (1971), Paroschy (1978) und Reuther (1972). Morio-Muskat (27), Kanzler (25), Dunkelfelder (22), Blauer Trollinger (13) and Müller-Thurgau (5) were the most damaged varieties.

At  $-25^{\circ}\text{C}$  more than 80% of all main buds were destroyed. A lot of varieties did not have any healthy main buds at this temperature as it is visible on Fig. 5. But still a lot of secondary buds survived even at this temperature as it is shown on Fig. 6.

The last Table 2 compares the results from the laboratory with the artificial freezing technique in Decemebr 1979 and January 1980 to the frost-damage we have got in our Institutes experiment fields in the winter 1978-1979. At Geisenheim we had less than  $-20^{\circ}\text{C}$  and an extreme drop down of the temperature of  $30^{\circ}\text{C}$  within 12 hours.

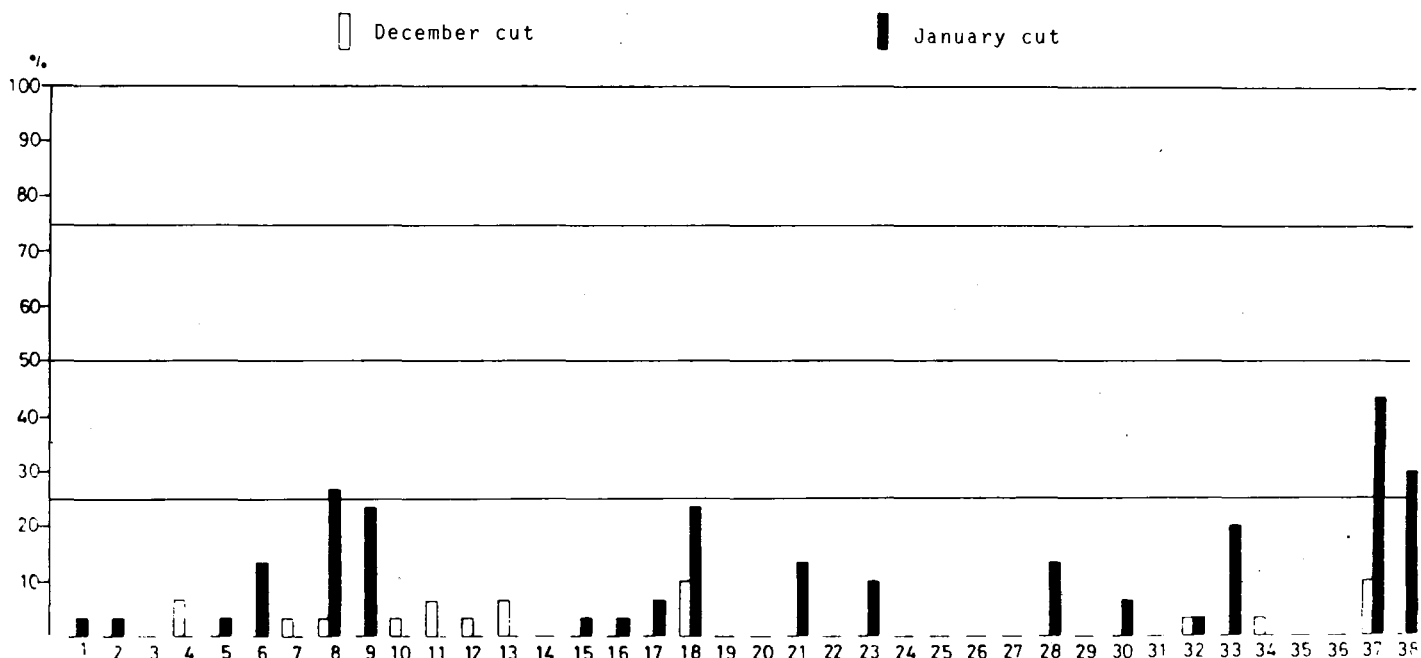


Fig. 6 - Non damaged secondary buds after artificial freezing at  $-25^{\circ}\text{C}$ .

Tab. 2 - Comparison of the results of artificial freezing in the laboratory and natural freezing in winter 1978-1979

Types of winter hardiness	Results from the open field 1978/1979	Results from the laboratory 1979/1980
very high	5 BB 6495-3 Gm Ehrenfelser Blauer Frühburgunder Blauer Spätburgunder Riesling Gutedel Oraniensteiner	5 BB 6495-3 Gm Roter Traminer Ehrenfelser Osteiner Weißburgunder Riesling Oraniensteiner
high	Kerner Deckrot Weißburgunder Auxerrois Osteiner Dunkelfelder Weißer Elbling	Auxerrois Blauer Frühburgunder Ortega Gutedel Perle Arnsburger Silvaner
medium	Ortega Perle Faber Roter Traminer Dornfelder Bacchus Scheurebe Kanzler	Optima Kerner Blauer Spätburgunder Scheurebe Rotberger Faber Elbling Limberger
low	Rotberger Optima Mariensteiner Blauer Limberger Müller-Thurgau Blauer Trollinger Grüner Silvaner Schönburger	Deckrot Schönburger Dornfelder Kanzler Mariensteiner Huxel Muskateller Müller-Thurgau
very low	Gelber Muskateller Arnsburger Nobling Morio Muskat Huxel Portugieser	Bacchus Blauer Trollinger Nobling Dunkelfelder Portugieser Morio Muskat

The results from the open field experiment in 1978-1979 and in the laboratory 1979-1980 correspond very well. Only a few varieties shifted from a very high frost resistance to high or medium group.

Within the varieties used in our investigations large differences in frost resistance could be observed, though the results for the buds were presented.

Further investigations are necessary to provide more informations on frost resistance of the varieties under different conditions, specially water and nutrient supply as well as other prestimulating climatical conditions.

#### LITERATURE

- Geiger R. - *Das Klima der bodennahen Luftschichten*, Verlag Braunschweig, F. Vilweg un Lohn.
- Heber U. (1958) - *Ursache der Frostresistenz bei Winterweizen I.*, Die Bedeutung des Zuckers für Frostresistenz, *Planta* 52, 144-172.
- Kaufhold W. (1970) - *Die Appoplexie der Rebe als Folge von Winterfrostschäden*, *Rebe und Wein*, Heft 12, 415-419.
- Lacher W. (1971) - *Kälteresistenz von Obstbäumen und Ziergehölz subtropischer Herkunft*, *Gauthier Plant* 6, 1-14.
- Müllner L. und Mayer G. - *Die Frosthärte der Rebe in Abhängigkeit des Witterungsverlaufs während des Winters*.
- Paroschy J.H. (1978) - *Mechanical winter injury in grapevine trunks*, Doktorarbeit.
- Reuther G. (1972) - *Die Dynamik der Kohlehydratmetabolism als Kriterium der Frostresistenz von Obstgehölzen in Abhängigkeit von der Winterruhe*, *Ber. Dt. Bot. Gesellschaft* 84, 571-583.

**VALUTAZIONE SULLA RESISTENZA  
AL FREDDO DI VARIETÀ DI VITE  
COLTIVATE NEL VENETO IN PROVE  
DI LABORATORIO**

**E. EGGER - M. BORGIO**  
Istituto Sperimentale per la Viticoltura di Conegliano (Italia)

RESUME

**EVALUATION DE LA RESISTANCE AU FROID DES VARIETES DE VIGNES CULTIVEES EN LABORATOIRE EN VENETIE**

*À la suite de différentes gelées qui se sont vérifiées dans différents secteurs viticoles ces cinq dernières années, en causant des dommages importants dans des vignobles en production, on a décidé d'étudier grâce à des essais en laboratoire et en serre le comportement de 10 variétés de vignes les plus diffusées à l'est de la Vénétie, afin de confirmer les observations de campagne reportées par d'autres auteurs.*

*Sur la base d'une méthode communément acceptée et décrite dans la présente étude, un classement de résistance au froid, spécifiant en même temps les conditions climatiques les plus nuisibles pour la reprise végétative, basé sur le bourgeonnement, la longueur et le poids du bourgeon et sur le poids de l'appareil radical a été établi.*

**FROST-RESISTANCE TESTS OF SOME  
GRAPE VARIETIES GROWN  
IN ANKARA CONDITIONS**

temperatures low or high character limit the growth and development of vines. For example, low temperatures especially in Middle Anatolia in all seasons except summer are very dangerous. If

**A. ERİS**

Uludag University, Faculty of Agriculture -  
Department of Horticulture - Bursa (Turkey)

**Introduction**

As an ecological factor, temperature has a special importance in viticulture. Effects of temperature on the growth and development of vines are in three characters as low, high and optimum. These all three levels of temperature have been usually seen in continental regions like in Middle Anatolia. And also, extreme

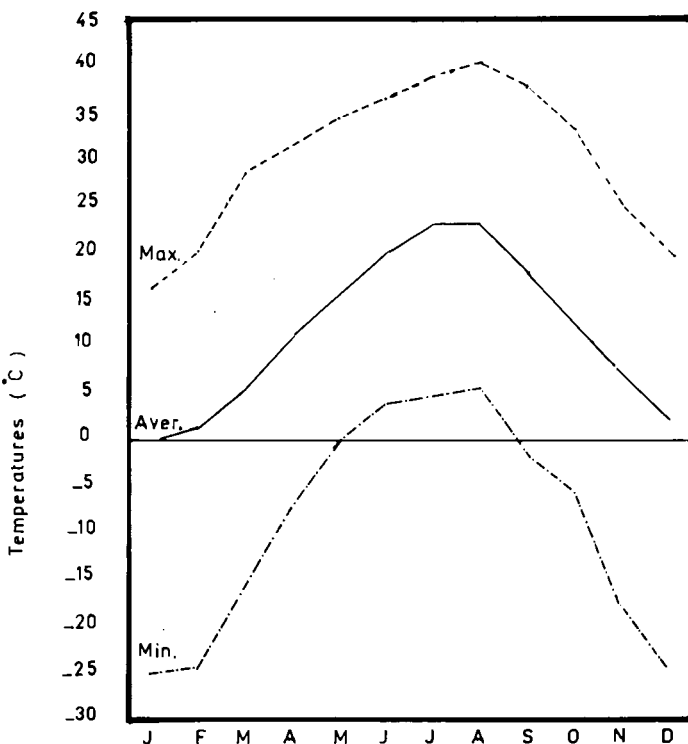
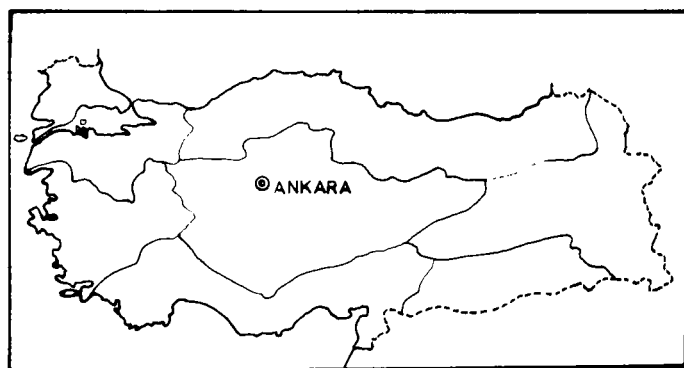


Fig. 1 - Changes of the extreme and average temperature values according to the statistic of 55 years (between 1926-1980) in Ankara conditions (Anonymous - 1984)



Tab. 1 - Max., min. and average temperature values in Ankara conditions according to the statistics of 55 years (between 1926-1980) (Anonymous 1984)

Group of values	Temperature (°C) in months											
	January	February	March	April	May	June	July	August	September	October	November	December
Average	-0.2	1.1	5.3	11.1	15.5	19.9	23.1	23.1	18.0	12.0	7.4	2.4
Max.	16.4	20.4	28.5	31.6	34.4	36.4	38.8	40.0	35.7	33.3	25.3	20.4
Min.	-24.9	-24.2	-16.3	-7.2	-0.2	3.8	4.5	5.5	-1.5	-5.3	-17.5	-24.2
Differences between max. and min. values	41.3	44.6	44.8	37.8	34.6	32.6	34.3	34.5	37.2	38.6	42.8	44.6

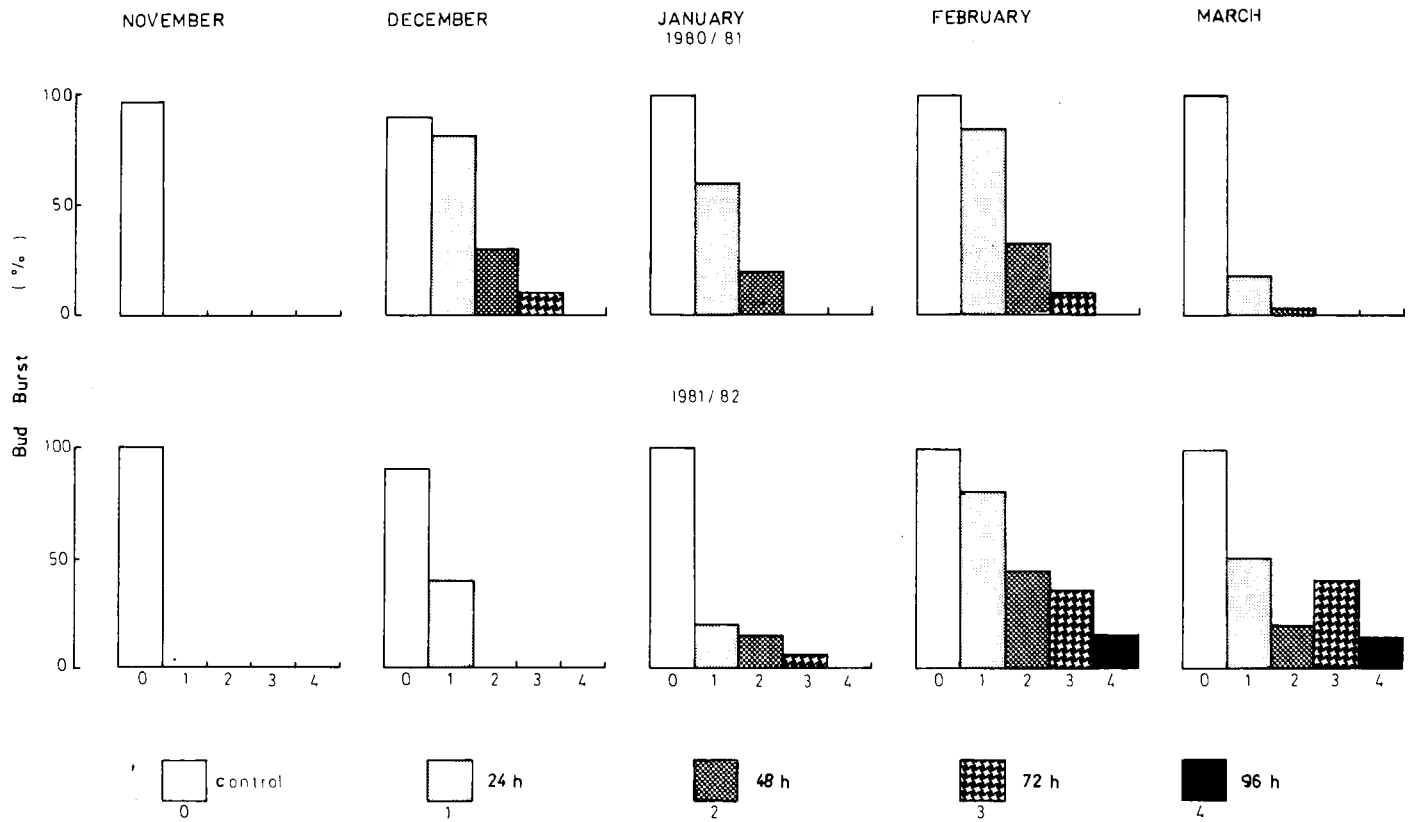


Fig. 2 - Percentage of bud burst in Chaush cv. after different periods of exposure to  $-20^{\circ}\text{C}$  in various sampling dates

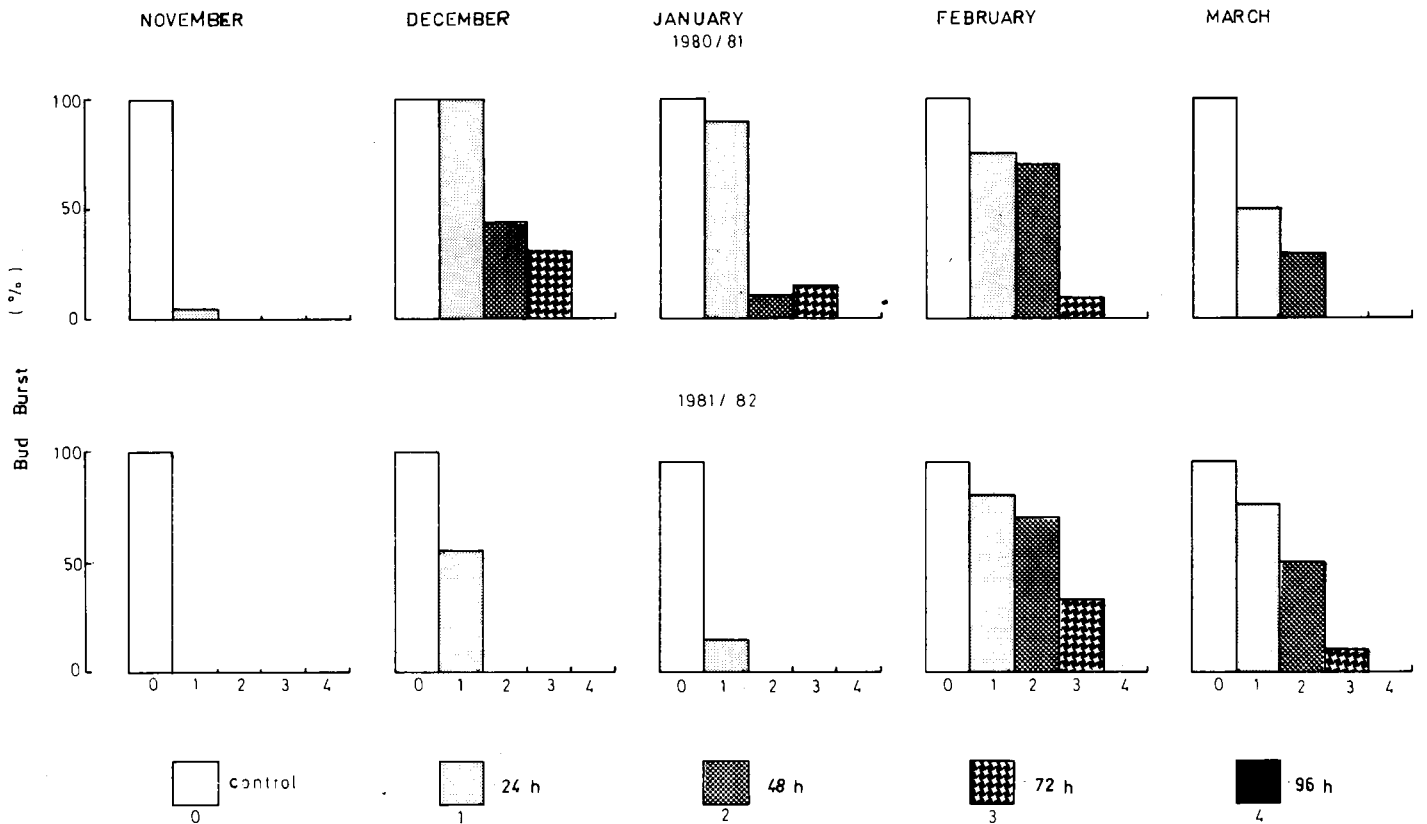


Fig. 3 - Percentage of bud burst in Muscat of Hamburg cv. after different periods of exposure to  $-20^{\circ}\text{C}$  in various sampling dates



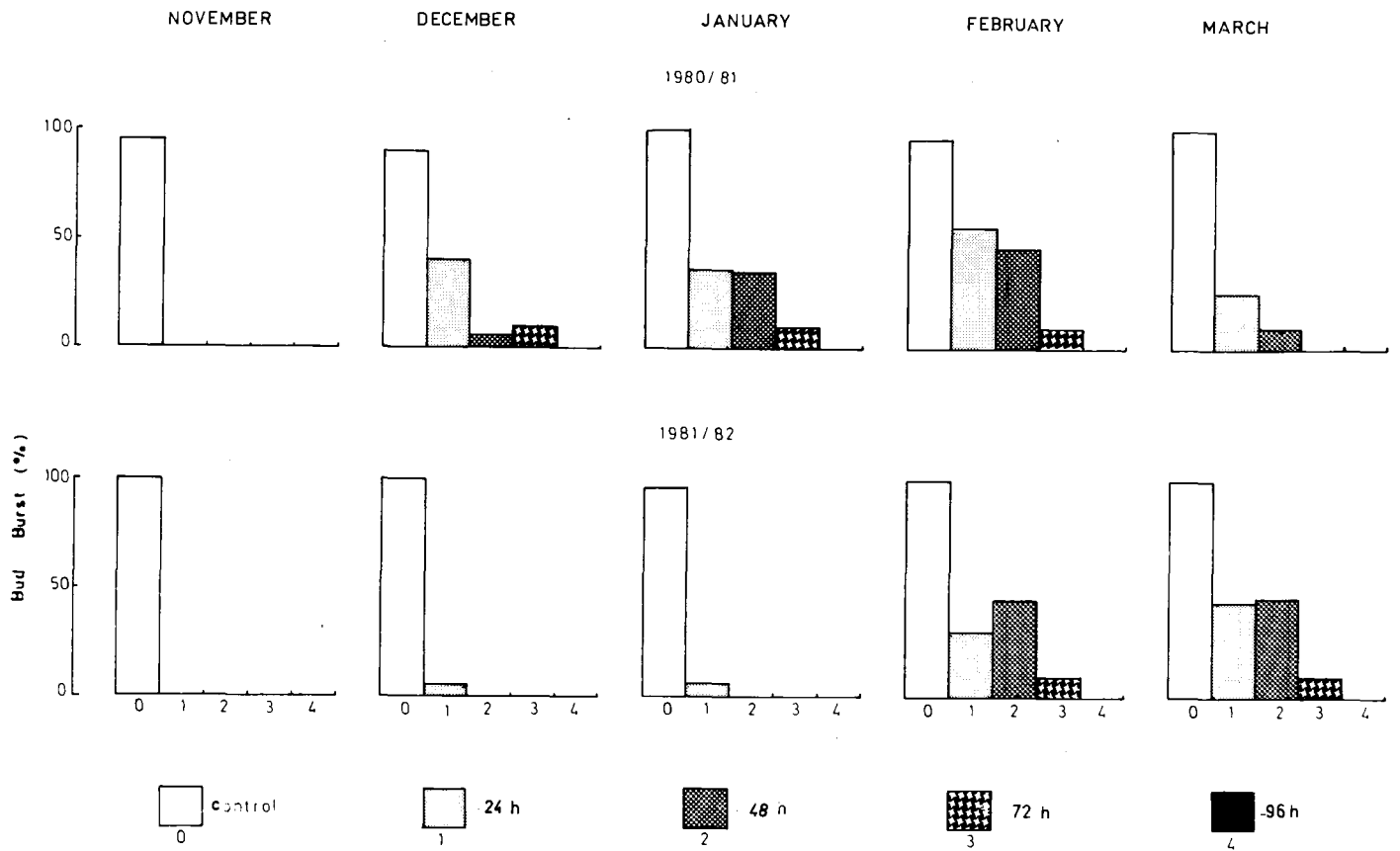


Fig. 4 - Percentage of bud burst in Hafizali cv. after different periods of exposure to  $-20^{\circ}\text{C}$  in various sampling dates

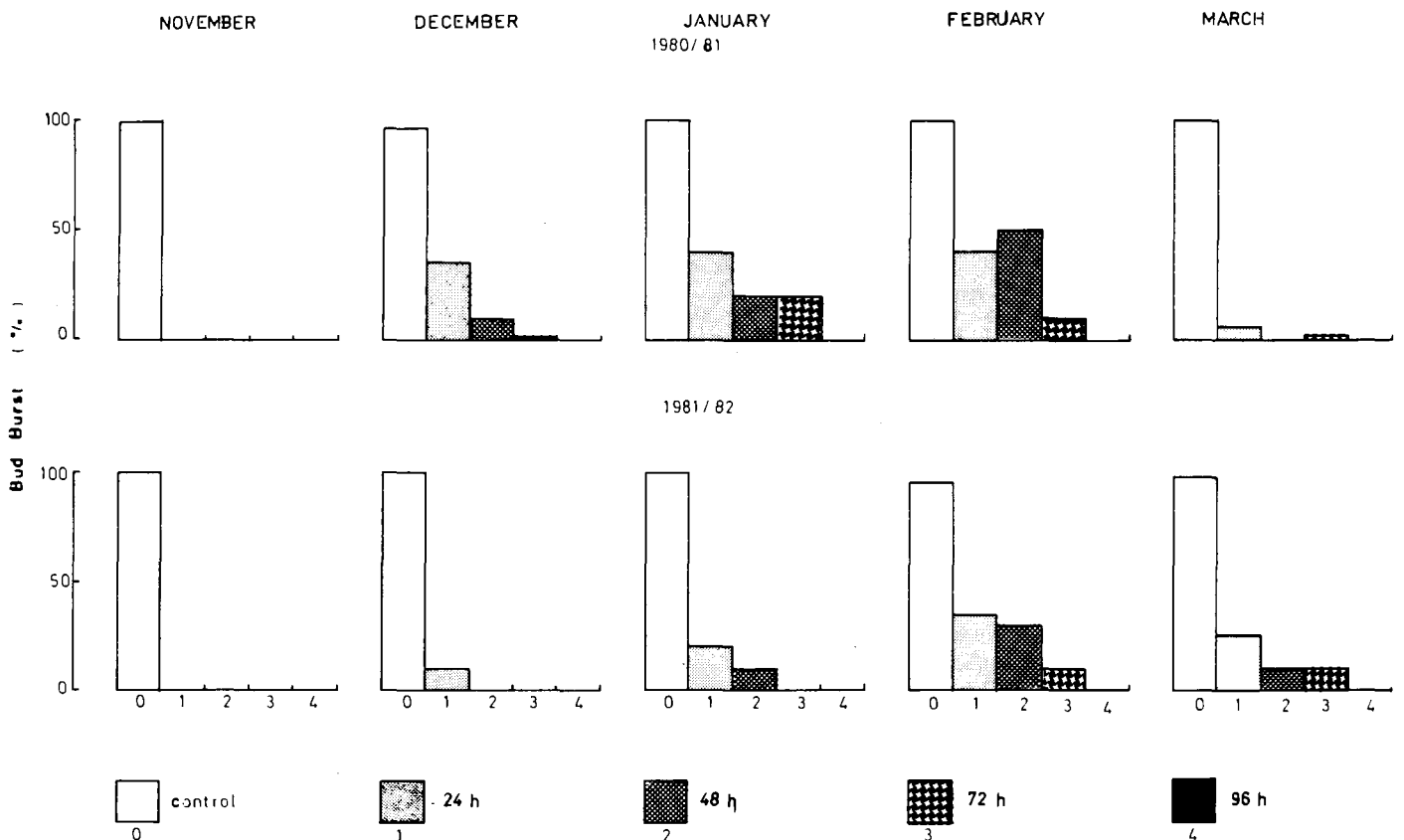


Fig. 5 - Percentage of bud burst in Karagevrek. after different periods of exposure to  $-20^{\circ}\text{C}$  in various sampling dates

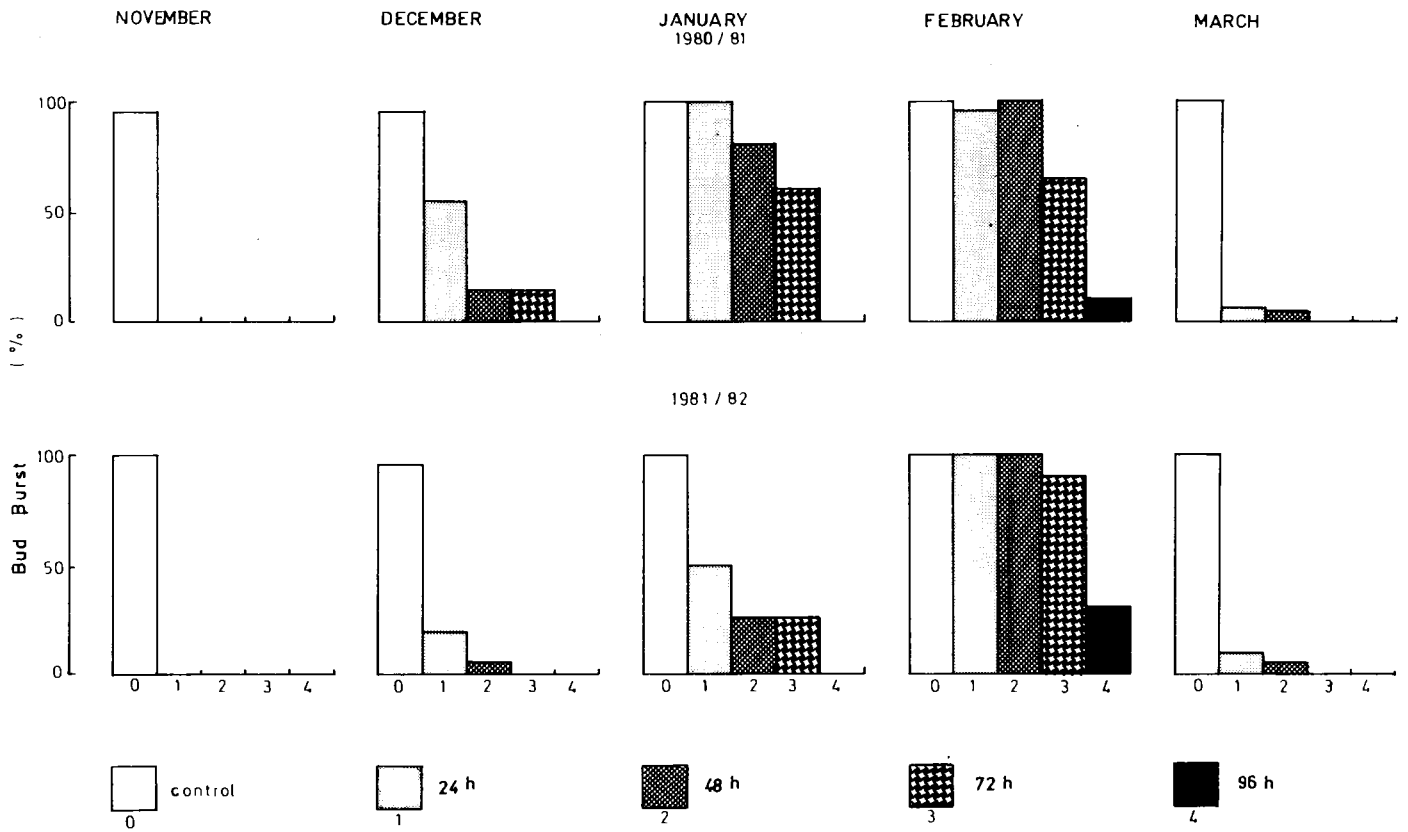


Fig. 6 - Percentage of bud burst in Kalecik Karası cv. after different periods of exposure to  $-20^{\circ}\text{C}$  in various sampling dates

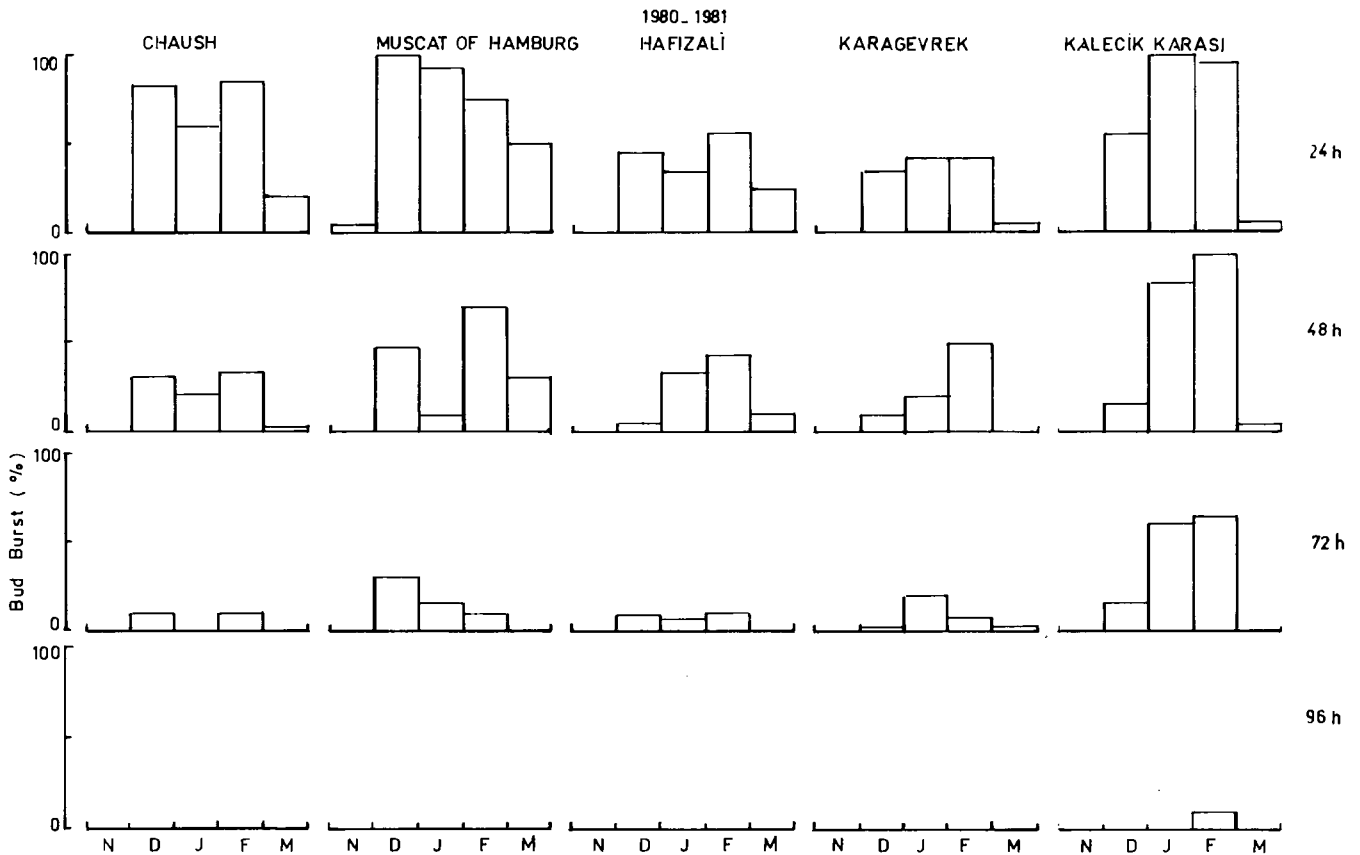


Fig. 7 - Comparing of frost resistance of cultivars according to the length of artificial frost treatment in different sampling times (in experimental period of the years 1980-1981)

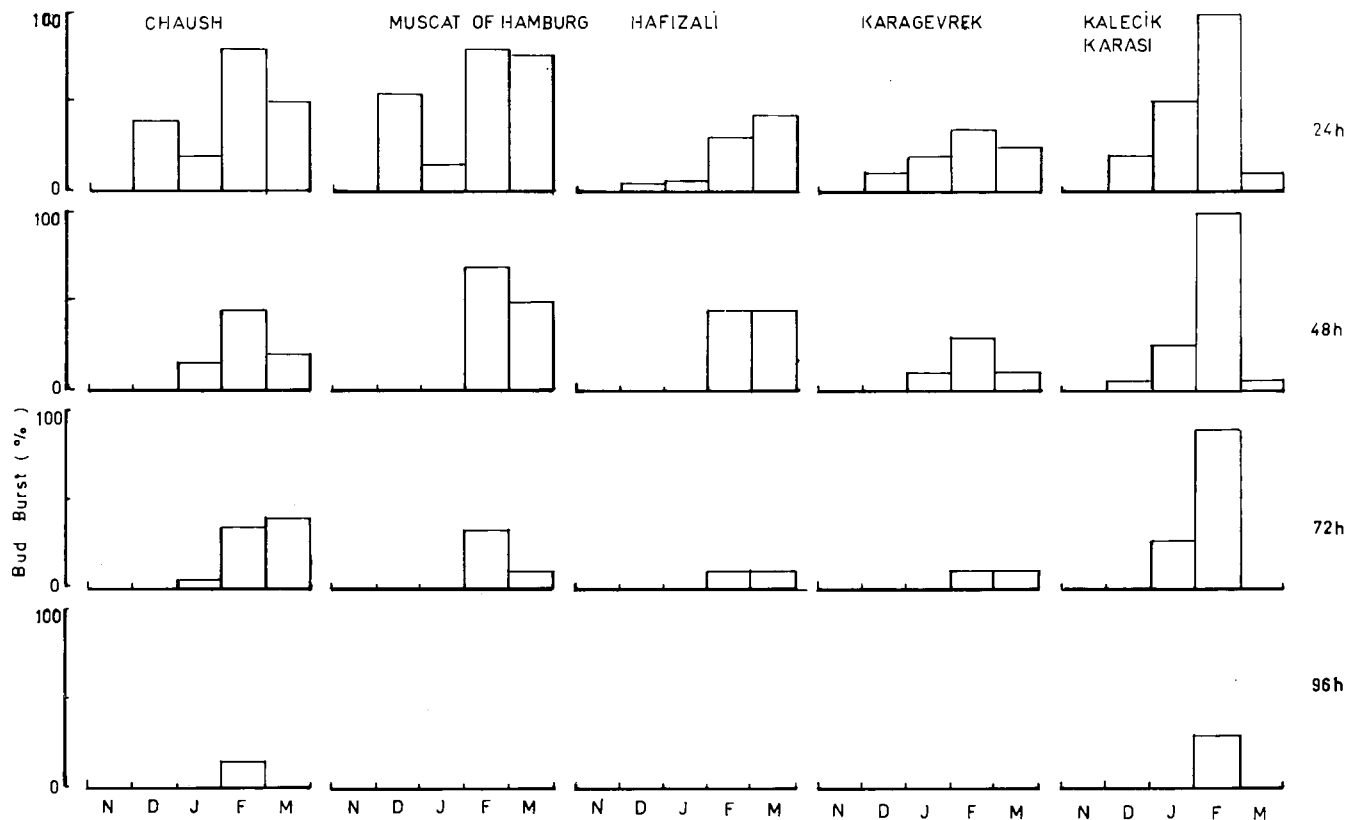


Fig. 8 - Comparing of frost resistance of cultivars according to the length of artificial frost treatment in different sampling time (in experimental period of the years 1981-1982)

we take into consideration the meteorological values for 55 years (between 1926-1980) in Ankara vicinities, it can be seen that the temperatures decreased in autumn months about  $-18^{\circ}\text{C}$ ; in winter months  $-25^{\circ}\text{C}$  and in spring months  $-16^{\circ}\text{C}$  (Fig. 1) (Table 1) (3). In such case, the frost cause in autumn, winter and spring serious damage in vineyards.

Till now, any sufficient study were not conducted on the determination of frost resistance ability of the cultivars which are grown in viticultural regions in Turkey. However, determination of the frost resistance of cultivars is very important one of the aims of grape breeding for a long time. Besides, the growers wish to obtain information on the characteristics of their cultivars as soon as possible.

It is known, frost resistance ability is specific to each cultivar. This ability has shown differences even in the same cultivar depending on locations, nutrition, irrigation, cultivation methods and micro climate (2, 4, 5, 7, 8, 9, 11, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 23,

26, 31). Also, the results of numerous cold hardiness investigations show that the many exogenous and endogenous factors such as lipids, nitrogen compounds, carbohydrates, hormones and enzymes play an important role in connection with each other in the frost resistance phenomenon of plants (1, 6, 10, 12, 13, 18, 22, 24, 25, 28, 29, 30, 32, 33, 34). Finally, it was understood that the frost resistance ability of vines should be considered as a dynamic character related to many endogenous and exogenous factors.

In this study, the biochemical changes in the frost resistance phenomenon of the cultivars were not investigated. The aim of these experiments was only to determine, in different times of year, the ability of frost resistance of important cultivars grown in Ankara conditions.

## Materials and methods

The frost resistance of the five grape varieties Chaush, Muscat of Hamburg, Hafızali, Karagevrek and Kalecik Karası was examined in the periods between November and March of both experimental years (1980-1981 and 1981-1982). For this purpose single bud cuttings prepared from the one year old shoots taken from vineyard at different periods were exposed  $-20^{\circ}\text{C}$  for 1, 2, 3 and 4 days (24, 48, 72 and 96 h). Then, the viability of buds and the resistance of cultivars had been tested by planting them in controlled growth room. The resistance level of the varieties against frost in each of the sampling terms was determined. For determining frost resistance of the varieties, the single bud cuttings wrapped in PE foil had been placed in freezing chamber in which the temperatures starting at  $0^{\circ}\text{C}$ , decreased at the rate of  $5^{\circ}\text{C}/2\text{ h}$  until it reached  $-20^{\circ}\text{C}$ . The cuttings were exposed to the frost 24, 48, 72 or 96 h. Then, the cuttings were taken out and kept at  $5^{\circ}\text{C}$  for several hours and placed in containers for budding in the growth room

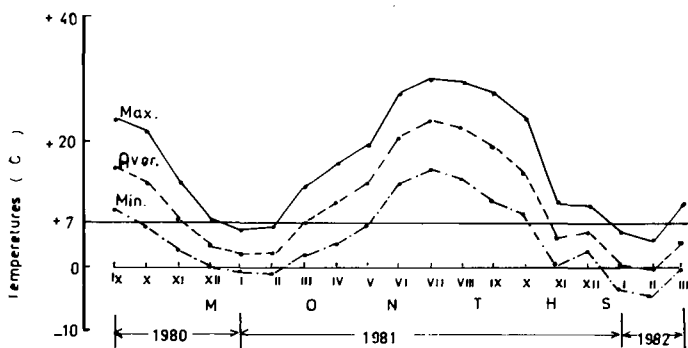


Fig. 9 - Max., Min. and average temperatures during experimental period

at +24°C (19). Finally, the level of resistance of the cultivars was determined according to the proportion of bud burst after artificial freezing.

## Results and discussion

The results are presented in Figures 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 8. From the all values of experiments the resistance ability of the cultivars was found to be different. This situation shows that the varieties can be characterized according to their genetical features as indicated in various reports (2, 11, 15, 17, 23). Besides, the resistance of the cultivars depended on the length of exposure to frost temperature (-20°C) and especially on the term of sampling. When the length of exposure to -20°C was prolonged, the resistance of buds had decreased and bud injury increased in every sampling time. All the cultivars in the experiment were very sensitive in November; and it has been seen in this period that the exposure to -20°C even for 24 h damaged the buds definitely. Treatments particularly for 96 h (4 days) caused also serious damage in all cultivars and in all sampling times. Muscat of Hamburg had the maximum bud burst in December and Chaush was the second; in January and February Kalecik Karasi and Muscat of Hamburg had shown the most resistance against to the frost treatment in both experimental years. At the same time, Hafizali and Karagevrek cultivars were very sensitive in every sampling terms when compared with the others. The resistance of cultivars in March decreased generally; but in spite of this Muscat of Hamburg was the most resistant variety according to the others with the having over 50% bud burst after the frost treatment.

The mentioned results suggest that at the end of winter when bud burst is initiated, the buds loose resistance much more quickly than in the preceding months, if exposed to higher spring temperatures (Fig. 9). The same results have been found by Damborska (11) and Eifert (17). In addition, the experiments were generally shown, the frost resistance of cultivars was lower in November and March than in December, January and February. This is the most important evidence, that the frost resistance ability of cultivars depends on their genetical features and seasonal changes of the many endogenous factors.

## REFERENCES

- Abramidze S.D., Mikeladze E.G., Shamsyan S.M. and Razmadze N.G. (1984) - *The content of soluble carbohydrates in the shoots of grapevine in relation to frost resistance*. Soobshchenija Akademii Nauk, tbilisi 113: 381-384.
- Akopyan R.P. (1973) - *The frost resistance in grapevine seedling of differing provenance*. Izv. Sel. Nauk. 9: 40-45.
- Anonymous. (1984) - *Average and extreme temperature and rain values*. Head office of Meteorology of Turkey (Ankara) (Bulletin), p. 677.
- Arutyunyan E.A., Oganessian R.S. and Pogoyan K.S. (1979) - *Der Einfluss niedriger Abhärtungstemperaturen auf die Veränderung der endogenen Wachstumsregulatoren in der Rebe*. Biol. Zh. Armenii (Erevan) 32 (10): 943-947.
- Babrikov D. (1974) - *The effect of bud position and morphogenesis on frost resistance in the grapevine cultivar Cardinal*. Gradinarska i Lozarska Nauka 11(8): 98-106.
- Baranski S. (1983) - *Entwicklung einer Methode zur Bestimmung der Winterfrostresistenz von Rebsorten (Diss.)* Univ. Hohenheim, Inst. f. Obst-Gemüse-, Weinbau (Stuttgart), p. 115.
- Beetz K.J. (1976) - *Winterfrostschäden und Rebschnitt*. Der Deutsche Weinbau 31(20): 728-730.
- Belvini P., Dalla Costa L., Golfetto W. and Scienza A. (1983) - *Effects of some genetic, environmental and growing factors on the importance of frost damages on vines*. Vignevini (Bologna) 10(3): 33-40.
- Brückbauer H. (1956) - *Frostwiderstandsfähigkeit der Winterknospen der Amerikanerreben und der Einfluss der Unterlage auf die Frostresistenz des Edelreises*. I. Wein-Wiss. 3:84-94.
- Chernomoters M.V. (1969) - *Variation of the carbohydrate complex components in grape shoots in connection with their frost resistance*. Fiziol. Rast. 16(3): 464-469.
- Damborska M. (1978) - *The effect of higher winter temperatures on changes of the frost resistance of grapevine buds*. Vitis 17: 341-349.
- Dogramadzhyan A.D., Marutyanyan S.A. and Petrosyan Z.A. (1969 a.) - *Characteristics of fat metabolism in connection with the frost resistance of grape plants*. Sov. Plant Physiol. 16: 387-393.
- Dogramadzhyan A.D., Marutyanyan S.A. and Petrosyan Z.A. (1969 b.) - *Some features of fat metabolism in connection with frost resistance of grape plants*. Sov. Plant Physiol. 16: 470-477.
- Donchev A. (1972) - *The frost resistance and recovering capacity of some red wine grape varieties grown on high stems*. Gradinarska i Lozarska Nauka 9(2): 81-89.
- Donev T. (1976) - *Studies on the frost hardiness and recovering ability of the grape vine cultivars Aligote and Dimyat in the Razgard region*. Lozarstvo i Vinarstvo 25(8): 6-12.
- Draganov G. (1972) - *Untersuchung über die Frostresistenz der Sorte Ugni Blanc*. Gradinarska i Lozarska Nauka 9(6): 91-99.
- Eifert A. (1975) - *Einige Aspekte der Frosthärteprüfung bei Modelversuchen in Klima Kammern*. Vitis 13: 297-302.
- Eris A. (1981) - *Researches on the dormancy and bud burst of grapevines and some factors influencing of these phenomenon*. Univ. Ankara Fac. Agric. 786, p. 114.
- Eris A. (1982) - *Researches on the determination of chilling requirements and frost resistance of some grape varieties grown in Ankara conditions*. Univ. Ankara Fac. Agric. 856, p. 65.
- Hubackova M. and Hubacek V. (1984) - *Frost resistance of grapevine buds on different rootstocks*. Vinohrad, Bratislava 22: 55-56.
- Isaenko V.V. (1977) - *Studies on some aspects of winter hardiness and on a biological method of increasing it*. Fiziol. Rast. 24(5): 919-923.
- Ivanchev V. (1982) - *Concerning the question of frost resistance of grapevines*. Lozar Vinor (Sofia) 31(8): 25-28.
- Kappen L. and Yap F. (1968) - *Zur Bestimmung der Frostresistenz von Rebsorten*. Mitt. Klost. 18: 327-331.
- Koleda I. (1974) - *The frost resistance of the vine-stock and the change of carbohydrates during the time of dormancy*. Publ. Cent. Lib. Univ. Hort. (Budapest) 182-183.
- Kondo I.N. (1960) - *Organische Ruheperiode und Frostresistenz der Rebenknospen*. Bjull. Wiss. Tech. Inform. Mold. Forstch. Inst. f. Obstb., Weinb. und Ökol., Kischinev 1:12-17.
- Kubecka D. (1968) - *Influence of varieties and vine training on the frost resistance of buds*. Pol'nohospodarstvo 14: 600-606.
- Marutyanyan S.A. (1974) - *Enzymes and the frost resistance of grapevines*. 3-1 Vses.Brokhimicheskii S ezd (Hort. Abst. 45, 9431).
- Pomeroy M.K. and Siminovich D. (1971) - *Seasonal cytological changes in secondary phloem parenchyma cells in Robinia pseudoacacia in relation to cold hardiness*. Canadian J. Bot. 49(5): 787-795.
- Reuther G. (1971) - *Die Dynamik des Kohlenhydratmetabolismus als Kriterium der Frostresistenz von Obstgehölzen in Abhängigkeit von der Winterruhe*. Ber. Dt. Bot. Ges. 84: 571-583.
- Reuther G. und Schneider F. (1980) - *Die Mechanismen der Frostresistenz bei Reben*. Weinwirtsch. 116: 387-390.
- Schöffling H. (1980) - *Frost resistance of Vitis vinifera varieties in the Upper Mosella area*. 3rd. Intern. Symp. Grape Breeding, Davis.
- Wilhelm A.F. (1963) - *Die Frostresistenz der Rebe in physiologischer Sicht*. Schweiz. Z. f. Obst.-u. Weinbau 72: 425-427.
- Wilson J.M. and Crawford R.M.M. (1974) - *Leaf-fatty-acid content in relation to hardening and chilling injury*. J. Exp. Bot. 25: 121-131.
- Yoshida S. and Sakai A. (1973) - *Phospholipid changes associated with the cold hardiness of cortical cells from poplar stem*. Plant Cell. Physiol 14: 353-359.

## SUMMARY

### FROST RESISTANCE TESTS OF SOME GRAPE VARIETIES GROWN IN ANKARA CONDITIONS

The aim of this study is to determine the ability of frost resistance of Claush, Muscat of Hamburg, Hafizali, Karagevrek and Kalecik Karasi which are well-known grape cultivars grown in Ankara conditions. Frost resistance tests of the varieties were conducted in the periods between November and March of both experimental years (1980-1981 and 1981-1982). For this purpose, cuttings taken at different periods were treated with -20°C for 1, 2, 3 and 4 days; then the reaction and resistance of the cultivars to this temperature were determined.

From the artificial frost-tests the following results have been obtained.

- 1) The frost resistance of the cultivars was found to be different. However, frost resistance in all cultivars increased after December towards mid-winter. While the resistance of the cultivars in February was highest, whereas lowest in November, and generally decreased in March.
- 2) As the periods of the treatment at  $-20^{\circ}\text{C}$  prolonged, the resistance of cultivars were found to be decreased and bud injury increased. Treatments particular for 4 days caused serious damage in all cultivars definitely.
- 3) Minimum freezing injuries were observed in the Muscat of Hamburg, Kalecik Karası and Chaush (which showed more than 50% bud break) respectively; but Hafızali and Karagevrek were extremely injured.
- 4) Differences in the frost resistance of the cultivars were significant. While the most resistant varieties were Muscat of Hamburg and Chaush in December, Kalecik Karası in January and February, Muscat of Hamburg in March; whereas, Karagevrek and Hafızali were generally determined to be the most susceptible cultivars.

## THE USE OF FREEZING TEST FOR SELECTION IN GRAPE BREEDING PROGRAMMES

K.H. FISHER <sup>(1)</sup> - J. WIEBE <sup>(2)</sup> - D.M. HUNTER <sup>(3)</sup> - S.E. STEVENSON <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Horticultural Research Institute of Ontario, Vineland Station - Ontario (Canada)

<sup>(2)</sup> Director Plant Industry Division - Alberta Agriculture - Edmonton - Alberta (Canada)

<sup>(3)</sup> Agriculture Canada Research Station - Harrow - Ontario (Canada)

In the winter of 1976-77, a preliminary study was conducted by Wiebe and Hunter to test a freezing technique for the evaluation of cold tolerance in woody grapevine tissue. It was anticipated that this technique could be used for screening grapevine seedlings for relative winter hardiness, the most critical factor governing the success of grapevine varieties in the Niagara Peninsula of Ontario, Canada.

This freezing technique uses mature hardwood cuttings from present year wood. One-bud cuttings were harvested in late November or early December to avoid any severe natural freeze. These were stored at  $0^{\circ}\text{C}$  until all material was assembled. The cuttings were bundled into groups of ten, wrapped in moist paper towelling and wrapped again in plastic bags. These bags were placed inside styrofoam containers which were placed inside a pro-

Tab. 1 - Scoring System for Growth of Grapevine Cuttings after Freezing Treatment.

Description of Growth	Points Allotted
Callus alone	1
Roots alone	2
Buds alone	3
Buds and Basel Callus	4
Buds and Roots	5

Tab. 2 - Sample Calculations for One Grapevine Cultivar Subjected to Freezing Treatments

No. of Treatment	Points/Cutting Temp.	No. of Cuttings Per Group					Total Score
		1	2	3	4	5	
0		1	1	2	1	2	0
-10		1	2	0	1	5	340
-15		1	0	1	3	3	465
-20		1	2	1	0	3	460
-25		0	0	0	0	0	0
-30		0	0	0	0	0	0
							1265

grammable freezer chest. The temperature inside the foam containers was monitored by thermocouples.

The cuttings in the freezer chest were left to equilibrate at

Tab. 3 - Scores and Ranking of Various Test Seedlings and Cultivars Subjected to Artificial Freezing in a Programmable Freezer Chest (1977-1979)

Winter Season	1976-77				1977-78				1978-79			
	Pre-freezing Storage Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )											
Seedling or Cultivar	Score	R	Score	R	Score	R	Score	R	Score	R	Score	R
49404	—	—	—	—	1443	11	1810	10	1440	11	1580	9
61122	—	—	—	—	1838	7	2620	5	2050	4	1890	7
63331 (Vivant)	—	—	—	—	2556	5	2605	6	2040	5	1540	10
64035	—	—	—	—	1682	8	1535	12	1670	9	2110	5
64111	—	—	—	—	1023	13	1630	11	1880	7	1880	8
65232	—	—	—	—	1680	9	1875	8	1760	8	1510	11
67154	1700	4	—	—	1507	10	2010	7	1580	10	1880	8
67155	1545	5	—	—	1955	6	1870	9	1330	12	2190	4
Chardonnay	1230	6	—	—	1108	12	—	—	—	—	—	—
Concord	3390	1	—	—	2783	3	3798	2	1950	6	2390	3
De Chaunac	3015	2	—	—	3087	1	3375	3	2680	2	3000	2
Veeblanc	—	—	—	—	2428	4	3180	4	2190	3	1990	6
Ventura	2905	3	—	—	2906	2	4030	1	3400	1	3250	1
Maximum Score or Total in Ranking	5000	6	—	—	5000	13	5000	12	5000	12	5000	12

0 ± 1°C for three days. A subset of each variety (ten cuttings) was removed at this time and the temperature lowered by 5°C at a rate of approx. 2°C/hr. The process of removing cuttings and dropping the temperature was repeated every two days until the minimum of -30°C was reached (after Eifert, 1975). The final sample was removed after 2 days at -30°C.

On removal from the freezer, the cuttings were allowed to reach room temperature slowly. All cuttings were dipped in Seradix 3 rooting hormone powder (0.08% IBA), planted in shallow flats with perlite and then moved to a greenhouse area held at 24-27°C. After about five weeks, growth was scored by using the following formula developed by Hunter.

At each temperature, the number of cuttings in each of the five rating groups was determined. The total number of points was calculated by multiplying the number per group by the group value and then by the temperature of the treatment, ignoring the negative sign. The final score was the sum of these values.

Cultivars showing less than perfect score at 0°C treatment indicated damage prior to the freezing tests. The sample calculation was Verdelet, a French hybrid showing chronic winter injury under Ontario conditions. The maximum possible score would be for ten cuttings in group 5 for each of the six temperature treatments for a total value of 5000. The test was replicated three times per season but the wood was collected at one time in November/December and stored at 0°C.

This procedure was followed for the 1977-78 and 1978-79 season with the addition of another storage temperature of -10°C. When all cuttings were collected and prepared, a duplicate lot was stored at -10°C prior to the freezing treatment.

Because of repair difficulties of the programmable freezer chest in 1978-79, the freezing procedure was modified by using a series of commercial walk-in freezer rooms which were maintained at the same temperatures previously programmed into the freezer chest. The cuttings were moved from one freezer room to the next

Tab. 4 - Scores and Ranking of Various Test Seedlings and Cultivars Subjected to Artificial Freezing in Commercial Walk-in Freezer Rooms (1980-1983)

Winter Season	1979-80				1980-81				1981-82				1982-83			
Pre-freezing Temperature (°C)	0		-10		-5		-10		-5		-10		-5		-10	
Seedling or Cultivar	Score	R	Score	R	Score	R	Score	R	Score	R	Score	R	Score	R	Score	R
49404	1864	5	1963	8	1600	11	1876	10	1270	12	1810	12	1810	7	2386	10
61122	—	—	—	—	3034	3	3404	4	3914	3	4146	3	2926	3	3856	2
63331 (Vivant)	—	—	—	—	880	12	1520	12	826	13	900	13	1890	6	2596	7
64035	1660	7	2224	6	1996	9	2656	9	2800	6	3136	6	2014	6	2606	6
64111	1626	8	2396	5	2016	8	2700	8	2664	7	2736	7	1736	8	2440	8
65232	—	—	—	—	1900	10	1716	11	2100	9	2674	8	1496	12	2266	12
67154	1800	6	2143	7	2326	7	3160	6	3536	4	3920	4	1694	10	2410	9
67155	—	—	—	—	2376	5	3236	5	1436	11	2350	9	1716	9	2366	11
Chardonnay	1130	9	1710	9	594	13	756	13	1680	10	2024	11	1496	12	1874	13
Concord	2774	3	3754	2	2344	6	3000	7	2244	8	2244	10	2646	4	2930	4
De Chaunac	2790	2	3660	3	3494	2	3884	2	3964	2	4334	1	2936	2	3450	3
Veeblanc	2376	4	3004	4	2964	4	3574	3	2856	5	3294	5	2036	5	2726	5
Ventura	2850	1	4034	1	3654	1	3946	1	4240	1	4230	2	2954	1	4226	1
Maximum Score Total in Ranking	5000	9	5000	9	5000	13	5000	13	5000	13	5000	13	5000	13	5000	13

Tab. 5 - Actual Spring Field Bud Counts of Various Test Seedlings and Cultivars in Eight Commercial Vineyards. (1981-1984)

Winter Season	1980-81		1981-82		1982-83		1983-84	
Minimum and Date	-24.5, Dec. 25/80 -24.5, Jan. 12/81		-24.0, Jan. 17/82		-14.5, Jan. 21/83		-24.5, Jan. 16/84	
Seedling or Cultivar	% Survival	Rank	% Survival	Rank	% Survival	Rank	% Survival	Rank
49404	20.2	12	67.9	10	74.1	9	64.1	10
61122	92.9	1	84.8	2	88.2	3	89.7	2
63331 (Vivant)	31.9	11	70.2	7	84.1	4	59.1	11
64035	77.3	4	69.3	9	71.3	11	72.1	6
64111	61.2	8	83.2	4	82.6	6	81.1	4
65232	42.4	9	71.9	6	83.3	5	69.4	9
67154	72.4	6	69.8	8	80.2	7	71.7	7
67155	39.6	10	62.5	11	72.0	10	74.9	5
Chardonnay	*est. 10.0	13	52.5	12	71.0	12	—	—
Concord	*est. 70.0	7	83.8	3	91.2	2	84.7	3
De Chaunac	76.9	5	—	—	—	—	—	—
Veeblanc	80.6	3	78.4	5	79.6	8	71.5	8
Ventura	87.0	2	89.0	1	95.3	1	91.2	1

\* estimates based on commercial observations.

**Tab. 6 - Genetic Background of Test Material**

V.49404	V.5011 (Rose Hamburg x Ontario) x Chelois (Seibel 10878)
V.61122	Le Commandant (Bertille Seyve 2862) x Cascade (Seibel 13053)
V.63331 (Vivant)	V.50154 [Plantet (Seibel 5455) x S.14664] x New York 25681 (NY 17875 x Seneca)
V.64035	Alden (Ontario x Gros Guillaume) x Johannes-Seyve 23.416
V.65232	Johannes-Seyve 23.416 x Chardonnay
V.67154	V.49404 (see above) x Johannes-Seyve 23.416
V.67155	V.49404 (see above) x Johannes-Seyve 23.416
Chardonnay	<i>V. vinifera</i> L.
Concord	<i>V. labruscana</i> Bailey
De Chaunac (Seibel 9549)	Seibel 5163 x Seibel 793
Veeblanc	Cascade (Seibel 13053) x Seyve-Villard 14.287
Ventura	Chelois (Seibel 10878) x Elvira

in descending order of temperature with the same removal of subsamples as in the original trial. The sample size was reduced to 5 cuttings to reduce the bulk of the samples and maximize exposure to the freezer room temperature.

Results are presented in Tables 3 and 4 for the total run of

the experiment, with the values tabulated being the mean of three runs each season. By the end of the third run, pre-freezing storage period averaged 45-50 days. Notice the increase in score value under the  $-10^{\circ}\text{C}$  pre-treatment storage temperature. Also notice the variability in ranking from one season to the next, an indication of the influence of the previous growing season on relative hardiness of the material. Table 5 shows actual bud counts made in late spring for an average of eight commercial sites for the same seedling-cultivar series. Note that these values reflect only bud hardiness whereas the scores gleaned from the freezing test reflect both bud and wood hardiness. However, cultivars and selections that showed a consistently low score in the freezing tests showed low scores in the field bud counts. Similarly, cultivars and seedlings that showed consistently high scores in the freezing tests showed high field bud counts. The transition from a sophisticated programmable freezer chest to commercial walk-in freezer unit seems to have given similar results. However, caution must be exercised in extrapolating the freezing tests to field performance as many management factors influence overwintering performance. The genetic background of the test material is shown in Table 6.

#### REFERENCES

Eifert A. (1975) - *Einige Aspekte der Frostharteproofung bei Modellversuchen in Klimakammern*. Vitis 13: 297-302.

## Résistance à la sécheresse / Drought tolerance / Resistenza alla siccità

### ASPECTS OF DROUGHT TOLERANCE IN GRAPE BREEDING

**H. DÜRING**

Bundesforschungsanstalt für Rebenzüchtung Geilweilerhof - Siebeldingen (Fed. Rep. of Germany)

#### Introduction

For economic, ecological or lawful reasons grapevines in many countries are deprived from irrigation. Thus one of the aims of grape breeding is to improve the drought tolerance of grapevine scions and rootstocks (Düring and Scienza 1980). In order to select drought tolerant genotypes a series of parameters concerning water relations in grapevines was studied mostly under stress conditions. This research was restricted to scions as our breeding activities concentrate here and because all our newbreds will be grafted later.

#### Results

Traditional selections for drought tolerant cultivars have been effected by testing new breeds under natural drought conditions in the field (Table I). This gives very useful informations about the two major questions, i.e. the yield and quality formation under natural stress conditions. As the procedure is rather time consuming especially in climatic regions with irregular summer rainfalls, several methods have been developed to evaluate drought tolerance by early diagnostic principles, the most widely accepted of which

is the evaluation of the water use efficiency (or transpiration coefficient) (Bravdo et al. 1972, Hofäcker 1977, Eibach and Alleweldt 1985, Rühl and Alleweldt 1983). While this method gives a valuable information on the ratio dry matter production/evapotranspiration within rather a short time it has to be considered that the test plants are mainly not cultivated under natural soil and atmospheric conditions.

In our experiments we measured the water use efficiency (WUE) as determined by the assimilation/transpiration ratio; moreover, we studied the adaptability to drought and the wilting behaviour of leaves. These subjects are known to be closely linked to the complex attribute drought tolerance (for literature: Ludlow 1980, Jones et al. 1981, Kriedemann and Downton 1981, Jones 1983, Smart and Coombe 1983).

#### 1. The assimilation-transpiration ratio

Measurements of the assimilation-transpiration ratio (A/E) were carried out using slightly stressed field-grown Riesling and Silvaner vines (pre-dawn leaf water potential:  $-4$  bar ( $\pm 1$ ) in both varieties). As can be seen from Figure 1 after sunrise the ratio A/E increased in both varieties rapidly reaching a maximum at about 7 a.m. and then steadily declined to remain low during the afternoon. Except at dawn the ratio A/E was always higher in Riesling than in Silvaner vines. As was suggested earlier, under stress conditions the stomatal control of Riesling leaves appears to be more efficient in optimizing  $\text{CO}_2$  uptake and water loss compared to Silvaner (Düring and Loveys 1982, Loveys and Düring 1984).

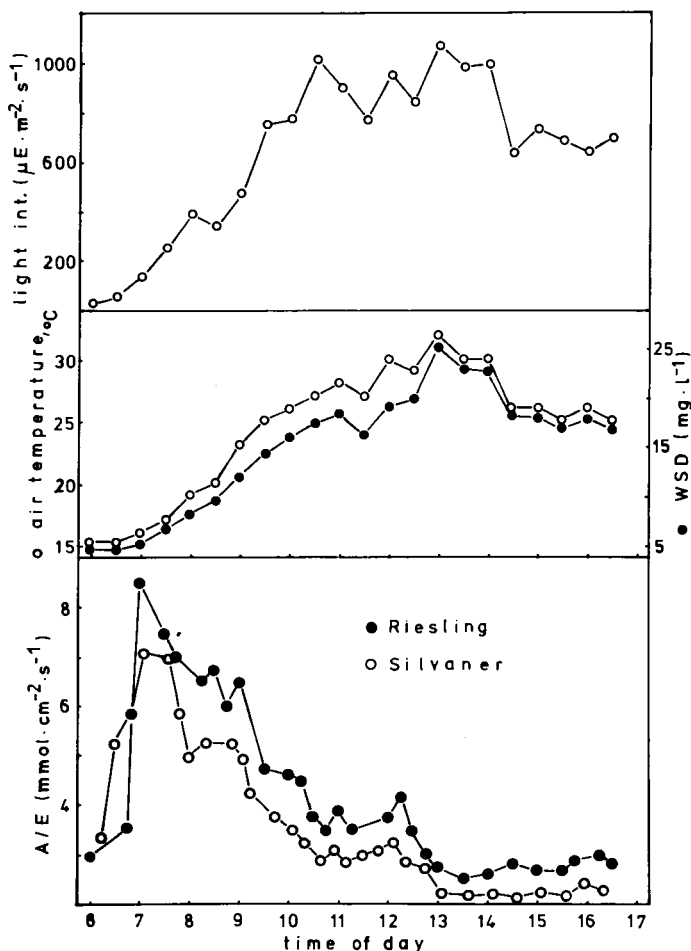
#### 2. Osmotic adjustment

Under the conditions of drought and irrigation cycles potted grapevines had revealed their ability for osmotic adjustment (Düring 1984, 1985).

**Tab. 1 - Methods to evaluate drought tolerance of grapevine scions**

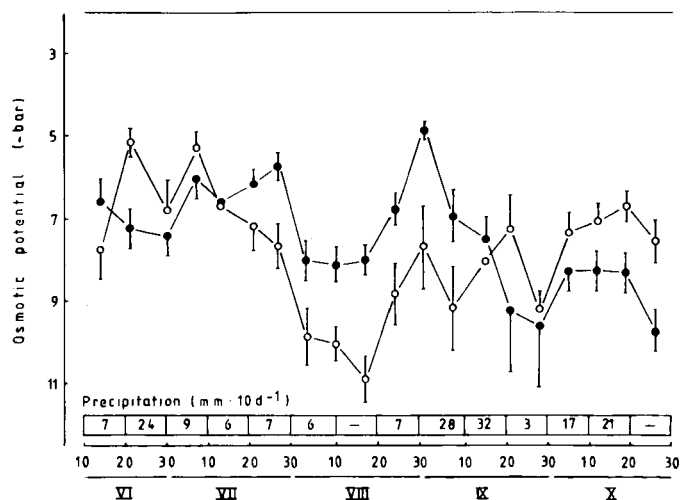
Evaluation	Test plants in the		Duration		Suitable for early rapid selection
	Field (1)	Glasshouse	Vegetation period	3-5 w	
1. yield and quality	x		x		—
2. water use efficiency					
a) <u>dry matter production</u>		x		x	—
<u>evaporation</u>					
b) <u>assimilation</u>	x	x			x
<u>transpiration</u>					
3. adaptability: osmotic adjustment	x	x		x	—
4. wilting behaviour of leaves					
a) rel. capacitance	x				x
b) RWV at $\Psi_p=0$	x				x
c) elasticity	x				x

(1) In areas or years of low summer rainfall.



**Fig. 1 - Diurnal changes of the assimilation-transpiration ratio of field-grown Riesling and Silvaner vines. Measurements were performed by a  $H_2O/CO_2$ - Porometer (H. Walz, Germany) on July 10, 1984.**

In 1983, from June to October these investigations were extended to several field-grown varieties. Due to the dry season and the low water storage capacity of the soil the grapevines were severely stressed down to a water potential of  $-15$  bar. At week-



**Fig. 2 - Annual changes of the osmotic potential at turgor zero of field-grown Riesling  $\circ$  and Silvaner  $\bullet$  vines in 1983.**

ly intervals measurements of the leaf osmotic potential were performed at full turgor to registrate active accumulation of solutes. As is shown in Figure 2, there is a steady decrease of the osmotic potential at full turgor during the drought period from June to August in Riesling but not in Silvaner.

From these results it can be concluded that the long-term adaptability to drought basing on osmotic adjustment and presumably several other morphological and physiological features is an important component of drought tolerance which should be checked in addition before a final classification can be given.

### 3. The wilting behaviour of leaves

For rapid screening of drought tolerance the wilting behavior of detached leaves from field-grown cultivars was analyzed by determining the relative capacitance ( $C_r$ ), the relative water content (RWC) at turgor zero and the bulk modulus of elasticity ( $\epsilon$ ). During wilting the decline in the leaf water potential and RWC was recorded starting at full turgor (RWC = 100%). As may be seen from Figure 3 the varieties Riesling, Müller-Thurgau and



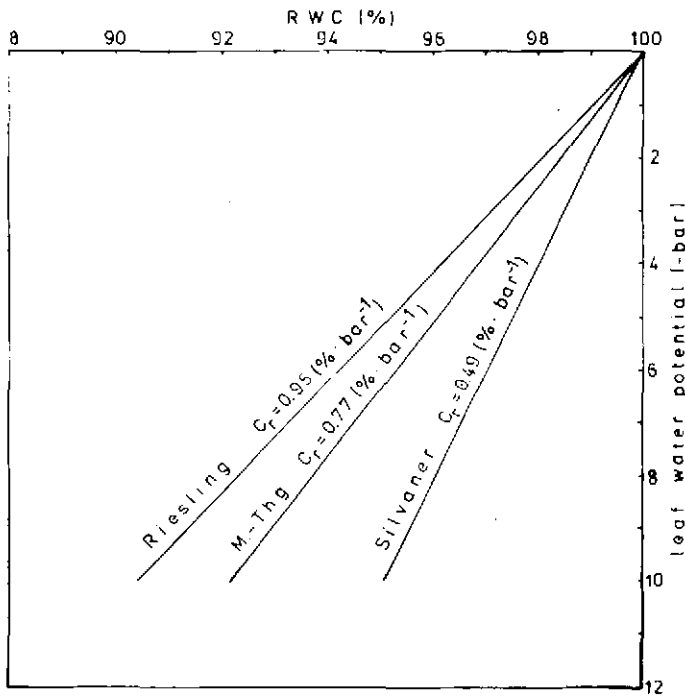


Fig. 3 - The relative capacitance ( $C_r$ ) of field-grown Riesling, Müller-Thurgau and Silvaner leaves. Measurements: June 27-29, 1984  
 Riesling:  $r = -0.862$ ,  $n = 82$   
 Müller-Thurgau:  $r = -0.834$ ,  $n = 85$   
 Silvaner:  $r = -0.808$ ,  $n = 93$

Silvaner differ in their wilting behaviour. According to Jones (1983) the relative capacitance is defined as the ratio of the change in RWC to the change in the leaf water potential. For Riesling we obtained a relative capacitance of 0.95, for Müller-Thurgau 0.78 and for Silvaner 0.49% · bar<sup>-1</sup> (see Table 2). When the reciprocal leaf water potential is plotted against the RWC we receive a pressure-volume curve by which the osmotic potential and the RWC, at turgor zero can be determined (Figure 4).

Table 2 summarizes the results obtained of three varieties indicating no significant differences between the varieties with respect to the osmotic potential. The RWC at turgor zero was higher in Silvaner than in Riesling. This means that Riesling leaves can loose ca. 9.8% of their RWC before reaching the critical point turgor zero while Silvaner leaves have reached that point already after a decrease in RWC of only 4.4%. The lower the value of the bulk modulus of elasticity the more elastic is the leaf tissue. Leaf elasticity is determined by relating the product of the changes in turgor and the saturation weight to the changes in fresh weight during wilting. Table 2 indicates a high elasticity for Silvaner leaves. Ex-

Tab. 2 - The relative capacitance,  $C_r$ , the osmotic potential,  $\Psi_s$ , the relative water content, RWC, and the bulk modulus of elasticity,  $\epsilon$ , of field-grown grapevines. 27.-29.6.1984

Variety	$C_r$ (% · bar <sup>-1</sup> )	$\Psi_s$ (-bar)	RWC (%)		$\epsilon$ (bar)
			at $\Psi_p = 0$		
Riesling	0.95 (0.16)	9.9 (1.4)	90.2 (1.7)	107.2 (15.4)	
Müller-Thurgau	0.77 (0.18)	10.6 (1.0)	91.3 (1.5)	122.3 (15.0)	
Silvaner	0.49 (0.15)	9.9 (0.6)	95.5 (1.4)	168.7 (11.5)	

( ) Standard deviation

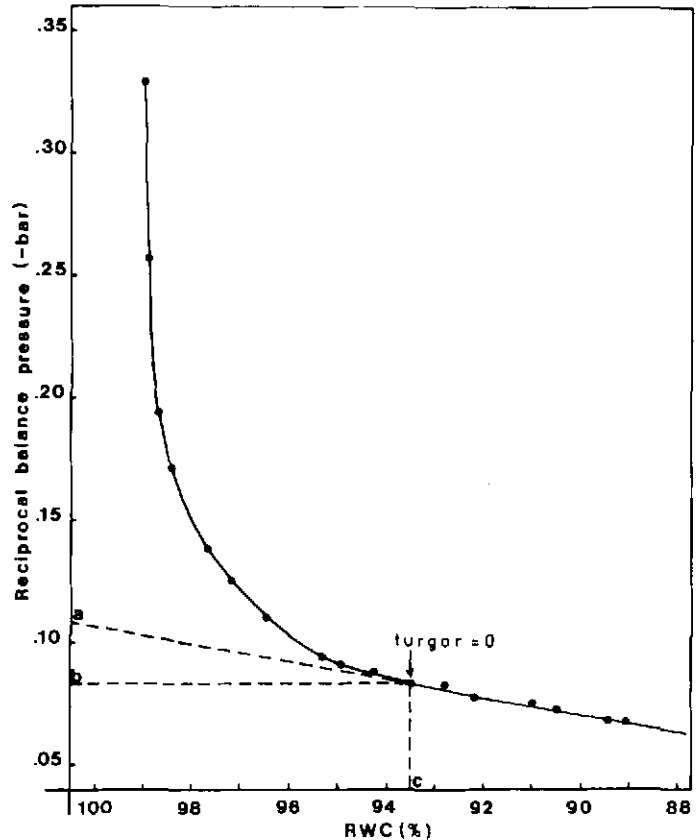


Fig. 4 - Pressure-volume curve of a Müller-Thurgau leaf.

a - the reciprocal osmotic potential at full turgor,  
 b - the reciprocal osmotic potential at zero turgor,  
 c - the relative water content at turgor zero.

cept the osmotic potential Müller-Thurgau takes an intermediate position.

From these measurements it can be concluded that there are varietal differences in the wilting behaviour of the leaves. As a high capacitance, a high RWC at turgor zero and a high elasticity are essential for the maintenance of a positive turgor during water loss, thereby contributing to the maintenance of yield formation under drought conditions, these parameters are proposed as indicators for drought tolerance.

## Conclusion

Several new approaches to characterize the drought tolerance of grapevine scions are presented. The water use efficiency as determined by the assimilation-transpiration ratio of field-grown plants as well as the wilting behaviour of detached leaves determined by the relative capacitance, the relative water content at turgor zero and the bulk modulus of elasticity are shown to be correlated to the specific drought tolerance of Riesling and Silvaner. These methods appear to be useful for a rapid screening. Moreover, long-term adaptation processes, e.g. osmotic adjustment, contribute to drought tolerance and have to be analyzed for a final classification.

## REFERENCES

- Bravdo B., Lavee S., Samish R.M. (1972) - *Analysis of water consumption of various grapevine cultivars*. Vitis 10: 279-291.  
 Düring H. (1984) - *Evidence for osmotic adjustment to drought in grapevines (Vitis vinifera L.)*. Vitis 23: 1-10.  
 Düring H. (1985) - *Osmotic adjustment in grapevines*. Acta Horticulturae (in press).

- Düring H., Scienza A. (1980) - *Studies on drought resistance of Vitis species and cultivars*. Proc. Int. Symp. Grape Breeding, Davis, pp. 179-190.
- Düring H., Loveys B.R. (1982) - *Diurnal changes in water relations and abscisic acid in field-grown Vitis vinifera cvs. I. Leaf water potential components and leaf conductance under humid temperature and semiarid conditions*. Vitis 21: 223-232.
- Eibach R., Alleweldt G. (1985) - *Einfluß der Wasserversorgung auf Wachstum, Geswechel und Substanwproduktion traubentragender Reben. III. Die Substanzproduktion*. Vitis 24 (in press).
- Hofäcker W. (1977) - *Untersuchungen wur Stoffproduktion der Rebe unter dem Enfluß wechselnder Bodenwasserversorgung*. Vitis 16: 162-173.
- Jones H.G. (1983) - *Plants and microclimate. A quantitative approach to environmental plant physiology*. Cambridge University Press, Cambridge, New York, New Rochelle, Melbourne, Sydney.
- Jones M.M., Turner N.C., Osmond C.B. (1981) - *Mechanisms of drought resistance*. In: The physiology and biochemistry of drought resistance in plants. pp. 15-37. L.G. Paleg and D. Aspinall, Eds. Academic Press, Sydney, New York, London, Toronto, San Francisco.
- Kriedemann P.E., Downton W.J.S. (1981) - *Photosynthesis*. In: The physiology and biochemistry of drought resistance in plants. pp. 283-314. L.G. Paleg and D. Aspinall, Eds. Academic Press, Sydney, New York, London, Toronto, San Francisco (1981).
- Loveys B.R., Düring H. (1984) - *Diurnal changes in water relations and abscisic acid in field-grown Vitis vinifera cultivars. II. Abscisic acid changes under semiarid conditions*. New Phytol. 97: 37-47.
- Ludlow M.M. (1980) - *Adaptive significance of stomatal responses to water stress*. In: Adaptation of plants to water and high temperature stress. pp. 123-138. Neil C. Turner and Paul J. Kramer, Eds. J. Wiley and Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore.
- Rühl E., Alleweldt G. (1983) - *Untersuchungen zum Gaswechel der Rebe. III. Enfluß vorübergehender Trockenheit auf die Leistungs-fähigkeit verschiedener Rebsorten*. Vitis 22: 120-128.
- Smart R.E., Coombe B.G. (1983) - *Water relations of grapevines*. In: Water deficits and plant growth. Vol. VII, pp. 137-196. T.T. Kozlowski, Ed. Academic Press New York, London, Paris, San Diego, San Francisco, Sao Paulo, Sydney, Tokyo, Toronto.

## SUMMARY

### ASPECTS OF DROUGHT TOLERANCE IN GRAPE BREEDING

Some aspects of drought tolerance of grapevine scions are presented with respect to their ability to function as early diagnostic indicators in a selection program for drought tolerance. The traditional ways of observing newbreeds in the field under drought conditions and measuring yield and quality as well as the determination of the transpiration coefficient (or water use efficiency) are very time and labor consuming but are still useful in order to prove the reliability of new methods. Morphological characters, like size or frequency of stomata were shown to be not directly correlated to drought tolerance, while others, e.g. the water transport system, are rather unexplored. In a first series of experiments the stomatal behaviour under increasing water stress conditions was studied by measuring transpiration and assimilation. The two cultivars, Riesling and Silvaner, differed significantly in their relation of assimilation: transpiration under drought conditions, but further research is needed to evaluate the usefulness of such measurements to predict drought tolerance. The processes of long term or short term adaptation to drought are an important part of drought tolerance; varietal differences in osmotic adjustment were found to exist under field conditions.

A rapid screening test («leaf wilting test») basing on the water holding capacity of leaves is proposed for preselection of drought tolerance.

## WATERCONSUMPTION OF DIFFERENT GRAPEVINE CULTIVARS

### R. RIES

Institut for Grapevine Breeding and Grafting Forschungsanstalt Geisenheim - (Rep. Fed. of Germany)

During 1979 to 1981 at the Institut for Grapevine Breeding and Grafting Geisenheim investigations were made on water consumption of different grapevine cultivars.

A flood irrigation system with 8 plants and four varieties was used. Each plant had its own water reservoir. It was possible to detect the water consumption of each plant per day by filling up the lack of water in the tanks. 20 milliliters was the smallest transpiration rate we could detect within the used system.

Fig. 1 shows a plan of the whole installation. All plants had enough place for growing and every plant had its separate water supply system.

Fig. 2 shows the vine plants in the special plantation in 1981. All plants were three years old and produced a good yield. The varieties we used were:

1. «White Riesling» oder «Rhinerriesling» Klon
2. «Ehrenfelser» a Geisenheim crossing of Riesling with Silvaner
3. «Müller-Thurgau»
4. «Reichensteiner», which is a crossing between «Müller-Thurgau» «Madeleine angevine» and a «Clabreser type of Froehlich».

All plants were grafted on rootstock 5 C Geisenheim clone 6-13 Gm. Variety 1 and 2 («Riesling» and «Ehrenfelser») are varieties with a small leafarea. In contrary to those the other two have a large one (3 and 4). There is a real difference in leafarea per plant

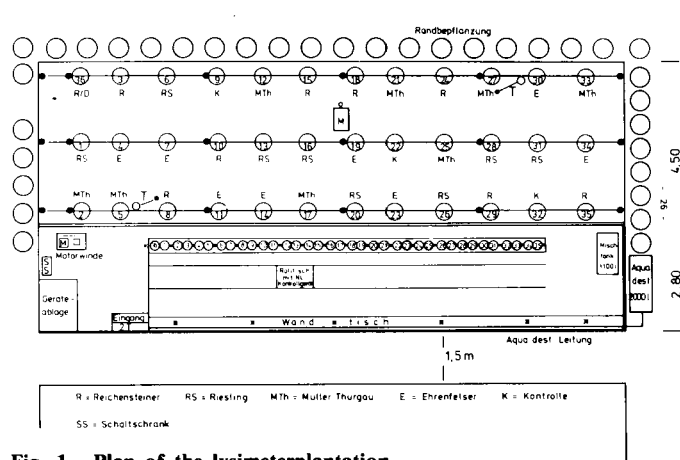


Fig. 1 - Plan of the lysimeterplantation.

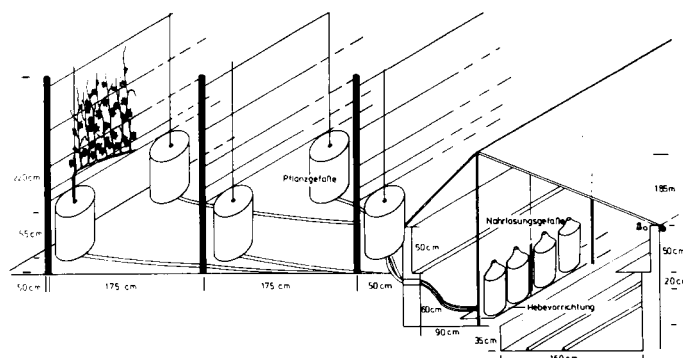


Fig. 2 - Crossection through the system.

between the varieties (Fig. 3). This difference was not only existing in 1980 but the also in 1979 was it can be seen on Fig. 4.

Both Fig. 4 show the leafarea development per plant in square-decimeters and days after the start of the vegetation during one year. The differences in the niveau are a result of one caine per plant in 1979 and 12 in 1980.

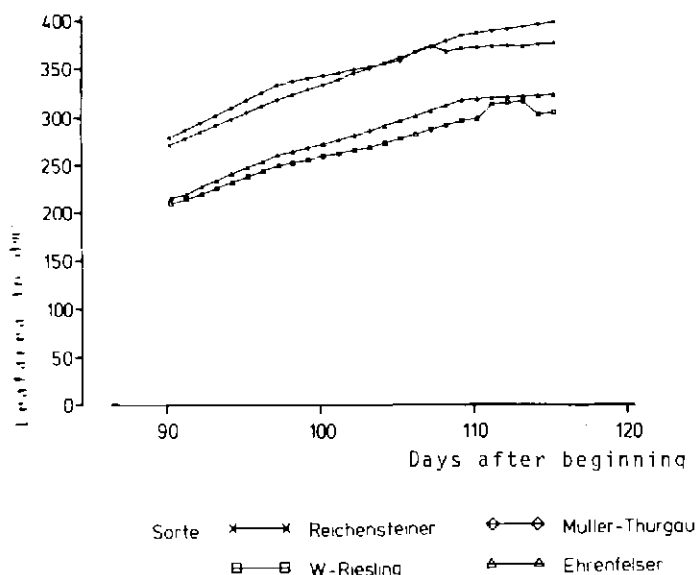


Fig. 3 - Leafarea development per plant in  $\text{dm}^2$  in the year 1980.

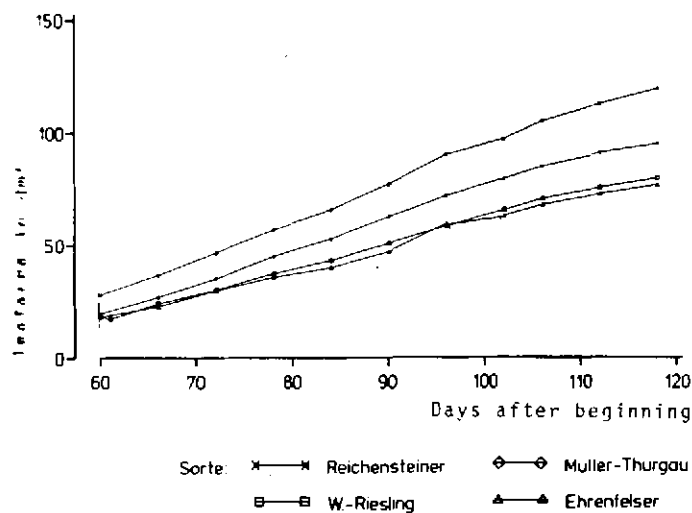


Fig. 4 - Leafarea development per plant in  $\text{dm}^2$  in the year 1979.

Fig. 5 represents now the water consumption per plant and 2 days in the year 1979 for every variety in milliliters. The addition of days is always in days after the real vegetation started and is always drawn on the horizontal axis.

The upper part shows the global irradiation factors for the transpiration of a plant. Not only the global irradiation is responsible for the water consumption but the leafarea development too, and, as it is shown in Fig. 4 this area was strongly increasing during the period shown in this drawing.

It is to detect that «Müller-Thurgau» had the highest water consumption of all 4 varieties in 1979. «Reichensteiner» was not as high as «Müller-Thurgau» but this situation changed in the next years.

Fig. 6 and 7 prove now the hypothesis that varieties like

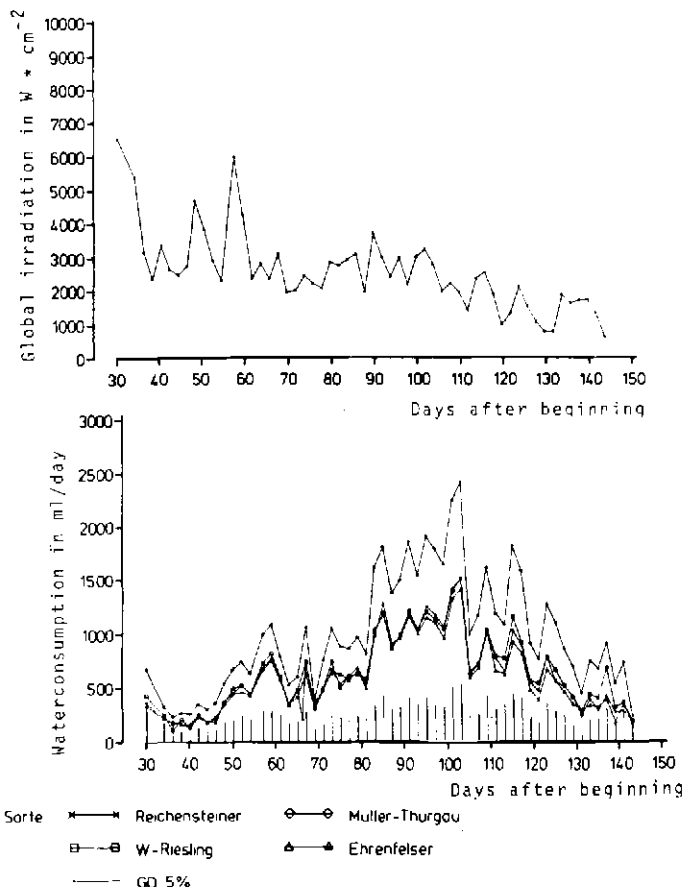


Fig. 5 - Average waterconsumption and global irradiation per plant and two days in 1979.

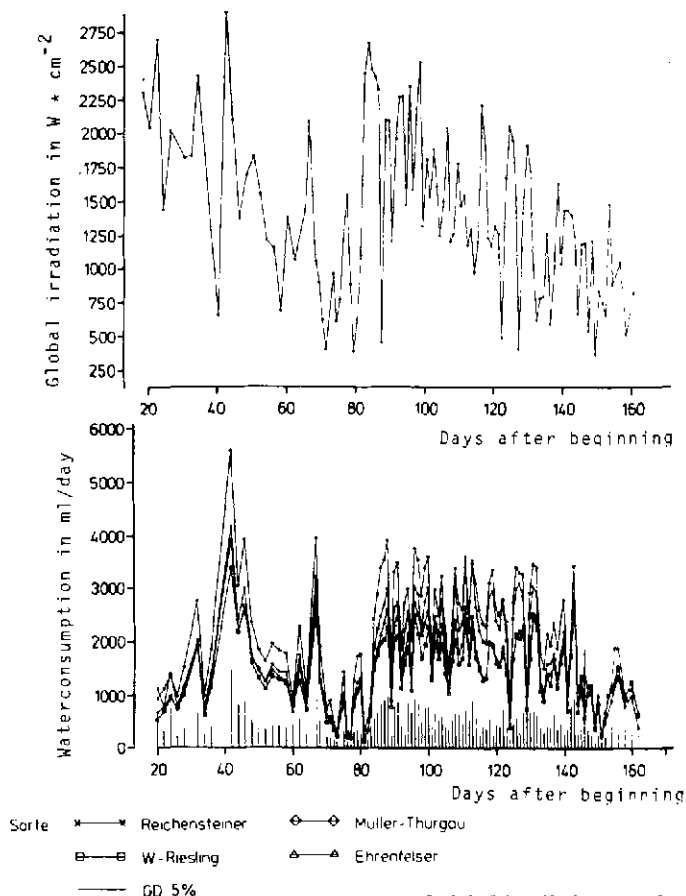


Fig. 6 - Daily average waterconsumption and global irradiation per plant in the year 1980.

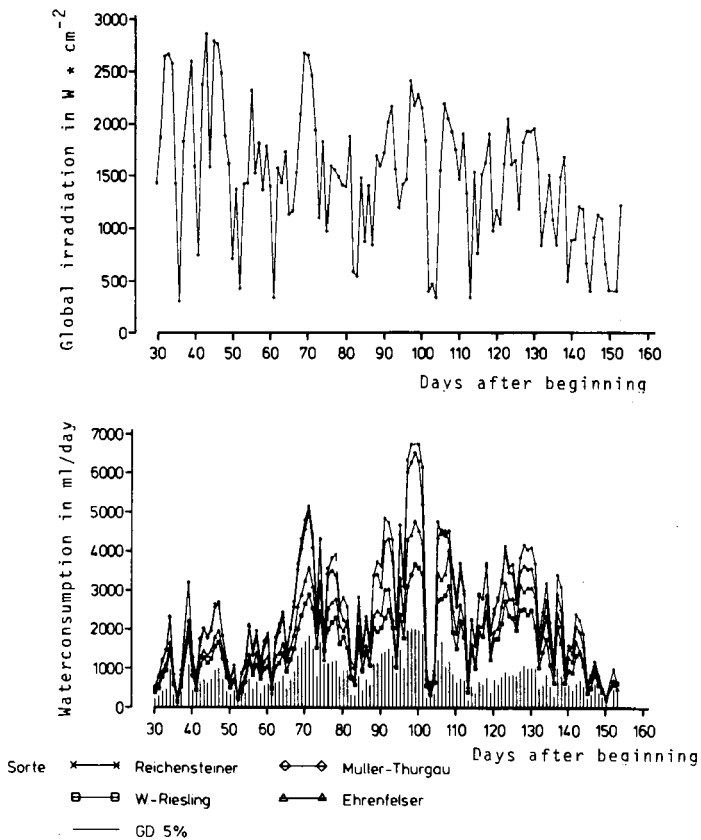


Fig. 7 - Daily average waterconsumption and global irradiation per plant in the year 1981.

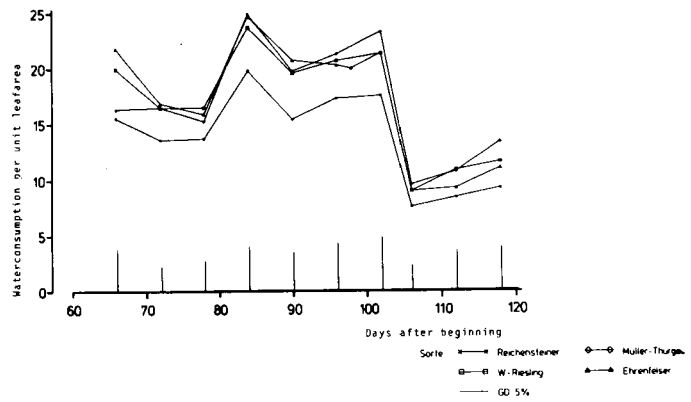


Fig. 9 - Waterconsumption per unit leafarea (cm<sup>2</sup>) in the year 1979.

cultivars. But even this large difference is normally not significant at the 95% level.

The same situation is shown in Fig. 10 for the year 1980 too. Here the same problem occurs. It is statistically impossible to distinguish the cultivars by their water consumption per unit leafarea.

A few words on the dry-matter-production of the four varieties on the transpiration coefficient calculated from the real water use of three years in the flood irrigation system at the institut in Geisenheim should be added.

Fig. 11 represents these results. «Reichensteiner» and «Müller-Thurgau» used much more water than «Riesling» and «Ehrenfeiser». The transpiration coefficients show large differences between the varieties.

As a result of the investigations made in 1979 to 1981 the differences in water consumption could largely be explained by the differences in the leafarea of the plants.

This means that under conditions of high water supply the leafarea is the most important factor for the water use of plants of the genera «Vitis vinifera». Carrante wrote in 1963 that in «Vitis»-types it is not possible to find special leafcharacters from plants in dry or wet regions.

Following these ideas and the above results it might be possible to get or to distinguish varieties for wet or dry areas only by the leafarea normally produced by the varieties. Production of large

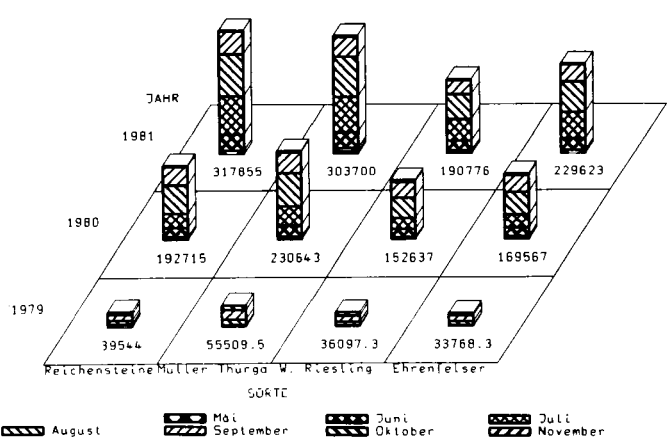


Fig. 8 - ml waterconsumption per plant of the different cultivars in the year 1979 to 1981.

«Müller-Thurgau» and «Reichensteiner» need more water than «Riesling» and «Ehrenfeiser» because the difference between the small-leaf-area-varieties is often significant at the 5% level as shown on the bottom of the two drawings. The most important factor for the water consumption of the plants at last is the global irradiation.

Fig. 8 presents the waterconsumption of the four cultivars in three years and the difference between the varieties. «Reichensteiner» needed in 1981 nearly 50% more water than «Riesling».

Fig. 9 presents now the water consumption per swardecimeter leafarea in the year 1979. The lower part of the figure shows the 95% minimum difference between the water use values per day in 1979. It is visible that only the variety «Reichensteiner» has lower water consumption per unit leafarea compared with the other

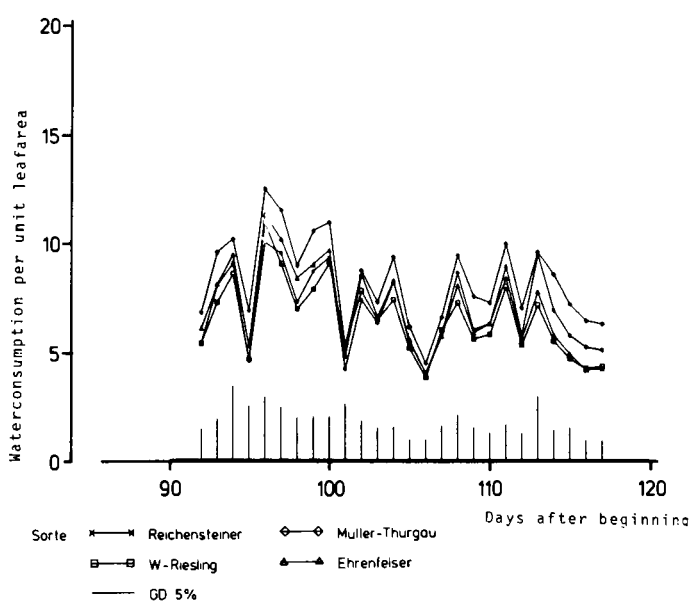


Fig. 10 - Waterconsumption per cm<sup>2</sup> leafarea in the year 1980.

**Fig. 11 - Dry-matter production and Total-water-consumption of different cultivars**

	Reichen- steiner	Müller- Thurgau	Riesling	Ehren- felser	GD .05
Dry-matter produc- tion Ø g/plant	1.932,31	1.907,06	1.429,101	926,60	108,3
Total-water- consumption l/plant	550,1	589,8	379,6	432,9	63,7
Transpiration- coefficient ml H <sub>2</sub> O/g dU	284	309	265	224	

leafareas means high water necessity, small leafarea means lower water consumption.

All results were gained under high water supply conditions. Therefore it is not possible to extrapolate these results to normal outside plantations.

Further investigations with changing water supply conditions have to be made to get more information and easy criteria for the selection of varieties with a low water consumption for dry

regions.

## LITERATURE

- Becker H., Schumann F., Hillebrand M. und Schmid H. (1970) - *Über neue Geisenheimer Ertragsorten*. Der Deutsche Weinbau, 25, 1033-1038.
- Beran N. und Klein W. (1983) - *Wechselwirkungen zwischen Photosynthese, Balltemperatur und Wasserdampfsättigungsdefizit der Atmosphäre bei Vitis vinifera L.* Die Wein-Wissenschaft 38, 379-394.
- Bosian G. (1964) - *Assimilations- und Transpirationsbestimmungen an Reben im Freiland mit klimatisierten Küvetten*. Die Wein-Wissenschaft 19, 264-271.
- Bravdo B., Lavee S. und Milthorpe F.L. in Kozłowski T.T. (1976) - *Stomatal conductance in the control of gas exchange. Water deficits and plant growth*. Vol. IV, Academic Press, New York, San Francisco, London, 103-152.
- Carbonneau A. (1976 b) - *Principes et méthodes de mesure de la surface foliaire. Essai de caractérisation des types de feuilles das de genre «Vitis»*. Ann. Amélior. Plantes 26, 327-343.
- Carrante V. (1963) - *Résistance de la vigne à la sécheresse*. Bull. OIV 384/1963, 141-168.
- Geisler G. (1960) - *Die Bedeutung blattmorphologischer Merkmale für die Züchtung dürreresistenter Rebenunterlagsorten*. Vitis 2, 153-171.
- Smart R.E. (1973) - *Sunlight interception by vineyards*. Amer. J. Enol. Vitic. 24, 141-147.
- Zimmermann J. (1955) - *Entwicklung, Histologie und Wasserhaushalt des Blattes in Beziehung zur Ökologie der Rebe (Gattung Vitis)*. Mitt. Klosterneuburg 5, 70-90.

## COMPORAMENTO DI SPECIE ED IBRIDI DI VITE IN CONDIZIONI DI SICCIÀ (\*)

**M. ZAMBONI - M. FREGONI - F. IACONO**

Cattedra di Viticoltura - Università Cattolica S.C. - Piacenza (Italia)

Per rendere efficace la diagnosi precoce di nuovi ibridi portinnesti nei confronti dell'adattamento a ridotte disponibilità idriche, è opportuno individuare, in una prima fase, quali caratteri della pianta, morfologici e fisiologici, vengono modificati dallo stato di stress idrico.

Dal punto di vista morfologico appaiono coinvolti nei meccanismi di adattamento o di protezione, il grado di succulenza delle foglie (9, 20, 26), lo spessore del mesofillo (26), la epinastia fogliare (27), le caratteristiche degli stomi (9, 14), l'apparato radicale (15, 19, 23), il rapporto radici/germogli (24, 26), la conducibilità idrica delle radici (28).

Altrettanto studiate sono state alcune modificazioni fisiologiche che avvengono a carico del potenziale idrico fogliare e della resistenza stomatica alla diffusione del vapore acqueo (1, 9, 10, 14, 16, 27), del potenziale osmotico (6, 11, 18), dei livelli fogliari di acido abscissico (14, 17, 21) e di prolina (2, 3, 17, 29).

In una seconda fase è opportuno verificare se alcune di queste modificazioni, più o meno ampie in funzione della durata dello stress e della fase fenologica in cui esso avviene (26), possano essere correlate con il grado di resistenza del genotipo alla siccità.

Nel presente lavoro si sono studiati alcuni aspetti del problema «resistenza alla siccità» utilizzando delle specie pure e degli

ibridi di vite che, a questo riguardo, hanno un comportamento sufficientemente noto.

### Materiale e metodo

Le specie pure e gli ibridi portinnesti utilizzati, scelti in base alle scale di resistenza alla siccità riportate da Branas (1974) e da Fregoni (1980), sono:

- Vitis Riparia grand glabre;
- Vitis Rupestris du Lot;
- Vitis Berlandieri Ressayguier n. 1;
- 3309 C. (Riparia x Rupestris);
- Kober 5BB (Berlandieri x Riparia);
- 140 Ruggeri (Berlandieri x Rupestris).

Le piante, dell'età di 9 anni, allevate presso l'azienda Pellegrina di Piacenza su un terreno di medio impasto tendente all'argilloso, con buone disponibilità idriche, sono state caratterizzate morfologicamente con le seguenti misure:

— area media di foglie poste al 5° nodo di germogli principali (Area - meter LI-COR 3000);

— peso fresco e secco delle medesime foglie;

— spessore della lamina fogliare, utilizzando un microscopio ottico e con l'ausilio di una camera lucida (360 ingrandimenti). Si sono effettuate tre misurazioni per sezione su 10 sezioni scelte a caso;

— numero medio di stomi (360 ingrandimenti), contati su quattro campi di osservazione scelti casualmente in 10 sezioni per genotipo;

— area media di uno stoma, ottenuta moltiplicando lunghezza per larghezza dello stoma secondo quanto suggerito da Fregoni e Roversi (1968).

I medesimi genotipi, dell'età di quattro anni, sono stati allevati in vasi della capacità di 12 litri, contenenti, come substrato, una miscela di sabbia, torba e terra argillosa (60 : 20 : 20 V/V) e mantenuti alla capacità idrica di campo mediante un impianto di irrigazione a goccia.

Su piante poste in condizioni idriche normali, di siccità e di successiva reidratazione, si sono determinati:

(\*) Lavoro eseguito con un contributo del CNR nell'ambito del P.F. IPRA - Sottoprogetto I. Pubblicazione N. 454.

— la resistenza stomatica alla diffusione del vapor acqueo (rs) di foglie adulte, poste in posizione mediana del germoglio ed esposte alla luce, mediante un porometro elettronico (LI-COR 60);  
 — il potenziale idrico fogliare ( $-\Psi$ ), misurato con una camera pressurimetrica (Schollander et coll., 1965) sulle medesime foglie;  
 — i livelli fogliari di acido abscissico libero, mediante cromatografia liquida ad alta pressione secondo quanto descritto da Düring e Scienza (1975) e da Düring e Bachmann (1976);  
 — i livelli fogliari di prolina libera, utilizzando il metodo suggerito da Bates et coll. (1973).

La misura dell'umidità del substrato è stata eseguita mediante il metodo ponderale.

## Risultati e discussione

### a) Caratteristiche morfologiche dei genotipi studiati

Dalla tab. 1 emerge l'estrema variabilità dei caratteri espressi dai genotipi studiati.

La V. Riparia, specie sensibile alla carenza idrica, possiede foglie molto ampie (382 cm<sup>2</sup>) con tessuti ricchi di acqua (76,3%) mentre il 140 Ru, portinnesto ritenuto tra i più resistenti alla siccità, ha foglie piccole (120 cm<sup>2</sup>) e poco idratate (68,4%). Anche la superficie fogliare specifica ed il grado di succulenza, in accordo con quanto suggerito da Larcher (l.c.), mostrano come la V. Riparia possieda un rapporto sfavorevole tra capacità di immagazzinamento dell'acqua e superficie traspirante, mentre l'opposto avviene per il 140 Ru.

Queste differenze nella capacità di conservazione dell'acqua sono avvalorate anche dallo spessore del mesofillo: elevato per il 140 Ru (230 $\mu$ ), molto sottile per la V. Riparia (132 $\mu$ ). Un comportamento così preciso non è riscontrabile nelle altre specie pure ed ibridi studiati, sebbene la V. Rupestris du Lot mostri alcuni ca-

ratteri tipici delle specie resistenti alla siccità (foglie piccole, spesse e succulente). Vi è comunque una tendenza generale che lega l'ampiezza della foglia al grado di succulenza ( $y = 1,6 - 0,001 x$ ;  $r = -0,77^{**}$ ) ed allo spessore del mesofillo ( $y = 230 - 0,23 x$ ;  $r = -0,73^{**}$ ).

Considerando la densità stomatica (tab. 2) si rileva come essa sia più elevata in alcuni genotipi (V. Riparia e Kober 5BB) sensibili alla carenza idrica e che il 3309, pur disponendo di un numero unitario di stomi intermedio, raggiunge una elevata superficie traspirante (13,8 mm<sup>2</sup> di area stomatica in 1 cm<sup>2</sup> di lembo fogliare) a causa della maggiori dimensioni degli stomi (654  $\mu^2$ ).

### b) Effetti dello stress sul potenziale idrico fogliare e sulla resistenza stomatica

La contrazione dell'umidità del substrato ha modificato i valori di potenziale idrico fogliare e di resistenza stomatica in tutte le specie ed ibridi studiati (tab. 3). Il potenziale idrico più negativo, al momento del massimo stress, è risultato a carico dei genotipi considerati resistenti alla siccità, il 140 Ru in particolare.

Quest'ultimo portinnesto, alle medesime condizioni, ha evidenziato anche la resistenza stomatica più elevata (38,3 sec. cm<sup>-1</sup>) manifestando così le sue attitudini «protettive» nel mantenimento del turgore cellulare. Meno reattive, in questo senso, sono risultate V. Rupestris du Lot e V. Berlandieri; ancor più V. Riparia ed il 3309, mantenendo sufficientemente aperti gli stomi al momento del massimo stress (circa 14 sec. cm<sup>-1</sup>), mostrano la loro scarsa capacità di limitare la traspirazione in condizioni critiche.

Il Kober 5BB sembra reagire allo stato carenziale incrementando la resistenza stomatica, ma appare lento nel recuperare la piena attività degli stomi dopo la reidratazione.

Per i rimanenti genotipi il recupero fisiologico ha pressoché ricondotto i due parametri ai livelli iniziali.

Tab. 1 - Alcune caratteristiche morfologiche delle foglie dei sei portinnesti studiati, allevati in pieno campo

Genotipo	Superficie fogliare cm <sup>2</sup>	% H <sub>2</sub> O nelle foglie	Sup. fogl. specifica dm <sup>2</sup> /g	Grado di succulenza H <sub>2</sub> O g/dm <sup>2</sup>	Spessore della lamina fogliare				
					totale $\mu$	T. lacunoso $\mu$	%	T. palizzata $\mu$	%
V. Riparia G.G.	382 a	76,3 a	0,61 a	1,26 a	132 a	67	50,7	34	25,7
V. Rupestris du Lot	72 b	73,0 b	0,48 bd	1,51 b	211 b	106	50,2	65	30,8
V. Berlandieri Ress.	218 c	71,6 bc	0,55 c	1,29 a	206 b	104	50,5	73	35,4
3309 C	109 bd	73,1 b	0,48 bd	1,48 b	167 c	86	51,5	46	27,5
Kober 5BB	299 e	72,7 b	0,48 bd	1,45 b	162 c	79	48,8	55	33,9
140 Ru	120 d	68,4 c	0,41 d	1,65 c	230 d	117	50,9	76	33,0

A lettere uguali corrispondono valori non significativamente differenti per  $p = 0,05$  al test di Duncan

Tab. 2 - Densità e dimensioni approssimate degli stomi dei sei portinnesti considerati, allevati in pieno campo

Genotipo	n° di stomi per mm <sup>2</sup>	Area media dello stoma $\mu^2$	Superficie (mm <sup>2</sup> ) occupata dagli stomi in 1 cm <sup>2</sup> di lembo	Superficie tot. (mm <sup>2</sup> ) occupata dagli stomi nel lembo fogliare
V. Riparia G.G.	273 a	579 a	15,81	60,39
V. Rupestris du Lot	188 b	578 a	10,87	7,83
V. Berlandieri Ress.	182 b	531 ad	9,66	21,06
3309 C	211 c	654 b	13,80	15,04
Kober 5BB	323 d	455 c	14,70	43,95
140 Ru	210 c	509 d	10,69	12,83

A lettere uguali corrispondono valori non significativamente differenti per  $p = 0,05$  al test di Duncan

Tab. 3 - Valori del potenziale idrico e della resistenza stomatica dei sei portinnesti considerati, allevati in vaso e sottoposti a stress idrico (Media di 3 determinazioni  $\pm$  e.s.)

Genotipo	Potenziale idrico (- MPa)			Resistenza stomatica (sec. cm <sup>-1</sup> )		
	Controllo <sup>(1)</sup>	Stress max. <sup>(2)</sup>	Recupero 24 h <sup>(3)</sup>	Controllo	Stress max.	Recupero 24 h
V. Riparia G.G.	1,11 $\pm$ 0,05	1,34 $\pm$ 0,07	0,60 $\pm$ 0,01	2,5 $\pm$ 0,49	14,1 $\pm$ 3,18	1,8 $\pm$ 0,15
V. Rupestris du Lot	0,92 $\pm$ 0,05	1,59 $\pm$ 0,07	1,10 $\pm$ 0,03	3,8 $\pm$ 0,88	20,0 $\pm$ 2,08	3,0 $\pm$ 0,64
V. Berlandieri Ress.	0,98 $\pm$ 0,03	1,60 $\pm$ 0,02	0,90 $\pm$ 0,05	1,9 $\pm$ 0,09	19,9 $\pm$ 2,01	3,6 $\pm$ 0,57
3309 C	0,89 $\pm$ 0,09	1,38 $\pm$ 0,02	0,63 $\pm$ 0,12	1,9 $\pm$ 0,06	14,3 $\pm$ 2,33	2,3 $\pm$ 0,44
Kober 5BB	1,00 $\pm$ 0,06	1,49 $\pm$ 0,11	0,82 $\pm$ 0,04	3,0 $\pm$ 0,30	22,0 $\pm$ 3,48	8,2 $\pm$ 0,38
140 Ru	1,16 $\pm$ 0,10	2,03 $\pm$ 0,13	1,07 $\pm$ 0,12	4,3 $\pm$ 0,41	38,3 $\pm$ 4,41	2,0 $\pm$ 0,06

(<sup>1</sup>) Umidità del terreno: 33% in volume;

(<sup>2</sup>) Umidità del terreno: 17% in volume;

(<sup>3</sup>) Umidità del terreno: 39% in volume.

Tab. 4 - Livelli fogliari di ABA libero e di prolina libera dei sei portinnesti considerati, allevati in vaso e sottoposti a stress idrico (Media di 3 determinazioni  $\pm$  e.s.)

Genotipo	ABA ( $\mu$ g/100 g s.f.)			Prolina ( $\mu$ g/g s.f.)		
	Controllo	Stress max.	Recupero 24 h	Controllo	Stress max.	Recupero 24 h
V. Riparia G.G.	32 $\pm$ 4,0	46 $\pm$ 6,8	30 $\pm$ 5,2	38,5 $\pm$ 5,1	77,0 $\pm$ 1,6	32,0 $\pm$ 2,7
V. Rupestris du Lot	25 $\pm$ 2,1	53 $\pm$ 6,5	20 $\pm$ 3,5	23,6 $\pm$ 0,5	44,1 $\pm$ 1,7	19,3 $\pm$ 1,2
V. Berlandieri Ress.	30 $\pm$ 2,5	56 $\pm$ 5,2	29 $\pm$ 3,0	30,9 $\pm$ 1,2	55,5 $\pm$ 2,4	28,1 $\pm$ 1,5
3309 C	21 $\pm$ 2,6	38 $\pm$ 4,7	20 $\pm$ 3,8	25,5 $\pm$ 1,7	67,4 $\pm$ 7,9	36,5 $\pm$ 1,9
Kober 5BB	25 $\pm$ 4,6	50 $\pm$ 7,2	38 $\pm$ 5,0	42,7 $\pm$ 3,8	63,8 $\pm$ 5,2	25,4 $\pm$ 3,2
140 Ru	44 $\pm$ 7,1	79 $\pm$ 8,1	43 $\pm$ 6,5	33,3 $\pm$ 1,9	57,9 $\pm$ 4,5	31,0 $\pm$ 2,3

#### c) Livelli di acido abscissico libero e di prolina libera

Tutti i genotipi reagiscono allo stress idrico aumentando i contenuti fogliari di ABA e di prolina (tab. 4). Il 140 Ru mostra, al momento del massimo stress, il tenore più elevato di ABA ed anche il maggiore incremento nei confronti del controllo. Sensibilmente inferiore, d'altro canto, è apparso l'accumulo dell'ormone da parte del 3309. I restanti genotipi hanno mostrato comportamenti pressoché simili seppur indirizzati verso un maggiore incremento nelle specie e negli ibridi considerati più resistenti alla siccità.

L'incremento dei livelli fogliari di ABA, che avviene in un genotipo in condizioni di stress idrico, sembra essere maggiormente legato, quindi, alla predisposizione che ha la pianta di «protegersi» dalle perdite di acqua chiudendo gli stomi e di ridurre il potenziale idrico.

Questa tendenza è avvalorata dalle correlazioni quadratiche stabilite tra potenziale idrico fogliare, resistenza stomatica e livelli di ABA determinati al momento dello stress (fig. 1).

L'incremento dei livelli di prolina libera ha invece seguito un andamento opposto, risultando maggiore nei genotipi ritenuti sensibili alla siccità. Ciò è in accordo con quanto verificato da altri Autori (17, 22).

Non è stato possibile, però, stabilire dei legami più stretti tra livelli di prolina e sensibilità alla carenza idrica.

In particolare V. Riparia e 3309 hanno mostrato sia i tenori più elevati al momento del massimo stress (77 e 67,4  $\mu$ g/g s.f.) sia i maggiori incrementi nei confronti del controllo (+38,5 e +41,9 $\mu$ g).

#### Conclusioni

I risultati esposti permettono di costruire un'immagine sufficientemente definita della specie o ibrido di vite resistente alla siccità.

Questo genotipo, identificabile con il 140 Ru, possiede foglie di piccole dimensioni, succulente, con elevato spessore del mesofillo e bassa densità stomatica, è inoltre molto reattivo, in condizioni di scarse disponibilità idriche del substrato, nel limitare le perdite di acqua per traspirazione.

Un tale meccanismo di protezione della pianta è legato all'innalzamento della resistenza stomatica ed alla caduta del potenziale idrico fogliare, a loro volta correlati con gli accumuli fogliari di acido abscissico.

Un genotipo che manifesti una risposta alla siccità di questo

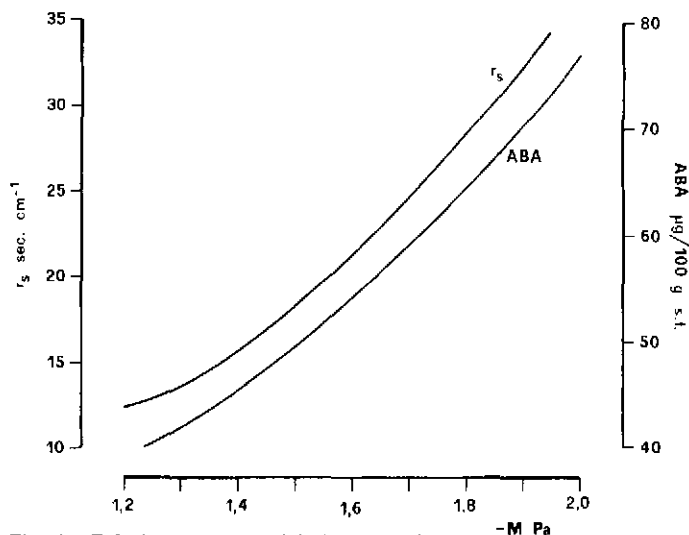


Fig. 1 - Relazioni tra potenziale idrico, resistenza stomatica e livelli fogliari di ABA, in portinnesti sottoposti a stress idrico ( $r_s = 17,5 - 26,4 x + 18x^2$ ,  $R^2 = 0,95$ ;  $ABA = 37,4 - 27,0 x + 23,4 x^2$ ,  $R^2 = 0,92$ )

tipo può andare incontro, però, a riduzioni più o meno ampie dell'efficienza fotosintetica se perdura lo stato di carenza idrica (9, 26, 30).

Pur disponendo di foglie con caratteristiche morfologiche simili al 140 Ru, V. Rupestris e V. Berlandieri dispongono di un minor controllo stomatico della traspirazione. La loro riconosciuta capacità di adattamento a basse disponibilità idriche, quindi, potrebbe essere legata ad altri meccanismi, quali il mantenimento del turgore cellulare attraverso aggiustamenti osmotici, l'incremento del rapporto radici/germogli, l'approfondimento dell'apparato radicale, sempreché la profondità e la struttura del terreno lo permettano.

In conclusione, si può affermare che i parametri, morfologici e fisiologici, utilizzati nel presente lavoro, possono essere proficuamente impiegati in un programma di selezione di nuovi ibridi portinnesti resistenti alla siccità, sempreché l'obiettivo da perseguire sia un genotipo che mantenga il suo stato di idratazione attraverso meccanismi di tipo protettivo.

Lo studio dei processi di adattamento utilizzati da alcune specie per superare periodi di carenza idrica, già intrapreso da alcuni Autori (6, 18) deve necessariamente disporre di una metodologia più articolata.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Agabbio M. (1979) - *Determinazione delle condizioni di stress idrico con l'impiego della camera a pressione. Esperienza condotta sulla cv. «Washington Navel» in California.* Riv. Ortoflorofrutt. It., n. 1, 1-12.
2. Aloni B., Rosenshtein G. (1984) - *Proline accumulation: A parameter for evaluation of sensitivity of tomato varieties to drought stress?* Physiol. Plant. 61: 231-235.
3. Aspinall D., Paleg L.G. (1981) - *Proline accumulation: physiological aspects.* in: The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants. Academic Press.
4. Bates L.S., Waldes R.P., Teare I.D. (1973) - *Rapid determination of free proline for water stress studies.* Plant Soil 39: 205-207.
5. Branas J. (1974) - *Viticulture* - Montpellier.
6. Düring H. (1984) - *Evidence for osmotic adjustment to drought in grapevines (V. vinifera L.).* Vitis, 23: 1-10.
7. Düring H., Bachmann O. (1976) - *Abscissic acid analysis in Vitis Vinifera.* In: *The period bud dormancy by high pressure liquid chromatography.* Physiol. Plant. 34: 201-203.
8. Düring H., Scienza A. (1975) - *Il ruolo dell'acido abscissico endogeno nella carenza idrica della vite.* Vignevini, 1: 37-40.
9. Düring H., Scienza A. (1980) - *Drought resistance of some vitis spe-*

- cies and cultivars.* Proceedings of Third Int. Symposium on Grape Breeding, Davis.
10. Elfving D.C., Merrill R., Kaufmann R., Hall A.E. (1972) - *Interpreting leaf water potential measurements with a model of the soil-plant-atmosphere continuum.* Physiol. Plant. 27: 161-168.
  11. Fanjul L., Rosher P.H. (1984) - *Effects of water stress on internal water relations of apple leaves.* Physiol. Plant. 62: 321-328.
  12. Fregoni M. (1980) - *Criteri di scelta dei portinnesti nella viticoltura mondiale.* Vignevini, 5: 31-38.
  13. Fregoni M., Roversi A. (1968) - *Indagine biometrica sugli stomi di alcune cultivar di pesco.* Riv. Ortoflorofrutt. It., n. 5: 541-548.
  14. Fregoni M., Scienza A., Miravalle R. (1978) - *Evaluation précoce de la résistance des porte-greffes à la sécheresse.* Génétique et amélioration de la vigne, INRA, Bordeaux: 287-296.
  15. Geisler G. (1957) - *Die Bedeutung des Wurzelsystems für die Züchtung dürre-resistenter Rebenunterlagssorten.* Vitis, 1: 14-31.
  16. Giulivo C., Ramina A. (1981) - *Studies on water relations of grapevine (Vitis Vinifera).* Acta Horticulturae 119: 109-121.
  17. Ilahi I., Dörffling K. (1982) - *Changes in abscissic acid and proline levels in maize varieties of different drought resistance.* Physiol. Plant. 55: 129-135.
  18. Jones M.M., Turner N.C. (1978) - *Osmotic adjustment in leaves of sorghum in response to water deficits.* Plant Physiol. 61: 122-126.
  19. Jones M.M., Turner N.C., Osmond C.B. (1981) - *Mechanisms of Drought Resistance.* In: The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants. Academic Press.
  20. Larcher W. (1975) - *Physiological plant ecology.* Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
  21. Loveys B.R., Kriedemann P.E. (1973) - *Rapid changes in abscissic acid-like inhibitors following alterations in vine leaf water potential.* Physiol. Plant. 28: 476-479.
  22. Muriel J.L., Guerra J.M. (1984) - *Acumulacion de prolina libre y azucars reductores en plantas de girasol sometidas a estrese hidrico.* Ann. INIA n. 26, 39-46.
  23. Parker J. (1968) - *Drought resistance mechanisms.* In: Water Deficits and Plant Growth. Ed. Kozlowski, Academic Press, New York, London.
  24. Parsons L.R. (1979) - *Breeding for drought resistance: what plant characteristics impart resistance?* Hort Science, Vol. 14 (5), 590-593.
  25. Schollander P.F., Hammel H.T., Bradstreet E.D., Hemmingsen E.A. (1965) - *Sap pressure in vascular plants.* Science, 148: 339-346.
  26. Scienza A. (1983) - *Adattamento genetico della vite allo stress idrico.* Vignevini, 6: 27-39.
  27. Smart R.E. (1974) - *Aspects of water relations of the grapevine (Vitis Vinifera).* Amer. J. Enol. Vitic., Vol. 25, n. 2: 84-91.
  28. Syvertsen J.P. (1981) - *Hydraulic conductivity of four commercial citrus rootstocks.* J. Am. Soc. Hort. Sci. 106 (3): 378-381.
  29. Syvertsen J.P., Smith Jr. M.L. (1983) - *Environmental stress and seasonal changes in proline concentration of Citrus tree tissues and juice.* J. Amer. Soc. Hort. Sci. 108 (5): 861-866.
  30. Turner N.C., Kramer P.J. (1980) - *Adaptation of plants to water and high temperature stress.* John Wiley & Sons, New York.

#### RESUME

#### COMPORTEMENT D'ESPECES ET D'HYBRIDES DE VIGNES EN CAS DE SECHERESSE

Pour obtenir une diagnose précoce efficace des nouveaux hybrides porte-greffes d'après leur comportement en cas de pénurie d'eau, il est nécessaire d'individualiser dans un premier temps - les caractères morphologiques et physiologiques de la plante - qui sont modifiés par un état de stress hydrique. Par la suite, il est opportun d'établir si les modifications qui sont plus ou moins importantes en fonction du génotype, peuvent être liées au degré de résistance à la sécheresse.

Dans ce but, on a opéré sur des espèces pures (V. Riparia Grand Glabre, V. Rupestris du Lot, V. Berlandieri Ressayguier n.1) et des hybrides (3309, Kober 5BB, 140 Ru) qui à ce sujet, ont un comportement assez bien connu.

Ces porte-greffes ont été caractérisés du point de vue morphologique par les mesures de la superficie de la feuille, de la densité stomatique, de l'épaisseur du limbe foliaire et par d'autres indices qui expriment le rapport existant entre la superficie transpirante et les contenus hydriques foliaires.

On a de plus déterminé le potentiel hydrique, la résistance stomatique, les niveaux d'acide abscissique libre et de proline libre des feuilles de vignes, de chaque espèce et hybride soumis à un stress hydrique. En particulier, le porte-greffe (140 Ru) considéré résistant à la sécheresse, a présenté au moment du stress maximum les valeurs du potentiel hydrique (-2,03 M Pa) et de la résistance stomatique (38,3 sec. cm<sup>-1</sup>) les plus élevées et les niveaux les plus importants de ABA (79 µg/100 g p.f.). Au contraire les contenus foliaires de proline semblent augmenter davantage chez les porte-greffes considérés peu tolérants à la sécheresse (Vitis Riparia).

La récupération physiologique avec réhydratation du milieu après 24 h a reporté à peu près tous les paramètres aux niveaux initiaux.

On a établi également des corrélations significatives entre certains caractères morphologiques et des paramètres physiologiques modifiés par la condition de stress.



# Résistance à la salinité / Salinity resistance / Resistenza alla salinità

## EFFECT OF SALINE CONDITIONS ON GROWTH OF SOME GRAPEVINE (VITIS VINIFERA L.) TRANSPLANTS

I.H. ALSAIDI

Department of Horticulture, College of Agriculture and Forestry  
Hammam Al-Alil, Mosul (Iraq)

### SUMMARY

This study was conducted at Hammam Al-Alil, Mosul, Iraq during 1978, 1980 and 1981 Season. Three cultivars of grapevine (Thompson Seedless, Black Corinth and Emperor) of one year old transplants were used in 1978 and Deiss Anz cultivar was used in 1980 and 1981. Four levels of combined salts (NaCl and CaCl<sub>2</sub> 0.0, 0.2, 0.4 and 0.6%) at ratio of 1: 1 were used in this study.

It was found that increasing salts percentage in the soil medium decreased the dry weight of leaves, stems and roots for all grape cultivars and increased the concentrations of Na, K, Ca and Cl<sub>2</sub> in the leaves. However Mg concentration in the leaves of all grape cultivars was lowered, while the concentration of Ca and Cl<sub>2</sub> were decreased in the stems of transplants. Meanwhile the concentration of Ca, K and Mg were reduced in the roots of all grape cultivars.

The ratio of K/Na is decreased at leaves, stems and roots of all cultivars, while the Ca/Mg ratio is increased at roots and leaves and decreased at stems of all cultivars.

It was concluded that the cultivar Deiss Anz could tolerate 11.90 mmhos/cm in the first year and 11.70 mmhos/cm in the second year, while the cultivars of Thompson Seedless and Emperor tolerated 8.50 mmhos/cm and Black Corinth tolerated 4.80 mmhos/cm.

---

## Aspects différents / Different aspects / Aspetti differenti

### NEW VITIS VINIFERA VARIETIES WITH DEEP RED COLOUR FOR COOL CLIMATE

E. BECKER

Head of Institut for Grapevine Breeding and Grafting  
Forschungsanstalt - Geisenheim - (Rep. Fed. of Germany)

#### 1. Introduction

In Germany the consumption of red wine is increasing within the last years. The hectareage of red wine cultivars is low and not more than 12% total viticulture in the FRG. Most important red wine varieties are

Blauer Spätburgunder  
Blauer Portugieser  
Trollinger  
Müllerrebe  
Blauer Limberger  
and others.

German red wines are different from those from warmer areas and of special character. They are less or more light, low in tannin and fruity. They are not very intense dark but lack even colour in comparison to the French styled wines and others in the world.

The modern industrial society requires more and more light wines and even light red wines.

Many red wines need to be darkened by adding «Teinturier» — wines not only in cooler climates. Even red wines from dry and hot areas suffer sometimes from lack of colour. Since a longtime «Teinturier» — varieties are used to balance the colour of red wines in most viticultural areas in the world.

On the other hand modern technical methods and special skin fermenting procedures and heating to extract more natural col-

our out of the skin of traditional red wine cultivars were developed. These techniques need expensive equipment.

The most simple and very economical procedure is still the traditional use of «Teinturier» — varieties.

To import and blend «Teinturier» — wines to darken German quality red wines will be restricted next time.

At Geisenheim we started a breeding programme to become independent from imported «Teinturier» — wines. The objectives are to breed and select varieties for cool climate with deep colour in skins and in the flesh of the berries as well. New varieties with this characters should improve red wine making by adding a legal percentage of dark wine to given traditional cultivars in Germany. On the other hand our Geisenheim programme aims at developing new varieties with sufficient colour to make light red wines without fermenting on skin or having only a short time of skin contact. This very simple technique can easily be applied in wineries which are used to make white wines.

The objectives of breeding new red wine varieties for cool climate at Geisenheim are as follows.

#### A. Vegetative Characteristics:

1. Vigorous und upright growth;
2. Healthy active leaves;
3. Best maturation of hardwood;
4. Winter hardiness;
5. In case of interspecific crossings: Resistant to mildews; no phylloxera leafgalls.

#### B. Generative Characteristics:

1. Constant fertility;
2. Stems of clusters loose, strong and resistant to Botrytis;
3. Berries resistant to early Botrytis;
4. High quality of grapes to produce natural wines;
5. Balanced taste and sufficient red colour.

The first German variety with character of teinturier was

«Dunkelfelder». Geisenheim applied to get this variety released. It is a recommended cultivar for different German wine-growing regions now. The Dunkelfelder produces harmonic wines with deep red colour. Blending 5% of Dunkelfeder wine is already sufficient to balance the colour of traditional German red wines without changing the character. Dunkelfelder produces even red wines without fermenting on skin.

## 2. Genetical background and preselection methods

The genes to produce anthocyanins are found in different perennial woody plants. They are suggested to be mutants of green types without having the potential to produce anthocyanins. Within *Vitis vinifera* there are mutants with the ability to produce anthocyanins in all cells too. This «teinturier» — types are well known and us-

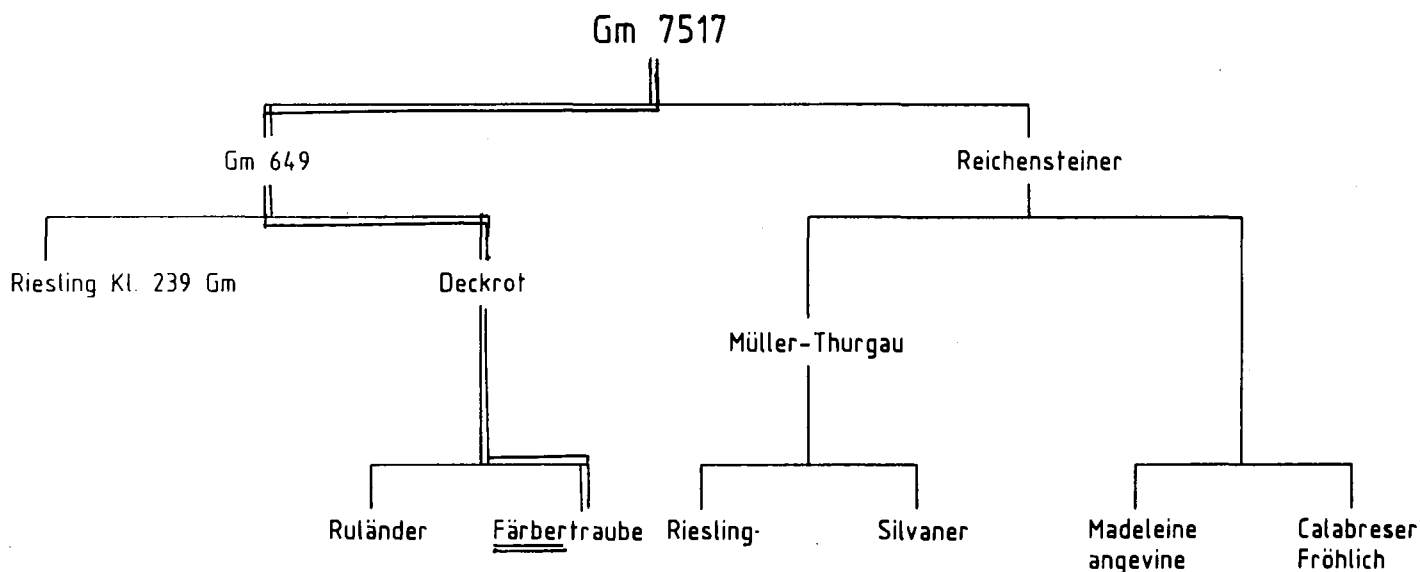
Tab. 1 - Crossings *V. vinifera* with «Teinturier-Genes» at Geisenheim since 1964 (Gm = Geisenheim family-No).

1.	Gm 6419 Rotberger x Färber
2.	Gm 6428 Rotberger x Deckrot
3.	Gm 6437 Müller-Thurgau Kon 10 x (Wälsche frühe Blau x Färber Nr. 1
4.	Gm 649 Riesling Klon 239 Gm x Deckrot
5.	Gm 674 Portugieser x Deckrot
6.	Gm 7218 Kolor x Sieger (Madeleine angevine x Gewürztraminer)
7.	Gm 7227 Deckrot x Sieger (madeleine angevine x Gewürztraminer)
8.	Gm 7221 Deckrot x Müller-Thurgau
9.	Gm 7213 Kolor x Müller-Thurgau
10.	Gm 7225 Deckrot x Portugieser
11.	Gm 7211 Kolor x Kanzler
12.	Gm 7226 Deckrot x Rotberger
13.	Gm 7225 Deckrot x Portugieser
14.	Gm 7212 Deckrot x Jubiläumsrebe
15.	Gm 712 Arnsburger x Deckrot
16.	Gm 713 Arnsburger x Dunkelfelder
17.	Gm 7516 = Gm 649 x Reichensteiner
18.	Gm 7517 = Gm 649 x Reichensteiner
19.	Gm 7518 = Gm 649 x Reichensteiner
20.	Gm 7519 = Gm 649 x Reichensteiner
21.	Gm 7520 = Gm 649 x Bl. Frühburgunder K1. 2/21 Gm

*Parentage of cultivars used for crossing*

Rotberger	= Trollinger x Riesling
Färber	= Teinturier
Deckrot	= Ruländer x Färber
Kolor	= Blauer Burgunder x Färber
Sieger	= Madeleine angevine x Gewürztraminer
Kanzler	= Müller-Thurgau x Silvaner
Jubiläumsrebe	= Portugieser x Blaufränkisch
Arnsburger	= Riesling clone 88 Gm x Riesling clone 64 Gm

Tab. 2 - Genealogy of a Geisenheim family with «Teinturier» - genes.



ed to darken pale red wines since a long time. In case of anthocyan producing genes in *V. vinifera* these are inherited to progenies of seedlings. The cotyledons and young leaves of seedlings are colouring red when the anthocyan producing genes are transmitted. There is a very strong linkage of the appearance of anthocyan in the cotyledons and young leaves of seedlings to the production of red colour in the skin and in the flesh of berries of adult vines. This phenomenon can easily be used as a method to screen seed-

ings with «teinturier» — character. By selecting seedlings with dark red colour in cotyledons and young leaves in the first year of the seedlings life we were able to preselect varieties with dark red anthocyan in the skin of berries in the flesh and juice as well. This easy method of preselection seedlings proved to be 100% efficient and was used in our breeding program since years. We selected varieties with the potential to produce a big amount of anthocyan in all cells even in callus tissue and in roots. In general we found the relation: The darker the leaves of seedling are colouring red the more anthocyan is produced in the skin of berries and in the flesh and juice. Varieties with this characteristic are not infected by leaf roll as some phytopathologists thought, seeing this new types first. The new varieties with this characteristics produce with «white wine techniques» dark red wines without fermenting on skins.

**Tab. 3 - Evaluation of new Geisenheim «Teinturier» - Red Wine Varieties 1983 (Rotberger as comparison)**

Variety	Yield kg/m <sup>2</sup>	Oechsle	Acidity
Rotberger Kl. 32-38 Gm	1,38	85	7,5
Gm 7519-1	1,08	80	11,2
Gm 7520-1	2,12	78	9,5
Gm 7517-23	1,71	88	7,8
Gm 7517-24	1,74	78	10,3
Gm 7517-25	1,88	77	10,2
Gm 7517-26	2,01	88	12,3
Gm 7517-27	1,86	81	11,0
Gm 7517-28	1,80	73	8,2
Gm 7517-29	1,90	83	12,2
Gm 7516-20	1,19	74	9,5
Gm 7516-21	1,51	85	11,2
Gm 7518-1	0,94	98	11,6
Gm 7518-2	1,08	78	8,0
Gm 649-7	0,97	95	14,3
Gm 7217-5	1,14	76	10,5
Gm 7225-9	1,29	81	9,5
Gm 7226-1	1,30	76	10,2
Gm 6419-3	1,22	98	12,2
Gm 6419-10	1,31	109	10,3

### 3. Results of the breeding work

Since 1964 many crossings with the objectives to create new red wine varieties with dark colour and «teinturier» — character were carried out (Tab. 1). A lot of new seedlings were selected and grafted on 5 C Geisenheim clone 6. 10 to 20 wines were evaluated and wine was made by microvinification. Many of the new varieties proved to be too acid and others did not yield constantly. At last we kept those new varieties which are shown in Tab. 3. Most of them are complicated crossings and have had the «teinturier» — genes transmitted through 3 generations (Tab. 2). The new selected types proved to have good yields and sufficient wine quality. Wines were made of all new varieties. We found some of them with such a deep colour that it was not necessary to ferment on skins. We decided to use the white wine technique of crushing, pressing and fermenting the juice directly (W). Others were fermenting on skin in the classical way (M). Tab. 4 gives the analysis of the wines, which were natural and not chaptalized or

**Tab. 4 - Analysis of the Wines of new German «Teinturier» - Varieties after Microvinification**

1 Variety	2 Alcohol % Vol.	3 Extract g/l	4 Total acid g/l	5 pH	6 free SO <sub>2</sub>	7 total SO <sub>2</sub>	
Rotberger Kl. 32-38 Gm		10,52	19,2	6,8	3,5	32	90
Gm 7519-1	(W)	9,8	25,7	7,7	3,3	30	77
Gm 7520-1	(W)	8,13	17,7	5,6	3,2	28	65
Gm 7517-23	(W)	8,11	18,6	5,2	3,3	26	70
Gm 7517-24	(W)	8,18	17,8	7,2	3,1	20	55
Gm 7517-25	(W)	7,98	17,0	4,5	3,4	30	80
Gm 7517-26	(W)	9,47	20,2	7,8	3,1	25	87
Gm 7517-27	(W)	10,09	20,7	7,6	3,1	26	61
Gm 7517-28	(W)	8,97	20,1	6,5	3,3	27	86
Gm 7517-29	(W)	10,89	21,9	5,7	3,5	25	93
Gm 7516-20	(W)	8,73	23,4	7,1	3,4	28	97
Gm 7516-21	(W)	10,02	23,4	7,3	3,5	19	92
Gm 7518-1	(W)	10,19	20,5	6,1	3,3	29	83
Gm 7518-2	(W)	9,43	22,9	5,3	3,7	23	75
Gm 649-7	(W)	10,27	22,4	8,5	3,2	24	70
Gm 649-7	(W)	10,1	24,9	7,6	3,5	19	65
Gm 7217-5	(W)	9,34	17,0	5,3	3,5	26	88
Gm 7217-5	(M)	8,78	23,2	7,4	3,4	32	65
Gm 7225-9	(W)	9,08	21,5	5,5	3,6	22	63
Gm 7225-9	(M)	8,82	26,1	8,6	3,6	28	65
Gm 7226-1	(W)	9,93	18,9	5,4	3,5	21	98
Gm 6419-3	(M)	10,64	30,2	9,5	3,6	37	69
Gm 6419-10	(M)	11,91	34,8	8,5	3,6	43	81

(M = fermented on skin)

(W = white wine technique)

Tab. 5 - Results of Scoring the Red Wines (German 5 point system: 5 = excellent; 1 = not satisfactory) - (M = fermented on skin; W = white wine technique)

Variety	Ø Score
Gm 7519-1 (W)	2,3
Gm 7520-1 (W)	1,9
Gm 7517-23 (W)	1,8
Gm 7517-24 (W)	1,6
Gm 7517-25 (W)	1,9
Gm 7517-26 (W)	1,8
Gm 7517-27 (W)	2,3
Gm 7517-28 (W)	2,1
Gm 7517-29 (W)	2,8
Gm 7516-20 (W)	2,1
Gm 7516-21 (W)	2,0
Gm 7518-1 (W)	2,5
Gm 7518-2 (W)	2,4
Gm 7226-1 (W)	2,2
Gm 649-7 (W)	1,8
Gm 7217-5 (W)	2,1
Gm 7225-9 (W)	1,7
Gm 649-7 (W)	1,8
Gm 7217-5 (M)	1,8
Gm 7225-9 (M)	1,6
Gm 6419-3 (M)	1,9
Gm 6419-10 (M)	2,3
Bl. Spätburgunder K1. Gm (M)	2,5
Bl. Frühburgunder K1. Gm (M)	1,7
Rotberger K1. 32-38 Gm (M)	1,5
Dunkelfelder (M)	2,1
Dunkelfelder (W)	2,1

Tab. 6 - Density of Red Colour in different new Geisenheim Red Wine Varieties at Extinction of 520 nm

Varieties	Extinction of 520 nm
Rotberger K1. 32-38 Gm	1,65
Bl. Frühburgunder K1. Gm	2,80
Bl. Spätburgunder K1. Gm	1,25
Dunkelfelder (W) *	3,75
Dunkelfelder (M) *	12,75
Gm 7519-1 (W)	6,35
Gm 7520-1 (W)	6,85
Gm 7517-23 (W)	4,85
Gm 7517-24 (W)	6,90
Gm 7517-25 (W)	3,70
Gm 7517-26 (W)	8,00
Gm 7517-27 (W)	6,60
Gm 7517-28 (W)	2,30
Gm 7517-29 (W)	4,50
Gm 7516-20 (W)	4,30
Gm 7516-21 (W)	5,40
Gm 7518-1 (W)	4,30
Gm 7518-2 (W)	4,60
Gm 649-7 (W) *	9,10
Gm 7217-5 (W) *	5,55
Gm 7225-9 (W) *	8,05
Gm 7226-1 (W)	4,50
Gm 649-7 (M) *	13,65
Gm 7217-5 (M) *	12,00
Gm 7225-9 (M) *	13,80
Gm 6419-3 (M)	7,20
Gm 6419-10 (M)	5,60

\* = Extinction was raised from 2 to 3  
(W = white wine technique; M = fermented on skin).

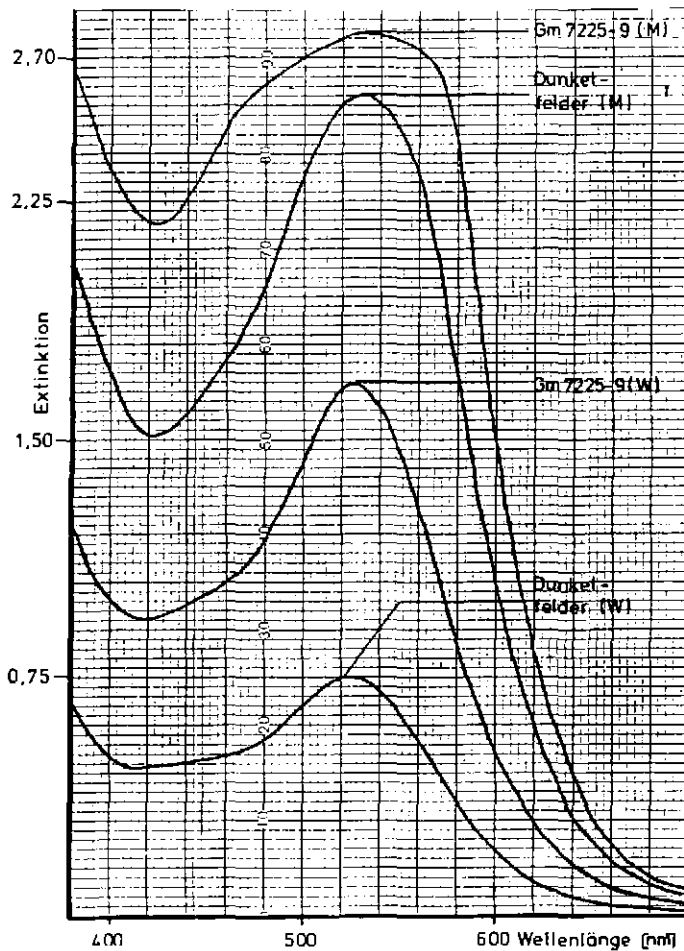


Fig. 1 - Spectrum of Absorption between 700 and 380 nm of different varieties.

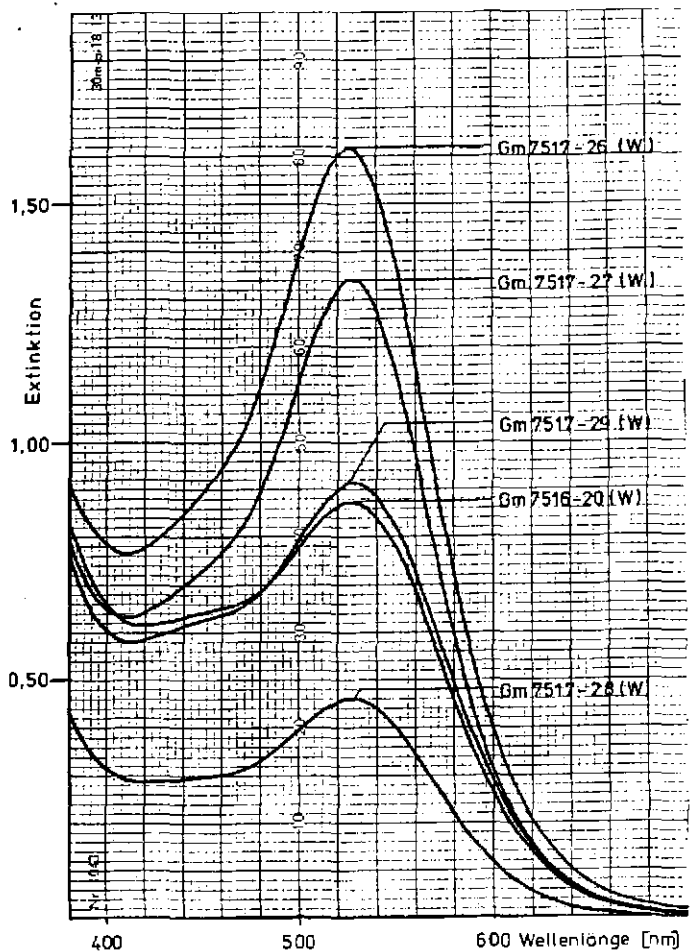


Fig. 2 - Spectrum of Absorption between 700 and 380 nm of different varieties.

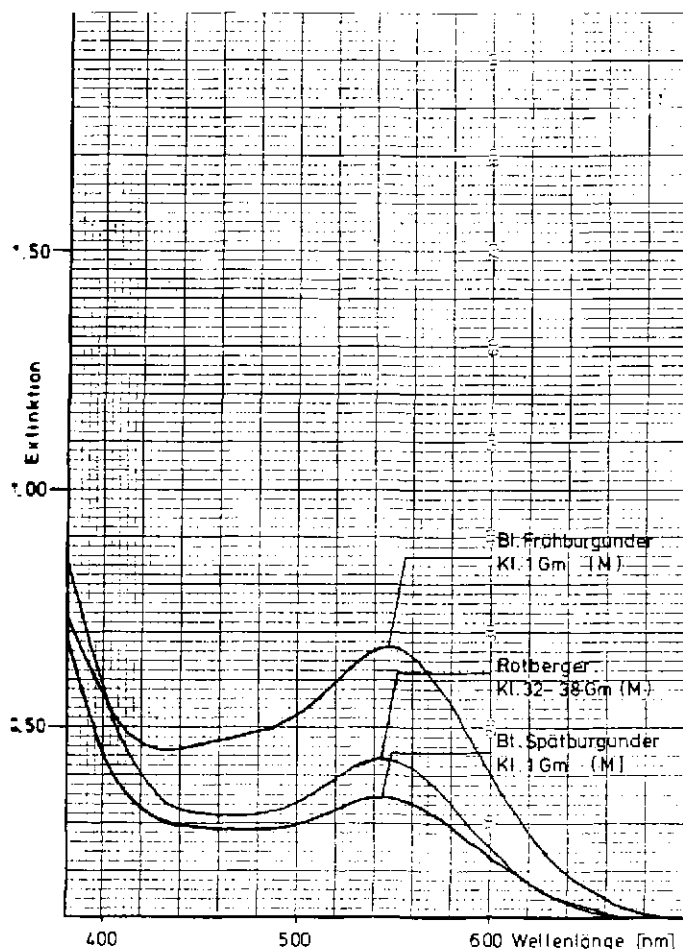


Fig. 3 - Spectrum of Absorption between 700 and 380 nm of different varieties.

corrected. The score of the wines tasted by experienced panels shows the interesting result (Tab. 5) that some of the red wines produced like white wines proved to be of good colours and were as good scored as traditional varieties. The new type Gm 7517-29 was evaluated to be the best red wine, though it was not fermented on skin. The colour of all red wine was investigated with the method of Leperle and Kerner (1968). In photometric system to fix the wave-length of the absorption at 520 nm was very useful. Tab. 6 shows that all new varieties even after vinification with white wine technique (W) have enough colour. After fermentation on skin (M) is much more colour extracted. Compare Dunkelfelder (W and M).

Fig. 1, 2, 3 demonstrate some of the spectrum of absorption at wave-length of 700 to 380 nm, of different varieties mentioned in part 3 of this paper. The photometric analysis gives a good impression of the deep colour even after vinification with white wine techniques. The skin fermented traditional varieties are compared with the new ones low in colour.

#### LITERATURE

1. Becker H. (1977) - *Methods of small scale wine-making (microvinification) for vine-breeding - II.* Symp. Inter. Am. de la Vigne, Bordeaux, 445 - 449.
2. Becker H. (1984) - *Ober die Verbesserung der Sälingsaufzucht und Frühselektion in der Kreuzungszüchtung;* - Deutsches Weinbau - Jahrbuch, 49 - 57.
3. Becker H. (1979) - *Ober die Züchtung von neuen Rotweinsorten in Geisenheim;* Deutsches Weinbau-Jahrbuch, 53 - 62.
4. Lemperle E. und Kerner E. (1968) - *Untersuchungen zur Farbe von Rotwe;* 1. Mitteilung: Versuche zur Objektivierung der Farbmessung; Wein-Wiss. 7-8, 281 - 294.
5. Troost G. (1980) - *Technologie des Weines;* 5. Aufl., Verlag E. Ulmer, Stuttgart.

## BREEDING GRAPEVINE VARIETIES BASED ON HYBRIDISATION OF *V. VINIFERA* x *V. AMURENSIS*

P. CINDRIĆ

Institut de Viticulture, d'Arboriculture et de Horticulture - Faculté d'Agronomie - Novi Sad - (Yugoslavia)

V.J. Michurin was the first to conduct planned introduction of the species *Vitis amurensis* Rupr. in grapevine breeding at the beginning of this century aimed at implementing the principle formulated as «a movement of the south to the north» (Vasiljchenko, 196 =).

The first notable success with this species was accomplished by the Soviet selectionists at Novocheerkask (Potapenko et al. 1974). The primary idea was to transmit high cold hardiness possessed by this species to *V. vinifera* varieties. It is well known that wild forms of *V. amurensis* Rupr. can stand very low temperatures (Golodriga, Sujatinov, 1981). The offspring of the  $F_1$  generation

such as the varieties Severni and Zora severa actually had high cold hardiness, yet they suffered from a number of failures. By recrossing these cultivars with vinifera varieties a number of varieties have been created being superior in the qualitative characteristics and having better cold hardiness to the latter, for example: Fioletovi rani, Saperavi severni, Vidvizinec, Stepnjak, Nerkarat, Dimaskun, Negru de Jaloveni and others (Pogosjan, 1978; Kostrikin, 1978; Potapenko, Kostrikin, 1974; Filipenko, 1974; Guzun, Zuravelj, 1974 and others).

Besides the U.S.S.R., *V. amurensis* is used in breeding grapevine varieties in other countries, like Bulgaria (Valchev, 1978), Hungary (Koleda, 1975), Yugoslavia (Cindrić, 1980), F.R. Germany (Becker, 1980), Czechoslovakia and others.

The present study was performed to create white wine varieties which would provide safer production in terms of both the quantity and quality in relation to cultivated varieties under conditions of the continental climate.

Under our conditions the yield varies considerably from year to year due to freezing or an attack of grey rot on the grape. The variation in the quality is also markedly affected by the climatic factors. It seems to be particularly pronounced in late maturation varieties.

Thus, we have set ourselves the task to create the varieties possessing:

- high cold hardiness,
- reduced sensitivity to *Botrytis cinerea*,
- early maturation, i.e. good sugar accumulation.

## Preliminary investigation

The work on this problem began with collecting and studying the selections created in the past several decades by interspecies hybridization between *V. vinifera*, America species, East-Asiatic species. *V. amurensis* Rupr. The following varieties were assessed: Zalagyöngye, Kunleány, Kunbarát, Rayon d'or, Villard blanc, II 65-89, Csf II 1204, V 68-91, Solnecni, Ljana, Muscat de st Vallier, Dojna, Vaskanski krasni, Plameni, Negru de Jaloveni, Saperavi severni, Villard noir, Chancellor, Muscat Dnjestrovski, Strasenski, Struguras, Moldova, Vierul 59, Perle noir (Cindrić et al. 1983). In addition, the investigation included Bianca, Lakhegyi mézes, Gőcseji zamatos, Vértés csillaga, Medina, Fr 589-54, gm 312-53, Pölöskei, Muskataly, R-49, Ruskij concord, Zarja severa, Wates and male and female wild form of *V. amurensis*.

Two white wine grape varieties created on the basis of *V. amurensis* by Hungarian selectionists Tamásy and Koleda appear to be the most interesting ones for our objectives. They are the varieties Kunbarát and Kunleány patented in 1974 and 1975 (Koleda, 1975). According to Csepregi and Zilai, 1976 and 1982, these varieties are characterized not only by high cold hardiness but high fertility, top quality wines and considerable resistance to *Plasmopara viticola*. The author presents briefly some results of his investigations that characterize the most important biological, economic and technological characteristics of the above two varieties. Comparisons were made with the variety Italian Riesling as the basic cultivar in the northern region of Yugoslavia and, possibly, the whole Pannonian Plain.

The data in Tab. 1 show that the potential fertility of the varieties Kunleány and Kunbarát is markedly superior to the control being otherwise known for high fertility. Tab. 2 presents the results of investigations of several trials characterizing the productivity and quality of grapes. Recognizing high fertility of the variety Italian Riesling it can be concluded that the varieties Kunleány and Kunbarát have high fertility. The variety Kunbarát has particularly pronounced high fertility in the region of the Fruska Gora Hills (Sremski Karlovci). In the region of Subotica-Horgos Sands (Palić) this variety exhibits inferior fertility.

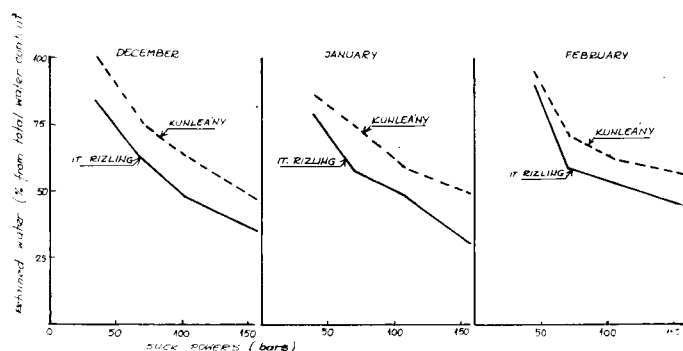
In all three trials both varieties originated from *V. Amurensis* had a markedly higher sugar content in juice must than the con-

rol variety Italian Riesling, even when harvested earlier. It confirms their early ripening and a good ability of sugar accumulation.

The variety Kunleány, in addition to a high sugar content, retains a high acid level in juice must. Besides, the variety Kunleány is characterized by high resistance of grapes to *Botrytis cinerea*.

The other studies (Cindrić et al. 1983) have shown the varieties Kunleány and Kunbarát do not lag much behind in the quality of wine to the variety Italian Riesling. Their wines are flat, with clear wine flavour and taste, simple and free from foreign admixtures. According to Csepregi and Zilai (1982) the wines of these two varieties are superior to the wines of mass cultivars (convarietas Pontica) and do not differ from the wines of pure *vinifera* varieties.

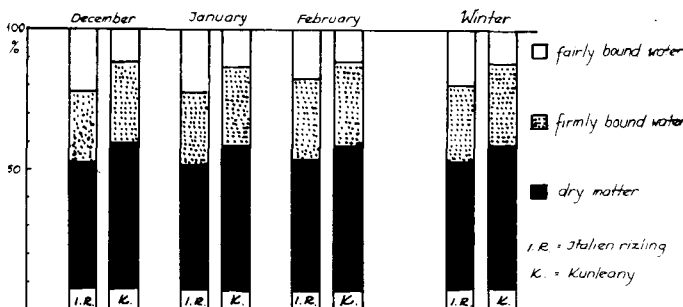
Detailed investigations performed to characterize the degree of winterhardiness were carried out in the variety Kunleány. Its shoots compared to Italian Riesling seemed to have a considerably higher dry matter content and smaller loosely bound water content during winter (Graph 1). The degree of water binding increased markedly in the variety Kunleány, too (Graph 2). These tests were conducted in phloem and xylem tissues of the canes. It unequivocally verifies that the resistance of the variety Kunleány is markedly superior in winterhardiness.



Graph. 1 - Cane dry matter and water content during the winter. (Averages for 2 winters and 4 suck powers of 44, 70, 105, 159 bars).

Tab. 1 - Potential fertility of buds and shoots (Sremski Karlovci; 1978-1981)

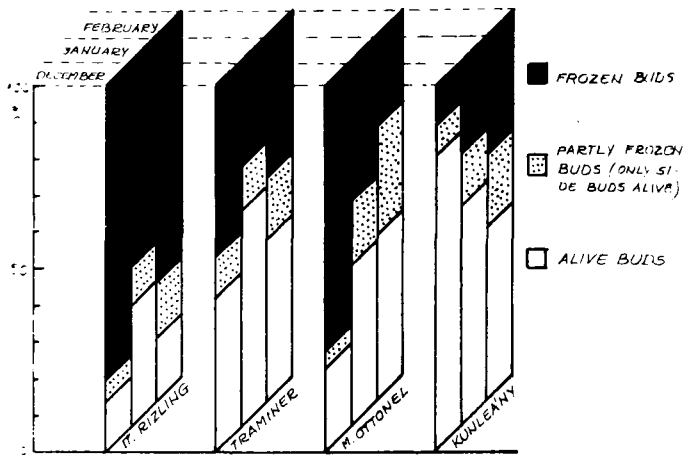
Varieties	Number of inflorescences per		
	Bud	Shoot	Fruiting shoot
Italien rizling	1,66	1,70	1,86
Kunleány	2,25	2,16	2,32
Kunbarát	2,76	2,16	2,24



Graph. 2 - Cane water retaining ability (Averages for 2 winters).

Tab. 2 - Grape yield and quality

Trials	Varieties	Yield Kg/m <sup>2</sup>	Sugar %	Acids g/l	Botrytis %	Vintage date
I Sremski Karlovci (1978-81)	It. Rizling	1,31	15,8	8,8	24	17.x
	Kunleány	1,98	21,3	9,3	2	17.x
	Kunbarat	2,23	22,2	8,5	16	15.x
II Sremski Karlovci (1981-84)	It. Rizling	1,74	16,6	9,1	7	18.x
	Kunleány	1,40	21,6	8,0	0	6.x
	Kunbarát	2,24	22,4	6,7	3	1.x
III Palić (1979-84)	It. Rizling	1,21	18,5	7,4	12	8.x
	Kunleány	1,21	21,2	8,9	0	8.x
	Kunbarat	0,82	22,8	6,5	1	1.x



Graph. 3 - Results of freezing tests (4-year average) (Freezing at  $-21^{\circ}\text{C}$  during 10 hours).

The test of the bud freezing was conducted in a cold chamber at the temperature of  $-21^{\circ}\text{C}$  for 10 hours toward the end of December, January and February, respectively. These results also indicate that the varieties having *V. amurensis* in their parentage essentially differ from *V. vinifera* variety. The results for the variety Kunleány compared to the varieties Italian Riesling, Traminer and M. Ottonel are illustrated in Graph 3. On the whole, the smallest degree of frozen buds seemed to be in the variety Kunleány, followed by Traminer and the highest in Italian Riesling. We wish to call attention to differences among the varieties by individual testing dates. The difference was most pronounced at the beginning of winter when the variety Kunleány manifested the highest cold hardiness and the *Vinifera* variety the smallest. Cold hardiness of the variety Kunleány tended to decrease slightly during winter and it was the smallest toward the end of winter although the level of cold hardiness was still relatively high. The tested *Vinifera* varieties had a different trend of winterhardiness; Traminer and Italian Riesling exhibit the highest cold hardiness in the middle of winter and M. Ottonel toward the end of winter.

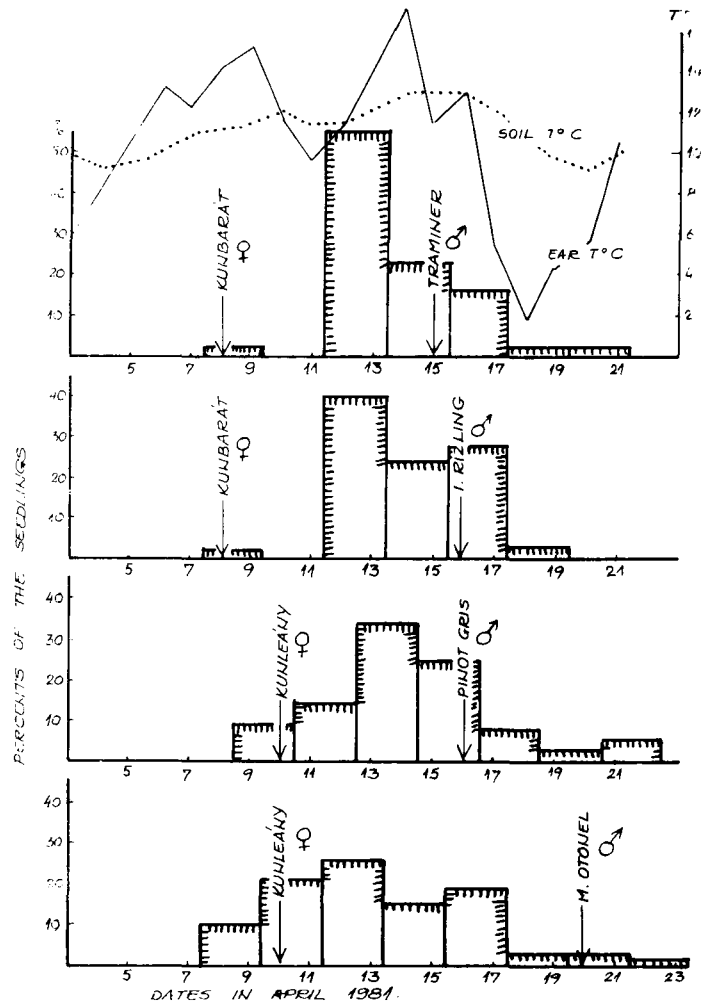
Some other authors (Kondo, 1970; Pogosjan, 1975 and Eifert et al. 1980) indicated a varying level of cold hardiness in the varieties during winter.

According to our findings, majority of other varieties originated from *V. amurensis* show a similar trend in winter-hardiness, being the highest at the beginning of winter and subsequently gradually decreasing. It means that in hybridization the highest level of cold hardiness in these varieties is expected to be at the beginning of winter and the smallest toward the end of winter. It should be remembered in the choice of the other parent for hybridisation to have a different trend of winterhardiness, first of all, to be high toward the end of winter, such as Muscat Ottonel.

This trend of winterhardiness in the variety Kunleány seems to be inherited from *V. amurensis* which vegetation begins at considerably lower temperatures compared to the *vinifera* varieties (Golodriga, Sujatov, 1981). Both varieties relative to Italian Riesling have 7 — 12 days earlier bud burst (Cindrić et al. 1983). This character, however, is not desirable because of an increased risk of late spring frosts.

The next step in backcrossing of the varieties Kunleány and Kunbarát with *vinifera* varieties has shown that there is intermediary inheritance of bud burst in spring but a small percentage of seedlings (2-5%) has bursted somewhat later than the *vinifera* parents (Graph 4). It has, however, prompted the question pertaining to cold hardiness of offspring with a late bud burst, i.e. to what level winterhardiness is related to bud burst in spring.

We have tried to answer this question by calculating the correlation between these two characters in 58 elite offspring of the



Graph. 4 - Bud burst of the seedlings.

second backcrossing with *V. vinifera* varieties. The studies were conducted during the three-year period so that freezing of the cuttings was carried out at  $-21^{\circ}\text{C}$ , three times during winter (toward the end of December, January and February, respectively) and the degree of bud freezing was correlated with the date of bud burst in spring of the following year. The results showed the correlation only at the beginning of winter, not pronounced but significant one (Tab. 3).

It means that genotypes which express higher cold hardiness at the beginning of winter have an earlier bud burst in spring. It may be called «amurensis type of variety». Subsequently during winter these two characters do not manifest significant interdependency suggesting that later bud burst in spring may be combined with high and low cold hardiness in the middle and toward the end of winter. If it holds true, there is chance to choose that what is desirable.

Tab. 3 - Correlation between percentage of frozen buds and bud burst

Time of freezing	Correlation coefficient (r)	Significancy
end of december	0,29	+
end of january	-0,01	-
end of february	-0,07	-
averages	0,09	-

## Results

Of 40 backcrossed varieties originated from *V. amurensis* with *V. vinifera* varieties, 4.000 seedlings were produced in the past ten years. They underwent the first and second grade selection. The results of the second grade selection for several prospective selections are presented. Italian Riesling for the varieties of flat types of wine and Traminer for the varieties of aromatic wines are us-

ed as the controls. Their most important biological and agronomic characteristics are briefly presented. Detailed results of the studies are presented in tables 4, 5 and 6 and Graphs 5, 6, 7 and 8.

SK 76-3/3 (Irsai Oliver x Kunleány). — It is characterized by early grape ripening, high yield, wine quality at the level of Italian Riesling, high cold hardiness at the beginning and in the middle of winter. Early spring bud burst and fertile side buds.

SK 76-1/4 (Kunleány x Traminer). — It has a moderate vigour,

Tab. 4 - Neutral flavor wine varieties

Varieties	Year	Vintage date	Yield Kg/m <sup>2</sup>	Sugar %	Acids 9/L	Cluster 9	Botrytis %	Wine quality
Italian Rizling (standard)	1981	19.X	0,31	17,5	8,6	64	1	
	1982	13.X	1,23	18,8	6,9	142	1	18,3
	1983	30.IX	1,67	18,3	6,1	152	7	17,8
	1984	24.X	2,64	13,5	8,7	165	10	17,5
Sk 76-3/3 (Irsai O. x Kunleány)	1981	15.IX	0,97	21,6	8,0	208	2	
	1982	26.IX	1,57	20,1	7,4	183	2	18,0
	1983	15.IX	2,19	18,7	7,0	242	1	17,9
Sk 76-1/4 (Kunleány x Traminer)	1984	1.X	2,40	17,2	8,2	248	1	17,5
	1981	24.IX	0,44	21,8	8,1	162	0	
	1982	30.IX	1,67	19,1	11,1	170	0	17,6
Sk 77-12/6 (Kunleány x Pinot gris)	1983	7.X	2,72	21,2	8,2	156	2	17,9
	1984	23.X	3,18	16,1	11,0	182	1	17,4
	1981	10.IX	0,34	21,2	11,3	85	0	
Sk 77-10/69 (It. Rizling x Kunbarát)	1982	22.IX	1,64	22,0	11,0	104	0	18,1
	1983	7.X	1,80	23,5	9,3	136	1	18,3
	1984	17.X	2,54	20,9	10,2	141	0	18,3
Sk 77-10/54 (It. Rizling x Runbarat)	1981	28.IX	0,38	23,6	8,3	110	5	
	1982	12.X	2,56	20,2	7,2	203	2	18,3
	1983	8.X	2,28	22,7	7,4	198	4	18,2
Sk 77-10/54 (It. Rizling x Runbarat)	1984	1.X	1,99	21,1	10,5	164	1	18,1
	1981	6.X	1,47	19,6	8,3	159	3	
	1982	18.X	2,78	15,6	6,4	228	1	17,8
Sk 77-10/54 (It. Rizling x Runbarat)	1983	12.X	3,12	17,8	6,4	217	1	17,9
	1984	24.X	3,59	14,7	8,4	237	1	17,2

Locality: Sremski Karlovci  
 Number of vines: 36 (3x12)  
 Vine spacing: 3x1 m  
 Bud load: 6 buds/m<sup>2</sup>

Tab. 5 - Aromatic flavor wine varieties

Varieties	Year	Vintage date	Yield Kg/m <sup>2</sup>	Sugar %	Acids g/l	Cluster g	Botrytis %	Wine quality
Traminer (standard)	1982	28.IX	1,09	21,4	7,6	129	2	18,7
	1983	15.IX	1,68	18,8	7,1	133	5	18,3
	1984	4.X	1,62	21,7	8,8	117	0	18,2
(Sk 77-14/17) (Kunleány x M. Ottone)	1982	25.IX	1,00	21,4	9,5	125	0	17,9
	1983	28.IX	1,34	22,3	7,4	152	0	19,0
	1984	8.X	1,19	21,0	9,8	80	0	17,7
Sk 77-5/3 (6Kunbarat x Pinot noir)	1982	25.IX	1,47	21,0	8,4	178	1	18,4
	1983	22.IX	2,05	23,9	6,6	193	3	18,5
	1984	8.X	2,07	19,1	8,1	125	0	17,7
Sk 77-4/5 (Kurbarát x Traminer)	1982	19.X	1,40	19,4	8,9	167	1	18,4
	1983	11.X	2,16	20,4	7,8	207	10	18,0
	1984	26.X	2,25	17,5	10,6	166	0	17,8
Sk 77-11/87 (Kunleány x Traminer)	1982	14.X	1,60	19,1	5,9	130	2	18,4
	1983	27.IX	1,68	22,8	8,6	104	5	17,7
	1984	24.X	2,83	19,1	10,1	270	5	17,9

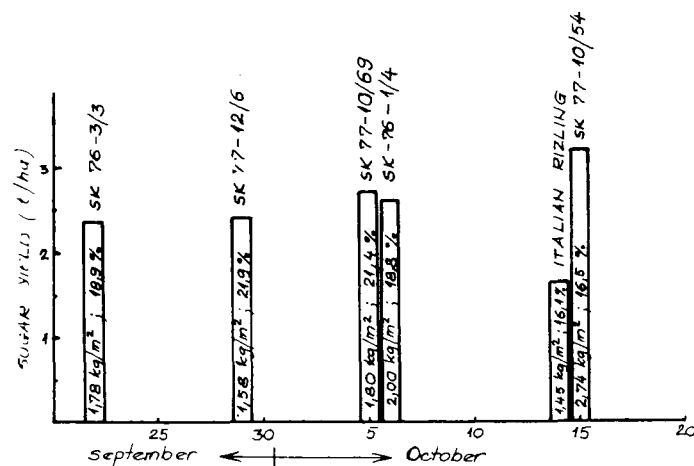
Locality: Sremski Karlovci  
 Number of vines: 6  
 Vine spacing: 3x1 m  
 Bud load: 6 buds/m<sup>2</sup>



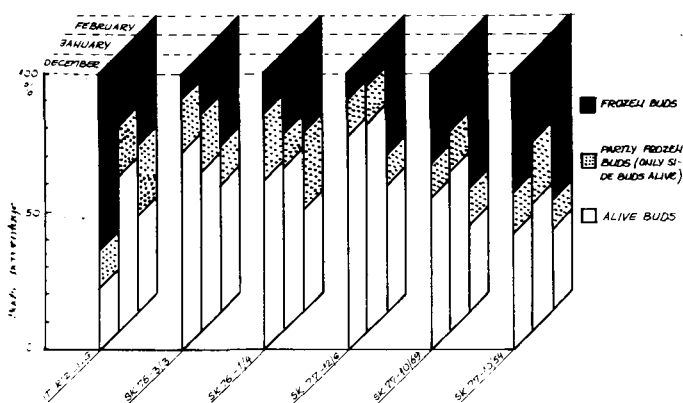
**Tab. 6 - Time of bud burst and fruitfulness of the side buds**

Variety type	Varieties	Average bud burst	Fruitfulness of the side buds
Neutral flavor wine varieties (1981-84)	It. Rizling	23.IV	++
	Sk 76-3/3	19.IV	++
	Sk 76-1/4	18.IV	++
	Sk 77-12/6	17.IV	++
	Sk 77-10/69	16.IV	++
	Sk 77-10/54	21.IV	+++
Aromatic flavor wine varieties (1982-84)	Traminer	21.IV	+
	Sk 77-14/17	22.IV	+
	Sk 77-5/3	18.IV	++
	Sk 77-4/5	17.IV	++
	Sk 77-11/87	17.IV	+++

Locality: Sremski Karlovci



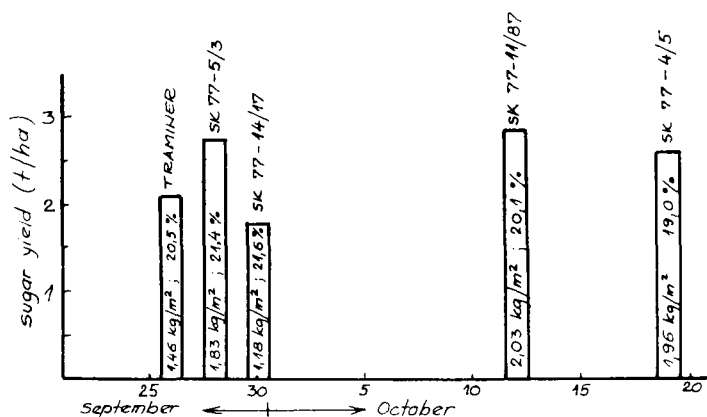
**Graph. 5 - Sugar yield according to harvest time (Averages for 1981-84).**



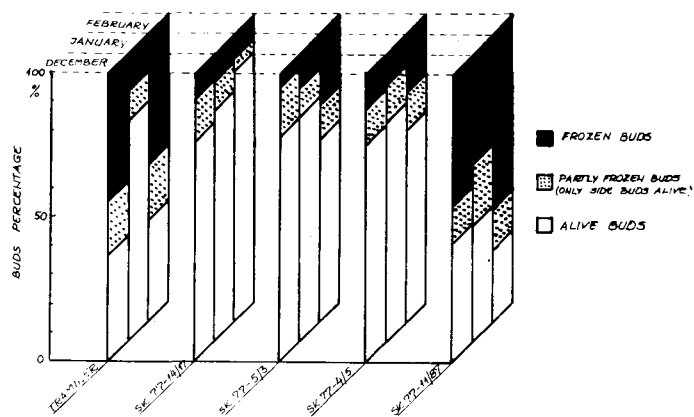
**Graph. 6 - Results of freezing test (Averages for the winters 81/82, 82/83, 84/85) (Freezing at -21°C during 10 hours)**

high yield; it ripens a week earlier than Italian Riesling. High acid level in juice must. Wine is slightly less superior to the control. High winterhardness and resistance to Botrytis. Early bud burst in spring and fertile side buds.

SK 77-12/6 (Kunleány x Pinot gris). — Vigorous growth of grapevine, straight shoots growth. Yield is moderate, very good sugar accumulation and high acidity. It ripens two weeks prior to Italian Riesling. High resistant to Botrytis and cold hardiness, particularly at the beginning and in the middle of winter. It has



**Graph. 7 - Sugar yield according to harvest time (Averages for 1982-84)**



**Graph. 8 - Results of freezing tests (Averages for the winters 82/83, 83/84, 84/85) (Freezing at -21°C during 10 hours)**

early bud burst and fertile side buds. Superior in wine quality to the control.

SK 77-10/69 (Italian Riesling x Kunbarát). — It develops strong grapevine. Early bud burst in spring, fertile side buds. High productivity. Compared to Italian Riesling it has for a week earlier ripening. High sugar content and acidity. It regularly produces high quality wine. By winterhardness and resistance to Botrytis it is similar to the control, except that SK 77-10/69 is slightly superior in winterhardness at the beginning and Italian Riesling toward the end of winter.

SK 77-10/54 (Italian Riesling x Kunbarát). — Very robust variety of extremely high potential fertility. Late ripening. It is slightly less superior in wine quality to the control. It also has slightly reduced cold hardiness, especially toward the end of winter.

SK 77-14/17 (Kunleány x M. Ottonel). — Early ripening, relatively poor productivity, extremely high cold hardiness throughout winter. In addition, it has late bud burst. It produces high quality wine with mild flavour.

SK 77-5/3 (Kunbarát x Pinot noir). — Vigorous growth, high productivity, early ripening with very good sugar accumulation. High cold hardiness, especially at the beginning and in the middle of winter. It has mild and fine aroma.

SK 77-4/5 (Kunbarát x Traminer). — High productivity and late ripening. It is characterized by high winterhardness. Wine is extremely flavoured and harmonious.

SK 77-11/87 (Kunleány x Traminer). — The variety of high potential fertility, produces mild aromatic wine. It has relatively low cold hardiness.

**Conclusion**

On the basis of the studies of a number of the varieties form-

ed by interspecies hybridisation aimed at creating white wine varieties, two Hungarian varieties have been chosen as the most interesting ones: Kunleány and Kunbarát. These cultivars were created by I. Tamásy and I. Koleda having *V. amurensis* in their parentage. In addition to high productivity, these varieties have high sugar contents, produce good quality wines and have very high cold hardiness.

Detailed cold hardiness tests have shown that these varieties manifest particularly high cold hardiness at the beginning of winter and subsequently during winter it gradually decreases.

The varieties having *V. amurensis* in their parentage parallelly with high winterhardiness have early bud burst in spring. The assessment of the relationship between these two characters in the offspring of the backcross second (BC<sub>2</sub>) with *V. vinifera* indicates that only partially the dependency exists. Namely, the genotypes manifesting high cold hardiness at the beginning of winter usually have earlier bud burst in spring, while the degree of cold hardiness in the middle and toward the end of winter does not correlate with the bud burst dates in spring.

In addition to cold hardiness, the other characters of *V. amurensis* Rupr. are important for grapevine breeding. Of particular interest are: short vegetation, good sugar accumulation, high productivity, flat aroma and high level of tolerance to some fungus diseases, as well as resistance to *Agrobacterium tumefaciens* (Szegedi et al. 1984).

For further crossing of the varieties having *V. amurensis* in their parentage, the other parent primarily should possess the following characters

- high cold hardiness toward the end of winter,
- late bud burst in spring, and
- fertile side buds.

#### LITERATURE CITED

1. Becker H. - (1980) *Results of interspecific hybridization with Vitis*

- amurensis and Vitis vinifera*. In Geisenheim Third intern. symp. fo grape breeding. Davis.
2. Cindrić P. (1980) - *Breeding of interspecific grapevine varieties*. Proc. of the Third International Symposium on grape breeding, Davis.
3. Cindrić P., N. Vukmirović, A. Varga, I. Keresi (1982) - *Ispitivanje introdukovanih i novostvorenih sorti vinove loze u rejonu Suboticko-horgoske pescare*. Jugoslovensko vinogradarstvo i vinarstvo, 1-2, 12-16.
4. Cindrić P., Lj. Jazić, N. Ruzić (1983) - *Ispitivanje vrednosti nekih novijih intespecies sorti vinove loze*. Vinogradarstvo i vinarstvo, broj 37-38, 55-67.
5. Cindrić P. (1984) - *Otpornost vinove loze prema niskim temperaturama*. Fiziologija vinove loze. SANU, Beograd. 147-174.
6. Csepregi P., Zilai J. (1976) - *Szőlőfajták* pp. 277.
7. Csepregi P., Zilai J. (1980) - *88 szines oldal a szőlőfajtakrol*. Mezőgazdasági kiado, Budapest.
8. Csepregi P., Zilai J. (1982) - *Szölőtermesztes III, Fajtaismeret es fajtahaszalat*, Budapest.
9. Eifert Jozsefne, Nagy Gezane, Misik, S. - *Különböző szőlőfajták téltűrésenek jellemzése klimakamras teszteles, ATP-az enzimaktivitas változas es vízstruktura-vizsgalat alapján*. Szőlőtermesztes, 1, 5-11.
10. Golodriga P.J., I.A. Sujatinov - *Vitis amurensis, habitat, aptitudes, culturales et technologiques, variabilite de l'espce. 61<sup>a</sup> Assemblee Generale de l'O.I.V. Vienne 1981*. Viticulture 3-18.
11. Koleda I. (1975) - *Ergebnisse von Kreuzungen zwischen Vitis amurensis und Vitis vinifera in der Züchtung frostwiderstandfähiger Reben*. Vitis, 14-1-5.
12. Kondo I.N. (1970) - *Ustoicivost vinogradnogo rastenija k morozam, zasuhe i pocvenomu zasoleniju*. Izd-vo «Kartja Moldovenjaske», Kishinev, pp. 96.
13. Pogosjan S.A., M.V. Melkonjan (1974) - *Heterosis u vinograda po visokosaharistosti*. Selekcija vinograda. Erevan.
14. Pogosjan K.S. (1975) - *Fiziologiceskije osobenosti morozo-ustoicivosti vinogradnogo rastenija*. Izd-vo AN Armjanskoj SSSR, Erevan, pp. 250.
15. Potapenko J.I., I.A. Kostrikin. (1974) - *Mezvidovaja hibridizacija kak metod polucenija morozostojcivih sortov vinograda v srednjoj zone SSSR*. Selekcija vinograda. Erevan.
16. Vasiljcenko I.T. (1963) - *Ivan Vladimirovic Micurin 1855-1935*. Moskva-Lenjingrad.
17. Szegedi E., J. Korbuly I., Koleda (1984) - *Crown gall resistance in East-Asian Vitis species and their V. Vinifera hybrids*. Vitis 23, 21-26.

#### SUMMARY

#### BREEDING GRAPEVINE VARIETIES BASED ON HYBRIDIZATION VITIS VINIFERA X VITIS AMURENSIS

The work was started in 1975. About 4.000 seedlings were obtained among 40 different cross combinations between *V. vinifera* varieties and varieties originated from *V. amurensis*. The results for few best clones selected in F<sub>3</sub> generation are presented. These are perspectives for white wine production.

## BEHAVIOUR AND ADAPTATION OF CERTIFIED GRAPE CULTIVARS UNDER COMARCA LAGUNERA-MEXICO ECOLOGICAL CONDITIONS

A.A. GARDEA - E.E. MADERO - R.G. OBANDO - R. MANCILLA (Mexico)

#### SUMMARY

Commercial viticulture began early in the 20's at «La Comarca Lagunera» with 96 varieties, however most of them have been eliminated because of their lack of adaptation to local ecological conditions. At present, 77 percent of the total harvest is used for brandy production and the rest is consumed as fresh fruit. The entire crop gets into the market in the midseason, consequently a strong competition for available resources is provoked.

A free of known virus diseases Ampelographic Collection was introduced in 1967, searching for well adapted materials, besides of looking for alternatives to identified problems, as well as better marketing opportunities.

After a 16 year evaluation period the phenology of varieties is well known in terms of budburst, bloom, veraison and harvest time, in addition to description of yield components and agronomic responses. For Table use Early Muscat, July Muscat and Cardinal are the promissories varieties for early season harvest. Queen, Malaga and Exotic oustand for midseason and Tokay, Ribier and Italy for the late one.

# THEORIE, PRATIQUE ET TACHES IMMEDIATES POUR L'OBTENTION DE CEPAGES DE VIGNE RESISTANT AUX FACTEURS BIOTIQUES ET ABIOTIQUES

P.Y. GOLODRIGA - V.T. OUSSATOV - L.K. KIRÉEVA - M.A. KOSTIK - Y.A. MALTCHIKOV  
 Institut National de Recherches sur l'Oenologie et la Viticulture «Magaratch» (URSS)

## RESUME

La production agricole en général et la viticulture en particulier subissent d'énormes pertes à cause des maladies, des ravageurs et des conditions défavorables du milieu.

La section de sélection de l'Institut National de Recherches sur la Viticulture et l'Oenologie «Magaratch», en se basant sur les succès de la biologie moderne et les résultats pratiques obtenus par les sélectionneurs-viticulteurs en URSS et à l'étranger, réalise des recherches dans le domaine de l'obtention de nouveaux génotypes, possédant une résistance complexe par rapport aux facteurs biotiques et abiotiques, ainsi qu'une productivité et une qualité élevées, ce qui assurerait la réduction du taux des pesticides dans le milieu. Pour atteindre ce but on emploie l'hybridation interspécifique et intraspécifique, la polyploidie et la mutagenèse induite. L'introduction dans le génome diploïde ou polyploïde des cépages *V. vinifera* L. possédant une qualité et une productivité élevées de gènes et de blocs de gènes qui déterminent la résistance, se fait à l'aide de l'hybridation interspécifique avec l'emploi des ressources génétiques de l'U.R.S.S. et d'autres pays. Il faut préciser, qu'en tant que donneurs de résistance ce ne sont pas les formes sauvages, mais les meilleurs hybrides sélectionnés en France, aux USA, en RFA, en Hongrie et dans d'autres pays qui sont employés. En tant que donneur de l'immunité on emploie l'espèce *V. rotundifolia* Michx., possédant l'immunité par rapport à plusieurs maladies fongiques et au phylloxera, ainsi que des hybrides obtenus à base de cette espèce. Ainsi, plusieurs cépages résistants ont déjà été créés.

Vu l'hétérogénéité de *V. vinifera* L., y compris en ce qui concerne la résistance on réalise le travail d'obtention des cépages tolérants à l'intérieur de cette espèce. Parallèlement à la résolution de questions pratiques on réalise des recherches dans le domaine de la diagnose de la spécificité génotypique des plantes, la génétique de l'immunité, la détermination des donneurs de gènes de résistance et de leur aptitude combinatrice.

## INFLUENCE OF SOLUBLE IRON AND CONCENTRATION OF HCO<sub>3</sub> IN NUTRITIVE SOLUTION ON GROWTH AND OCCURANCE OF CHLOROSIS IN ROOTED CUTTINGS OF DIFFERENT VINE CULTIVARS.

G. MAYER

Höhere Bundeslehr- und Versuchsanstalt für Wein- und Obstbau - Klosterneuburg - Österreich (Austria)

Chlorosis is one of the most frequent diseases in viticulture. It is known as a disturb in metabolism caused by many factors especially expressed in unfavourable conditions of soil. Therefore it is hard to control. The economic damage is enormous therefore the scientific literature is very expensive. Mengel observed that in carbonate soil a concentration of HCO<sub>3</sub> occurs in case of accumulation mixture. He could show in cultures of nutrient solution with HCO<sub>3</sub> that chlorosis became existent. For vine breeding it is interesting that in between the different cultivars exist important differences, so that the appearance of chlorosis is not only depended of the rootstock but also of the scion.

Our tests were carried out with rooted cuttings of different cultivars. Aim of this test was to test new cultivars already as Accessions in view of chlorosis resistance.

### Material

As material served rooted cuttings of 9 local varieties as well as seven new cultivars in sand culture.

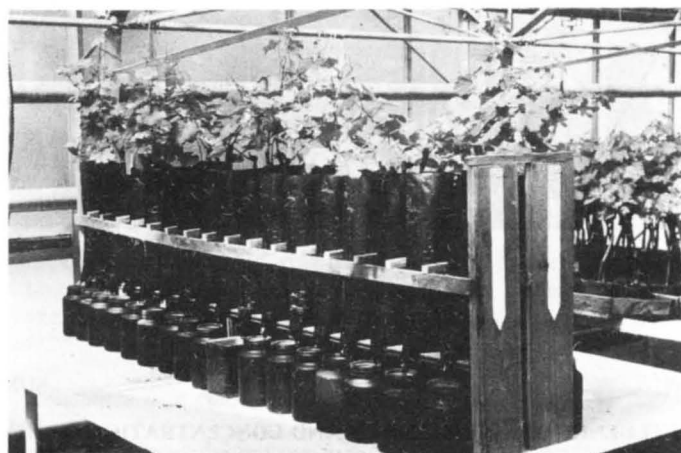


Fig. 1

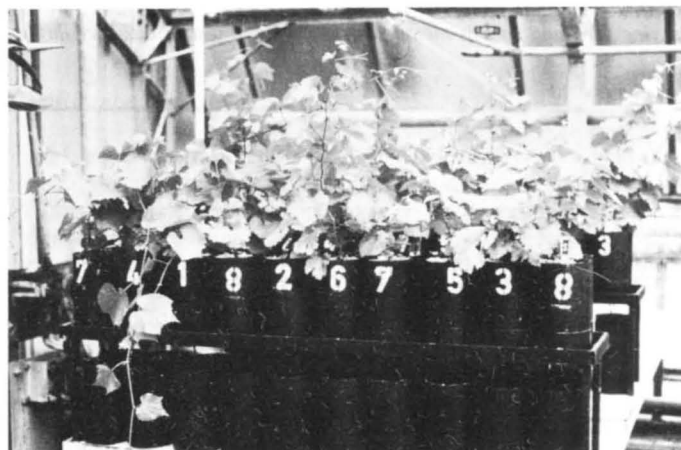


Fig. 2

Tab. 1

Lenght of shoot/cm			% Watercontent of shoot				
Cultivar sol.	1	2	3	Cultivar sol.	1	2	3
Veltliner	178	21,5	7,5	Veltliner	50	60	79
Zweigelt	159	12,5	8,3	Zweigelt	50	71	67
Neuburger	166	70,5	37,5	Neuburger	49,7	51	47
5 BB	222	51,0	12,5	5 BB	49,7	54	75

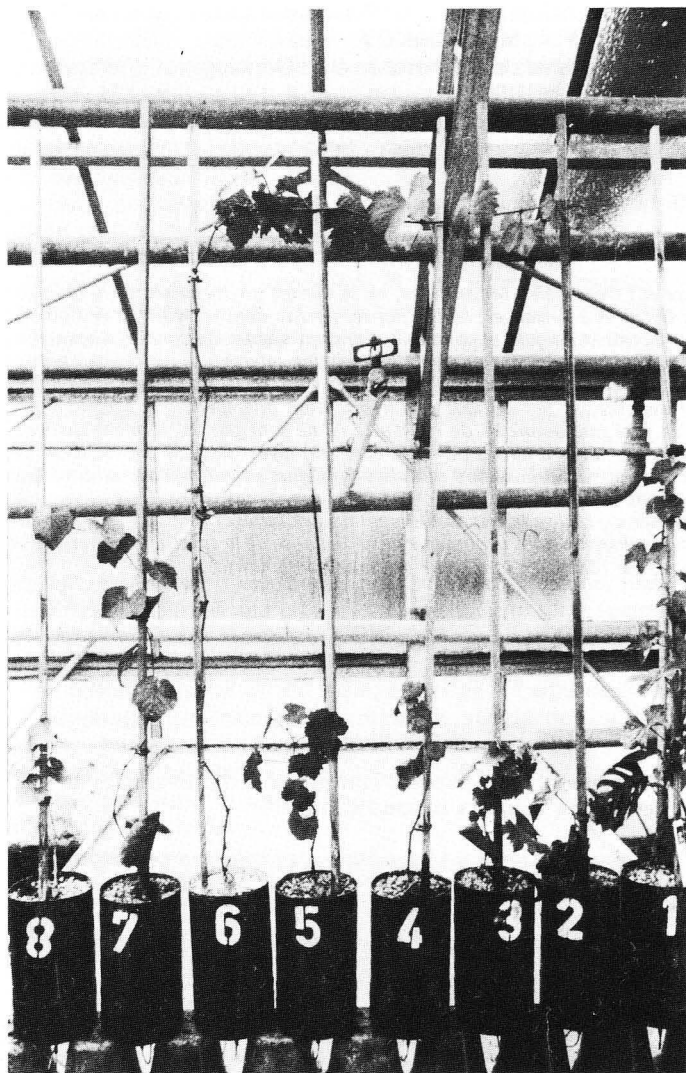


Fig. 3

## Method

- Variation 1: control standard solution
- Variation 2: standard solution +  $\text{CaCO}_3$  in surplus
- Variation 3: standard solution +  $\text{HCO}_3^-$  (4 mMol)
- Variation 4: standard solution + Fe-deficiency

We observed:

- 1.) The growth during the vegetation period
- 2.) Analyses of leaves in view of mineral content carried out by Dr. Barna (Klosterneuburg)
- 3.) Length of shoots, water content, and weight of leaves and roots at the end of the test (autumn)

### ad 1.)

Shortly after the beginning of the test differences in growth in view of the nutritive solution as well as within the variations between the cultivars were observed. In the variation 2 the growth was diminished (Fig. 1) in the variation 3 generally serious chlorosis was observed (Fig. 2). The cultivar Neuburger (Fig. 3 Nr6) was significantly superior to all the other cultivars, even an evident growth in the variation 3 was observed. 5BB showed in the variation 2 (Fig. 3 Nr7) a significant growth but little growth in variation 3. 5BB was superior to all the cultivars, with the exception of Neuburger. The graphic shows the growth of the cultivars Veltliner, Zeigelt, Neuburger, and 5 BB. The variety Blaufränkisch and Pinot blanc reacted similar to Veltliner. Zweigelt, Blaufränkisch are very sensitive to carbonate.

### ad 2)

The analyses of leaves showed increased values of Fe in variation 2 and 3 in relation to 1. No differences in between the cultivars in view of mineral contents (K, P, and Mg) could be observed.

### ad 3)

The analyses at the end of the test showed that the water content of the shoots were distinctly increased in those cultivars which are seriously damaged as Veltliner, Zeigelt, and also 5 BB, but not in the cultivars Neuburger.

These observations coincide with those in vineyards and so this method is suitable as a test in our breeding programme.

## SUMMARY

### INFLUENCE OF SOLUBLE IRON AND CONCENTRATION OF $\text{HCO}_3^-$ IN NUTRITIVE SOLUTION ON GROWTH AND OCCURRENCE OF CHLOROSIS IN ROOTED CUTTINGS OF DIFFERENT VINE CULTIVARS

*Experiments with rooting of various cultivars in sand-nutrient solution were carried out to investigate the influence of  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{HCO}_3^-$  and Fe-deficiency on growth, dry matter and minerals in leaves and chlorosis-symptoms.*

*Concerning the factors growth and dry matter the clearest differences between the cultivars were observed. These observations coincide with those in vine yard and so this method is suitable as a test in our breeding-program.*

## RECHERCHE DE PORTE-GREFFES ADAPTES AUX SOLS ACIDES: UNE NOUVELLE VARIETE, LE GRAVESAC

R. POUGET - M. OTTENWALTER

Station de Recherches di Viticulture Centre de Recherches IN-  
RA de Bordeaux - Pont de la Maye (France)

La gamme des porte-greffes utilisés en France et dans le monde est très étendue et devrait donc en principe être suffisante pour assurer une croissance satisfaisante de la Vigne dans tous les types de sols normaux ou exceptionnels existant dans les vignobles. Or, l'expérience montre qu'il existe des conditions édaphiques très particulières pour lesquelles aucun porte-greffe n'est bien adapté, ce qui a pour effet d'entraîner des symptômes d'ordre physiologique souvent graves (carences, toxicités) préjudiciables à la production et à la qualité. C'est le cas notamment des sols très calcaires induisant la chlorose ferrique et des sols très acides favorisant les toxicités de certains métaux (aluminium, cuivre, manganèse).

La création par la Station de Recherches de Viticulture de Bordeaux, d'un porte-greffe très résistant à la chlorose (Fercal), a apporté récemment une solution permettant la culture de la vigne dans tous les sols calcaires.

Pour les sols très acides ( $\text{pH} < 5$ ), il est conseillé, avant la plantation de la Vigne, de corriger l'excès d'acidité par un apport de matière organique et/ou d'amendements calcaires ou calco-magnésiens qui ont pour effet d'augmenter le pH et de réduire ainsi la toxicité des cations métalliques (Delas et al., 1983). Toutefois, cette opération n'est pas toujours entièrement efficace et la Vigne peut présenter néanmoins quelques symptômes caractéristiques de toxicité préjudiciables à la croissance et à la production. Le porte-greffe intervient alors pour atténuer ou supprimer cette sensibilité aux conditions spécifiques de sol acide.

Nous avons entrepris de rechercher une variété de porte-greffe qui soit mieux adaptée que les variétés classiques aux sols acides ( $5 < \text{pH} < 7$ ). L'adaptation aux conditions de sol acide sous-entend, non seulement une croissance normale et l'absence de symptômes de toxicité, mais encore un fonctionnement harmonieux du métabolisme de la plante conduisant à une production de qualité soit supérieure à celle qui est obtenue avec des porte-greffes traditionnels.

C'est cet objectif que nous avons poursuivi à Bordeaux. Les recherches entreprises depuis 20 ans ont abouti à la création d'un nouveau porte-greffe (Gravesac) bien adapté aux sols acides, dont nous allons maintenant décrire les caractéristiques.

## I - Caractéristiques générales

Une nouvelle variété de porte-greffe doit posséder, au niveau le plus élevé possible, l'ensemble des caractères agronomiques et physiologiques que doit réunir un bon porte-greffe. De plus, elle doit se distinguer des variétés traditionnelles par une nette supériorité pour le critère de sélection qui fait l'objet de la recherche, à savoir l'occurrence l'adaptation aux conditions de sols acides.

Les principes sur lesquels sont basés les critères généraux de sélection des porte-greffes ainsi que la méthodologie générale de la sélection sont exposés par ailleurs (Pouget et Ottenwaelter, 1981, 1983).

### *Origine génétique du Gravesac*

La variété Gravesac provient d'un croisement réalisé en 1962 entre 161-49C (Riparia × Berlandieri) et 3309 C (Riparia × Rupes- tris). C'est donc, au sens viticole, un Riparia × Rupes- tris × Berlandieri.

## II - Caractéristiques du pied-mère

La sélection d'une variété de porte-greffe comporte la prise en compte d'un certain nombre de critères relatifs aux aptitudes culturales du pied-mère. Ce dernier doit être résistant aux parasites du feuillage et très vigoureux.

### *Résistance aux parasites cryptogamiques*

Les feuilles du gravesac sont très résistantes au mildiou, à l'oïdium, à l'anthracnose et n'exigent donc aucun traitement anticryptogamique.

### *Résistance au Phylloxéra gallicole*

Le feuillage du Gravesac peut parfois présenter des galles phylloxériques comme les Riparia × Berlandieri. Mais les atta-

ques sont très modérées et ne nécessitent pas de traitement particulier dans les conditions normales.

### *Vigueur*

Le pied-mère de cette variété est vigoureux et produit des bois longs de diamètre moyen à gros qui portent des entre-cœurs courts et peu nombreux.

Le Gravesac peut être considéré comme un porte-greffe très bon producteur de bois. Il reste à le situer par rapport à des variétés comme le SO4 ou le 5BB.

Les boutures sont très bien aoûtées et le bois, assez dur, se prête parfaitement au greffage à la machine.

## III - Caractéristiques du porte-greffe

### *Aptitude à la rhizogenèse*

La variété gravesac possède une très bonne aptitude à la reprise des boutures en pépinière qui la situe au niveau du Riparia Gloire et des Riparia × Rupes- tris. L'enracinement des greffes-boutures en chambre chaude et en pots se fait également avec un très bon pourcentage de réussite.

### *Aptitude à la callogenèse*

L'aptitude à la formation du cal de soudure en chambre chaude et la reprise au greffage du porte-greffe Gravesac peuvent être considérées comme très bonnes. Cette variété se classe au même niveau que les meilleures pour ce caractère.

L'affinité avec les principaux cépages est très bonne: aucun cas d'incompatibilité n'a été observé jusqu'à présent. Il reste évidemment à développer l'expérimentation en greffant le plus grand nombre possible de cépages sur ce porte-greffe.

### *Résistance au Phylloxéra radicole*

Les tests réalisés in vitro et en pots ont montré que la résistance au Phylloxéra radicole du porte-greffe gravesac est très élevée, comme celle des variétés traditionnelles.

### *Résistance à la chlorose*

La résistance du gravesac à la chlorose calcaire ou ferrique n'est pas très élevée comme l'ont montré les tests de comportement sur des sols très chlorosants. Elle est du niveau de celle du SO4. Il faut donc éviter de planter ce porte-greffe dans les sols calcaires dont la valeur de l'IPC dépasse 20.

### *Résistance à l'humidité*

L'expérimentation conduite sur des sols de graves de la région de Bordeaux, caractérisés par la présence de zones humides en hiver et au printemps, a permis de mettre en évidence que le porte-greffe Gravesac tolère assez bien ces conditions particulières. Mais il faut encore poursuivre les observations dans un plus grand nombre de parcelles analogues pour situer avec précision cette variété par rapport aux porte-greffes traditionnels.

### *Adaptation aux sols acides*

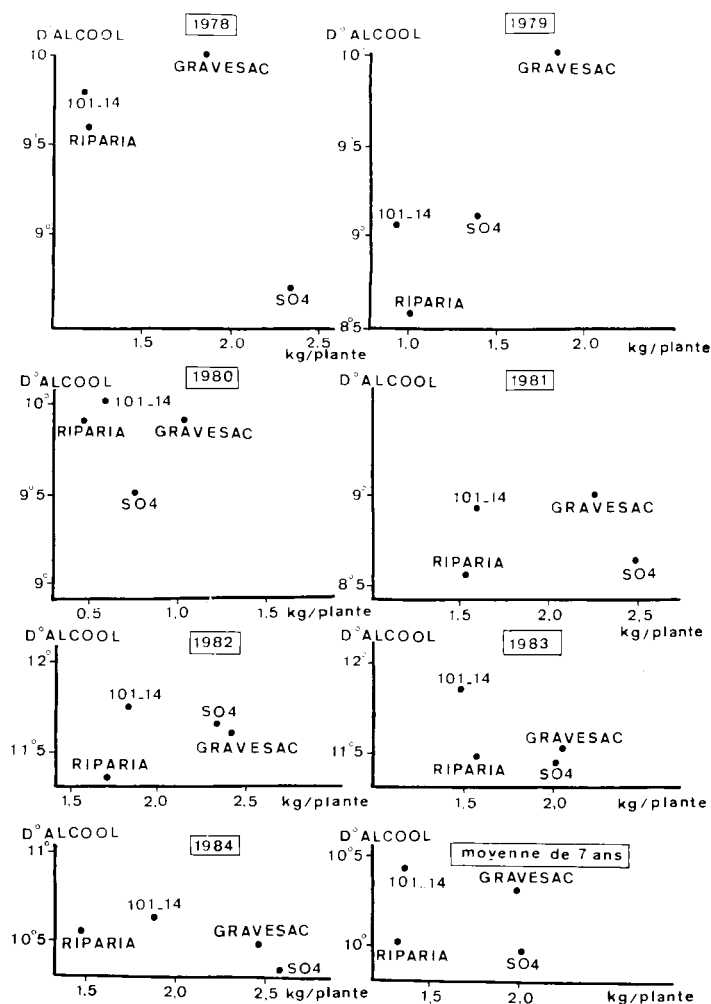
La variété Gravesac a été mise en expérimentation dans un sol de graves du vignoble de Bordeaux (Domaine INRA de Couhins)

**Tab. 1 - Poids de Récolte (kg/souche) Moyennes et intervalles de confiance au seuil P = 0,05 (50 souches par porte-greffe) Cépage Cabernet-Sauvignon - 1,80 × 1,10 - Culture traditionnelle - 7 années de récolte - Essai de Couhins**

Porte-greffes	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	Moyenne de 7 ans
Riparia	1,210	1,469 ± 0,357	0,508 ± 0,202	1,521 ± 0,358	1,715 ± 0,380	1,593 ± 0,359	1,465 ± 0,273	1,354
101-14	1,180	1,145 ± 0,268	0,534 ± 0,130	1,581 ± 0,308	1,812 ± 0,317	1,504 ± 0,263	1,886 ± 0,302	1,377
SO4	2,350	1,686 ± 0,303	0,755 ± 0,202	2,477 ± 0,411	2,336 ± 0,385	2,028 ± 0,319	2,593 ± 0,339	2,032
Gravesac	1,880	2,059 ± 0,373	0,966 ± 0,208	2,243 ± 0,527	2,404 ± 0,403	2,064 ± 0,314	2,458 ± 0,407	2,010

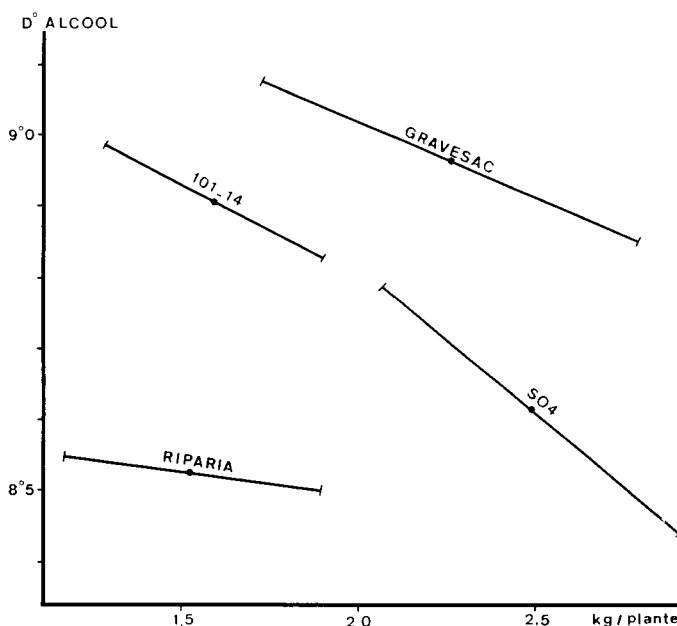
**Tab. 2 - Degré alcoolique probable - Moyennes et intervalles de confiance au seuil P = 0,05 (50 souches par porte-greffe) Cépage Cabernet-Sauvignon - 1,80 × 1,10 - Culture traditionnelle - 7 années de récolte - Essai de Couhins**

Porte-greffes	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	Moyenne pondérée de 7 ans
Riparia	9°60	8°55	9°90	8°53 ± 0,26	11°35 ± 0,16	11°49 ± 0,21	10°56 ± 0,13	10°05
101-14	9°80	9°05	10°00	8°91 ± 0,21	11°75 ± 0,11	11°86 ± 0,23	10°62 ± 0,12	10°42
SO4	8°70	9°10	9°50	8°62 ± 0,22	11°63 ± 0,12	11°47 ± 0,19	10°37 ± 0,18	9°95
Gravesac	10°00	9°35	9°90	8°98 ± 0,19	11°60 ± 0,10	11°53 ± 0,13	10°49 ± 0,15	10°32



en comparaison avec les porte-greffes traditionnels: Riparia Gloire, 101-14, SO4. Cet essai, greffé avec un clone de Cabernet-Sauvignon et constitué de 10 répétitions de 5 souches par porte-greffe, a été planté en 1973 et récolté souche par souche pendant 7 ans, de 1978 à 1984. Les résultats figurent sur les tableaux 1, 2 et 3 et les figures 1 et 2.

Dans ce sol sablo-graveleux, à pH nettement acide (5,5), le porte-greffe Gravesac a un excellent comportement. Il confère au



**Fig. 2 - Relations linéaires entre le teneur en alcool probable et la production par plante. Les droites de régression calculées sont tracées dans l'intervalle de confiance (P = 0,05) de la moyenne de la production (50 souches par porte-greffe). Essai de Couhins - Cépage Cabernet-Sauvignon - Récolte 1981.**

Riparia:  $Y = 8,61 - 0,05 X$   
 101-14:  $Y = 9,34 - 0,27 X$   
 SO4:  $Y = 9,64 - 0,41 X$   
 Gravesac:  $Y = 9,43 - 0,20 X$

**Fig. 1 - Variation annuelle de la teneur en alcool probable en fonction du poids de récolte par plante, pour chaque variété de porte-greffes (moyenne de 50 souches par variété) - 7 années de production (1978 à 1984) - Essai de Couhins - Cépage Cabernet-Sauvignon.**

Tab. 3 - Composition des vins - Cépage Cabernet-Sauvignon - Essai de Couhins

Porte-Greffes	Poids de récolte (kg/souche)	Degré alcoolique probable du moût	Degré alcoolique du vin (chaptalisation: 2°)	Intensité colorante	pH	Acidité totale (g. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /l)	Note de dégustation sur 20 moyenne de 10 dégustateurs	Poids de vendange vinifié (kg)
1979								
Riparia	1,277	8°55	10°60	1,33	3,26	4,12	11,30	50
SO4	1,516	9°10	10°95	1,15	3,37	3,92	11,65	—
101-14	1,132	9°05	11°45	1,25	3,39	3,76	11,35	—
Gravesac	1,955	9°35	11°65	1,11	3,45	3,46	13,05	—
1980								
Riparia	0,704	9°90	12°65	0,38	3,79	2,86		50
SO4	0,898	9°50	11°90	0,42	3,75	2,90		—
101-14	0,691	10°00	12°30	0,71	3,96	2,67		—
Gravesac	1,018	9°90	11°65	0,75	3,90	2,76		—
1981								
Riparia	1,170	9°40	—	1,00	3,56	3,40		10
SO4	2,100	8°90	—	1,09	3,42	3,60		—
101-14	1,600	9°05	—	0,99	3,59	3,50		—
Gravesac	2,300	9°35	—	1,07	3,61	3,20		—

greffon une vigueur moyenne; sa production est régulière et, à rendement égal, la teneur en alcool et la qualité du vin produit sont plus élevées que pour les autres porte-greffes. Par ailleurs, aucun symptôme de toxicité ou de carence en magnésium n'a été observé sur le feuillage. La variété Gravesac paraît donc mieux adaptée que les porte-greffes classiques (101-14, Riparia-Gloire, SO4) dans ce type de sol. L'expérimentation va être poursuivie encore pendant plusieurs années.

### Conclusion

La variété Gravesac est donc très intéressante pour la production de vins de qualité dans les sols acides sableux et sablo-graveleux. Des essais de comportement ont été mis en place dans des sols riches en limon ou en argile et dans des sols très acides qui sont moins aptes que les précédents à la production de vins de bonne qualité.

Bien que le comportement de la variété Gravesac dans tous les types de sols et tous les milieux où elle est établie en expérimentation ne soit pas encore entièrement connu, les très bonnes aptitudes culturales qu'elle a montrées dans les sols de graves de la région

de Bordeaux justifie que ce nouveau porte-greffe soit proposé à l'homologation, en vue de remplacer les variétés moins bien adaptées.

La variété Gravesac fait donc l'objet d'une demande de classement dans la liste de porte-greffes recommandés en France. Parallèlement, la mise en place de la prémultipliation à partir de matériel végétal testé vis à vis des principales viroses a été entreprise de manière à ce que la multiplication puisse être accélérée dès l'homologation officielle de la variété. Toutefois, ce n'est pas avant plusieurs années que ce nouveau porte-greffe pourra être mis à la disposition des viticulteurs pour l'établissement de vignobles.

### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Delas J., Molot C., Soyer J.P., (1983) - Apport de matières fertilisantes avant plantation de Vigne. Résultats d'un essai en sol de Graves du Bordelais. *Connaissance Vigne et Vin*, 17 (1), 31-42.
- Pouget R., Ottenwaelter M., (1981) - Recherches de nouvelles variétés de porte-greffes de vigne. In *Actualités oenologiques et viticoles*, Dunod, Paris, 397 p.
- Pouget R., Ottenwaelter M., (1983) - Fercal: nouvelle variété de porte-greffe résistante à la chlorose calcaire. *Prog. Agr. et Vit.*, 8, 220-225.

### RESUME

#### UN NOUVEAU PORTE-GREFFE POUR LES SOLS ACIDES: GRAVESAC

*Une nouvelle variété de porte-greffe (Gravesac), bien adaptée aux sols acides sableux et sablo-graveleux, a été obtenue par la Station de Recherches de Viticulture INRA de Bordeaux. Elle se caractérise par une vigueur conférée moyenne et une production régulière. A rendement égal, la teneur en alcool et la qualité du vin produit sont plus élevées que pour les autres porte-greffes.*

*Le Gravesac possède une très bonne aptitude à l'enracinement et à la reprise au greffage. Sa résistance au Phylloxéra radicole est très élevée, le pied-mère est très vigoureux et présente un excellent comportement vis à vis des parasites cryptogamiques du feuillage.*

*Ce nouveau porte-greffe, expérimenté depuis plus de 10 ans, est actuellement en instance d'homologation officielle en France. L'étude de son comportement dans plusieurs régions viticoles à sol acide est poursuivie avec la plupart des cépages cultivés.*

---

## RESISTANCES GENETIQUES BIOTIQUES

### BIOTIC GENETIC RESISTANCE

### RESISTENZE GENETICHE BIOTICHE

---

#### Ressources génétiques / Genetic resources / Risorse genetiche

#### LE FONDS INFECTIEUX COMPLEXE: METHODE EFFECTIVE D'APPRECIATION DU DEGRE DE RESISTANCE DU FONDS GENETIQUE DE LA VIGNE AUX MALADIES CRYPTOGAMIQUES ET A LA PHYLLOXERA

V.T. OUSSATOV - Y.A. MALTCHIKOV

Institut National de Recherches sur l'Oenologie et la Viticulture  
«Magaratch» (URSS)

#### RESUME

*L'obtention d'un nouveau cépage de vigne - plante hétérozygote pérenne, exige des dizaines d'années de travail, d'où la nécessité impérieuse du perfectionnement des méthodes du processus de sélection.*

*La pollution de l'environnement qui est le résultat de l'emploi de longue durée des produits chimiques pour la protection des vignobles contre les maladies cryptogamiques, les défauts inhérents à la culture greffée, exigent la résolution du problème principal, celui de l'obtention de cépages polyrésistants possédant une bonne qualité du produit et une productivité élevée.*

*L'étude des données de la littérature et le matériel expérimental obtenu témoignent que la résistance au phylloxéra, à la microflore pathogène, au mildiou et à la pourriture grise est un héritage du passé, ce qui permet d'effectuer l'appréciation du matériel de sélection d'après ces indices sur le fonds d'infection complexe, avec la charge spécialement dosée d'infection par ces pathogènes.*

*L'emploi du fonds d'infection complexe dans le schéma général du processus d'immuno-sélection permet de résoudre plusieurs problèmes pratiques et théoriques:*

- 1) apprécier le fonds hybride d'après la résistance aux maladies cryptogamiques et au phylloxéra;
- 2) apprécier la qualité de la récolte des formes hybrides sélectionnées en raison de leur résistance;
- 3) continuer le travail d'immuno-sélection;
- 4) utiliser les ceps perspectifs pour la multiplication rapide;
- 5) employer les méthodes rapides déjà existantes et en élaborer de nouvelles pour l'évaluation génotypique de la spécificité de la vigne;
- 6) étudier les régularités de l'héritage de la résistance aux pathogènes;

*L'emploi du fonds d'infection complexe a permis d'apprécier à la première étape environ 10 milles formes hybrides et de sélectionner 40 formes perspectives qui réunissent la résistance et la haute qualité de la récolte, 8 d'entre elles sont remises à «Gossortosets» (Commission d'Etat qui s'occupe de l'étude des cépages) pour les essais de concours.*

---

#### RESSOURCES GENETIQUES POUR LA CREATION DES VARIETES DE VIGNE RESISTANTES ET LES RESULTATS OBTENUS EN BULGARIE

V. VALTCHEV

Institut de Viticulture et d'Oenologie - Pleven - (Bulgarie)

Chez toutes les plantes cultivées, la création de variétés résistantes aux conditions défavorables du milieu, aux maladies et aux

ennemis parasites les plus importants, est devenue l'objectif principal du travail de sélection dans plusieurs pays.

L'introduction de ces variétés dans la production, conditionne l'obtention des rendements hauts et stables, l'abaissement brusque des dépenses matérielles, énergétiques et de travail et non pas en dernier lieu, la défense du milieu ambiant de la pollution.

La création des variétés de vigne résistantes aux basses températures hivernales, au phylloxéra et aux maladies les plus importantes, créera des possibilités pour un élargissement régional de la culture de la vigne, pour l'utilisation des nouvelles méthodes de multiplication et des nouvelles technologies industrielles et intensives pour la culture de la vigne.

C'est à cause de cela, que la création des variétés de cuve et de table de haute qualité, ayant une résistance complexe, est un processus continu et difficile, la résolution simultanée de tous les



problèmes n'est pas possible. Ces derniers, on les exécute par étapes, en fonction de la possibilité pratique de leur réalisation.

Les premières expériences pour la création des variétés de vigne résistantes, par hybridation, ont été réalisées en Bulgarie en 1930, dans La Station viticole d'expérimentation à Pleven. Plus tard, pendant la période 1944-1959 de nouveaux croisements ont été réalisés par des différents sélectionneurs. A cause du nombre limité des donneurs de résistance, du petit volume et du caractère amareur du travail, on n'arrive pas aux résultats pratiques.

Dès l'année 1963, à L'Institut de viticulture et d'oenologie à Pleven, on réalise un travail intensif pour la création par hybridation, des variétés de vigne résistantes aux basses températures hivernales, aux maladies et au phylloxéra. A la base du fonds hybride crée, on a fait une analyse. L'établissement de certaines tendances et régularités dans le caractère et le degré de la transmission héréditaire de toute une série de qualités biologiques et économiques, représente une condition importante pour la réalisation d'un travail plus systématique et effectif de sélection. En tant que formes de base — donneurs de raisin d'une haute qualité, on a utilisé des variétés aborigènes: — Mavroud, Pamid, Gamza, Misket tcherven, Dimiat, Tchauch etc., certaines variétés introduites — Cabernet Sauvignon, Merlot, Pinot noir, Riesling, Kkatziteli, Bolgar, Misket de Habmourg, Kardinal etc. et un grand nombre de nouvelles variétés, et d'hybrides — Bouket, Pleven, Super Ran Bolgar etc.

En fonction des formes de base — donneurs de résistance (aux basses températures hivernales, aux maladies et au phylloxéra) et utilisées pour l'hybridation, les croisements, qui sont réalisés à l'Institut sont répartis en 4 groupes principaux (Schéma 1).

Le premier groupe — ce sont des croisements entre les variétés et les hybrides de *Vitis Vinifera* (VV) et *Vitis Amourensensis* (VA):

- VV x VA
- (VV x VA) x VV
- VV x (VV x VA)
- [VV x (VV x VA)] x VV
- VV x [VV x (VV x VA)]

A partir de ces combinaisons, on a fait le triage des formes d'hybrides perspectives, porteurs des qualités de valeur économique: — une haute résistance au froid, une résistance augmentée au mildiou, une précocité de mûrissement, la haute fertilisation

et une bonne qualité du raisin et du vin. Les mêmes qualités, représentent un fonds génétique de valeur et sont utilisées dans le travail de sélection ultérieur.

Certains côtés négatifs sont caractéristiques pour la partie prépondérante des hybrides obtenus de ce groupe de croisements: une précocité de débourrement, une résistance insatisfaisante à l'oidium et à la pourriture grise, et une haute sensibilité au phylloxéra.

Le deuxième groupe — se sont des croisements entre les variétés de *Vitis Vinifera* (VV) et des hybrides composés entre les variétés, connus sous le nom général des hybrides producteurs directs /HPD/\*, et de même encore des croisements répétitifs entre certains hybrides obtenus à présent:

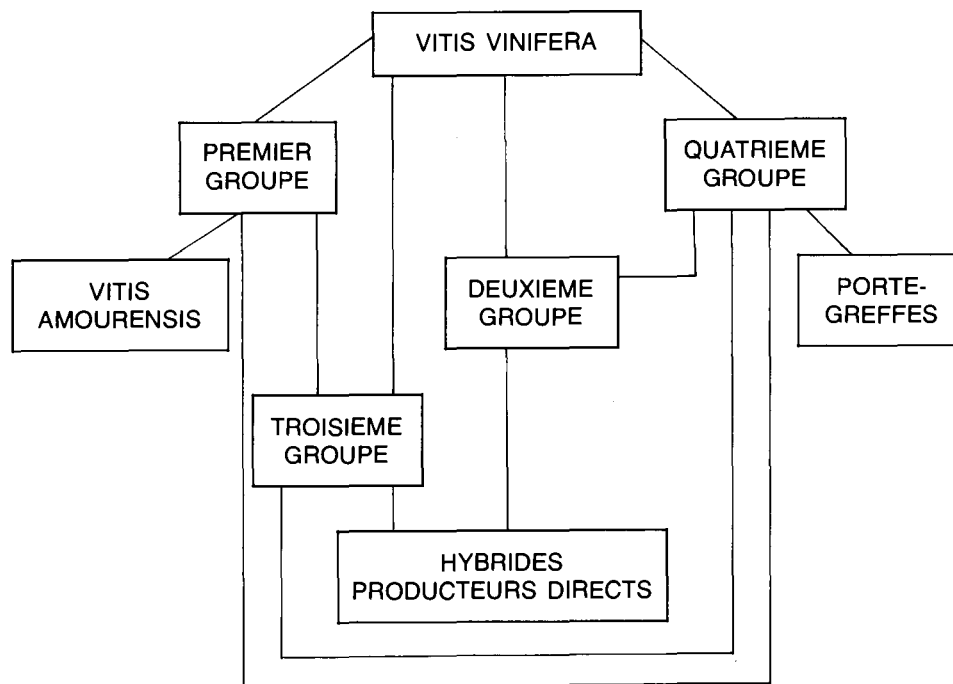
- VV x HPD
- HPD x VV
- (VV x HPD) x VV
- VV x (VV x HPD)
- HPD x (VV x HPD)
- (VV x HPD) x HPD
- (VV x HPD) x (VV x HPD)
- [(VV x HPD) x VV] x (VV x HPD)
- (VV x HPD) x [(VV x HPD) x VV]

Suite à ces croisements, on a obtenu de bons résultats sur le plan pratique. On a fait le triage et à présent on examine les descendances végétatives d'un grand nombre de formes en perspective.

On a fait le triage et la Commission d'Etat a légalisé 10 nouvelles variétés de vigne. Quatre de ces variétés sont pour la production des vins blancs — Dounavski lazour, Pomoriyski bisser, Misket Kailachki et Srebrostrouy, cinq pour la production des vins rouges — Storgozija, Dounavska gamza, Nikopolski mavroud, Mizija et Plenski kolorit, et une variété de Muskat blanc, Naslada, à double direction d'utilisation du raisin: consommation à

\* A partir des hybrides producteurs directs, à L'Institut de viticulture et d'oenologie de Pleven, sont utilisés en tant que formes génitrices de base: des hybrides de Seibel — 1000, 4986 (Reym d'Or), 5455 (Plantet), 5912, 6339, 8357 (Colobel); des hybrides de Seyve Villard — 12375 (Villard blanc), 20365 (Dattier de St. Vallier), 20366 (Perril), 20473 (Muskat de St Vallier), 23 657 (Varouset); l'hybride Joannès Seybe 26-205 (Chambourcin) et etc.

Schéma 1 - Groupes principaux des croisements, réalisés à l'Institut de viticulture et d'oenologie - Pleven, pour la création des variétés de vigne résistantes



l'état frais et la productions de vins. Ces variétés sont cours d'expérimentation dans différentes régions de la Bulgarie.

Quand il s'agit de la résistance aux basses températures hivernales, la partie prépondérante de celles-ci égalisent par leur résistance au froid, les cépages européens et s'il s'agit des dégâts partiels, elles montrent une haute aptitude de rétablissement. Sur le plan pratique, en plein champ, elles sont résistantes au mildiou et manifestent une résistance augmentée à l'oidium, et à la pourriture grise. La variété Dounavski lazour présente une haute sensibilité par rapport à l'oidium et il est nécessaire qu'on lutte contre cette maladie. Dans des années, qui sont très favorables au développement des maladies micologiques, il est préférable, dans les plantations industrielles de ces variétés, de pratiquer un ou deux traitements combinés contre le mildiou et l'oidium.

Toutes les variétés résistantes se caractérisent par une vitalité augmentée et une haute fécondité. Elles fertilisent sur la taille courte, qui représente une condition importante pour l'allègement et la mécanisation du travail durant la taille d'hiver.

Par la qualité du raisin et du vin, elles approchent de près des variétés traditionnelles. Au III<sup>ème</sup> Concours International des vins (Bulgarie - 1982), les vins des cépages Storgozija et Dounavska gamza ont obtenu des médailles d'argent et au IV<sup>ème</sup> concours international (Bulgarie — 1984), les deux vins présentés du cépage Storgozija ont obtenu des médailles d'or. La Commission centrale de dégustation a légalisé en tant que nouveaux encépagements: le vin «Pleven» — produit du raisin du cépage Storgozija, le vin «Dounavska gamza» — du raisin du cépage Dounavska gamza et le vin «Kailachki misket» - du raisin du cépage Misket Kailachki. Ces vins sont en production et ils se réalisent déjà sur le marché intérieur de notre pays.

Les défauts communs des cépages de cuve sont: leur longue période de végétation et la plus haute teneur en acides titrés, surtout l'acide malique, pendant les années plus fraîches. Ces variétés ne sont pas résistantes au phylloxera et elles se multiplient par la production des plantes greffées-soudées.

Pendant les dernières années, à partir du deuxième groupe de croisements, on a sélectionné et on examine un grand nombre d'hybrides, ayant une précocité de mûrissement, une haute capacité d'accumulation du sucre, une teneur optimale en acides titrés et un goût harmonieux du raisin et du vin.

Le troisième groupe — ce sont des croisements entre les variétés de *Vitis Vinifera*, d'hybrides producteurs directs et des hybrides sélectionnés de valeur des deux premiers groupes:

HPD x [(VV x VA) x VV]  
(VV x HPD) x [(VV x VA) x VV]  
VV x {(VV x HPD) x [(VV x VA) x VV]}  
HPD x {(VV x HPD) x [(VV x VA) x VV]}  
(VV x HPD) x {(VV x HPD) x [(VV x VA) x VV]}  
[(VV x HPD) x [(VV x VA) x VV]] x (VV x HPD)  
[VV x (VV x VA)] x [(VV x HPD) x [(VV x VA) x VV]]  
[(VV x HPD) x [(VV x VA) x VV]] x [(VV x VA) x VV]

A partir de ces croisements, on a sélectionné et on a fait des recherches sur les formes perspectives, qui combinent les qualités de résistance au froid, de résistance au mildiou, de précocité de mûrissement et d'une haute qualité du raisin et du vin. La Commission d'Etat a fait le triage et a légalisé le cépage précoce Droujba, dont le raisin est convenable pour la consommation à l'état frais et pour la production des vins blancs d'arôme muska:

Une grande partie des populations d'hybrides créées à partir de ce groupe de croisements, sont encore des jeunes plantes.

Les recherches préliminaires montrent que les plantes de ce groupe sont sensibles au phylloxera.

Dans le but de créer de nouveaux cépages résistants au phylloxera, à L'Institut de viticulture et d'oenologie de Pleven ont été réalisés une série de croisements, schématiquement montrés dans un Quatrième groupe. En tant que donneurs de la résistance au phylloxera sont utilisés certains porte-greffes de vigne [PG] - Kob 5 BB, SO<sub>4</sub>, Paulsen 1103, Ruggeri 140, 196-17 Kastel... L'autre géniteur représente une variété de *V. Vinifera* ou bien un hybride des trois premiers groupes:

VV x PG  
PG x VV  
PG x (VV x HPD)  
PG x [VV x (VV x VA)]  
PG x [(VV x VA) x VV]  
PG x {(VV x HPD) x [(VV x VA) x VV]}

Ce type de croisements, certainement, aura une influence négative sur les caractéristiques qualitatives du raisin dans les populations d'hybrides. Etant donné le grand volume de travail et l'expérience accumulée, on espère de bons résultats scientifiques et pratiques.

Les résultats obtenus jusqu'à présent, concernant la création des variétés de vigne résistantes, dans notre pays, représentent le premier pas décisif et une résolution d'étape, dans cette direction ce qui est encourageant et montre les possibilités réelles pour l'obtention de meilleurs résultats.

## RESUME

*Les premières expériences pour la création des variétés de vigne résistantes, par hybridation et sélection, sont réalisées en Bulgarie, en 1930, dans la Station viticole d'expérimentation de Pleven.*

*Jusqu'en 1959, de nouveaux essais sont réalisés dans ce domaine par des différents sélectionneurs, mais à cause du nombre limité de ressources génétiques, le petit volume et le caractère amateur du travail, on n'arrive pas aux résultats pratiques.*

*Dès l'année 1963, à l'Institut de viticulture et d'oenologie de Pleven, on réalise un vaste travail planifié, de sélection et de génétique, dans un but déterminé, de créer des cépages de cuve et de table résistants aux basses températures d'hiver, aux maladies d'une importance économique et au phylloxera et dont les qualités du raisin et du vin égalisent celles des cépages européens.*

*En fonction des ressources génétiques, des porteurs de résistance utilisés pour l'hybridation, et du matériel existant, les croisements réalisés à l'Institut sont répartis en 4 groupes principaux:*

- 1) croisements entre les variétés de *Vinifera* et d'*Amourensis* et leurs hybrides.*
- 2) croisements entre les variétés de *Vinifera* et d'hybrides, producteurs directs, et aussi, sur cette base, des croisements secondaires et réciproques.*
- 3) croisements entre les variétés de *Vinifera*, d'hybrides producteurs directs et des formes hybrides sélectionnés des deux premiers groupes.*
- 4) croisements des port-greffes de vignes avec des variétés de *Vinifera* et d'hybrides sélectionnés des trois premiers groupes, possédant des qualités de valeur économique.*

*Dans cet exposé, on fait l'appréciation des résultats obtenus pour chaque groupe de croisements.*

*Sur la base du fonds hybride créé, on a fait le triage et la Commission d'Etat a légalisé quelques variétés de vignes, qui sont en période d'expérimentation sur le plan pratique.*

*Les résultats pratiques, obtenus jusqu'à présent, sont encourageants, ce qui montre les réelles possibilités pour l'obtention de meilleurs résultats*

# Résistance aux champignons / Fungus resistance Resistenza alle malattie fungine

## MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL FACTORS OF BOTRYTIS RESISTANCE IN NEW CULTIVARS OF VITIS

R. BLAICH - U. STEIN

Bundesforschungsanstalt für Rebenzüchtung Geilweilerhof Siebeldingen (Federal Republic of Germany)

### SUMMARY

#### MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL FACTORS OF BOTRYTIS RESISTANCE IN NEW CULTIVARS OF VITIS

Both intensity and speed of the stilbene production of *Vitis* leaves after stimulation with inducing agents is correlated with their resistance to growth of *Botrytis* mycelium.

Susceptibility to *Botrytis* and stilbene production is influenced markedly by different factors like age of leaves and time of sampling.

The most suitable test conditions were obtained by using young leaves (4th to 7th leaf from the top) during June and July, and by evaluating the result of a 6 days incubation (after infection with *Botrytis*) and one of 48 hrs. after induction of stilbene synthesis.

The best correlation between susceptibility of leaves vs. berries resulted from comparisons of leaves as described above to berries with a sugar content of at least 50 Oechsle.

The results indicate that stilbene induction can be used as a crude screening test for varieties resistant to *Botrytis cinerea* in seedling populations of interspecific crossings.

Perforations in the cuticle of intact grape berries could be demonstrated indirectly by staining with an aqueous solution of fluoresceine, followed by a thorough rinsing in water and observation in UV light. Perforations, where the stain was able to penetrate and therefore could not be removed by rinsing, showed up as small spots of fluorescence of the berry skin.

It was generally not possible to detect perforations by light microscopy. After removing of the waxy layer they could, however, be demonstrated by scanning electron microscopy (SEM). They appear as roundish holes with smooth margins and a diameter of 0.5-2µm.

A total of 25 grape varieties were investigated, including diploid and tetraploid forms of the same variety. The number of holes is increasing during maturation of the grapes, their relative number is, however, specific for the variety, those with a high susceptibility to *Botrytis* exhibiting more perforations than resistant ones. All diploids were more resistant and also had much less perforations than the corresponding tetraploids.

A lack or a small number of perforations in the cuticula is therefore considered to be a prerequisite for fungus resistance of grape berries in most cases.

SEM images did not indicate enzymatical attack of the cuticle by *Botrytis*. In one case where the edge of the cuticle was digested by unknown microorganism a spongy skeleton was left back, whereas the cuticular structure of berries infected with *Botrytis* never showed any differences to those of healthy ones.

## INTRODUCTION DANS L'ESPECE «VITIS VINIFERA» L. D'UN CARACTERE DE RESISTANCE A L'OIDIUM («UNCINULA NECATOR» SCHW. BURR.) ISSU DE L'ESPECE «MUSCADINIA ROTUNDIFOLIA» (MICHX.) SMALL.

### A. BOUQUET

Station de Recherches de Viticulture - INRA  
Villeneuve lés Maguelonne (France)

La Vigne cultivée (*V. vinifera* L.) est exposée aux attaques d'un nombre élevé de parasites cryptogamiques susceptibles de compromettre les récoltes tant au niveau quantitatif qu'au niveau qualitatif. Parmi ceux-ci, les deux plus importants sont le Mildiou (*Plasmopara viticola* B. et C. Berl. et de T.) et l'Oïdium (*Uncinula necator* Schw. Burr.).

Dans certains pays, la faiblesse de la pluviométrie durant la période végétative, fait que le mildiou ne constitue pas un danger pour la récolte: il est alors possible de se passer de traitements chimiques contre ce parasite. Par contre, on peut dire que l'Oïdium est présent dans tous les vignobles du monde, ce qui oblige à faire partout des traitements tous les ans.

En France, la lutte chimique, basée sur l'emploi du soufre et depuis quelques années, de fongicides systémiques de synthèse, permet de protéger efficacement les vignobles, à un coût qui n'est pas prohibitif. L'intérêt de la culture de variétés résistantes à l'Oïdium n'est donc pas tant dans la réduction, somme toute limitée, des coûts de production qu'elle entraînerait, que dans la possibilité d'éviter la répétition de certains «accidents» dus quelquefois à une méconnaissance des caractéristiques des produits de traitement, mais également au développement chez de trop nombreux viticulteurs d'un laxisme prononcé en matière de protection du vignoble, laxisme causé hélas souvent par une diminution de la rentabilité de leurs exploitations.

D'autre part, une réduction du nombre de traitements anti-oïdium ne pourrait qu'avoir un impact positif sur l'environnement, ne serait-ce qu'en freinant le processus d'acidification de certains sols viticoles, processus accéléré, sinon provoqué, par les applications répétées de soufre.

L'idée d'utiliser des variétés résistantes pour lutter contre l'Oïdium n'est pas nouvelle en France, puisque les hybrides producteurs directs d'origine interspécifique, parmi lesquels beaucoup possèdent une résistance élevée à ce parasite, sont cultivés depuis le début du XX<sup>e</sup> siècle.

Cependant, la qualité déplorable du vin qu'ils produisent fait que ces hybrides ne sont pratiquement plus multipliés en France, bon nombre d'entre eux étant d'ailleurs purement et simplement interdits.

La création et l'utilisation des hybrides producteurs directs s'est donc traduite en France par un échec complet qui est à l'origine d'un réflexe de rejet vis à vis de l'hybridation interspécifique

comme méthode d'amélioration variétale, réflexe très répandu actuellement dans la profession viti-vinicole.

L'échec des hybrides producteurs directs doit être imputé essentiellement à la difficulté qu'il y a à introduire chez *V. vinifera*, une ou plusieurs résistances d'origine interspécifique et à hérédité polygénique, sans détruire irrémédiablement les fragiles équilibres que déterminent la qualité organoleptique de l'espèce européenne.

La création par hybridation de variétés de Vigne résistantes aux parasites en général et à l'Oïdium en particulier nécessite donc l'utilisation de résistances monogéniques ou à la rigueur faiblement oligogéniques, facilement manipulables et pouvant être introduites chez *V. vinifera*, en réduisant au minimum l'apport génétique de l'espèce résistante, grâce à un nombre élevé de générations de rétrocroisements.

De telles résistances n'ayant pas été trouvées dans le genre *Vitis*, malgré une somme de recherches considérable (Boubals, 1961), il était donc nécessaire de procéder à des investigations dans d'autres genres de la famille des *Vitacées*.

Parmi ceux-ci, le plus prometteur semblait être a priori le genre *Muscadinia*, très proche du genre *Vitis*, puisque classé par Planchon (1887) comme une section de ce dernier, et détaché avec justes raisons par Small (1903). Les études caryologiques menées ultérieurement ont montré en effet que *Muscadinia* possédait  $2n = 40$  chromosomes, comme les genres *Ampelocissus*, *Ampelopsis* et *Parthenocissus* et non  $2n = 38$  comme le genre *Vitis*.

Les premiers résultats de nos recherches sur l'hybridation *Vitis* x *Muscadinia* ont été présentés au cours du III<sup>e</sup> symposium sur l'amélioration génétique de la Vigne (Bouquet, 1980). Nous nous contenterons donc de présenter quelques résultats relatifs à l'hérédité d'un caractère de résistance à l'oïdium identifié chez *M. rotundifolia* et introduit avec succès chez *V. vinifera*. (Travaux réalisés de 1978 à 1983 à la station de viticulture INRA de Bordeaux).

## Matériel et méthodes

Le matériel végétal utilisé a été très divers, incluant selon les cas des variétés cultivées et des clones sauvages de *M. rotundifolia*, des hybrides F 1 *V. vinifera* x *M. rotundifolia*, des hybrides R 1 (F 1 x *V. vinifera*), R 2 (R 1 x *V. vinifera*) et R 3 (R 2 x *V. vinifera*), ainsi que des descendance d'autofécondations d'hybrides R 2.

Les contaminations ont été réalisées en serre au moyen de suspensions de conidies prélevées sur des plants de *V. vinifera* atteints

d'oïdium et non traités. Elles ont été répétées plusieurs fois, à intervalles d'une semaine, de manière à homogénéiser les infestations.

En fin de saison, les symptomes étaient tellement accentués sur les plantes sensibles, que la notation a pu être effectuée selon une échelle de 0 à 3:

— note 0: Aucune trace visible à l'oeil nu de mycelium ou de conidiophores sur les feuilles, les vrilles et les rameaux.

— note 1: Aucune trace visible à l'oeil nu de mycelium ou de conidiophores sur les feuilles. Présence sur les rameaux de nécroses formées de stries de quelques millimètres de longueur et causées par les suçoirs (haustoria) d'un mycélium peu développé. Pas de conidiophores visibles à l'oeil nu.

— note 2: Présence sur les feuilles de plages de mycelium et de conidiophores plus ou moins développées. Mycelium et conidiophores également visibles à l'oeil nu sur les rameaux.

— note 3: Feuilles entièrement recouvertes d'un feutrage grisâtre de mycelium et de conidiophores. Vrilles et rameaux également très attaqués par le champignon.

## Résultats et discussion

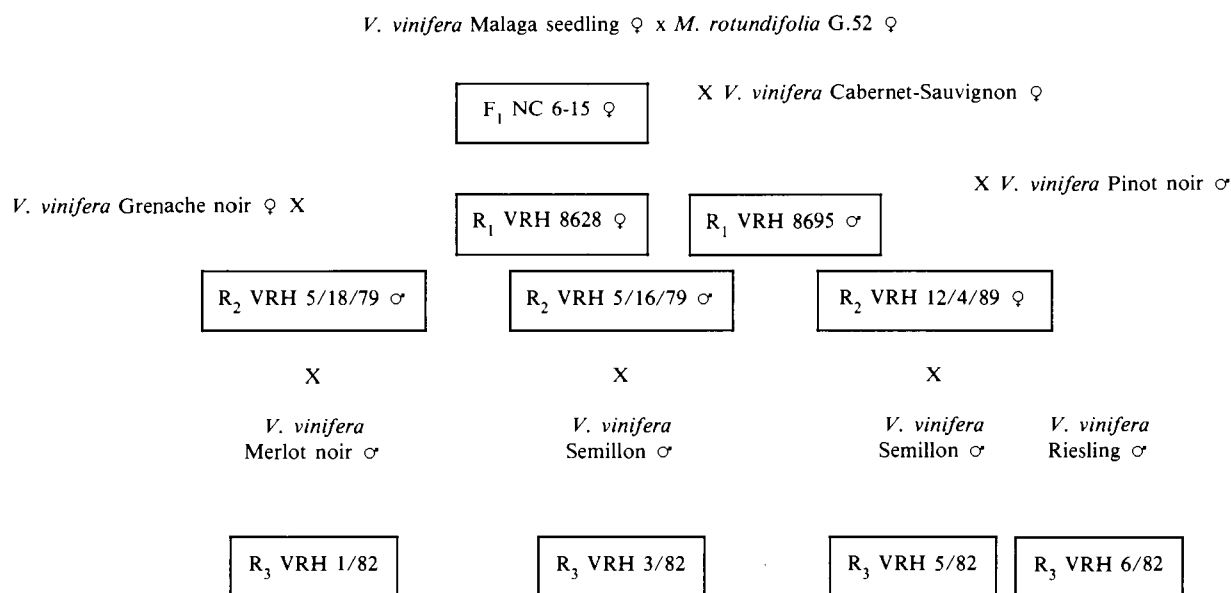
### 1. Résistance des Muscadines (*M. rotundifolia*) à l'oïdium

Au cours de trois années d'observations en serre, effectuées sur l'ensemble des variétés cultivées et des clones sauvages de muscadine en collection (57 clones au total), nous n'avons observé, en conditions d'infestation naturelle et en l'absence de tout traitement, aucune trace visible à l'oeil nu de mycelium et de conidiophores sur feuilles, rameaux et baies.

La muscadine étant sensible à l'oïdium aux Etats-Unis, avec toutefois des différences variétales importantes, et l'oïdium français étant d'origine américaine et d'introduction relativement récente (dans une optique évolutionniste), il faut en conclure qu'il existe probablement outre-atlantique des biotypes ou des écotypes du champignon, présentant des pathogénicités différentes vis à vis de *M. rotundifolia*, comme c'est le cas pour le Black-rot (Luttrell, 1948).

La résistance de notre collection de muscadines n'ayant été mise en évidence qu'avec une origine très localisée du parasite (serres du domaine de la Grande-Ferrade à Pont de la Maye), on ne peut pas exclure a priori que des biotypes d'oïdium pathogènes pour *M. rotundifolia* existent en France, bien que ce soit peu probable, la muscadine n'y ayant pratiquement jamais été cultivée. Bou-

Tab. 1 - Origine génétique des plantes résistantes à l'oïdium sélectionnées dans les descendance issues d'hybridation *V. vinifera* x *M. rotundifolia*



bals (1961) a cependant observé quelques symptômes (notés 2 sur une échelle de 0 à 5) sur un plant de muscadine en collection en serre froide à Montpellier. Il est possible qu'il existe des biotypes languedociens d'oïdium particulièrement agressifs, mais du point de vue de sa pathogénicité vis à vis de *M. rotundifolia*, le biotype montpelliérain est de toute évidence plus proche du biotype bordelais que des biotypes de Caroline du Nord ou d'Arkansas. Le transfert en 1984 de la collection de muscadines de Bordeaux à Montpellier, devrait permettre de préciser ce point.

## 2. Résistance des hybrides F 1 et R 1 à l'oïdium

Tous les hybrides F 1 et R 1 obtenus à Bordeaux ont été cultivés en serre pendant un à deux ans, en l'absence de tout traitement. Dans ces conditions d'environnement, le développement des attaques d'oïdium a souvent été spectaculaire, ce qui a permis :

— d'une part, de noter l'existence de ségrégations très nettes dans les descendance F 1 entre plantes résistantes, notées 0, et plantes sensibles notées 2 et 3 (Fig. 1). Cependant, l'hétérogénéité des contaminations naturelles n'a pas permis d'effectuer de manière systématique des notations tout à fait fiables, et les disjonctions observées, qui varient en fonction des géniteurs *M. rotundifolia* utilisés, sont difficilement interprétables. Tout au plus, on peut conclure que certaines variétés de *M. rotundifolia*, sinon toutes, sont hétérozygotes pour un ou plusieurs gènes dominants de résistance à l'oïdium. Boubals (1961) avait noté sensibles les deux hybrides F 1 *V. vinifera* x *M. rotundifolia*, qu'il avait testés, ce qui incitait à considérer que la résistance à l'oïdium chez les muscadines était déterminée par des facteurs génétiques récessifs. La mise en évidence de ségrégations entre plantes résistantes et plantes sensibles dans nos descendance permet d'expliquer les résultats de cet auteur.

— d'autre part, de constater que les ségrégations entre plantes résistantes et plantes sensibles se retrouvent parmi les hybrides R 1, les différences étant d'ailleurs plus marquées que chez les hybrides F 1, notamment au niveau des symptômes sur rameaux. Les disjonctions observées ne sont pas interprétables, pour les mêmes raisons que précédemment (hétérogénéité des contaminations naturelles), mais également à cause de la taille réduite des descendance R 1, et du biais que peuvent provoquer les phénomènes de non-appariement chromosomique au cours de la méiose des hybrides R 1.

Il était intéressant de connaître le comportement outre-atlantique de certains hybrides F 1 notés résistants à Bordeaux. Cela a pu être fait en établissant une parcelle d'étude à la Station expérimentale de l'université de Caroline du Nord (Raleigh), grâce à la collaboration du regretté professeur Nesbitt. Les résultats ont été particulièrement nets et significatifs: tous les hybrides F 1 se sont révélés plus ou moins sensibles à l'oïdium.

## 3. Résistance des hybrides R 2 et R 3 à l'oïdium

En 1975 et 1976, deux hybrides R 1 ont été repérés pour leur résistance à l'oïdium, dans des descendance issues du croisement de l'hybride NC 6-15 (Malaga seedling ♀ x *M. rotundifolia* G.52 ♂) par la variété *V. vinifera* Cabernet-Sauvignon. Notons en passant que la sélection G.52 est issue du mutant hermaphrodite HOPE isolé par Detjen (1917) et non pas des mutants H 1 et H 2 isolés par Dearing (1917), qui sont à l'origine de toutes les variétés hermaphrodites de muscadine que nous avons utilisées dans nos croisements F 1.

Ces deux hybrides R 1 (VRH 8628 et VRH 8695), l'un hermaphrodite, l'autre femelle, ont été recroisés par diverses variétés de *V. vinifera* et les descendance R 2 testées pour leur résistance après contamination artificielle. Deux plantes R 2 (VRH 5/16/79 et VRH 5/18/79) ont été sélectionnées pour leur résistance et leur fertilité. Etant à fleurs hermaphrodites, elles ont été simultanément autofécondées et recroisées par les variétés *V. vinifera* Merlot noir et Semillon. Une troisième plante R 2 (VRH 12/4/80) résistante à l'oïdium, mais à fleurs femelles a également été recroisée par les variétés Semillon et Riesling. Les descendance R 3 et autofécondées ont été testées pour la résistance à l'oïdium après contamination artificielle. L'ensemble des résultats est présenté dans le tableau 2.

Les disjonctions observées sont compatibles avec l'hypothèse d'un gène dominant de résistance à l'oïdium, présent chez les deux hybrides R 2 VRH 5/16/79 et 5/18/79 et que nous proposons d'appeler RUN 1 (pour Résistant à *Uncinula Necator*). Bien que l'hybride VRH 12/4/80 n'ait pas pu être autofécondé en raison de ses fleurs femelles, il est très probable que le déterminisme de sa résistance est identique, puisqu'il est issu comme les précédents de l'hybride F 1 NC 6-15.

Si la concordance entre disjonctions observées et disjonctions attendues est très bonne dans les descendance d'autofécondation,

Tab. 2 - Disjonctions du caractère de résistance à l'oïdium dans différentes descendance issues de rétrocroisements R<sub>2</sub> et R<sub>3</sub> ainsi que dans des autofécondations d'hybrides R<sub>2</sub>.

N° famille	Croisement		Disjonction observée		Disjonction attendue	X <sup>2</sup>
			Résistants (notés 0 et 1)	Sensibles (notés 2 et 3)		
VRH 5/79	VRH 8628 x Grenache Noir	R <sub>2</sub>	15	22	1:1	1,35
VRH 1/82	Merlot noir x VRH 5/18/79	R <sub>3</sub>	65	79	1:1	1,36
VRH 3/82	VRH 5/16/79 x Semillon	»	14	18	1:1	0,50
VRH 1/81	VRH 5/16/79 Autofécondation		37	13	3:1	0,03
VRH 7/82	VRH 5/16/79 Autofécondation		17	4	3:1	0,39
VRH 8/82	VRH 5/18/79 Autofécondation		53	17	3:1	0,02
VRH 12/80	VRH 8695 x Pinot noir	R <sub>2</sub>	2	6	1:1	2,00
VRH 2 à 5/81	VRH 8695 x <i>V. vinifera</i> (4 variétés)	»	11	14	1:1	0,36
VRH 18 à 20/82	VRH 8695 x <i>V. vinifera</i> (3 variétés)	»	8	6	1:1	0,28
VRH 5/82	VRH 12/4/80 x Semillon	R <sub>3</sub>	18	20	1:1	0,10
VRH 6/82	VRH 12/4/80 x Riesling	»	9	17	1:1	2,46
—	Ensemble rétrocroisements R <sub>2</sub>		36	48	1:1	1,7
—	Ensemble rétrocroisements R <sub>3</sub>		106	134	1:1	3,2
—	Ensemble autofécondations des hybrides R <sub>2</sub>		107	34	3:1	0,06

X<sup>2</sup> = 3,84 significatif à P = 0,05

il n'en est pas de même dans les descendance issues de rétrocroisements R2 et R3 chez lesquelles il y a un déficit sensible en plantes résistantes. Il est possible que ce déficit soit la conséquence d'une homologie imparfaite entre le chromosome *M. rotundifolia* portant le gène de résistance et son homologue *V. vinifera*. Mais dans ce cas, on devrait également observer ce déficit dans les descendance d'autofécondations.

Il est également possible que le parent *V. vinifera* utilisé au cours des rétrocroisements ait une influence sur l'expression du caractère de résistance. Ainsi, la concordance avec la disjonction attendue est bien meilleure dans les descendance R3 issues de la variété Semillon que dans celle issue de la variété Riesling. Rappelons que Doazan et Kim (1978), ainsi que Pouget et Kim (1978) ont mis en évidence une influence du parent *V. vinifera* sur l'expression des caractères de résistance au mildiou et au Phylloxéra dans des descendance issues d'hybridation interspécifique.

Quoiqu'il en soit, nos résultats confirment les observations d'Olmo (1978) qui avait également noté des disjonctions 1: 1 pour la résistance à l'oïdium dans des générations avancées de rétrocroisements à partir d'hybrides *V. vinifera* x *M. rotundifolia*. Il est possible que l'existence de résistances à l'oïdium, monogéniques dominantes, ne soit pas limitée à *M. rotundifolia*. Des résistances du même type auraient été trouvées dans des descendance issues d'hybridation interspécifique *V. amurensis* x *V. vinifera* (Shtin et Fillipenko, 1974).



Fig. 1 - Résistance et sensibilité du feuillage à l'oïdium observées sur hybrides  $F_1$  *V. vinifera* x *M. rotundifolia*.



Fig. 2 - Sensibilité et résistance du feuillage à l'oïdium observées sur hybrides  $R_3$  *V. vinifera* x *M. rotundifolia*.



Fig. 3 - Sensibilité et résistance des baies à l'oïdium observées sur hybrides  $R_3$  *V. vinifera* x *M. rotundifolia*.

#### 4. Corrélation entre résistance du feuillage et résistance des baies.

Aucune trace d'oïdium n'a pu être observée jusqu'à présent sur les baies des hybrides  $F_1$ ,  $R_1$  et  $R_2$  notés résistants. En 1983, 17 plants de semis appartenant aux  $R_3$  VRH 5/82 et VRH 6/82 on pu être mis à fruits en serre dans le courant de l'été. La distribution de ces plantes en fonction des symptômes observés sur feuillage et sur grappes (figg. 2 et 3) est donnée par le tableau 3 et confirme l'existence d'une corrélation parfaite entre résistance du feuillage et résistance des baies.

#### 5. Conséquences sur le plan de la sélection.

La résistance à l'oïdium mise en évidence dans nos descendance d'hybridation *V. vinifera* x *M. rotundifolia* étant de type monogénique dominant, son introduction dans de nouvelles variétés de *V. vinifera* ne pose théoriquement aucun problème. Dans ces conditions, on peut fixer une limite maximum à l'apport de l'espèce

Tab. 3 - Corrélation entre résistance des baies et résistance du feuillage à l'oïdium chez 17 plants de semis  $R_3$  issus d'hybridation *V. vinifera* x *M. rotundifolia*.

	Grappes sensibles	Grappes résistantes
Feuillage sensible	10	0
Feuillage résistant	0	7

résistante (en l'occurrence *M. rotundifolia*) dans le patrimoine génétique de la variété que l'on veut créer. Bien que cette limite soit difficilement appréciable a priori, il est permis de penser que l'obtention d'une qualité organoleptique irréprochable chez une variété d'origine hybride n'est pas envisageable avec un apport

généétique de l'espèce résistante supérieur à 1%. Pour fixer les idées, 1% d'une génome de Vigne, cela équivaut à un peu moins de la moitié d'un chromosome, ce qui représente malgré tout un certain nombre de gènes dont certains ne pourront pas ne pas avoir quelque influence défavorable sur la qualité.

A titre de comparaison et bien que la généalogie des cépages hybrides producteurs directs soit extrêmement difficile à établir, il semble que le nombre de variétés hybrides possédant plus de 50% de «sang» *vinifera* (pour parler comme les hybrideurs du début du siècle), soit assez limité.

Cette réduction drastique de l'apport génétique de l'espèce résistante ne pourra se faire qu'en procédant à un certain nombre de rétrocroisements par l'espèce *V. vinifera* en choisissant naturellement à chaque cycle de rétrocroisement une variété différente de celle utilisée au cours du cycle précédent, de façon à éviter les risques de consanguinité dont les effets sur la vigueur et la fertilité de la Vigne sont particulièrement marqués.

Compte tenu des modèles théoriques d'évolution génétique en régime de rétrocroisements, un minimum de 6 cycles est indispensable à la réalisation de l'objectif fixé, ce qui implique par conséquent de pouvoir disposer d'une technique d'accélération des générations permettant de manipuler la Vigne comme une plante annuelle, ou au moins bisannuelle. La culture hydroponique en serre des plants de semis, mise au point par Huglin et Julliard (1964) permet de réduire la longueur des cycles de reproduction à 9 mois, du moins pour l'obtention de pollen, ou à 16 mois, pour l'obtention des pépins de la génération suivante. Cependant, les résultats de Srinivasan et Mullins (1981) qui ont obtenu la transformation d'ébauches de vrilles en inflorescences sur les très jeunes plants de semis, par applications localisées de cytokinines, permettent d'envisager une réduction encore plus nette des intervalles de génération: à la limite, il serait possible d'effectuer deux cycles de reproduction par an en travaillant naturellement en serre, dans des conditions de température et d'éclairage parfaitement contrôlées.

Le nombre de rétrocroisements envisagé étant particulièrement élevé, on ne peut pas exclure a priori la possibilité d'une modification ou d'une atténuation de la résistance au cours de cycles de rétrocroisements, par suite de l'élimination de gènes «mineurs» ou «modificateurs» ayant une influence sur l'expression du gène RUN 1. Un phénomène de ce type a d'ailleurs été clairement mis en évidence pour le gène Vf, issu de *Malus floribunda* et conférant la résistance à la tavelure du pommier (Rousselle, 1974).

Cependant, le problème essentiel posé par la résistance à l'oïdium issue de *M. rotundifolia* est celui de sa durabilité, ou encore de la «force» du gène RUN 1. En effet, compte tenu de la durée d'implantation des vignobles, il est indispensable d'exploiter des résistances ayant une efficacité stable dans le temps. Or, le (ou les) gène (s) de résistance à l'oïdium présent (s) chez *M. rotundifolia* sont apparemment des gènes faibles puisqu'il existe aux Etats-Unis des biotypes pathogènes à l'égard de la muscadine et des hybrides F. 1 jugés résistants en France. Faut-il donc renoncer à l'utilisation en sélection de cette résistance, malgré sa facilité de manipulation?

Tout d'abord, il n'est pas impossible que l'oïdium pathogène pour la muscadine aux Etats-Unis corresponde en fait à un biotype, voire un écotype adapté à des conditions climatiques très particulières, et soit incapable de se développer en France. Cependant, l'oïdium de la Vigne appartient à une famille de cryptogames, les Erysiphacées, dont de nombreux représentants se caractérisent par une variabilité extrêmement importante de leur pouvoir pathogène. Par conséquent, même si les biotypes américains d'oïdium pathogènes pour la muscadine et les variétés qui en seront dérivées, ne sont pas actuellement présents en France, ne peuvent pas y être introduits ou ne peuvent pas s'y développer normalement, on ne peut pas exclure de voir apparaître un jour ou l'autre une race d'oïdium capable de contourner l'effet du gène RUN 1. La parade à cette éventualité peut être recherchée dans plusieurs directions:

— d'une part, en isolant chez *M. rotundifolia* et ses hybrides

d'autres gènes de résistance à l'oïdium, non allèles du gène RUN 1 et dont l'association avec celui-ci au sein d'un même génotype permettrait de renforcer la stabilité de la résistance.

— d'autre part, en utilisant au cours des rétrocroisements successifs des variétés de *V. vinifera* connues pour leur faible sensibilité à l'oïdium (exemples: Aubun, Fer, Baroque,...). Il serait ainsi possible d'associer au sein du même génotype deux systèmes de résistance complémentaires se renforçant mutuellement. En effet, le fait de contourner une résistance s'accompagne généralement chez la souche devenue pathogène d'une faible aptitude à la compétition pouvant entraîner sa régression, voire sa disparition si elle ne se trouve pas sur un terrain très favorable à sa multiplication. Une telle éventualité s'intègre parfaitement dans le concept de «sélection stabilisatrice» développé par Van Der Plank (1968).

La difficulté d'un tel programme réside dans la reconnaissance des plants qui cumulent les deux mécanismes de résistance, puisque l'effet de gènes de moindre sensibilité issus de *V. vinifera* sera masqué par le gène RUN 1. La méthode la plus académique serait la sélection par un test sur descendances (croisement par un cépage très sensible) des plantes ayant dans leur descendance le plus fort pourcentage d'individus résistants et peu sensibles. Un programme analogue est d'ailleurs en cours sur le pommier et vise à associer le gène Vf issu de *Malus floribunda* à une résistance polygénique provenant de vieilles variétés européennes (Lespinasse et Olivier, 1981).

Une troisième solution consisterait à associer une lutte chimique réduite à l'effet du gène de résistance, de manière à accroître sa durabilité (Clerjeau, 1982), mais l'efficacité d'une telle méthode est encore très théorique.

Quoiqu'il en soit, dans la mesure où l'appréciation de la durabilité d'un gène de résistance ne peut être faite qu'à posteriori, il est essentiel que ce gène soit introduit dans des sélections de très grande qualité afin qu'en cas de faillite de la résistance, la nouvelle variété demeure suffisamment intéressante. De même, le fait d'associer dans la même variété plusieurs résistances à des parasites différents (ex: mildiou et oïdium) conserverait à celle-ci une plus-value certaine, malgré le contournement de l'une de ces résistances.

Dans le même ordre d'idées, il sera indispensable de vérifier que la résistance à l'oïdium introduite dans ces nouvelles variétés n'est pas accompagnée par une sensibilité particulière à un autre parasite, par exemple l'erinose, contre lequel les soufres anti-oïdium montrent une certaine efficacité.

## Conclusion

L'étude du déterminisme génétique d'un caractère de résistance issu d'hybridation interspécifique nécessite de pouvoir disposer de plantes parfaitement fertiles et bien stabilisées du point de vue chromosomique. Par conséquent, les résultats obtenus jusqu'à présent dans nos descendances R2 et R3 devront être confirmés au moyen d'autofécondations effectuées sur des plantes issues de générations de rétrocroisements encore plus avancées.

L'identification chez *M. rotundifolia* du gène RUN 1 de résistance à l'oïdium et son introduction dans des génotypes de *V. vinifera*, moyennant certaines précautions relatives à sa durabilité, devrait permettre d'obtenir dans quelques années des variétés de cuve ou de table, possédant une qualité organoleptique comparable à celle des meilleures variétés actuelles et pouvant être cultivées sans protection systématique contre l'oïdium.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Boubals D. (1961) - Ann. Amélior. Plantes, 11, 401-500.  
Bouquet A. (1980) Proceed. 3<sup>e</sup> int. Symp. Grape breeding, Davis Calif., 42-61.  
Bouquet A. (1983) - Thèse Docteur-Ingénieur Université Bordeaux 203 p.  
Clerjeau M. (1982) - Cryptog., Mycol., 3, 305-318.

- Dearing C. (1917) - J. of Hered., 3, 409-424.  
 Detjen L.R., (1917) - N.C. Agr. Expt. Sta. Bull., 12, 42 p.  
 Doazan J.P. et Kim S.K. (1978) - *Génétique et amélioration de la Vigne*, Inra ed, Paris, 243-249.  
 Huglin P. et Jullians B. (1964) - Ann. Amélior. Plantes, 14, 229-244.  
 Lepinasse Y. et Olivier J.M. (1981) - *Colloque sur les recherches fruitières*, Inra Ed., Bordeaux, 135-144.  
 Luttrell E.S. (1948) - Phytopathology, 38, 716-723.  
 Olmo H.P. (1978) - *Génétique et amélioration de la Vigne*, INRA Ed., Paris, 3-10.  
 Planchon J.E. (1887) - *Monographia phanerogamarum*, 5, 305-364.  
 Pouget R. et Kim S.K. (1978) - *Génétique et amélioration de la Vigne* INRA Ed., Paris, 189-197.  
 Rousselle G.L. (1974) Ph. D. Thesis, New Brunswick, New Jersey State University.  
 Shtin L.T. et Fillipenko I.M. (1974) - Sov. Genet., 10, 1348-1353.  
 Small J.K. (1903) - *Flora of the southeastern United States*, New York 1394 p.  
 Srinivasan C. et Mullins M.G. (1981) - Agronomie, 1, 1-5.  
 Van Der Plank (1968) - *Disease resistance in Plants*, Acad. Press, New York, 206 p.

## RESUME

### INTRODUCTION DANS L'ESPECE «VITIS VINIFERA» L. D'UN CARACTERE DE RESISTANCE A L'OIDIUM («UNCINULLA MECATOR-SCHW. BURR.) ISSU DE L'ESPECE «MUSCADINIA ROTUNDIFOLIA (MICHX.) SMALL.

Dans le cadre du programme d'hybridation *V. vinifera* x *M. Rotundifolia* visant à créer de nouvelles variétés de raisin de cuve ou de table résistantes aux parasites cryptogamiques, il a été possible d'introduire dans des générations avancées de rétrocroisements par *V. vinifera*, un caractère de résistance à l'Oidium qui se traduit par un développement extrêmement limité du mycelium sur les organes inoculés et l'absence pratiquement totale de sporangio-phores. En outre, résistance du feuillage et résistance des baies sont étroitement corrélées.

Les disjonctions observées jusqu'à présent dans des descendance R2 et R3 (rétrocroisements d'individus R1 et R2 résistants par *V. vinifera*) ainsi que dans des descendance d'autofécondations d'individus R2 résistants, sont compatibles avec l'hypothèse d'un gène dominant de résistance, que nous proposons d'appeler RUN 1 (pour Résistant à Uncinula Necator).

Compte tenu de ce déterminisme génétique simple, l'introduction de cette résistance dans de nouvelles variétés de *V. vinifera* ne pose théoriquement aucun problème, et n'est limitée que par la durée des cycles de rétrocroisements par *V. vinifera*, 6 cycles successifs étant a priori un minimum indispensable à l'obtention d'une qualité organoleptique irréprochable.

En fait, le problème essentiel posé par la résistance à l'Oidium issue de *M. rotundifolia* est celui de sa durabilité, ou encore de la «force» du gène RUN 1.

Outre la possibilité d'une introduction en France de pathotypes d'Oidium virulents vis à vis de *M. rotundifolia*, pathotypes existant aux USA depuis de nombreuses années, on ne peut pas exclure de voir apparaître un jour ou l'autre une race d'oïdium issue de mutation et capable de surmonter la résistance du gène RUN 1.

La parade à cette éventualité peut être recherchée dans deux directions:

— d'une part en criblant et en isolant chez *M. rotundifolia* et ses hybrides, d'éventuels autres gènes de résistance à l'Oidium, non allèles du gène RUN 1 et dont l'association avec celui-ci permettrait de renforcer la stabilité de la résistance.

— d'autre part, en utilisant au cours des rétrocroisements successifs, des variétés de *V. vinifera* connues pour leur faible sensibilité à l'Oidium. Il serait ainsi possible d'associer au sein du même génotype deux systèmes de résistance complémentaires se renforçant mutuellement.

Quoiqu'il en soit, dans la mesure où l'appréciation de la durabilité d'un gène de résistance ne peut être faite qu'à posteriori, il est essentiel que ce gène soit introduit dans des sélections de très grande qualité afin qu'en cas de faillite de la résistance, la nouvelle variété demeure suffisamment intéressante du point de vue cultural.

## LATENT INFECTION OF GRAPE BY *GLOMERELLA CINGULATA* (STON.) SPAULD ET SHRENK AND A RAPID METHOD FOR RESISTANCE ASSESSMENT

CHEN ZIWEN (1) - YU DANHUA (2) - WANG BAOLIANG (2) - YE YONG GONG (2)

(1) Institute of Plant Protection - Chinese Academy of Agricultural Sciences - Beijing - (China)

(2) Zhengzhou Institute of Pomology - Chinese Academy of Agricultural Sciences - Zhengzhou - Henan - (China)

### Introduction

*Glomerella cingulata* is the pathogen causing ripe rot of grape. The fungus was thought mainly infecting matured grape berries. In 1963 Chen Ziwen (1,2) found that *G. cingulata* was able to infect all green grape tissues but expressed symptoms only on ripe berries. The fungus present in the latently infected tissues can be induced to sporulate after they have died and when temperature and humidity conditions are suitable.

During the grape breeding course for resistance purpose, an early screening method for resistant seedlings to *B. cinerea* was suggested based on a positive correlation between the susceptibility

of leaves of seedlings grown in the greenhouse and the susceptibility of field-grown fruits (3).

Based on the early research of latent infection of grape petioles and infection of berries, we conducted a further experiment for working out a rapid method for assessment of *G. cingulata* resistance.

### Materials and methods

Experiments were carried out in two stages: 1964-1966 and 1983. 1964-1966 Experiments

In autumn 1964, healthy canes, terminal and lateral shoots, tendrils, leaves and roots were collected from vines of Muscat Hamburg which were seriously infected by *G. cingulata*. All samples were dried and stored until used. Prior to induction for sporulating, samples were cut into 10 cm and soaked in water for 2-3 hours. After 3 days incubation under 28-30° C with suitable humidity, samples were checked visually as well as under light microscope for sporulating.

In September 1965 petioles of Muscat Hamburg and Kadarka were collected from different plots of vineyard, then dried and stored until examined.

Meanwhile, the rate of fruit rot caused by *G. cingulata* were investigated in corresponding plots by a five-point scale and counted as

$$\frac{\Sigma n}{n \times 4} \times 100\%$$



In January 1966 the petioles were tested by artificial conidia induction as described above.

### 1983 Experiment

Petiole latent infection test.

In early October, 40 petioles of each 26 varieties were collected from a seriously *G. cingulata* infected vineyard. All petioles were taken from the middle part of shoots. The method from petiole drying to conidia induction was carried out in the same way mentioned above.

After the induction of conidia, a latent infection was estimated by a five-point scale (0 to 4).

- 0 — none
- 1 — conidia covering less than 5% of petiole surface
- 2 — conidia covering between 5-25% of petiole surface
- 3 — conidia covering between 25-50% of petiole surface
- 4 — conidia covering more than 50% of petiole surface

A rate of latent infection of petioles to *G. cingulata* for each variety was determined as follows:

$$\frac{\sum n}{n \times 4} \times 100\%$$

Fruit Infection Test.

From August through early October, fully matured clusters of the same 26 varieties were collected and kept in cold storage until use. Most of them were cased with paper bags after flowering to prevent infection.

At four different stages of ripening, the artificial inoculation of 26 varieties was conducted.

Conidia suspension of *G. cingulata* were made from fresh conidia from fields and had 10% grape must added. Its concentration was adjusted to 200 viable conida per field (100 x).

Prior to inoculation, 40 berries of same maturity were selected and surface sterilized with benzalkon bromide, benzalkon bromide/water (1/3, v/v) for 10 min, rinsed and dried, then placed in petri dishes with moist filter paper to maintain humidity. The

conidia suspension was sprayed onto berries with an atomizer. The inoculated berries were incubated under 28°C for ten days and then infection was estimated with a five-point scale.

- 0 — no infection
- 1 — disease symptoms covering less than 5% of berry surface
- 2 — disease symptoms covering between 5-25% of berry surface
- 3 — disease symptoms covering between 25-50% of berry surface
- 4 — disease symptoms covering more than 50% of berry surface

A susceptibility index for each variety was determined as follows:

$$\frac{\sum n}{n \times 4} \times 100\%$$

### Results and Discussion

After incubation of all samples collected in autumn 1964, tiny pink glutinous spore masses were produced on tendrils, shoots, petioles and leaf veins. Under light microscope, a large amount of conidia of *G. cingulata* were observed from these masses. Among all infected vegetative tissues, petiole had the most conidia. None were observed on canes and roots.

To our knowledge, it is the first time that *G. cingulata* was shown to latently infect green tissues of vine and expressed symptoms only on ripe berries.

The 1966 results of conidia induction from petioles and investigation of cluster rot in different plots of vineyards were shown in Tab. 1. There was a positive correlation ( $r = 0.8964$ ) between susceptibility of grape clusters and latent infection on petioles in all plots examined.

The artificial berry inoculation and latent infection tests of 26 varieties were shown in Tab. 2. A positive correlation between susceptibility of berries and latent infection of petioles was also observed ( $r = 0.9314$ ).

Latent infection has been reported on many fungal pathogens

Tab. 1 - The correlation between the susceptibility of grape clusters and the latent infection on petioles to *G. cingulata* in the field

Data <sup>a</sup>	Variety	Plot	Susceptibility of grape cluster <sup>b</sup> (%)	Number of Petioles	Latent infection of petioles (%)
Aug. 28	Muscat Hamburg	2-3	90.8	418	94.7
»	»	3-1	0.6	421	5.0
»	»	3-2	48.7	288	68.2
»	»	3-3	79.2	444	70.2
Aug. 30	»	7-1	24.9	351	41.3
»	»	7-2	62.5	364	34.1
»	»	7-3	60.5	283	79.9
Aug. 28	Kadarka	5-1	99.1	361	99.7
»	»	5-2	85.3	471	62.4
»	»	5-3	65.5	229	99.1
»	»	6-1	79.2	382	64.7
»	»	6-2	16.9	466	7.3
Aug. 29	»	8-1	99.1	352	96.0
»	»	8-2	91.8	336	74.4
Sept. 6	»	III	21.3	138	16.7
»	»	IV	18.2	101	12.9
»	»	South	16.1	121	9.1
»	»	North	13.1	99	12.3

$r = 0.8964$

<sup>a</sup> The data for field investigation and petiole collection is the same.

<sup>b</sup> 300 clusters were examined in each plot.

**Tab. 2 - The correlation between the latent infection on petioles and the susceptibility of berries from artificial inoculation of *G. cingulata***

	Latent infection on petioles (%)	Susceptibility of berries from artificial inoculation (%)
Vrachanski muscat	89.3	100.0
Malvazia	80.0	77.6
Ciotat Chasselas	87.5	95.8
White Zeinel	60.3	76.4
Erie Giuvan	42.9	70.0
Kovidinka	67.9	49.4
Golden Queen	42.3	50.6
Pozony	53.1	29.8
Arakachi	15.9	31.8
S. 9110	11.2	20.8
S.V. 20365	38.3	37.5
S.12308	18.8	33.0
S.2007	8.9	1.3
S. 12375	6.3	8.9
Perchu	25.0	11.0
Triumph	15.9	11.0
Muscat angel	4.4	9.4
Delago	4.2	7.1
Russian Concord X		
White Esangali	2.9	3.1
Herbert	0.9	5.8
Niagara	3.1	14.1
Mills	6.3	0
Isabella	0	0
Gongniang No. 2	0	10.2
Beichun	3.8	0
<i>V. davidii</i> Foex	9.0	22.1

$r = 0.931$

(4). *Botrytis cinerea* was shown to infect blossoms of grape (5) and strawberry (6,7,8). Colletotrichum spp. (gloeosporium spp.) was found infecting immature fruits of apple (9,10), avocado (17), citrus (12), banana (13, 14, 15) and grape (1,2). *Sclerotinia fructicola* could latently infect apricot fruits at green stage (16). Most of those examples involved latent infection at immature fruit stage and symptom expression as fruit ripe (11). In this study, we demonstrated that *G. cingulata* not only infected immature berries but also all green tissues without causing any symptoms. The pathogen apparently overwintered in those infected tissues. Positive correlation between latent infection on petioles and infection on fruit has been consistently seen. We suggest that determination of the degree of latent infection on grape petioles is a potential rapid method for assessment of *G. cingulata* resistance and can be used to evaluate grape seedlings.

#### REFERENCES

1. Chen Z.W. (1976) - *Information of Fruit Crop Technology* 3: 27-29.
2. Chen Z.W. et al. (1978) - pp. 352-354 in *Diseases and Pests of Fruit Trees and Their Control*. Hebei People's Publishing Co.
3. Hill B.H.E. (1979) - 112 pp in *Thesis Hohenheim. Univ., German Federal Republic*.
4. Gäumann E. (1951) - *Pflanzliche Infektionskrankheiten*, Aufl., Basel: Verlag Birkhäuser 2 ed. 681.
5. McClellan, et al. (1973) - *Amer. J. Enol. Vitic.* 24: 27-30.
6. Powelson R.L. (1960) - *Phytopath.* 50: 491-94.
7. Jarvis W.R. (1962) - *Ann. Appl. Biol.* 50: 569-75.
8. ---, et al. (1968) - *Hort. Res.* 8: 147-54.
9. Edney K.L. (1958) - *Ann. Appl. Biol.* 46: 622-29.
10. Kadd M.N., et al. (1925). *Ann. Appl. Biol.* 12: 14-33.
11. Verhoeff K. (1974) - *Ann. Rev. Phytopath.* 12: 99-110.
12. Adam, D.B., et al. (1949) - *Austr. J. Sci. Res. Ser. B*, 2: 1-18.
13. Meredith D.S. (1964) - *Nature* 201: 214-15.
14. Chakravarty T. (1957) - *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 40: 337-45.
15. Simmonds J.H. (1939) - *Proc. R. Soc. Queensl.* 52: 92-120.
16. Wade G.C. (1956) - *Austr. J. Agr. Res.* 7: 516-24.
17. Benjamini N., et al. (1972) - *Phytopath.* 62: 592-84.

#### SUMMARY

#### LATENT INFECTION OF *GLOMERELLA CINGULATA* (STON.) SPAULD ET SHRENK AND A METHOD FOR EARLY ESTIMATION OF THE RESISTANCE OF GRAPE SEEDLINGS TO *G. CINGULATA*

*Glomerella cingulata* (Ston.) Spauld et Shrenk can infect all green grape tissues but shows only on ripe berries. Conidia are reproduced only on the latently infected tissue after it has died and the temperature and humidity are suitable. Reproducing conidia on latently infected petioles by artificial methods was used to estimate the rate of latent infection of petioles in the field. The experimental results showed that the rate of latent infection of *G. cingulata* on petioles is positively and significantly related to the rate of the same infection on berries. The artificial inoculation of *G. cingulata* conidia on berries also indicated that the susceptibility of berries had a significant positive correlation with the latent infection of petioles. It was shown that the different organs of the same cultivars have the same resistant character to *G. cingulata*. We suggest that determining the rate of latent infection on grape petioles from seedlings grown in seriously infected vineyards or artificially inoculated petioles of seedlings be regarded as a new method for screening the resistant grape seedlings to *G. cingulata* in the juvenile stage.

## QUELQUES RESULTATS SUR LA RESISTANCE DE LA VIGNE AU MILDIU ET A L'OIDIUM

M.P. COUTINHO - A. MARTINS

Institut Supérieur d'Agronomie - Département de Botanique Tapada da Ajuda - Lisboa ( Portugal)

L'amélioration génétique des plantes en ce qui concerne la résistance aux maladies cryptogamiques, à laquelle la manipulation génétique ouvre de nouvelles perspectives, est de plus en plus

importante, non seulement au point de vue économique mais particulièrement au point de vue biologique.

Dans notre Département nous travaillons depuis longtemps sur le mildiou de la vigne et, dans cette communication, nous présentons les résultats plus récents sur l'étude de la résistance au mildiou et à l'oidium.

Au début, les clones sélectionnés pour leur résistance au mildiou, traduite par des taches d'infection sur les feuilles, réduites et moins sporulées, ont été obtenus par voie sexuelle à partir de croisements intraspécifiques de *Vitis vinifera*. Dans une deuxième phase, dans la ligne de la mutagenèse, nous avons utilisé des rayonnements (rayons X,  $\gamma$  et neutrons) sur des pépins, dont les résultats ont été déjà présentés au III<sup>ème</sup> Symposium.

A présent, nous employons particulièrement les rayons  $\gamma$  sur du matériel somatique, lignifié ou herbacé.

Nous avons testé les doses de: 0 (témoin), 500, 750, 1000 et

2000 rads sur des boutures de deux variétés, pexem, du sud du pays et touriga, très répandues dans les régions de dão et douro. Aussitôt, nous avons observé quelques petites différences sur l'état de développement des pousses.

Sous la dose de 500 rads on a vérifié un pourcentage un peu plus élevé des phases phénologiques habituellement traduites par E et F. (tableau I).

Tab. 1 - Sous les doses de 500 rads, le pourcentage des phases phénologiques E et F (feuilles libres et raisins visibles) est un peu plus élevé dans les variétés Pexem et Touriga

Var.	Phases phénol. (% de plantes)				
	Doses Rads	A	C	D	E, F
Pexem	500	20	—	—	80
	750	10	20	30	40
	1000	20	40	20	20
	2000	30	20	30	20
	témoin	20	30	10	40
Touriga	500	20	10	—	40
	750	20	30	10	70
	1000	50	10	10	30
	2000	50	10	20	20
	témoin	—	20	30	50

Dans une deuxième observation, sous la dose de 500 rads, un effet de stimulation a été nettement décelable, non seulement sur la longueur des pousses, mais aussi sur le nombre total des feuilles. On a observé ce phénomène dans les variétés pexem et touriga (fig. 1 et 2). (Coutinho, 1983).

Le niveau très bas de la dose d'irradiation n'empêche pas

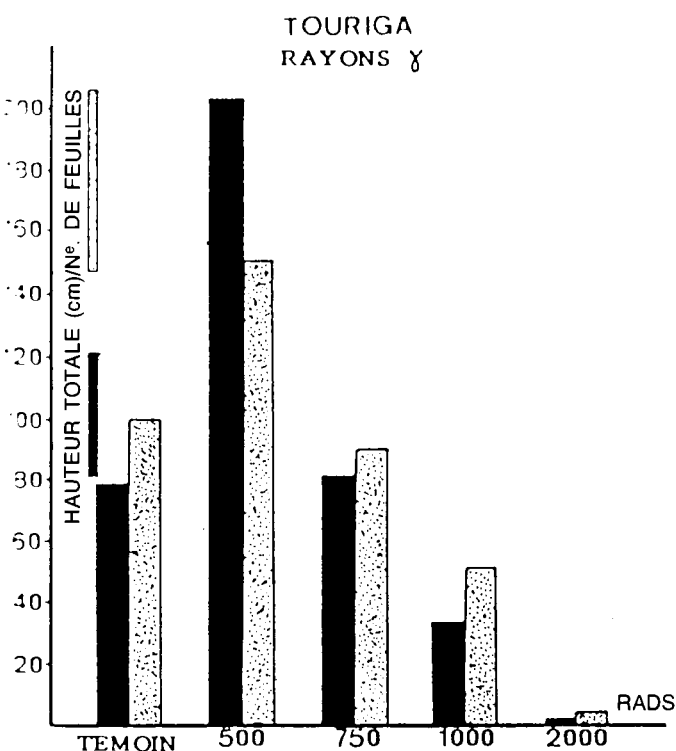


Fig. 1 - Un net effet de stimulation sur le nombre total des feuilles et sur la longueur totale des pousses de la variété Touriga sous 500 rads de rayons  $\gamma$

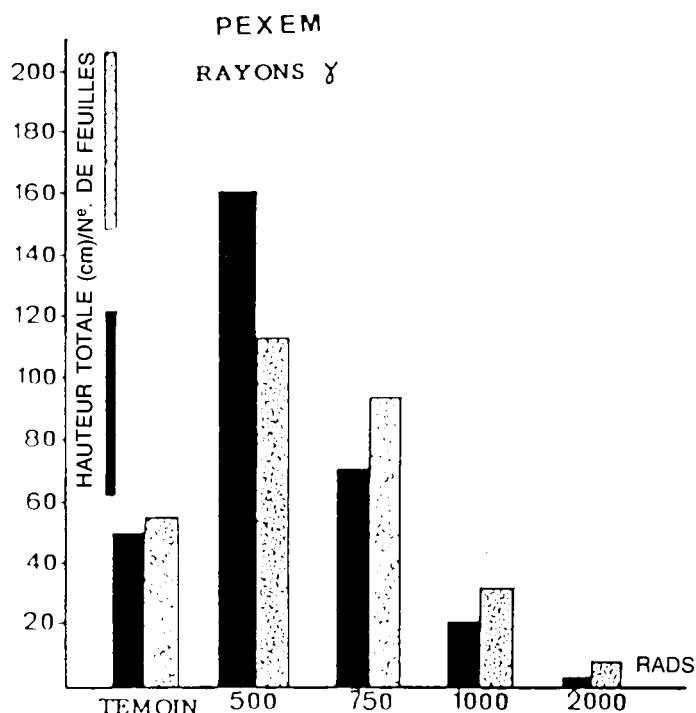


Fig. 2 - Le même effet de stimulation (fig. 1) dans la variété Pexem.

l'obtention de mutations et l'année dernière, par exemple nous avons obtenu dans touriga une plante "semi-résistante".

Nous avons traité aussi, avec des rayons  $\gamma$  de très petits rameaux herbacés, cultivés *in vitro* et maintenant nous étudions les plantes qui proviennent de ses bourgeons et qui présentent quelques variabilités.

A présent nous sommes très intéressés par l'irradiation des callus obtenus en culture de tissus *in vitro* ce qui permet une large multiplication des variétés laquelle est particulièrement importante pour quelques plantes de haute qualité mais très peu représentées dans nos vignobles.

Chez quelques unes des plantes sélectionnées pour leur résistance au mildiou, nous avons aussi vérifié un certain niveau de résistance à l'oidium et cette liaison a aussi été observée dans quelques variétés traditionnelles.

En ce qui concerne l'oidium, notre travail se dirige principalement vers l'étude des méthodes d'évaluation des relations hôte-parasite, des mécanismes de résistance, de la variabilité intra et intervariétale chez *vitis vinifera* aussi bien que de la mutagenèse artificielle.

#### Méthodologie d'évaluation des relations hôte-parasite et de la résistance des matériaux

Les méthodes classiques plus fréquemment utilisées dans ce domaine ne sont pas entièrement satisfaisantes, aussi bien du point de vue de l'objectivité des déterminations que du point de vue de la possibilité de quantification des résultats. D'une façon générale les inoculations sont encore souvent conduites par "souffle" des spores vers des plantes entières ou des feuilles détachées, sans possibilité de contrôle de la qualité, de la quantité et de l'homogénéité de l'inoculum. L'évaluation des infections produites est habituellement réalisée par observation macroscopique des symptômes ou des tâches de sporulation, plus rarement par observation des hyphes au microscope, mais toujours sous de graves contraintes quant à la séparation des influences ambiantes et des erreurs expérimentales.

Après l'observation de ces difficultés, nous avons mis au point une méthode d'évaluation de la réaction des matériaux à l'oidium basée sur l'inoculation homogène de disques de feuille détachée,

par transport des spores à sec, et quantification des infections par dénombrement des hyphes au microscope. L'inoculum est détaché à partir de feuilles infectées et projeté vers l'intérieur d'une cloche de verre au moyen d'un fin jet d'air de grande vitesse et petit volume, de façon à maintenir une distribution homogène à l'intérieur et qu'il se dépose par gravité au fond, où sont posés les disques à inoculer. Avec ce procédé on obtient une homogénéité d'inoculum très remarquable et on peut préciser sa densité par dénombrement de spores déposés sur des disques de plastique témoins (fig. 3).

Après une incubation sous les conditions optimales pour le développement de l'oidium on peut observer des croissances du micélium et des sporulations semblables aux autres observées sur des plantes entières. La quantification des infections est réalisée par échantillonnage de la densité du micélium, c'est à dire, par dénombrement des hyphes qui traversent 14-18 segments de 0.52 mm projetés au hasard sur le disque (fig. 4).

Le nombre de disques par modalité expérimentale (variété, clone) peut varier de 2 à 6 selon la rigueur prétendue. Avec 4 répétitions on arrive, généralement, à des résultats assez stables entre deux applications simultanées, de la méthode (fig. 5).

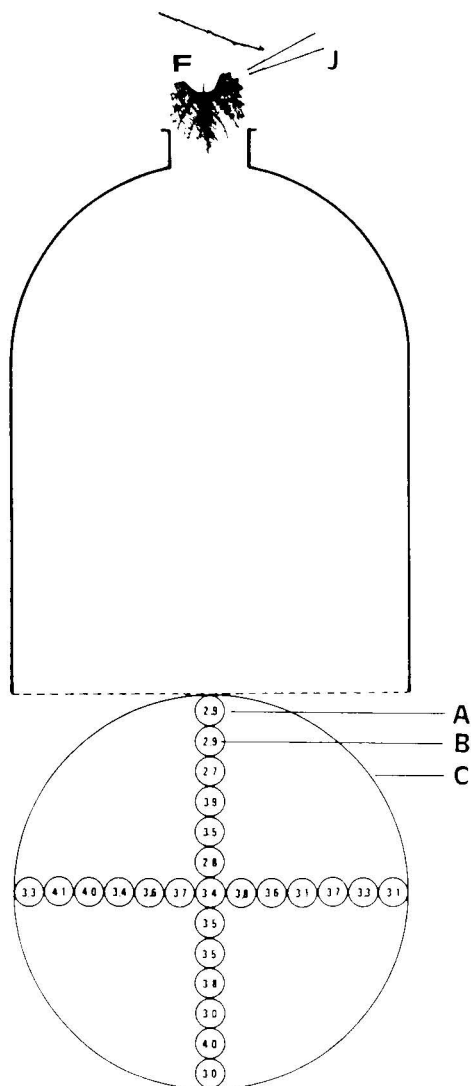


Fig. 3 - Cloche d'inoculation de disques de feuille détachée et homogénéité de distribution des spores au cours d'une expérience. F - feuille avec des taches de sporulation (inoculum); J - fin jet d'air (0,05 mm); A - disques de feuille détachée, au fond de la cloche, disposées en deux rangs orthogonaux (vues en projection verticale); B - nombre de spores/mm² récoltés sur les disques; C - projection verticale de la cloche.

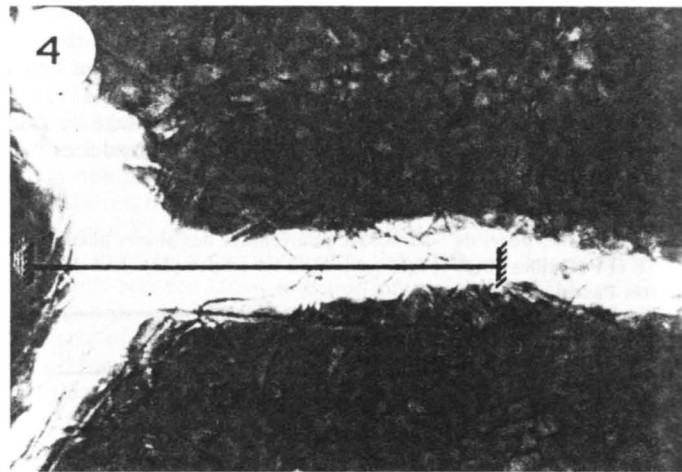


Fig. 4 - Echantillonnage de la densité du micélium sur un disque observation des hyphes que traversent un segment de 0,52 mm. Dans le cas échéant la lecture est de 24 hyphes/0,52 mm.

On peut dire que cette méthodologie, à cause de son caractère d'objectivité et de la facilité de son application, est devenue un outil très important dans le cadre du travail sur l'oidium en cours dans notre Département.

#### Mécanisme de résistance à l'oidium.

La méthodologie que nous venons de présenter ci-dessus permet la conduite d'évaluations très fines sur plusieurs aspects des relations hôte-parasite. L'inoculation avec *spores isolés* permet l'étude de la cinétique de sa croissance, dès la germination jusqu'à l'émission des conidiophores, et de repérer les moments auxquels la résistance de l'hôte empêche plus significativement le développement de l'oidium. Ainsi, au cours de plusieurs expériences parallèles entre

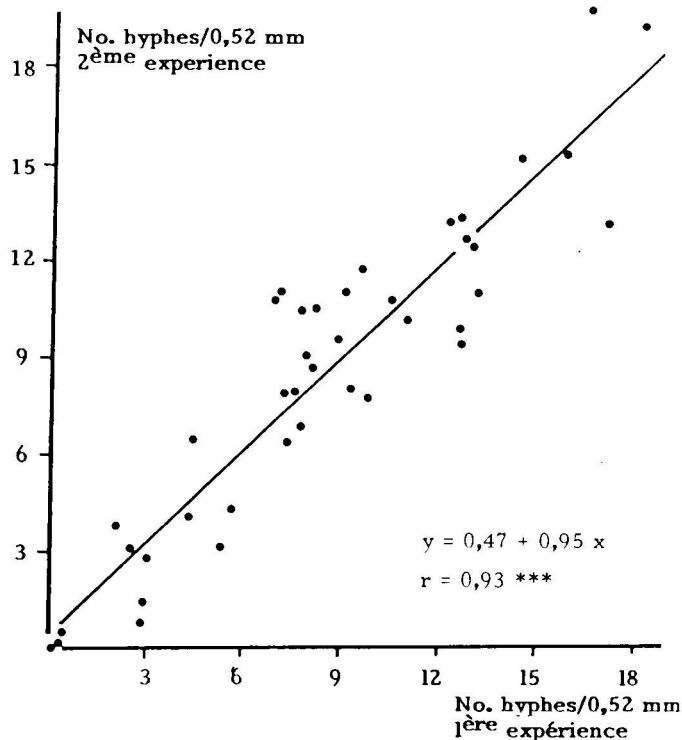


Fig. 5 - Analyse de régression relative aux résultats de deux applications simultanées de la méthode d'inoculation de disques de feuille détachée à la caractérisation de 41 variétés (deux disques par variété).

variétés résistantes (*R. du Lot, Berlandieri* × *Rupestris R110 et C19\**) et variétés traditionnelles sensibles (*Moscatel de Setúbal, Jaen et Trincadeira*), on a vérifié que l'opposition des premières au développement du mycelium se situait principalement au niveau de la pénétration de cellules par les appressoria (fig. 6).

Des observations antérieures que nous avons faites à ce sujet (Martins, 1984) indiquent que l'opposition à la pénétration des appressoria, dans les variétés résistantes, peut résulter d'une épaisseur supérieure des parois de ses cellules et de sa plus importante stabilité chimique. En outre, nous avons souvent observé, à l'endroit de pénétration, des agrégats cytoplasmiques du même type que ceux observés dans l'oidium des céréales (Sherwood et Vance, 1980). Cela semble indiquer que la présence de l'oidium pourra entraîner aussi la formation de barrières induites à la pénétration, soit sous la forme d'agrégats soit du type des pappilae, comme ceci a déjà été suggéré par Martins (1984) et Pratt et al. (1984). D'un autre côté, nous avons trouvé une liaison étroite entre la résistance et la présence, dans le cytoplasme des cellules épidermiques des feuilles, de granulations du type sphérosomes (fig. 7), avec un diamètre de 0.4 μm et une haute motilité, et nous sommes engagés, à présent, dans l'étude de sa nature enzymatique et fonctionnelle.

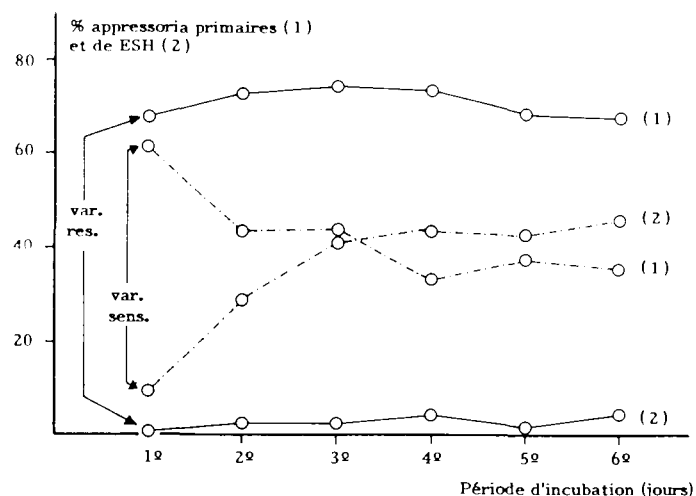


Fig. 6 - Cinétique de la formation des appressoria primaires (1) et des elongating secondary hyphae (ESH) (2) sur disques de variétés résistantes (*R. Lot, R110, C19*) et de variétés sensibles (*Mosc. Setúbal, Jean, Trincadeira*). Les différences pour 100% correspondent aux spores non germés.

### Variabilité intravariétale chez *Vitis vinifera* vis-à-vis de la résistance à l'oidium

L'existence de ce type de variabilité a déjà été décelée dans quel-

\* Obtention sexuelle de Coutinho (1964).

ques cas spéciaux, comme celui de cépages très anciens avec une large hétérogénéité ampélographique (Pospisilova, 1977). L'application de la méthode d'inoculation de disques nous a permis d'approfondir le problème en relation avec un cépage portugais, ampélographiquement homogène et cultivé sur une surface réduite

Tab. 2 - Résultats de plusieurs essais comparatifs d'inoculation de disques de feuille détachée de clones de Jaen. Les symboles indiquent le comportement du clone d'une ligne vis-à-vis du clone de la colonne.

+R) — plus résistant, différence significative au niveau 1%  
 -R) — moins résistant, différence significative au niveau 1%  
 =) — différence significative au niveau 1%

	J0566	J0609	J0612	J0656	J0771	J1402	J1417	J1602	J1626	J1636
J0566		-R	+R	-R -R	-R	≈	-R -R	≈	≈	-R
J0609	+R		+R	-R	≈	+R	≈	+R	+R	≈
J1612	-R	-R		-R	-R	-R	-R	≈	-R	-R
J0656	+R +R	+R	+R		+R	+R	+R +R +R +R	+R	+R +R	+R +R
J0771	+R	≈	+R	-R		+R	≈	+R	≈	≈
J1402	≈	-R	+R	-R	-R		-R	+R	≈	-R
J1417	+R +R	≈	+R	-R -R -R -R	≈	+R		+R	+R ≈	≈
J1602	≈	-R	≈	-R	-R	-R	-R		≈	-R
J1626	≈	-R	+R	-R -R	≈	≈	-R ≈	≈		-R
J1636	+R	≈	+R	-R -R	≈	+R	≈	+R	+R	

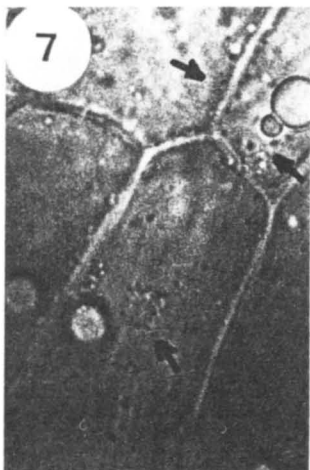


Fig. 7 - Granulations de type spherosomes dans les cellules épidermiques de la feuille de Moscatel de Setúbal.

- jaen, de la région du Dão. Les résultats de plusieurs essais comparatifs entre 10 clones sont regroupés dans le tableau II.

Nous devons remarquer que, malgré l'existence d'une tendance stable dans l'ensemble de plusieurs tests comparatifs, le comportement d'un clone ou d'une variété montre parfois des oscillations très nettes au cours du temps (et peut-être, sous l'influence d'autres facteurs comme, par exemple, la densité de spherosomes dans les cellules de la feuille. Cette situation nouvelle, dont nous cherchons actuellement une caractérisation expérimentale plus minutieuse, pourra avoir des conséquences très profondes dans le cadre des études d'épidémiologie de l'oidium et de systèmes de prévision de ses attaques.

#### Mutagenèse artificielle

Malgré l'existence de niveaux de résistance intervariétale expé-

rimentalement décelables, ils ne sont pas suffisants pour aboutir à tous les objectifs de l'amélioration génétique. Nous essayons donc l'application d'agents mutagéniques physiques (RX) sur de prompts bourgeons de plants en pot, pour l'obtention de mutations de résistance. D'après quelques résultats présentés ci-dessous, le siège des mécanismes de résistance les plus importants doivent se situer au niveau de la paroi des cellules épidermiques, et ceux-ci ont une origine histogénique superficielle, ce qui rend plus probable l'obtention de mutants au moyen de cette méthodologie.

Dans cette phase nous étudions la relation entre dose d'irradiation, nécessité de mutations morphologiques indicatrices et létalité. En suite nous ferons l'application systématique du test expéditif d'inoculation des disques pour déceler d'éventuelles mutations favorables.

#### REFERENCES

- Coutinho M.P. - *Some vine clones resistant to Plasmopara*. Vitis, 4 (4): 341-346, 1964.
- Coutinho M.P. - *Alguns «efeitos de estímulo» provocados na videira por irradiação*. Brotéria Genética, 4: 147-156, 1983.
- Coutinho M.P. et Corte G. - *Selected vine clones as sources of resistance to downy mildew*. Third Int. Symp. on Grape Breeding. Davis (California), 1980.
- Martins A. - *Contribution pour l'amélioration génétique de la vigne vis-à-vis de la résistance à l'oidium*. (en portugais). Thèse, Lisboa, 1984.
- Pospisilova D. - *Sensibilité des cépages de Vitis vinifera à l'oidium de la vigne, Uncinula necator (Schw.) Burr.*. II Symp. Int. sur l'Amélioration de la vigne. Bordeaux, 1977.
- Pratt C., Goffinet C., Welser M.J. et Pearson C. - *Powdery mildew of vitis: papillae (wall appositions) as a host response to infection*. Vitis, 23 (3): 225-229, 1984.
- Sherwood R. T. et Vance C.P. - *Resistance to fungal penetration in Gramineae*. Phytopathology, 70 (4): 273-279, 1980.

#### RESUME

#### QUELQUES RESULTATS SUR LA RESISTANCE DE LA VIGNE AU MILDIU ET A L'OIDIUM

Depuis longtemps, le problème de la résistance de la vigne aux principales maladies cryptogamiques a été une ligne de recherche dominante dans notre Département, particulièrement en ce qui concerne le mildiou. Dans la présente communication, nous présentons les résultats les plus récents sur l'étude de la résistance au mildiou et à l'oidium.

Au début, les clones sélectionnés pour leur résistance au mildiou ont été obtenus par voie sexuelle, à partir de croisements intraspécifiques de *Vitis vinifera*. Plus récemment les plants sélectionnés sont issus de l'application de rayons X,  $\gamma$  et de neutrons sur des graines de vigne et sur du matériel somatique; actuellement nous portons une attention spéciale à l'irradiation de tissus en culture *in vitro*. Chez quelques-unes de ces plantes, sélectionnées pour leur résistance au mildiou, nous avons aussi vérifié un certain niveau de résistance à l'oidium, et cette liaison a aussi été observée dans quelques variétés traditionnelles en culture.

En ce qui concerne l'oidium, notre travail s'appuie, d'une façon générale sur une méthodologie d'inoculation de disques de feuille détachée, par transport des spores à sec et quantification des infections par dénombrement direct des hyphes au microscope. Cette méthodologie a été mise au point dans notre Département, pendant les dernières années, et elle permet la conduite d'études très fines concernant les interactions hôte-parasite.

Parmi ces études, on fait une référence détaillée aux mécanismes de résistance, à la variabilité intravariétale vis-à-vis de la résistance à l'oidium chez les cépages traditionnels et à la mutagenèse artificielle pour l'obtention de mutants résistants.

En ce qui concerne les mécanismes de résistance, on est arrivé à la conclusion que les plus efficaces devront correspondre à l'opposition des cellules à leur pénétration par les appresoria, soit comme le résultat de ses caractéristiques mécaniques et chimiques, soit en conséquence de la formation de barrières induites.

Malgré le faible niveau de variabilité vis-à-vis de la résistance à l'oidium observé à l'intérieur de l'espèce européenne, on a réussi à déceler l'existence de variabilité intravariétale chez deux cépages traditionnels portugais. Cette variabilité aura une importance pratique certaine dans le cadre de la sélection clonale et elle suggère la nécessité, dans la nature, de mutations de résistance.

Les résultats sur les mécanismes de résistance et sur la variabilité naturelle intravariétale soulignent l'intérêt de la mutagenèse artificielle en tant que méthode logique pour l'obtention de mutants résistants. Ainsi, on a poursuivi des travaux sur l'efficacité biologique relative de quelques types de radiation et sur les meilleures conditions pour son application, et nous présentons quelques résultats obtenus.

# RECHERCHES SUR LA RESISTANCE DE NOUVELLES VARIETES DE VIGNE A L'OIDIUM

C. HEINTZ - U. STEIN - R. BLAICH

Institut Fédéral de Recherche pour l'amélioration de la vigne - Geilweilerhof - Siebeldingen RFA - (Fed. Rep. of Germany)

## Introduction

Lors de ces dernières années on a pu observer une recrudescence de la maladie causée par l'Oïdium, qui semble-t-il, est due aux modifications des techniques de protection du vignoble permettant notamment d'allonger les délais entre les traitements anti-mildiou.

Dans la lutte contre les parasites et les ravageurs de la vigne l'emploi des procédés chimiques se heurte à 2 principales difficultés: le risque d'apparition de pathotypes résistants et la pollution due aux résidus de pesticides. De ce fait la lutte génétique, se traduisant par la sélection de variétés résistantes, s'est considérablement développée.

Dans le cadre d'un programme de création de variétés résistantes au Mildiou et à la Pourriture Grise, des méthodes de tri efficaces, pratiques et reproductibles ont été mises au point. Il s'est pourtant avéré nécessaire d'améliorer la méthodologie de sélection pour la résistance à l'Oïdium. Afin de permettre une sélection précoce et compte-tenu du fait que les plants de semis ne produisent des grappes qu'après 2 ou 3 ans, les organes pris en considération sont les feuilles.

Une autre voie de recherche a été orientée vers l'étude des causes possibles de la résistance des Vitacées à ce parasite, les informations qui découlent de cette étude pouvant éventuellement conduire à la simplification et l'optimisation d'un programme de sélection. Nous avons émis l'hypothèse d'un mécanisme de type structural, où l'épaisseur et la morphologie de la cuticule des feuilles et des baies joueraient un rôle déterminant. Elle se base sur diverses observations, notamment sur la différence de sensibilité selon l'âge des feuilles; le fait qu'en culture *in vitro*, où les feuilles ont une cuticule très mince, les variétés normalement résistantes deviennent sensibles; enfin sur le processus d'infection même de ce parasite strictement externe.

## Matériel et méthodes

### Production et conservation de l'inoculum

Une culture pure d'Oïdium a été obtenue par transfert d'inoculum initialement contaminé sur des feuilles en survie, stérilisées en surface, puis sur des plantes *in vitro* (cf. Stein, Heintz et Blaich 1985, pour la composition du milieu de culture).

Avant d'effectuer un test d'inoculation, un passage sur feuilles isolées est nécessaire pour obtenir une quantité suffisante d'inoculum.

### Méthodologie d'inoculation artificielle

Les spores sont déposées à sec sur la face inférieure de disques de feuilles stérilisées en surface, de 16 mm de diamètre, prélevés sur des plantes soit de serre soit de plein champ et maintenus en survie sur papier filtre épais imbibé d'eau, dans des boîtes de plastique transparent (23 × 23 × 2 cm). L'incubation se fait à

la température de 25°C, avec un éclairage de 3000 lux et une photopériode de 16h.

### Densité de l'inoculum

Elle est évaluée par comptage des spores présentes sur des lamelles porte-objet placées entre les disques de feuilles. Leur vitalité est déterminée grâce à une technique de coloration décrite par Stein et Bachmann (1982). Des solutions de diacétate de fluorescéine (0,5% dans de l'acétone) et de Bleu Evans (1% dans H<sub>2</sub>O) sont diluées respectivement au 1/50<sup>e</sup> et au 1/25<sup>e</sup> dans de l'eau distillée. 10 à 20µl de ce mélange sont déposés sur la lamelle. Pour les disques de feuilles on utilise uniquement 100µl de la solution de fluorescéine, diluée au 1/10<sup>e</sup> dans H<sub>2</sub>O. L'observation se fait après 5-10 min à l'aide d'un microscope à incandescence sous éclairage ultra-violet (305/450 nm). Les conidies intactes émettent une fluorescence verte, et celles qui sont détruites apparaissent en bleu sous lumière blanche.

### Notation de l'infection

Les sporulations sont observées 12 jours plus tard, à la loupe binoculaire, en donnant des notes de 0 à 9.

### Mesure de l'épaisseur de la cuticule

Elle s'effectue au microscope électronique à balayage, sur des échantillons fixés et préparés selon la technique de cryodessiccation de Blaich et al (1984). 150 mesures ont été faites sur un ensemble de 5 disques de feuilles par variété, prélevés sur des plantes de plein champ.

### Essai de reconstitution du processus d'infection *in vitro*:

Un film de méthacrylate (laque), dont on peut contrôler l'épaisseur en effectuant diverses dilutions, a été déposé sur l'eau distillée contenue en boîte de Pétri. L'élasticité et l'étanchéité ont été testées par des techniques de fluorescence (Elles seront détaillées au cours d'une prochaine publication). Des conidies sont déposées ensuite sur le film. Après 24h, une solution de diacétate de fluorescéine (0,5% dans de l'acétone) diluée au 1/50<sup>e</sup> est infiltrée sous le film.

## Résultats

### 1. La méthode d'inoculation artificielle

Ces résultats représentent une partie des travaux faisant l'objet d'une publication (Stein, Heintz et Blaich, 1985), traitant aussi d'essais tentés avec le mildiou.

#### 1.1 Détermination de la vitalité des conidies.

Il est important de pouvoir évaluer non seulement la densité mais aussi la qualité de l'inoculum, afin d'être en mesure de reproduire les mêmes conditions d'inoculation d'un test à l'autre. L'utilisation du diacétate de fluorescéine et du colorant complémentaire Bleu Evans permet de déterminer le taux de germination des conidies sur lame de verre (cf figure 1) et d'observer le développement du champignon à la surface des feuilles (cf figure 2).

Les conidies fluorescentes se distinguent de celles qui sont colorées en bleu par un taux de germination bien plus élevé, comme le montre le tableau 1.

L'augmentation du pourcentage de conidies à faible fluores-

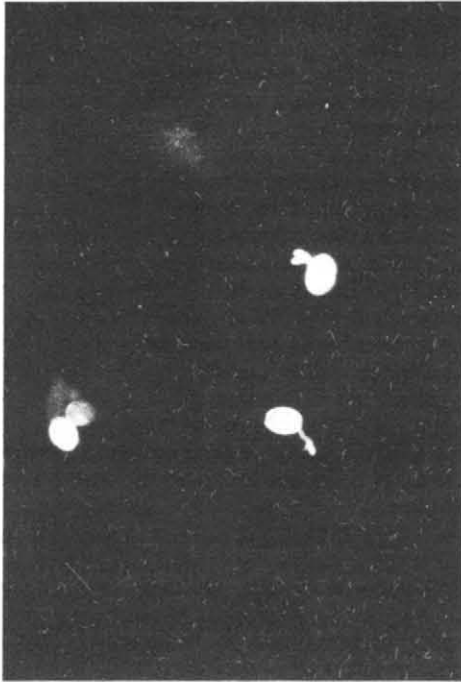


Fig. 1 - Germination de conidies d'Oidium sur lames porte-objet et coloration au diacétate de fluorescéine après 6 h d'incubation.

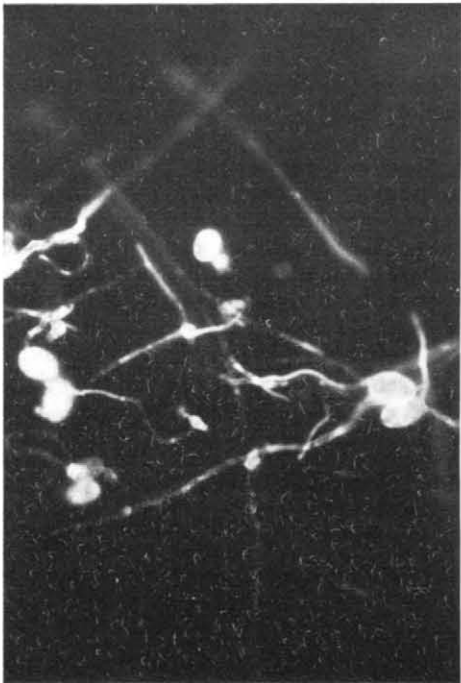


Fig. 2 - Germination de conidies d'Oidium sur disques de feuilles de vigne et coloration au diacétate de fluorescéine après 96 h d'incubation.

cence dans le temps peut s'expliquer par la dilution progressive du colorant à mesure de la croissance du tube germinatif.

Nous avons aussi vérifié par cette méthode l'effet inhibiteur de l'eau sur la germination comme nous le montre le tableau 2, ce qui confirme les résultats de Delp (1954) et Boubals (1961).

Ces résultats montrent par ailleurs qu'on peut utiliser les lames de verre pour évaluer le taux de germination, car elle est comparable à celle qui s'effectue sur disques de feuilles, (le taux légèrement supérieur sur verre est dû au fait que sur feuille les tubes germinatifs sont observés de façon moins nette).

Tab. 1 - Pourcentage de conidies d'Oidium tuckeri fluorescentes (intactes) et colorées en bleu (détruites), et leur taux de germination sur lames porte-objet dans des conditions d'humidité relative de 80-90% (chaque valeur représente la moyenne de 100-200 conidies et 3 répétitions)

temps d'incubation en h.	Coloration des conidies et taux de germination en %						
	forte fluorescence	taux de germination	faible fluorescence	taux de germination	coloration bleue	taux de germination	germination totale
0	14,6	0	67,8	0	17,7	0	0
3	19,5	30,3	54,3	29,7	27,1	3,5	25,9
6	16,8	49,5	57,5	42,4	25,7	6,3	35,3
24	8,8	92,5	52,9	77,8	38,2	12,8	54,9

Tab. 2 - Taux de germination de conidies d'Oidium tuckeri sur disques de feuilles de V. vinifera cv. Riesling et sur lames porte-objet, l'inoculum étant déposé soit sous forme de suspension soit à sec. L'incubation se fait dans des conditions de 80-90% d'humidité relative

temps de germination en h.	taux de germination en %, sur			
	disques de feuilles		lames de verre	
	spores à sec	suspension	spores à sec	suspension
6	38,4	20,3	46,6	4,2
24	52,4	32,1	62,1	24,5

La seule différence se trouve dans la longueur du tube germinatif qui après 48 h d'incubation sur verre, atteint au maximum la longueur d'une conidie, ceci par manque d'éléments nutritifs.

## 1.2. Efficacité de la méthode de tri.

Elle a été éprouvée sur de nouveaux cépages issus d'hybridation interspécifique, sélectionnés au Geilweilerhof, ainsi que sur des variétés européennes sensibles.

On peut distinguer 3 classes de sensibilité, comme le montre

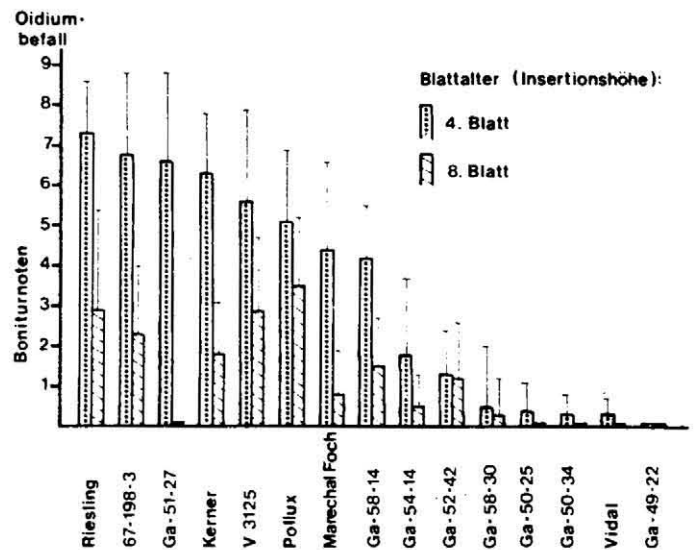


Fig. 3 - Inoculation sur disques de feuilles de 15 cépages de plein champ. La sensibilité à l'Oidium des feuilles jeunes (niveau d'insertion 4 à partir de l'extrémité apicale) est représentée en pointillés, celle des feuilles âgées (niv. d'inser. 8) en hachures.



la figure 3: des cultivars sensibles, parmi lesquels on trouve les espèces européennes (Riesling, Kerner); des cultivars totalement résistants (Vidal, Gf. Ga 49-22, Gf. Ga. 50-34) et un groupe intermédiaire où la sensibilité varie entre ces 2 extrêmes, ce qui laisse d'ailleurs à penser qu'il s'agit d'une résistance du type polygénique. Les 2 derniers groupes sont formés par des cépages issus d'hybridation interspécifique.

On observe aussi que, de façon générale, les feuilles jeunes (niveau d'insertion 4 à partir de l'extrémité apicale) sont beaucoup plus sensibles que les feuilles âgées (niv., d'inter. 8).

On constate une différence de sensibilité indépendante de la variété, entre les feuilles provenant de plantes de plein champ et de serre (boutures racinées), les plantes de serre étant beaucoup plus sensibles (cf figure 4).

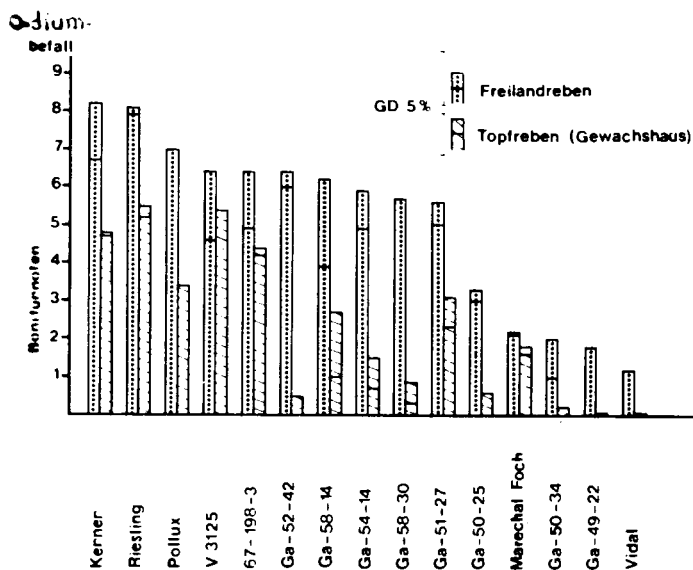


Fig. 4 - Inoculum sur disques de feuilles jeunes de 15 cépages différents; la sensibilité à l'Oidium des plantes de plein champ étant représentée en pointillés, en hachures pour les plantes de serre.

Cette différence est vraisemblablement due au mode de croissance de ces boutures en serre qui est plus lente, réduite et dont les feuilles, pour un même niveau d'insertion, sont physiologiquement plus âgées.

Les légères différences dans le taux d'infection d'un cépage donné, d'une série d'expériences à l'autre (cf fig. 3 et 4) peut s'expliquer par le fait que les essais s'étalent de juin à août, les stades phénologiques des plantes étant de ce fait différents.

Malgré cela les 3 groupes de sensibilité se retrouvent et correspondent aux résultats obtenus avec l'infection spontanée et induite de plantes entières en serre.

L'évaluation de l'infection spontanée en plein champ des feuilles et des baies des 15 cépages étudiés conduit à des résultats semblables.

Une série d'essais a permis de vérifier qu'il n'existe pas de différences, quant au taux d'infection, entre les faces supérieure et inférieure des feuilles quelle que soit la variété, comme l'a observé Boubals (1961). Dans des conditions naturelles, sur plantes entières, l'Oidium attaque essentiellement la face supérieure des feuilles, permettant sans doute un meilleur maintien des conidies à la surface.

Les 1<sup>ers</sup> résultats concernant un test d'inoculation sur des baies isolées en survie a permis de séparer les variétés en 2 groupes: des cépages sensibles (avec un taux d'infection très moyen) où l'on retrouve les espèces européennes, et des cépages résistants. Mais aucune conclusion définitive n'a pu être tirée. Des recherches ultérieures seront effectuées afin de pouvoir établir une bonne corrélation entre la sensibilité des feuilles et des baies, dans des conditions d'inoculation sur des organes isolés en survie, et pour appuyer

les observations faites dans des conditions naturelles sur plantes entières.

## 2. Etude des causes possibles de la résistance des Vitacées à l'Oidium.

### 2.1. Mesure de l'épaisseur de la cuticule.

Les 1<sup>ers</sup> résultats obtenus avec 10 cépages permettent d'observer que la sensibilité diminue à mesure que l'épaisseur de la cuticule augmente (de 0,8 à 1,5  $\mu$ ), ceci pour des feuilles jeunes provenant de plants de plein champ.

Il existe une corrélation inversement proportionnelle significative entre ces 2 facteurs (cf figure 5).

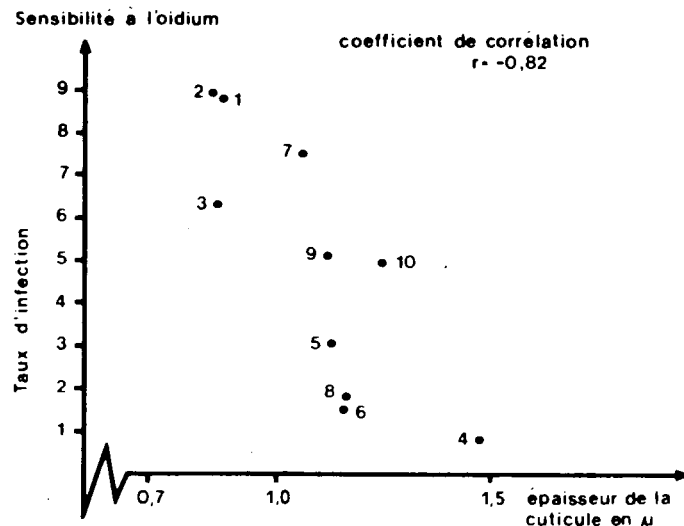


Fig. 5 - Sensibilité à l'Oidium de jeunes feuilles de 10 cépages de vigne de plein champ, en fonction de l'épaisseur de leur cuticule.

De manière générale, les feuilles adultes sont beaucoup moins sensibles et présentent une cuticule plus épaisse. Une corrélation moins évidente dans ce cas permet de penser que d'autres facteurs de résistance entrent sans doute en jeu à ce niveau.

### 2.2. Essai de reconstitution *in vitro* du processus d'infection.

Il a été nécessaire d'éprouver l'élasticité du film, afin d'être sûr que la chute des spores ne provoque pas de petites déchirures.

Quant à l'étanchéité, il a fallu s'assurer que le diacétate de fluorescéine ne puisse pas atteindre par simple diffusion la surface supérieure du film, où se trouvent les conidies.

Le détail des diverses méthodologies figurera dans une publication à venir.

L'épaisseur des différents films a été déterminée au microscope électronique à balayage, elle varie selon la concentration de la laque utilisée, entre 0,2 et 2  $\mu$ .

24 h après le dépôt des conidies, on observe non seulement la croissance de tubes germinatifs et d'appressoria (elle se produit aussi sur verre), mais il semble qu'en plus des suçoirs aient pénétré à travers la membrane synthétique. En effet ce ne sont que les conidies ayant formé des appressoria qui sont fluorescentes. Les spores n'ont pu être en contact avec le colorant que par l'intermédiaire de ces suçoirs (cf figure 6).

## Discussion - Conclusion

La méthode de tri mise au point présente, comparée à un test sur plantes entières, les avantages suivants:

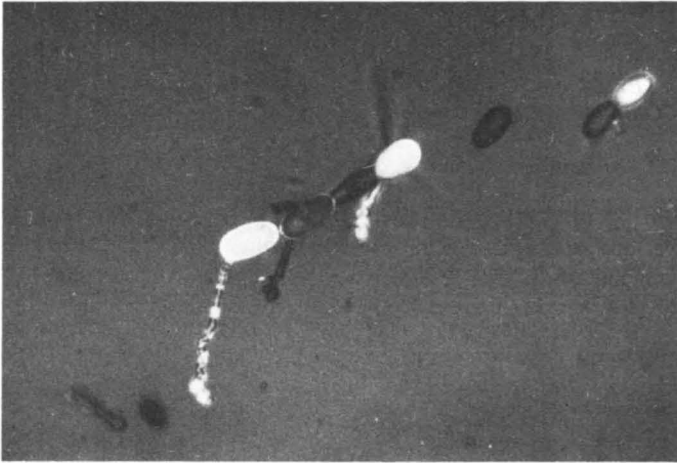


Fig. 6 - Germination de conidies d'Oidium sur membrane artificielle recouvrant un milieu liquide en boîte de Pétri. Après 24 h d'incubation, du diacétate de fluorescéine est infiltré sous le film. On peut distinguer la membrane par les plis qu'elle forme autour des conidies.

— La densité de l'inoculum et les conditions physiques sont mieux contrôlées.

— Les notations du taux d'infection se font avec plus d'exactitude.

— La réduction de l'espace nécessaire permet de tester un nombre plus élevé de variétés.

— La possibilité de prélever plusieurs disques sur une feuille permet de tester la résistance à différentes maladies, la plante restante pouvant encore servir à d'autres expérimentations.

Cette étude permet de dégager quelques observations importantes au niveau de la sélection pour la résistance à l'Oidium: la sensibilité des vitacées dépend de l'âge physiologique des feuilles; ce caractère n'est d'ailleurs pas variétal.

Les plantes de plein champ se trouvent être les plus sensibles à l'Oidium. Ce sont elles qui sont le plus indiquées pour un test d'inoculation artificielle, et plus précisément-compte-tenu de l'âge et de la taille des feuilles — le niveau d'insertion 5.

Cette méthode sera d'ailleurs appliquée au cours de la période

de végétation à venir à un ensemble de plants de semis issus de divers croisements. Enfin, certaines expériences seront renouvelées en approfondissant le problème de la corrélation baies/feuilles en survie; ainsi que l'éventuelle influence de la variabilité génétique de diverses populations d'*Oidium tuckeri* sur la sensibilité des Vitacées.

Pour l'étude des causes possibles de la résistance à l'Oidium, les résultats obtenus confirment l'hypothèse d'un mécanisme de type structural, qui semblerait jouer un rôle, surtout dans le cas des feuilles jeunes. Il reste bien sûr à étayer ces résultats, par une évaluation de l'épaisseur de la cuticule des feuilles d'autres variétés, ainsi que celle des baies.

Bien que l'épaisseur de la cuticule ne soit sans doute pas le mécanisme principal de résistance, ces résultats peuvent avoir une importance du point de vue pratique: on pourrait éventuellement envisager son utilisation comme critère de sélection.

Quant à l'élaboration d'un processus d'infection *in vitro*, de nombreuses améliorations restent à faire, mais cette méthode pourrait constituer un excellent outil de travail pour une meilleure compréhension du processus d'infection de ce parasite, ainsi que pour l'étude des divers mécanismes de résistance de la plante, tant structuraux que physiologiques. En effet, l'épaisseur du film étant maintenue constante, on peut faire varier le milieu nutritif liquide, et étudier ainsi la possibilité d'un mécanisme de type physiologique. De même, la culture de tissus *in vitro* (cals) pourrait servir à entreprendre des recherches dans ce domaine.

#### BIBLIOGRAPHIE

- Blaich R., Stein U. und Wind R. (1984) - *Perforationen in der Cuticula von Weinbeeren als morphologischer Faktor der Botrytis Resistenz*. Vitis 23, 242-256.
- Boubals D. (1961) - *Etude des causes de la résistance des Vitacées à l'Oidium de la vigne Uncinula necator (Schw.) Burr.* - et de leur mode de transmission héréditaire. Ann. Amélior. Plantes 11(4), 401-500.
- Delp Ch. J. (1954) - *Effect of temperature and humidity on the grape Powdery Mildew fungus*. Phytopathol. 44, 615-626.
- Stein U. und Bachmann O. (1982) - *Nachweis phytotoxisch wirkender Stoffwechselprodukte mit pflanzlichen Zellsuspensionen*. Angew. Botanik 56, 99-107.
- Stein U., Heintz C. und Blaich R. (1985) - *Die in vitro Prüfung von Rebsorten auf Oidium und Plasmopara-Resistenz*. J. Plant Dis. and Protection (sous presse).

#### RESUME

#### RECHERCHES SUR LA RESISTANCE DE NOUVELLES VARIETES DE VIGNE A L'OIDIUM

Dans la lutte contre les parasites et les ravageurs de la vigne les procédés chimiques se heurtent à 2 principaux problèmes: l'apparition de pathotypes résistants, ainsi que la pollution de l'environnement provenant des résidus de pesticides. Pour ces raisons la lutte génétique se traduisant par la sélection de variétés résistantes s'est considérablement développée. Il s'est avéré nécessaire de trouver une méthode de tri efficace dans le cadre d'un programme de sélection. Etant donné la discrimination précoce dans les descendances issues de croisements, les organes utilisés pour l'infection sont les feuilles.

Dans le cas de l'Oidium (*O. tuckeri*), une méthode d'inoculation artificielle de disques de feuilles en survie a été mise au point.

Pour ce qui est de la production et de la conservation de l'inoculum, des cultures purifiées d'Oidium ont été obtenues par transfert d'inoculum initialement contaminé sur des plantes *in vitro*, avec passage intermédiaire sur feuilles isolées en survie, stérilisées en surface.

Une technique de coloration au diacétate de fluorescéine et au Bleu Evans permet de déterminer l'aptitude pathogène des conidies et d'observer la croissance du champignon à la surface des feuilles.

Cette méthode, comparée à un test sur plantes entières, présente les avantages suivants:

- 1) La densité de l'inoculum et les conditions physiques sont mieux contrôlées.
- 2) La notation du taux d'infection dans les différents essais s'effectue avec plus d'exactitude.
- 3) L'espace restreint requis permet de tester un nombre élevé de variétés.
- 4) La possibilité de prélever plusieurs disques sur une feuille permet de tester simultanément la résistance à différentes maladies, la plante restante pouvant encore servir à d'autres expérimentations.

Le comportement de 18 variétés de vigne a été étudié de cette manière, les résultats son comparables à ceux obtenus avec l'infection spontanée de ces variétés en plein champ et en serre.

Les cultivars les plus sensibles à l'Oidium appartiennent à l'espèce *V. vinifera*, ainsi que certains cultivars issus de croisements interpécifiques, ces derniers se montrant en général partiellement, voire absolument résistants.

Ces expériences ont été effectuées parallèlement avec le Mildiou (*P. viticola*). La méthode s'est avérée tout aussi efficace avec ce parasite.

Il reste à essayer d'établir une corrélation entre l'infection de la feuille et celle de la grappe, ainsi qu'à étudier les causes des différences de sensibilité des variétés de vigne.

Les premiers résultats en faveur de l'hypothèse d'une résistance de type structural, ont été obtenus en observant l'épaisseur de la cuticule de baies et de feuilles au microscope électronique à balayage.

# L'HETEROCARYOSE CHEZ «*PLASMOPARA VITICOLA*»:

## MISE EN EVIDENCE, CONSEQUENCES AGRONOMIQUES SUR LA SELECTION DE VARIETES DE VIGNE RESISTANTES AU MILDIOU

H. LI (1) - M. CLERJEAU (2) - J.P. DOAZAN (1)

(1) INRA - Centre de Recherches de Bordeaux - Station de Recherches de Viticulture - (France)

(2) INRA - Centre de Recherches de Bordeaux - Station de Pathologie Végétale (France)

### Introduction

La résistance génétique est l'une des principales voies suivies pour améliorer la lutte contre le Mildiou de la Vigne dû à *Plasmopara viticola* (B. et C.) Becl. et de Tomi. La plupart des programmes de sélection conduits aujourd'hui utilisent comme géniteurs de résistance des hybrides issus de croisements interspécifiques. L'un des principaux problèmes soulevés par cette approche réside dans le risque de développement chez l'agent pathogène, de pathotypes plus agressifs, mieux adaptés aux variétés peu sensibles. Le fait qu'aucune attaque significative de Mildiou n'ait été signalée jusqu'à présent dans la plupart des pays où des hybrides interspécifiques ont été cultivés pendant plusieurs décennies, laisse plutôt penser que les capacités d'acquisition de virulence ou d'agressivité par *P. viticola* sont limitées. On doit cependant noter quelques cas de variations du pouvoir pathogène mis en évidence par Boubals en France (1959) et l'apparition récente chez *P. viticola* de souches résistantes à certains fongicides (Clerjeau et Simone, 1982).

En raison du fait que la sélection conduite à l'INRA de Bordeaux a pour but d'associer la résistance à une haute qualité organoleptique et impose des rétrocroisements nombreux avec des variétés sensibles, on peut craindre une érosion de la base génétique de résistance des variétés comparativement à celle des géniteurs. Dans de telles conditions, on peut s'interroger sur les risques, à terme, de voir apparaître des races pathogènes sur ces variétés.

C'est dans ce contexte qu'il est apparu nécessaire d'entreprendre des études de base sur la variabilité naturelle de l'agressivité du *P. viticola*. Les résultats acquis à partir de l'étude de sporocystes isolés de plusieurs populations nous ont conduits à examiner plusieurs conséquences pratiques au niveau de la sélection variétale: tests d'inoculation artificielle, risques de gain d'agressivité du champignon.

### Matériel et méthodes

L'ensemble des résultats présentés a été obtenu à partir d'inoculations de sporocystes en suspension dans de l'eau permutée, à des disques de feuilles de Vigne de 18 mm de diamètre, prélevés sur des jeunes plants bouturés élevés en serre, maintenus en survie en boîtes de Pétri sur 3 couches de papier filtre imbibées d'eau.

Pour l'inoculation de sporocystes isolés, la méthodologie suivante a été retenue: les sporocystes en suspension dans de l'eau permutée, à la concentration de 1000 sporocystes par ml, ont été étalés sur des lames porte-objet enduites d'eau gélosée (15 g/l d'agar) puis prélevés individuellement sous le microscope (G = 200) à l'aide d'une pipette Pasteur et transférés immédiatement

dans une gouttelette d'eau de 25 µl placée sur la face inférieure d'un disque de feuille (cv. Muscadelle).

Les disques de feuilles contaminés ont été placés en incubation à la température de 22° C dans une enceinte climatique éclairée 16 heures par jour par des tubes fluorescents apportant 5000 lux.

Les sporulations obtenues ont été appréciées 5 jours plus tard en attribuant à chaque tache fructifère une note de 0 à 10.

### Résultats

#### I. ETUDE DE LA VARIABILITE DE LA SPORULATION CHEZ. *P. VITICOLA*

La plupart des résultats présentés ici a été extraite d'une étude plus complète qui est en cours de publication par ailleurs (Li, Doazan, Clerjeau, 1985).

##### a) Variabilité de la sporulation de sporocystes isolés de plusieurs populations

Pour 8 populations de *P. viticola* prélevées dans diverses régions viticoles françaises (Cognac, Bordeaux, Champagne, Alsace, Languedoc, Anjou), 20 sporocystes ont été respectivement individualisés puis inoculés à des disques de feuilles. Pour chacune des populations, la distribution des notes de sporulation obtenues, étagées entre 0 et 5, s'est avérée très large ainsi que le montre la fig. 1 pour la souche Cognac 1 retenue comme exemple.

La variation du nombre de noyaux contenus dans les sporocystes qui conditionne le nombre de zoospores émises et l'âge de ces derniers sont des facteurs qui peuvent expliquer les différences d'agressivité entre sporocystes. Il est cependant apparu que les différences qualitatives entre noyaux jouent un rôle plus important dans le déterminisme de la sporulation induite par chaque sporocyste. Ceci a été montré par une étude de l'homogénéité des sporulations produites par des clones issus de plusieurs repiquages monosporocystes successifs, qui est présentée ici.

##### b) Variabilité de la sporulation de souches issues de plusieurs repiquages monosporocystes successifs

Bien que chez *P. viticola*, comme chez tous les champignons siphomycètes, les noyaux conidiens doivent être considérés théoriquement comme issus de la multiplication d'un même noyau d'origine (celui de la zoospore qui a donné naissance au thalle), il est apparu nécessaire d'évaluer les possibilités d'échanges nucléaires entre thalles d'origine différente. Pour cela, nous avons com-

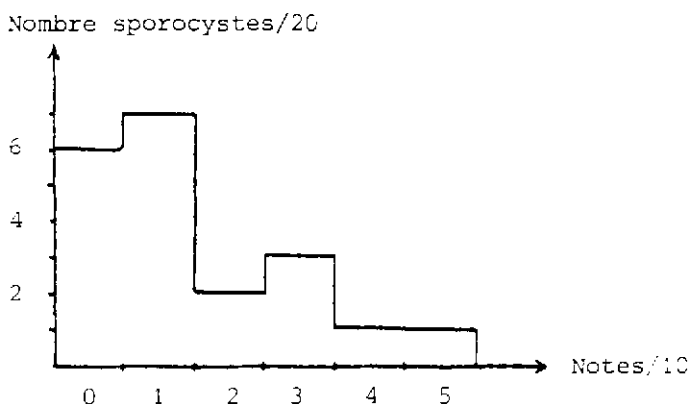
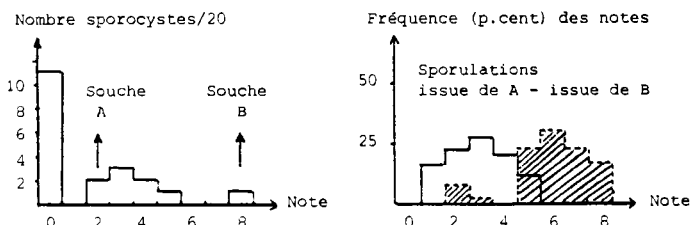


Fig. 1 - Exemple de distribution des notes de sporulation obtenues avec 20 sporocystes individualisés d'une population de *P. viticola* de la région de Cognac.

paré la variabilité des notes de sporulation obtenues avec des sporocystes provenant de souches ayant subi un nombre de clonages plus ou moins important. On peut en effet considérer que la probabilité pour les sporocystes d'être homocaryotiques est d'autant plus grande que le nombre de clonages aura été élevé.

Les résultats de la figure 2 et de la figure 3 résument l'évolution de la variabilité intraclonale de la sporulation après 3 et 7 repiquages monoconidiens successifs d'une population issue de la région de Cognac:

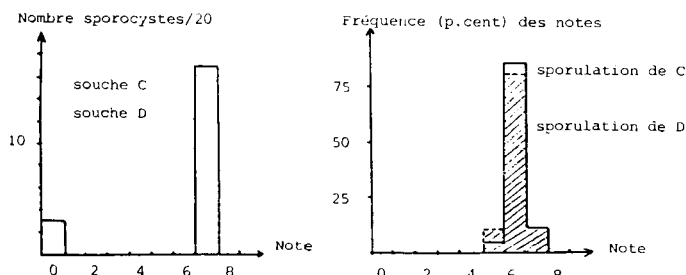
**Fig. 2 - Variabilité de la sporulation des conidies de *P. viticola* isolées après 3 repiquages monosporocystes successifs.**



**Fig. 2A - Distribution des notes obtenues avec 20 sporocystes individualisés après 3 clonages.**

**Fig. 2B - Distribution des taux de sporulation de 2 souches issues d'une même population après 3 clonages (30 disques contaminés/5 sporocystes).**

**Fig. 3 - Variabilité de la sporulation des conidies isolées de *P. viticola* après 7 repiquages monosporocystes successifs.**



**Fig. 3A - Distribution des notes obtenues avec 20 sporocystes individualisés après 7 clonages.**

**Fig. 3B - Distribution des taux de sporulation de 2 souches issues d'une même population après 7 clonages (30 disques contaminés/5 sporocystes).**

A l'issue du troisième repiquage, les notes de sporulation s'échelonnaient entre 0 et 8 selon les 20 clones considérés (fig. 2A). A partir d'un disque A noté 2 et d'un disque B noté 8, deux suspensions de sporocystes ont été réalisées puis inoculées respectivement sur 30 disques de feuilles à raison de 5 sporocystes par disque. L'analyse des notes obtenues montre que la sporulation induite par la souche A a été supérieure à celle de la souche B, la différence entre les deux souches étant hautement significative, l'étendue de la variation étant par ailleurs importante chez chacune d'elles (fig. 2B).

— A l'issue du septième repiquage, toutes les taches sporifères obtenues présentaient un aspect comparable (note moyenne 7) (fig. 3A). Deux souches C et D prélevées sur 2 disques différents puis inoculées respectivement sur 30 disques (5 sporocystes par disque) ont induit des sporulations comparables sur l'ensemble des disques, la distribution des notes étant extrêmement réduite (fig. 3B).

Lors de ce travail, un huitième et un neuvième repiquage monosporocyste ont été réalisés. Chaque sporocyste obtenu a manifesté alors les mêmes aptitudes sporogènes que celles observées dès le septième repiquage.

De nouvelles expériences de clonage ont été entreprises à partir d'autres populations de *P. viticola*. Toutes ont confirmé qu'au-delà du sixième repiquage monoconidien les sporulations obtenues sont stables et homogènes. Selon que les repiquages sont pratiqués à partir de disques peu ou très sporulés, il est possible d'obtenir des souches pures peu ou très sporogènes.

Cet ensemble de résultats suggère fortement que les populations de *P. viticola* seraient constituées par des noyaux distincts. Les clonages successifs permettent de sélectionner progressivement des noyaux identiques.

Pour expliquer l'hétérocaryose du champignon, l'hypothèse qui paraît la plus vraisemblable est celle d'échanges de noyaux entre thalles différents lors de la phase végétative. De tels échanges ont pu être démontrés expérimentalement à partir d'une inoculation en mélange de clone homocaryotique sensible et résistant au métaxyl (Li, Doazan, Clerjeau, 1985): l'ensemble des sporocystes issus de l'inoculation mixte a donné naissance à des populations résistantes; à partir d'un sporocyste de l'une de ces populations, plusieurs repiquages monosporocystes ont permis d'obtenir des clones sensibles et des clones résistants.

Le fait que *P. viticola* soit un champignon à génome composite possédant une population de noyaux dispersés dans le thalle codant pour des propriétés pathogènes spécifiques nous a amené à soulever deux problèmes distincts. Sur le plan méthodologique, quel intérêt pourrait représenter l'utilisation de clones homocaryotiques pour la réalisation de tests d'inoculation reproductibles en sélection variétale? Sur le plan agronomique et phytopathologique, quel type de sélection peuvent opérer les variétés de Vigne peu sensibles parmi les populations nucléaires? En particulier, quels sont les risques d'enrichissement progressif en noyaux codant pour une forte agressivité? Nous avons tenté de répondre à ces questions.

## II. INTERET COMPARE DE L'UTILISATION DE CLONES HOMOCARYOTIQUES ET DE POPULATIONS DE *P. VITICOLA* POUR ETUDIER LES DIFFERENCES DE SENSIBILITE VARIETALE

Le pouvoir pathogène d'un clone issu de 7 repiquages monosporocystes et celui d'une population de *P. viticola* ont été étudiés sur 3 variétés de *V. vinifera* connues pour leurs différences de sensibilité: Syrah, Ugni Blanc et Sultanine blanche. Pour cela, chaque type d'inoculum a été utilisé à 3 concentrations différentes (10, 100, 1000 sporocystes par goutte de suspension) sur des disques de feuilles à raison de 6 répétitions de 10 disques par concentration et par variété.

Les taux de sporulation obtenus sur chaque variété 7 jours après l'inoculation ont été indiqués sur la fig. 4 et les différences moyenne de sporulation entre variétés sur la fig. 5. L'examen de ces figures montre que lorsqu'on utilise des populations de *P. viticola*, la discrimination des variétés en fonction de leur sensibilité est d'autant meilleure que la concentration d'inoculum est élevée. A la plus faible concentration (10 sporocystes), l'amplitude des différences de sporulation entre variétés est très faible. En revanche, les clones homocaryotiques permettent de bien différencier les variétés aux diverses concentrations de sporocystes y compris aux plus faibles. De tels clones paraissent donc mieux aptes que les populations à différencier la sensibilité des variétés dans un plus grand nombre de situations. Ce résultat a pu être confirmé ultérieurement: en conditions d'infection artificielle par pulvérisation de jeunes plantes de diverses variétés, l'utilisation de clones homocaryotiques s'avère bien appropriée à la mise en évidence de divers niveaux de résistance (Li, Doazan, 1985).

## III. INFLUENCE DE LA RESISTANCE DES VARIETES SUR LA SELECTION DE CLONES AGRESSIFS AU SEIN DES POPULATIONS DE *P. VITICOLA*

Compte tenu de l'hétérogénéité nucléaire de *P. viticola*, on peut

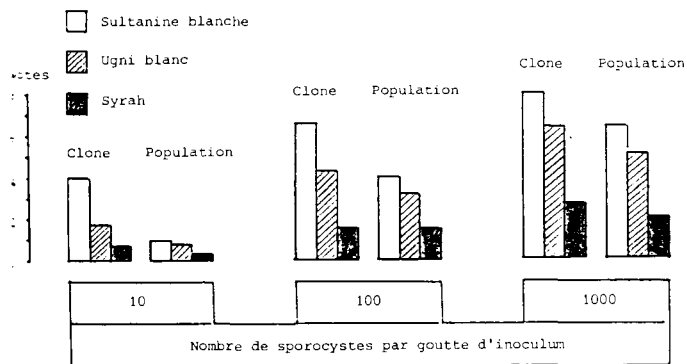


Fig. 4 - Taux de sporulation moyens obtenus sur 3 variétés de *V. vinifera* contaminées par un clone homocaryotique ou une population de *P. viticola*, à 3 concentrations d'inoculum (6 répétitions de 10 disques par cas).

$$DM = \frac{\text{Notes sporulation (Sultanine - Ugni)} + (\text{Sultanine - Syrah}) + (\text{Ugni - Syrah})}{3}$$

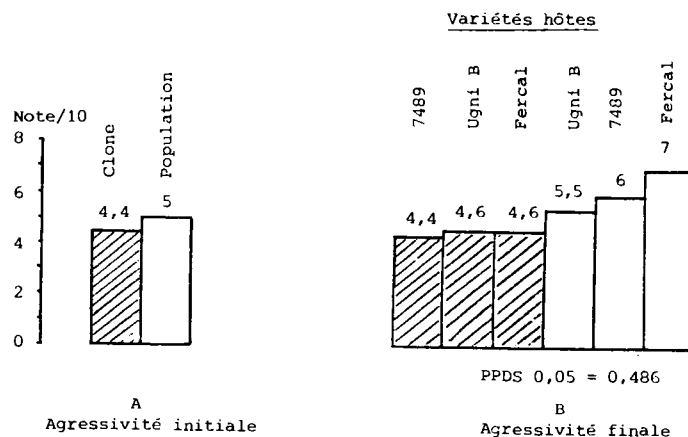


Fig. 6 - Evolution du taux de sporulation sur la variété Italia d'un clone homocaryotique et d'une population de *P. viticola* après 25 repiquages successifs sur 3 variétés (4 x 10 disques contaminés par cas).

### Conclusion - Discussion

Les résultats obtenus et présentés ici permettent de dégager des connaissances nouvelles sur la variabilité du pouvoir pathogène de *P. viticola*, utiles aux programmes de recherche sur la résistance variétale. Grâce à l'étude de la distribution des taux de sporulation induits par des sporocystes isolés, soit de populations naturelles, soit de souches issues de plusieurs repiquages monosporocystes successifs, il a pu être montré que le thalle du champignon est hétérocaryotique. L'hétérocaryose est probablement favorisée par des phénomènes de fusion entre hyphes mycéliennes produites à partir de zoospores différentes mais on ne peut exclure aussi d'éventuelles recombinaisons mitotiques. Les noyaux distribués dans le thalle coenocytique conditionnent individuellement des niveaux de pouvoir pathogène plus ou moins élevés. Ainsi, par clonage, il est possible d'obtenir des souches pures, homocaryotiques, dont les aptitudes sporulantes sont stables et homogènes. De telles souches présentent un intérêt supérieur aux populations pour la mise en évidence de différences de sensibilité entre variétés, notamment chez *V. vinifera* (Fig. 4 et 5). Ce résultat a pu être confirmé depuis lors par la pratique. Pour compléter ce travail sur la variabilité du pouvoir pathogène, nous étudions actuellement l'existence d'éventuelles interactions différentielles souches x variétés afin de savoir si certains noyaux possèdent une virulence (pouvoir pathogène spécifique) à l'égard de certaines variétés.

Le fait que certains noyaux du champignon conditionnent un taux de sporulation supérieur à la moyenne, donc sont plus aptes à attaquer les variétés peu sensibles, nous a conduit à déterminer si de telles variétés peuvent sélectionner les souches les plus agressives lors d'une confrontation durable avec une population de *P. viticola*. Les résultats acquis après 25 repiquages successifs montrent, qu'effectivement, l'élévation du niveau d'agressivité du champignon est d'autant plus forte que la résistance de la variété hôte est plus grande (Fig. 6). Il reste à démontrer que dans la nature les phénomènes se déroulent de manière comparable. Il convient en outre de déterminer si les souches les plus agressives présentent des propriétés biologiques ou une adaptation au milieu comparables aux autres souches. Ce travail est en cours. On peut cependant indiquer ici que les observations de Boubals (1959) qui ont consisté à mettre en évidence des attaques de Mildiou non négligeables dans une pépinière d'hybrides interspécifiques, du midi de la France, pourraient bien avoir comme base explicative, la sélection de clones agressifs de *P. viticola*.

### BIBLIOGRAPHIE

Boubals D. (1959). - Contribution à l'étude des causes de la résistance au

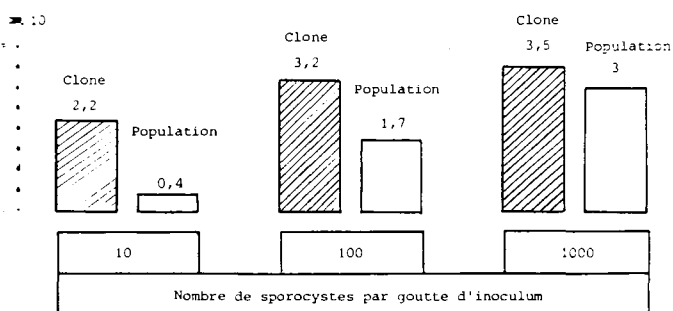


Fig. 5 - Différence moyenne (DM) de sensibilité entre 3 variétés contaminées par un clone homocaryotique ou une population de *P. viticola*.

considérer que lors de la phase d'infestation des plantes par le champignon, la probabilité pour chaque zoospore uninucléée de germer, de pénétrer l'hôte et d'émettre ultérieurement des sporocystes est différente. La probabilité est théoriquement d'autant plus élevée que l'agressivité de la zoospore est élevée. On doit donc s'attendre, dans ces conditions, à ce que les variétés les moins sensibles sélectionnent progressivement les zoospores (donc les noyaux) les plus agressifs. C'est ce que nous avons tenté de démontrer expérimentalement en faisant réaliser 25 cycles successifs à une population de *P. viticola* sur une variété sensible (Ugni Blanc), une variété résistante d'origine interspécifique (7489) et une variété très résistante utilisée comme porte-greffe (Fercal). Parallèlement, une expérience semblable a été réalisée avec un clone homocaryotique dont le niveau d'agressivité initial était comparable, quoique légèrement inférieur, à celui de la population (Fig. 6A).

Les repiquages successifs ont été pratiqués sur disques de feuilles. Dans ces conditions, le Mildiou a pu sporuler légèrement sur les variétés résistantes. A l'issue des 25 cycles, les clones et les populations issus des 3 variétés ont été inoculés sur 4 répétitions de 10 disques de feuilles de la variété très sensible Italia en apportant sur chaque disque une goutte de 25µl de suspension aqueuse contenant 250 sporocystes. Les taux d'attaques obtenus (Fig. 6B) confirment l'hypothèse de départ: avec la souche homocaryotique, l'hôte n'a pas induit d'évolution du pouvoir pathogène; avec la population, le niveau d'agressivité final apparaît d'autant plus élevé que le niveau de résistance de l'hôte d'origine est élevé. Ainsi le taux de sporulation sur la variété Italia obtenu avec la population issue de Fercal est supérieur de 21 p. cent à celui obtenu avec la population issue de Ugni Blanc.

Mildiou de la Vigne (*Plasmopara viticola*) et de leur mode de transmission. Thèse Docteur ès sciences, Montpellier, *Ann. Amélior. Plantes*, 9, 5-233.

Clerjeau M. Simone J. (1982) - Apparition en France de souches de Mildiou (*Plasmopara viticola*) résistantes aux fongicides de la famille des anilides (métaaxyl, milfurame). *Progr. Agric. Vitic.*, 99 (3), 59-61.

Li H. Doazan J.P., 1985. Evaluation de différences de sensibilité au Mildiou

(*Plasmopara viticola*) entre cépages de *Vitis vinifera*. Analyse préliminaire de deux descendance. 4<sup>a</sup> symposium international de génétique de la Vigne, Vêrone (Italie) 13-18 avril 1985.

Li H. Doazan J.P. Clerjeau M. (1985) - Etude comparée de l'agressivité de clones monosporocystes de *Plasmopara viticola*: démonstration du rôle de l'hétérocaryose dans l'expression de la variabilité du pouvoir pathogène (à paraître).

## RESUME

### L'HETERO-CARYOSE CHEZ «PLASMOPARA VITICOLA»: MISE EN EVIDENCE, CONSEQUENCES AGRONOMIQUES SUR LA SELECTION DE VARIETES DE VIGNE RESISTANTES AU MILDIOU

Dans le cadre du programme de création de variétés de Vigne peu sensibles au Mildiou entrepris à l'INRA Bordeaux, une étude de la variabilité du pouvoir pathogène de *Plasmopara viticola* est apparue nécessaire pour évaluer les risques d'adaptation du parasite aux gènes de résistance de l'hôte. Pour cela, le pouvoir pathogène de plusieurs souches et de conidies isolées de ces souches a été étudié, en conditions contrôlées de milieu et de concentration d'inoculum, sur disques de feuilles. Les résultats montrent que les potentialités de sporulation des souches monoconidiennes issues d'une population sont très variables. En revanche, les clones issus de plusieurs repiquages monoconidiens successifs (au moins 6) ont une capacité de sporulation constante et stable dont le niveau est plus ou moins élevé selon les clones. De ces données on peut déduire que les noyaux contenus dans une conidie ne sont pas identiques. Cette hétérocaryose est probablement assurée par des anastomoses entre hyphes provenant de la germination de zoospores (mononucléés), différentes. Ce phénomène a pu être démontré en utilisant le caractère de résistance au métaaxyl comme marqueur génétique.

Le fait qu'un inoculum de *P. viticola*, même issu d'une conidie isolée, soit constitué d'un génome composite nous conduit sur le plan de la sélection variétale à conseiller l'utilisation de clones homocaryotiques du champignon. De tels clones peuvent améliorer la reproductibilité des résultats d'inoculation artificielle et permettre de mieux apprécier les faibles différences de sensibilité entre variétés. Des inoculations comparées de clones et de populations sur 3 variétés de *V. vinifera* (Sultanine, Syrah, Ugni Blanc) le démontrent. En raison de la variabilité des aptitudes des noyaux contenus dans les populations de *P. viticola*, on peut s'attendre à ce que une confrontation durable avec un génotype variétal peu sensible aboutisse à la sélection progressive des clones les plus agressifs du parasite. Une étude comparée de l'évolution du pouvoir pathogène d'un clone homocaryotique et d'une population de *P. viticola* au cours de 25 cycles successifs sur 3 variétés dont une sensible (Ugni blanc) et deux résistantes (hybrides interspécifiques) semble confirmer cette hypothèse.

## EVALUATION DE DIFFERENCES DE SENSIBILITE AU MILDIOU (*PLASMOPARA VITICOLA*) ENTRE CEPAGES DE *VITIS VINIFERA*. ANALYSE PRELIMINAIRE DE DEUX DESCENDANCES

H. LI - J.P. DOAZAN

INRA Centre de Recherches de Bordeaux - Station de Recherches de Viticulture - (France)

L'obtention de variétés de vigne résistantes aux parasites est un objectif poursuivi depuis une centaine d'années, par de nombreux chercheurs de divers pays, mais qui n'a connu de francs succès qu'en matière de porte-greffes: aucune variété greffon nouvelle, issue de croisement interspécifique, ne s'est imposée en France dans la pratique, comme présentant à la fois un degré de résistance assez élevé vis-à-vis de chacun des parasites et une qualité satisfaisante de son raisin et de son vin.

Les sources de résistance, présentes chez plusieurs espèces de *Vitis* croissant en Amérique du Nord, ont été exploitées en effectuant des croisements répétés entre ces espèces et des cultivars de *Vitis vinifera*, l'espèce européenne réputée sensible à tous les parasites mais présentant les meilleures caractéristiques de qualité du fruit.

Or, de nombreuses indications jalonnent l'histoire de l'amélioration de la Vigne pour la résistance aux parasites (Partridgeon, 1887; Latiere, 1905; Ravaz, 1914; Boubals, 1959; Galet, 1977; Meluc, 1981) et témoignent qu'en fait un certain degré de résistance existe chez une fraction des cépages de *V. vinifera*, même si cette résistance relative à certains parasites n'est pas d'un niveau assez élevé pour qu'elle soit directement utilisable en pratique. Par malheur, dans la plupart des cas, les auteurs cités, rapportent des

observations souvent disparates et difficilement comparables entre elles; de sorte que nous manquons encore de connaissances précises sur les propriétés de résistance aux parasites de la majorité des cépages de *V. vinifera*.

De plus, une étude récente (Doazan et Kim, 1978) des descendance issues du croisement d'un unique géniteur de résistance par une série de cultivars de *V. vinifera* met en évidence des écarts entre les distributions qui révèlent des différences génétiques entre les parents *vinifera*, en ce qui concerne le caractère de résistance au Mildiou. Si ces prémices sont vérifiées, non seulement pour le Mildiou mais aussi pour les autres parasites, on pourrait élever le niveau de résistance, au sein de l'espèce *V. vinifera*, en effectuant une sélection rigoureuse parmi les descendants de croisement entre les cultivars les meilleurs à ce point de vue.

## Matériel et méthode

### I - EVALUATION DE DIFFERENCES DE SENSIBILITE AU MILDIOU ENTRE CEPAGES DE «V. VINIFERA»

Des racinés de 99 cépages de *V. vinifera* sont placés en serre et en culture hydroponique, ces conditions favorisant un développement rapide du feuillage. Les jeunes feuilles suffisamment développées (au niveau du 5<sup>ème</sup> — 6<sup>ème</sup> noeud à partir de l'extrémité du rameau) sont prélevées et découpées en disques de 21 mm de diamètre, qui sont placés en chambre humide. Le dispositif comprend un bac rectangulaire, dans le fond duquel un tissu spongieux saturé d'eau assure la réserve en eau, clos par une vitre. Les disques de feuille sont déposés sur leur face supérieure, la veille de l'inoculation. L'inoculum est constitué par une suspension fraîche de sporocystes de *Plasmopara viticola*, à 2 concentrations différentes: 5,000 et 1,000 sporocystes par millilitre. Sur chaque disque, 4 gouttes de 25 microlitres d'inoculum sont déposées à la face inférieure, 2 gouttes par concentration. Les bacs sont ensuite maintenus dans le laboratoire (température = 25° C).

Dès l'apparition des premières sporulations, on note le nombre de taches sporulées par concentration et par variété. On note

aussi l'importance de la sporulation de 0 à 5 selon la taille des taches et leur densité en sporocystophores.

## II - ANALYSE DE DESCENDANCES

Les descendants du croisement: Petit Verdot x Sauvignon et ceux de l'autofécondation de Petit Verdot son élevés en culture hydroponique, sous serre. La même technique d'inoculation que celle décrite précédemment est utilisée pour déterminer la sensibilité relative au Mildiou de chacun d'eux. Mais afin de faciliter l'évaluation des différences d'intensité des symptômes, on a choisi comme inoculum un clone moyennement agressif (Li, Doazan, Clerjeau, 1985). L'inoculation s'effectue par une goutte de suspension par disque, à 1000 sporocystes par millilitre. La notation (0 à 10) est faite le septième jour après l'inoculation (désigné par J 7).

### Résultats

#### A) EVALUATION DE DIFFERENCES DE SENSIBILITE AU MILDIOU ENTRE CEPAGES DE «V. VINIFERA»

##### 1 - La durée d'incubation

Au cours de cet essai, nous avons noté le nombre de taches sporulées dès le début de la sporulation et pendant trois jours con-

sécutifs. Une analyse de variance à 2 voies (variété - date) montre que l'effet variété et l'effet date son très significatifs (F.V. = 165, 1819; F.D. = 134,7040). Si l'on considère la durée d'incubation comme l'intervalle de temps entre l'inoculation et le moment où le taux de sporulation atteint 50%, on peut définir 3 groupes (tableau 1):

- groupe 1: durée d'incubation = 6 jours
- groupe 2: durée d'incubation = 7 jours
- groupe 3: durée d'incubation = 8 jours

Mais si l'on prend le nombre moyen de taches sporulées, une analyse plus détaillée montre qu'il existe des différences entre cépages à l'intérieur de chaque groupe.

##### 2 - Classement des cépages

###### 2.1 Quelques corrélations observées

Nous avons utilisé 2 concentrations d'inoculum. Les résultats montrent qu'il existe une très bonne corrélation entre les deux concentrations utilisées ( $r = 0,9612$ ), mais que les notes moyennes par variété sont plus élevées pour la concentration la plus forte.

On constate qu'il existe également une très bonne corrélation entre les notes du premier jour de la sporulation et celles du troisième jour ( $r = 0,9499$ ).

La bonne corrélation entre les répétitions dans le temps ( $r = 0,6987$  montre que ce type d'essai est fiable.

Tab. 1 - Classement des variétés — Classification of varieties (susceptibility to Downy mildew)

Numéro	Variété	Class.		Num.	Variété	Class.		Num.	Variété	Class.		Num.	Variété	Class.	
		A	B			A	B			A	B				
1	Abouriou	2	1	30	Figous	2	1	59	Milgranet	2	1	88	Scheurebe	2	1
2	Alicante bouschet	3	1	31	Furmint	2	1	60	Muscadelle	2	1	89	Seibel 9110	2	1
3	Aligote	1	2	32	Feteasca Regala	2	1	61	Mancin	2	1	90	Syrah	1	1
4	Aramon	2	1	33	Feteasca Alba	2	1	62	Mission	3	1	91	Sultanine Blanche	3	1
5	Aleatico	3	1	34	Folle blanche	1	2	63	Malpe	2	1	92	St pierre	2	1
6	Arribet	3	1	35	Jacquere	3	1	64	Malbec Precoce	2	1	93	Sauvignon	2	1
7	Auxerrois	3	1	36	Jurancon Blanc	1	3	65	Madeleine Angevine	3	1	94	Sylvaner	3	1
8	Baral	2	1	37	Grapput	2	3	66	Maccabeu	2	1	95	Teroldego	2	1
9	Baroque	1	3	38	Gamay	2	1	67	Marsanne	3	1	96	Traminer	2	1
10	Bequignol Blanc	2	1	39	Gamay Freaux	3	1	68	Muller Thurgau	2	1	97	Tamioasa de Bohotin	2	1
11	Bouillenc	3	1	40	Grolleau	2	1	69	Mauzac	2	1	98	Ugni Blanc	2	1
12	Cabernet Franc	2	1	41	Guinlan	3	1	70	Manseng Vert	2	1	99	Valdiguie	2	1
13	Camaraou	1	1	42	Guzal Kara	3	1	71	Muscat Blanc	3	1				
14	Canaril	2	1	43	Galbena de Odobesti	2	3	72	Negrette	2	3				
15	Cardinal	3	1	44	Grenache Noir	3	1	73	Ondenc	2	1				
16	Chardonnay	2	1	45	Graisse	1	3	74	Perle de Csaba	3	1				
17	Chasselas	3	1	46	Grasa de Cotnari	2	1	75	Pied de Perdrix	3	1				
18	Carmenere	3	1	47	Irsai Oliver	2	1	76	Petit verdot	2	1				
19	Courbu Blanc	3	1	48	Italia	3	1	77	Precoce Bousquet	1	1				
20	Cruchen blanc	3	1	49	Gros Manseng	2	1	78	Pedauque	2	1				
21	Cinsaut	2	1	50	Len De L'elh	2	1	79	Pinot Noir	3	1				
22	Chacoli Noir	2	1	51	Lercat	3	1	80	Pinot Meunier	1	3				
23	Colombard	1	3	52	Lauzet	2	1	81	Perlette	2	1				
24	Counoise	1	3	53	Merille	2	1	82	President	2	1				
25	Carignan	2	1	54	Merlot Noir	2	1	83	Raffiat de Moncade	1	3				
26	Chenin	2	1	55	Merlot Blanc	1	1	84	Rkatziteli	2	1				
27	Cabernet Sauvignon	2	1	56	Melon	2	1	85	Riesling	2	1				
28	Elbling	2	1	57	Muscat Susanna	2	1	86	Ruffiac	2	2				
29	Fer Servadou	2	1	58	Meslier de St Francois	1	2	87	Sensit rouge	2	1				

A - classe de sporulation

B - classe de durée d'incubation

2.2. Classement des cépages selon leur sensibilité au Mildiou

Pour arriver à classer les cépages, nous utilisons l'analyse de variance qui fournit une valeur de F très significative (8,9522). Cela montre qu'il existe des différences assez importantes entre cépages. Etant donné le très grand nombre de comparaisons multiples, nous avons utilisé le test de la plus petite différence significative en prenant par sécurité une p.p.d.s. au seuil 0,0005. Mais ce test ne permet pas de faire un classement très satisfaisant car il compare les variétés 2 à 2. Donc, nous avons essayé de faire 3 groupes relatifs (tab. 1 et fig. 1):

1 — Cépages «*Peu sensibles*»: la limite inférieure de ce groupe correspond à la plus petite valeur enregistrée et la limite supérieure est constituée par: plus petite valeur + p.p.d.s. à 0,0005.

2 — Cépages «*Sensibles*»: tous ceux dont les valeurs sont intermédiaires entre celles des groupes 1 et 3.

3 — Cépages «*Très sensibles*»: la limite supérieure de ce groupe est constituée par la plus grande valeur enregistrée et sa limite inférieure par: plus grande valeur — p.p.d.s. à 0,0005.

B) ANALYSE DE DESCENDANCES

Les différences de sensibilité au Mildiou existant chez les cépages de *V. vinifera* nous font penser qu'il existerait des gènes mineurs de résistance chez cette espèce. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons réalisé des croisements intraspécifiques et des autofécondations. Les résultats de deux analyses préliminaires sont résumés dans les figg. 2 et 3.

Dans ces figures, on constate que, pour les descendances de

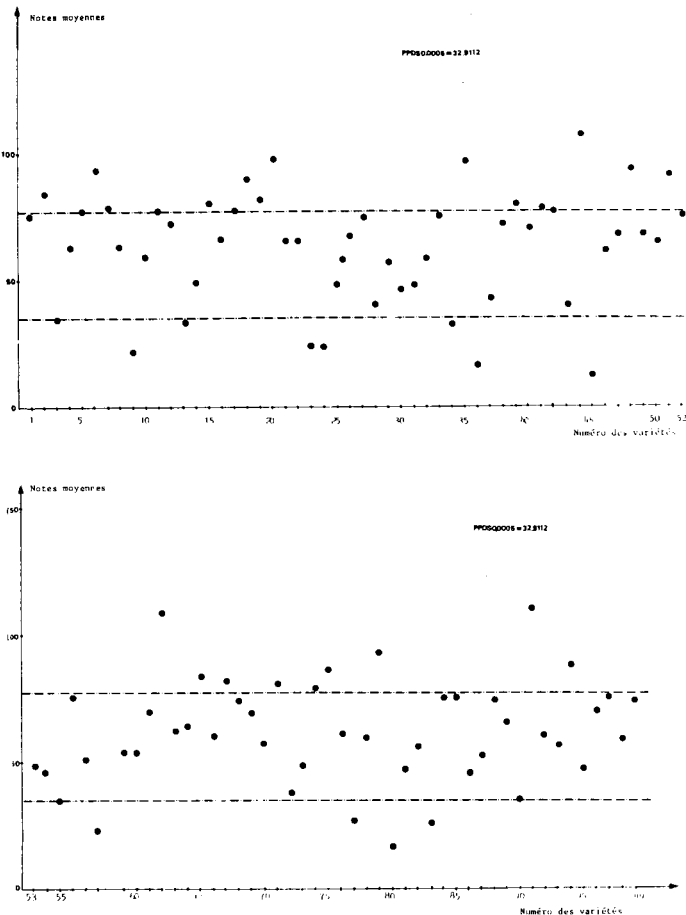
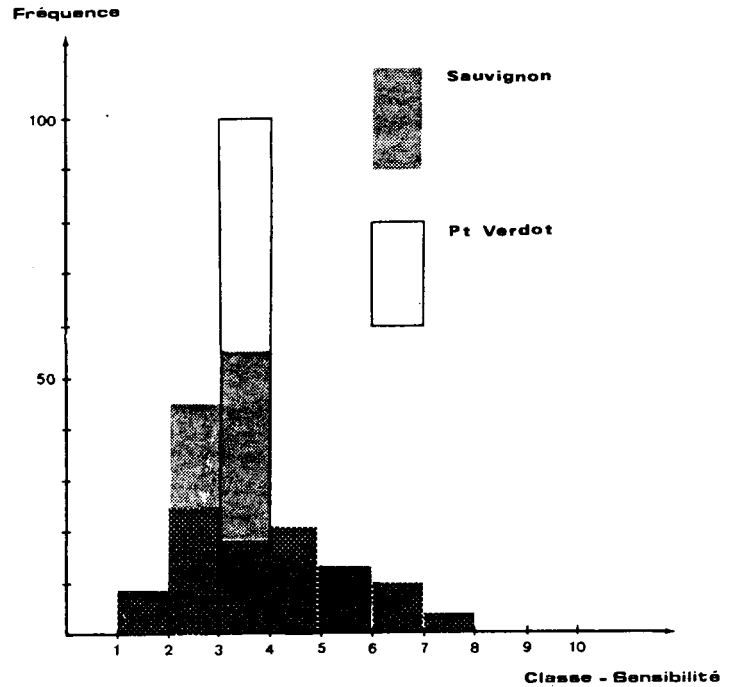
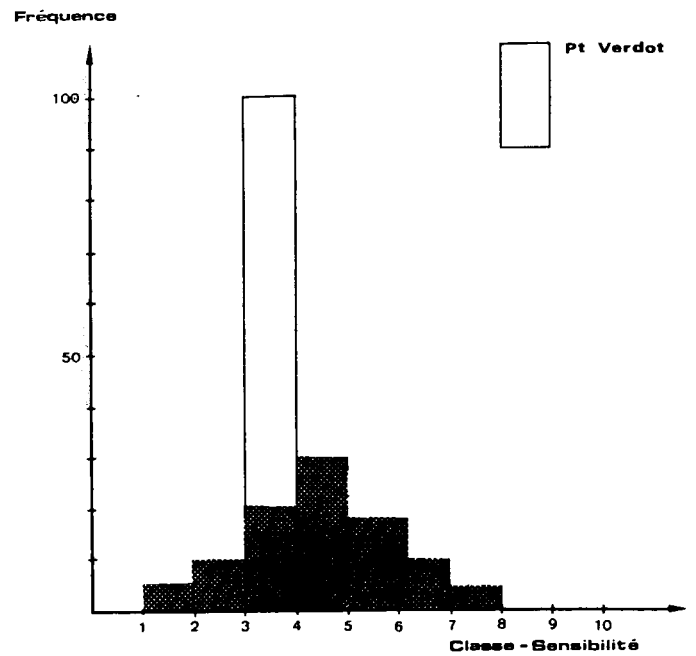


Fig. 1 - Classement des variétés. Classification of varieties (susceptibility to Downy mildew).



DISTRIBUTION DE DESCENDANTS (PETIT VERDOT x SAUVIGNON)

Fig. 2 - Distribution of F<sub>1</sub> progeny of petit verdot x sauvignon.



DISTRIBUTION DE DESCENDANTS (PETIT VERDOT AF)

Fig. 3 - Distribution of F<sub>1</sub> progeny of cv. petit verdot. Self-pollination.

l'autofécondation du Petit Verdot et du croisement Petit Verdot x Sauvignon, la majorité des descendants est plus sensible que les parents; cependant une petite fraction est plus résistante. L'analyse statistique montre que la distribution par classes de sensibilité de la descendance Petit Verdot AF correspond à la distribution normale ( $X^2 = 0,88 < X^2_{0,95} = 1,15$ ).



## Discussion et conclusion

Grâce à l'inoculation des disques de feuilles maintenues en survie au laboratoire, avec des suspensions de sporocystes en concentration définie, nous sommes arrivés à apprécier des différences de sensibilité au Mildiou, au sein de l'espèce *V. vinifera*, et à définir un classement pour 99 variétés. Mais, en raison de la répartition continue des notes, les limites des classes sont artificielles et discutables. Nous avons, malgré tout, présenté un classement mais en même temps donné les notes attribuées à chaque cépage assorties de la valeur significative de la différence entre deux variétés.

Les différences de sensibilité au Mildiou existant chez les cépages de *V. vinifera* peuvent être mises à profit dans l'amélioration variétale si ces différences sont génétiquement transmissibles. Le fait que, pour les descendance de Petit Verdot x Sauvignon et de Petit Verdot AF, une petite fraction de descendants est moins sensible que leurs parents semble confirmer l'existence de gènes mineurs de résistance chez ces cépages. La distribution normale, par classe de sensibilité, de la descendance de Petit Verdot AF suggère même une hétérozygotie des gènes mineurs de résistance. Si ce phénomène est général chez *V. vinifera*, on peut penser que les différences de sensibilité entre cépages sont dues à un nombre de gènes mineurs variable selon les cépages. Dès lors, on peut tenter de regrouper ces gènes mineurs multiples grâce à des croisements suivis de sélection, au sein de l'espèce *V. vinifera*. On espère que l'élévation correspondante du niveau de résistance sera assez importante pour aboutir à une réduction des interventions phytosanitaires. De plus, ce matériel «amélioré» pour la résistance au Mil-

diou peut être inclus dans un programme de croisement interspécifique visant à combiner les gènes de résistance de différentes espèces, avec pour objectif la sélection de variétés dotées d'une résistance partielle aux différents parasites cryptogamiques.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Boubals D. (1959) - *Contribution à l'étude des causes de la résistance des Vitacées au Mildiou de la Vigne (Plasmopara viticola)* et leur mode de transmission. Thèse de Docteur es sciences naturelles de Montpellier.
- Doazan J.P. Kim S.K. (1978) - *Recherche de génotypes résistants au Mildiou dans des croisements interspécifiques in Génétique et amélioration de la vigne*. INRA, 243-249.
- Galet P. (1977) - *Les maladies et les parasites de la vigne*. Tome 1. Paysan du Midi, Montpellier, 89-222.
- Latiere H. (1905) - *Dans les vignes. Cryptogammes, insectes, accidents*. Les traitements pratiques. Charles Amat, Paris, 14-15.
- Li H. Clerjeau M. Doazan J.P. (1985). - *L'hétérocaryose chez Plasmopara viticola: mise en évidence. Conséquences agronomiques sur la sélection de variétés de vigne résistantes au Mildiou*. 4ème Symposium International de Génétique de la Vigne. Vérone (Italie), 13-18 Avril 1985.
- Meluc D. (1981). *Essai de mise en évidence de divers degrés de sensibilité au Mildiou (Plasmopara viticola (B et C) Berl et de Toni), chez Vitis vinifera L.* Mémoire ENITA, Bordeaux.
- Partridge G., 1887. *Le mildiou (Peronospora viticola)*. Librairie Agricole de la Maison Rustique. Paris.
- Ravaz, 1917. - *Traité général de viticulture*. IIIème partie, Tome III. Le Mildiou. Caractères, condition de développement, traitement. Coulet et Fils, Montpellier.

## RESUME

### EVALUATION DE DIFFERENCES DE SENSIBILITE AU MILDIOU (PLASMOPARA VITICOLA) ENTRE CEPAGES DE VITIS VINIFERA. ANALYSE PRELIMINAIRE DE DEUX DESCENDANCES

*Les différences de sensibilité au Mildiou entre cépages de Vitis vinifera peuvent être mises à profit dans un programme de croisement entre cette espèce et d'autres Vitis, visant à obtenir de nouvelles variétés dotées d'une résistance partielle qui rende leur culture possible avec seulement un nombre réduit de traitements. Cela suppose une évaluation préalable du niveau de résistance relative de chacun de ces cépages pouvant servir de géniteur et la connaissance de l'aptitude de chacun d'eux à transmettre ce caractère. En vue d'apprécier de faibles différences de sensibilité au sein de l'espèce Vitis vinifera, nous avons adopté une méthode de contamination au laboratoire sur disques de feuilles maintenues en survie utilisant des suspensions de sporocystes en concentration définie. Une telle méthode a permis de mettre en évidence une variation significative du niveau de sensibilité au Mildiou parmi 99 variétés de V. vinifera que conventionnellement nous avons réparties en 3 classes qui sont présentées; ce résultat fait penser qu'il existe des gènes mineurs de résistance chez cette espèce.*

*L'analyse préliminaire de 2 descendance (autofécondation de Petit Verdot et croisement Petit Verdot x Sauvignon) montre que, pour chacune des distributions par classe de sensibilité, la majorité des descendants est plus sensible que les parents; cependant une petite fraction est plus résistante. La distribution normale de la descendance en autofécondation du Petit Verdot suggère une hétérozygotie des gènes mineurs de résistance présents chez ce cépage.*

*Nous poursuivons un programme destiné à vérifier si ces gènes mineurs son utilisables dans la sélection de variétés dotées d'une résistance partielle.*

## MICROSTRUCTURE OF GRAPE SKIN IN RELATION TO RESISTANCE TO GLOMERELLA CINGULATA (STON.) SPAULD ET SCHRENK

YU DAN-HUA (1) - WANG BAO-LIANG (1) - YE YONG-GONG (1) - CHEN ZI-WEN (2)

(1) Zhengzhou Institute of Pomology - Chinese Academy of Agricultural Sciences - Zhengzhou - Henan (China)

(2) Institute of Plant Protection - Chinese Academy of Agricultural Sciences - Beijing (China)

## Introduction

To breed highly disease resistant grape cultivars with desirable qualities is currently the common interest and goal of world grape breeders. With this objective, many scientists are now studying disease resistant characters of grape germplasms and mechanisms of resistance to pathogens in order to select the best parental materials to raise the breeding efficacy. During the 1970's and 1980's many scientists have studied the resistance of grapevine to grey mould (*Botrytis cinerea* Pers.), one of the most destructive diseases in Europe. Their results indicated that among the factors which affect the susceptibility of grape cultivars to *B. cinerea* were bunch compactness, thickness of cuticle and epidermis of berries, sugar, acid, protein and anthocyanin content of berries, stress metabolites content in leaves, as well as respiration rate and en-

zyme activity prior to infection (5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14).

*G. cingulata* is one of the most destructive grape pathogens in Central and North China (1, 2). Because of prevailing high temperature and abundant rainfall in the harvest season, the disease can not be controlled satisfactorily by chemical sprays. Breeding for disease resistance has become one of the most effective and economical methods.

During the course of resistance breeding research, we have studied the mechanism of resistance of various grape cultivars. Morphological character, namely microstructure of the berry skin, has been related to resistance to *G. cingulata*.

Under a scanning electron microscope, after removal of the wax bloom, we observed tiny pores in the berry skin tissue. They are irregular in shape and have a diameter of approximately 0.5-2  $\mu\text{m}$ . This micropore was first discovered by R. Bliach et al. (3) of West Germany. They indicated that the different distribution of micropores was related to resistance to *Botrytis cinerea* Pers. We have studied the correlation between the presence of micropores and resistance to *G. cingulata* as a basis for future breeding work.

### Materials and Methods

Berries of 31 cultivars of different species and interspecific hybrids were first tested for micropore presence and were artificially inoculated for susceptibility to *G. cingulata*. Most examined clusters were cased with paper bags after flowering in the field to prevent infection.

Fully matured clusters were collected during August to October 1983 and kept in cold storage (1-2°C) until use.

For each cultivar, 50 berries of same maturity were selected, 10 for the micropore tests and 40 for inoculation with *G. cingulata*. The 31 cultivars were examined at four different stages of ripening.

The micropore tests were conducted in two ways, morphology

observation under SEM and distribution assessment by fluorescein staining.

### SEM Observation

Berries of Centennial and Thompson Seedless were fixed in 3-4% glutaraldehyde until use. Small pieces of berry skin were taken and rinsed in 0.1 M  $\text{PO}_4$  buffer for three times. After removal of wax bloom with an organic solvent consisting of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  and  $\text{CH}_3\text{OH}$  at 3 to 1 ratio, samples were dehydrated in 10% to 100% ethanol and critical point dried from  $\text{CO}_2$ , and then mounted on aluminum specimen stubs with adhesive dots and sputter-coated with gold-palladium for 2 1/2 minutes. Samples observed with Hitachi S-800 field emission scanning electron microscope operated at 15 KV.

### Fluorescein $\text{Na}_2$ Salt (Uranine A) Staining Test

Berries were immersed in a 4% Uranine aqueous solution for 30-60 min. rinsed in running water for a few sec, then immediately surface dried and observed under UV light (254 nm). The Uranine from the micropores showed yellow fluorescent spots. The fluorescent spots represented the micropores and were graded with a five-point scale (0 to 4).

- 0 - none
- 1 - a few and small spots
- 2 - moderate spots
- 3 - more and larger spots
- 4 - many and larger spots, but spots sometimes joined into masses.

Berries were observed individually and a density index of

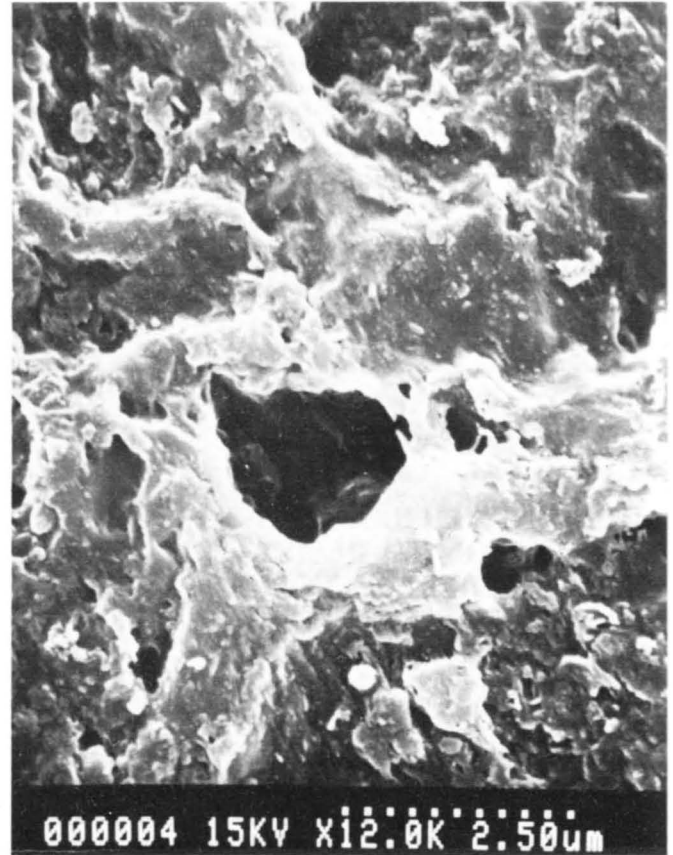
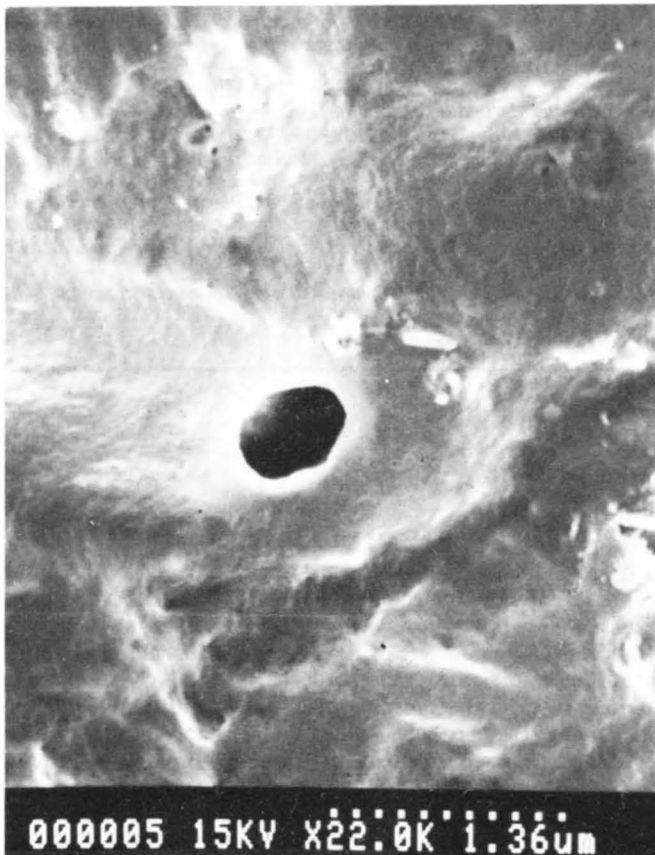


Fig. 1

micropore for each cultivar was counted as follows.

$$\frac{\sum n}{n \times 4} \times 100\%$$

### Artificial Inoculation

Conidia suspension of *G. cingulata* was made from fresh conidia collected from fields and had 10% grape must added. Its concentration was 200 viable conidia per field (100 x).

Berries were surface sterilized with benzalkon bromide, benzalkon bromide/water (1/3, v/v) for 10 min, rinsed and dried, then placed in petri dishes with moist filter paper to maintain humidity. The conidia suspension was sprayed onto berries under 28°C for ten days. Then infection was estimated with a five point scale (0 to 4).

0 - no infection

1 - disease symptoms covering less than 5% of berry surface

2 - disease symptoms covering between 5-25% of berry surface

3 - disease symptoms covering between 25-50% of berry surface

4 - disease symptoms covering more than 50% of berry surface.

A susceptibility index for each cultivar was determined as follows:

$$\frac{\sum n}{n \times 4} \times 100\%$$

### Results and Discussion

After most wax on berry surface was removed, micropores were observed clearly under SEM. These micropores were of irregular shape and had a diameter approximately 0.5-2 μm. (Fig. 1).

After staining with fluorescein Na<sub>2</sub> salt, the distribution of yellow fluorescent spots observed under UV light were representative of micropores. The density index of the micropores of 31 cultivars were estimated and shown in Table 1.

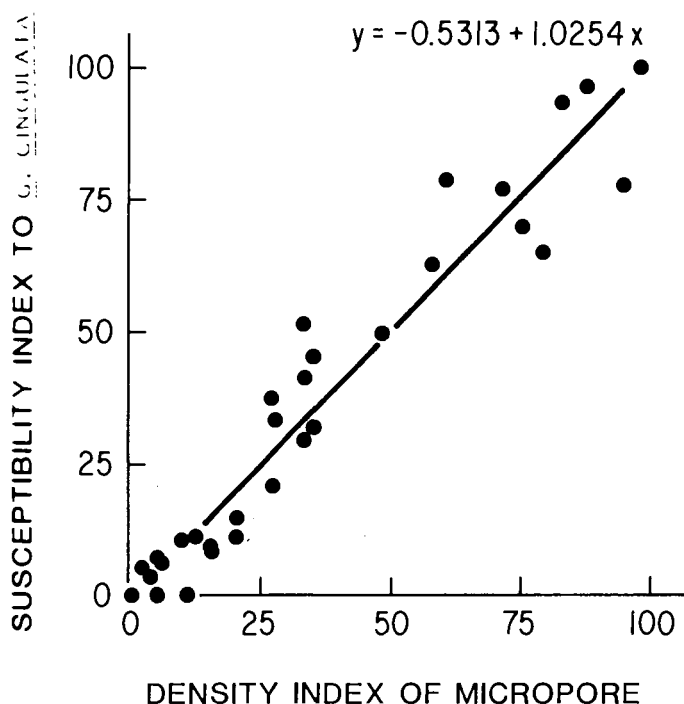


Fig. 2 - Density index of micropore.

Tab. 1 - Cultivars Examined

Species	Cultivar	Density index of micropores (%)	Susceptibility index to <i>G. cingulata</i> (%)
Hybrids of <i>V. vinifera</i> and <i>V. labrusca</i>	Isabella	0	0
	Mills	5.0	5.0
	Wyoming red	1.8	5.0
	Delago	5.0	7.1
	Herbert	5.6	5.8
	Russian Concord X		
	White Exangali	3.3	3.1
	Triumph	12.5	11.1
	Niagara	20.0	14.1
	Muscat angel	15.6	9.4
Hybrids of <i>V. vinifera</i> and <i>V. amurensis</i>	Gongniang No. 2	10.0	10.2
	Beichun	11.0	0
French Hybrids	Seibel 9110	27.2	20.8
	Seibel 12308	27.5	33.0
	Seibel 12375	15.4	8.9
	Seyve-Villard 20365	27.1	37.5
<i>V. vinifera</i>	Rkatseteli	34.6	40.6
	Perchu	20.0	11.0
	Pozony	33.3	29.8
	Arakachi	35.0	31.8
	Kovidinka	47.9	49.4
	Saint Emillion	33.3	51.3
	Hongjixin	33.3	41.7
	Longyan	60.0	78.9
	Erie Giuvan	75.0	70.0
	White Malaga	78.8	65.0
	White Zeinel	70.8	76.4
	Italia	57.5	62.5
	Malvazia	94.4	77.6
	Ciotat Chasselas	87.5	95.8
	Centenial	97.5	100.0
	Azateni	82.5	92.9

After a ten day incubation, symptoms of the disease on inoculated berries showed up clearly. The density index of susceptibility to *G. cingulata* of 31 cultivars were estimated (see Table 1).

Linear regression using the equation ( $y = -0.5313 + 1.0254x$ ) was performed and the resulting regression coefficient  $b$  was significant (Fig. 2).

Blaich, R., et al. have studied the micropores of grape skins (3), but details of structure, morphogenesis and function are still unclear. However, they have indicated that the micropores increased, while berries were approaching maturity. Among different cultivars, those having high susceptibility to *Botrytis cinerea* had more micropores than resistant ones; tetraploids consistently had more micropores than the corresponding resistant diploids. They considered that a few or lack of micropores in berry skin might be a prerequisite character for resistance.

Our results showed significant correlation between micropore distribution and resistance to *G. cingulata*.

Generally, *G. cingulata* was thought to be a pathogen infecting grape berries by penetration only. Results of our experiments show that micropores must play an important role in disease establishment. The conidia of *G. cingulata*, *Conithyrium diplodiella* and *Botrytis cinerea* will not germinate in water drops without nutrients (2, 4). However, through the micropore channels, nutrients might secrete out and combine with water drops on the

**Tab. 2 - Statistical comparison of the density index of micropores**

Species or Interspecific Hybrids	Average Density Index of Micropores (%)*
<i>V. vinifera</i>	58.84 a
French Hybrids	24.30 b
Hybrids of <i>V. vinifera</i> and <i>V. labrusca</i>	10.50 b
Hybrids of <i>V. vinifera</i> and <i>V. amurensis</i>	7.64 b

\* Average Density Index followed by different alphabet differ significantly at 5% level.

**Tab. 3 - Statistical comparison of the susceptibility index to *G. cingulata***

Species or Interspecific Hybrids	Average Susceptibility Index of Micropores (%)*
<i>V. vinifera</i>	60.92 a
French Hybrids	25.05 b
Hybrids of <i>V. vinifera</i> and <i>V. labrusca</i>	6.18 b
Hybrids of <i>V. vinifera</i> and <i>V. amurensis</i>	5.10 b

\* Average Susceptibility Index to *G. cingulata* followed by different alphabet differ significantly at 5% level.

berry surface to promote the germination of conidia. Consequently, the more micropore present, the more mature the berries were and the more susceptible they became to *G. cingulata* and *B. cinerea*. On the other hand, the micropore may act as entrances for mycelia of disease pathogens.

Among the 31 cultivars, a statistically significant difference was shown between *V. vinifera* L. and interspecific hybrids in both

micropore and susceptibility indexes (Table 2 and 3). The cultivars of *V. vinifera* L. had the highest indexes while the hybrids of *V. vinifera/V. labrusca* and *V. vinifera/V. amurensis* were the lowest. The overall performance of French hybrids was intermediate. We consider that the reduced disease resistance of lately released Seibel and Seyve Villard selections was due to replicate hybridization with *V. vinifera* cultivars.

According to the linear regression equation, when the density index of micropore is 20%, the susceptibility index can be estimated as 19.98%. This value corresponds with the general performances of resistant cultivars observed in vineyards. Consequently, a micropore density index of 20% for fully matured berries can be preliminarily regarded as one of the biological assessments for selecting resistant parental materials and for screening offsprings to *G. cingulata* in breeding work.

## REFERENCES

- Chen, Z. W. et al. (1978) - pp. 352-354 in Diseases and Pests of Fruit Trees and Their Control. Hebei People's publishing Co.
- Chen Z.W. et al. (1980) - Acta Phytopathologica 7 (1) 27-34.
- Blaich R. et al. (1984) - Vitis 23 (4): 242-256.
- Lin C.K. (1945) - Amr. J. Botany 32: 296-298.
- Fregoni M. (1983) - Vignevini 10 (5) 35-42.
- Bisiach M. et al. - Vignevini 9 (12) 39-46.
- Safaryan S.E. et al. (1982) - EPPO Bulletin 12 (2) 113-116.
- Bulit J. et al. (1982) - EPPO Bulletin 12 (2) 37-48.
- Alleweldt G. et al. (1981) - Vitis 20 (1) 1-7.
- Bindra A.S. et al. (1979) - Research Bulletin of Marathwada Agri. Univ. 3(4) 53-55.
- Langcake P. (1981) - Physiological Plant Path. 18 (2) 213-226.
- Pool R.M. et al. (1981) - Vitis 20 (2) 136-145.
- Blaich R. et al. (1982) - EPPO Bulletin 12 (2) 167-170.
- Rudyshin S.D. (1983) - Bumorpagctbo u Buhogeaue CCCP 3:43-45

## SUMMARY

### MICROSTRUCTURE OF GRAPE SKIN IN RELATION TO RESISTANCE TO *GLOMERELLA CINGULATA* (STON.) SPAULD ET SCHRENB

Under the ax bloom of the grape berry surface, micropores are observable with a scanning electron microscope. These micropores are of irregular shape and have a diameter of 0.5-2.0  $\mu$ m. When treated with uranine, the distribution density of micropores can be observed. A significant correlation between the density index of the micropores and the susceptibility index to infection with *Glomerella cingulata* has been detected in 31 cultivars. The cultivars of *Vitis vinifera* L. have a higher density index of micropores and are more susceptible to *G. cingulata* than interspecific hybrids of *V. vinifera* and *V. labrusca* L. or *V. vinifera* L. and *V. amurensis* Rupr. The French hybrids (Seibel and Seyve Villard selections) also have a lower density index and are more resistant. According to a linear regression of the susceptibility index of *G. cingulata* on the density index of the micropores, a micropore density under 25% can be regarded preliminarily as a level for assessing resistance of grape cultivars to *G. cingulata*.

## Résistance aux nématodes / Nematode tolerance Resistenza ai nematodi

### FIELD RESISTANCE TO THE GRAPEVINE FANLEAF VIRUS-XIPHINEMA INDEX COMPLEX IN INTERSPECIFIC HYBRIDS OF *VITIS*

L.A. LIDER (1) - A.C. GOHEEN (2)

(1) Professor of Viticulture - Department of Viticulture and Enology (USA)

(2) Research Plant Pathologist - USDA - Department of Plant Pathology - University of California - Davis (USA)

### Introduction

A serious disease problem facing the California grape industry is the grapevine fanleaf-*Xiphinema index* nematode complex. *Vitis vinifera* grape cultivars become infected by grapevine fanleaf virus (GFV) when planted in soil infested with viruliferous *X. index*. Infected vines degenerate rapidly. Fruit set is reduced and crop production can become 20% or less that of normal, healthy vines of the same cultivar.

The authors thank the Wine Institute and the American Vineyard Foundation for financial support toward this research.

The standard parasitic nematode and phylloxera-resistant rootstocks that are in general use in California, such as Harmony, Couderc 1613, Rupestris St. George, and Gazing 1 are not resistant to *X. index*. When vinifera scions are grafted upon them and planted in infested sites, degeneration is not prevented and, in fact, may be exacerbated to a point where vines are virtually cropless.

Soil fumigation treatments in California have had limited success for the control of infectious degeneration, but frequently they have completely failed for the control of this soil-borne complex (Raski, et al. 1983).

Alternative investigations on resistance to the nematode and to the virus offer a potential for biological control of this serious field problem. Genetic resistance to *X. index* in *Vitis* species was reported nearly 20 years ago (Kunde, et al. 1968). The mode of inheritance of nematode resistance in *Vitis* hybrids was reported more recently (Meredith, et al. 1982). A unique group of *Vitis* hybrids, that of *V. vinifera* x *V. rotundifolia*, was studied by Patel and Olmo (1955), and their potential as phylloxera resistant rootstocks reported on by Davidis and Olmo (1964); however, no resistant rootstocks were released from these studies.

Observations of differential tolerance to infectious degeneration within a population of the same cultivar grafted onto different hybrid rootstocks led to experiments to test for GFV-nematode tolerance amongst experimental hybrid rootstocks from the grape breeding trials in progress at Davis. Selected hybrids, displaying varying degrees of tolerance to *X. index* feeding, were grafted to susceptible scions and planted in field trials during the 1970's in California vineyards that were known to be infected with viruliferous nematodes. From such pilot experiments, hybrids with potential resistance to feeding by the nematode were further selected and subjected to additional testing. This is a report on the performance of selected hybrid rootstocks compared with standard rootstocks when vines are planted in a site contaminated by viruliferous *X. index*.

## Methods

The presence of GFV in many wine grape cultivars can be demonstrated by direct observation of symptoms produced on the leaves and canes of such vines during the growing season. This is a tedious process requiring careful observations over several seasons in order to be sure whether the disease is present or not. It is marginally accurate, if the observations are not continued over long periods, because symptoms may be masked by environmental conditions at specific times in the growth of vines when examinations are made on vines in the field. To be certain of the presence or absence of disease, vines must be indexed for the presence of the GFV.

Recent progress with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) permits rapid detection of GFV in grapevine tissues (Jiminez, 1984) (Bouquet and Danglot, 1983). For the present study, virus infection was determined by observation of disease symptoms over time and by ELISA of tissues taken from experimental vines at various stages in the growth of such vines.

A group of 60 hybrids from populations with potential resistance to feeding by *X. index* along with standard rootstocks was selected for testing in a site that was known to be contaminated by viruliferous nematodes.

The stocks were planted into sterilized soil in containers in the greenhouse, and when rooted were set in the field. The following fall these were field budded with scions of Cabernet Sauvignon from a source that was known to be free of GFV infection.

A site near Rutherford, Napa County, California was chosen for testing the tolerance of the scion-rootstock combinations to infectious degeneration. The selected site had been planted with vines growing on «St. George» rootstocks for many years. The particular field had a history of severe disease infection. All old vines showed severe leaf and cane symptoms of infectious degeneration, and the roots were uniformly and severely affected by high numbers of *X. index*.

The vines from the affected site were removed in the fall of 1978 and the soil was fitted for planting in 1979. No fumigants were applied. No special care to remove root fragments of the old vines from the soil was practiced. Single vine replicates in fine randomized blocks of the 60 hybrid selections or standard rootstocks were set in June 1979. Planting was accomplished with care to be sure that the graft union between the Cabernet Sauvignon scion and the experimental rootstock would be at least 5 to 10 cm above the soil surface. The vines were carefully maintained so that an experimental vineyard became established. The individual vines were head trained and spur pruned. Vineyard management practices that are commonly used in the area were followed for the vineyard development.

First visual symptoms of GFV infection were observed in autumn 1981 in the leaves of Cabernet Sauvignon vines that were grafted onto virus-susceptible rootstocks. Such symptoms increased in severity as growth of the vineyard progressed. These symptoms were recorded as they were observed. During the years 1981 through 1984 samples of shoot tips and leaves were taken at frequent intervals to check the presence of GFV by using ELISA.

In September 1984, crop production and maturity measurements were made on the vines and in January 1985 the vegetative growth of each plant was determined by weighting the dormant prunings.

## Results and Discussions

Following the initial observation of GFV infection in 1981, the intensity increased until by 1983 the majority of the plants in the trial showed strong infection in the Cabernet Sauvignon scion. However, four selections, three *V. vinifera* x *V. rotundifolia* hybrids and one *V. rotundifolia* x *V. vinifera* hybrid effectively tolerated the disease and the scions bore normal crops of high quality fruit.

Table 1 presents data gathered on production, maturity, and vegetative growth of the scion on these four hybrids and on three standard stock to which they were compared. Comments on the ELISA tests are also included.

Tab. 1 - Growth and production of Cabernet Sauvignon scions on selected hybrids and rootstocks in a Napa Valley Trial in 1984

Rootstock	Yield/V. (Kg)	Cluster wt (gm)	Berry wt (gm)	°Brix	% T. A.	Pruning wt (Kg)	Comments on ELISA
039-16	10.4	124	1.02	24.3	0.55	4.7	All free of virus.
043-43	10.2	151	1.09	24.6	0.54	3.3	All free of virus.
171-6	5.3	93	1.00	23.4	0.51	5.1	One vine shows moderate infection.
044-4	2.9	83	1.00	24.9	0.53	1.0	One vine shows moderate infection.
Ganzin 1	8.7	86	0.81	24.7	0.54	2.6	All vines moderate to severely infected.
Harmony	5.0	67	0.87	23.8	0.48	2.9	One vine free, four severely infected.
St. George	3.4	49	0.76	23.3	0.50	1.4	All vines severely infected.

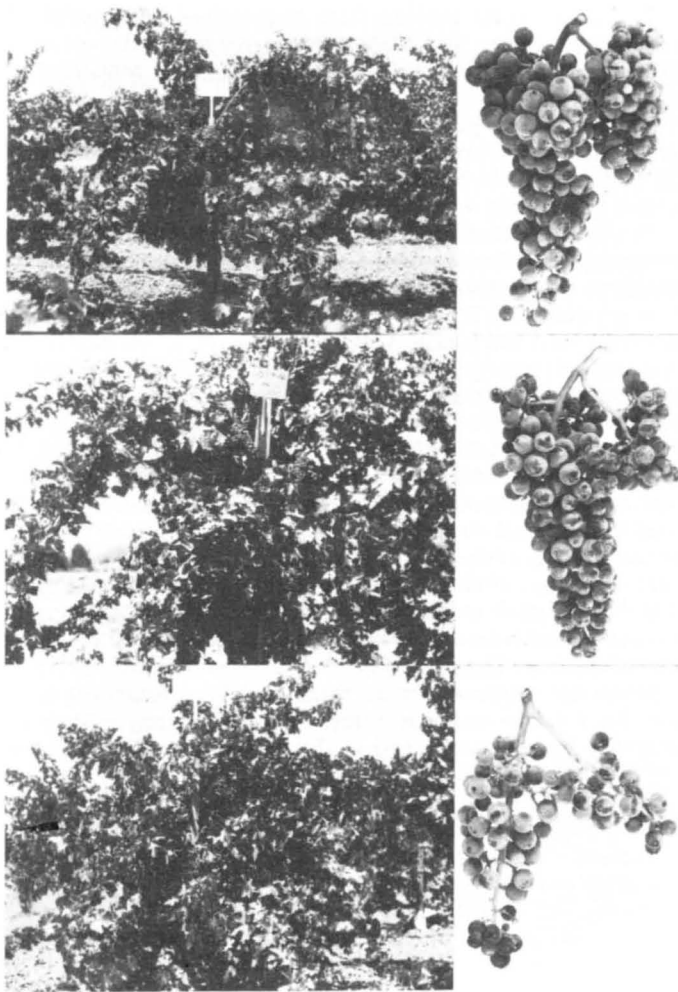


Fig. 1 - A comparison of vines and fruit produced by Cabernet Sauvignon free of virus on 043-43 (top), and on 039-16 (middle), and on virus infected «Rupestris St. George» (bottom).

The hybrid, 171-6, is a *V. rufotomentosa* x *V. vinifera* cross. The 039-16, 043-43, and 044-4 are all crosses of *V. vinifera* x *V. rotundifolia*. Ganzin 1 is a cross of *V. vinifera* x *V. rupestris*. Rupestris St. George is a *V. rupestris* seedling and Harmony is an open-pollinated seedling of Couderc 1613 x *V. champini*.

Both crop yield and vine growth of the scion on 039-16 and 043-43 were excellent. The larger clusters and berries obtained on both of these stocks reflect their complete freedom from virus infection after seven years at the infested site. On the other hand, the severe virus infection in the scions on the three standard rootstocks is reflected in the low yields, smaller clusters and ber-

ries, and reduced pruning weights on these stocks. The hybrid 044-4 appears to be inherently low in vegetative vigor and the lower yield and pruning weights of the Cabernet Sauvignon reflect this low vigor.

Figure 1 presents photos of vines and fruit produced on the virus-free hybrids, 043-43 and 039-16 growing in the site contaminated by viruliferous nematodes, and is compared with that on the severely infected «Rupestris St. George».

In order for a promising seedling selection to become commercially useful as a rootstock, it must be able to be propagated and when grafted to form a compatible union with the cultivars placed upon it.

The *V. vinifera* x *V. rotundifolia* hybrids are difficult to propagate. However, in past experiments (Davids and Olmo 1964) and in this study it appears that some of these can be successfully rooted and grafted to *vinifera* scions.

Table 2 presents results of a propagation experiment with the four most promising hybrids in this study. Involved were comparisons of two rooting-hormone treatments with the untreated control. The tests were performed using dormant, hardwood cuttings placed in a greenhouse sand-bed with bottom heat at 27°C or in a callusing chamber with sterile peat-moss at a constant temperature of 27°C. Thirty short cuttings, 15-20 cm in length, were used for the sandbed experiment. Standard cuttings approximately 35-40 cm were used for the callusing experiment. The data shows a marked improvement in rooting following the application of rooting hormones. It does show that each of the four hybrids can be rooted using a specialized technique.

## Conclusions

Genetic resistance in *Vitis* sp. to feeding by *X. index*, the nematode vector of GFV, has been reported in years past. Through the use of recent progress with serological techniques, ELISA, the virus status of grafted grapevines growing in infested field locations has been facilitated. From this study, four *Vitis* hybrids have been found which effectively tolerate the disease complex in contaminated soil sites.

Vines in a trial with the susceptible scion, Cabernet Sauvignon, grafted upon these resistant selections have remained disease free and productive for seven years. Two hybrid selections, 039-16 and 043-43, both crosses between *V. vinifera* x *V. rotundifolia*, appear to be immune to nematode feeding and when grafted have not become infected with virus, even though the vines are planted in soils where viruliferous nematodes are present in high populations.

These grafted vines remained vigorous and healthy for a period of seven years, bearing normal crops of high quality fruit when compared with the vines on standard rootstocks that began to degenerate soon after planting.

This performance has prompted the release to California growers of these two promising hybrids as new rootstocks to control this serious vineyards disease complex.

Tab. 2 - The rooting of four hybrid stocks following two rooting hormone treatments

	24 hr. soak	100 ppm IBA	Powder dip	0.8% IBA	Control	
	Greenhouse Sand-bed %	Callusing box %	Greenhouse Sand-bed %	Callusing box %	Greenhouse Sand-bed %	Callusing box %
039-16	88	92	44	66	12	—*
043-43	56	100	41	40	0	—
044-44	26	54	7	30	4	—
171-6	96	100	81	96	67	—

\* Not included in test.

## REFERENCES

1. Bouquet A. and Y. Danglot (1983) - *Recherches de porte-greffes de vigne résistant a la transmission du virus du court-noue (GFV) par le nematode Xiphinema index Thorne and Allen*. I. Application de la methode ELISA a la realisation d'un test rapide de selection. *Agronomie* 3 (10) 957-63.
2. Davids U.X. and H.P. Olmo (1964) - *The Vitis vinifera x V. rotundifolia Hybrids as Phylloxera Resistant Rootstocks*. *Vitis* 4: 129-143.
3. Jimenez F. (1984) - *Isolation, Purification, and Quantitative Serology of Grapevine Fanleaf Virus*. Ph.D. Thesis. University of California, Davis.
4. Kunde R.M., L.A. Lider and R.V. Schmitt (1968) - *A test of Vitis resistance to Xiphinema index*. *Am. J. Enol. Vitic.* 19, 30-36.
5. Meredith C.P., L.A. Lider, D.J. Raski and N.L. Ferrari (1982) - *Inheritance of Tolerance to Xiphinema index in Vitis species*. *Am. J. Enol. Vitic.* 33, 154-158.
6. Patel G.I. and H.P. Olmo (1955) - *Cytogenetics of Vitis: I. The Hybrid V. vinifera x V. rotundifolia*. *Am. J. Bot.* 42, 141-159.

## SUMMARY

### RESISTANCE TO THE GRAPEVINE FANLEAF VIRUS - XIPHINEMA INDEX COMPLEX VITIS SPECIES

*A serious disease problem facing the California grape industry is the grapevine fanleaf virus — Xiphinema index nematode complex. Extensive research with soil fumigation treatment in California has had limited success and frequently has failed completely in the control of this soil-borne complex.*

*Alternative investigations at Davis on resistance to the nematode and to the virus show potential for a biological control of this serious field problem.*

*Genetic resistance to X. index was reported approximately 20 years ago. Recent progress with serological techniques (ELISA) has permitted rapid assay of the virus status of grapevines growing in field locations. We have found different Vitis hybrids and grape selections which effectively tolerate the disease complex in contaminated soil sites.*

*Vines in trials with susceptible scions, grafted upon the resistant selections and planted in contaminated soils, have remained disease free and productive for up to seven years. Four selections, three vinifera x rotundifolia hybrids, one a vinifera x rufo-tomentosa hybrid, have effectively tolerated the disease for the seven years.*

*Performance, measured by growth and yield of the scions, has prompted the release of these as new rootstocks to control the disease complex.*

## Aspects différents / Different aspects / Aspetti differenti

### SELECTION OF GRAPEVINE HYBRIDS FOR CROWN GALL RESISTANCE

**J. KORBULY - P. KOZMA JR. - E. SZEGEDI**

Department of Plant Genetics and Breeding University of Horticulture - Budapest - (Hungary)

Research Institute for Viticulture and Enology - (Hungary)

*Agrobacterium tumefaciens* (synonymous name: *A. radio-bacter* subsp. *tumefaciens*) induces tumors (called crown galls) on a wide range of dicotyledons including about 40 economically important plant species (De Cleen and De Ley 1976, De Cleen 1979). The most serious damages are caused in fruit-tree, raspberry and grapevine plantations.

There is no effective method of preventing crown gall disease so far. One of the possible ways to prevent the damage of *Agrobacterium tumefaciens* on grapevine plantations is use of crown gall resistant varieties.

#### Materials and methods

##### Bacteria strains

The *A. tumefaciens* strains used in the experiments are listed in Table 1.

In the first selection step we have screened European varieties *V. amurensis* and Franco-American (Seibel and Seyve-Villard) hybrids for resistance to the biotype 3 strain AT-1 of *A. tumefa-*

*ciens*, because of its virulence on a wide range of grapevine varieties and the dominance of biotype 3 strains on grapevine.

To obtain information on the inheritance of resistance we used also the strain AT-1.

The next experiment aimed at answering whether susceptibility or resistance is strain or biotype-specific, we tested 10 varieties with 64 *Agrobacterium* strains.

Bacterial cultures were grown on YE agar (10 g glucose, 5 g yeast extract and 15 g agar dissolved in 1000 ml of distilled water) at 25°C for 48 h prior to infection.

For inoculations we used the next method: two-bud cuttings of grapevines were forced in perlite, and after wounding the young green stems were infected with a heavy inoculum of bacteria.

The infected plants were inoculated at 23-28°C in greenhouse. Results were scored after 6 weeks. Each experiment was repeated 4-8 times.

For genetic studies the young seedlings were inoculated similarly.

#### Results and discussion

Each of the tested European variety formed tumors after infection with strain AT-1 but we have to mention that *Rkaciteli* and *Askeri* formed much less tumors than the other varieties.

There was only one sensitive clone of the tested five *V. amurensis* clones. The *V. flexuosa* *V. piasezkii* and *V. riparia* cv. *portalis* also showed resistance to strain AT-1.

Among Seibel and Seyve-Villard hybrids only Seibel 2 showed resistance. From further Seibel and Seyve-Villard derivatives RF 48 and Moldova proved to be resistant. It is a very interesting result because both parents of this hybrid were susceptible. (Table 2).





Tab. 4 - Strain-specificity of susceptibility

Strains	Varieties									
	Kunbarát	A 2/11	RF 48	Riesling	Cabernet franc	Kövidinka	Rkaciteli	Chasselas	Afuz ali	Favorit
<i>Biotype 1</i>										
B-6	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
0	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Ach-5	-	=	+	+	-	+	-	+	-	-
C 58	-	-	-	=	+	+	-	+	+	+
T 37	-	-	-	=	+	+	-	+	-	+
OD 50	-	=	+	+	+	+	-	+	-	-
B 23	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-
AT-3	-	-	=	+	+	+	-	+	+	+
AT-4	-	-	-	+	+	+	=	+	=	+
<i>Biotype 2</i>										
1	-	-	-	+	+	+	=	+	+	-
7	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
63	-	-	=	+	+	+	-	+	+	+
K 27	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+
AT-181	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+
Eu-6	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+
<i>Biotype 3</i>										
19/8	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
B-29	-	+	+	+	+	+	=	+	+	+
102	-	+	=	+	+	+	=	+	+	+
121	-	+	+	+	+	+	=	+	+	+
235	-	+	+	+	+	+	=	+	+	+
S-1	-	-	-	+	+	+	=	+	+	+
S-2	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+
S-3	-	-	-	+	+	+	=	+	+	+
S-4	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
S-5	-	-	-	+	+	+	=	+	+	+
SF-1	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+
B-1	-	-	-	+	+	+	=	+	+	+
B-10/7	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
B-8/4	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
AT-1	-	-	-	+	+	+	=	+	+	+
AT-2	-	-	-	+	+	+	=	+	+	+
AT-6	-	-	-	-	+	+	=	+	+	+
AT-61	-	-	-	+	+	+	=	+	+	+
AT-62	-	-	=	+	+	+	=	+	+	+
AT-63	-	-	-	+	+	+	=	+	+	+
AT-64	-	-	=	+	+	+	=	+	+	+
AT-66	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+
AT-92	-	-	-	+	+	+	=	+	+	+
EK-1	-	-	-	+	+	+	=	+	+	+
EK-2	-	-	-	+	+	+	=	+	+	+
NI-1	-	-	-	+	+	+	=	+	+	+
NI-2	-	-	-	+	+	+	=	+	+	+
Tm-4	-	-	=	+	+	+	-	+	+	+
SF-1	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+
SP-1	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
Ca-M	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
C 14/36	-	=	-	+	+	+	-	+	+	+
Hm-1	-	=	=	+	+	+	=	+	+	+
K-1	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+
SK-1	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+
Sz-1	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+
Sz-2	-	-	-	+	+	+	=	+	+	+
10-1.-1.	-	-	-	+	+	+	=	+	+	+
10-2.-1.	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+
IS-1.1.	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
IS-2.1.	-	+	+	+	+	+	=	+	+	+
Rr-2	-	-	-	+	+	+	=	+	+	+
Rr-4	-	-	-	-	+	+	=	+	+	+
Zw-1	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+
Zw-2	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+
Zw-3	-	-	-	-	-	=	-	+	+	+
AB-3	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
AB-4	-	-	-	+	+	+	=	+	+	+
AB-5	-	-	=	+	+	+	-	+	+	+

- : no tumors    + : great tumors    = : very small tumors

isolates (biotype 3) induced small tumors on it. This hybrid was also susceptible to a few strain of biotypes and 2.

*Vitis vinifera* varieties were usually sensitive but it is very interesting that cultivar Favorit, which formed usually large tumors, showed resistance to a few strain biotype 1 and 2.

Cultivar Rkaciteli proved to be resistant to almost every strain of biotype 1 and 2, only AT-4 and 1 strains caused slight tumors.

We have found that this cultivar showed resistance to several strains of biotype 3 of formed small tumors only.

## Conclusions

Due to the Mendelian dominant inheritance of resistance in *V. amurensis* and their progenies, these hybrids are the most promising for further breeding work. The wide resistance of Kunbarát suggests

the possibility of practical application of resistant varieties to reduce the damage of crown gall on grapevine plantations.

## LITERATURE CITED

- Cleene M. De, (1979) - *Crown gall: economic importance and control*. ZB. Bakt. II. Abt. 134, 551-554.
- Cleene M. De and Ley J. De (1976) - *The host range of crown gall*. Bot. Rev. 42, 389-466.
- Koleda I. (1975) - *Ergebnisse von Kreuzungen zwischen Vitis amurensis und Vitis vinifera in der Züchtung frostwiderstandsfähiger Reben*. Vitis 14, 1-5.
- Szegedi E., Korbuly J. and Koleda I. (1984) - *Crown gall resistance in East Asian Vitis species and in their V. vinifera hybrids*. Vitis 23, 21-24.
- Szegedi E., Kozma jr. P. (1984) - *Studies on the inheritance of resistance to crown gall diseases of grapevine*. Vitis 23, 121-126.

## SUMMARY

### SELECTION OF GRAPEVINE HYBRIDS FOR CROWN GALL RESISTANCE

One of the possible ways to prevent the damage of *Agrobacterium tumefaciens* on grapevine plantation is the use of crown gall resistant varieties. Recently we have screened European varieties, *V. amurensis* and Franco-American (Seibel and Seyve-Villard) hybrids for resistance to the biotype 1 strain AT-1 of *A. tumefaciens*. All the European varieties were sensitive and 2 of the tested 27 Franco-American hybrids showed resistance. The progenies of *V. amurensis* were the most promising for further work.

To obtain information on the inheritance of resistance we tested more than 2,000 seedlings of 16 crosses and 15 self-pollinated families of the resistant and sensitive parents. The segregation ratio was nearly 1:1 in the crosses and 3:1 in the resistant self-pollinated families. All sensitive self-pollinated seedlings were susceptible. These results indicate that a single dominant gene is responsible for the resistance in the studied host-pathogen system.

Several resistant and sensitive hybrids (varieties) were tested with further 11 strains representing the three biotypes. Four progenies of 28/19 (*V. amurensis* x *V. vinifera* F2 hybrid) showed resistance in all cases. The susceptibility of the other hybrids (varieties) were strain specific.

In another screening we tested different European and *V. amurensis* hybrids with 64 *Agrobacterium* strain. The results of this exam suggest that the susceptibility was rather strain specific.

## EVOLUTION OF PHYLLOXERA RESISTANCE IN AMERICAN VITIS

H.P. OLMO

University of California - Department of Viticulture & Enology Davis (USA)

Grapevine phylloxera has been assumed to be native to the eastern United States and was first described by C. H. Fitch in New York State in 1854 from leaf galls and named *Pemphigus Vitifoli*. A second form was discovered in England in 1867 by J.O. Westwood, causing swellings and necrotic areas on the roots. The next year J.E. Planchon found the insect on vine roots in France and applied the name *Phylloxera vastatrix*, which Lichtenstein found to be identical to the American one.

The leaf insect can emigrate to the roots and form root galls, lodging near the tips of actively growing new roots or on older roots. In the former case, the feeding puncture kills some tissue but stimulates excessive cell division opposite, so the root tip turns inward. Those on older roots produce necrotic areas that become pits, surrounded by rims or swellings of activated tissue and are called nodosities. Root gall (radicolica) insects cannot cause leaf galls (gallicola), but there is some disagreement on this point (7, 9). Susceptibility to the gallicola is very variable and may involve different biotypes of the insect (4, 15, 18, 75).

In the autumn some of the radicolica nymphs develop into winged forms, either male or female, and move above ground. Some mate and a single winter or hibernating egg is laid beneath the bark of the vine trunk. This hatches in the spring and the in-

sect moves onto the upper young leaves of the developing shoot, forming several generations of gall inhabiting insects. Many insects remain on the roots as hibernants, but other move to the surface and crawl to other vines.

The completion of the sexual cycle, before the hatching of the hibernating egg eventually leading to successive generations of leaf galls, is greatly influenced by environmental conditions, particularly rainfall and humidity. Observations of sexual winged forms observed both in the laboratory and outdoors indicate very high death rates very low egg production and fertility of these very fragile insects (8, 9). Low humidity associated with high temperatures are lethal. Leaf galls are rarely, if ever, observed in desert climates, even on very susceptible varieties. Elimination of the sexual cycle would be expected to seriously impede the rate of spread and dispersion of the insect.

At the time of my visit to Venezuela in October 1968 (19), I examined typical *caribaea* vines in a clearing at La Miel and another isolated vine at the head of Caraché Valley, past Concepcion, growing on a fence row. Many flower clusters were nearly in blossom. A third location, at the falls of the river above Humocaro Alto, had several vines that were clambering over trees. Neither leaves nor roots had any phylloxera at these locations. The oldest commercial vineyard in the country was close to Humocara Bajo, about 5 acres planted in 1947. This vineyard was carefully inspected for phylloxera because of the wild vines in the vicinity, but neither root or leaf galls were discovered. The variety was *vinifera*, locally called «Violetta». Examination of other *vinifera* plantings in various sections of the country indicated apparent freedom of phylloxera, so I recommended that importation of rooted grapevines should be prohibited.

The following information has been extracted from the report of Salinas and Bautista (23).

«Phylloxera was first encountered in Venezuela in a cultivated garden in the beginning of 1973 on some vines of the variety «Jacket», located near Valera, Trujillo state at the base of the

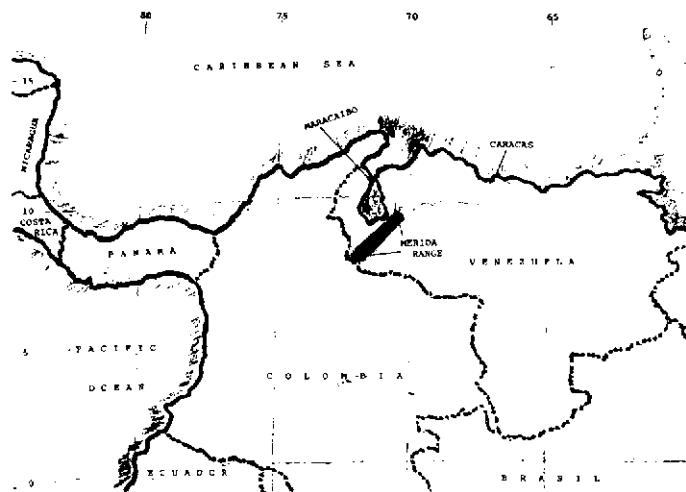


Fig. 1 - N. South America - Merida Region.

Andes, 700 m. above sea level. Only leaf gall forms were present. With this exception, all other occurrences of phylloxera have been associated with the wild (*silvestre* or *algrás*) = *Vitis caribaea*, in the Andean range of Merida, at 400-1500 m within the boundaries W 67°34' and W 72°45', N 7°38' and N 10°22'. That it is an indigenous phylloxera is highly probable, since its occurrence is intimately and generally linked with the wild vine, often hundreds of miles from any introduced cultivars. Old time residents concur that the galls are indigenous. The natural zone of the vine is given by several botanists as rain forest in a zone 200-1500 m above sea level».

The distribution of *caribaea* vis-à-vis the Andean phylloxera has yet to be plotted in the Caribbean, Central America and Mexico.

Galet (12) observed the herbarium sheets of *V. caribaea* at the Botanic Garden in Caracas collected between 1930 and 1971, mostly by Prof. Steyermark. Galet found no trace of phylloxera on these specimens and concluded that this confirmed that the insect was a recent introduction. This lack of confirmation led Galet to the idea that botanists would likely choose specimens from vines free of galls. Two other findings mentioned by Salinas and Bautista, the wide distribution along the Northern Andean foothills and the report of galls on a herbarium specimen from Panama by Planchon in 1879 did not conform to the idea of a recent introduction. Galet did not examine roots of vines that had leaf galls (they were inaccessible).

On April 26, 1974, Dr. Salinas and I visited several areas below Merida in the Chama River canyon and located typical *caribaea* vines that had many leaf galls. Since he had never seen phylloxera root galls, we spent the afternoon tracing out roots that were thickly stratified in the wet humus of partly decayed leaves, intertwined with the roots of other plants. Although we examined many vine roots, no insects or any sign of damage were evident. In fact, the roots were light colored, in active extension and with very smooth surfaces. The air was very humid.

There may be reason to suspect that the Andean biotype is the most primitive form of grape phylloxera that has later evolved by migrating northward to the United States.

In the tropical rain forest environment, the *caribaea* vine is evergreen and produces new shoot growth repeatedly. The leaf gall form has sustenance the year round. No alternate host tissue is required. As the vine moved or adapted to a temperate climate, succulent shoot growth would be limited to a short season and the leaves become deciduous, falling to the ground. The leaf gall insects might seek protection against drying and low temperatures by entering cracks in the soil, eventually lodging on some roots to produce the feeding radicicola. Under even colder environments,

the hibernating winter egg can continue the growth cycle. It might be possible to test this theory by a field study of the *caribaea*-phylloxera relationship across a tropical-temperate transept in Mexico.

The *caribaea* vine is the most widely distributed and contiguous member of *Vitis*, extending in a great arc from the northeastern Sierra Madre Oriental of Mexico, widening out in the region of Vera Cruz, across the Yucatan Peninsula and densely established in the high rainfall forests at medium altitudes throughout Central America and Panama, thence trailing along the Andes into Venezuela and Colombia. It is evident that this distribution shows many disjunctions, principally because of aridity. Forest clearing by fire and areas of low rainfall or desert zones are important factors in upsetting continuity.

The enormous area and selective habitat occupied by the *caribaea* species is unparalleled in the genus. Even more remarkable is the limited variation in morphological and physiological characters favored by the climatic constancy of the tropical rain forest. Only in Northern and Western Mexico do we observe the diversification into distinct eco species, this corresponding to zones of increasing aridity, disturbing the continuity of the basic type and resulting in both geographical and reproductive islands of isolation. Contrariwise the species remains most uniform in the widely scattered islands of the Caribbean, where the tropical conditions are kept uniform by the large sea-to-land ratio and small orographic differences of the land masses.

In Costa Rica, the Yucatan Peninsula of Mexico, the Sierra Madre Oriental south of Monterrey and many other areas of humid rain forest along the Gulf of Mexico the *caribaea* vine is a prominent part of the flora, producing extensive canopies over the tops of the tallest trees. However, the vine fruits more abundantly where there is a definite dry season, usually some miles inland from the Gulf shore, at elevations of 300 m to 1500 m. In such areas the fruit is harvested by the Indian populations for local wine making; nowadays the very high acidity (2-3 percent total acid as tartaric) is ameliorated with substantial doses of sugar.

It is curious that so little attention has been paid to *caribaea*, the most abundant and uniform of all wild *Vitis* species, occupying by far the most extensive geographical area. Even in rather recent reviews it has been left out of consideration (5, 22).

Of the well-known species of the United States, *cinerea* seems most closely allied to *caribaea*, both in morphology and some aspects of its habitat. Both species have a very late period of blossoming and maturity and begin growth late in spring when temperatures are rising rapidly. The leaf serration is similar, the margin reduced to a shallow scalloping and mucronate tips. The leaves and shoots are dull, greyish-green, covered with fine and closely appressed hairs that produce a velvety feeling when rubbed. The fruit clusters in *cinerea* are larger than *caribaea* and with compounded and open branching; whereas the tropical grape is a smaller and more densely branched and compact cluster.

The former natural distribution of *caribaea* has been modified to a great extent by the widespread clearing and burning of the tropical rain forests and in more localized areas by extensive overgrazing by sheep and goats, followed by erosion and denudation. Outlying or isolated occurrences of the vine are relics of a previous lush forest. Climatic changes in the rainfall pattern have been more widespread, resulting in a dry season or seasons of considerable duration, the most important factor in obliterating the leaf gall form. As the climate became more temperate, the evergreen vine became deciduous (a more evolved or recent form); and the phylloxera were forced to move to the root system.

Although *caribaea* is quite uniform and typical in the southern tropical part of its range and in the Caribbean Islands, other very distinct and different species exist in northern Mexico, where xerophytic zones have caused their isolation and differentiation. These are now under study. It is well recognized that lack of summer rainfall, high temperatures and low humidity renders the phylloxera sexual cycle impotent, which in turn nullifies the

possibility of leaf galling. There is some disagreement as to whether leaf gall generations must begin always from the overwintering or hibernating egg or whether the root galls could provide migrants that would initiate the leaf galling. Unfortunately, most of the experimental work has been done under laboratory or in vitro environments that are far removed from natural conditions. Branas (7) supports the prevalent view that the *radicola* cannot develop *gallicola*.

*Cinerea* received considerable attention in Germany, in rootstock breeding, after Börner's report of its immunity to phylloxera. Schaefer (24) has summarized some of the chemical and physiological differences of this species compared to others, especially the polyphenols.

In contrast, *riparia*, the most widely distributed in geographical range, is the one most often showing heavy leaf galling and only slight root injury. Its principal habitat is in deep alluvial banks on live streams, furnishing the humid environment preferred by the *gallicola*. The fallen infected leaves can be carried downstream to provide a generalized infection of the root system. The widespread and thorough presence of phylloxera in *riparia* would suggest that the insect evolved with the radiation of the species itself, so that despite a great expansion in range all *riparias* have high and uniform tolerance, aided by a more general inoculation due to the habitat on interconnecting waterways. These are sanctuaries for migrating birds, which appear to be the principal consumers of the fruit and disseminators of the seeds.

The pattern of vine tolerance or immunity that has developed in North American *Vitis* is of particular interest. One group of recognized species that are nearly immune are *berlandieri*, *cordifolia*, *cinerea* and *palmata* (*rubra*). In general, these are the same species that are very refractive to phylloxera attack and some are immune to all galling. It is of interest that these same species are most difficult to root from dormant cuttings and to form satisfactory callus tissue in grafting. The unique property vis-à-vis phylloxera reaction is the inability to form meristematic growth on wounding. Phylloxera derive nutrients most readily from meristematic stimulation of the cells, a zone of hypertrophy near the stylet puncture, promoting a «sink» for greater movement of nutrients. This is especially evident in all types of phylloxera galls; the succulent and active tissues are those favored, the young expanding leaves and root tips.

Tab. 1 - Comparative resistance of American *Vitis* to phylloxera root galling

(after Viala) <i>vinifera</i> = 0.	
19	<i>riparia</i> , <i>rupestris</i> , <i>cordifolia</i> , <i>palmata</i>
18	<i>berlandieri</i> , <i>cinerea</i>
17	<i>aestivalis</i> , <i>monticola</i> , <i>arizonica</i>
16	<i>lincecumii</i>
14	<i>candicans</i>
5	<i>labrusca</i>
4	<i>californica</i>

In general, the tolerant species are utilized as «resistant» stocks because of the much greater ease of propagation, which is correlated with extreme susceptibility to leaf galling but poor development of tuberosities, notable in the selections of *riparia* and *rupestris*. Here the important difference between the reaction of leaf vs. root tissue is fundamental but not yet understood.

Species with low or no resistance to phylloxera attack have not yet been invaded because of desert or mountain barriers, this includes *californica*, *girdiana* and some *arizonica* on the Pacific coast. Species with intermediate resistance are in flux, in which the phylloxera invasion is more recent.

The native grape species of the Pacific Coast, from Northern Mexico to the Rogue River in southern Oregon, include the species

*californica*, *girdiana*, *arizonica*, and *treleasei*. No instances are known of the presence or collection of phylloxera in this region until the discovery on cultivated vines in Sonoma County, California in the 1880's. The introduction came with cultivated varieties either from France or the Midwest or Eastern U.S. The northern migration of phylloxera from the tropical zones was not possible because of the desert barriers and the very isolated populations of *Vitis*. Lack of the sexual cycle of the phylloxera denied the origin and wider distribution of winged forms over great distances.

The migration of the phylloxera along the Gulf of Mexico would have the advantage of a chain of host *Vitis*, on which to advance, penetrating the Mississippi Basin, where new and more susceptible taxons were present. With very great multiplication of the leaf gall forms and high population pressure, the root gall form also developed and proliferated. The survivors represented the tolerant or «resistant» species, which have become the principal gene resources used as rootstocks during the last century.

Axelrod (1) has summarized the general changes occurring in the flora of the Sonoran Desert of Northern Mexico, which derived its taxa during late Cretaceous and Tertiary times, from the diverse plant successions that occupied the region: tropic savanna, dry tropic forest, thorn forest, piñon-oak woodland and grassland. As the thermal gradient increased from about 20° to 30°C following Middle Eocene, the high pressure system got stronger and the drought increased in duration and intensity.

Semi-deserts probably attained maximum area under the mild, dry middle Pliocene, 5-7 m.y. ago. A full desert environment first appeared during the interglacials, at present reaching its greatest extent and severity. The discontinuity of the *Vitis* flora that would have prevented the advance of phylloxera to the northwest is relatively recent. In evolutionary terms, probably 12 thousand years ago or post-glacial.

Angiosperms originated and underwent their major diversification in moist tropical forests (3). The deciduous character is generally considered an advanced and specialized derivation.

The forces that created the Greater Antilles as a continuous chain in Eocene or perhaps early Oligocene time were tectonic in nature, bringing an end to most all volcanic activity that took place for 100 million years along the northern edge of the Caribbean basin. On the other hand, the Lesser Antilles reflect volcanic and tectonic origin, for they mark a line of underthrusting of Atlantic oceanic plate as well as a line of Eocene (or earlier) to Holocene volcanism. Compressive buckling owing to underthrusting and immense quantities of volcanic detritus built the Lesser Antilles island arc of the present.

To quote Morley (18), «Paleobotanical and geological evidence lends support to the existence of two distinct migration routes, one connecting the Greater Antilles to Mexico and Central America and the other connecting the Lesser Antilles to northern South America».

The lesser Antilles species of *Columnneas* are derived from South American ancestors and are younger than those of the Greater Antilles, which have a more remote Central American origin (18).

The study of *Vitis* and phylloxera variation and distribution in the Caribbean may elucidate their original area and migration routes.

#### LITERATURE CITED

1. Axelrod D.E. (1979) - *Age and origin of Sonoran desert vegetation*. Cal. Acad. Sci. Occasional Papers, p. 132.
2. Bailey L.H. (1934) - *Vites peculiares and American Borealem*. Gentes Herbarum 3: 151-244.
3. Bews J.W. (1927) - *Studies in the ecological evolution of Angiosperms*. New Phytologist Reprint No. 16.
4. Börner C. (1914) - *Experimenteller Nachweis einer biologischen Rassen-differenz zwischen Rebläusen aus Lothringen und Sudfrankreich*. Peritymbia vitifolii pervastatrix, 1910. Zeit. f. angew Entomologie 1, p. 59.

5. Boubals D. (1966) - *Étude de la distribution et des causes de la résistance au phylloxera radicolle chez les Vitacées*. Ann. Amélior. Plantes 16: 145-184.
6. Bournier A. (1976) - *Grape insects*. Ann. Rev. Entomol. 22: 355-75.
7. Branas J - Viticulture.
8. Davidson W.H. and R.L. Nougaret. (1921) - *The grape phylloxera in Calif.* USDA Bull. 903, p. 127.
9. DeClerk C.A. (1974) - *Biology of Phylloxera vitifoliae Fitch (Homoptera: Phylloxeridae) in South Africa*. Phytophylactica 6: 109-118.
10. Denmark H.A. (1979) - *The grape phylloxera, Daktulosphaira vitifoliae (Fitch) (Homoptera: Phylloxeridae)*. Entomol. Cir. No. 200. Fla. Dept. Agr. and Consumer Serv. Div. of Plant Industries, p. 4.
11. Fitch A. (1856) - *First report on the noxious, beneficial, and other insects of the State of New York*. Albany, p. 158.
12. Galet P. (1973) - *La culture de la vigne en Venezuela*. La France Viticole 5: 295-316.
13. Hall F.R. (1971) - *Grape phylloxera in Ohio*. Ohio Agr. Res. Development Center. Res. Summary No. 51: 23-25.
14. Judd G.L. Jr. (1971) - *Biology, importance and control of grape phylloxera*. Proc. Fourth Pa. Wine Conf. pp. 9-12.
15. Judd G.L. Jr. (1976) - *Grape phylloxera: incidence of foliage damage to wine grapes in Pennsylvania*. J. of Econ. Entomol. 69: 763-66.
16. Levadoux L., Boubals D. and M. Rives. (1962) - *Le genre Vitis et ses espèces*. Ann. Amélior. Plantes 12: 19-44.
17. Metcalf, Robert L. and W.H. Luckman. (1975) - *Introduction to insect pest management*. John Wiley Sons, New York, p. 105.
18. Morley B. (1972) - *The distribution and variation of some Gesneriads on Caribbean Islands*. In: Valientine, D.H. «Taxonomy, Phytogeography and Evolution» Academic Press.
19. Olmo H.P. (Oct. 1968) - *The potential for a grape and wine industry in Venezuela*. p. 37.
20. Painter Reginald H. (1951) - *Insect resistance in crop plants*. Macmillan Co., New York, p. 204.
21. Riley C.V. (1871) - *The grape-leaf gall-louse Phylloxera vitifoliae (Fitch) (Homoptera: Aphidae)*. In: Third Ann. Report of the State Entomologist (Missouri). pp. 84-96.
22. Rives M. (1962) - *Centre d'origine et diversification spécifique dans le genre Vitis*. Eucarpia, Paris, May 21-28, pp. 197-201.
23. Salinas Pedro José and Bautista, Damaso A. (1974) - *La Filoxera de la vid en Los Andes Venezolanos IX Reunion de la Asociacion Latino Americana de Fitotechnica*. Panama, Mar. 10-16.
24. Schaefer, Heinz. (1973) - *Vitis cinerea: Weinbauliche und züchterische Bedeutung*. Weinberg und Keller, 20: 281-291.
25. Stevenson A.B. (1970) - *Strains of the grape phylloxera in Ontario with different effects on the foliage of certain grape cultivars*. J. Econ. Entomol. 63: 135-138.

## SUMMARY

### EVOLUTION OF PHYLLOXERA RESISTANCE IN AMERICAN VITIS

*A tropical biotype of phylloxera is endemic and found coexisting with the species Vitis caribaea D.C. This grape species is abundant in forested, mountain areas along the gulf coast of Mexico and extends from the Caribbean Islands and Central America, terminating in the Andean cordillera in northern Colombia. The zone occupied is characterized by a high and uniformly distributed rainfall, high humidity and warm temperature, promoting new shoot growth of the vine the year around. Examination of the root systems of vines having abundant leaf galls in the Venezuelan Andes, Central America and Mexico has failed to find any root forms (radicolata), indicating the absence of a sexual cycle typical of the North American biotype. These findings are related to the distribution of the phylloxera and the resistance to root injury in the native vines of North America. Distribution of the endemic phylloxera northward from a tropical center of origin may explain the differences in resistance of native species of Vitis in North America, an invasion occurring after the isolation of various species.*

## A SURVEY OF SPECIES FOR RESISTANCE TO GRAPEVINE FANLEAF VIRUS

**M.A. WALKER - C.P. MEREDITH - A.C. GOHEEN**

Department of Viticulture and Enology and USDA - Department of Plant Pathology - University of California - Davis - California (USA)

The control of infectious degeneration, caused by grapevine fanleaf virus (GFV), is a major viticultural problem in California and the world. Virus-free planting material can be obtained via heat therapy (Goheen and Luhn 1973), but eradication of the nematode vector, *Xiphinema index*, has not been successful in California's deep fertile soils (Raski et al. 1983). Infectious degeneration might most effectively be controlled through the use of resistant rootstocks.

Several *Vitis* species have been found to be resistant to the feeding of *X. index* (Kunde et al. 1968, Boubals and Pistre 1977, Bouquet 1980, Weischer 1980) and rootstock programs utilizing these species are under way in both France (Bouquet and Danglot 1983) and California (L.A. Lider, A.C. Goheen, D.J. Raski, J. Granett, and C.P. Meredith, unpublished). However, resistance to nematode feeding alone may not be enough to control this disease, since such feeding resistance may be overcome, and, additionally, a very brief feeding may be sufficient to transmit the

virus. Considering these factors, the incorporation of GFV resistance and nematode feeding resistance into a new rootstock is desirable. This report describes the screening of a diverse collection of *Vitis* germplasm for GFV resistance and the identification of several sources of resistance.

Species used in this study were from the three centers of origin of *Vitis*: America, the Middle East, and Asia (Olmo 1976). Acting on the hypothesis that *vinifera* and GFV co-evolved in the Middle East (Olmo 1976, Hewitt 1976), we included 25 Middle Eastern *vinifera* accessions. All available American and Asian *Vitis* species were also tested. In addition, we included several interspecific hybrids which have exhibited field resistance to infectious degeneration in the Napa Valley of California (see Lider and Goheen, this volume).

### Materials and methods

Table 1 shows the germplasm screened in this survey. All plant material was obtained from the vineyard of the Department of Viticulture and Enology, University of California, Davis, with the exceptions of *vinifera* 26 and 27 which were gifts from the private collection of H.P. Olmo and *rupestris* cv. St George which was obtained from the Department of Plant Pathology, University of California, Davis.

All accessions and the inoculum plants were propagated from green shoots and dormant wood cuttings, using mist propagation and a rooting bed, respectively. The plants were grown in 10 cm plastic pots in a greenhouse between 15° and 27°C.

Known infected *vinifera* cv. Cabernet Sauvignon cuttings were

Tab. 1 - *Vitis* germplasm surveyed for resistance to grapevine fanleaf virus

Species	Number of Accessions Tested	Species	Number of Accessions Tested
<b>A. North American Euvitis</b>			
aestivalis	3	monticola	10
arizonica	1	palmata (rubra)	1
berlandieri	3	riparia	11
californica	1	rofotomentosa	1
candicans	3	rupestris	
champini	4	wild	6
cinerea	9	cultivars	1
cordifolia	10	St. George	
doaniana	1	shuttleworthii	4
gigas	2	simpsonii	8
girdiana	1	smalliana	5
labrusca	3	solonis (longii)	1
lincecumii	2	tilifolia	2
longii	10	treleasei	2
<b>B. Muscadinia</b>			
munsoniana	3		
rotundifolia			
wild	6		
cultivars	5		
Scuppernong	Lucida		
Higgins	Bountiful		
Creek			
other	2		
«male»			
«trayshed»			
<b>C. Asian Euvitis</b>			
amurensis	3	piarezkii pagnucci	1
coignetiae	1	thunbergii	3
flexuosa	1		
<b>D. Vitis vinifera accessions</b>			
wild	27		
cultivars	9		
Anab-E-Shahi	Ohanez		
Aramon	Pagadebito		
Choultu Red	Chardonnay 8		
Fetyaska	Fench Colombard		
Malvasia bianca			
<b>E. Interspecific Hybrids</b>			
039-16	vinifera x rotundifolia		
043-43	vinifera x rotundifolia		
044-4	vinifera x rotundifolia		
171-6	rufotomentosa x vinifera		
122-4 1613	x rupestris «Metallique»		
Y14-56	rotundifolia x vinifera		
Tachikawa			

Tab. 2 - Accessions within which one plant produced a positive ELISA absorbance value. Intensity of values rated as follows:

- below delineation point
- \* between delineation point and 0.499 OD
- \*\* 0.500 - 0.999 OD
- \*\*\* 1.000 - 1.499 OD
- \*\*\*\* greater than 1.500 OD

Accession	Total No. of Plants Tested	Intensity of positive absorbance value				Comments
		Test 1		Test 2		
		1 hr	24 hr	1 hr	24 hr	
<i>Euvitis</i>						
lincecumii 1	4	****	****	****	****	no problems
monticola 7	4	----	*	*	**	positive plant dead above graft other 3 weak
shuttleworthii 1	4	**	****	****	****	graft separated on 1 negative plant
vinifera 2	4	----	----	**	****	second plant borderline positive
vinifera 9	3	*	****	*	****	second plant borderline positive
vinifera 10	3	----	----	**	****	no problems
<i>Interspecific hybrids</i>						
043-43 VR hybrid	2	----	----	----	*	no problems

hour incubation was done to assure that the 1 hour values were not false negatives. Accessions which passed the first ELISA test with no more than one vine showing a positive absorbance value were retested two months later. Success of the graft unions and the vigor of the candidate and inoculum plants were also recorded.

### Results and discussion

The search for *Vitis* germplasm resistant to the effects of infectious degeneration has occupied several investigators (Petrie 1937, Vuittenez 1957, Jimenez 1980). These earlier studies identified sources of resistance, but when we retested these sources we found none of them to be resistant. We did identify three clear sources of resistance in our study: the *rotundifolia* cultivar Bountiful, a *Vinifera x rotundifolia* (VR) hybrid, and a wild Middle Eastern *vinifera* accession.

Table 2 lists accessions within which only one positive ELISA absorbance value was obtained. These accessions must be considered susceptible to GFV. However, given the possibility of labelling or propagation errors their true nature is in doubt and they will be retested to clarify their status. Table 3 presents accessions which are more likely to be resistant to GFV and each will be discussed. Observations of the accession's graft success and vigor are noted in the table because both of these factors are important for the successful transfer, replication and detection of the virus in host plant tissue (Matthews 1981).

Four *Muscadinia* accessions are included in Table 3. Because the subgenera *Muscadinia* and *Euvitis* are genetically and morphologically distinct, and because of the suspected coevolution of GFV with *vinifera*, it is unlikely that the lack of virus detection in these *Muscadinia* accessions is due to the same factors as those in *Euvitis*. Rather, it is reasonable to propose that *Muscadinia* resistance is due to gross incompatibility between GFV and

used to inoculate the accessions. Candidate and inoculum plants were independent and self-sustaining, and were fitted together with a green wood tongued-approach graft (Hartman and Kester 1975). This technique was used to overcome potential incompatibility between the unrelated species used in the study (Bouquet and Hevin 1978). There were four grafted plants and one ungrafted control for each accession.

Candidate vines were sampled for the presence of GFV five months after graft inoculation using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The double antibody sandwich procedure of Clark and Adams (1977) was modified according to Jimenez (1980). Additional details regarding the methodology can be found in Walker (1984).

A four step screening procedure was used to evaluate the susceptibility of candidate plants to GFV. Two ELISA tests were performed with absorbance values recorded after 1 hour and 24 hours of substrate incubation for each of the two tests. The 24

Tab. 3 - Accessions within which no positive absorbance values were detected by ELISA

Accession	Number of plants tested	Vineyard location	UC Davis number	Comments
<i>Evitis</i> shuttleworthii 3	3	Z18(1)	54103	2 plants dead above graft
<i>vinifera</i> 4	3	M3(18)	1140	no problems
<i>Muscadinia</i> munsoniana 3	2	Z5(1)	54112	2 weak plants
rotundifolia 2	3	KL52(3, 4)	b55-24	2 weak plants
rotundifolia 5	3	KL52(9, 10)	b55-29	2 weak plants, 1 plant dead above graft
rotundifolia cv. Bountiful	4	KL59 (1, 2)	7701	no problems
<i>Interspecific hybrids</i> Y14-56	3	M12 (53)	V57	1 weak plant, 2 live plants with separated grafts
039-16	3	M32 (15)	N71	no problems

*Muscadinia*, not an evolved cellular defense against the virus. Heath (1981) has called this type of passive resistance «nonhost resistance».

Three of the *Muscadinia* accessions in Table 3 had problems related to graft success or plant vigor that raise questions about their inclusion as resistant genotypes. However, the *rotundifolia* cultivar Bountiful, a grape variety grown in the southeastern United States, seems to be an excellent example of nonhost resistance. There were no problems with the vigor or the graft success of this accession, and it was the most easily cultivated, and propagated of the *Muscadinia* accessions tested.

Y14-56 is a *rotundifolia* x *vinifera* (RV) hybrid. This is one of the few such crosses in which *rotundifolia* is the female parent (Jelenkovic and Olmo 1968). Two of the grafts had separated at the time of second testing. While successful grafts have been shown to be unnecessary for virus transfer (Kunkel 1938, Goheen unpublished), it is possible that inoculation may not have occurred in the case of a failed graft. For this reason, vines with failed grafts must remain questionable.

039-16 is a *vinifera* x *rotundifolia* (VR) hybrid (Patel and Olmo Davis, and unpublished results show that it has field resistance to infectious degeneration. Prior to this study, the field resistance was assumed to be due to nematode feeding resistance, based on feeding studies (L.A. Lider, unpublished). However, the present study suggests the possibility that 039-16 may have combined resistance to GFV and *X. index*, which heightens its potential as a GFV-resistant rootstock.

*Shuttleworthii* 3 is a *Evitis* species from Florida whose range overlaps *munsoniana* and *rotundifolia*. There were vigor and graft problems with this accession which could have accounted for the absence of GFV detected. Resistance to GFV, however, is possible. This is an American *Evitis* species and would not be expected to have evolved resistance to GFV, but with the possibility of *Muscadinia* parentage due to the range overlap, *shuttleworthii* 3 could have nonhost resistance to GFV.

The final accession in Table 3, *vinifera* 4, is from a seedling population collected in Adhai, Afghanistan in 1954 (H.P. Olmo, personal communication). *Vinifera* 4 represents an excellent example of host plant resistance to GFV. Discovery of this resistance suggests that other sources of resistance to GFV might also exist in the Middle East and that wild populations and cultivars of Middle Eastern *vinifera* should be examined more extensively.

The nonhost resistance found in the VR hybrid 039-16 and the *rotundifolia* cultivar Bountiful, and the host plant resistance found in the Middle Eastern *vinifera* 4, warrant further research. We have begun to examine both the nature and inheritance of the two types of resistance found and have the ultimate goal of combining known sources of *X. index* feeding resistance with these sources of GFV resistance to produce new rootstocks for GFV-infested vineyard sites.

## ACKNOWLEDGEMENTS

We are indebted to Dr. H.P. Olmo for discussions and for the donation of some of the accessions used. This work was supported in part by a grant from the American Vineyard Foundation.

## LITERATURE CITED

- Boubals D. and R. Pistré (1977) - *Resistance de certaines Vitacees et des porte-greffes usuels en viticulture au nematode Xiphinema index et à l'inoculation par le virus du court-noue (GFV)*. Genetique et Amelioration de la Vigne. Proc. II Symposium International sur l'Amelioration de la vigne, Paris.
- Bouquet A. (1980) - *Resistance to grapevine fanleaf virus in Muscadine grape inoculated with Xiphinema index*. Plant Disease 65: 791-793.
- Bouquet A. and Y. Danglot (1983) - *Recherche de porte-greffes de vigne resistant a la transmission du virus du court-noue (GFV) par le nematode Xiphinema index Thorne and Allen*. I: Application de la methode ELISA a la realization d'un test rapide de selection. Agronomie 3: 957-963.
- Bouquet A. and M. Hevin (1978) - *Green-grafting between Muscadine grape (Vitis rotundifolia Michx.) and bunch grapes (Evitis spp.) as a tool for physiological and pathological investigations*. Vitis 17: 134-138.
- Clark M.F. and A.N. Adams (1977) - *Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses*. J. Gen. Virol. 34: 475-483.
- Goheen A.C. and C.F. Luhn (1973) - *Heat inactivation of viruses in grapevines*. Riv. Pathol. Veg. 9: 287-289.
- Harman H.T. and D.E. Kester (1975) - *Plant Propagation: Principles and Practices*, 3rd ed. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey.
- Heath M.C. (1981) - *Nonhost Resistance*. pp. 201-217 in Plant Disease Control. R.C. Staples and G.H. Toennissen, eds. John Wiley and Sons, New York.
- Hewitt Wm. B. (1976) - *On the origin and distribution of Vitis and the virus diseases of the grapevine*. Proc. 6th International Conference on Viruses and Vectors of Grapevines. Cordoba, Spain.
- Jelenkovic G. and H.P. Olmo (1968) - *Cytogenetics of Vitis: III. Partially fertile F1 diploid hybrids between V. vinifera L. x V. rotundifolia Michx.* Vitis 7: 281-293.
- Jimenez F. (1980) - *Resistance to fanleaf virus among cultivars and grape species*. M.S. Thesis. University of California, Davis.
- Kunde R.M., L.A. Lider and R.V. Schmitt (1968) - *A test of Vitis resistance to Xiphinema index*. Am. J. Enol. 19: 30-36.
- Kunkel L.O. (1938) - *Contact periods in graft transmissions of peach viruses*. Phytopathology 28: 491-497.
- Matthews R.E.F. (1981) - *Plant Vitology*, 2nd ed. Academic Press, New York.
- Olmo H.P. (1976) - *Grapes: Vitis, Muscadinia (Vitaceae)*. pp. 294-298 in N.W. Simmonds, ed. Evolution of Crop Plants. Longman, London.
- Patel G.J. and H.P. Olmo (1955) - *Cytogenetics of Vitis: I. The hybrid V. vinifera x V. rotundifolia*. Am. J. Bot. 42: 141-159.
- Petrie L. (1937) - *Trasmissione del virus dell'arricciamento della vite attraverso i tessuti di una varietà resistente*. Rendiconti 25: 413-416.
- Raski D.J., A.C. Goheen, L.A. Lider and C.P. Meredith (1983) - *Strategies against grapevine fanleaf virus and its nematode vector*. Plant Disease 67: 335-339.
- Vuittenez A. (1957) - *Inoculation de differentes especes de Vitis par les virus du groupe de la degenerescence infectieuse. Application au diagnostic de la maladie*. IV Congres International de Lutte contre les Ennemis des Plantes. Hambourg. Comptes Rendus (Braunschweig) 1: 361-366.
- Walker M.A. (1984) - *A survey of Vitis species for resistance to grapevine fanleaf virus*. M.S. Thesis. University of California, Davis.
- Weischer B. (1980) - *The host-parasite relationships between the vector nematode Xiphinema index, and sme Vitis spp.* Proc. 7th International Conference on Viruses and Vectors of Grapevines. Niagara Falls, Canada.

## SUMMARY

### SOURCES OF RESISTANCE TO GRAPEVINE FANLEAF VIRUS IN VITIS SPECIES

Resistance to grapevine fanleaf virus (GFV) was surveyed in 172 *Vitis* accessions, encompassing 32 species, 8 *vinifera* cultivars and 8 interspecific hybrids. Because *vinifera* and GFV are considered to have a common origin in the Middle East, 27 *vinifera* accessions from this area were tested. North American accessions examined included both *Euvitis* and *Muscadinia* species — 104 accessions of 24 *Euvitis* species and 16 accessions of 2 *Muscadinia* species. Nine accessions of 5 Asian species were tested. The 8 interspecific hybrids examined included 3 *vinifera* x *rotundifolia* (VR) hybrids known to be resistant to the feeding of *Xiphinema index*, the nematode vector of GFV.

Candidate vines were approach grafted to GFV-Infected Cabernet Sauvignon vines and subsequently tested for viral infection via enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The survey identified 3 GFV-resistant accessions — a Middle Eastern *vinifera*, the *rotundifolia* cultivar Bountiful, and one of the VR hybrids. Several *vinifera* accessions (including some cultivars) previously reported to be resistant were shown to be susceptible to GFV. These results suggest two kinds of resistance to GFV — host plant resistance in the Middle Eastern *vinifera* accession and nonhost resistance in Bountiful and the VR hybrid. The identification of these sources of resistance will ultimately contribute to the development of resistant rootstocks for GFV-infested vineyard sites.





# AMELIORATION GENETIQUE DE LA QUALITE

## GENETIC QUALITY IMPROVEMENT

### MIGLIORAMENTO GENETICO DELLA QUALITÀ

#### Vitis vinifera

#### EFFORTS TO IMPROVE QUALITY IN GRAPES

**M. AHMEDULLAH**

Associate Horticulturist (Washington State University) Prosser (USA)

Wine quality is determined in the vineyard because quality wine is produced from quality grapes. There are several factors which determine the quality of grapes. Some of the most important factors are: 1) climate, 2) soil, 3) site (microclimate), 4) crop load, 5) time of harvest, 6) growth regulators, and 7) cultural practices.

The effects of site, crop load, growth regulators, and cultural practices on fruit quality are discussed in this paper. Climate and soil can not be changed or modified to a great extent to influence fruit quality.

#### Site

Site selection is very important in growing grapes. Site could influence quality as the microclimates of different sites could differ markedly. In eastern Washington, south slopes are preferred for better quality as they provide longer exposure to the sun. At 46° latitude, a 10 percent slope receives greater radiation during the April-October growing season as a horizontal point. For example, at 46°N a 10 percent south slope receives 13.4 percent greater radiation on October 8 than does a horizontal point at the same latitude (2).

The influence of site on quality of fruit was studied in Washington with 4 varieties. White Riesling, Chardonnay and Merlot produced fruit of high quality on all sites. Site was a factor in determining wine quality for Gewurztraminer as at certain sites it produced wines of high pH which gave low scores (8).

In another study, White Riesling was harvested at two different sites in Washington from early October to early November (8). The fruit at harvest was characterized by high acidity and low pH. The White Riesling data was analyzed by calculating the regression of soluble solids on the sampling date to establish a normal slope (Fig. 1). Each site was represented by a calculated date that the grapes reached 20 percent soluble solids and by the percent soluble solids on September 1. These values were then plotted against yield (Fig. 2). The linearity of the plot indicates a highly significant negative correlation between yield and percent soluble solids on September 1 (Fig. 1). Also significant are the positive relationships between date to reach 20 percent soluble solids and yield (Fig. 2).

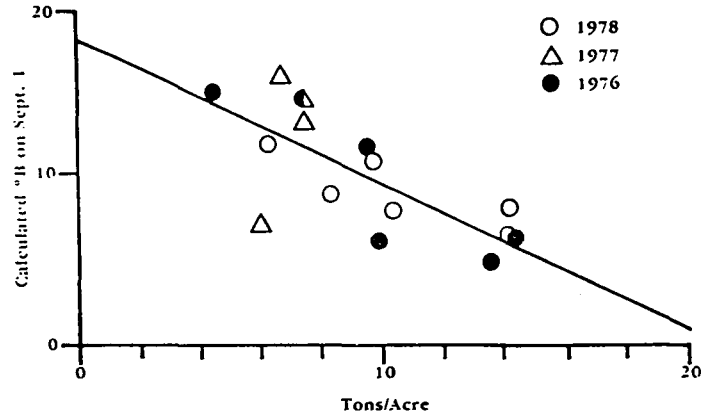


Fig. 1 - White Riesling, calculated degrees Brix on Sept. 1 versus yield (tons/acre). Line drawn is based on linear regression treatment of data. Source: Powers J.R. et al. 1984.

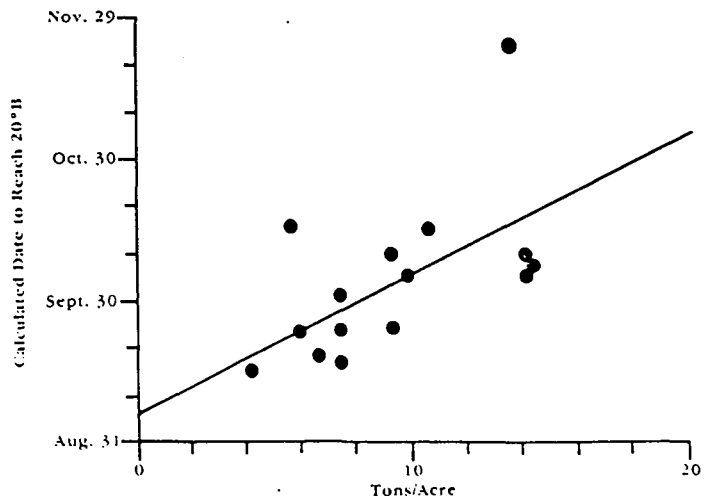


Fig. 2 - White Riesling, calculated data to reach 20° Brix versus yield (tons/acre). Line drawn is based on linear regression treatment of data. Source: Powers J.R. et al. 1984.

#### Crop load

Crop load probably has a greater effect on quality than the other factors discussed. Overcropping delays maturity and thereby affects quality. The optimum tonnage for a variety will differ from one region to another. In Washington state, because of the low

temperature winter injury, low crop levels of 3-5 tons per acre (7-11 metric tons/hectare) would probably give the greatest assurance of optimum quality for less hardy varieties. In one study, White Riesling at a crop load of 5 tons/acre (11 metric tons/hectare) gave sugar levels of 14° Brix on September 4, with a crop load of 14 tons/acre (31 metric tons/hectare), sugar was 6° Brix for the same date. For Chenin blanc, White Riesling and Semillon, 6-8 tons/acre (13-18 metric tons/hectare) and for Pinot Noir 3-5 tons/acre (7-11 metric tons/hectare) are considered optimum yields for Washington's growing conditions. Wolpert et al. (11) showed that decreased pruning severity with Vidal blanc grapes resulted in decreased sugar in juice. In Arkansas, increasing the fruit load by retaining more fruiting wood (nodes) per vine retarded fruit maturation and lowered fruit quality (6).

### Thinning

For overcropping vines, thinning if done properly can improve quality. Thinning benefits the vine by concentrating the vine's activities in the parts left after thinning. Since crop removal by thinning increases the leaf to fruit ratio, it strengthens the vine and improves the quality. Fruit from thinned vines is usually less subject to bunch and other rots.

Thinning is of great importance for adjusting crop load in areas subject to low winter temperatures. The following experiment conducted from 1981 to 1984 in eastern Washington shows the importance of thinning on quality.

### Winter pruning and summer thinning effects on quality of White Riesling

The vines trained to a fan system at 10' x 8' (3 x 2.4 meters) spacing were pruned to the following pruning levels: 1) 30 buds; 2) 60 buds; and 3) 90 buds per vine. At each bud level, the vines were summer cluster thinned to either: 1) 0 and 2) 50 percent level. The cluster thinning was done in mid-July, 3 weeks before veraison. The experiment was continued for 3 years (1981-84). There were 5 replicatons. Data on quality (sugar, acidity and pH) was recorded (Table 1). The following is the summary of the results:

**Tab. 1 - Effect of level of pruning and cluster thinning on the quality of White Riesling - 1983**

Treatments		Quality		
Buds per vine	Cluster thinning	Sugar °Brix	Titrateable* acidity mg/100 ml	pH*
30	+	22.3	1.02	2.96
30	-	22.9	1.08	2.92
60	+	23.2	1.01	2.94
60	-	22.4	1.09	2.87
90	+	23.4	1.04	2.92
90	-	21.8	1.14	2.83

Yield data not given.

\* Not significant.

1) There was non consistent difference in sugar (°Brix) due to pruning levels; 2) Thinned vines had lower acidity difference (0.07 to 0.11 percent) and higher pH (0.07-0.09 units) compared to unthinned vines; 3) Thinned vines had fewer and larger clusters compared to unthinned; 4) There were no consistent effects on pruning weights due to pruning levels. The vines thinned to 30 buds,

however, showed a trend towards lower pruning weights, compared to 60 and 90 bud levels; 5) There was a general increase in acidity and decrease in pH with higher bud numbers which probably is due to denser foliage and shading of clusters; 6) Thinned vines showed more sunburn compared to unthinned vines. The incidence of Botrytis was greater in the unthinned vines compared to thinned vines; 7) Yield, Tons/Acre (metric tons/hectare) was 3-5 tons (7-11 metric tons/hectare) for 30 buds, 6-8 tons (13-18 metric tons/hectare) for 60 buds and 9-11 tons (20-24 metric tons/hectare) for the 90 bud treatments. Thinning of clusters caused reduction in yield, 1-2 tons/Acre (2-4 metric tons/hectare) compared to unthinned treatments (10).

### Time of harvest

In order to achieve optimum quality, data on maturity parameters should be collected at weekly or preferably biweekly intervals. Under eastern Washington's growing conditions, certain early maturing varieties; Madeline Sylvaner, Seigrebe and Madeline Angevine are harvested at low soluble solid levels (15 and 17° Brix) prior to acidity dropping below 0.5 percent in order to achieve the optimum sugar/acid ratio. Similarly certain late maturing varieties have to be harvested early because of the danger of frost in late October and early November. The decision to harvest early is made based on weekly and/or biweekly monitoring of sugar and acid levels.

### Plant Growth Regulators

Plant growth regulators have been extensively used for improving quality in grapes (12). In earlier studies, 4-chlorophenoxyacetic acid (4-CPA), 2-chloroethyl trimethyl ammonium chloride (CCC) and gibberellin were used to produce the same effect as girdling. Ethephon (2-chloroethyl phosphonic acid) hastened maturity and color development in grapes (12). In addition, growth inhibitors, cytokinins and other growth regulators have been experimented, with mixed results. Succinic acid-2, 2-dimethyl hydrazide (Alar) has been used for improving fruit-set and increasing yield of Concord grapes (12). Ethephon applied at 15 percent veraison can enhance berry color and increase sugar to acid ratio by reducing acidity.

More recently Pix (N, N-Dimethyl piperdinium chloride) post-veraison sprays were used with Chenin blanc to increase sugar in the fruit. Sugar was increased up to 1° Brix with no effect on yield or fruit color (Table 2). Acidity and pH were unaffected.

**Tab. 2 - Effect of post-veraison sprays of Pix on the sugar (°Brix) of Chenin blanc**

Concentration ppm	Sugar °Brix
250	20.7 b
500	21.3 a
1000	22.9 a
Control	20.0 b

Source: Ahmedullah M. 1984. Unpublished data.

Significant at P = 0.05

### Cultural Practices

i) *Vine spacing*. Hedberg and Raison (3) showed that Shiraz vines in wider rows showed a trend to be less mature at harvest (lower °Brix) than vines in closer rows. Juice pH was significant-

ly lower for vines in the widest rows. Juice titratable acid (g/L tartaric acid) was not different between treatments.

ii) *Irrigation*. Wine grapes are very responsive to soil moisture in terms of both vine growth, yield and quality. Irrigation, by increasing fruit yield and vine size (7) generally delays fruit maturation resulting in reduced soluble solids and pH, and higher acidity.

Moisture stress during the early period of berry growth is known to affect the normal development of berry size (7). Application of water after this stage of berry development does not help the undersized berries to attain normal size. Some growers use this effect to prevent cluster compactness to reduce bunch rot.

A slight moisture stress as maturity is approached hastens ripening. This may be due to reduction in berry size due to shrinkage. This results in less bunch rot infection. Morris and Cawthorn (6) showed that for Concord, irrigation from bloom to veraison increased yields but juice soluble solids were reduced. Increasing the fruit load reduced quality. Freeman and Kliewer (1) stated that frequent irrigation in comparison to none, increased yield of Carignane vines by 25 percent and also increased berry weight and berry number per cluster. Concentration of soluble in the fruit was reduced by irrigation but the pH and K concentration were increased. Hepner et al. (4) showed that seasonal application of water in the range of 220 to 320 mm did not have a considerable effect on wine quality whereas 400 mm caused a significant quality reduction.

iii) *Nutrition*. Many cultural practices can affect quality of grapes. The addition of fertilizers increases grape yields, with possible reduction in sugars.

Morris and Cawthorn (6) showed that the response of K fertilization to Concord was in the form of increase in yield and juice pH. K fertilization had no effect on sugars. Nitrogen fertilization, at 0 to 228 Kg/ha had little influence on yield or vine size but tended to increase percent soluble solids and pH to reduce titratable acidity. Higher yields in general resulted in lower juice quality.

iv) *Leaf removal*. Shading due to over crowding of shoots on the trellis is a common problem in cordon-trained vines. It has been shown that the shaded leaves above are only one-third as effective photosynthetically as the sun exposed leaves in the top layer of the trellis. Shading of clusters also encourages bunch rot and other diseases (11).

An experiment with bilateral cordon trained Chardonnay vines was conducted with 3 leaf removal treatments: 1) Shoots hedged to 15 leaves above the cluster; 2) hedged 10 leaves the cluster; 3) hedged 5 leaves above the cluster. Vines were hedged one week before veraison. Vines hedged to 15 leaves per shoot had significantly less bunch rot compared to control vines with no differences in sugar (°Brix) titratable acidity and pH. Sugar was reduced in vines hedged to 5 leaves (Table 3).

#### Effect of trellis height and leaf removal on yield and quality of Chardonnay

High acidity in must is a problem in wine making with certain varieties in Washington state. It is generally believed that acidity could be reduced in colder regions by lowering the trellis height. An experiment was started with Chardonnay with the following treatments and 4 replications.

1. Vines trained to 22 inches bilateral cordon; leaves around the cluster not removed (22 -).
2. Vines trained to 22 inches; leaves around the cluster removed (22 +).
3. Vines trained to 34 inches; leaves not removed (34 -).
4. Vines trained to 34 inches; leaves removed (34 +).
5. Vines trained to 46 inches; leaves not removed (46 -).
6. Vines trained to 46 inches; leaves removed (46 +).

Stripping consisted of removing 3 leaves around the cluster which was done at veraison; Berries were sampled for quality evaluation on 10-7-83. The experiment was continued for 3 years

Tab. 3 - Effect of leaf removal by hedging on the quality of Chardonnay

Treatments	Sugar °Brix
15 lvs above cluster	20.1 b
10 lvs above cluster	18.8 b
5 lvs above cluster	16.4 c
Control	20.3 a

Harvested 9-23-84

Figures followed by the same subscript are not significantly different from each other at P = 0.05.

Source: Ahmedullah M. 1984. Unpublished data.

(1981-84). Data on yield (lbs/vine) (kg/vine), quality, cluster number, cluster weight and pruning weight was recorded (Table 4). At harvest, incidence of bunch rot (*Botrytis*) was also recorded. The following is the summary of the results:

1. There was no significant difference in yield due to trellis height. Trellis height also did not influence the sugar, acid and pH of the fruit.

2. There was higher *Botrytis* infection in clusters from 22 + and 22 - compared to other treatments.

3. Stripped vines in all trellis heights had consistently lower acid (0.13-0.17 percent) and higher pH (0.05 units) compared to the vines not stripped.

4. There was no significant difference in the pruning weights among the treatments.

Tab. 4 - Effect of trellis height and leaf removal on the quality of Chardonnay

Treatments		Quality		
Trellis height (inches)	Leaf removal	Sugar °Brix	Titratable acidity mg/100 ml	pH
22	-	23.05	0.97	3.27
22	+	22.70	0.82	3.31
34	-	22.76	0.97	3.25
34	+	21.86	0.82	3.30
46	-	22.09	1.01	3.21
46	+	21.64	0.84	3.26

Yield data not given.

#### REFERENCES

1. Freeman H.B. and W.M. Kliewer (1983) - *Effects of irrigation, crop level and potassium fertilization on Carignane vines*. II. Grape and vine quality. *Amer. J. Enol. Vitic.* 34: 197-207.
2. Frank E.C. and Lee R. (1966) - *Potential solar radiation on slopes-Tables for 30 and 50° latitude*. U.S. Forest Service Research Paper RM-18.
3. Hedberg P.R. and J. Raison (1982) - *The effect of vine spacing and trellising on yield and fruit quality of Shiraz grapevines*. *Am. J. Enol. Vitic.* 33: 20-30.
4. Hepner Y., B. Bravado and C. Loinger (1985) - *Effect of drip irrigation schedules on growth, yield, must composition and wine quality of Cabernet Sauvignon*. *Am. J. Enol. Vitic.* 36: 77-85.
5. Mattick L.R., N.J. Shaulis and J.C. Moyer (1972) - *The effect of potassium fertilizers on the acid content of Concord grapes*. *Am. J. Enol. Vitic.* 23: 26-30.
6. Morris J.R., S.E. Spayd and D.L. Cawthorn (1983) - *Effects of irrigation, pruning severity and nitrogen levels on the yield and juice quality of Concord grapes*. *Am. J. Enol. Vitic.* 33: 197-207.

7. Neja R.A., W.E. Wildman, R.S. Ayers and A.N. Kaimatis (1977) - *Grapevine response to irrigation and trellis treatments in Salinal valley*. Am. J. Enol. Vitic. 28; 16-20.
8. Powers J.R., C.W. Nagle, E.L. Proebsting and M. Ahmedullah (1984) - *Evaluation of selected vineyard sites in Washington State*. XB 0908. College of Agriculture Research Center, Washington State University.
9. Rankine, B.C., J.C.M. Famachon, E.W. Boehm and K.M. Celler (1971) - *Influence of grape variety, climate and soil on grape composition and quality*.
10. Wolfe W. (1985) - *Personal Communication*.
11. Wolpert J.A., G.S. Howell and T.K. Mansfield (1983) - *Effect of training systems, pruning severity, shoot exposure, shoot origin and cluster thinning on cluster weight and fruit quality of Vidal blanc grapes*. Am. J. Enol. Vitic. 34: 72-76.
12. Weaver R.J. (1976) - *Grape growing*. John Wiley, Chapter 13. Plant Regulators. p. 215.

## SUMMARY

### EFFORTS TO IMPROVE QUALITY IN VINIFERA GRAPES

*Wine quality is determined in the vineyard. The important factors determining wine quality are 1) Crop load and time of harvest; 2) Site and varietal suitability; 3) Physical condition of fruit. At harvest, sugar, acid and pH should be optimum for a certain variety. Timing of harvest depends upon maturity of fruit. White Riesling at a crop load level of 5 Tons/Acre had sugar level of 14° Brix on Sept 1. With a crop load of 14 Tons/Acre, sugar level was 6° Brix for the same date for this variety. For Chenin blanc, White Riesling and Semillon 6-8 Tons/Acre, and for Pinot Noir, 3-5 ton crop levels are considered optimum crop load levels for good sugar acid ratios. Some sites are more suited for certain varieties to produce high quality fruit. In Washington State, Gewurztraminer, Müller-Thurgau and Pinot Noir perform better on cool sites because of early maturity, low acid or poor colour. Other important factors for quality are freedom from fungal and bacterial contamination, clusters free from damage and pesticide residues. For white grapes sugar should be 21° Brix or higher with pH less than 3.2; for reds, sugar 22-23° Brix and pH less than 3.4. Of the 2 organic acids, tartaric and malic in grapes. Gewurztraminer has a high malate to tartarate ratio. Factors which contribute to the high quality of grapes and wine in Washington State and cultural practices used to improve quality are discussed.*

## CONDUITE D'UN ESSAI DIALLELE EN VUE DE L'OBTENTION DE POPULATIONS DE VIGNE DE RAISIN DE CUVE A LARGE VARIABILITE GENETIQUE

**A. BRONNER**

I.N.R.A. Station de Recherches Viticoles - Colmar (France)

### Introduction

L'étude des résultats d'un important programme d'amélioration variétale par voie sexuée a mis en évidence l'existence d'une forte liaison génétique positive défavorable entre la saveur musquée des baies et la sensibilité à la coulure (Lefort - Bronner, 1981). Nous n'avons obtenu dans les descendances de divers croisements simples que très peu de recombinants du type muscat et non sensibles à la coulure. Ces résultats mettent en évidence dans ce cas, les limites d'une stratégie d'amélioration variétale basée sur des croisements simples, croisements dans lesquels les géniteurs n'ont été choisis que sur leurs seules valeurs phénotypiques. Ces conclusions nous obligent à imaginer d'autres stratégies génétiques plus complexes, qui tout en étant axée sur la création variétale, permettront une meilleure connaissance de l'hérédité des caractères quantitatifs et qualitatifs utiles chez la vigne.

L'adoption d'un schéma de sélection récurrente et l'utilisation de plans de croisements dialèles (Gallais, 1981) (Bouquet, 1981) implique du point de vue pratique, de fortes contraintes qui apparaissent au fur et à mesure de la réalisation.

### Objectifs et contraintes d'une nouvelle stratégie génétique

#### 1. Objectifs essentiels d'une nouvelle stratégie génétique.

a) une meilleure connaissance du matériel végétal en tant que géniteur, connaissance qui doit permettre l'étude de l'hérédité des caractères quantitatifs et qualitatifs utiles chez la vigne comme

par exemple, le rendement et ses composants, la précocité, les composants des arômes,

b) l'étude d'éventuelles liaisons entre caractères favorables ou défavorables,

c) l'obtention, au cours des différentes étapes, de variétés nouvelles plus performantes,

d) l'obtention en fin de cycles de sélection, d'une population à haute variabilité génétique.

#### 2. Les contraintes de cette stratégie sont nombreuses

a) augmentation maximale de la variabilité génétique de départ, celle-ci étant relativement faible si l'on envisage l'utilisation des seules variétés régionales,

b) augmenter le progrès génétique à chaque cycle de sélection.

c) favoriser la rupture de liaisons positives défavorables par l'utilisation fréquente de l'autofécondation,

d) éviter les phénomènes de consanguinité qui risquent d'augmenter, au fur et à mesure, au cours des croisements multiples,

e) retrouver dans les nouvelles variétés issues au cours du programme ou dans la "population" finale les aptitudes culturelles, la précocité qui doivent correspondre à la région de culture envisagée.

#### 3. Les contraintes d'ordre plus pratique

a) Une succession de générations sont nécessaire. La durée du cycle de sélection, c'est à dire de chaque génération, est tributaire de la durée minimale de mise à fruit d'un semis de vigne.

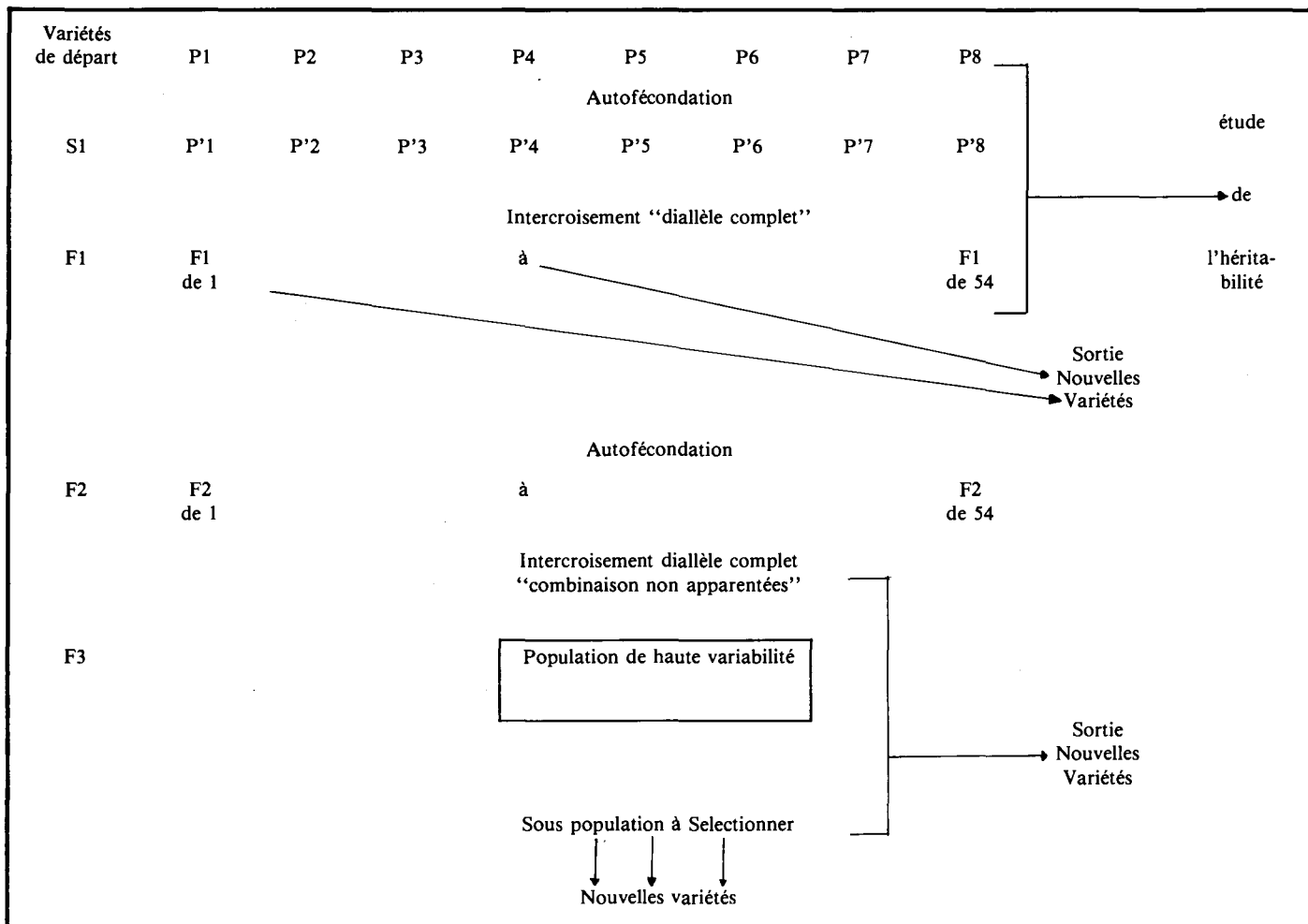
b) Les caractères floraux, ou un défaut de floraison (coulure, millerandage) peuvent interdire un sens de croisement ou l'autofécondation d'un individu.

#### 4. De toutes ces remarques, il ressort quelques contraintes générales qui sont:

a) Pour parvenir ou se maintenir dans une typicité, il est nécessaire d'utiliser des variétés "typées" autochtones comme matériel de départ.

b) Pour accélérer les générations, nous avons intérêt à travail-

Tab. 1 - Schéma général de la stratégie génétique - «héritabilité - Sortie nouvelles variétés»



ler sous serre, tout au moins en ce qui concerne l'exécution des croisements, des autofécondations et la multiplication rapide du matériel.

c) L'étude de l'héritabilité des caractères doit être effectuée sur un matériel homogène; les différentes générations successives devront être mises en champ d'expérimentation la même année car l'appréciation efficace de l'héritabilité nécessite l'évaluation la plus objective de la part respective de "l'hérédité" et du "milieu" dans l'expression des caractères qui seront étudiés.

d) Les populations qui constituent les différentes générations doivent impérativement être exemptes de toutes formes de sélection. A première vue cette condition ne pose pas de problème, mais d'un point de vue pratique il en va autrement. Les populations peuvent être facilement biaisées par la perte d'individus potentiellement viables et les disjonctions peuvent ne pas correspondre à celles attendues.

Il faut alors essayer de maximaliser tous les seuils par l'adoption de techniques de conservation (pollen - graine) ou de techniques favorisant au maximum la germination des graines (Balthazard, 1979) ou pouvant favoriser l'extériorisation de la fertilité des bourgeons par action sur l'initiation florale par éclairage des bourgeons (Wagner, 1966).

Riesling	R
Auxerrois	X
Pinot blanc	B
Pinot gris	P
Pinot noir	N
Sylvaner	S
Gewurztraminer	G
Muscat Ottonel	O

Ce choix délibéré devrait permettre de retrouver dans les descendance, des génotypes possédant la typicité "fruité Alsace" tout en permettant un important brassage génétique.

Dans le but de favoriser les phénomènes de recombinaisons, les géniteurs du 1er croisement diallèle ne sont pas les variétés de départ mais leurs descendants obtenus par autofécondation. (Tableau I).

La première génération est obtenue aisément par ensachage des inflorescences. Le taux de germination des différents lots de graines présente de fortes différences dès ce stade (Tableau II) malgré la réalisation sous serre des autofécondation (S1).

De l'élevage en serre des plants des différentes familles de S1, nous pouvons tirer les informations suivantes:

#### a) La vigueur

La vigueur exprimée par différentes mesures qui sont le diamètre a) de l'axe primaire au niveau de la première vrille, le diamètre b) de l'axe primaire au niveau du 20<sup>e</sup> mérithalle au dessus de la première vrille, et la longueur c) des 20 premières mérithalle

### Stratégie génétique en cours de réalisation

#### I. Réalisation de la 1<sup>ère</sup> génération d'autofécondation

Le point de départ consiste à limiter le choix des variétés composant le pool de départ, aux 8 principales variétés alsaciennes;

**Tableau II - Taux de germination des pépins obtenu par autofécondation en serre.**

Auxerrois	X	13%
Pinot gris	P	22
Gewurztraminer	G	22
Pinot noir	N	27
Sylvaner	S	36
Muscat Ottonel	O	48
Pinot Blanc	B	58
Riesling	R	62

**Tableau V - Type sexuel de la fleur par famille de S1.**

		Femelle	Hermaphrodite	mâle
Riesling	R			22
Auxerrois	X			25
Pinot blanc	B	14		32
Pinot gris	P	14		81
Pinot noir	N	12		40
Sylvaner	S	9		34
Gewurztraminer	G	9		36
Muscat Ottonel	O	6		20
				11

**Tableau III: Vigueur par famille de S1 (80 géotypes) exprimée en diamètre (mm) et longueur (cm).**

		0 base 20° oeil		longueur 20 mérithalles
Riesling	R	4,7	4,6	108
Auxerrois	X	4,0	3,2	137
Pinot blanc	B	5,1	4,6	150
Pinot gris	P	5,8	5,9	159
Pinot noir	N	6,1	5,6	145
Sylvaner	S	6,0	6,0	124
Gewurztraminer	G	5,3	5,2	103
Muscat Ottonel	O	5,8	5,2	117

les, mesures faites en fin de première année de culture en serre. Le tableau III montre une différence de vigueur importante suivant les S1 considérés.

Considérant la combinaison des mesures précédentes, c'est à dire leur transformation en un volume, et le taux de plants fertiles en début de 2e année, nous trouvons une forte corrélation (Tableau IV). Cette liaison déjà connue (Wagner 1967) s'exprime de la même manière aux niveaux de ces différentes familles S1.

**Tableau IV - Volume moyen de bois de l'axe primaire (20 mérithalles) et le % de plants fertiles en début de 2e année.**

		en cc	%
Riesling	R	18	17
Auxerrois	X	14	5
Pinot blanc	B	27	45
Pinot gris	P	41	72
Pinot noir	N	38	68
Sylvaner	S	35	52
Gewurztraminer	G	22	58
Muscat Ottonel	O	27	60

Coefficient de corrélation  $r = 0,84$

#### b) Le type sexuel de la fleur

Les disjonctions dans les différentes S1 sont présentés au Tableau V.

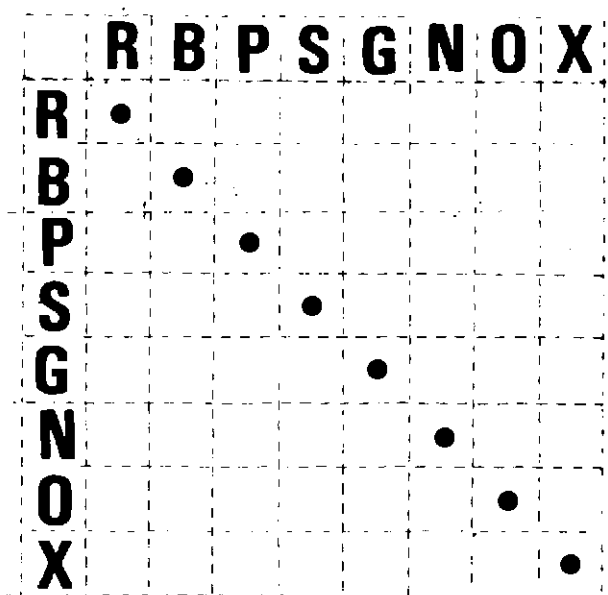
Ces disjonctions sont attendues excepté en ce qui concerne le Muscat Ottonel (Bronner, 1981).

#### 2) Réalisation du 1er croisement diallèle

Il s'agit d'un croisement diallèle complet entre les 8 S1 obtenus à partir des 8 variétés.

De nombreuses difficultés de réalisation proviennent essentiellement de:

## CROISEMENT DIALLELE



— plants femelles dont les croisements réciproques sont irréalisables,

— plants physiologiquement mâle dans la S1 du Muscat Ottonel ne permettent pas les croisements réciproques,

— faible fertilité et même stérilité de nombreux individus présents dans toutes les familles S1 mais particulièrement en S1 de l'Auxerrois,

— plants coulard avant, pendant ou après la floraison en S1 de Muscat Ottonel,

— la qualité du pollen est très variable et nécessite souvent plusieurs pollinisations. (Taux de germination non contrôlé)

— le taux de germination des graines issus des croisements diallèles est faible malgré la réalisation en serre.

Du point de vue de la réalisation des combinaisons, le pollen des différents individus de chaque S1 a été mélangé pour réaliser la pollinisation des autres S1.

Les castrations ont été réalisées en serre en 2 années consécutives et le nombre de grappes castrées par S1 est donné dans le tableau VI.

Les graines obtenues ont été mises à germer et si l'on considère le taux de germination, par famille S1 pris comme femelle vis à vis des autres familles de S1, nous observons des différences très importantes allant de 4% pour la S1 Riesling à 27% pour la S1 Gewurztraminer (Tableau VII) ce qui ne facilite pas l'obtention d'effectifs homogènes par combinaison.

**Tableau VI - Nombre de grappes castrées par famille de S1**

Riesling	R	42 grappes
Auxerrois	X	30
Pinot blanc	B	66
Pinot gris	P	42
Pinot noir	N	82
Sylvaner	S	101
Gewurztraminer	G	60
Muscat Ottonel	O	85

**Tableau VII - Taux de germination des graines de vigne obtenus par le croisement diallèle (regroupé par familles S1 prises comme parent femelle)**

Gewurztraminer	G	27%
Muscat Ottonel	O	26
Sylvaner	S	16
Pinot Gris	P	8
Auxerrois	X	7
Pinot blanc	B	6
Pinot noir	N	5
Riesling	R	4

### 3) Poursuite de la réalisation pratique de la stratégie génétique

Les plants issus des semis ont été élevés en serre et la F2 (autofécondation) a été réalisée en 1984.

La plantation d'un essai au vignoble pour l'étude des héritabilités sera réalisée en 1985 et comprendra outre les variétés de départ, un échantillon des familles S1, ainsi qu'un effectif plus ou moins homogène des différentes combinaisons du 1er croise-

ment diallèle.

A ce stade d'avancement, aucune sélection n'a été effectuée.

### Conclusion

La réalisation de cette stratégie génétique originale, adoptée pour un travail à plusieurs fins, c'est à dire tant pour l'étude de l'héritabilité des caractères que pour la sortie "variétés nouvelles" permet dès à présent de mettre l'accent sur les difficultés de parvenir aux différentes étapes, à maintenir des effectifs minima indispensables pour une interprétation génétique ou plus simplement pour la succession des générations.

Les difficultés sont dues généralement à des caractères des familles variétales, tels les taux de germination de pollen, des graines, les relations vigueur — fertilité, mais aussi les caractères floraux et la sensibilité à la coulure.

### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Baltazard J., (1979) - *Contribution à l'amélioration de la germination des graines de vigne*. Thèse Doct. Fac. Sciences de Dijon.
- Bouquet A., Truel P., Wagner R., (1981) - *Application des méthodes de sélection récurrente à l'amélioration génétique de la vigne*. *Agronomie 1 (1)* 65-73.
- Bronner A., (1981) - *Observation de types sexuels mâles dans la descendance par autofécondation de la variété Muscat Ottonel*. *Vitis (20)* 211-217.
- Galais A., (1981) - *Amélioration des populations en vue de la création de variétés*. *Le Sélectionneur Français (29)* 5-23.
- Lefort P.L., Bronner A., (1981) - *Modalités, contraintes et efficacité de la sélection sur descendance de plein frères chez la vigne*. *Agronomie (1)* 667-678.
- Wagner R., (1966) - *Effets d'un éclairage d'appoint sur la fertilité des bourgeons de la vigne*. *Académie d'Agriculture de France* 670-673.
- Wagner R., (1967) - *Sélection préliminaire en serre de semis de vigne*. *Annales Amélioration des Plantes (17)* 159-173.

### RESUME

#### CONDUITE D'UN ESSAI DIALLELE EN VUE DE L'OBTENTION DE VIGNE DE RAISIN DE CUVE A LARGE VARIABILITE GENETIQUE

*Dans le but de favoriser la rupture d'une liaison positive défavorable entre l'intensité aromatique de la saveur musquée des baies et la sensibilité à la coulure, dans la descendance de croisements intraspécifiques simples chez Vitis Vinifera, nous avons été conduit à utiliser une stratégie génétique plus complexe.*

*Cette stratégie doit permettre d'augmenter la variabilité génétique de départ par l'autofécondation et de favoriser les phénomènes de recombinaison par des croisements diallèles.*

*Les différentes étapes sont une succession d'autofécondations et d'intercroisements pour parvenir à une population à très large variabilité génétique.*

*Au cours des différentes générations une «sortie» possible est la création variétale; de plus le matériel végétal nouveau, permettra l'étude de l'héritabilité de certains caractères utiles chez la vigne, en particulier les composants de la qualité. Le matériel de départ est constitué par les 8 variétés traditionnellement cultivées en Alsace-France.*

*Ce programme lourd en temps et en surface, malgré la réalisation de générations sous serre, se heurte à de nombreux problèmes pratiques dus aux caractères de la plante et de leurs hérédités comme le type sexuel, la vigueur, la fertilité.*

## EREDITARIETÀ DEL CARATTERE PRECOCITÀ IN UNA SERIE DI INCROCI DI VITIS VINIFERA

A. CALÒ - A. COSTACURTA - S. CANCELLIER  
Istituto Sperimentale Viticoltura - Conegliano - (Italia)

Nel presente lavoro viene continuata una serie di osservazioni relative al programma di studio del carattere «precocità» iniziato

presso l'I.S.V. nel 1968 e del quale è già stato riferito nel 1980 (1) per alcuni risultati relativi ad una serie di autofecondazioni ed incroci fra le cv. Italia ed alcune cv. precoci: Volta, Primus e Perla di Csaba.

Le motivazioni di questa indagine sono rappresentate dall'identificazione di genitori adatti alla trasmissione di questo importante e complesso carattere e quindi dall'ottenimento di cv. precoci. Studi preliminari sul ciclo vegetativo delle diverse cv. di vite (1973-1975) avevano messo in evidenza la variabilità esistente per i diversi stadi fenologici e per la lunghezza dei cicli fra e diverse fasi ed inoltre la base genetica di questa variabilità.

Rispetto ai risultati riportati nella nota citata (1980), qui si riferisce anche su risultati di autofecondazioni ed incroci per altri vitigni precoci ed a maturazione media.

## Materiali e metodi

Nel 1968, si è iniziata una serie di incroci utilizzando, come cv. di media maturazione: *Italia*, *Alphonse Lavallée*, *Baresana*, e come cv. precoci: *Perla di Csaba*, *Volta*, *Primus*, *Panse precoce*, *Regina dei vigneti* e *Maddalena Bruni*.

Non sono stati eseguiti incroci reciproci, mentre sono state eseguite autofecondazioni su tutte le varietà.

Gli individui ottenuti sono stati allevati in coltura idroponica, sotto serra per un anno e quindi trapiantati in pieno campo, nelle stesse condizioni delle piante genitori, nell'azienda dell'I.S.V. ubicata a Conegliano (TV).

A partire dal 1975 per i primi individui e dal 1976, '77, '78, per quelli entrati in produzione successivamente si è operata una serie di rilievi fra i quali nel presente lavoro prendiamo in considerazione le epoche fenologiche: il momento dell'invaiaitura, ritenuto indice particolarmente significativo per la valutazione della precocità di maturazione in quasi tutte le cultivars, nonché il ciclo totale, e il periodo invaiatura-maturazione, fioritura e periodo germogliamento-fioritura perché sono influenzati nettamente dall'ambiente con conseguente basso coefficiente di ereditabilità; il ciclo fioritura-invaiaitura perché strettamente correlato con il momento dell'invaiaitura.

## Risultati e discussione

Per quanto riguarda le correlazioni fra le diverse fasi del ciclo nei genitori si rimanda a quanto riportato nelle note citate e così per il calcolo dei relativi coefficienti di ereditabilità ( $h^2$ ).

Per quanto riferisce alla analisi delle progenie, abbiamo distinto quelle derivanti da autofecondazioni e quelle da incroci. I risultati sono stati elaborati sia globalmente che distinguendo alcune famiglie, fra quelle che avevano una progenie sufficientemente numerosa.

Nella tabella 1 riportiamo la distribuzione delle autofecondazioni per il carattere momento dell'invaiaitura (espresso in numero di giorni a partire dal primo luglio) confrontata con la media del carattere del vitigno genitore.

Si nota che le cultivars a media maturazione autofecondante tendono a dare progenie con la media del carattere uguale a quella della pianta genitore. Infatti solo il 20% circa delle progenie risulta significativamente diverso dal genitore.

Le cv. precoci autofecondate tendono a dare progenie più tardive del genitore. In particolare ha queste caratteristiche soprattutto la *Perla di Csaba* e probabilmente il fatto è dovuto a scarsa vitalità delle progenie, dal momento che spesso la precocità è legata anche a debole vigoria come già ipotizzato nella nota citata (1980). Siamo quindi di fronte, da un lato ad una reazione fisiologica e dall'altro alla segregazione normale del carattere, considerando che le cv. precoci analizzate derivano da incroci di cv. precoci x medie.

Nella tabella 2 riportiamo un'analisi analoga a quella vista più sopra, per quanto si riferisce agli incroci e relativi genitori.

Nel complesso dei risultati, la risposta degli incroci è intermedia rispetto al comportamento dei genitori (media parentale 43,5; media delle progenie 44,5). Più precisamente il 50% degli individui presenta caratteristiche vicine alla media dei genitori; quasi il 20% si avvicina al genitore precoce e altrettanto al genitore tardivo; il rimanente 10% ha caratteristiche che escono dall'ambito di

Tab. 1 - Valori del carattere «invaiaitura» nelle varietà e nelle autofecondazioni e distribuzione dei figli in classi

Varietà	Valore del carattere				Individui per classe %				
	Genitori	Autofecondazioni			<30	30-45	46-60	61-75	>75
	m	m	min.	max.					
Vitigni a media maturazione									
Alphonse L.	57.7	52.9	40	76	—	18.2	63.6	15.1	3.1
Italia	54.0	55.0	42	76	—	9.1	72.7	9.1	9.1
Vitigni precoci	61.0	54.0	40	67	—	11.1	66.7	22.2	—
Perla di Csaba	29.0	41.0	20	71	28.9	26.3	34.3	10.5	—
Primus	22.0	51.0	34	71	—	16.7	75.0	8.3	—
Maddalena B.	26.0	37.0	22	66	44.4	33.3	16.7	5.6	—
	26.0	40.0	20	57	25.0	37.5	37.5	—	—

Tab. 2 - Valori del carattere «epoca di invaiatura» nelle varietà e negli incroci e distribuzione dei figli in classi

Incroci	Valore del carattere					Incroci per classe %				
	Genitori		Incroci			<Precoci	= Precoci	Intermedi	= Medi	> Medi
	cv. Media Matur.	cv. Precoci	$\bar{M}$	Min.	Max.					
Incroci cv. A media matur. x precoci										
Italia x perla di csaba	57.7	29.0	44.5	19	74	6.4	19.3	54.8	16.1	3.2
Italia primus	Italia	Precoce				<Precoci	= Precoci	Intermedi	= Medi	> Medi
Italia x volta	61	22	40.5	22	59	—	27.3	54.5	18.2	—
Italia x panse precoce	61	26	45.8	27	61	—	15.3	69.2	15.5	—
	61	29	35.4	19	53	17.2	31.1	44.8	6.9	—
	61	40	46.5	35	56	—	37.5	37.5	25.0	—



Tab. 3 - Valori del carattere «lunghezza del ciclo» nelle varietà e nelle autofecondazioni e distribuzione dei figli in classi

Varietà	Valore del carattere				Individui per classe %					
	Genitori		Autofecondazioni							
	$\bar{M}$	$\bar{M}$	Min.	Max.	< 130	131-140	141-150	151-160	161-170	> 170
Vitigni a media maturazione	171	157.4	141	175	—	—	16.7	50.0	26.7	6.6
Alphonse L.	165	156.9	141	175	—	—	18.2	54.5	18.2	9.1
Italia	179	158.3	144	171	—	—	11.8	52.9	29.4	5.9
Vitigni precoci	135	152.3	128	185	6.4	19.3	25.8	9.7	29.1	9.7
Perla di csaba	130	176.6	156	185	—	—	—	12.5	62.5	25.0
Primus	138	143.3	128	162	13.4	33.3	33.3	6.7	13.3	—
Maddalena B.	136	153.7	130	176	—	12.5	37.5	12.5	25.0	12.5

Tab. 4 - Valori del carattere «lunghezza del ciclo» nelle varietà e negli incroci e distribuzione dei figli in classi

Incroci	Valore del carattere					Individui per classe %				
	Genitori		Incroci							
	Media m.	Precoci	$\bar{M}$	Min.	Max.	< Precoci	= Precoci	Intermedi	= Medi	> Medi
Incroci cv. A media matur. x precoci	171	135	146.8	117	167	17.5	12.5	62.5	7.5	—
Italia V. precoce	—	—	—	—	—	< Precoce	= Precoce	Intermedio	= Italia	< Italia
Italia x volta	179	133	139.6	117	166	25.0	21.4	53.6	—	—
Italia primus	179	138	150.6	130	165	15.4	7.7	76.9	—	—
Italia x perla di csaba	179	130	142.0	123	164	10.0	30.0	60.0	—	—
Italia x panse precoce	179	147	154.0	147	158	—	42.9	57.1	—	—

variabilità stabilita dai genitori.

Esaminando le singole famiglie si conferma quanto già evidenziato nel 1980 e cioè che non esiste uniformità di comportamento fra i diversi incroci, tanto da non potersi giungere a conclusioni omogenee.

Infatti l'incrocio *Italia x Volta* dà progenie con valori tendenti verso la precocità (con oltre il 17% di individui anche più precoci del genitore *Volta*), mentre negli altri incroci con *Italia* non si riscontrano progenie più precoci del genitore precoce. Questo fatto indica il notevole interesse nella scelta dei genitori per l'incrocio al fine di ottenere determinati risultati.

Considerando la lunghezza totale del ciclo, nel caso delle autofecondazioni (Tab. 3) viene confermato quanto detto a proposito del carattere momento dell'invaiaura e cioè che nelle progenie si registra un netto allungamento del ciclo rispetto ai genitori nei vitigni precoci sia nel complesso dei risultati che all'interno di ogni discendenza. Nella discendenza di quelli a media maturazione, invece, esiste una certa tendenza all'accorciamento del ciclo con estremi nettamente inferiori al genitore e che si avvicinano ai valori dei vitigni precoci.

Nel caso degli incroci appare evidente l'azione dominante del complesso dei caratteri che influenzano l'accorciamento del ciclo e quindi la precocità (Tab. 4).

All'interno delle famiglie, l'incrocio *Italia x Volta* è quello che dà origine alla maggiore quantità di individui con ciclo più breve del genitore a ciclo corto (25% del totale) e l'estremo più basso (117 giorni).

Si constata inoltre che negli incroci con il *Volta* esiste ancora una significativa correlazione positiva fra precocità della invaiatura e lunghezza del ciclo invaiatura-maturazione (vedi tabella 5)

Tab. 5 - Correlazione fra l'epoca di invaiatura ed il periodo invaiatura-maturazione nelle diverse famiglie da incrocio

Famiglie	r	Sign.	Equaz.
Italia x volta	0.47	**	II°
Italia x primus		N.S.	
Italia x perla di csaba	0.76	**	I°
Italia x panse precoce	0.79	*	II°
Italia x regina dei vigneti	0.76	*	I°

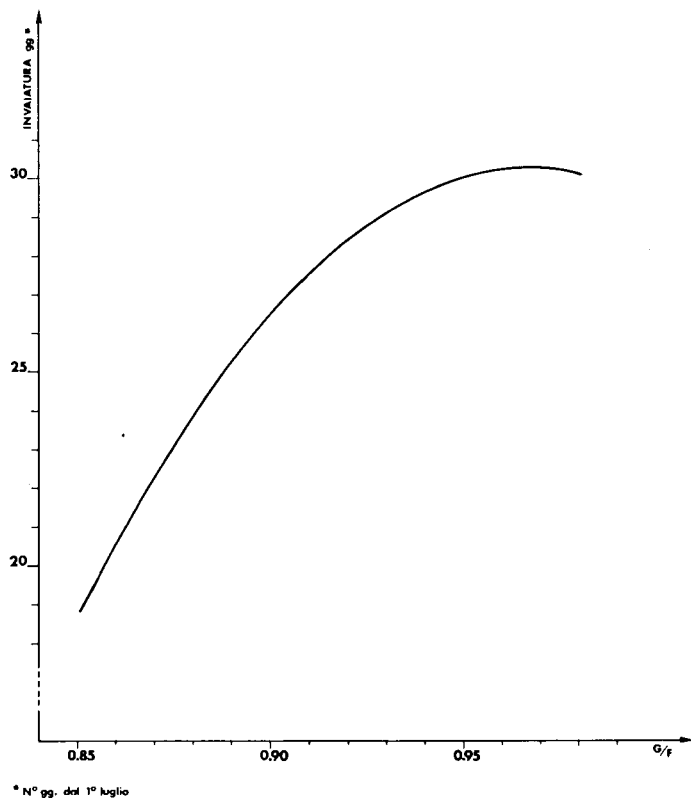
fatto che apre materie di indagine nella trasmissione di questo carattere e che al momento comunque dimostra l'importanza del *Volta* utilizzato quale genitore per ottenere cicli vegetativi corti.

Sempre la tabella 5 mette in rilievo che la correlazione di cui si tratta non è significativa in tutte le famiglie di incroci considerati e che anche l'equazione non è sempre dello stesso tipo.

In questa ultima situazione il *Volta* (vedi grafico 1) dimostra ancora delle buone caratteristiche dal momento che nelle progenie alla precocità di invaiatura è correlato un periodo invaiatura-maturazione sempre più breve.

### Conclusioni

Il *Volta* si propone come genitore davvero interessante allo scopo di ridurre la durata del ciclo, anche perché ha già dato origine a risultati pratici: qualche tipo isolato da questo programma, aven-



Graf. 1 - Correlazione fra epoca di invaiatura e rapporto glucosio/fruttosio nelle bacche a maturazione in una collezione di vitigni.

do accoppiato al ciclo corto altre proprietà merceologiche interessanti, è stato omologato quale vitigno ad uva da tavola precoce.

Il presente lavoro, mette in evidenza, inoltre, sempre su questa linea e nel tentativo di unire precocità di invaiatura con breve periodo invaiatura-maturazione e precocità di germogliamento (caratteristiche della *Perla di Csaba*, vedi lavoro 1980), l'opportunità di lavorare, come già iniziato nel nostro Istituto, con incroci fra *Perla di Csaba* e *Volta* al fine di ottenere individui ad elevatissima precocità da utilizzare in ulteriori programmi di selezione per questo carattere.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Ajvazjan G.P. (1978) - *Breeding large fruited form of table grapes*. Vinodel, i Vinogradar. n° 8 37-38 from PBA 49: 3108.
2. Calò A., Costacurta A. (1973) - *Studio di alcune caratteristiche fenologiche e metaboliche in varietà ad uva da vino a maturazione precoce e tardiva*. Riv. Vit. Enol. n° 12.
3. Calò A., Costacurta A., Lorenzoni C. (1975) - *Stabilità ambientale di alcune caratteristiche fenologiche in varietà di Vitis Vinifera*. Riv. Vit. Enol. Conegliano n° 11-12.
4. Calò A., Cancellier S., Costacurta A., Lorenzoni C. (1980) - *Studio sulla trasmissione ereditaria del carattere «precocità» nella Vitis Vinifera L. Risultati di una prima serie di ricerche*. Riv. Vit. Enol. Conegliano n° 7.
5. Costacurta A., Cancellier S., De Luca R. (1980) - *Influenza genetica nel determinismo del peso del grappolo in uve da tavola*. Riv. Vit. Enol. Conegliano n° 10.
6. Fanizza G., Raddi P. (1973) - *The heritability of fruit ripening date in Vitis Vinifera L.* Vitis 12: 93-96.
7. Nedelcev N. (1963) - *Züchtung hochwertiger tofeltrauben*. Mezd. Sel'skohozjastv 1963 n° 5: 53-57; from Vitis 4: 207.
8. Oprea St. (1977) - *Contribution à l'étude de l'hérédité de la maturation des raisins et des sarments chez la vigne*. Génétique et amélioration de la vigne. I.N.R.A. Paris 173-179.
9. Pospisilova D. (1974) - *Heterosiszüchtung bei Vitis Vinifera L.* Vitis 13: 89-97.

#### RESUME

#### HEREDITE DU CARACTERE «PRECOCITE» D'UNE SERIE DE CROISEMENTS DE VITIS VINIFERA

Afin d'étudier la transmission du caractère «précocité» chez *Vitis Vinifera*, on a effectué à partir de 1968 une série de croisements entre l'«Italia» et des cultivars à différents stades de maturation (*Volta, Perla di Casba, Primus, Maddalena Bruni, Lattuario nero, Oliveritta nera*, etc.).

Dans une première note (1980) on a reporté les résultats des croisements avec des cultivars très précoces.

Ces cultivars complétés par l'examen des descendants des cultivars tardifs ont permis d'apporter dans la présente étude des éclaircissements ultérieurs sur le mécanisme de transmission héréditaire du caractère «précocité» et des caractères influençant celui-ci, quelquefois dépendants et quelquefois corrélés.

## VARIABILITÀ DEL RAPPORTO GLUCOSIO-FRUTTOSIO NELLE BACCHE, IN DISCENDENZA DA INCROCIO DI VITI

A. CALÒ - A. COSTACURTA - S. CANCELLIER  
Istituto Sperimentale Viticoltura - Conegliano (Italia)

Nella ricerca dello sfruttamento della vite per ottenere produzioni a più alto contenuto tecnologico, ci è parso interessante indagare sul rapporto fra i monosaccaridi (glucosio e fruttosio) presenti nelle bacche in fase di maturazione; ciò al fine di impostare un programma di miglioramento genetico finalizzato all'ottenimento di uve ricche in fruttosio.

La letteratura non dà molte indicazioni in proposito, salvo la constatazione che il rapporto fra glucosio e fruttosio di solito si colloca intorno alla unità e varia con il procedere della matura-

zione diventando via via più favorevole al fruttosio, ma non discostandosi, comunque, molto dall'1.

#### Materiali e metodi

Il lavoro è stato impostato effettuando in una prima fase (iniziata nel 1976) l'analisi della variabilità del rapporto glucosio/fruttosio e degli zuccheri riduttori delle uve di oltre 700 vitigni, presenti nella collezione ampelografica dell'Istituto Sperimentale per la Viticoltura, sita in Conegliano (TV).

Sulla base di dette analisi nel 1979 è stata effettuata la scelta di alcuni vitigni da utilizzare come genitori nel successivo programma di autofecondazione ed incroci, finalizzato sia allo studio dell'ereditarietà del carattere in questione che all'ottenimento di vitigni con il rapporto glucosio/fruttosio nettamente inferiore all'unità.

Per il programma di incrocio sono stati scelti 3 vitigni così caratterizzati:

Vitigno A - con rapporto G/F basso (media di due annate: 0,80)

Vitigno B - con rapporto G/F alto (media di due annate: 1,21)

Vitigno C - con rapporto G/F basso (media di due annate: 0,78)

I tre vitigni sono stati quindi autofecondati, per i controlli sul

genotipo, ed incrociati fra loro secondo lo schema:

A x B    A x C    B x C

Dal 1980 è iniziato l'allevamento delle progenie, prima in coltura idroponica sotto serra e quindi in campo; tecnica che ha permesso di ottenere le prime produzioni nel 1983.

Nel presente lavoro si sono utilizzati i dati relativi alle famiglie A x B e A x C, che presentavano un numero di individui sufficienti all'impostazione di una prima analisi, (circa 200 individui in tutto).

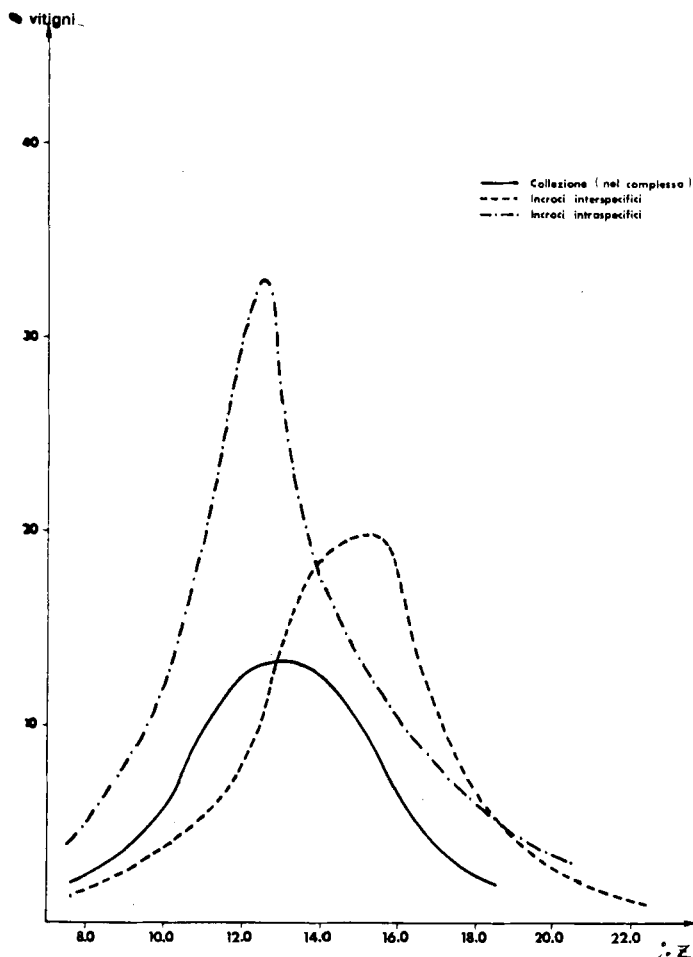
Dell'incrocio B x C si disponeva di pochi individui e, quindi, nell'analisi dei dati se ne farà un cenno soltanto.

Per l'analisi del glucosio e fruttosio è adottato il metodo UV di analisi enzimatica, Art. n. 139106 della Boehringer.

## Risultati e discussione

Come ricordato, la prima analisi è stata portata su oltre 700 vitigni della collezione ampelografica dell'I.S.V. di Conegliano, nelle cui uve alla maturazione è stata verificata, per tutti gli anni dal 1977 al 1984, la percentuale di zuccheri riduttori e le quantità relative di glucosio e fruttosio.

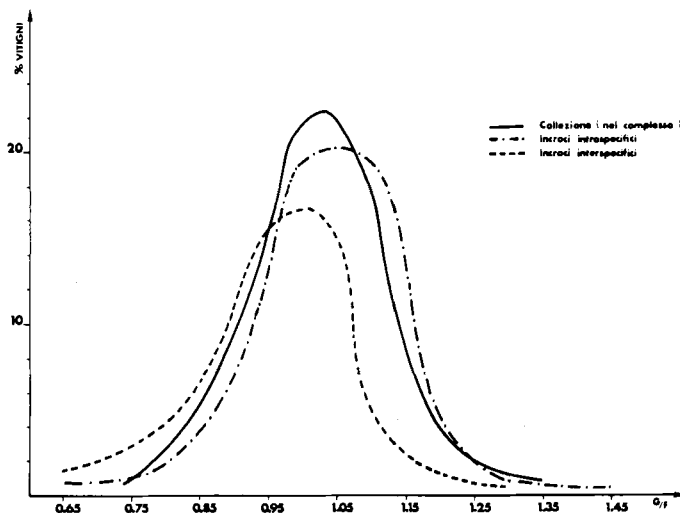
Nel grafico 1 è riportata la distribuzione, per l'espressione fenotipica del carattere "contenuto zuccherino", nei diversi vitigni presi nel complesso e distinti in incroci intra e inter-specifici.



Graf. 1 - Distribuzione del carattere «contenuto zuccherino» in una collezione di circa 700 vitigni.

Nel grafico 2 sono riportate le stesse distribuzioni per l'espressione fenotipica del carattere "rapporto glucosio/fruttosio".

Questi grafici mettono in evidenza la distribuzione dei due caratteri con una maggiore concentrazione delle risposte intorno al-



Graf. 2 - Distribuzione del carattere «rapporto glucosio/fruttosio» in una collezione di circa 700 vitigni.

la media. Nel caso del carattere "rapporto glucosio/fruttosio", la media si pone intorno all'unità, fatto che giustifica la letteratura in proposito. È interessante comunque constatare che la variabilità è abbastanza ampia, avendo trovato vitigni le cui uve avevano un rapporto da 1,45 a 0,80 circa.

Nel paragone fra vitigni di origine non conosciuta o comunque non da incrocio recente e vitigni ottenuti da incroci intra o inter-specifici non si rilevano differenze significative fra le medie del carattere "rapporto glucosio/fruttosio", il che escluderebbe che l'incrocio possa provocare un'alterazione del rapporto per effetto di "eterosi".

Nel caso degli incroci inter-specifici un leggero, ma significativo spostamento della curva verso livelli più bassi del rapporto, potrebbe chiamare in causa l'effetto di specie diverse dalla "Vitifera".

Constatata l'esistenza di questa variabilità fenotipica è stato calcolato il coefficiente di ereditabilità del carattere glucosio/fruttosio che è risultato, nelle condizioni delle prove, piuttosto elevato ( $h^2 = 67\%$ ), mettendo in evidenza la base genetica del carattere e di conseguenza la possibilità di impostare un programma di sfruttamento della stessa attraverso un piano di selezione.

Prima della impostazione di questo piano, comunque, abbiamo ancora voluto verificare:

a) l'eventuale variazione del rapporto con la maturazione delle uve,

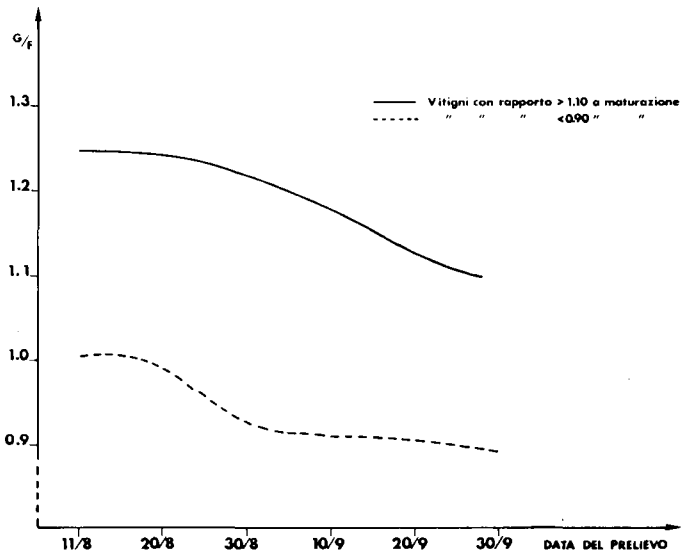
b) eventuali legami dello stesso con il contenuto in zuccheri dell'uva e la sua precocità di maturazione.

Per quanto concerne il punto a), abbiamo selezionato tutti i vitigni con un rapporto significativamente superiore ad 1,10 e tutti quelli con rapporto inferiore a 0,90 e sui circa 200 vitigni discriminati è stata seguita la curva di maturazione con l'analisi del rapporto glucosio/fruttosio.

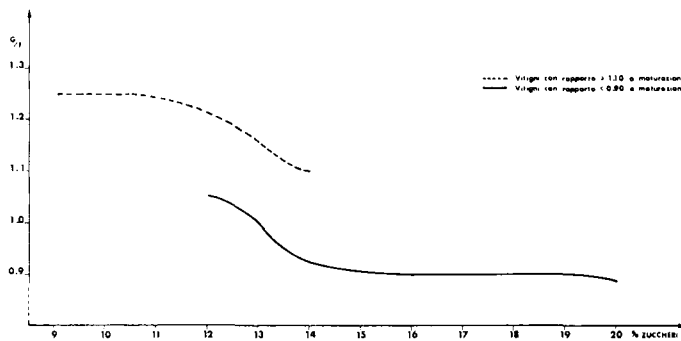
I risultati hanno permesso di costruire le due curve, riportate nei grafici 3 e 4, le quali mettono in rilievo come, nel corso della maturazione il fruttosio aumenti relativamente nei confronti del glucosio, ma con modalità differenti in funzione del momento del ciclo e del gruppo di vitigni.

Questo fatto, quindi, impone di operare le valutazioni effettuando più prelievi nel corso della maturazione.

Per quanto concerne il punto b), è risultato che non esiste correlazione fra contenuto zuccherino e valore del rapporto glucosio/fruttosio, mentre si ha correlazione positiva ( $r = 0,90^{**}$ ) fra epoca di invaiatura (quale indice della precocità di maturazione) e rapporto glucosio/fruttosio, come è indicato nella curva del grafico 5, che evidenzia una maggiore relativa quantità di fruttosio



Graf. 3 - Variazione del rapporto glucosio/fruttosio nelle bacche durante la maturazione (in funzione del momento del prelievo).



Graf. 4 - Variazione del rapporto glucosio/fruttosio nelle bacche durante la maturazione (in funzione del contenuto zuccherino nelle bacche)

nei vitigni a maturazione precoce. Il fatto probabilmente è dovuto alla più completa maturazione che gli stessi vitigni possono raggiungere nell'ambiente della prova.

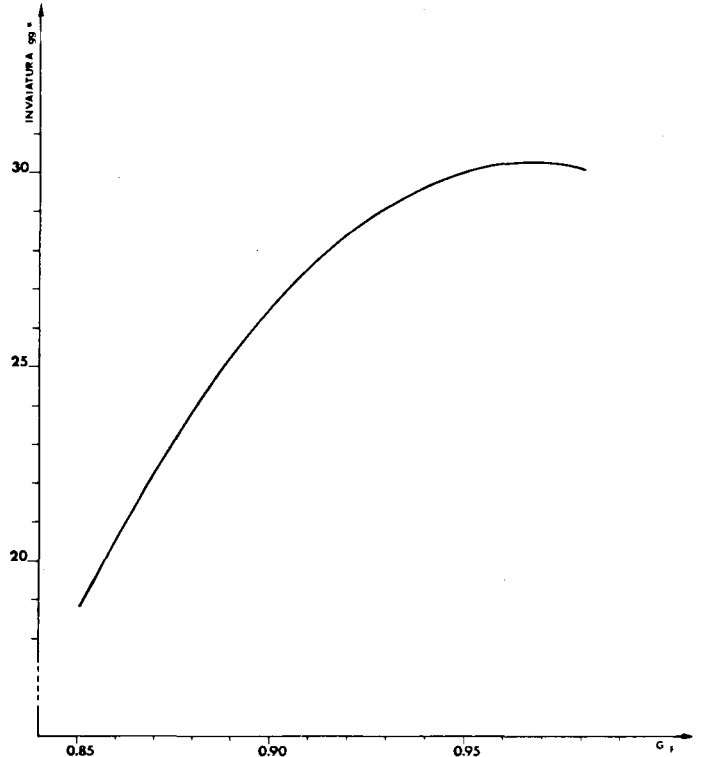
Come detto in premessa e sulla base delle analisi riportate, sono stati scelti alcuni vitigni per lo studio genetico del carattere e l'impostazione del programma di miglioramento.

In particolare nel presente lavoro riferiamo sui risultati relativi ai primi incroci effettuati utilizzando i tre genotipi ricordati nel paragrafo "Materiali e metodi".

Nelle progenie ottenute e sugli individui entrati in produzione abbiamo analizzato il "rapporto glucosio/fruttosio" per gli anni 1983 e 1984. Inoltre, relativamente agli stessi anni sono continuati i rilievi per gli stessi dati in tutta la collezione, come riassuntivamente risulta dalla tabella 1.

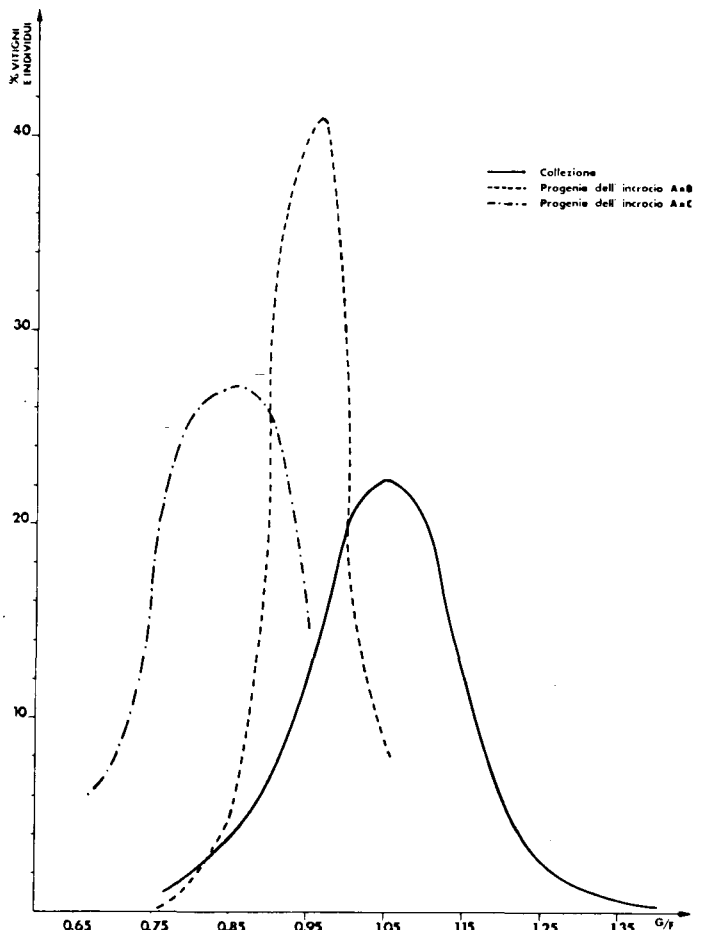
Nel grafico 6, quindi, è riportata la distribuzione per il carattere "rapporto glucosio/fruttosio" nelle progenie degli incroci A x B ed A x C (gli unici che al momento hanno permesso una analisi di questo tipo in funzione della numerosità) in confronto con la distribuzione della totalità dei vitigni della collezione. Si nota, così, che la scelta dei genitori ha dato effetti nel senso desiderato dal momento che appare chiaro uno spostamento verso il rapporto glucosio/fruttosio più basso, sia per la media che per le frequenze di distribuzione del carattere.

Risulta inoltre che l'incrocio fra A (con rapporto basso) e B (con rapporto alto) ha dato una maggioranza di individui con rapporto intermedio, mentre l'incrocio tra A e C (entrambi con rapporto basso) ha dato la maggioranza di individui con rapporto basso, tanto che, sembra potersi riconoscere una moderata dominanza



\* N° gg. dal 1° luglio

Graf. 5 - Correlazione fra epoca di invaiatura e rapporto glucosio/fruttosio nelle bacche a maturazione in una collezione di vitigni.



Graf. 6 - Distribuzione del carattere «rapporto glucosio-fruttosio» nella 'collezione' ed in progenie da incrocio.

Tab. 1 - Valore del rapporto glucosio/fruttosio in vitigni e loro incroci

Vitigni e incroci	Glucosio/fruttosio		
	$\bar{M}$	Min.	Max.
Collezione	1.02	0.75	1.66
Vitigno A	0.80		
Vitigno B	1.21		
Vitigno C	0.78		
Incroci AxB	0.93	0.85	1.00
Incroci AxC	0.82	0.66	0.94
Incroci BxC	0.92	0.87	0.95

del basso valore del rapporto. Questo comunque dovrà essere meglio determinato con i risultati relativi alle altre progenie da incrocio e da autofecondazione attualmente in allevamento.

### Conclusioni

Attraverso l'analisi di una collezione di oltre 700 vitigni, si è evidenziata, in primo luogo, l'esistenza di una buona base genetica del carattere rapporto glucosio/fruttosio.

Attraverso l'analisi delle progenie di alcuni incroci si è confermata la possibilità, attraverso selezione, di spostare la manifestazione del carattere nel senso ricercato e cioè con maggiore quantità relativa di fruttosio rispetto al glucosio, ottenendo individui con detto rapporto fra 0,65 e 0,70.

### BIBLIOGRAFIA

1. Amerine M.A. Thankis G. (1958) - *The glucose - fructose ratio of California grapes* - *Vitis* 1: 224-229.

2. Bayonave C. (1966) - *Etude de trois méthodes de dosage des sucres réducteurs* - *Am. Technol. agric.* 15 (2) 139-147.
3. Bergmeyer H.N. Bernt E. Schmidt F. - Stork H. (1974) - *Methoden der enzymatischen Analyse Bergmeyer, H.N. Hrsg* vol. 2, 1241 - 1246. Verlag Chemie, Weinheim.
4. Bernt E. Bergmeyer H.N. (1974) - *Methoden der enzymatischen Analyse*. (Bergmeyer H.N. Hrsg) vol. 2, pag. 1349 - 1352. Verlag Chemie Weinheim.
5. Bundenverband der Deutschen Feinkostindustrie e.V. Bonn (dic. 1979) *Analysen. Methoden: Bestimmung des Zuckergehaltes in Tomatenmark* (enzymatisch) IV/61 (dic. 1979).
6. Deutsche Norme, Untersuchung von Stärke und Stärkezerengrissen (aprile 1979) - *Bestimmung von D. Glucose und D. Fructose in dreselben Untersuchungsprobe* (Enzymatischen Verfahren) DIN 10381.
7. Drauert F. (1964) - *Enzymatische Analyse von Glucose, Fructose, Saccharose und Sorbit in Weinen und Traubenmosten Vitis*; 4: 185-187.
8. Gombocs E. Hellwig R. Vojir F. Petuely F. (1978) - *Deutsche Lebensmittel - Rundschau* 77, 3 (Glucose) e 9-10 (Fructose).
9. Heite H.J. Pfrieme B. Wokalek H.H. (1976) - *Der informierte Arzt* anno 4 - vol. 12.
10. Henniger G. Boos H. (1978) - *Seifen - Öle - Fette - Wachse* 104 159 - 164.
11. Kaden R. (1973) - *Andrologische Laboruntersuchungen, Diagnostik* 6 590 - 593.
12. Kliever W.M. (1965) - *Changes in concentration of glucose, fructose and total soluble solids in flowwers and berries of V. vinifera*. *Am. L. Enol. Vitic.* 16, 101-110.
13. Kliever W.M. (1967) - *The glucose - fructose ratio of V. vinifera grapes*. *Am. J. Enol. Vitic.* 18, 33 - 41.
14. Kliever W.M. (1967) - *Concentration of tartrates, malates, glucose and fructose in the fruits of the germs Vitis*. *Am. J. Enol. Vitic.* 18, 87-96.
15. Manzoni L. (1955) - *Il grappolo dalla allegazione alla maturazione*. *Riv. Vitic. Enol.* 8, 323 - 337 e 367 - 384.
16. Nennstiel H.J. Alich R. (1969) - *Das arztliche labororium* 15, 197-198.
17. *Norme française homologuée, Jus de fruits et jus de Légumes: Détermination de la teneur en Saccharose, Glucose, Fructose (Méthode enzymatique)*, NF V 76 - 106 (ottobre 1980).
18. Peynaud E. Guibertan G. Nauzin P. (1970) - *Etude de la maturation du raisin considérée grain par grain*. *Connaiss. Vigne Vin* 4, 285 - 298.
19. Ribéreau-Gayon J. Peynaud E. Ribéreau-Gayon P. Sudraud P. - *Traité d'oenologie*. Sciences et Techniques du vin. Ed. Dunod.

### RESUME

#### VARIABILITE DU RAPPORT GLUCOSE-FRUCTOSE DANS LES BAIES EN FONCTION DU CROISEMENT DE VIGNES

Etant donné l'intérêt particulier que revêt le fructose pour ses caractéristiques biochimiques, l'I.S.V. a imposé en 1976 un programme de travail orienté d'une part vers l'étude du déterminisme génétique du rapport entre les deux monosaccharides (glucose et fructose) des baies et d'autre part vers l'obtention de cultivars contenant plus de fructose que de glucose. La première phase du travail consiste à choisir les parents. Un screening effectué sur des collections de cépages de *Vitis Vinifera* et d'hybrides avec prélèvement d'échantillons à différents moments de la véraison à la maturation, a permis de mettre en évidence une certaine variabilité, aussi bien chez *Vitis Vinifera* que chez les hybrides et d'individualiser certains cultivars dont le rapport entre les deux monosaccharides est très différent de 1.

Le programme de croisement successif, réalisé sur ces cépages a permis d'obtenir dans la  $F_1$  une variabilité telle, que l'on a entrevu la possibilité d'obtenir des cépages dont le pourcentage en fructose est intéressant.

## INTERACTION "GENOTYPES x MILIEUX": EXEMPLES D'INTERACTIONS "PORTE- GREFFE X SOL X SYSTEME DE CONDUITE" POUR LES CÉPAGES ROUGES DES APPELLA- TIONS DE BORDEAUX

### A. CARBONNEAU

Station de Recherches de Viticulture Centre de Recherches de Bordeaux INRA - Pont de la Maye (France)

### Introduction

Les caractères phénotypiques sont dans tous les cas des réponses physiologiques de génotypes qui s'équilibrent face à des flux de facteurs du milieu.

Le phénomène résultant ou variation phénotypique peut se décomposer en une variation due à chacun des génotypes soumis à des milieux identiques, en une autre variation due à chacun des milieux influant sur les mêmes génotypes, enfin en une interaction "génotypes x milieux" exprimant le comportement différentiel de génotypes particuliers dans certains milieux.

Deux types fondamentaux de questions découlent de cette analyse:

1) Quelle est l'importance relative de la variation des génotypes et de la variation des milieux dans la variation phénotypique totale?, également quelle est l'évolution dans le temps d'une telle répartition et quel est son degré de mémorisation?

2) Quelle est la part relative des interactions "génotypes x milieux"?, ou bien comment faut-il adapter le génotype au milieu naturel incontrôlable?, ou encore comment faut-il conduire le milieu culture en fonction du génotype et du milieu naturel?

Ces questions, surtout en viticulture, doivent trouver des réponses obligatoirement adaptées à des situations précises. L'exem-

ple qui est traité ici est celui des cépages rouges des Appellations de Bordeaux. Il y a été défini, pour les paramètres de maturation essentiellement, une hiérarchisation des effets des génotypes et de ceux des milieux, ainsi qu'une mise en évidence de certaines interactions "génotypes x milieux".

En dehors de leur intérêt théorique, ces résultats permettent de mieux définir des orientations et des conditions de la sélection de génotypes pour un tel milieu.

## Dispositif expérimental

La Station de Recherches de Viticulture INRA de Bordeaux a développé au domaine INRA de Latresne en "Première Côtes de Bordeaux" pour les cépages rouges des Appellations de Bordeaux, des essais factoriels d'Ecophysiologie dont le schéma est le suivant:

Génotype greffon (Merlot clone 2143, Cabernet Franc clone 796, Cabernet-Sauvignon clone 1567),

x Génotype porte-greffe (Riparia Gloire de Montpellier clone 1, 101-14 MG clone 3, SO4 clone 18, 99 Richter clone 96),

x Terroir (grave sableuse sèche de plateau, sable limoneux frais de bas de pente),

x Système de conduite (vigne étroite basse rognée à 5556, 4630 et 3968 ceps/ha; vigne large en Lyre ouverte à 2778, 2315, 1984 ceps/ha).

Il est à noter d'abord que les greffons tout en appartenant au même groupe écologique induisent une gamme de précocité de récolte assez grande de l'ordre de 20 jours dans les conditions bordelaises, ensuite que les porte-greffes représentent la gamme quasiment maximale de vigueur et de potentiel de production; que les terroirs sont parmi les plus extrêmes notamment vis à vis de la réserve hydrique et minérale; que les systèmes de conduite sont ceux sélectionnés uniquement parmi les plus aptes à la production régulière de vins de qualité; enfin que les années ont apporté naturellement des variations climatiques assez considérables.

La plantation a eu lieu en 1976. Les résultats agronomiques obtenus cep par cep avec une méthodologie classique (Carbonneau, 1980) sont surtout détaillés pour l'exemple précis de la teneur en sucres réducteurs totaux du moût. Sont prises en compte les vendanges 1979, 1980, 1981, 1982 et 1983. Le choix des échelles de taille a été fait dans le but de rendre les productions par ha aussi voisines que possible entre les systèmes de conduite et les génotypes; le niveau moyen sur l'ensemble des années pour le terroir de graves a été de 8 t/ha, celui de terroir sablo-limoneux de 12 t/ha.

Les analyses de variances ont été effectuées à partir d'un modèle additif fondé sur la structure gaussienne des populations et le seuil de risque a été fixé à 1 p. 100. Les résultats les plus significatifs sont indiqués dans les graphiques. Le nombre de ceps ou de répétitions par combinaison élémentaire "année x greffon x porte-greffe x terroir x système de conduite" est de 20.

## Résultats

### 1. Hiérarchisation des effets des traitements (figure 1)

La figure 1 indique, sur la base de la teneur en sucres réducteurs totaux du moût (g/l), la fluctuation des moyennes des niveaux des divers traitements avec l'écart-type correspondant. Les écarts particuliers entre les niveaux de ces traitements peuvent y être observés, mais seul l'aspect global entre traitements sera analysé ici.

Dans l'ordre décroissant des écarts-types ou des fluctuations des moyennes, autour de la moyenne générale de 192 g/l, cet essai fait apparaître:

- 1 — le facteur année ou climat avec un écart-type "s" de 27 g/l environ;
- 2 — le facteur système de conduite ou essentiellement microclimat avec  $s \approx 19$  g/l;

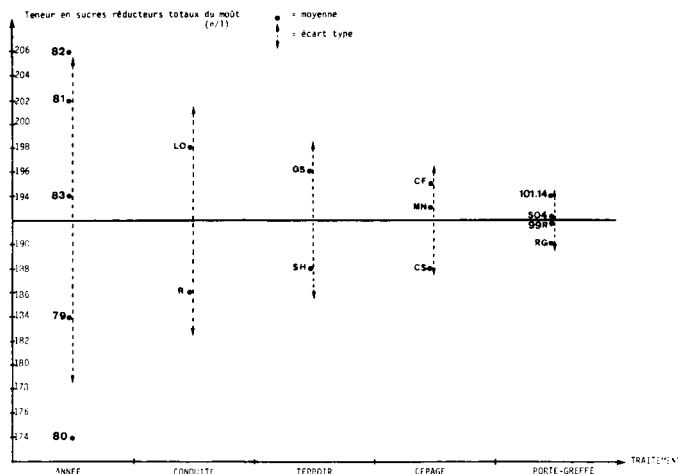


Fig. 1 - Moyennes et écarts-types de teneur en sucres réducteurs totaux du moût (g/l) relatives aux niveaux des traitements principaux: année, conduite, terroir, cépage, porte-greffe.

Légende commune des sigles pour les 3 figures:

années: 79, 80, 81, 82, 83; R: vigne étroite basse rognée; LO: vigne large en lyre ouverte; GS: sol de grave sableuse sèche de plateau; SH: sol sablo-limoneux frais de bas de pente; MN: Merlot noir, clone 2143; CF: Cabernet-Franc, clone 796; CS: Cabernet-Sauvignon, clone 1567; RG: Riparia Gloire de Montpellier, clone 1; 101-14: 101-14 MG, clone 3; SO4: SO4, clone 18; 99 R: 99 Richter, clone 96.

3 — le facteur terroir ou essentiellement réserve hydrique avec  $s \approx 13$  g/l;

4 — le facteur greffon avec  $s \approx 9$  g/l;

5 — le facteur porte-greffe avec  $s \approx 5$  g/l.

Cette hiérarchie, du moins sur le classement des traitements, se retrouve pour les autres paramètres de la maturation (acides organiques, polyphénols); pour la vigueur, la fertilité et la production par ha, des résultats assez semblables sont observés, avec cependant un resserrement des écarts entre les facteurs conduite, terroir et génotype, ceci avec le type d'échelles de taille utilisé.

Pour 1984, il convient d'indiquer la présence d'une coulure très importante qui donne évidemment aux facteurs année et greffon un poids considérable et bien connu; toutefois les effets de la conduite notamment ne sont pas négligeables puisque pour le Merlot, la vigne traditionnelle a produit aux alentours de 1 t/ha et la lyre ouverte autour de 3 t/ha.

Il ressort donc de ces analyses surtout l'influence considérable des fluctuations climatiques annuelles, parfois accidentelles, dont la sélection (greffons et porte-greffes) doit tenir compte notamment dans l'obtention de variétés nouvelles ou de cépages à type bien précis (ex: type Merlot résistant à la coulure); également un fait plus nouveau qui est le potentiel lié à la conduite du vignoble, donc directement maîtrisable par le viticulteur, en particulier grâce aux formes en lyre.

### 2. Détection des interactions "génotypes x milieux"

Il conviendrait théoriquement d'analyser toutes les interactions du 1er au 4ème ordre entre les facteurs année, conduite, terroir, greffon et porte-greffe. Le problème en fait se simplifie dans la mesure où les interactions qui font intervenir la conduite et le porte-greffe ne sont qu'exceptionnellement significatives. Dans un premier temps seront donc analysées ces quelques interactions, ce qui permettra par la suite de réduire l'étude sur l'ensemble des années aux interactions du 1er au 3ème ordre "année x conduite x terroir x greffon" et aux interactions "année x porte-greffe x terroir x greffon". Le paramètre retenu en exemple est la teneur en sucres réducteurs totaux du moût, pour le Merlot et le Cabernet-Sauvignon.

### A - Interactions faisant intervenir conduite et porte-greffe

Sur l'ensemble des combinaisons faisant intervenir conduite et porte-greffe il est apparu que l'interaction significative la plus forte (du 4ème ordre) concerne de plus l'année 1979, le Merlot, le terroir de grave sèche et reflète (exceptionnellement) une teneur en sucres du moût inférieure pour la lyre ouverte par rapport à la vigne traditionnelle: cette tendance est peu marquée pour les porte-greffes 101-14 et SO4 et nettement marquée pour le Riparia Gloire et le 99 R.

Ce fait traduit probablement pour cette première récolte 4 années après plantation, un retard d'occupation du sol chez la lyre ouverte à faible densité de plantation avec une concurrence entre la croissance des racines et la maturation du raisin, dans des conditions de faible vigueur à tous les niveaux: greffon (le Merlot est le plus faible), sol (grave sèche et pauvre en minéraux), porte-greffe à enracinement faible (Riparia Gloire) ou lent (99 R).

Une autre interaction significative (du 4ème ordre) est apparue en 1981 pour le Cabernet-Sauvignon dans le sol de graves, et traduit ici le fait que l'avantage de teneur en sucres du moût pour la lyre ouverte par rapport à la vigne traditionnelle est moins net chez le 99 R que chez les autres porte-greffes, SO4 notamment. La lenteur de l'enracinement du 99 R pourrait ici encore être invoquée.

Donc globalement et en tous cas pour des vignes définitivement adultes, les interactions faisant intervenir conduite et porte-greffe peuvent être négligées ce qui simplifie la suite des analyses, et qui ne justifie pas ici le choix particulier du porte-greffe en fonction du système de conduite ceci pour ces conditions de terroirs et de cépages.

### B - Interaction "année x conduite x terroir x greffon" (figure 2)

La figure 2 montre en 1979 une interaction significative (du 3ème ordre) dans le sens d'une teneur en sucres du moût en général inférieure pour la lyre ouverte par rapport à la vigne traditionnelle: le retard de colonisation du sol pour de jeunes vignes plantées à faible densité de plantation est ici encore probablement en cause. Cette tendance est très nette pour le Merlot et nette pour le Cabernet-Sauvignon, ceci en sol de graves; mais elle est très peu importante pour le Merlot dans le sol sablo-limoneux; elle est surtout nettement inverse pour le Cabernet-Sauvignon dans le sol

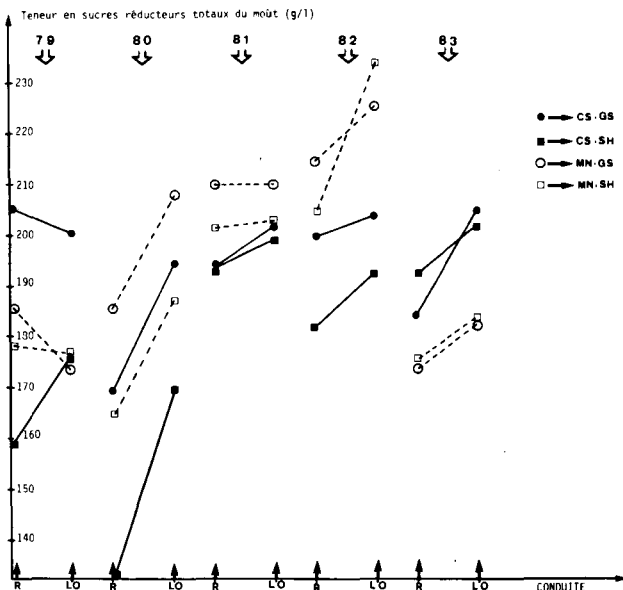


Fig. 2 - Interactions «conduite x terroir x cépage» pour les différentes années et relatives aux moyennes de teneur en sucres réducteurs totaux du moût (g/l).

sablo-limoneux. Le retard de colonisation du sol en faible densité n'apparaît donc significativement que pour des sols secs et maigres, avec une amplification aussi significative du phénomène liée à la vigueur du cépage.

Pour les années 1980, 1981, 1982 et 1983, dans tous les cas la teneur en sucres du moût est supérieure pour la lyre ouverte par rapport à la vigne traditionnelle. Cet avantage est très accusé en 1980 année tardive à maturation difficile et à énergie solaire limitante ce qui a pu être compensé par la lyre ouverte; net également en 1982 et 1983 années assez précoces à bonne maturation où les possibilités de production de sucres chez la lyre ouverte ont pu être bien développées; assez faible en 1981 année à bonne maturité à date moyenne. Il apparaît donc ici des interactions significatives (du 1er ordre) "année x conduite".

Pour chacune de ces combinaisons, "année x conduite" les effets des greffons et des terroirs modulent à un degré moindre par des interactions (du 3ème ordre) les tendances précédentes qui sont dominantes. En 1980 et 1981, l'avantage de teneur en sucres du moût pour la lyre ouverte par rapport à la vigne traditionnelle est très comparable pour les cépages et les terroirs. En 1982 le Merlot dans le sol sablo-limoneux présente une tendance analogue mais relativement plus accusée; c'est le cas en 1983 du Cabernet-Sauvignon en sol de grave. Il est probable que le régime hydrique intervient ici de concert avec l'adaptation des cépages à la sécheresse surtout pendant la véraison.

Donc globalement les réponses physiologiques de la vigne (photosynthèse en particulier) conduite en lyre ouverte expliquent ces interactions et l'avantage de ce système vis-à-vis de la maturité des raisins; mais irrégulièrement selon les années et à un degré moindre selon les greffons et les terroirs.

### C - Interactions "année x porte-greffe x terroir x greffon" (figure 3)

La figure 3 fait apparaître des phénomènes à la fois plus complexes et moins significatifs que dans le cas précédent.

Ici aussi en 1979 la jeunesse de la vigne et les dynamiques d'enracinement expliquent probablement des interactions du 3ème ordre. En sol de grave sèche le Riparia Gloire induit la plus faible teneur en sucres du moût par rapport aux 3 autres porte-greffes pour le Cabernet-Sauvignon, mais non par rapport au 99 R en ce qui concerne le Merlot. En sol sablo-limoneux peu de différences existent entre porte-greffes pour le Cabernet Sauvignon et seul un désavantage du 99 R se manifeste ici encore chez le Merlot.

Pour les années 1980, 1981, 1982 et 1983, aucune différence relative à la teneur en sucres du moût n'apparaît sur l'ensemble des combinaisons entre le 101-14, le SO4 et le 99 R (une remarque concerne les valeurs faibles relatives au 99 R, au Merlot, au sol de grave et à 1983, situation où des effets de surcharge en bourgeons ont été notés).

Par contre, le Riparia Gloire, porte-greffe faible et très sensible à la sécheresse, provoque des interactions significatives (du premier ordre) entre porte-greffe et année en induisant assez généralement des teneurs en sucres du moût relativement faibles.

Pour chacune de ces combinaisons "année x porte-greffe", les effets des greffons et des terroirs interagissent (au 3ème ordre) significativement et assez nettement. En 1980 seul le Cabernet-Sauvignon (par sa tardivité) en sol de graves (par sa sécheresse) accuse le retard de maturité du Riparia Gloire; en 1981 le Riparia Gloire n'est jamais différent des autres porte-greffes; en 1982 comme en 1980 seul le Cabernet-Sauvignon en sol de graves accuse nettement le retard de maturité du Riparia Gloire; en 1983, en raison de charges en bourgeons élevées, le retard de maturité du Riparia Gloire apparaît dans les deux sols et les deux cépages, avec une accentuation plus marquée chez le Merlot en sol de graves (phénomène noté aussi pour le 99 R).

Donc globalement la faiblesse et la sensibilité à la sécheresse du Riparia Gloire expliquent de façon irrégulière suivant les années ces interactions "année x porte-greffe x terroir x greffon". En

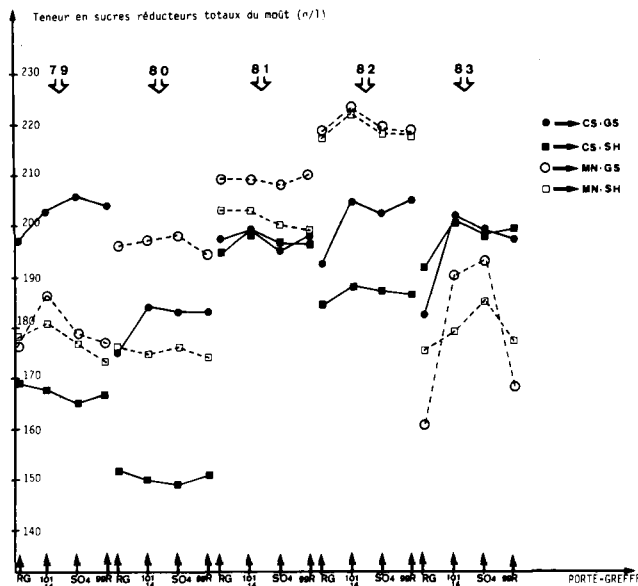


Fig. 3 - Interactions «porte-greffe x terroir x cépage» pour les différentes années et relatives aux moyennes de teneur en sucres réducteurs totaux du moût (g/l).

dehors de ces cas, peu d'effets nets se distinguent, contrairement aux effets des systèmes de conduite, hormis une tendance moyenne à l'avantage du 101-14 vis-à-vis de la maturité des raisins.

A quelques exceptions près et sur l'ensemble des combinaisons, les interactions étudiées ici ne sont donc pas de nature à remettre en cause les effets globaux des traitements: climat annuel, microclimat lié à la conduite, terroir, cépage et porte-greffe.

## Discussion et conclusion

De cette première analyse des expérimentations factorielles pluriannuelles "conduite x terroir x greffon x porte-greffe" menées au Domaine INRA de Latresne en Appellation "Premières Côtes de Bordeaux" dans l'optique d'une meilleure maîtrise de la qualité des vins rouges, il ressort essentiellement:

1 — La très forte influence, au niveau des effets principaux et de certaines interactions relatives aux critères de maturation et de production, des fluctuations climatiques annuelles. En tout cas cette observation, certainement très classique en Viticulture, peut

dans cette expérimentation être relativisée par rapport aux effets des autres facteurs: conduite, terroir, greffon, porte-greffe. Mais le point central qui devrait se développer à partir de l'ensemble des analyses de ce type, est la sélection de greffons et de porte-greffes capables d'une meilleure stabilité face aux fluctuations climatiques annuelles (Carbonneau, 1982 b), d'autant que certains tests physiologiques précoces de sélection concernant le régime hydrique et la photosynthèse peuvent être utilisés à cet effet (Carbonneau, 1982 a). Par exemple un objectif primordial sur le plan économique serait la recherche d'un génotype non coulard présentant le type aromatique caractéristique du Merlot et une meilleure régularité de maturité notamment lors de la véraison.

2 — L'influence également très importante, parfois plus que celle des génotypes eux-mêmes, du système de conduite sur la qualité en particulier; ceci est particulièrement efficace dans le cas des formes en "lyre", élément qui doit être pris en compte aux derniers stades de la sélection. Il serait ainsi possible de mieux révéler les potentialités d'un nouveau cépage dans différentes situations en adoptant outre le système de conduite classique, une des formes en "lyre" qui paraîtrait a priori la mieux adaptée. Une telle discipline permettrait non seulement de mieux définir l'aire d'adaptation d'un nouveau cépage voire de révéler l'intérêt de certains qui seraient inadaptés à des conduites classiques, mais aussi de développer ces nouveaux types de conduite intéressants à d'autres égards.

3 — Enfin la meilleure stabilité du comportement agronomique des formes en lyre sur l'ensemble des années et des terroirs par rapport aux conduites classiques, suggère leur emploi généralisé aux premiers stades de la sélection pour réduire le biais lié à l'interaction "génotype x milieu" puisque le milieu est très souvent unique à ce stade. En outre de tels vignobles de sélection, si besoin plantés serrés sur la rang, seraient plus commodes à observer et à récolter grâce à la forme même des palissages en lyre. Ceci constitue un autre exemple de la nécessité de concevoir l'Ecophysiologie et la Génétique comme deux disciplines complémentaires.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Carbonneau A., (1980) - *Recherche sur les systèmes de conduite de la Vigne: essai de maîtrise du microclimat et de la plante entière pour produire économiquement du raisin de qualité*. Thèse Docteur-Ingénieur en Oenologie-Ampélogie, Université de Bordeaux II, 240 p., n° d'ordre 6.
- Carbonneau A., (1982)a - *The early physiological tests of selection: a key for breeding programs*. IIIème Symp. Intern. Amélior. Vigne, Davis, Juin 1980. University of California, Edit., 147-157.
- Carbonneau A., (1982)b - *Reflexions sur l'agrométéorologie et la maîtrise du milieu*. Agronomie, 2 (5), 399-404.

## RESUME

### INTERACTION «GENOTYPES X MILIEUX»: EXEMPLES D'INTERACTIONS «PORTE-GREFFE X SOL X SYSTEME DE CONDUITE» POUR LES CEPAGES ROUGES DES APPELLATIONS DE BORDEAUX

La Station de Recherches de Viticulture INRA de Bordeaux a développé, pour les cépages rouges des Appellations de Bordeaux, des essais factoriels d'Ecophysiologie de la Vigne dans le but de hiérarchiser l'importance des facteurs suivants avec leurs interactions: génotype greffon (Merlot, Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon), génotype porte-greffe (Riparia Gloire, 101-14, 204, 99 R), terroir (grave sableuse maigre de plateau, sable limoneux frais de bas de pente), système de conduite (vigne étroite basse rognée à 5556, 4630 et 3928 ceps/ha; vigne large en lyre ouverte à 2778, 2315, 1984 ceps/ha). Le dispositif est installé au Domaine INRA de Latresne en «Premières Côtes de Bordeaux», la plantation ayant eu lieu en 1976. Les résultats agronomiques classiques des vendanges 1979, 1980, 1981, 1982, et 1983 sont présentés globalement, en détaillant l'exemple précis de la teneur en sucres réducteurs totaux du moût noté cep par cep.

Pour des productions similaires entre traitements, de l'ordre de 8 t/ha pour le terroir de grave et de 12 t/ha pour le terroir sablo-limoneux sur l'ensemble des années, les principales tendances suivantes sont dégagées dans les conditions de cet essai:

1) les variations provoquées par les niveaux des divers traitements sont par ordre décroissant d'importance relative: les effets des climats annuels, ceux des microclimats liés aux systèmes de conduite, ceux des terroirs, ceux des génotypes greffons, ceux des génotypes porte-greffes.

2) cette hiérarchie est stable pratiquement chaque année sur l'ensemble des combinaisons étudiées: les interactions significatives principales entre d'une part les systèmes de conduite et d'autre part les terroirs, les génotypes greffons et porte-greffes modulent les écarts moyens entre traitements sans modifier leur classement (exception faite du comportement du porte-greffe Riparia-Glorie dans le terroir de grave induisant des niveaux de sécheresse trop élevés).

Les conclusions essentielles qu'il convient de dégager vis-à-vis de la sélection future de variétés de vigne devant induire une maturité adaptée à des conditions du type bordelais sont:

1) la priorité accordée à la recherche de la stabilité (maturité, nouaison et production) vis-à-vis de fluctuations climatiques annuelles incontrôlables.

2) la prise en compte des possibilités offertes par le système de conduite (production et surtout qualité oenologique y compris au niveau aromatique) dans la valorisation des potentialités des génotypes (accrue par les formes en lyre).

3) la relative indépendance de la sélection de génotypes vis-à-vis des conditions de culture surtout dans le cas d'adoption de systèmes de conduite en lyre.



# VARIETES NOUVELLES CREEES A LA STATION DE RECHERCHES DE VITICULTURE

**P.M. DURQUETY**

Station de Recherches de Viticulture Centre de Recherches de Bordeaux INRA - Pont de la Maye (France)

## 1. Variétés inscrites au C.T.P.S.

### *Egiodola (R)*

Cette variété, créée en 1954, a fructifié pour la première fois en 1960. Elle provient du croisement Fer Servadou-Abouriou.

Etudiée sur les côteaux sub-pyrénéens jusqu'en 1966, elle a été expérimentée dans le Bassin de l'Adour, la Moyenne Vallée de la Garonne, le Bordelais et la Vallée de la Loire, depuis son premier fruit (1969).

Elle se caractérise par une production régulière, une maturation précoce (époque du Merlot R en Bordelais), une bonne résistance à la pourriture grise.

Elle donne un vin de qualité, très coloré et apprécié. Vinifiée depuis 1973 dans la Vallée de la Loire, elle a confirmé la valeur de son vin testée dans les microvinifications réalisées dans le Sud-Ouest (Pyrénées-Atlantiques, Landes, Gers, Tarn-et-Garonne).

Désormais connue dans l'Ouest de la France, où elle est cultivée dans 13 départements, sous 100 hectares, elle s'étendra désormais en culture expérimentale en Ardèche, dans les Pyrénées-Orientales et en Corse.

Des bois de greffage sont, chaque année distribués, en quantité importante, à partir de 8 parcelles de prémultiplication et de multiplication.

### *Odola (R)*

Cette variété, créée en 1954, a fructifié en 1962. Elle provient du croisement Baroque par Cot.

Etudiée sur les côteaux sub-pyrénéens, jusqu'en 1966, elle est expérimentée, depuis 1970, dans le Bassin de l'Adour, dans la Vallée du Lot (Cahors) et en Moyenne Vallée de la Garonne.

Sa fructification suffisante est néanmoins, plus variable que celle de l'Egiodola (60 hl/ha à 154 hl/ha).

Sa maturité de deuxième époque tardive, plus précoce que celle du Tannat, permet d'obtenir un degré alcoolique supérieur à celui du Tannat et une acidité totale régulièrement plus faible.

Le vin, d'excellente saveur est apprécié dans la région de Cahors (jugement du Syndicat de l'Appellation Cahors sur des vins réalisés à partir de vendanges récoltées dans le pays même).

Etendue dans 8 départements, sous 5 ha, dont 8 parcelles de prémultiplication et de multiplication, cette variété connaîtra une extension moins rapide qu'Egiodola.

### *Arinarnoa (R)*

Cette variété, créée en 1956, présente son premier fruit en 1965. Elle provient du croisement Merlot rouge par Petit Verdot, forme lambrusquet.

Etudiée sur les côteaux sub-pyrénéens jusqu'en 1968, elle a été expérimentée, par la suite dans le Bassin de l'Adour, le Bordelais et la Moyenne Vallée de la Garonne.

Caractérisée par un débourrement tardif, elle échappe généra-

lement aux gelées printanières. La production est régulière et excellente. Sa maturité est identique à celle du Tannat.

Sa résistance à la pourriture grise est excellente.

Cette variété donne un bon vin de primeur à l'arôme fruité et fin.

Etendue sur 24 implantations expérimentales dans 8 départements du sud-ouest, elle présente de l'intérêt dans le Bassin de l'Adour, où elle s'étend sur 5 ha 30 comme remplaçant éventuel du Tannat.

Il existe quatre parcelles de prémultiplication et multiplication.

### *Semebat (R)*

Le Semebat, créé en 1956 a fructifié pour la première fois en 1963. Cette variété provient du croisement Baroque x Cot.

Etudiée jusqu'en 1968, sur les côteaux sub-pyrénéens, elle est expérimentée depuis 1963, dans le Bassin de l'Adour et la Moyenne Vallée de la Garonne.

Cette variété manifeste une production importante et régulière. La taille doit donc rester raisonnable. De maturité identique au Cabernet-Franc, elle est supérieure à elle en degré alcoolique.

Son vin est complet et bien coloré.

L'extension actuelle du Semebat, sur 10 départements couvre une superficie culturale de 5 ha. Elle se développe rapidement.

### *Arriloba (B)*

Variété créée en 1954, sa première fructification date de 1960. Elle provient du croisement Raffiat de Moncade par Sauvignon.

Etudiée sur les côteaux sub-pyrénéens jusqu'en 1966, elle a été expérimentée, depuis 1962, dans les Landes, et depuis 1970, en Armagnac et dans la Moyenne Vallée de la Garonne.

Variété fructifère, elle a une bonne résistance à la pourriture grise, largement supérieure à celle du Sauvignon. De maturité Sauvignon Blanc, précoce par rapport au Baroque, le degré alcoolique de son vin est toujours supérieur à celui du baroque et son acidité généralement nettement plus faible.

Son vin, en sec, est légèrement bouqueté, fin et plaisant.

Développé en 20 implantations expérimentales, sur 8 départements, elle couvre 2 ha 20. Son développement est freiné par la non inscription à la C.E.E. Elle pourrait avoir une forte demande.

Une expérimentation de champanisation de son vin est en cours.

### *Perdea (B)*

Perdea, créée en 1954, fructifie pour la première fois en 1962. Elle provient du croisement Raffiat de Moncade par Chardonnay.

Etudiée sur les côteaux sub-pyrénéens jusqu'en 1966, elle est expérimentée dans le Bassin de l'Adour, le Bordelais est la Moyenne Vallée de la Garonne depuis 1968.

Son débourrement tardif lui permet d'échapper généralement aux gelées printanières. Elle possède une bonne production. Elle donne un vin blanc, sec, de qualité, de degré alcoolique moyen, caractérisé comme «très bon vin de base». En Bordelais, elle réalise de bons coupages avec le Sauvignon Blanc.

Implantée dans 6 départements, en 15 plantations expérimentales, elle couvre une superficie de 4 ha 71. Elle devrait connaître une rapide extension.

Une expérimentation de champanisation est en cours.

### *Liliorila (B)*

Sa première fructification remonte à 1963 et la date de sa création en 1956. Elle provient du croisement Baroque par Chardonnay.

Etudiée, comme les précédentes variétés, sur les côteaux pyrénéens jusqu'en 1966, elle est expérimentée en Bordelais dans le Bassin de l'Adour, et la Moyenne Vallée de la Garonne.

Elle est de maturation précoce (15 jours avant le Baroque). Elle est de production moyenne. Elle supporte une conduite de type demi-hautain, car elle présente un degré alcoolique élevé et une acidité faible.

La qualité de son vin sec est appréciée et elle est amélioratrice des vins blancs du Sud-Ouest. C'est une variété d'appellation.

Six implantations expérimentales dans 5 départements lui donnent une extension culturelle de 0 ha 48.

## II - Variétés demandées à l'inscription

### *Basseri (B)*

Créée en 1954, sa première fructification remonte à 1962. Elle provient du croisement Gros manseng par Muscadelle.

Étudiée sur les côtes pyrénéennes jusqu'en 1966, dans la collection initiale et en collection secondaire, elle s'est manifestée rapidement comme une variété alcooligène et d'excellente production. Expérimentée depuis dans le Bassin de l'Adour, l'Armagnac et la Moyenne Vallée de la Garonne, elle continue à présenter les caractères qui ont présidé à son choix.

Sa vendange est facile et sa conservation sur souche est bonne du fait de sa faible sensibilité à la pourriture grise.

Le vin sec est fin et alcoolique et légèrement bouqueté.

Actuellement présente dans 11 implantations expérimentales réparties sur 6 départements, elle subit une rapide extension, particulièrement dans les vignobles du Gers et de la Vallée de la Garonne. Elle recouvre 4 ha 17. Elle se développera.

Une expérimentation de champanisation est en cours.

### *Ederena (R)*

Créée en 1952, elle a fructifié en 1960. Elle provient d'un croisement entre le Merlot Rouge et l'Abouriou.

De maturité deuxième époque, sa productivité élevée et régu-

lière et sa bonne résistance à la pourriture grise l'ont rapidement distinguée tant au cours de l'étude préalable sur les côtes subpyrénéennes, qu'en expérimentation dans le Bassin de l'Adour, le Bordelais et la Moyenne Vallée de la Garonne.

Son vin produit une amélioration nette des vins de table et de certains vins de pays.

Ce vin, racé, a un arôme puissant, long et élégant.

Présente dans 8 départements en 18 implantations expérimentales, Ederena s'étend désormais sur 4 ha 14.

## III - Variétés prochainement demandées à l'inscription

### *Donibane (R)*

Créée en 1954, et fertile en 1963, elle est étudiée en zone pyrénéenne, dans le Bassin de l'Adour et en Moyenne Vallée de la Garonne.

Cette variété, de fertilité moyenne, de deuxième époque de maturité (plus précoce que le Cabernet-franc), donne un vin agréable et apprécié, plus souple et plus fin que celui du Tannat.

Quatre implantations expérimentales dans 3 départements couvrent une superficie de 1 ha 30.

### *Achemoyeta (R)*

Créée en 1955, fertile en 1965, cette variété provient d'un croisement Tannat x Cabernet-franc.

Développée dans le Bassin de l'Adour et la Moyenne Vallée de la Garonne, cette variété fertile de deuxième époque présente de belles grappes, demi-compactes, à pédoncules longs permettant une vendange facile.

Le vin coloré, fin et aromatique, présente de bonnes qualités de conservation.

Cette variété se développe.

---

## THE BREEDING VALUE OF BLACK MONUKKA, PERLETTE, RUBY SEEDLESS AND SULTANINA FOR DRYING PURPOSES

E.P. EVANS - C.J. SMIT

Viticultural and Oenological Research Institute Stellenbosch (Republic of South Africa).

The production of raisins is of considerable importance to many farmers in irrigation areas of the Republic of South Africa. The mean annual production for the 1979 to 1983 seasons was 26 457 (1). The production in 1984 was 32,006 t (2)

Sultanina and Muscat d'Alexandrie are mainly used for the production of raisins because of their excellent drying qualities. Sultanina is by far the most important cultivar. Ninety two per cent of all raisins produced in South Africa are derived from this cultivar (1).

The main production areas are located in the Western and North-western regions of the Cape Province. Although these areas are relatively hot and dry, summer rains occasionally occur during the ripening and harvesting period. These rains cause the berries of Sultanina to split and rot resulting in considerable economic

losses to farmers. This cultivar is also very prone to growth arrestment disease (3). There is therefore a need to develop a Sultanina type of grape which possesses the drying and other desirable qualities of Sultanina.

An important objective of the table grape breeding programme is to breed muscat flavoured, seedless table grapes. This material was also evaluated for its drying potential.

### Material and methods

#### *Selection of seedlings and drying of grapes*

The progeny of certain crosses between the seedless Cultivars Black Monukka, Perlette, Ruby Seedless and Sultanina and the six female parents namely the muscat flavoured cultivars Muscat d'Alexandrie and Erlihane [(Muscat d'Alexandrie x Queen of the Vineyard) x Muscat d'Alexandrie] and the neutral flavoured cultivars Phraoula and selections B13-16, CG 1272 and K7/16-1 were evaluated for their drying potential.

The grapes of the seedlings were screened in the vineyard and only those with reasonably firm texture were selected for drying. Seedlings which produced seeded, coloured grapes were also discarded at this stage as there is no demand for this type of raisin. Three or four clusters per seedling weighing 1,5 kg to 2,5 kg were harvested when the total soluble solids content of the berries had reached 20° Brix. The clusters were dipped into the standard cold lye dip consisting of a 2% Sultanol and 2,5% potassium bicar

bonate solution. Thereafter they were placed on plastic trays and dried in a plastic tunnel. The temperature in the tunnel varied between 35° and 44° C during the drying period. Thermostatically controlled fans set at 45° C were used to extract excessive heat and to prevent caramelisation and puffiness of the raisins. Under these conditions the drying process was completed within 7 to 12 days. The clusters were turned by hand once or twice during this period to ensure even drying of the berries. The dried samples were then stored at -10° to 8 -15°C until winter (May) when they were removed, destalked and evaluated 9 for drying quality.

#### Evaluation of raisins

The quality of the raisin samples was evaluated by two separate panels. A preliminary evaluation to eliminate samples which were of sub-standard quality was conducted by six panelists of the Viticultural and Oenological Research Institute at Stellenbosch. The samples were classified according to raisin size, colour and seededness. Samples which passed this test were finally evaluated by a consumer panel consisting of six members selected from the trade by the Dried Fruit Board. To obtain a percentage score the general impression of the raisins was rated from 1 to 5, taking appearance, texture and palatability into account. The cultivars Sultanina, Perlette, Merbein Seedless and Fiesta were included as standards for comparison.

#### Screening raisins for seed traces

Berry set in seedless cultivars can either be parthenocarpic or stenopericarpic (4). Black Corinth is a typical example of parthenocarpic berry set. In this case pollination stimulus alone is sufficient for berry set; ovule development ceases after bloom and no seeds or seed traces are formed.

The berry development of Sultanina, Perlette and Black Monukka on the other hand is stenopericarpic. Here the ovules are fertilized but abort soon afterwards. The berries of these cultivars however contain rudimentary seeds usually not noticeable in most Sultanina and Perlette grapes but in the case of Black

Monukka they are detectable (5); the seed traces of this cultivar being in the 1 - 2mm category. When breeding seedless table and raisin grapes, the aim is complete seedlessness.

To differentiate between seeded and seedless raisins, the raisins were rolled between thumb and forefinger. Seeded raisins were easily detected using this method. In the case of seedless raisins which contain seed traces similar in size to those of Fiesta or Sultanina, an overhead projector was used to screen the samples. Fifteen raisins per sample were pressed flat between the fingers and placed on the glass platform of the projector. By passing light through the raisins, it was possible to classify the samples according to the size of the seed traces in 1mm (light coloured traces) and 1 - 2mm (dark coloured traces) groups.

## Results and discussion

### Selection pressure

Twenty one per cent of the population i.e. 548 seedlings were considered suitable for drying. After the completion of the initial evaluation only 19 per cent i.e. 104 samples were retained for a more critical evaluation by the consumer panel. Sub-standard samples were discarded because of:

- lack of meatiness, coarsely creased and skinny appearance
- unattractive dull or too dark colour or stickiness.
- excessive seededness or very large seeds.
- a mixture of large seeded and small seedless raisins.
- a mixture of large and small seedless berries.

On completion of the second evaluation by the consumer panel only samples which obtained an overall rating above 50 per cent for appearance, texture and palatability were retained. This reduced the number to 63 selections i.e. 2,4, per cent of the original population.

The number of selections derived from the various crosses and the type of raisins obtained are presented in Tab. 1.

### Breeding value of seedless parents

Perlette exhibited the strongest potency to transmit acceptable

Tab. 1 - Raisin types and number selections with drying potential obtained from seeded x seedless grape crosses: 1983/84 season

Type	Seed <sup>1</sup>	Colour	Perlette x			Sultanina x				Ruby Seedless x	Black Monukka x				
			Muscat d'Alex- andrie	Erli- hane	B13-6	Phrao- ula	Muscat d'Alex- andrie	Erli- hane	CG 1272	K7/16 -1	Muscat d'Alex- andrie	B13-6	Phrao- ula		
1. Courrant	none	white		2				5	1	1					
2. Sultanina	none	white	2	4											
	none	black				1						1			
	trace	white		10			3		1			2			
	trace	black					3					1			
3. Inter- mediate (2)	none	white	1	1											
	trace	white	2	14			1	1				2			
4. Muscat d'Alexandrie	seeded	white			1				1			1			
Total no. promising selections			5	31		4	5	2	3		5	1	6	1	0
Population size			103	712		126	75	457	185		170	190	508	64	21
% Promising/female parent			4,9	4,4		3,2	6,7	0,4	1,6		2,9	0,5	1,2	1,6	0,0
Mean % promising/male parent						4,4					1,1		1,2		1,2

(<sup>1</sup>) none = traces < 1mm  
trace = traces 1 - 2mm

(<sup>2</sup>) < Sultanina and < Muscat d'Alexandrie

drying qualities to its progeny. All crosses in which Perlette was used as pollen parent, produced a higher percentage of seedlings with desirable drying quality than any of the other seedless pollen parents. On an average, Perlette produced three to four times as many promising selections as any of the other combinations. In combination with Muscat d'Alexandrie, Perlette (4,9) produced four times as many seedlings with good drying potential as Ruby Seedless (1,2) did. In comparison with Sultanina, Perlette's potency (4,9) was more than twelve times greater when crossed with Muscat d'Alexandrie (0,4).

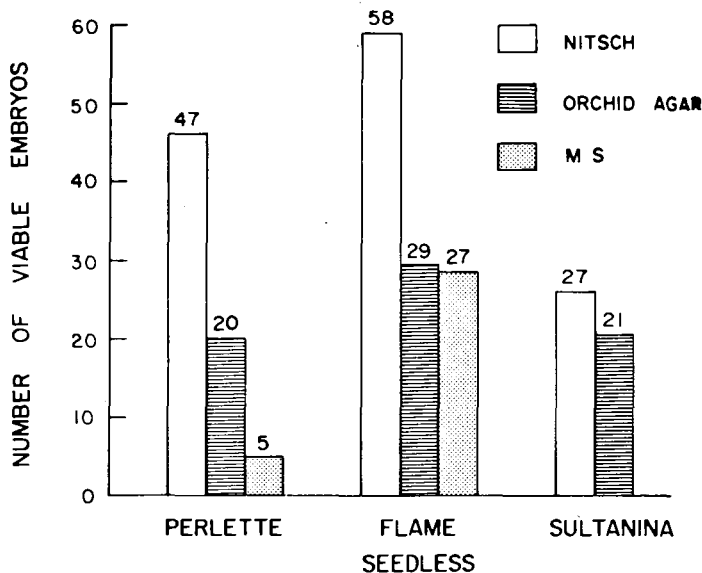
When comparing Perlette and Sultanina as male parents in combination with Erlihane, it is again evident that Perlette (4,4) produced approximately three times more seedlings with satisfactory drying quality than Sultanina (1,6).

The results of the cross CG 1272 x Sultanina were interesting. This should be of significance in a current breeding programme in that many of the seedlings of CG 1272 (ex Rama Caida, Argentine) produced currantsized berries. All the selections with drying potential originating from this combination were white currant types (Tab. 1).

*Quality rating of selection: Sultanina type raisin*

Selections which produced seedless raisins (Group I) or raisins with 1-2mm seed traces (Group II) with a quality rating comparable to that of Sultanina are listed in Tab. 2. Only selections which obtained a rating of 50 per cent or higher were provisionally retained.

The three Sultanina clones H4, H5 and 14/2 were included as standards. The locally selected clone 14/2 which tends to produce uneven sized berries was inferior in quality to the two Australian clones H4 and H5. Recent indications are that H5 is slightly superior



to H4 as a table grape and is preferred in new plantings in South Africa. There is however no significant quality difference between the raisins of clone H4 and H5.

Two cultivars, Merbein Seedless and Fiesta and the selections 12-29-103, G 1-3-40, 12-65-53 and 12-17-53 gained a similar or slightly higher rating than clone H5. In Group II selections 12-16-66, 12-16-65, G 1-14-12, 12-40-60 and 12-28-87 gained a similar or higher rating than clone H5.

Since environmental conditions can influence seed trace development, these selections will be evaluated in various localities within the raisin production areas of the Western and North

Tab. 2 - Quality rating of selections which produce a Sultanina raisin type: 1983/84

Group I Seedless raisins			Group II Raisins with 1 - 2 mm seed traces		
Selection/cultivar	Score (%)	Parentage (a)	Selection/cultivar	Score (%)	Parentage (a)
Merbein Seedless	70		12-6-66	67	3
12-29-103	68	1	12-16-65	66	3
G1-3-40	66	1	G1-14-12	65	1
Fiesta	65		12-40-60	62	8
12-65-53	62	5	12-28-87	62	1
12-17-53	62	2	12-29-56	61	1
Sultanina (H5)	62		12-29-3	59	1
Sultanina (H4)	60		12-27-64	57	1
12-23-44	58	1	12-26-74	58	5
G1-12-13	57	1	12-29-102	58	1
12-17-1	56	2	G1-13-5-2 (b)	58	4
G1-13-12-5 (b)	56	4	12-31-31-	57	1
Sultanina (14/2)	55		12-37-81	56	7
Perlette	54		12-17-55	56	2
12-32-95	52	1	12-41-98 (b)	56	7
12-38-12	50	7	G1-14-4-5 (b)	54	4
			G3-13-45 (b)	50	4
			12-29-18	50	1
			12-37-60	50	7
			12-28-54	50	1
			12-30-88	50	1

- (a) = 1. Erlihane x Perlette  
 2. Muscat d'Alexandrie x Perlette  
 3. B1 = -6 x Perlette  
 4. Phraoula Perlette

5. Erlihane x Sultanina  
 6. Muscat d'Alexandrie x Sultanina  
 7. Muscat d'Alexandrie x Ruby seedless  
 8. Muscat d'Alexandrie x Black Monukka

(b) = black colour

Western Cape Province. They will also be evaluated for their viticultural qualities, such as splitresistance, fertility and yield, ability to dry on the vine and their raisin quality.

## Conclusion

The seedless cultivars Perlette, Sultanina, Ruby Seedless and Black Monukka used as pollent parents in a breeding programme, different in their potency to transmit their raisin quality to their progeny. Perlette exhibited a marked potency to produce a larger number of seedlings possessing good raisin quality than any other pollen parent. Perlette should therefore be a most valuable pollen parent in a raisin grape breeding programme.

The majority of the seedling progeny of the Argentinian selection CG 1272 produced currant-sized berries. This selection should be a useful parent in a currant breeding programme.

## Acknowledgements

We thank Messrs. G.J.J. Albertse, P.J. Ellis, P.W. Smit and W.A.K. Agenbag for technical assistance rendered.

## LITERATURE CITED

1. Anon. (198 =) - *Forty fifth annual report*: Dried Fruit Board, P.O. Box 522, Wellington. Republic of South Africa, 30.
2. Viljoen D.C. (1985) - Personal communication (Dried Fruit Board).
3. Saayman D. (1983) - *Investigations into the causes and control of the growth arrestment phenomenon of Sultana*. 1. Symptoms and survey results. S. Afr. J. Enol. Vitic. 4(1), 21-26.
4. Winkler A.J. Cook J.A. Kliever M.W. & Lider L.A. (1974) - *General Viticulture*. Univ. Calif. Press, Berkeley.
5. Christensen P.L. Ramming D. & Andris H. (1983) - *Seed trace content of Fiesta grapes*. Am. J. Enol. Vit. 34(4), 257-259.

## SUMMARY

### THE BREEDING VALUE OF BLACK MONUKKA, PERLETTE, RUBY SEEDLESS AND THOMPSON SEEDLESS FOR DRYNG PURPOSES

*The production of dried grapes is of considerable importance to many farmers in the Republic of South Africa. The average yearly production for the 1979-1984 season was 26,870 metric tons.*

*Although Thompson Seedless (Sultanina) and Muscat of Alexandria are still mainly used for drying purposes due to their excellent drying quality, the berries of Thompson Seedless are prone to split at times, whereas Muscat of Alexandria generally lacks vigour which in turn affects the yield.*

*In an effort to develop seedless table grape cultivars for the local and export market, the seedless cultivars Black Monukka, perlette, Ruby Seedless and Thompson Seedless were hybridized with two muscat flavoured cultivars and four neutral flavoured cultivars and selections. The progeny of these crosses was screened to establish the drying potential of the seedlings of the various combinations. Preliminary results indicate that Perlette produced four times as many seedlings possessing satisfactory drying quality as all the other crosses combined. During the 1983/84 season twelve seedless selections and sixteen selections possessing trace seeds (1-2 mm) obtained a rating comparable to that of Merbein Seedless, Fiesta, Perlette and Thompson Seedless. Five promising drying types originating from the cross CG 1272 x Thompson Seedless were all currant types. Selection CG 1272 appears to be a valuable parent for breeding improved currant types.*

## ESTIMATES OF GENETIC VARIANCES AND HERITABILITIES USING A SIB ANALYSIS (N.C.M.2) IN VITIS VINIFERA

G. FANIZZA

Institute of Plant Breeding - University of Bari (Italia)

Information of the mode of inheritance of quantitative characters should be available before proceeding with the formulation of appropriate breeding strategies. Selection within a population is futile when there is no genetic variances for the character to improve. The relative long time of a fruit tree breeding program urges the breeder to know the nature and the relative magnitude of genetic variance components (additive, dominance, etc.) in the population in order to predict the effects of breeding procedures on the rate of progress in the species. Genetic studies in fruit trees have been made using mid-parent offspring regression by Hansche in cherry (1966), peach (1972), walnut (1972), plum (1975) and Kester in almond (1977). There are few formal quantitative genetic studies in grapes (Golodriga, 1978; Spiegel Roy, 1980; Fanizza 1973, 1978) based on the estimate of heritability in broad sense or by regression analyses. Reports on the estimates of variance components (additive, dominance) are rare in grapes. The present study was conducted to obtain information on the magnitude of genetic variance components (additive, dominance) in white and red wine grapes in order to select the appropriate breeding methods in *Vitis vinifera*.

## Materials and Methods.

Two factorial crosses were conducted in the 1974 and 75. The first one consists of 5x5 crosses among red wine grapes, the parents are Malvasia Nera, Montepulciano, Negrara, Primitivo, Sangiovese (as female parent) and Aglianico, Barbera, Negro Amaro, Ruby Cabernet, Rubired (as male parent).

The second one consists of 5x4 crosses among white wine grapes; the parents are French Colombard, Pinot Blanc, Riesling Italico, Verdeca, T8-48 (as female) and Bianco di Alessano, Bombino Bianco, Malvasia Bianca, Trebbiano Toscano (as male). Each cross consists of 150 seedlings, 15 of them were planted at 0,70 m apart within a row (2 m between rows) and replicated 10 times in a completely randomized block design. Measurements were taken on 1000 wines (10 random plants for each plot) for the following characters: time of bud burst (days), time of blooming (days), time of veraison (days), mean cluster weight per plant (gr), cluster number per plant, yield weight per plant (kg), refractometer soluble solids, pruning brush weight per plant (kg) over 3 years (1980-81-82). The presence of year climatic differences produces variability in the traits measured, which might reduce the precision of variance component estimates. The adjustment of year affect through the least squares method, suggested by Henderson (1953), could not be adequate because the fixed effected of a given year might not be identified; therefore the data used for this analysis refer to one year (1982) which is considered representative of the climatic condition of South Italy.

The sib analysis model used to estimate the variance components is reported in Tab. 1 and it refers to the Nort Carolina Model 2 (N.C.M. 2) mating design given by Comstock and Robinson (1984). The violation of the assumption of quantitative theory (diploid inheritance, random mating, etc) in the mating design has

been studied by Hogarth (1977) in sugar cane. He concluded that the mentioned violations have not a serious effect on the estimate of genetic components. The male component variance ( $\sigma_m^2$ ) and the female component ( $\sigma_f^2$ ) obtained from the N.C.M. 2 analysis contains  $\frac{1}{4}$  of additive variance ( $\sigma_A^2$ ) while the interaction components  $\sigma_{mxf}^2$  contains  $\frac{1}{4}$  of dominance variance ( $\sigma_D^2$ ). The heritability was computed

$$h^2 = \frac{2(\sigma_m^2 + \sigma_f^2)}{\sigma_m^2 + \sigma_f^2 + \sigma_{mxf}^2 + \sigma_e^2}$$

According to Kempthorn (1957) tests of significance on variance components have little use because statistician have not developed such a test for general situation. The important question is the magnitude of each component relative to the others and the importance of this magnitude in the type of work one is doing. However it is desirable that the standard errors of estimated components of variance be available because of sampling errors. In this work it has been used for the calculation of standard error of variance components and of heritabilities the method of Comstock and Moll (1963).

## Results and Discussion

The model of analysis of variance applied in this work provides to test the significance of genotype differences and to estimate the two most important genetic parameters namely additive variance ( $\sigma_A^2$ ) and dominance variance ( $\sigma_D^2$ ).

In the analysis of white wine grape crosses (Tab. 2), both male and female mean squares were significant for all traits. This suggests that there is a significant variation among parents. The male

Tab. 1 - Form of sib analysis (N.C.M. 2) and mean square expectations

Source of variations	df	Mean square expectations
Male	m-1	$\sigma_e^2 + n\sigma_{mxf}^2 + fn\sigma_m^2$
Female	f-1	$\sigma_e^2 + n\sigma_{mxf}^2 + mn\sigma_f^2$
Male x Female	(m-1)(f-1)	$\sigma_e^2 + n\sigma_{mxf}^2$
Residual	(mf)(n-1)	$\sigma_e^2$

Tab. 2 - Mean (X) and mean squares of sib analysis (N.C.M. 2) for each character in white wine grapes

Source	df	Mean squares							
		Bud burst (days)	Blooming (days)	Veraison (days)	Cluster weight (gr)	Cluster Number	Yield weight (kg)	Refractometer Solids	Bush weight (kg)
Male	3	253.5*	567.2**	1631.2**	205.9*	404.1*	1695.2*	115.5*	384.1**
Female	4	223.4*	350.2*	923.3**	184.9*	323.2*	1845.1*	116.5**	391.0**
Male X Female	12	43.5**	82.2**	131.2**	40.8*	79.3**	445.1**	20.5**	59.1**
Residual	3980	3.5	4.2	19.1	0.9	6	15.1	0.5	6.2
X	33 ± 0.5	87 ± 0.9	156.3 ± 10	244.0 ± 0.9	4.38 ± 0.03	1.20 ± 0.05	19.9 ± 0.3	0.5 ± 0.30	

\* P ≤ 0.05

\*\* P ≤ 0.01

x female mean square were highly significant for all characters, an indication of the presence of dominance variance.

Tab. 3 shows the same significant variation in the red wine grapes except for number of cluster and yield in the female parents.

Estimates of variance components in white wine grapes (Tab. 4) show that a) both additive and dominance variance are present in some traits (time of bud burst, time of blowing, mean cluster weight and refractometer soluble solids); b) some traits (veraison) or high dominance variance and low additive variance (yield weight); c) some traits present different value in the female ( $\sigma_f^2$ ) and male ( $\sigma_m^2$ ) components of variance (time of blooming, veraison, yield weight, pruning bush weight), which indicate some maternal effect.

Heritability estimates of white wine grapes (Tab. 4) are high for some characters (refractometer soluble solids and cluster weight), which suggest the presence of additive variance, and low for other characters (veraison and cluster number), due to high environmental variance.

The estimates of variance components of red wine grapes (Tab. 5) present almost the same values as the white wine grapes, which suggest that red and white wine grapes have the same genetic property.

The additive and/or dominance variances that are present in these two factorial crosses lead to speculate on the breeding methods to use in wine grapes.

The additive variances, in some traits, indicate the effectiveness of selecting parents on the basis of their performance and their subsequent mating inter se. The presence of dominance variances, in other traits, indicate the use of more complex methods such as that employ inbreeding and crossing (hybrids or recurrent selections).

The recurrent selection appears to be a more appropriate breeding procedure because it avoids intensive inbreeding, which produces a depressed reproductive effect in grapes.

However the use of this method or other methods which employ some inbreeding present some practical and theoretical problems. In particular they are more expensive and time consuming than the methods based on selection and crossing. In fact they require a lot of space to grow a large number of seedlings because of inbreeding effects and they will increase significantly the length of the inbreeding program because of selfing generations.

In addition to the practical problem, there are some theoretical ones such as a) violations of the assumptions of quantitative inheritance, some of them have been found in this analysis (maternal effect), b) the efficiency of matign design in estimating the dominance variance; according to Singh (1979), the N.C.M.2 is more efficient to estimate additive variance than dominance variance; c) the direction of dominance, which is very important because if some genes are dominant in one direction and some

Tab. 3 - Mean and mean squares of sib analysis (N.C.M. 2) for each character in red wine grapes

Source	df	Mean squares							
		Bud burst (days)	Blooming (days)	Veraison (days)	Cluster weight (gr)	Cluster Number	Yield weight (kg)	Refractometer Solids	Bush weight (kg)
Male	4	236.1*	356.2*	1636.1**	100.7**	285.3**	1801.2*	128.6**	354.6**
Female	4	281.2*	521.2**	1038.0**	75.6*	115.2	1551.1	103.5*	304.0**
Male X Female	16	56.0**	71.3**	137.1**	15.8**	45.1**	501.2**	23.4**	54.2**
Residual	3724	4.1	5.2	24.0	0.7	5	11.1	0.6	4.2
X		31 ± 0.8	85.6 ± 10	152.8 ± 0.9	188.2 ± 0.8	4.7 ± 0.07	1.91 ± 0.08	20.3 ± 0.8	0.52 ± 0.02

\* P ≤ 0.05

\*\* P ≤ 0.01

Tab. 4 - Estimates of variance components and heritabilities from sib analysis (N.C.M. 2) for each character in white wine grapes

$$(\sigma_m^2 = \sigma_f^2 = \frac{1}{4} \sigma_A^2; \sigma_{mxf}^2 = \frac{1}{4} \sigma_D^2)$$

Components	Bud Burst (days)	Blooming (days)	Veraison (days)	Cluster weight (gr)	Cluster Number	Yield weight (kg)	Refractometer solids	Bush weight
$\sigma_m^2$	0.42 ± 0.09	0.97 ± 0.21	3.0 ± 0.4	0.33 ± 0.04	0.65 ± 0.15	2.5 ± 0.60	0.19 ± 0.04	0.65 ± 0.12
$\sigma_f^2$	0.45 ± 0.15	0.67 ± 0.15	1.9 ± 0.21	0.36 ± 0.08	0.61 ± 0.09	3.5 ± 0.22	0.24 ± 0.05	0.83 ± 0.09
$\sigma_{mfx}^2$	0.40 ± 0.05	0.78 ± 0.08	1.12 ± 0.16	0.40 ± 0.01	0.73 ± 0.21	5.6 ± 0.82	0.20 ± 0.08	0.53 ± 0.08
$h^2$	0.36 ± 0.03	0.49 ± 0.08	0.29 ± 0.06	0.65 ± 0.07	0.31 ± 0.03	0.47 ± 0.09	0.76 ± 0.1	0.37 ± 0.06

Tab. 5 - Estimates of variance components and heritabilities from sib analysis (N.C.M. 2) for each character in red wine grapes

$$(\sigma_m^2 = \sigma_f^2 = \frac{1}{4} \sigma_A^2; \sigma_{mxf}^2 = \frac{1}{4} \sigma_D^2)$$

Components	Bud Burst (days)	Blooming (days)	Veraison (days)	Cluster weight (gr)	Cluster Number	Yield weight (kg)	Refractometer solids	Bush weight
$\sigma_m^2$	0.36 ± 0.05	0.57 ± 0.09	2.9 ± 0.31	0.17 ± 0.03	0.48 ± 0.11	2.6 ± 0.4	0.21 ± 0.04	0.06 ± 0.21
$\sigma_f^2$	0.45 ± 0.09	0.90 ± 0.18	1.7 ± 0.24	0.12 ± 0.04	0.14 ± 0.03	2.1 ± 0.15	0.16 ± 0.03	0.5 ± 0.18
$\sigma_{mfx}^2$	0.52 ± 0.15	0.66 ± 0.11	1.13 ± 0.18	0.15 ± 0.02	0.40 ± 0.08	4.2 ± 0.90	0.23 ± 0.05	0.5 ± 0.21
$h^2$	0.29 ± 0.08	0.41 ± 0.06	0.31 ± 0.06	0.50 ± 0.03	0.21 ± 0.01	0.51 ± 0.11	0.67 ± 0.03	0.39 ± 0.06

others in other direction the dominance effect is cancelled out. Thus it must have caution before applying a method that exploits the dominance variance in *Vitis vinifera*.

In any case the solution for the choice of a wine grape breeding method depends not only on practical consideration but, in particular, on the utilization of appropriate statistical procedures that give a correct use and interpretation of the estimates of variance components and heritabilities.

#### LITERATURE CITED

Comstock R.E. and Robinson H.F., (1948) - *The components of genetic variance in populations*. Biometrics, 4: 254-66.  
 Comstock R.E. and Moll R.H., (1963) - *Genotype-environment interactions*, pp. 164-196 in *Statistical Genetics and Plant Breeding*, NAS-NCR 982, Washington, D.C.  
 Fanizza G. and Raddi P., (1973) - *The heritability of fruit ripening data in Vitis vinifera* Vitis, 12: 93-96 (1973).  
 Fanizza G. and Della Gatta C., (1978) - *Stima delle componenti della varian-*

*za e dell'ereditabilità di alcuni caratteri in Vitis vinifera*. Vignevini, 5: 23-24.  
 Golodriga P.I. and Trochine L.P., (1978) - *Héritabilité des caractères quantitatifs chez la vigne*. II. Symp. Int. Amélioration de la Vigne, Bordeaux, INRA: 113-117.  
 Hansche P.E., Beres V. and Brook R.M., (1966) - *Heritability and genetic correlation in sweet cherry*. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 88: 173-83.  
 Hansche P.E., Beres V. and Forde H.I. (1972) - *Estimates of quantitative genetic properties of walnut and their implications for cultivar improvement*. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 97: 279-85.  
 Hansche P.E., Hesse C.O. and Beres V. (1972) - *Estimates of genetic and environmental effects on several traits in peach* J. Amer. Soc. Hort. Sci., 97: 76-79.  
 Henderson C.R. (1953) - *Estimation of variance and covariance components*. Biometrics, 9: 226-252.  
 Hogarth D.M. (1977) - *Quantitative inheritance studies in sugarcane. The effect of competition and violation of genetic assumptions on estimation of genetic variance components*. Aust. J. Agr. Res., 28: 257-68.  
 Kempthorn O. (1957) - *An introduction to genetic statistics*. John Wiley and Sons Inc., New York.  
 Kester D.E., Hansche P.E., Beres V. and Asay R.N. (1977) - *Variance com-*

ponents and heritability of nut and kernel traits in almonds. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 102(3): 264-66.  
Singh S. (1979) - Relative efficiency of North Caroline Design I and II and Standard Design III in three wheat crosses - Theor. Appl. Genet., 54:

33-35.  
Spiegel-Roy P., Assaf R. and Baron I. (1980) - Inheritance of some characters in progenies of *Vitis vinifera* from crosses with Dabouki and Alphonse Lovallée. Proc. III Int. Symp. Grape Breeding, 210-19.

## SUMMARY

### ESTIMATES OF GENETIC VARIANCES AND HERITABILITIES USING A SIB ANALYSIS (N.C.M.2) IN VITIS VINIFERA

The North Caroline Model 2 mating design has been applied in white and red wine grape crosses to estimate the additive and dominance variance in order to select the appropriate breeding method in *Vitis vinifera*.

The presence of additive and/or dominance variance in this work suggests to use, for some traits, methods which exploit additive variance (selection of parents and subsequent mating inter se) and, for other traits, where dominance variance is present, methods that employ inbreeding and crossing (hybridis or recurrent selection).

However some violation of the assumption of quantitative inheritance (maternal effect), the efficiency of mating design to estimate the dominance variance and some practical problems (time and space required when some inbreeding is applied) suggests to use caution before applying methods that exploit dominance variance.

## PREMIERS RESULTATS D'UN PROGRAMME D'AMELIORATION GENETIQUE DE LA VIGNE DANS LE SUD DE L'ESPAGNE

A. GARCÍA DE LUJÁN - J.M. BUSTILLO - M. MORALES - M. LARA

Station Expérimentale Rancho la Merced- Jerez de la Frontera (Espagne).

### 1. Introduction

Les travaux dans le domaine de la génétique ont permis de résoudre de nombreux problèmes en viticulture, surtout au cours du siècle dernier, et ont apporté des solutions du plus haut intérêt pour le viticulteur. Dans divers centres et institutions viticoles du monde entier, on a mis au point des programmes d'amélioration de la vigne, grâce auxquels on a prétendu résoudre des situations ou des cas qui affectaient la culture de la vigne.

Dans notre Station de Jerez, située à l'extrême sud de l'Espagne, on a réalisé des travaux génétiques sur la vigne depuis 1943, afin de contribuer à une amélioration de la culture et d'apporter des solutions à certains problèmes particuliers à la zone de production en question. Ainsi, on a obtenu plusieurs porte-greffes nouveaux, à partir du matériel qui existait déjà, dans le but de trouver des variétés résistantes au calcaire. Le vignoble du Jerez est planté pour sa plus grande part sur un type de terrain connu comme «albariza», calcaire, et où les problèmes de chlorose sont fréquents. Comme résultat de ces travaux, on peut citer la création du porte-greffe 13-5 *evex*, qui s'adapte très bien aux terrains calcaires, et dont l'utilisation est de plus en plus étendue en Espagne, surtout dans la région du Jerez, où il peut surpasser le 41-B. Il y a aussi d'autres porte-greffes, provenant également du Berlandieri Resseguier n° 2, qui actuellement sont l'objet d'études à une échelle significative.

Au cours de ces mêmes années, on a également effectué une série de croisements entre les variétés vinifères locales les plus intéressantes comme les Palomino, Pedro Ximénez, Canocazo et Garrido pour essayer d'obtenir de nouvelles variétés qui apporteraient une amélioration à la viticulture locale. Quoiqu'on ait pu observer dans le cas de certains descendants de bons résultats, comme Horquilla (Pedro Ximénez x Canocazo 3), Redora (Pedro Ximénez x Palomino 17), Pajolera (Palomino x Pedro Ximénez 93) etc.,

elles ne sont pas utilisées de façon généralisée par les viticulteurs.

Plus tard, à partir de 1971, on a mis en marche un programme d'amélioration génétique destiné à l'obtention de nouvelles variétés de *Vitis vinifera*. Le but de cette communication est de présenter les résultats obtenus jusqu'à aujourd'hui.

### 2. Principaux objectifs

Dans le programme développé, dans le cadre de *Vitis vinifera*, il convient de considérer séparément ce qui concerne l'amélioration du raisin de cuve et ce qui concerne l'amélioration du raisin de table.

Pour ce qui est du raisin de vinification, le but recherché a été essentiellement d'obtenir de nouvelles variétés adaptées à la zone du Jerez et d'une teneur en sucre supérieure à celle des variétés qui sont utilisées habituellement.

Quant au raisin de table, à partir des variétés les plus intéressantes, on a voulu obtenir des individus de valeur, du point de vue production, goût, aspect, absence de pépins, etc.

### 3. Matériel utilisé

#### 3.1. Raisin de cuve.

Le programme d'amélioration a consisté à croiser des variétés dont les caractéristiques étaient intéressantes pour le but que l'on poursuivait. On en a sélectionné un certain nombre qui avaient une haute teneur en sucre ou un bon comportement dans les conditions spécifiques du milieu. Les croisements se sont réalisés entre les variétés que nous citons ci-dessous, indiquant leur production et Baumé sur douze années de contrôle dans notre collection, où a été choisi le matériel pour les croisements.

Cépages	Kg/souche	Baumé
Admirable de Courtiller	4,37	10,60
Alarije	5,65	10,52
Albaras	6,30	9,55
Aléatico	3,60	12,44
Allarén	4,71	12,51
Blanca de Daroca	6,31	11,90
Cardinal	5,26	13,84
Delizia di Vaprio	5,11	12,92
Emberous Traube	3,70	11,97
Garnacha	4,39	12,38
Jaumín	3,50	12,78
Luglienga blanca	2,36	11,12



Macabeo	5,82	10,87
Magdalena real	2,46	14,23
Malvar	4,86	12,24
Meslier	2,07	13,53
Moscatel de Hamburgo	4,17	12,60
Navarre de la Dordogne	3,20	12,36
Olivette blanca	2,58	11,78
Palomino	4,74	10,76
Perla de Csaba	2,33	13,52
Pinot Saint Laurent	1,70	13,23
Portuato	5,94	10,27
Puya de gallo	2,16	12,13
Rosaki	2,78	11,24
Sauvignon	3,94	12,09
Semillón	4,27	11,81
Sultanina	1,59	13,64
Treixadura blanca	4,70	12,71
Valenci blanco	5,56	10,07
Villardiel	3,42	12,02

On a obtenu un total de 974 individus, dont 135 sont actuellement sous contrôle.

### 3.2. Raisin de table.

Les variétés utilisées pour les différents croisements sont les suivantes: Argelina, Cardinal, Italia, Opale, Puya de gallo, Sultanina, Torralba, Delizia di Vaprio, Perlette y Moscatel.

On a obtenu 549 individus, dont 70 sont actuellement contrôlés.

## 4. Résultats obtenus

### 4.1. Raisin de cuve

Après plusieurs années de contrôle des nouvelles variétés, se distingue une série d'entre elles, soit par l'importante teneur en sucre du moût, soit par la production, et, en général par l'ensemble de leur comportement. Les caractéristiques les plus intéressantes de ces variétés, ainsi que celles de leurs progéniteurs sont:

#### 4.1.1. Production et Baumé

Nous indiquons tout d'abord les résultats des nouvelles variétés et de leurs progéniteurs qui sont sous contrôle depuis six ans (1979-84):

Cépages	kg/souche	Baumé
Rosario (Jaumín x Palomino 2)	2,51	15,73
Marimanta (Palomino x Navarre 3)	2,32	15,00
Medina (Palomino x Cardinal 12)	4,73	14,38
Marquesa (Palomino x Admirable 8)	2,55	14,19
Cardinal	4,89	13,91
Galana (Blanca de D. x Palomino 6)	2,93	13,68
Petaca (Palomino x Allarén 16)	2,72	13,28
Palén (Palomino x Allarén 21)	3,36	13,17
Sonora (Olivette b. x Palomino 3)	4,01	13,08
Maera (Treixadura b. x Palomino 49)	2,94	13,07
Jaumín	3,86	12,55
Corredera (Palomino x Cardinal 4)	5,65	12,35
Navarre de la Dordogne	3,32	11,75
Allarén	4,89	11,59
Blanca de Daroca	7,63	11,02
Olivette blanca	1,71	10,71
Treixadura blanca	5,19	10,68
Palomino	4,69	10,57
Admirable de Courtiller	3,97	9,88

La vendange pour ces variétés, sauf quelques cas isolés, se réalise toujours à la même époque, aux alentours du 10 septembre. Il convient de souligner l'influence des années de sécheresse (1981-83) quant aux valeurs obtenues.

Plus récemment, nous avons procédé à de nouveaux croisements, effectuant une sélection plus rigoureuse des progéniteurs grâce à une meilleure connaissance de leur comportement sur un laps de temps plus prolongé.

Nous donnons ci-dessous les résultats obtenus avec les nouvelles variétés les plus remarquables ainsi qu'avec leurs progéniteurs. Nous soulignerons cependant que ces résultats ne portent que sur trois ans (1982-84), et qu'ils doivent donc être considérés comme provisoires.

Cépages	kg/souche	Baumé
Palomino x Olivette 6	2,66	13,43
Palomino x Sultanina 1	2,48	13,43
Magdalena x Palomino 5	3,06	13,33
Sultanina	1,88	13,33
Palomino x Allarén 25	4,50	13,23
Palomino x Macabeo 5	2,86	13,18
Navarre x Palomino 1	3,00	13,17
Valenci b. x Palomino 22	3,00	13,06
Palomino x Villardiel 19	4,17	13,01
Aleático	1,85	12,90
Blanca de D. x Palomino 5	4,67	12,63
Malvar x Palomino 5	2,91	12,63
Palomino x Albaras 2	4,17	12,56
Palomino x Aleático 3	4,98	12,53
Palomino x Magdalena 27	4,61	12,53
Palomino x Villardiel 23	4,05	12,53
Blanca de D. x Palomino 33	3,33	12,50
Treixadura b. x Palomino 25	3,59	12,47
Navarre de la Dordogne	3,32	11,87
Villardiel	3,75	11,75
Allarén	3,80	11,57
Blanca de Daroca	7,13	11,40
Magdalena real	2,47	11,35
Olivette blanca	1,74	11,08
Malvar	4,13	10,00
Palomino	4,13	10,52
Treixadura blanca	3,60	10,17
Macabeo	5,15	9,93
Albaras	5,53	9,37
Valenci blanco	6,00	7,70

#### 4.1.2. Phénologie.

Les valeurs phénologiques de ces nouvelles variétés et de leurs progéniteurs sont les suivantes:

Cépages	Date de débourre- ment	Date de floraison	Date de véraison
Admirable de Courtiller	14/3	17/5	18/7
Albaras	17/3	21/5	26/7
Aleático	22/3	26/5	20/7
Allarén	3/3	11/5	14/7
Blanca de Daroca	18/3	22/5	27/7
Blanca de D. x Palomino 5	25/3	19/5	16/7
Blanca de D. x Palomino 33	15/3	21/5	22/7
Cardinal	16/3	19/5	4/7
Corredera (Pno. x Cardinal 4)	16/3	15/5	10/7
Galana (Blanca de D. x Pno.6)	16/3	20/5	9/7
Jaumín	16/2	11/5	3/7
Macabeo	19/3	24/5	27/7
Maera (Treixadura b. x Pno.49)	25/3	25/5	15/7
Magdalena real	21/3	9/5	2/7

Magdalena real x Palomino 5	8/3	10/5	10/7	Palomino x Magdalena real 27	12/3	10/5	7/7
Malvar	15/3	23/5	27/7	Palomino x Olivette 6	19/3	22/5	7/7
Malvar x Palomino 5	22/3	19/5	19/7	Palomino x Sultanina 1	12/3	20/5	9/7
Marimanta (Pno. x Navarre 3)	21/3	21/5	4/7	Palomino x Villardiel 19	19/3	24/5	23/7
Marquesa (Pno. x Admirable 8)	16/3	22/5	31/6	Palomino x Villardiel 23	18/3	25/5	29/7
Medina (Pno. x Cardinal 12)	18/3	19/5	6/7	Petaca (Palomino x Allarén 16)	15/3	22/5	10/7
Navarre de la Dordogne	20/3	24/5	22/7	Rosario (Jaumín x Palomino 2)	27/2	12/5	3/7
Navarre de la D. x Pno 1	25/3	24/5	30/7	Sonora (Olivette x Palomino 3)	18/3	19/5	10/7
Olivette blanca	11/3	21/5	17/7	Sultanina	3/3	21/5	21/7
Palén (Palomino x Allarén 21)	12/3	16/5	10/7	Treixadura blanca	19/3	21/5	25/7
Palomino	23/3	22/5	19/7	Treixadura b. x Palomino 25	12/3	15/5	11/7
Palomino x Albaras 2	18/3	16/5	7/7	Valencí blanco	18/3	24/5	31/7
Palomino x Aleático 3	17/3	16/5	24/7	Valencí b. x Palomino 22	19/3	21/5	22/7
Palomino x Allarén 25	15/3	15/5	12/7	Villardiel	22/3	25/5	25/7
Palomino x Macabeo 5	19/3	13/5	7/7				

Code OIV	Caractères	Variétés	Corredera	Galana	Maera	Marimanta	Marquesa	Medina	Palén	Petaca	Rosario	Sonora
001	{ Jeune rameau: forme de l'extrémité. 3, fermée/ 5, demi-ouverte/ 7, ouverte		7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
003	{ Jeune rameau: intensité de la pigmentation anthocyanique de l'extrémité. 1, nulle ou très faible/ 3, faible/ 5, moyenne/ 7, forte/ 9, très forte.		1	3	5	5	3	3	3	5	5	5
004	{ Jeune rameau: densité des poils couchés de l'extrémité. 1, nulle ou très faible/ 3, faible/ 5, moyenne/ 7, forte/ 9, très forte.		5	5	5	5	3	5	5	5	3	5
011	{ Rameau: densité des poils dressés des noeuds. 1, nulle ou très faible/ 3, faible/ 5, moyenne/ 7, forte/ 9, très forte.		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
016	{ Vrilles: distribution sur le rameau. 1, discontinue (2 ou moins)/ 2 subcontinue ou continue (3 ou plus).		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
065	{ Feuille adulte: taille. 1, très petite/ 3, petite/ 5, moyenne/ 7, grande/ 9, très grande.		7	5	7	7	5	7	7	5	5	5
068	{ Feuille adulte: nombre de lobes. 1, feuille entière/ 2, trois/ 3, cinq/ 4, sept/ 5, plus de sept.		3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
076	{ Feuille adulte: forme des dents. 1, à côtés concaves/ 2, à côtés rectilignes 3, à côtés convexes/ 4, un côté concave, un côté convexe.		3	3	3	3	3	3	3	3	3	2
079	{ Feuille adulte: forme du sinus pétiolaire. 1, très largement ouvert/ 2, très ouvert/ 3, ouvert/ 4, peu ouvert/ 5, fermé, 6, à lobes légèrement chevauchants/ 7, à lobes chevauchants/ 8, à lobes très chevauchants.		5	4	3	2	3	4	4	3	3	3
084	{ Feuille adulte: densité des poils couchés entre les nervures (face inférieure). 1, nulle ou très faible/ 3, faible/ 5, moyenne 7, forte/ 9, très forte.		3	5	3	3	1	3	5	7	3	5
085	{ Feuille adulte: densité des poils dressés entre les nervures (face inférieure). 1, nulle ou très faible/ 3, faible/ 5, moyenne 7, forte/ 9, très forte.		3	1	5	3	3	3	5	3	1	3
151	{ Inflorescence: sexe de la fleur. 1, mâle/ 2, mâle à hermaphrodite/ 3, herma- phrodite/ 4, femelle à étamines érigées/ 5, femelle à étamines réflexes.		3	3	3	5	3	3	3	3	5	3
202	{ Grappe: taille 1, très petite/ 3, petite/ 5, moyenne/ 7, grosse/ 9, très grosse.		7	7	5	5	5	5	3	7	3	5
206	{ Grappe: longueur du pédoncule. 1, très court/ 3, court/ 5, moyen/ 7, long/ 9, très long.		3	3	3	3	3	3	3	3	3	1

Code OIV	Caractères	Variétés	Corredera	Galana	Maera	Marimanta	Marquesa	Medina	Palén	Petaca	Rosario	Sonora
220	Baie: grosseur. 1, très petite/ 3, petite/ 5, moyenne/ 7, grosse/ 9, très grosse.		5	5	5	5	5	5	3	5	5	5
223	Baie: forme. 1, aplatie/ 2, légèrement aplatie/ 3, arrondie 4, elliptique courte/ 5, ovoïde/ 6, troncovoïde/ 7, obovoïde/ 8, cylindrique 9, elliptique longue/ 10, arquée.		3	2	4	2	4	3	4	4	3	3
225	Baie: couleur de l'épiderme 1, vert-jaune/ 2, rose/ 3, rouge/4, rouge-gris/ 5, rouge foncé-violet/ 6, bleu-noir/ 7, rouge-noir		1	1	1	1	1	4	1	1	1	1
230	Baie: coloration de la pulpe. 1, non colorée/ 2, colorée.		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
236	Baie: particularité de la saveur. 1, aucune/ 2, goût muscat/ 3, goût foxé/ 4, goût spécial		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
241	Baie: présence de pépins. 1, absents/ 2, rudimentaires/ 3, présents		3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
244	Baie: cannelures transversales sur la face dorsale des pépins. 1, absentes/ 2, présentes.		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

#### 4.1.3. Ampélographie.

Nous avons procédé à la description ampélographique de certaines des nouvelles variétés, selon les normes de l'OIV sur la base de 21 caractères. Pour les dix premières (sous six années de contrôle), les descriptions sont les suivantes:

#### 4.2. Raisin de table.

Nous avons actuellement sous contrôle 70 variétés nouvelles de raisin de table, mais nous ne disposons pas encore de résultats représentatifs susceptibles d'être présentés dans cette communication. Ces variétés sont encore en phase de formation de leurs ceps sur le terrain d'étude et de contrôle.

#### 5. Analyse des résultats.

Dans le premier groupe de variétés sélectionnées obtenues par croisement, on observe de façon générale qu'elles donnent une plus grande quantité de sucre que leurs progéniteurs. Entre tous les progéniteurs utilisés, la seule variété qui pratiquement a une teneur en sucre supérieure aux nouveaux individus est la variété Cardinal.

Il convient de souligner la haute teneur en sucre de nouvelles variétés Rosario, Marimanta, Medina et Marquesa, qui atteint plus de 14 degrés Baumé; aucun des progéniteurs de ces variétés n'obtient un contenu en sucre aussi élevé. Par contre, elles n'ont pas une grande productivité, exception faite de Medina qui offre une production de raisin notable (4,73 kg. par souche) si on la compare aux autres.

Les nouvelles variétés obtenues ne présentent pas dans l'ensemble, un niveau de productivité de raisin supérieur à celui de leurs progéniteurs. Cependant certaines d'entre elles, outre qu'elles possèdent un degré Baumé élevé, donnent une production de raisin de plus de 4 kg. par souche. Nous citerons les variétés Corredera, Medina et Sonora.

Toutes les nouvelles variétés obtenues dépassent en Baumé la variété Palomino, variété qui s'adapte très bien à la région de Jerez. Cependant, seules la Medina et la Corredera obtiennent des niveaux de production supérieurs.

Nous soulignerons que les variétés Rosario et Marimanta sont pourvues d'une fleur féminine, avec des étamines réflexes. Ce sont celles qui donnent le degré Baumé le plus haut et la production de raisin la plus basse.

Si on analyse le second groupe des variétés nouvelles - celles qui ne sont sous contrôle que depuis trois ans - on apprécie aussi, dans l'ensemble, une augmentation du Baumé dans le moûts obtenus des nouveaux individus par rapport à leurs progéniteurs.

Sont particulièrement remarquables les Palomino x Olivette 6, Palomino x Sultanina 1, Magdalena real x Palomino 5, Palomino x Allarén 25, Palomino x Macabeo 5, Navarre de la Dordogne x Palomino 1, Valenci blanco x Palomino 22 y Palomino x Villardiel 19, qui donnent une teneur de plus de 13 degrés Baumé. Tous les autres nouveaux individus sélectionnés présentent un Baumé supérieur à leurs progéniteurs. Seulement les variétés Sultanina et Aleático offrent des valeurs comparables à celles des variétés nouvelles (à peu près 13 Baumé).

Quant à la production en raisin, on peut noter que, dans l'ensemble, les nouveaux individus obtiennent des productions variables par rapport à celle de leurs progéniteurs.

Il convient de signaler pour ce qui est des valeurs production de raisin-degré Baumé, les variétés suivante: Palomino x Aleático 3, Blanca de Daroca x Palomino 5, Palomino x Magdalena 27, Palomino x Allarén 25, Palomino x Albarás 2, Palomino x Villardiel 19 y Palomino x Villardiel 23, avec plus de 4 kg. par souche et un Baumé supérieur à 12,5.

Le cépage Palomino est, dans le présent cas, dépassé en Baumé par toutes les nouvelles variétés, et pour ce qui est de la production de raisin, dépassé par les sept variétés nouvelles citées ci-dessus, sauf par la dernière.

#### 6. Conclusions.

Le programme d'amélioration génétique par croisements initié a permis d'obtenir une série de nouveaux individus intéressants. Dans l'ensemble, on a pu améliorer de façon notable le degré Baumé avec les nouvelles descendances en comparaison à celui des progéniteurs. L'amélioration de la production de raisin, par contre, n'est pas aussi sensible.

Entre les nouvelles variétés soumises au contrôle depuis un plus grand nombre d'années, sont à signaler les Medina, Corredera, Sonora, Rosario, Marimanta et Marquesa.

Parmi celles qui sont sous contrôle depuis une plus courte période, se détachent les croisements Palomino x Allarén 25, Palomino x Villardiel 19, Blanca de Daroca x Palomino 5, Palomino x Albarás 2, Palomino x Aléatico 3, Palomino x Magdalena 27 y Palomino x Villardiel 23.

Au cours des prochaines années, on procédera à la confirma-

tion des résultats obtenus dans cette première phase de contrôle des nouveaux individus.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. Fernandez de Bobadilla G., (1956). *Los portainjertos*. VIII Congreso Internacional de la Vina y del Vino (OIV). Santiago de Chile.
2. Garcia De Lujan A. y Lustau E. (1982) - *Los patronos de vid 13-3 y 13-5 Evex*. La Semana Vitivinícola, 1871, 2.277-79.
- Garcia De Lujan A. Morales M. Garrido A. y Lara M. (1984) - *Características de nuevas variedades de vid obtenidas por hibridación*. III Jornadas Universitarias sobre el Jerez.

#### RESUME

#### PREMIERS RESULTAS D'UN PROGRAMME D'AMELIORATION GENETIQUE DE LA VIGNE DANS LE SUD DE L'ESPAGNE

Le présent travail expose les premiers résultats obtenus d'un programme d'amélioration génétique de la vigne réalisé dans la Station Expérimentale «Rancho La Merced» de Jerez, à partir de 1971.

On s'est fondé essentiellement sur le croisement du cépage local Palomino avec d'autres variétés d'intérêt accrédité provenant des collections du Centre. On a obtenu de la sorte, des nouveaux individus qui donnent des moûts avec une teneur en sucre plus élevée et d'importantes productions. On doit signaler en particulier les nouvelles variétés, «Medina» (Palomino x Cardinal 12) et «Corredera» (Palomino x Cardinal 4). Les nouvelles variétés sont très intéressantes pour des élaborations qui requièrent une haute teneur en sucre. Il existe également une série de nouveaux individus obtenus plus récemment, dont les résultats disponibles, encore provisoires, semblent très prometteurs.

Un programme de croisements de raisins de table a aussi débuté. Les résultats de ce programme ne sont pas encore significatifs. Les nouvelles variétés obtenues ont été décrites selon les normes O.I.V.

## RESULTS OF QUALITY BREEDING IN VITIS VINIFERA L. VARIETIES

E. HAJDU

University of Horticulture Research Institute of Viticulture and Oenology - Kecskemét (Hungary)

### Introduction

A deliberate and organized grape breeding programme started in Hungary after the destruction of vineyards by the phylloxera (1875) only to decline during the two wars. In the institute of Ampelology and its research stations a new grape breeding programme was initiated in 1945 to introduce resistance to foliage diseases and to improve quality. The breeding material was later

developed and evaluated. A short information is given on our results.

### Material and methods

In their single crosses F. Király, E. Kiss, A. Kurucz and I. Kwaysser chose maternal parents from commercial wine varieties: Ezerjó, Hárslevelü, Kövidinka, Kadarka well adapted to the conditions in the Carpathian basin, especially to those of the Great Plain (Kurucz, 1975). Over centuries these varieties endured extreme temperatures (+38°C, -24°C), sandy soils poor in humus (below 1%) and drought. The importance of the prevalent varieties on the Great Plain declined, however, because of their frost susceptibility when cultivation methods have changed. Accordingly Bouvier, Muscat Ottonel, Petit Bouschet, Red Traminer, Pinot Gris were used as paternal parents to combine earliness, frost tolerance and quality. Varieties are presented on Table 1.

Breeding for quality aimed at:

Tab. 1 - Characteristics of vine varieties in Hungary / in Kecskemét

Variety	Time of ripening	Winter tolerance	Quantitative characters			Qualitative characters			
			Productivity	Berry size	Rot	Sugar	Acid	Flavour	Pigment
♀ - <i>Vitis vinifera</i> L. <i>convarietas pontica</i> Negr.									
Ezerjó	mid-early	bad	good	mid-large	high	low	good	neutral	—
Hárslevelü	mid-late	bad	good	medium	medium	good	good	fine	—
Kövidinka	late	bad	good	medium	low	low	medium	neutral	—
Kadarka	late	bad	good	mid-large	high	low	good	savoury	little
♂ <i>Vitis vinifera</i> L. <i>convarietas occidentalis</i> Negr. * <i>convarietas orientalis</i> Negr.									
Bouvier	very early	moderate	low	mid-large	high	very good	good	fine	—
Muscat Ottonel*	mid-early	good	moderate	mid-large	low	medium	low	muscatel	—
Red Traminer	mid-early	very good	moderate	small	low	very good	low	savoury	—
Pinot gris	mid-early	good	moderate	small	high	very good	good	fine	—
Petit Bouschet	mid-late	bad	moderate	mid-large	medium	low	good	rich	colouring

**Tab. 2 - Selection progress from seedlings to released variety**

Year of crossing	Cross combinations	Number of seedlings	Selected hybrids			Released varieties	Year of release
			in micro plots number	in medium plots number	code		
<i>Breeders:</i> 1956	Dr. F. Király, E. Kiss, Gy. Gábor Ezerjő x Bouvier	36	10	8	B-7 B-8	<i>Zenit</i> <i>Zengó</i>	1980 1982
<i>Breeders:</i> 1950	A. Kurucz, I. Kwaysser et al. Ezerjő x Red Tramini	151	12	8	K-14 K-15	/variety candidate/ /variety candidate/	
1949	Ezerjő x Pinot gris	2	1	1	K-11	<i>Jubileum 75</i>	1974
1949	Hárslevelű x Red Tramini	17	2	1	K-5	<i>Ezerfürtű</i>	1973
1949	Kövidinka x Red Tramini	9	5	2	K-7	/variety candidate/	1982
1949	Kövidinka x Pinot Gris	15	1	1	K-6	<i>Karát</i>	1982
1950	Kadarka x Muscat Ottonel	19	3	2	K-9	/variety candidate/	
					K-13	/variety candidate/	
1950	Petit Bousch. x Kabarka	34	6	2	M-2 M-7	<i>Karmin</i> /variety candidate/	1975
Selection progress:		247 /100%/	30 /12,1%/	19 /7,7%/	6 /2,4 %/		

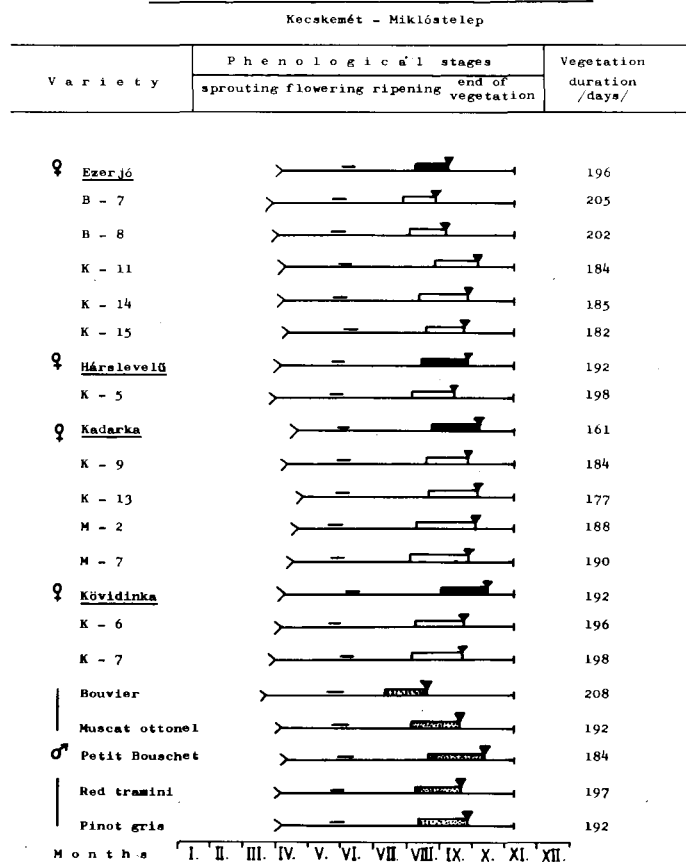
**Legends:** B = Badacsony / white wine varieties /, K = Kecskeném / white wine varieties /, M = Miklóstelep / red wine varieties /

**Tab. 3 - Characters studied in seedling populations in micro and medium plots Kecskeném-Miklóstelep**

Characters studied	Seedling populations	Micro plots	Medium plots
	1958-1964	1965-1970	1972-1984
<i>Phenology</i>			
Time of sprouting	-	+	+
Time of flowering	-	+	+
Beginning of ripening	-	+	+
End of vegetation	-	+	+
<i>Bud fertility</i>	+	+	+
<i>Flower type</i>	+	+	+
<i>Vigour</i>	+	+	+
Development of axillary shoots	-	-	+
<i>Tolerance</i>			
Frost tolerance	-	-	+
Drought tolerance	-	+	+
Tolerance to Botrytis grey mould	+	+	+
<i>Harvest evaluation</i>			
<b>BUNCH</b> yield weight	-	+	+
mean bunch weight	-	+	+
bunch structure	+	+	+
puddle drying up	-	+	+
<b>BERRY</b> mean weight	-	+	+
size	+	+	+
colour	+	+	+
taste	+	+	+
rot	+	+	+
parthenocarpic	+	+	+
<b>MUST</b> must grade	-	+	+
titratable acid	-	+	+
<b>WINE</b> alcohol content	-	+	+
titratable acid	-	+	+
solids content	-	+	+
organoleptic evaluation	-	+	+
<b>Total:</b>	10	25	27

1) increasing flavour, aroma, refinement of acids, solids content and table value of white wine varieties

**Figure 1 Phenological phases of mother varieties and their hybrids in mean of 8 years /1977-1984/, in mid-plots**



2) increasing anthocyanine content (malvidine, peonidine, petunidine, delphinidine) in red wine varieties (Kadarka) and eliminating diglycosides.

On Table 2 selection progress is summed up starting from seedling to released varieties in the best combinations (Hajdu, 1984, Kiss, 1985). Table 3 represents characters of the seedlings in-

vestigated in micro and medium plots. Besides quality factors, quantitative characters were also taken into consideration in order to obtain a realistic value of the new hybrids. Promising hybrids were grown in medium plots in Kecskemét-Miklóstelep where they could be tested in sandy soils and under extreme weather conditions.

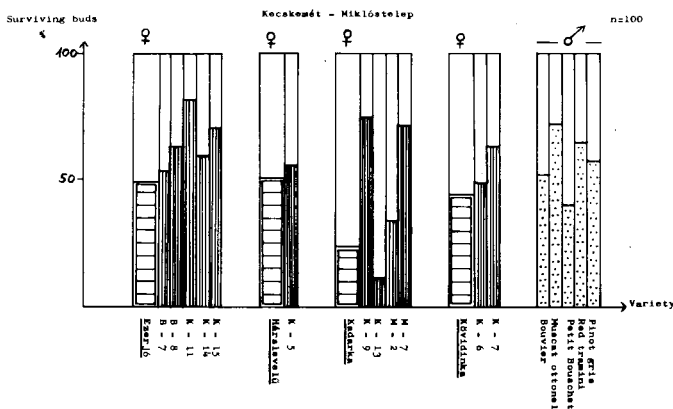
## Results

Results of the medium plot trials were evaluated in the mean of 8 years (1977-1984). Figures represent genetic advance of hybrids in relation to parents.

Figure 1 shows the phenological phases and duration of the vegetation period. Dates of sprouting and ripening are specific for the variety, the end of the vegetation depends on the appearance of autumn frosts. Early ripening was inherited in the hybrids B-7 and B-8 from Bouvier, in K-5 and K-7 from Red Tramini, in K-6 from Pinot Gris and in K-9 from Muscat Ottonel (Csepregi - Zilai, 1972, Hajdu 1984).

Figure 2 reveals the frost tolerance of the main buds in hybrids and parents. Frost tolerance in hybrids is superior to mother partners, except in K-13. Hybrids K-11, K-15, K-9 and M-7 deserve special mention.

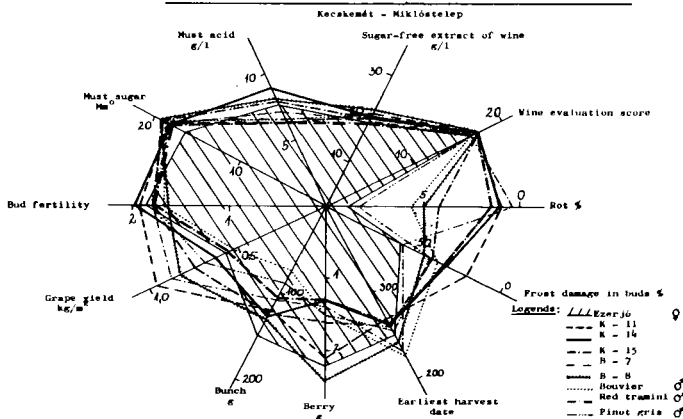
Figure 2 Frost tolerance of main buds in mother varieties and their hybrids, mean of 8 years /1977 - 1984/, mid-plot trials



From among the 27 characters determining potential productivity and quality the most important 11 were chosen and evaluated in polygons.

Figure 3 represents the performance of Ezerjó hybrids. Qualitative and quantitative indices of the hybrids K-11 and K-14 are superior to the variety Ezerjó though they ripen later. The hybrids B-7 and B-8 are superior in earliness to all the others (Gábor 1984, Király et al. 1982).

Figure 3 Polygon of the variety Ezerjó and its hybrids for 11 characters, 1977-1984



The polygon of Hárslevelü hybrids is shown in Figure 4. The hybrid K-5 surpasses the variety Hárslevelü in earliness and reliable yield.

In Figure 5 the hybrids of Kadarka can be seen. K-9 and K-13 are muscatel, white wine types, M-2 and M-7 give red wine. The latter are very rich in pigments. K-9 has good winter tolerance.

Figure 4 Polygon of the variety Hárslevelü and its hybrids for 11 characters, 1977-1984

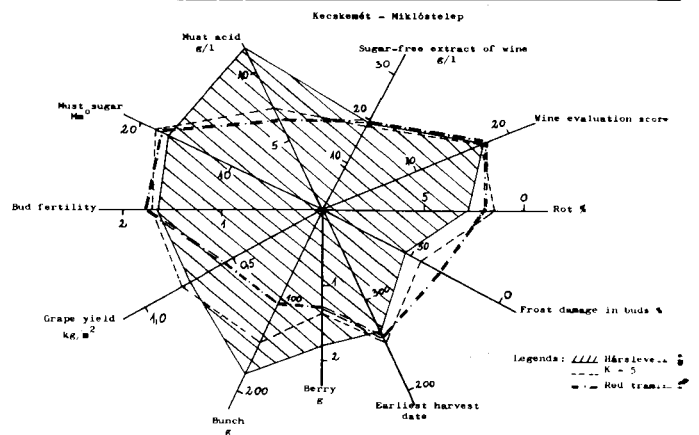
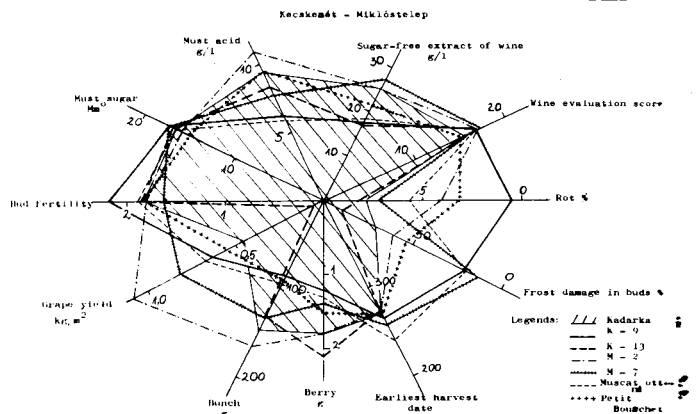


Figure 5 Polygon of the variety Kadarka and its hybrids for 11 characters, 1977-1984



In the hybrids of Kövidinka (Figure 6) a favorable combination of quality characters prevails. Both hybrids, K-6 and K-7, give quality wine with reliable yield.

The polygon area of parent partners and their hybrids were measured by planimeter and the proportion of quality and quantity characters were calculated in function of their area for each variety.

Figure 6 Polygon of the variety Kövidinka and its hybrids for 11 characters, 1977-1984

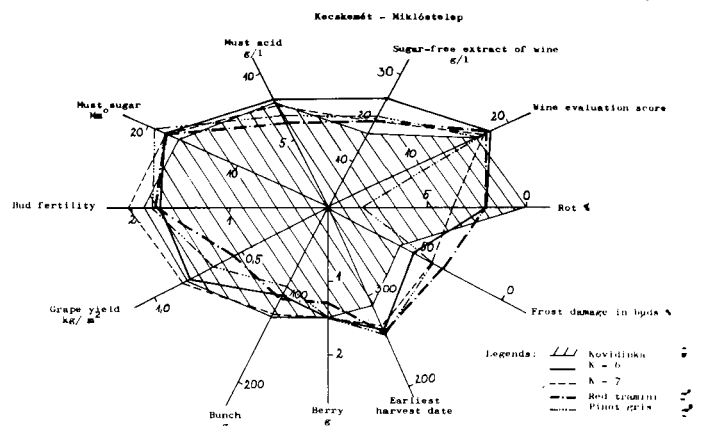


Figure 7 Proportion of quantitative and qualitative characters in mother varieties and their hybrids, calculated values

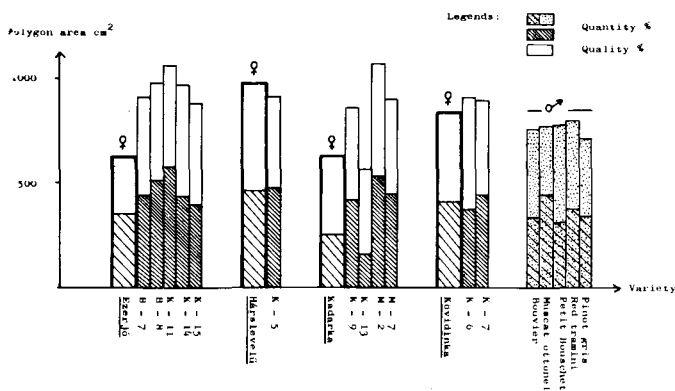
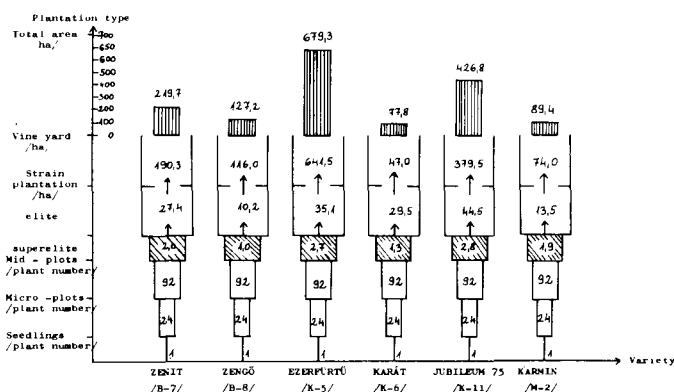


Figure 8 Area and propagation rate of released vine varieties in Hungary till 1. December 1984



The calculated (synthetic) values of the column diagrams (Figure 7) show the performance of starter varieties and their hybrids. The hybrids K-6, K-14 (= I. F-5), K-15 (= II. A-2) and K-13 are of excellent quality. Besides good quality, quantitative characters prevail in the hybrid K-11. The hybrids B-7, B-8, K-5, K-7, K-9, M-2 and M-7 are characterized by uniform quantitative and qualitative properties. Differences between varieties and hybrids prove the efficiency of breeding in improving general performance, quality and quantity.

Figure 8 represents the propagation and production of the 6 released varieties. Up to present the varieties Ezerfürtű and Jubileum 75 have had the largest area due to their reliable yield. Now Zenit and Zengő of early ripening and high sugar content and Karát of excellent wine quality are sought.

#### LITERATURE

- Csepregi P., Zilai J. (1972) - *Szőlőfajtáink*. Budapest. Mezőgazdasági Kiadó. 86-169. p.
- Gábor Gy. (1984) - *Évi jelentés*. E.M.B.K.-K.T.R.K. Eger. (Kézirat)
- Hajdy E. (1984) - *Évi jelentés*. KESZBK1. Kecskemét-Miklóstelep. Keresztézéses borszőlőnemesítés, különös tekintettel a fagytüzésre. 166-199 p.
- Király F., Kiss E., Szóke L., Gábor Gy. (1982) - *A Zenit fehérborszőlőfajta és a Badacsony-8 fehérborszőlőfajtajelölt bemutatása*. Szőlőtermesztés és Borászat. IV. évf. 3. sz. 1-4. p.
- Kiss E. (1985) - *Keresztézéses nemesítés*. Badacsony (Kézirat)
- Kurucz A. (1975) - *Évi jelentés*. SZBK1. Kecskemét-Miklóstelep. Keresztézéses borszőlőnemesítés. 126-194. p.

#### SUMMARY

#### RESULTS IN BREEDING FOR QUALITY IN VITIS VINIFERA L.

Author presents results of breeding work carried out in the Reserach Institute of Viticulture and Oenology during 35 years, 1949-1984. Main tasks of the program included the increase of yield stability and the improvement of earliness and quality. In crosses breeders used mother partners belonging mostly to the variety group Pontica: Ezerjó, Hárslevelű, Kadarka, Kövidinka and father partners belonging to the variety group Occidentales: Bouvier, Muscat ottone, Traminer and Pinot gris.

The cross combination Petit Bouschet x Kadarka was successful in developing red wine varieties.

Breeding resulted in developing 6 candidates: Kecskemét 7, Kecskemét 9, Kecskemét 13, I.F-5, II.A-2, Miklóstelep 7. and 6 varieties released in recent years:

Ezerfürtű, Jubileum 75, Karát, Karmin, Zengő, Zenit.

Author describes in detail the new varieties and candidates including phenological, harvest and wine data with quantitative (bud fertility, grape yield, winter hardiness) and qualitative (must sugar, must acid, pigment content, extract content, wine evaluation) parameters.

Spread of new varieties and their importance in cultivation and genetics are discussed.

## TRANSMISSION HEREDITAIRE DES PRINCIPAUX CARACTERES DES CEPAGES CABERNET FRANC, CABERNET-SAUVIGNON ET MERLOT (V. VINIFERA L.)

E. MADERO (1) - D. BOUBALS (2) - P. TRUËL (3)

(1) Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas - Centro de Investigaciones Agrícolas del Norte - Torreón (Coah.) (Mexique)

(2) Ecole Nationale Supérieure Agronomique - Montpellier (France)

(3) Institut National de la Recherche Agronomique Domaine de Vassal - Marseillan-Plage (France)

#### Introduction

Au Domaine de Vassal (I.N.R.A.) il a été réalisé de nombreux croisements entre cépages de *Vitis vinifera* en vue de sélectionner de nouvelles variétés.

Au cours de ces travaux des observations systématiques de nombreux caractères à importance économique ont été effectuées sur tous les plants de semis. L'observation de certains caractères a porté sur plusieurs années.

Pour le Cabernet Franc, le Cabernet Sauvignon et le Merlot, cépages originaires du Bordelais et cultivés non seulement dans ce vignoble mais ailleurs en France et dans le monde, il a été fait un collationnement de toutes les observations réalisées sur les plants issus de semis de croisement entre ces cépages et d'autres cépages de *Vitis vinifera*.

Dans ce qui suit une discussion des résultats aura lieu pour chacun des caractères envisagés.

## Matériel végétal

Les croisements qui ont été réalisés et sur les descendants desquels ont porté les observations sont donnés dans le tableau I. Certains croisements ont été faits dans les deux sens (croisements réciproques), chacun des trois cépages étudiés étant tantôt pris comme femelle, tantôt pris comme mâle. (Tableau I).

### 1. Transmission héréditaire du sexe des fleurs.

#### CABERNET FRANC

Ce cépage est à fleurs hermaphrodites.

Dans cinq croisements mettant en oeuvre le *Cabernet franc* et cinq autres variétés de *Vitis vinifera* il apparaît en génération F1 une disjonction de trois descendants à fleurs hermaphrodites pour un descendant à fleurs femelles (tests Chi au carré non significatifs).

Donc, dans tous les cas le *Cabernet franc* a une constitution allélique du gène déterminant le sexe de type H/F selon l'hypothèse de Levadoux (1946): H déterminant l'état hermaphrodite dominant, F déterminant l'état femelle.

Cependant le croisement *Counoise* X *Cabernet franc* donne dans la descendance non seulement des plantes hermaphrodites et femelles mais aussi des plantes à fleurs mâles. l'apparition de ces dernières est expliquée par Carbonneau (1983) au moyen d'un effet épistatique d'un couple d'allèles  $\frac{E}{e}$  sur H ou F en leur conférant

la fonction de mâle ou d'hermaphrodite.

#### CABERNET SAUVIGNON

Ce cépage est également à fleurs hermaphrodites. Dans dix neuf croisements mettant en oeuvre le *Cabernet Sauvignon* et treize cépages à fleurs hermaphrodites (certains croisements entre deux variétés ayant été réalisés dans les deux sens: croisements réciproques) il

apparaît en génération F1 une disjonction de trois descendants à fleurs hermaphrodites pour un descendant à fleurs femelles (test Chi au carré non significatifs).

Dans le cas du croisement du *Cabernet Sauvignon* avec le *Gibi* qui est à fleurs femelles on obtient en génération F1 une disjonction de un descendant à fleurs hermaphrodites pour un descendant à fleurs femelles (test Chi au carré non significatif).

Finalement on peut dire, d'après l'hypothèse de L. Levadoux, que le *Cabernet Sauvignon* a une constitution allélique du même gène  $\frac{H}{F}$  le *Gibi* étant  $\frac{F}{F}$  H dominant F.

#### MERLOT

Ce cépage est aussi à fleurs hermaphrodites.

Dans dix croisements entre le *Merlot* et huit cépages à fleurs hermaphrodites (certains croisements entre deux cépages ayant été réalisés dans les deux sens: croisements réciproques) il apparaît en génération F1 une disjonction de trois descendants à fleurs hermaphrodites pour un descendant à fleurs femelles (tests Chi au carré non significatifs).

Lorsqu'on croise *Le Merlot* et *Le Cot* tous les descendants de la génération F1 sont hermaphrodites.

Ces deux ensembles de résultats permettent de penser que la constitution allélique du gène déterminant le sexe est dans le cas du *Merlot* H/F (H dominant F) et H/H dans le cas du *Cot*.

Il faut cependant signaler que dans le cas du croisement entre le *Merlot* et le *Gamay*, répété trois fois au cours d'années différentes, il y a un très net excédent d'hermaphrodites (voir tableau II).

Toujours selon l'hypothèse de Carbonneau (1983) cela pourrait être expliqué par le couple allélique (E, e) situé sur le même chromosome que le locus (M, H, F) avec un taux de recombinaison de l'ordre de 0,4.

En conclusion, d'un point de vue pratique pour les sélectionneurs, nous retiendrons que *Cabernet franc*, *Cabernet Sauvignon* et *Merlot* sont hétérozygotes  $\frac{H}{F}$  (H dominant F) pour le couple

Tab. 1 - Croisements réalisés entre le *Cabernet Franc*, le *Cabernet Sauvignon*, le *Merlot* et d'autres cépages, avec le nombre de descendants observés pour chacun d'eux.

	Couleur de	C. Sauvignon		C. Franc		Merlot	
		femelle	mâle	femelle	mâle	femelle	mâle
Aramon	N	159	436				
Bourboulenc	B	42	100	39			
Carignan	N	173	77				51
Cinsaut	N	169	13				
Clairette	B	92					
Chenin Blanc	B	40					
Cot	N					12	
Counoise	N				134		
Gamay	N	152				258	
Gibi	B		435				
Grenache	N	1018	201			175	277
Jurançon blanc	B		31				
Jurançon noir	N			116			
Macabeu	B		75		88		
Marsanne	B					48	
Meunier	N			27			
Persan	N					175	
Plant droit	N		70	127			
Poulsard	N					57	
Syrah	N	139					51
Tannat	N					200	
Ugni blanc	B	122	179				76
Totaux de plants de semis		2106	1617	309	222	925	455
		3723		531		1380	



Tab. 2 - Répartition selon le sexe des descendance du croisement *Merlot x Gamay*.

n° du croisement	Fleurs hermaphrodités	Fleurs femelles
2058	22	2
2668	111	20
2709	88	15
Total	221	37

d'allèles déterminant le sexe avec certaines déviations dans quelques rares cas vers le stade mâle ou hermaphrodite.

## 2. Transmission héréditaire de la couleur des baies

*Cabernet franc*, *Cabernet Sauvignon* et *Merlot* sont des variétés à baies noires dont la pellicule très riche en anthocyanes permet d'obtenir des vins bien colorés.

Dans les croisements observés il est apparu des descendants à baies noires ou à baies blanches. Dans certains d'entre eux il est apparu aussi quelques descendants à baies noires-rougeâtres rouges, roses, grises et dans un cas, blanc-rosé.

Les résultats de disjonction en F1 sont donnés dans le tableau III.

D'un point de vue pratique pour le sélectionneur, il apparaît qu'en première hypothèse les trois cépages *Cabernet franc*, *Caber-*

*net Sauvignon* et *Merlot*, sont hétérozygotes pour le couple d'allèles déterminant la couleur  $\frac{N}{n}$ , N dominant n, ce dernier allèle déter-

minant le blanc quand il est à l'état homozygote. C'est d'ailleurs le cas de toutes les variétés blanches utilisées dans le croisement.

Théoriquement parlant le conditionnement génique de la couleur est plus compliqué puisqu'il apparaît dans beaucoup de croisements une queue de plantes dont la couleur des baies est noire rougeâtre ou rouge ou rose ou grise ou blanc-rosé. C'est le *Cabernet Sauvignon* qui fournit le plus de variabilité de couleur dans les descendance F1.

A noter que le *Cot*, déjà observé comme homozygote pour l'allèle H déterminant le sexe hermaphrodite, est également homozygote pour la couleur. Dans le cas du croisement avec le *Merlot* il ne donne que des noirs.

On a pu disposer d'une série de croisements où entrent des variétés apparemment homozygotes pour la couleur noire comme

Tab. 3 - Résultats de disjonctions F<sub>1</sub> concernant la couleur des baies dans le cas de croisements entre *Cabernet franc*, *Cabernet-Sauvignon*, *Merlot*, et toute une série de variétés de *Vitis vinifera* (pourcentages).

	Noir	Blanc	Noir rougeâtre	Rouge	Rose	Gris	Blanc rosé	Σ
<i>Cabernet Franc n.</i>								
Bourboulenc b.	50,0	42,9	7,1					42
Macabeu b.	54,3	41,9	3,8					81
Counoise n.	73,0	27,0						89
Jurançon n.	79,5	17,8	0,9		0,9	0,9		107
Meunier n.	86,4	13,6						22
Plant Droit n.	73,0	27,0						89
<i>Cabernet-Sauvignon n.</i>								
Bourboulenc b x Cs	53,2	40,6	1,0	5,2				96
C.S. x Bourboulenc b.	60,5	39,5						43
C.S. x Clairette b.	44,2	53,5	2,3					86
C.S. x Chenin blanc	40,0	60,0						35
Gibi b. x C.S.	44,7	52,9	0,7	0,2	0,2		1,3	421
C.S. x Jurandçon b.	32,4	67,6						34
C.S. x Macabeu b.	43,5	56,5						69
Ugni blanc x C.S.	39,2	60,8						79
C.S. x Ugni blanc	49,6	44,4	2,6	2,6		0,8		117
Aramon n. x C.S.	75,5	21,7	1,8	0,25	0,5	0,25		383
C.S. x Aramon n.	65,9	27,4	5,3		0,7	0,7		135
Carignan n. x C.S.	77,6	22,4						76
C.S. x Carignan n.	77,7	20,5	0,6	0,6		0,6		166
Cinsaut n. x C.S.	81,8	18,2						11
C.S. x Cinsaut n.	76,2	23,1	0,7					147
C.S. x Gamay n.	73,1	23,9	2,2			0,1		134
Grenache n. x C.S.	72,9	25,0	2,1					196
C.S. x Grenache n.	72,3	25,8	1,9					945
Plant Droit n. x C.S.	73,1	25,4	1,5					67
C.S. x Syrah n.	69,4	29,6	1,0					108
<i>Merlot</i>								
Merlot x Marsanne b.	46,1	51,3	2,6					39
Ugni blanc x Merlot	51,7	48,3						29
Carignan n. x Merlot	75,5	24,5						45
Merlot x Gamay n.	80,3	19,7						183
Grenache n. x Merlot	68,6	26,1	5,3					264
Merlot x Grenache n.	72,2	23,2	4,6					151
Merlot x Persan n.	77,2	21,4	1,4					145
Merlot x Poulsard n.	59,5	35,7	4,8					42
Syrah n. x Merlot	80,0	17,8	2,2					45
Merlot x Tannat n.	82,3	11,3	0,7		5,7			141
Merlot x Cot n.	100,0							12

le *Cot*. Il s'agit là de descendants d'hybrides *Grenache x Cot* et *Grenache x Merlot*.

Les résultats des disjonctions F1 observées lors des croisements de ces hybrides avec le *Cabernet Sauvignon* ne donnent pratiquement que des noirs (voir tableau IV).

Tab. 4 - Disjonctions pour la couleur dans les descendance de croisements entre le *Cabernet Sauvignon* et différents hybrides de *V. vinifera*

<i>Cabernet Sauvignon</i> croisé par:	Noirs	noir-rougeâtre
1510-67 ( <i>Grenache x Cot</i> ) n.	109 plants	0
1510-87 ( <i>Grenache x Cot</i> ) n.	46	0
1510-48 ( <i>Grenache x Cot</i> ) n.	38	0
1512-18 ( <i>Grenache x Merlot</i> ) n.	84	1 plant

### 3. Transmission héréditaire de l'époque de débourrement des bourgeons

Les époques du débourrement du *Cabernet franc*, du *Cabernet Sauvignon* et du *Merlot* ont été déterminées au domaine de Vassal par rapport à celle du *Chasselas*.

Il a été utilisé pour cela les résultats des observations effectuées sur plusieurs clones de ces cépages, pendant plusieurs années.

Les plants de semis des différentes descendance établis dans les collections de vigne de Vassal ont eu leur débourrement également observé durant plusieurs années.

L'époque ou date de débourrement est définie comme étant le jour où:

— sur une souche 50% des bourgeons ont débourré (stades B ou C de Baggiolini).

— et sur un clone quand 50% des souches qui le constituent ont débourré.

Chaque année, pour chaque clone ou pour chaque plant de semis, l'époque ou date de débourrement est exprimée en nombre de jours avant ou après la date moyenne de débourrement du *Chasselas* au cours de cette même année.

Pour chaque plant de semis il a été fait la moyenne des observations de plusieurs années.

Les dates des débourrement du *Merlot* (+ 4 jours après le *Chasselas*) et du *Cabernet franc* (+ 5 jours) sont très voisines. Le *Cabernet Sauvignon* (+ 13 jours après le *Chasselas*) est nettement plus tardif.

Dans les tableaux de résultats les dates de débourrement des plants de semis F1 sont exprimées d'après deux échelles qui bien évidemment se correspondent. L'intervalle choisi est de 3 jours. Une des échelles a servi à la réalisation des calculs.

— Echelle en jours par rapport à la date de débourrement du *Chasselas* (0):

-24 -21 -18 -15 -12 -9 -6 -3 0 +3 +6 +9 +12 +15 +18 +21 +24 +27  
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18

(échelle simple servant aux calculs)

Les résultats des observations effectuées sur les descendance sont donnés dans le tableau V.

Il y figure:

— les époques de maturité des parents des croisements,  
— la moyenne arithmétique de ces deux époques, exprimée dans l'échelle simple,

— la distribution des époques de débourrement des descendants.

— le nombre total de plants par descendance.

— la moyenne arithmétique de chaque descendance avec son écart-type.

Entre plants de semis de la même descendance leur débourrement s'est étalé sur un mois et parfois plus.

Il apparaît clairement que le conditionnement génique du caractère "époque de débourrement" est de nature polygénique. La moyenne arithmétique des valeurs des deux parents étant très rarement différente de la moyenne arithmétique de la descendance correspondante. On peut supposer que les gènes ont une action de nature additive et arithmétique, sans phénomène sensible de dominance partielle soit de la précocité, soit de la tardiveté.

C'est *Le Cabernet Sauvignon* qui entraîne le plus de tardiveté de débourrement dans les descendance de croisement avec d'autres variétés de *Vitis vinifera*. Il n'y a pas de différence marquée entre *Cabernet franc* et *Merlot*.

### 4. Transmission héréditaire de l'époque de maturité des baies

Comme on l'avait fait pour le débourrement on a noté l'époque de maturité (1) des baies d'après une échelle s'exprimant par rapport à l'époque de maturité du *Chasselas*, représenté à Vassal par divers clones. L'intervalle de l'échelle correspond à une durée de temps de une semaine. Il y a dans ce cas aussi deux échelles:

— échelles en semaines par rapport à la date de maturité du *Chasselas* (0):

-3 -2 -1 0 +1 +2 +3 +4 +5 +6 +7 +8 +9 +10  
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14

(échelle simple servant aux calculs)

La date de maturité du *Cabernet franc* est de 6,7 (+ 2,7 semaine après *Chasselas*); du *Cabernet Sauvignon* 7,2 (+ 3,2 semaine après *Chasselas*); du *Merlot* 6,3 (+ 2,3 semaines après *Chasselas*).

Les résultats des observations sur les plants de semis sont donnés dans le tableau VI.

Il y figure:

— les époques de maturité des parents des croisements.

— la moyenne arithmétique de ces deux époques exprimée dans l'échelle simple.

— la distribution des époques de maturité des descendants.

— le nombre total de plants par descendance.

— la moyenne arithmétique de chaque descendance avec son écart type.

Dans le cas des descendance comportant de nombreux plants leur répartition selon la date de maturité s'étale sur neuf semaines.

La distribution des plants en courbe en cloche permet de penser que le conditionnement du caractère époque de maturité est de nature polygénique.

La moyenne de chaque distribution F1 n'est pas très différente de la moyenne arithmétique des deux valeurs parentales.

Il ne paraît donc pas y avoir de phénomène de dominance partielle de la précocité ou de la tardiveté de maturité.

*Le Cabernet Sauvignon* donne des descendance F1 mûrissant un peu plus tardivement.

### 5. Transmission héréditaire du degré de compacité de la grappe

Lors des notations effectuées au domaine de Vassal il est convenu de différencier trois degrés pour évaluer ce caractère:

— *grappe compacte* (c): les baies sont comprimées, la grappe est rigide.

— *compacité moyenne* (m): la grappe est assez rigide, les baies ne sont pas comprimées et peuvent jouer entre elles.

— *grappe lâche* (l): la grappe est très souple.

(1) La maturité est ressentie à la dégustation des baies.

Tab. 5 - Répartition d'après la date de débourrement des descendants F<sub>1</sub> issus de croisements entre *Cabernet franc* ou *Cabernet Sauvignon* ou *Merlot* et différents cépages de *V. vinifera* (résultats non transformés en pourcentages).

	$\bar{x}$	1 -24	2 -21	3 -18	4 -15	5 -12	6 -9	7 -6	8 -3	9 0	10 +3	11 +6	12 +9	13 +12	14 +15	15 +18	16 +21	17 +24	18 +27	$\Sigma$	moyenne arithmétique de la descendance, écart type	
<i>Cabernet Franc</i> + 5 (10,6)																						
<i>Bourboulenc</i> (10,3)	10,4		1		1	2	2	8	12	21	13				2						62	8,4 ± 1,8
<i>Counoise</i> (13,0)	11,8						2	5	13	16	27	30	37	15	5			1			151	10,7 ± 1,3
<i>Juraçon noir</i> (11,3)	10,9						4	17	35	40	24	24	3								147	9,0 ± 1,3
<i>Macabeu</i> (12,0)	11,3						1	4	5	19	17	9	24	5	3	1					88	10,5 ± 1,8
<i>Meunier</i> (10,0)	10,3						1			4	4		3	2	1	1					16	10,8 ± 2,3
<i>Plant droit</i> (10,0)	10,3	1	8	3	20	12	53	27	64	30	10	8	1	1							238	7,0 ± 2,0
<i>Aramon</i> (10,0)	11,6	1	1	6	4	19	102	152	281	107	93	114	17	6							903	8,2 ± 1,8
<i>Bourboulenc</i> (10,3)	11,8				1		7	11	23	28	47	17	21	4	2						161	9,6 ± 1,8
<i>Carignan</i> (12,0)	12,6			1	2	4	21	44	13	43	48	40	15	6	5	2					244	10,1 ± 2,1
<i>Clairette</i> (11,3)	12,3							2	10	23	23	15	19	6	3						101	10,3 ± 1,6
<i>Cinsaut</i> (12,0)	12,6					2	5	33	28	32	63	26	25	6	10	1					231	10,6 ± 2,0
<i>Chenin Blanc</i> (8,6)	10,9					2	7	8	14	5	5	2	2								45	8,1 ± 1,7
<i>Gamay</i> (9,0)	11,1						4	36	62	46	33	13	4								198	9,6 ± 1,3
<i>Grenache</i> (11,0)	12,1			4		17	40	263	68	274	182	187	106	21	11	6					1179	10,2 ± 1,9
<i>Gibi</i> (13,0)	13,1			1	1	7	15	83	31	43	216	71	41	11		1					521	10,4 ± 1,8
<i>Juraçon blanc</i> (11,3)	12,3					2	5	6	8	11	11	6	3								52	9,7 ± 1,8
<i>Macabeu</i> (12,0)	12,6			2	2		4	7	15	26	18	9	10	2	12						107	10,5 ± 2,5
<i>Plant Droit</i> (10,0)	11,6							2	3	19	11	26	9	3	2						75	11,4 ± 1,5
<i>Syrah</i> (11,3)	12,3				2	8	17	51	53	38	12	3	3	2	1						190	8,9 ± 1,5
<i>Ugni Blanc</i> (12,0)	12,6			1	3	5	31	8	34	51	55	56	46	44	25	9	1	1			370	11,3 ± 2,5
<i>Merlot</i> + 4 (10,3)																						
<i>Carignan</i> (12,0)	11,1		3	4	3	3	8	15	8	11	3	3	2								63	7,1 ± 2,3
<i>Gamay</i> (9,0)	9,6			3	21	19	2	19	29	37	13	5	9	3							160	7,6 ± 2,4
<i>Grenache</i> (11,0)	10,6				1	15	56	70	85	107	69	49	11	4							467	9,4 ± 1,8
<i>Marsanne</i> (10,3)	10,3			1		2	1	5	11	18	16	11	7	4							76	10,4 ± 1,9
<i>Persan</i> (10,0)	10,1			4	2	17	51	90	87	44	13	5									313	8,4 ± 1,4
<i>Poulsard</i> (8,6)	9,4				4	12	39	28	14	9	1										107	7,6 ± 1,3
<i>Syrah</i> (11,3)	10,8				4	7	17	38	24	9	10	1	1								111	8,3 ± 1,5
<i>Tannat</i> (10,3)	10,3			3	14	17	6	27	27	28	20	12	6	1	2						163	7,9 ± 2,3
<i>Ugni Blanc</i> (12,0)	11,1			3	16	4	4	10	4	11	2	3	0	1	1						59	7,7 ± 2,6
<i>Cot</i> (10,3)	10,3						1	4	4	6	1		1								17	9,3 ± 1,5

La compacité excessive de la grappe est un facteur favorisant les attaques de *Botrytis cinerea* (Pourriture grise)

Le *Cabernet franc* et le *Cabernet Sauvignon* sont à grappes allant du type compact au type de compacité moyenne. Le *Merlot* est à grappes de compacité moyenne.

Les résultats des observations sur les descendance F<sub>1</sub> sont donnés dans le tableau VII.

On constate que les disjonctions recouvrent dans pratiquement tous les cas les trois degrés de compacité. On obtient aussi des descendants à grappes lâches quand on croise une variété à grappe

Tab. 6 - Répartition d'après la date de maturité des descendants F<sub>1</sub> issus de croisements entre *Cabernet franc* ou *Cabernet Sauvignon* ou *Merlot* et différents cépages de *V. vinifera* (résultats non transformés en pourcentages).

	$\bar{x}$	-3 1	-2 2	-1 3	0 4	+1 5	+2 6	+3 7	+4 8	+5 9	+6 10	+7 11	+8 12	+9 13	+10 14	$\Sigma$	moyenne arithmétique de la descendance, écart type
<i>Cabernet Franc (+2,7) = 6,7</i>																	
Bourboulenc (7,9)	7,3				1	6	6	11	6	2	1					33	6,6 ±1,2
Counoise (7,7)	7,2					8	40	27	10	1	1					87	6,5 ±1,0
Jurançon noir (6,7)	6,7				1	6	25	40	33	2						107	6,9 ±0,9
Macabeu (7,7)	7,2				3	18	25	23	10	2						81	6,3 ±1,1
Meunier (4,5)	5,6			5	6	8	3									22	4,4 ±1,0
Plant droit (6,0)	6,3				1	7	5	26	12	8	2					61	7,1 ±1,3
<i>Cabernet Sauvignon (+ 3,2) = 7,2</i>																	
Aramon (8,5)	7,8			1	12	48	132	113	128	72	12					518	7,0 ±1,5
Bourboulenc (7,9)	7,5				8	31	30	38	23	2	1					133	6,3 ±1,3
Carignan (8,5)	7,8				2	20	44	68	47	33	9	3	1			227	7,2 ±1,4
Clairette (8,0)	7,6					3	2	12	45	16	8					86	8,0 ±1,0
Cinsaut (7,0)	7,1			4	17	58	76	78	50	10	5	2				300	6,4 ±1,4
Chenin Blanc (7,2)	7,2					1	3	8	14	8	1					35	7,8 ±1,0
Gamay (5,3)	6,2					6	41	44	31	11						133	7,0 ±1,0
Grenache (8,0)	7,6				3	57	201	292	287	184	86	13	1			1124	7,5 ±1,5
Gibi (7,8)	7,5				15	42	100	101	85	47	29	2				421	7,1 ±1,5
Jurançon Blanc (7,6)	7,4				2	3	8	10	1	3						27	6,5 ±1,4
Macabeu (7,7)	7,4				7	17	13	14	13	3						67	6,2 ±1,4
Plant Droit (6,0)	6,6					8	12	19	24	3	1					67	7,0 ±1,1
Syrah (6,6)	6,9					5	8	40	37	16	2					108	7,5 ±1,3
Ugni blanc (7,1)	7,1				3	3	30	28	56	38	19					177	7,8 ±1,5
<i>Merlot (+ 2,3) = 6,3</i>																	
Carignan (8,5)	7,4					6	6	8	3	3	1	1				28	6,9 ±1,6
Cot (6,4)	6,3				2	2	2	1								7	5,2 ±1,1
Gamay (5,3)	5,8				3	16	39	12	5							75	(6,0) ±0,9
Grenache (8,0)	7,1				4	13	74	155	81	17	5					349	7,0 ±1,0
Marsanne (6,2)	6,2				5	9	12	9	6							41	6,0 ±1,2
Persan (7,3)	6,8					43	62	30	6	4						145	6,0 ±0,9
Poulsard (5,3)	5,8			3	14	13	12	1								43	4,8 ±1,0
Syrah (6,6)	6,4					19	16	3	5	2						45	6,0 ±1,1
Tannat (7,4)	6,8				1	14	28	16	10							69	6,2 ±1,0
Ugni Blanc (7,1)	6,7					2	1	3	2							8	6,6 ±1,2

compacte ou de compacité moyenne (*Cabernet Sauvignon*, par exemple) avec une variété à grappe compacte (*Carignan* par exemple). On obtient beaucoup plus de descendants à grappes lâches

quand on croise les trois cépages bordelais avec une variété à grappe de compacité moyenne (*Aramon*, *Bourboulenc*, *Syrah*) ou lâche (*Gibi*).

Dans les descendants F1 il n'y a pas de différence de comportement entre les trois variétés: *Cabernet franc*, *Cabernet Sauvignon* et *Merlot*.

#### 6. Transmission héréditaire de la grosseur des grappes (volume)

Lors des notations effectuées au domaine de Vassal il est convenu de distinguer quatre classes dans le volume des grappes.

Une grappe dont la largeur est proportionnée à la longueur est dite:

— *petite* quand sa longueur, pédoncule non compris, est inférieure à 12 cm.

— *moyenne* entre 12 cm et 18 cm,

— *grosse* au-dessus de 18 cm.

— certaines grappes peuvent être *très grosses*.

Le *Cabernet Sauvignon* et Le *Merlot* sont à grappes moyennes et le *Cabernet franc* est à grappe petite à moyenne.

Les résultats des observations sur les descendance F1 sont donnés dans le tableau VIII.

L'examen des résultats du tableau VIII montre que dans les croisements la disjonction s'effectue surtout entre les classes *petites grappes* et *grappes moyennes*. Elle s'étend peu sur la classe *grosse grappe*.

La dimension des grappes est certainement conditionnée par un système polygénique avec une dominance partielle du caractère petite grappe.

On constate qu'entre les trois cépages qui nous intéressent c'est le *Cabernet Sauvignon* qui fournit dans les croisements le plus de descendants à grosse grappe. Parmi les autres cépages, le *Grenache* est un de ceux qui permet d'obtenir une bonne taille des grappes chez les descendants dans les croisements avec *Cabernet Sauvignon* et *Merlot*.

#### 7. Transmission héréditaire de la dimension des baies

Lors des notations effectuées au domaine de Vassal il est convenu de distinguer quatre classes dans la dimension ou volume des baies de la vigne.

Le volume de la baie étant défini par deux dimensions (longueur depuis le bourrelet du pédoncule jusqu'à l'ombilic et dimension perpendiculaire) on considère que la baie est:

— *très grosse*: moyenne de ces deux mesures supérieure à 24 mm.

— *grosse*: moyenne de ces deux mesures supérieure à 18 mm. et inférieure ou égale à 24 mm.

— *moyenne*: moyenne de ces deux mesures supérieure à 12 mm et inférieure ou égale à 18 mm.

— *petite*: moyenne de ces deux mesures inférieure ou égale à 12 mm.

Les trois cépages *Cabernet franc* (13, 25 mm), *Cabernet-Sauvignon* (13, 25 mm) et *Merlot* (14, 25 mm) ont des baies de dimensions tout juste moyenne.

Les volumes de baies mesurés dans les collections de vigne de l'Ecole de Montpellier correspondent à:

*Cabernet franc*: 1,22 cc, *Cabernet Sauvignon*: 1, 16 cc et *Merlot*: 1, 64 cc.

Les résultats des observations sur les descendance F1 sont données dans le tableau IX.

L'examen des distributions du tableau IX montre que la dispersion des plants est très faible, la très grande majorité ayant des baies de taille moyenne même quand l'un des parents est à grosse baie (*Aramon* ou *Cinsaut* ou *Plant droit*) il n'apparaît pas beaucoup plus des descendants à grosses baies.

Tab. 7 - Répartition selon la compacité des grappes des descendants F<sub>1</sub> de croisements entre *Cabernet Franc* ou *Cabernet Sauvignon* ou *Merlot* avec divers cépages de *V. vinifera* (résultats exprimés en pourcentages).

	Compacité Cépage	Compacité des F <sub>1</sub>			
		c	m	l	Σ
<i>Cabernet Franc</i>					
Bourboulenc	m	52,0	36,0	12,0	25
Counoise	c	46,7	33,3	20,0	30
Jurançon noir	c	47,4	41,0	11,6	78
Macabeu	c	56,9	35,4	7,7	65
Meunier	c	70,0	20,0	10,0	20
Plant Droit	c	79,7	17,4	2,9	69
<i>Cabernet sauvignon (m à c)</i>					
Aramon	m	26,7	36,3	37,0	386
Bourboulenc	m	30,2	37,5	32,3	96
Carignan	c	55,3	26,5	18,2	170
Clairette	c	66,1	30,5	3,4	59
Cinsaut	c	44,6	27,7	27,7	94
Chenin Blanc	c	66,7	25,9	7,4	27
Gamay	c	62,3	29,2	8,5	106
Grenache	c	62,9	24,3	12,8	778
Gibi	l	25,2	34,8	40,0	210
Jurançon Blanc	c	55,6	14,8	29,6	27
Macabeu	c	84,1	11,4	4,5	44
Plant Droit	c	80,9	19,1		42
Syrah	m	36,4	39,8	23,8	88
Ugni Blanc	c	48,0	34,3	17,7	198
<i>Merlot (m)</i>					
Carignan	c	84,0	12,0	4,0	25
Cot	m	42,8	28,6	28,6	7
Gamay	c	61,9	23,8	14,3	105
Grenache	c	50,0	36,5	13,5	304
Marsanne	m	43,3	33,3	23,4	30
Persan	c	74,1	25,9		27
Poulsard	m	38,5	42,3	19,2	26
Syrah	m	50,0	25,0	25,0	8
Tannat	c	60,0	32,5	7,5	80
Ugni Blanc	c	25,0	37,5	37,5	8

Tab. 8 - Répartition selon la dimension des grappes des descendants F<sub>1</sub> de croisements entre *Cabernet Franc* ou *Cabernet Sauvignon* ou *Merlot* avec divers cépages de *V. vinifera* (résultats exprimés en pourcentages).

	Grosueur Grappe cépages	Grosueur grappe F <sub>1</sub>			Σ
		p	m	g	
<i>Cabernet Franc</i> (p-m)					
Bourboulenc	m	63,6	36,4		33
Counoise	m	57,5	42,5		86
Jurançon noir	m	84,1	15,9		107
Macabeu	g	34,4	62,5	3,1	80
Meunier	p	61,4	38,6		22
Plant Droit	m	70,2	29,8		62
<i>Cabernet sauvignon</i> (m)					
Aramon	g	58,2	40,5	1,3	502
Bourboulenc	m	46,3	52,3	1,4	148
Carignan	m	41,4	53,8	4,8	220
Clairette	m	69,8	29,7	0,5	86
Cinsaut	m	70,0	28,3	1,7	122
Chenin Blanc	m	82,8	15,7	1,5	35
Gamay	p	85,3	14,7		133
Grenache	m	31,5	64,3	4,2	1064
Gibi	mg	18,9	74,4	6,7	336
Jurançon blanc	m		100,0		26
Macabeu	g	50,0	49,3	0,7	65
Plant Droit	m	54,4	45,6		67
Syrah	m	87,0	13,0		108
Ugni Blanc	g	41,8	52,6	5,6	177
<i>Merlot</i> (m)					
Carignan	m	35,7	64,3		28
Cot	m	78,6	21,4		7
Gamay	p	70,8	28,6	0,6	77
Grenache	m	35,0	60,5	4,5	413
Marsanne	m	51,4	48,6		35
Persan	m	65,1	34,9		33
Poulsard	p	62,7	37,3		43
Syrah	m	80,0	20,0		10
Tannat	m	64,5	35,5		69
Ugni Blanc	g	56,2	43,8		8

Tab. 9 - Répartition selon la dimension des baies des descendants F<sub>1</sub> de croisements entre *Cabernet Franc* ou *Cabernet Sauvignon* ou *Merlot* avec divers cépages de *V. vinifera* (résultats exprimés en pourcentages).

	Dimension cépage	Dimension des baies en F <sub>1</sub>			Σ
		p	m	g	
<i>Cabernet Franc</i> (m)					
Bourboulenc	m		97,6	2,4	41
Counoise	m	4,6	91,4	4,0	87
Jurançon noir	m	9,0	89,5	1,5	105
Macabeu	m	0,7	91,3	8,0	81
Meunier	m	9,1	90,9		22
Plant Droit	g		94,7	5,3	85
<i>Cabernet sauvignon</i> (m)					
Aramon	g	0,5	97,5	2,0	491
Bourboulenc	m	0,7	98,5	0,8	137
Carignan	m	3,0	96,3	0,7	230
Clairette	m	8,7	87,1	4,2	86
Cinsaut	g	1,3	93,5	5,2	154
Chenin Blanc	m	17,1	82,9		35
Gamay	m	8,2	91,3	0,5	133
Grenache	m	1,7	96,9	1,4	1028
Gibi	m	0,7	98,3	1,0	410
Jurançon blanc	g		100,0		31
Macabeu	m	1,4	96,5	2,1	69
Plant Droit	g	1,5	97,0	1,5	67
Syrah	m	7,0	93,0		108
Ugni Blanc	m	2,8	93,6	3,6	195
<i>Merlot</i> (m)					
Carignan	m		94,2	5,8	44
Cot	m		100,0		12
Gamay	m	1,0	97,4	1,6	191
Grenache	m	4,6	91,6	3,8	415
Marsanne	m	3,9	94,8	1,3	39
Persan	m	7,6	92,4		33
Poulsard	m	1,2	96,4	2,4	43
Syrah	m		100,0		10
Tannat	m	0,5	98,6	0,9	112
Ugni Blanc	m	1,8	94,4	3,8	29

## 8. Transmission héréditaire de la fertilité en grappes des bourgeons débouffés

Lors des observations qui sont effectuées au domaine de Vassal il est évalué la fertilité des bourgeons débouffés. Elle est exprimée en nombre de grappes pour dix rameaux développés.

Dans le cas qui nous occupe la fertilité du *Cabernet franc* est de 7, du *Cabernet Sauvignon* de 10 et du *Merlot* de 10.

Les résultats des observations sont présentés dans les figures 1 et 2.

Il apparaît que le *Cabernet franc* transmet moins de fertilité à ses descendants F1. Le *Merlot* paraît donner les individus les plus fertiles (jusqu'à 40).

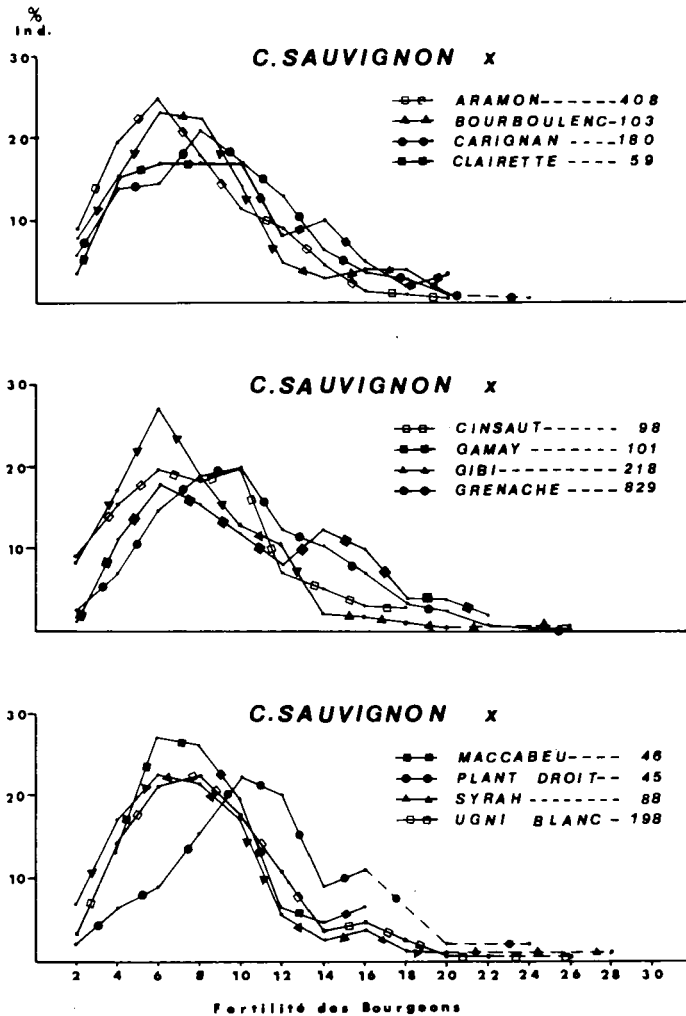


Fig. 1 - Répartition des descendants F1 (pourcentages d'individus) selon la fertilité de leurs bourgeons débouffés, dans le cas des croisements entre *Cabernet-Sauvignon* et différents cépages de *Vitis vinifera L.*

## 9. Transmission héréditaire de "l'intensité colorante du vin"

Au domaine de Vassal les plants de semis suffisamment productifs et pas trop sensibles au *Botrytis cinerea* voient la vendange qu'ils portent, traitée en microvinification. Les vins obtenus sont ensuite dégustés et analysés. Il est en particulier mesuré l'intensité colorante des vins rouges au moyen du colorimètre Dubos, en comparaison avec du vin de *Cinsaut* dont l'intensité colorante est généralement faible.

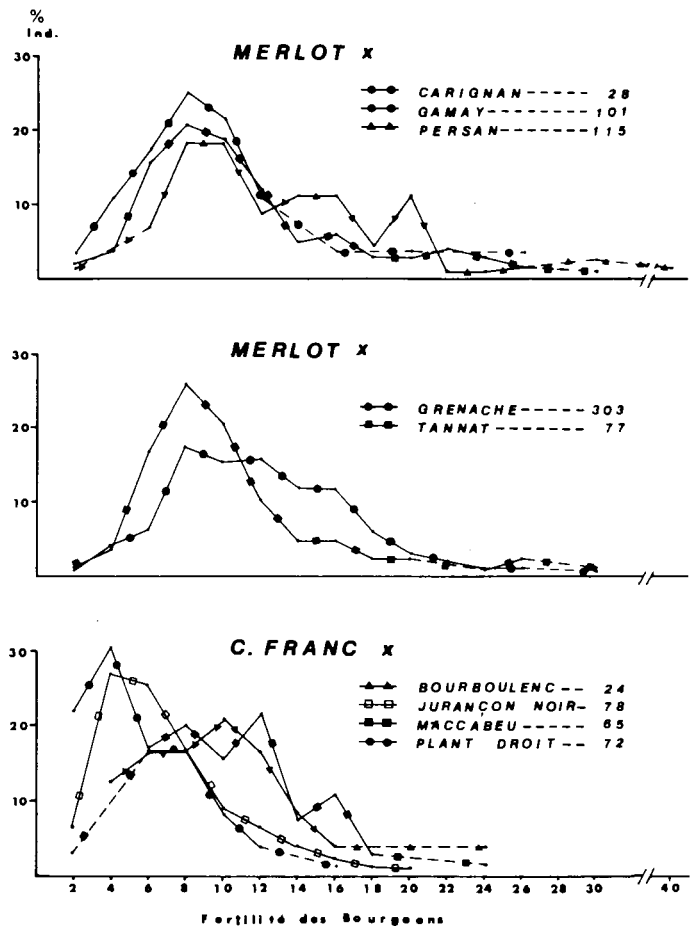


Fig. 2 - Répartition des descendants F1 (pourcentages d'individus) selon la fertilité de leurs bourgeons débouffés dans le cas des croisements entre *Merlot* ou *Cabernet Franc* et différents cépages de *Vitis vinifera L.*

L'intensité colorante du *Cabernet franc* est égale à 1,0 fois celle du *Cinsaut*, celle du *Cabernet Sauvignon* à 3,7 fois celle du *Cinsaut* et celle du *Merlot* à 2,6 fois celle du *Cinsaut*.

Quelques résultats partiels ont pu être rassemblés pour quelques F1. Il sont donnés dans les figures 3 et 4.

On observe:

1) Que dans le cas du croisement entre *Cabernet franc* ou *Cabernet Sauvignon* ou *Merlot* avec une autre variété à baies colorées on peut obtenir des descendants à vin nettement plus colorés que le parent donnant le vin le plus foncé.

2) Que dans le cas du croisement du *Cabernet Sauvignon* avec des variétés blanches (*Gibi* ou *Bourdoulenc*) on obtient des descendants à baies noires donnant des vins plus colorés que le *Cabernet Sauvignon*.

3) Que le *Cabernet Sauvignon* donne en F1 des descendants à vin bien coloré en proportion plus importante que le *Cabernet franc* ou le *Merlot*.

Il nous a été possible de disposer de quelques résultats concernant le croisement du *Cabernet Sauvignon* par un certain nombre d'hybrides F1 issus du croisement *Grenache x Merlot* dont les baies étaient noires et fournissaient des vins plus ou moins colorés. Parmi les nouveaux descendants il s'en trouvait qui donnaient des vins extrêmement colorés jusqu'à quinze et quarante fois le *Cinsaut*.

## Conclusion

Les trois variétés *Cabernet franc*, *Cabernet-Sauvignon* et *Merlot*, qui appartiennent à la même famille de cépages de *Vitis vinifera L.* ont, dans les croisements avec d'autres variétés, des com-

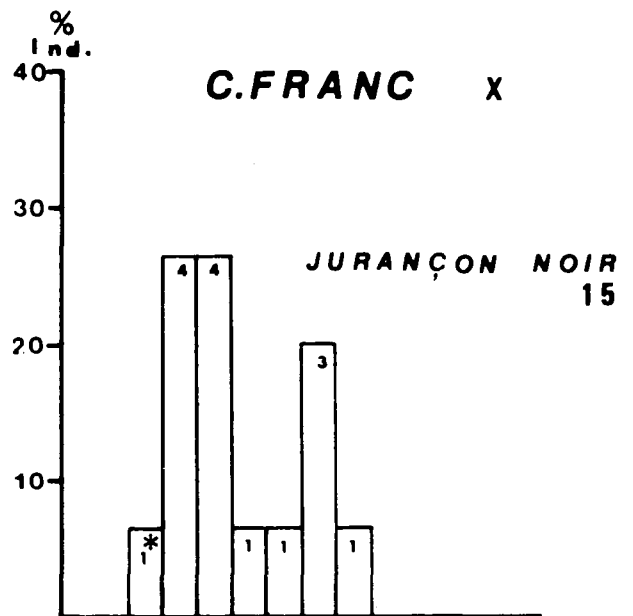
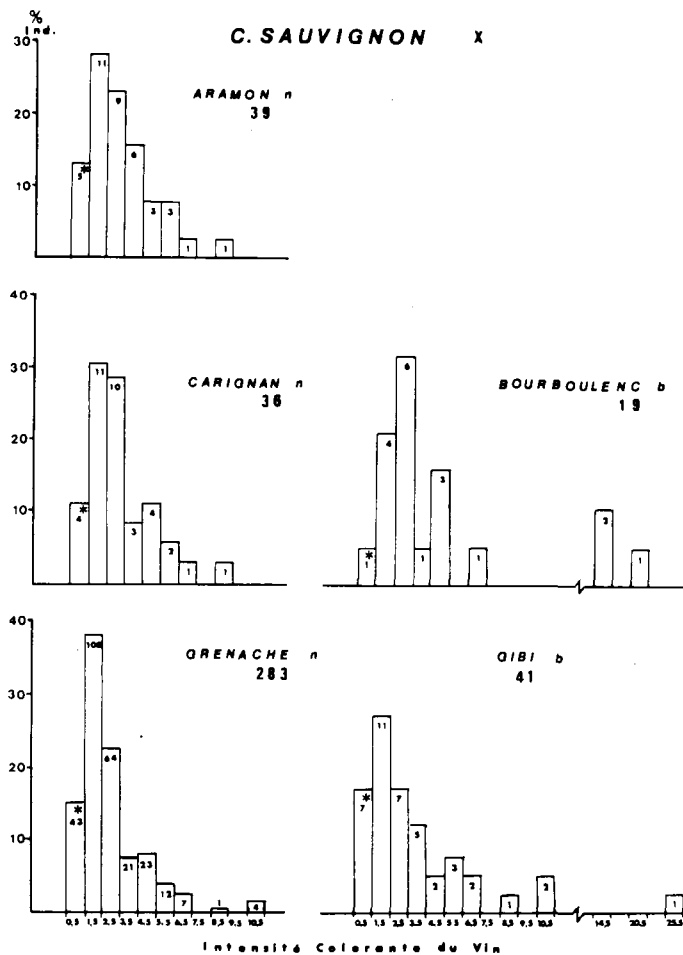


Fig. 3 - Répartition des descendants F1 (pourcentages d'individus) selon l'intensité colorante de leur vin dans le cas des croisements entre *Cabernet Sauvignon* et différents cépages noirs et blancs de *Vitis vinifera* L. \*: nombre d'individus par intensité colorante de vin

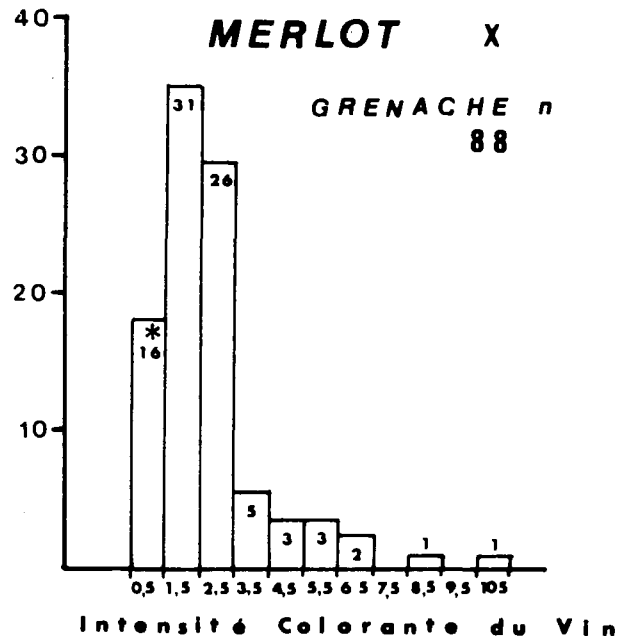


Fig. 4 - Répartition des descendants F1 (pourcentages d'individus) selon l'intensité colorante de leur vin, dans le cas des croisements entre *Cabernet Franc* ou *Merlot* et différents cépages noirs de *Vitis vinifera* L. \*: nombre d'individus par intensité colorante de vin.

portements identiques pour la transmission héréditaire du sexe des fleurs, de la couleur des baies, de leur dimension et de la compacité des grappes.

Par contre le *Cabernet Sauvignon* fait apparaître dans les descendance plus de tardiveté pour le débourrement des bourgeons et la maturité des baies. De plus, cette variété est un peu plus favorable à l'obtention de grosses grappes et de couleur dans le vin.

Le *Cabernet franc* fait apparaître moins de fertilité des bourgeons en grappes dans les descendance de croisement.

Remerciements: Les Auteurs adressent leur reconnaissance au personnel technique du Domaine de Vassal (I.N.R.A.) qui a réalisé les nombreuses notations dans les collections de vigne.

#### BIBLIOGRAPHIE

- Carbonneau A. (1983) - *Stérilités mâle et femelle dans le genre Vitis*. I. Modélisation de leur hérédité. *Agronomie*, 3 (7), 635-644.  
 Levadoux L. (1946) - *Etude de la fleur et de la sexualité chez la vigne*. *Ann. Ec. nat. Agric. de Montpellier*, 27, 1-89.

#### RESUME

#### TRANSMISSION HEREDITAIRE DES PRINCIPAUX CARACTERES DES CEPAGES CABERNET FRANC, CABERNET SAUVIGNON ET MERLOT (VITIS VINIFERA)

Au Domaine de Vassal, à Marseillan-Plage, le *Cabernet franc* a été croisé avec 6 cépages (7 croisements avec 533 descendants), le *Cabernet Sauvignon* avec 14 cépages (27 croisements avec 3723 descendants), le *Merlot* avec 11 cépages (24 croisements avec 1400 descendants). L'interprétation des observations effectuées, souvent pendant plusieurs années sur chaque plant de semis, a permis de déterminer le mode de conditionnement des caractères suivants:

— sexe des fleurs: les trois variétés qui sont à fleurs hermaphrodites son hétérozygotes pour le couple de gènes déterminant le sexe;



- couleur des baies: les trois variétés son hétérozygotes pour le couple de gènes déterminant la couleur. A noter que le Cabernet Sauvignon fournit dans les croisements le plus de descendants à baies de couleur noire, noir-rougeâtre, rose, gris et rouge;
- dates de débourrement et de maturité: pour les trois variétés, elles dépendent de systèmes polygéniques, le Cabernet Sauvignon entraînant le plus de tardiveté;
- compacité des grappes: pas de différences entre les trois variétés;
- Le Cabernet Sauvignon donne dans les descendanceles les proportions les plus élevées de plants à grosses grappes;
- pour la dimension des baies le Cabernet Sauvignon fournit dans les croisements moins de descendants à grosses baies que le Merlot et le Cabernet franc.

## EFFET D'HÉTÉROISIS DANS LES CROISEMENTS D'INZUCHT-HÉTÉROISIS DE LA VIGNE

D. POSPÍŠILOVÁ - V. PÁLENÍK

Institut de Recherches Viti-vinicoles - Bratislava (Tchecoslovaquie)

Les premiers résultats des croisements d'inzucht-hétéroisis apportant un considérable effet d'hétéroisis dans les caractères "fertilité, vitalité et précocité de maturation", pour les cépages Traminer et Valtelin rouge-blanc, nous les avons déjà publiés dans nos travaux précédents (Pospíšilová, 1974 et 1975). Nous avons attiré l'attention des lecteurs sur les écueils de cette méthode de sélection

demandant, pour atteindre un résultat, au moins deux générations issues de semis ce qui chez la vigne exige assez de temps. Etant donné nos résultats positifs, nous avons poursuivi notre travail et c'est pourquoi nous pouvons maintenant interpréter les résultats des croisements d'inzucht-hétéroisis, surtout du point de vue des caractères agronomiques.

### Matériel et méthode

Après la première autogamie des populations autofécondées en fructification des Traminer (I<sub>1</sub>TR) et Müller-Thurgau (I<sub>1</sub>MT), nous avons fait les croisements réciproques par souches. Nous n'avons pas pu sélectionner les souches-mère de Traminer du point de vue des caractères de qualité parce que toute la population souffrait de la forte dépression. Le Müller-Thurgau, pour sa part, ne manifeste pas une telle dépression d'inzucht et c'est pourquoi il était possible de choisir des souches aux croisements. Nous avons

Tab. 1 - Effets d'inzucht-hétéroisis sur le poids de raisin sur souche des cépages Traminer et Müller Thurgau

Populations issues de l'autofécondation et de leurs croisements	n	Poids moyen en raisin d'une souche /en g/			Effets d'hétéroisis /en %/	t	F
		$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	v %			
I <sub>1</sub> Traminer /TR/	35	183,29	36,64	118,26			
I <sub>1</sub> Müller Thurgau /MT/	25	758,80	78,32	51,61	100,0	7,29**	3,26**
<i>Année 1983</i>							
I <sub>1</sub> TR x I <sub>1</sub> MT	17	2405,88	368,99	63,24	307,06	5,19**	15,09**
	3	2286,67	582,07	44,09	301,35	5,33**	6,36**
	18	1160,0	192,38	70,36	152,87	2,15*	4,34**
	9	2059,44	446,87	65,10	271,41	4,45**	11,72**
$\hat{x}$ I <sub>1</sub> TR x I <sub>1</sub> MT	47	1854,78	191,83	70,90	244,41	4,60**	11,28**
I <sub>1</sub> MT x I <sub>1</sub> TR	22	2941,36	330,0	52,62	387,63	6,82**	15,62**
	5	2003,0	858,24	95,81	263,97	3,13**	24,02**
	12	2522,08	408,64	56,13	332,38	5,86**	13,07**
	9	1653,33	284,57	51,64	217,89	4,22**	4,75**
$\hat{x}$ I <sub>1</sub> MT x I <sub>1</sub> TR	48	2497,29	215,63	59,82	329,11	5,59**	14,55**
<i>Année 1984</i>							
I <sub>1</sub> TR x I <sub>1</sub> MT	17	1401,76	192,99	56,76	184,73	3,46**	4,13**
	3	936,67	374,05	69,17	123,44	0,70	2,74
	16	1540,63	236,68	61,45	203,04	3,69**	5,85**
	5	1392,0	324,52	52,13	183,45	2,84**	3,43**
$\hat{x}$ I <sub>1</sub> TR x I <sub>1</sub> MT	41	1420,73	129,41	58,32	187,23	3,74**	4,48**
I <sub>1</sub> MT x I <sub>1</sub> TR	20	1867,50	333,17	79,79	246,11	3,58**	14,48**
	5	2084,0	463,42	49,72	274,64	5,07**	7,00**
	9	3147,22	579,93	55,28	414,76	6,58**	19,74**
	11	1687,27	320,89	63,08	222,36	3,86**	7,39**
$\hat{x}$ I <sub>1</sub> MT x I <sub>1</sub> TR	45	2103,44	218,86	69,80	277,21	4,48**	14,06**

fait notre choix surtout pour les individus à une teneur élevée en sucre.

Après l'entrée en fructification des populations issues des croisements d'inzucht-hétérosis, nous avons déterminé la disjonction de différents caractères. Nous allons traiter, dans la présente étude, du rendement en raisin, de la grosseur des grappes et des baies, de la teneur du moût en sucre et en acides.

Le nombre des souches issues des croisements des individus affectés d'une dépression de fertilité était relativement faible; des croisements I<sub>1</sub>TR par I<sub>1</sub>MT, nous n'avons évalué que 47 (en 1983) et 48 (en 1984) souches fertiles, des croisements I<sub>1</sub>MT par I<sub>1</sub>TR respectivement 41 et 45 souches.

Les résultats des valeurs des différents caractères ont été comparés avec les rapports de disjonction des populations autofécondées I<sub>1</sub> de Traminer et I<sub>1</sub> de Müller-Thurgau. Pour pouvoir montrer la force probante de l'effet d'hétérosis, nous les avons traités par le t-test et par le F-test d'homogénéité.

## Résultats

### Rendement en raisin par souche

Ce caractère manifeste un fort effet d'hétérosis, d'une très haute force probante chez tous les croisements d'inzucht-hétérosis, à l'exception d'un cas à faible nombre d'individus (voir le tabl. 1). Les valeurs hautement probantes du t-test prouvent la signification statistique du coefficient de l'effet d'hétérosis et les valeurs

Des différences assez accentuées se manifestent dans les croisements. Elles sont dues à l'hétérozygotie génotypique des partenaires parentaux mis en jeu. Il est pourtant clair que l'effet d'hétérosis est supérieur dans les croisements où on a pris comme cépage maternel le Müller-Thurgau. Ce phénomène était confirmé même dans les deux années d'essai quoique l'année 1984 soit moins favorable du point de vue des rendements en raisin. Il était aussi confirmé par les différences entre les valeurs moyennes pondérées des groupes de croisements.

### Poids moyen des grappes

Même dans ce caractère, il se produit l'effet d'hétérosis à l'égard du meilleur des partenaires parentaux d'inzucht, quoiqu'il soit plus faible que pour le rendement en raisin (voir le tabl. 2). Une dépression d'inzucht marquée est observée surtout dans la population I<sub>1</sub> de Traminer, où, souvent, ne se forment sur le cep que des grappes de vigne ou bien prédominent les petites grappes. Dans les deux populations d'inzucht (I<sub>1</sub>TR et I<sub>1</sub>MT), les petites grappes aux grappes moyennes donnent une disjonction 2 à 1. Dans le croisement I<sub>1</sub> d'individus des deux cépages, ce rapport de disjonction fait 1 à 1 ce qui est confirmé aussi par les moyennes arithmétiques de différents croisements.

Pour ce caractère, l'interaction de l'année ne se manifeste pas

Tab. 2 - Effets d'inzucht-hétérosis sur le poids de la grappe des cépages Traminer et Müller Thurgau

Populations issues de l'autofécondation et de leurs croisements	n	Poids moyen d'une grappe /en g/			Effets d'hétérosis /en %/	t	F
		$\bar{x}$	$s\bar{x}$	v %			
I <sub>1</sub> Traminer /TR/ I <sub>1</sub> Müller Thurgau /MT/	35 25	38,75 59,86	4,39 3,65	67,03 30,52	100,0	3,49**	2,02*
<i>Année 1983</i>							
I <sub>1</sub> TR x I <sub>1</sub> MT	17	71,31	10,76	62,19	119,13	1,16	5,89**
1/4 x 2/37	3	72,90	5,16	12,26	121,78	1,20	4,18
1/69 x 2/43	18	98,67	6,26	26,93	164,83	5,68**	2,12*
1/63 x 3/34	9	100,89	7,81	28,23	168,46	5,35**	1,64
1/63 x 2/15							
$\hat{x}$ I <sub>1</sub> TR x I <sub>1</sub> MT	47	87,54	5,13	40,20	146,24	3,67**	3,71**
I <sub>1</sub> MT x I <sub>1</sub> TR	22	98,88	7,16	33,96	165,19	5,03**	3,38**
2/31 x 1/68	5	76,14	22,31	65,52	127,20	1,31	7,46**
2/36 x 1/47	12	90,18	6,65	25,55	150,65	4,34**	1,59
2/14 x 1/47	9	57,18	6,06	31,78	95,52	0,38	1,01
2/37 x 1/64							
$\hat{x}$ I <sub>1</sub> MT x I <sub>1</sub> TR	48	86,52	4,89	39,15	144,54	3,66**	3,44**
<i>Année 1984</i>							
I <sub>1</sub> TR x I <sub>1</sub> MT	17	84,28	8,70	42,58	140,80	2,90**	3,86**
1/4 x 2/37	3	78,30	24,13	53,39	130,81	1,43	5,23**
1/69 x 2/43	16	107,99	9,76	36,15	180,40	5,34**	4,57**
1/63 x 3/34	5	99,88	9,38	21,0	166,86	4,37**	1,32
1/63 x 2/15							
$\hat{x}$ I <sub>1</sub> TR x I <sub>1</sub> MT	41	95,0	5,76	38,80	158,70	4,44**	4,07**
I <sub>1</sub> MT x I <sub>1</sub> TR	20	89,35	8,59	43,0	149,26	3,39**	4,42**
2/31 x 1/68	5	81,60	17,19	47,09	136,32	1,99	4,42**
2/36 x 1/47	9	83,87	5,56	19,89	140,11	3,45**	1,20**
2/14 x 1/47	11	56,76	5,93	34,68	94,82	0,46	1,16
2/37 x 1/64							
$\hat{x}$ I <sub>1</sub> MT x I <sub>1</sub> TR	45	79,43	4,92	41,53	132,69	2,74**	3,26**

Tab. 3 - Effets d'inzucht-hétérosis sur la grosseur moyenne de la baie /en mm/ année 1983

Populations issues de l'autofécondation et de leurs croisements	n	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	v %	Effets d'hétérosis /en %/	t	F
I <sub>1</sub> Traminer /TR/	35	9,69	0,23	13,89			
I <sub>1</sub> Müller Thurgau /MT/	25	9,76	0,27	13,64	100,0	0,20	1,02
I <sub>1</sub> TR x I <sub>1</sub> MT							
1/4 x 2/37	17	11,29	0,72	26,15	115,68	2,28*	4,93**
1/69 x 2/43	3	13,0	1,15	15,38	133,20	3,81**	2,26
1/63 x 3/34	20	13,20	0,59	20,06	135,25	5,67**	3,96**
1/63 x 2/15	9	15,11	1,43	28,36	154,82	5,66**	10,37**
$\hat{x}$ I <sub>1</sub> TR x I <sub>1</sub> MT	49	12,88	0,47	25,49	127,45	4,56**	6,09**
I <sub>1</sub> MT x I <sub>1</sub> TR							
2/31 x 1/68	23	12,83	0,41	15,35	131,45	6,37**	2,19*
2/36 x 1/47	6	11,0	0,45	9,96	112,70	2,11*	1,48
2/14 x 1/47	12	11,75	0,39	11,55	120,39	4,23**	1,04
2/37 x 1/64	11	11,18	0,35	10,44	114,55	3,05**	1,30
$\hat{x}$ I <sub>1</sub> MT x I <sub>1</sub> TR	52	12,02	0,24	14,50	131,97	5,73**	1,72

Tab. 4 - Effets d'inzucht-hétérosis sur la teneur du moût en sucre

Populations issues de l'autofécondation et de leurs croisements	n	Teneur en sucre / en g. l <sup>-1</sup> /			Effets d'hétérosis /en %/	t	F
		$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	v %			
I <sub>1</sub> Traminer /TR/	35	20,55	0,45	12,94			
I <sub>1</sub> Müller Thurgau /MT/	25	19,30	0,48	12,48	100,0	1,83	1,22
<i>Année 1983</i>							
I <sub>1</sub> TR x I <sub>1</sub> MT							
1/4 x 2/37	17	19,11	0,45	9,66	92,99	2,00	2,07
1/69 x 2/43	3	20,33	1,21	10,32	98,93	0,14	1,61
1/63 x 3/34	18	21,89	0,82	15,84	106,96	1,56	1,70
1/63 x 2/15	9	18,74	0,90	14,34	91,19	1,82	1,02
$\hat{x}$ I <sub>1</sub> TR x I <sub>1</sub> MT	47	21,18	0,44	14,91	98,20	0,58	1,28
I <sub>1</sub> MT x I <sub>1</sub> TR							
2/31 x 1/68	22	19,67	0,38	8,95	95,72	1,37	2,28*
2/36 x 1/47	5	20,30	1,07	11,80	98,78	0,20	1,23
2/14 x 1/47	12	23,38	0,77	11,42	113,77	3,18**	1,01
2/37 x 1/64	9	21,54	0,53	7,42	104,82	1,06	2,77
$\hat{x}$ I <sub>1</sub> MT x I <sub>1</sub> TR	48	21,01	0,36	12,0	102,24	0,80	1,11
<i>Année 1984</i>							
I <sub>1</sub> TR x I <sub>1</sub> MT							
1/4 x 2/37	17	18,06	0,72	16,52	87,88	3,04**	1,26
1/69 x 2/43	3	19,53	1,72	15,29	95,04	0,63	1,26
1/63 x 3/34	16	19,44	0,47	9,65	94,60	1,50	2,01
1/63 x 2/15	5	18,02	0,69	8,61	87,69	2,06*	2,93
$\hat{x}$ I <sub>1</sub> TR x I <sub>1</sub> MT	41	18,7	0,38	13,18	91,0	3,15**	1,16
I <sub>1</sub> MT x I <sub>1</sub> TR							
2/31 x 1/68	20	16,31	0,66	16,36	79,37	5,68**	1,01
2/36 x 1/47	5	16,40	0,66	9,03	79,81	3,39**	3,21
2/14 x 1/47	9	19,74	0,77	11,68	96,06	0,83	1,33
2/37 x 1/64	11	18,77	0,83	14,67	91,34	1,92	1,07
$\hat{x}$ I <sub>1</sub> MT x I <sub>1</sub> TR	45	17,61	0,43	16,23	85,69	4,70**	1,16

d'une façon marquée et on peut dire qu'il s'agit d'un caractère génétiquement assez stable. Il y a des différences entre les croisements dans le cadre d'un même groupe d'inzucht-hétérosis ce qui prouve de nouveau encore une forte hétérozygotie.

Du point de vue de l'effet d'hétérosis, les croisements I<sub>1</sub>TR 1/64 par I<sub>1</sub>MT 2/43 et I<sub>1</sub>MT 2/36 par I<sub>1</sub>TR 1/47, traités par le t-test, n'ont pas montré leur force probante. Le croisement I<sub>1</sub>MT 2/37 par I<sub>1</sub>TR 1/64 n'a montré l'effet d'hétérosis ni dans son coefficient, ni dans les spectres des groupes de grosseur de descendance (F-test) non plus. Malgré ce fait, toutes les moyennes pondérées des deux tests de différents groupes de croisements ont une haute force probante.

### Grosseur des baies

C'est aussi un caractère indépendant de l'interaction de l'année. Son effet d'hétérosis est aussi essentiellement plus faible que chez le rendement en raisin, on le rencontre néanmoins chez tous les croisements et il est prouvé par le t-test (voir le tabl. 3). Les différences entre les croisements avec le cépage Müller-Thurgau et celui de Traminer en tant que maternels, sont minimes.

Ce qui est intéressant dans ce caractère, c'est le fait que, dans le croisement d'inzucht-hétérosis, la disjonction des baies grosses se fait aussi, c'est-à-dire pour les cépages de cuve, de 20mm de diamètre. De ce point de vue, c'est le croisement I<sub>1</sub>TR 1/63 par I<sub>1</sub>MT 2/15 qui attire notre attention parce que le spectre du caractère "grosseur des baies" (F-test) est le plus large. Dans les

deux populations parentales issues d'autofécondation, la plupart des baies se range dans le groupe des petites baies (diamètre moins de 10 mm).

Dans les croisements avec le cépage maternel I<sub>1</sub>TR, l'agrandissement du spectre de la grosseur des baies est substantiel, dans les croisements avec le cépage maternel I<sub>1</sub>MT non substantiel ce que démontre le F-test de différentes moyennes pondérées.

### Teneurs des moûts en sucre-et en acides

On a confirmé nos résultats des croisements d'inzucht-hétérosis des cépages Traminer et Valtelin rouge-blanc (Pospíšilová, 1974), surtout dans le sens qu'on ne peut pas atteindre d'effets d'hétérosis. Du tableau 4 résulte que, pour la plupart de nos croisements, la teneur du moût en sucre est située au dessous de la valeur du meilleur des partenaires parentaux et ce n'est que dans des croisements isolés qu'on observe un effet d'hétérosis peu accentué (c'était seulement dans le cas du croisement I<sub>1</sub>MT 2/14 par I<sub>1</sub>TR 1/47 en 1983. Cela est confirmé aussi par les données statistiques du t-test qui n'a pas pour les autres croisements sa force probante, à cause de son effet positif. De même, pour le caractère "teneur en sucre", le croisement d'inzucht-hétérosis n'a pas pour conséquence l'agrandissement du spectre et les valeurs restent dans les limites des formes de départ.

Les résultats semblables ont été atteints même pour le caractère "acidité du moût" (voir le tabl. 5).

Ces deux caractères sont disjoints d'une façon intermédiaire

Tab. 5 - Effets d'inzucht-hétérosis sur la teneur en acides

Populations issues de l'autofécondation et de leurs croisements	n	Acidité / en még. 1 <sup>-1</sup> /			Effets d'hétérosis /en %/	t	F
		$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	v %			
I <sub>1</sub> Traminer /TR/ I <sub>1</sub> Müller Thurgau /MT/	35 25	8,33 7,22	0,34 0,22	24,25 15,23	100,0	2,49*	3,36**
<i>Année 1983</i>							
I <sub>1</sub> TR x I <sub>1</sub> MT	17	5,87	0,39	27,41	92,99	4,38**	1,57
1/69 x 2/43	3	8,73	1,45	28,82	98,93	0,32	1,56
1/63 x 3/34	18	6,31	0,21	14,09	106,96	4,03**	5,15**
1/63 x 2/15	9	8,38	1,26	45,24	91,19	0,05	3,53
$\hat{x}$ I <sub>1</sub> TR x I <sub>1</sub> MT	47	6,70	0,33	33,71	98,20	3,38**	1,25
I <sub>1</sub> MT x I <sub>1</sub> TR	22	6,68	0,31	22,05	95,72	3,31**	1,88
2/31 x 1/68	5	7,04	0,72	22,74	98,78	1,36	1,59
2/14 x 1/47	12	6,08	0,38	21,82	113,77	3,59**	2,31
2/37 x 1/64	9	7,91	0,61	23,0	104,82	0,57	1,23
$\hat{x}$ I <sub>1</sub> MT x I <sub>1</sub> TR	48	6,80	0,23	23,46	102,24	3,86**	1,60
<i>Année 1984</i>							
I <sub>1</sub> TR x I <sub>1</sub> MT	17	7,94	0,91	47,30	87,88	0,49	3,46**
1/69 x 2/43	3	9,93	1,06	18,46	95,04	1,32	1,21
1/63 x 3/34	16	9,85	0,52	21,32	94,60	2,46*	1,08
1/63 x 2/15	5	11,08	0,58	11,74	87,69	2,94**	2,41
$\hat{x}$ I <sub>1</sub> TR x I <sub>1</sub> MT	41	9,21	0,43	32,49	91,0	1,48	2,20*
I <sub>1</sub> MT x I <sub>1</sub> TR	20	12,63	0,49	17,32	79,37	7,37**	1,17
2/36 x 1/47	5	9,90	0,99	22,35	79,81	1,61	1,20
2/14 x 1/47	9	7,58	0,36	14,13	96,06	1,07	3,54*
2/37 x 1/64	11	12,24	1,24	33,59	91,34	4,28**	4,15**
$\hat{x}$ I <sub>1</sub> MT x I <sub>1</sub> TR	45	11,22	0,49	29,06	85,69	4,60**	2,61**

dans les limites des partenaires parentaux. Quant aux influences de l'année, ces caractères sont instables. La variabilité de la qualité dans les années entre des croisements différents est évidente.

## Discussion

Le phénomène de l'effet accusé d'hétérosis dans les croisements autofécondés des partenaires parentaux joue, en ce qui concerne les caractères agronomiques, un rôle fondamental dans la sélection. De plus, chez la vigne où l'effet d'hétérosis est fixé par la multiplication végétative, tous les caractères agronomiques n'ont pas un effet d'hétérosis marqué.

Dans la présente étude, nous trouvons un important effet d'hétérosis et un large spectre de fertilité dans les croisements d'inzucht-hétérosis de cépages Traminer et Müller-Thurgau, à savoir non seulement en ce qui concerne le rendement par souche mais aussi le nombre d'individus fertiles dans la population d'inzucht-hybride. De ce point de vue, à partir de ce caractère, le choix d'un nombre plus faible d'individus croisés est possible.

L'effet d'hétérosis moins fort qu'il est d'une haute force probante, est prouvé même pour les caractères "poids moyen de grappes" et "grosseur de baies". La ségrégation transgressive dans des groupes supérieurs de poids et de grosseur est surprenante parce que, dans les croisements intervariétaux non-consanguins, l'héritéité de ces caractères fluctue dans toute la gamme de variation dans le cadre de deux partenaires parentaux où la transgression est rare et où prédominent les valeurs moins hautes de ces caractères (Bozinova-Boneva, 1974; Costacurta, Cancellier, De Luca, 1980). Si on veut atteindre un meilleur résultat de sélection, par exemple en ce qui concerne la grosseur des baies, on prend dans le croisement les cépages à grosses baies. Pour ce caractère, nos cépages parentaux étaient à un niveau à peu près identique de grosseur.

Dans le caractère "teneurs du moût en sucre et en acides", nous avons de nouveau confirmé qu'il ne manifeste pas d'effet d'hétérosis et sa disjonction dans les populations d'inzucht-hétérosis ne dépasse pas celle des partenaires parentaux. Il est, à cet effet, indispensable de faire un choix juste des cépages parentaux.

Chez les caractères où l'effet d'hétérosis se manifeste d'une façon marquée, la sélection positive n'est pas désirable dans la population  $I_1$  d'un cépage respectif. Un niveau supérieur de l'homozgotie d'une population d'inzucht se reflète dans une dépression plus forte que la plupart des caractères agronomiques. L'effet d'hétérosis d'individus à haute homozgotie est supérieur dans les croisements. Nous sommes, en accord avec les résultats d'autres auteurs (Hrubý, 1961), persuadés que, pour le Traminer dans la première génération d'inzucht, il y a 50% de descendance homozygote tandis que, pour le Müller Thurgau 25% seulement,

étant donné son double métissage dont l'origine est signalée comme croisement du Riesling du Rhin par le Sylvain vert (Becher, 1976). Sur la base de ces connaissances théoriques et de nos observations des populations  $I_1$ , il sera indispensable de créer  $I_2$  générations de différents cépages à une dépression plus faible d'inzucht, dans le but d'atteindre un effet supérieur d'hétérosis.

Dix années se sont écoulées depuis que nos premiers travaux sur l'effet d'inzucht-hétérosis de la vigne étaient parus. Au cours de cette époque, d'autres sélectionneurs ont commencé à mettre en pratique cette méthode d'hybridation. Todorov 1984 signale ses premiers résultats de la mise en oeuvre de cette méthode avec les cépages Bolgar, Cardinal et Muscat d'Hambourg et indique un effet d'hétérosis pour le pouvoir germinatif des pépins et pour une plus grande vitalité de plants de semis. Calò, Cancellier, Costacurta et Lorenzoni 1980 ont mis en essai des populations autofécondées de cépages de table et, suivant leur communication personnelle, les descendances issues de croisements d'inzucht-hétérosis ont montré, dans leur première fructification en 1984, un effet marqué d'hétérosis dans le caractère "grosseur de baies".

En bref, il s'agit d'une méthode de sélection qui, appliquée dans une plus grande envergure, peut même chez la vigne ainsi que chez les autres plantes apporter, selon toute probabilité, de rares résultats de sélection non seulement dans les caractères agronomiques mais aussi même pour une meilleure résistance des cépages d'origine européenne aux maladies et aux facteurs écologiques défavorables.

## BIBLIOGRAPHIE

- Becker H. (1976) - *Genetische Konstitution, züchterische Bearbeitung und Leistung der Rebsorte Müller-Thurgau*. Wein-Wissenschaft, 31, 26-35.
- Bozinova-Boneva I. (1974) - *Héritéité des principaux caractères de valeur économique par croisement intervariétal des cépages à raisin de table*. I. Grandeur de la grappe, grosseur et forme des baies du raisin. *Gradin, i lozar. nauka*, 11, 7, 93-101.
- Calò A., Cancellier S., Costacurta A., Lorenzoni C. (1980) - *Studio sulla trasmissione ereditaria del carattere "precocità" nella Vitis Vinifera L.* Riv. di Viticoltura e di Enologia di Conegliano, 33, 3-11.
- Costacurta A., Cancellier S., De Luca R. (1980) - *Influenze genetiche nel determinismo del peso del grappolo in uve da tavola*. Riv. di Viticoltura e di Enologia di Conegliano, 33, 481-486.
- Hrubý K. (1961) - *Genetika*, CSAV, Praha
- Pospisilová D. (1974) - *Heterosiszüchtung bei Vitis vinifera L.* *Vitis*, 13, 89-97.
- Pospisilová D. (1975) - *Ertragssteigerung innerhalb der Heterosiskreuzungen von Vitis Vinifera L.* *Mitteilungen, Rebe und Wein*, 25, 167-170.
- Todorov I. (1984) - *Inbriding kato selekcijonen metod pri lozata*. *Lozarstvo i vinarstvo*, 23, 26-30.

## RESUME

### EFFET D'HETEROSIS DANS LES CROISEMENTS D'INZUCHT-HETEROSIS DE LA VIGNE

Dans la première génération d'inzucht  $I_1$  de Traminer et dans celle de Müller-Thurgau, nous avons procédé aux croisements des individus  $I_1TR_e$  par  $I_1MT_r$  et vice-versa. Les caractères de fertilité (poids de raisin par souche, poids moyen de grappes, grosseur des baies, teneurs du moût en sucre et en acides) des populations autofécondées de ces croisements, ont été comparés avec ceux des populations de partenaires parentaux d'inzucht  $I_1TR_e$ ,  $I_1MT_r$ .

Nous avons constaté un haut effet d'hétérosis dans le rendement des souches en raisin (en 1983, 287, 22%, en 1984, 234,31%, dans le poids moyen des grappes en 1983, 145,39% en 1984 145,09% et dans la grosseur des baies 127,45%. L'effet d'hétérosis dans le rendement et souches est supérieur si la cépage maternel est le Müller-Thurgau. Dans ce sens, les différences dans le poids des grappes et la grosseur de baies sont pour les croisements d'inzucht-hétérosis substantiellement plus fréquentes que pour les autogamies. Par ce croisement, on peut atteindre une transgression des caractères mentionnés à l'égard des partenaires parentaux.

En ce qui concerne le caractère "teneurs du moût en sucre et en acides", il n'y a pas d'effet d'hétérosis. Les valeurs obtenues sont situées dans les limites de génération parentales d'inzucht.

# EVALUATION SENSORIELLE DE VINS DE NOUVELLES VARIETES DE VITIS VINIFERA COMPAREES A LA VARIETE TRADITIONNELLE ELBLING BLANC, DANS LA REGION VITICOLE DE LA HAUTE MOSELLE

H. SCHÖFFLING - G. BENDER

Station Centrale De Sélection Clonale - Trèves (Rep. Fed. of Germany)

## Introduction

Dans mon exposé, je veux aborder l'évaluation de vins provenant de diverses variétés cultivées sur porte-greffe SO 4 en sol calcaire. Parmi ces variétés, on trouve le cépage Elbling Blanc connu pour ses résultats quantitatifs et que les Romains cultivaient déjà chez nous (v. tableau 1). On trouve également d'une part, le cépage protégé et recommandé Faberrebe et d'autre part 8 nouveaux cépages pas encore classés dont seulement Osiris n'est pas protégé. L'emplacement «Nittel» se trouve dans la région nommée Moselle-Sarre-Ruwer, en Haute Moselle, à 20 Km au sud-ouest de Trèves. Jusqu'à ces derniers temps, c.-à.-d. en 1974 on se servait de

l'Elbling pour la fabrication du mousseux allemand notamment du mousseux avec mention spéciale selon la réglementation du vin allemand. La vente des vins d'Elbling était ainsi assurée, puisque le produit de base devait provenir à 60% de vins allemands. Ce règlement fut aboli par un jugement de la Cour Européenne de Justice au début de 1975. La dénomination «mousseux allemand» pouvait être désormais encore utilisée quand le produit de base n'était pas du vin allemand. Cette modification eut des conséquences négatives sur la vente de l'Elbling. Ce fut avec d'autres motifs la raison de lancer un programme de recherches sur les variétés en 3 phases, durant 5 ans chacune. Le but recherché était de remplacer ou de compléter la variété Elbling par des variétés meilleures sur le plan qualitatif.

## Matériel et méthodes

Sur les recherches effectuées dans les vignobles, comportant 4 répétitions nous disposons de données de récoltes de 7 années consécutives, celles de 1973 à 1979. Des comptes-rendus ont été publiés (1, 3, 4, 5), entre autres dans le dernier numéro de «Connaissance de la Vigne et du Vin». Pour l'évaluation des vins par contre, on a étudié les résultats de 4 années seulement et ce pour des raisons techniques et économiques. La vinification a été faite avec 50 litres par variété et année en 2 répétitions. 1974 fut une année médiocre, 1973/75 des années moyennes et 1976 une très bonne année. Cela se montre surtout dans la durée de l'ensoleillement annuel en heures qui a varié de 1448 en passant par

Tableau 1

Fiche d'évaluation des vins

Expert: ..... Nom: .....  
 Consommateur: ..... Adresse: .....  
 Masculin: 10 points = inacceptable  
 Féminin: 100 points = excellent

1973er	Vin 1	Vin 2	Vin 3	Vin 4	Vin 5	Vin 6	Vin 7	Vin 8	Vin 9	Vin 10	Vin 11
Prem. impression											
Couleur											
Odeur											
Goût	Sucre rés.										
	Acidité										
	Corps										
	Arome										
	Tannin										
Franc de goût											
Type régional											

1974er	Vin 12	Vin 13	Vin 14	Vin 15	Vin 16	Vin 17	Vin 18	Vin 19	Vin 20	Vin 21	Vin 22
Prem. impression											
Couleur											
Odeur											
Goût	Sucre rés.										
	Acidité										
	Corps										
	Arome										
	Tannin										
Franc de goût											
Type régional											

1975er	Vin 23	Vin 24	Vin 25	Vin 26	Vin 27	Vin 28	Vin 29	Vin 30	Vin 31	Vin 32	Vin 33
Prem. impression											
Couleur											
Odeur											
Goût	Sucre rés.										
	Acidité										
	Corps										
	Arome										
	Tannin										
Franc de goût											
Type régional											

1976er	Vin 34	Vin 35	Vin 36	Vin 37	Vin 38	Vin 39	Vin 40	Vin 41	Vin 42	Vin 43	Vin 44
Prem. impression											
Couleur											
Odeur											
Goût	Sucre rés.										
	Acidité										
	Corps										
	Arome										
	Tannin										
Franc de goût											
Type régional											

Catalogue des cépages de raisins de cuve protégés et non protégés en RFA selon liste des cépages du Bundesortnamment avec permission de culture en Moselle-Palatinate selon la liste du Land

• Culture autorisée - Culture non autorisée \* Cépages rouges

Cépages de raisins de cuve non protégés	Ahr Moselle-Sarre-Ruwer Rhin moyen Nahe Rhénanie-Palatinat Moselle rhénane	Cépages de raisins de cuve protégés	Ahr Moselle-Sarre-Ruwer Rhin moyen Nahe Rhénanie-Palatinat Moselle rhénane
1 Auxerrois blanc	- + - - - -	1 Helfensteiner *	- - - - - -
2 Dalkauer	- - - - - -	2 Heroldrebe *	+ - - - - -
3 Freisamer	- - - - - -	3 Perle	- - - - - -
4 Sylvaner vert	- - + + + +	4 Faberrebe	- + + + + +
5 Muscat-Morio	- - - + + +	5 Kanzler	- - - + + +
6 Müller-Thurgau	+ + + + + +	6 Huxelrebe	- - - + + +
7 Muscat ottonel	- - - - - -	7 Ehrenfelser	- + + + + +
8 Elbling rouge	- - - - - -	8 Rotberger *	+ - - - - -
9 Chasselas rouge	- - - - - -	9 Optima	+ + + + + +
10 Gewurztraminer	- + + + + +	10 Deckrot *	- - - - - -
11 Pinot gris	+ + + + + +	11 Nobling	- - - - - -
12 Scheurebe	- - - + + +	12 Albalonga	- - - - - -
13 Siegerrebe	- - - + + +	13 Findling	- + - - - -
14 Pinot blanc	- + + + + +	14 Mariensteiner	- - - - - -
15 Elbling blanc	- - - - - -	15 Ortega	+ + + + + +
16 Chasselas blanc	- - - - - -	16 Bacchus	+ + + + + +
17 Riesling blanc	+ + + + + +	17 Domina *	+ - - - - -
18 Rieslaner	- - - - - -	18 Kerner	+ + + + + +
19 Muscadelle jaune	- - - - - -	19 Kolor *	- - - - - -
20 Pinot noir précoce *	+ - - - - -	20 Regner	- - - - - -
21 Limberger *	- - - - - -	21 Reichensteiner	- + + + + +
22 Portugais bleu *	+ - - - - -	22 Würzer	- - - - - -
23 Pinot noir	+ + + + + +	23 Dornfelder *	+ - - - - -
24 Frankenthal *	- - - - - -	24 Fontanera	- - - - - -
25 Dunkelfelder *	+ - - - - -	25 Schönburger	- - - - - -
26 Heunier *	- - - - - -	26 Arnsburger	- - - - - -
27 Sylvaner rouge	- - - - - -	27 Osteiner	- - - - - -

Cépages seulement protégés (pas dans la liste des cépages): Mullener 1969, Carmine 1974, Noblessa 1975, Zähringer 1978, Gutenborner 1979, Rabaner 1979, Gloria 1979, Forta 1979, Senator 1980, Centaro 1980, Wittberger 1981, Pollux 1982, Castor 1982, Dräniesteiner 1984, Comtesse 1984, Diane 1984

1709/1698 à 1919. Pour la méthode d'évaluation des vins nous avons procédé de la façon suivante: les vins examinés des 10 variétés et sur 4 années furent notés selon un schéma à 100 points avec 10 critères (se reporter au tableau 1). En raison du nombre élevé de vins, à savoir 40, on a introduit lors des tests un même vin deux fois par millésime au lieu de procéder à de véritables répétitions.

On a ainsi pu sélectionner les 125 dégustateurs les plus sûrs sur 200 présents au départ. Seules les appréciations de ces 125 dégustateurs furent prises en considération dans les calculs. L'évaluation des vins a eu lieu à dessein à une époque extrêmement tardive, c.-à.-d. en 1983. Les vins avaient donc 7, 8, 9 et 10 ans. Le but recherché était de contrôler entre autres leur capacité de vieillissement, ce qui n'est pas sans intérêt pour les viticulteurs-négociants. On a également évalué des vins des années 1971-1977 à 1 ou 2 ans d'âge. Là, la variété de comparaison Elbling Blanc a été toujours inférieure aux nouveaux cépages (2, 6, 8, 9, 10, 11, 12). Pour des raisons inhérentes aux techniques de l'expérience, la vinification a dû être pratiquée de façon uniforme. Ainsi donc, nous avons procédé à une adduction de levure sélectionnée, à un diverdissage, si nécessaire — pour atteindre le seuil de 8 g/l habituel pour la région. Le volume du sucre résiduel a été établi à 30 g/l et le niveau du  $\text{SO}_2$  ramené à 50 mg/l. Les vins de l'année 1974 qui fut médiocre ont été soumis à une chaptalisation. Toutes les vinifications ont été effectuées selon la réglementation en vigueur.

## Résultats

Cette évaluation sensorielle a montré que, en tenant compte de toutes les 10 caractéristiques et des 4 millésimes, comme nous le voyons au tableau 2, ce sont les nouvelles variétés qui, comparées à l'Elbling Blanc, donnent numériquement les meilleurs résultats. Ce sont surtout les variétés Gutenborner, Fontanara, Forta et Comtessa qui se distinguent.

Pour les caractéristiques prises séparément, il existe pour toutes les années également des différences dans l'évaluation du vin pour chaque variété. Ainsi par exemple, pour la caractéristique *Première Impression*, que vous trouverez comme les autres caractéristiques au tableau 3, les nouvelles variétés ont des résultats significativement meilleurs que la variété de comparaison Elbling Blanc. Les variétés Gutenborner, Comtessa, Fontanara et Forta se distinguent là encore tout spécialement.

Pour ce qui est de la *couleur*, on préfère dans notre région la couleur vert-jaune. Le jaune pâle et une couleur tirant sur l'orange ne sont pas souhaités. Toutes les nouvelles variétés sont pour la coloration significativement supérieures à la variété de comparaison Elbling Blanc. Comtessa et Forta montrent une couleur particulièrement stable.

Pour l'odeur on préfère un vin fin-légèrement parfumé et frais à un vin fade ou qui a un bouquet prononcé. Là encore, les nouvelles variétés ont une évaluation significativement meilleure que l'Elbling Blanc, et parmi elles spécialement Comtessa, Gutenborner et Fontanara.

Le *sucré résiduel* est un critère positif dans notre région s'il s'accorde bien avec le vin. Par contre un vin trop doux ou trop sec sera jugé négativement. Dans notre expérience, la douceur des nouvelles variétés a été jugée significativement plus agréable et c'est le Gutenborner qui sur ce plan s'est le mieux comporté.

En ce qui concerne l'*acidité*, on rejette les vins dont la douceur est forte ou au contraire trop faible. On leur préfère des vins à l'acidité racée et nerveuse. Toutes les nouvelles variétés devaient significativement de loin l'Elbling Blanc sur ce plan et en tête nous trouvons Fontanara, Forta et Gutenborner.

Le *corps* d'un vin doit être charpenté c.-à.-d. relativement riche en alcool et extraits.

Les vins avec un corps trop léger et pauvres en extraits sont jugés négativement. Là encore, les nouvelles variétés surpassent significativement l'Elbling Blanc et ce sont Comtessa, Gutenbor-

ner et Fontanara qui prennent les premières places. Pour l'*arôme* qui doit être fin et fruité il existe de nombreuses différences entre les variétés. L'Elbling Blanc est significativement dépassé par tous les concurrents et ce sont Gutenborner, Comtessa et Fontanara qui se distinguent par leur arôme fin et élégant.

Pour ce qui est du *tanin*, on a donné une note plus faible quand la quantité de tanin dans le vin est à l'origine d'un goût âpre. Dans l'évaluation sensorielle, on peut à ce propos noter de petites différences entre les variétés. Cependant, toutes les nouvelles variétés dominent significativement l'Elbling Blanc.

Le *franç de goût* suppose entre autres une vinification propre. Bien que ce fut le cas, on peut néanmoins noter de petites différences. On a mieux noté les nouvelles variétés que l'Elbling et ce sont Gutenborner, Fontanara et Forta qui furent les mieux notés.

Le *type régional* pour la Moselle-Sarre-Ruwer sont des vins frais et élégants, à l'acidité racée et au parfum décent. On rejette les vins au goût trop alcoolisé à l'acidité trop douce ou trop forte et au bouquet prononcé. Pour cette caractéristique, l'Elbling Blanc, variété régionale, a bizarrement obtenu l'avant-dernière note.

Seulement Schönburger, une variété avec un bouquet prononcé est encore inférieure. Ce sont Gutenborner, Fontanara et Forta, ensuite Faberrebe, Freisamer et Regner qui ont été jugés significativement plus typiques pour le terroir que l'Elbling Blanc.

La *grandeur de la dispersion* par millésime c.-à.-d. la variabilité par millésime pour chaque variété est contenue par les mesures de la dispersion sur le tableau 2.

On constate qu'il y a des variétés où l'écart-type (S) pour toutes les caractéristiques est faible et des variétés où il est grand. Dans le premier groupe on trouve en première ligne la nouvelle variété Forta; à côté de l'Elbling Blanc il faut également noter Faberrebe. Dans le 2<sup>e</sup> groupe on trouve Osiris, Gutenborner et Comtessa. Il ne faudrait cependant pas juger leur manque de constance annuelle trop défavorablement. La variance ( $S^2$ ) comme unité de mesure de la dispersion après examen avec test de Cochran n'est pas d'une différence significative d'une variété à l'autre.

Comme dans l'amélioration de la vigne on se sert de l'écart-type (S) pour fixer le progrès génétique, on peut cependant en conclure que la stabilité annuelle n'est pas encore satisfaisante pour les nouvelles variétés. On ne doit néanmoins pas exclure que le sélectionneur-obtenteur puisse se rapprocher de ce but par le développement de clones.

Comme le montrent les analyses de variance effectuées sur l'ensemble des données il résulte en premier lieu qu'il existe des *interactions* entre variétés et millésimes. Ainsi pour tous les critères de qualité réunis que nous avons au tableau 4 ce sont les variétés suivantes qui ont les meilleurs résultats pour chaque année:

Gutenborner et Regner	en 1973
Fontanara	en 1974
Comtessa et Freisamer	en 1975
Comtessa et Fontanara	en 1976.

Les variétés qui ont les plus mauvais résultats ne sont pas non plus toujours les mêmes chaque année. Ce sont:

Elbling Blanc, Comtessa et Schönburger	en 1973
Osiris et Comtessa	en 1974
Elbling Blanc et Fontanara	en 1975
Elbling Blanc et Freisamer	en 1976

Parmi ces cépages, il existe des *variétés intensives* dont l'évaluation du vin est particulièrement élevée dans les bonnes années comme 1976 et particulièrement basse dans les années médiocres comme 1974, p. ex. Osiris et Comtessa. D'autre part, nous trouvons des *variétés extensives* qui sont relativement mal notées les bonnes années et relativement bien les années médiocres, p. ex. Elbling Blanc et Faberrebe.

Pour le critère Odeur où l'interaction *variétés x millésimes* est représentée graphiquement au tableau 5, on a p. ex. Comtessa en 1976 et 1975 à la 1<sup>ère</sup> place, en 1974 en 9<sup>ème</sup> position et en 1973 à la 8<sup>ème</sup> place.

Il existe aussi des interactions entre *caractéristiques et millésimes* — représentées graphiquement au tableau 5 pour Osiris p. ex.

Tableau 2

Paramètres statistiques pour la dispersion de millésime, variances des cépages: pas différentes selon test de Cochran à la limite de P < 5 %

Critères d'évaluation		Elbling*	Faber-rebe	Fontanara	Forta	Freisamer	Comtessa	Gutenborner	Osiris	Regner	Schönburger	
Première impression	N	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	
	$\bar{x}$	42,3	52,4	55,4	54,1	51,4	55,3	56,6	49,8	52,6	49,5	
	S	6,4	6,0	8,1	5,3	7,2	10,4	8,3	10,5	5,2	6,0	
	S %	15,0	11,4	14,6	9,9	14,0	18,7	14,6	21,0	9,8	12,2	
Couleur	N	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	
	$\bar{x}$	57,3	61,5	61,9	63,6	62,1	65,3	61,1	58,9	59,3	61,2	
	S	5,9	5,9	5,4	4,8	5,7	7,4	6,8	7,9	7,8	5,6	
	S %	10,3	9,6	8,7	7,5	9,2	11,3	11,1	13,5	13,1	9,1	
Odeur	N	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	
	$\bar{x}$	44,1	51,8	53,6	53,2	52,9	55,6	54,3	49,4	51,5	49,5	
	S	5,4	5,1	7,1	5,8	6,2	9,3	7,9	9,2	6,7	7,5	
	S %	12,1	9,9	13,3	11,0	11,8	16,8	14,5	18,7	13,0	15,2	
Goût	Sucre résiduel	N	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
		$\bar{x}$	44,3	51,4	54,4	53,5	51,3	53,9	54,9	50,9	53,9	51,3
		S	3,8	5,0	5,9	3,9	6,1	6,9	7,7	7,1	5,3	3,6
		S %	8,6	9,8	10,8	7,4	11,8	12,8	14,0	13,9	9,9	7,1
	Acidité	N	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
		$\bar{x}$	44,8	49,1	52,5	52,1	50,0	48,7	52,1	47,9	50,2	49,0
		S	5,1	4,3	6,0	2,8	5,8	5,5	6,3	6,5	5,7	4,8
		S %	11,4	8,7	11,4	5,4	11,6	11,2	12,2	13,6	11,3	9,7
	Corps	N	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
		$\bar{x}$	41,1	49,4	52,9	51,0	48,7	53,5	53,4	47,9	50,2	48,6
		S	4,1	4,9	7,6	4,6	6,2	8,9	8,3	8,1	4,8	5,7
		S %	9,9	9,9	14,5	9,0	12,8	16,5	15,6	17,0	9,5	11,7
	Arôme	N	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
		$\bar{x}$	38,8	47,8	51,6	50,8	47,5	51,9	52,7	46,1	49,0	46,6
		S	4,6	4,6	8,1	6,2	6,9	9,5	8,9	8,7	5,5	6,5
		S %	11,8	9,6	15,6	12,2	14,5	18,2	16,9	18,8	11,2	14,0
	Tanin	N	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
		$\bar{x}$	34,1	36,1	36,4	36,4	35,9	36,1	36,7	35,6	36,3	35,6
		S	1,5	1,3	1,3	1,6	1,7	1,9	1,5	2,0	2,1	1,4
		S %	4,5	3,6	3,6	4,2	4,8	5,2	4,1	5,6	5,7	4,0
Franc de goût	N	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	
	$\bar{x}$	42,8	52,1	52,9	52,7	49,3	51,9	53,8	49,6	51,1	47,8	
	S	5,7	4,9	6,0	4,6	6,3	6,3	7,7	7,8	5,4	3,9	
	S %	13,2	9,3	11,3	8,8	12,7	12,1	14,4	15,6	10,5	8,2	
Type régional	N	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	
	$\bar{x}$	39,7	43,7	46,3	45,9	42,9	40,4	46,8	40,3	42,7	38,4	
	S	7,3	5,4	7,2	5,6	8,1	8,4	9,7	9,4	7,0	6,7	
	S %	18,3	12,2	15,6	12,1	18,8	20,8	20,8	23,4	16,3	17,4	
L'ensemble des critères d'évaluation	N	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	
	$\bar{x}$	429,1	495,2	517,7	513,3	491,9	512,6	522,4	476,3	496,6	477,4	
	S	38,1	38,1	55,7	35,2	53,0	66,8	67,3	71,6	47,6	41,9	
	S %	8,9	7,7	10,8	6,9	10,8	13,0	12,9	15,0	9,6	8,8	

\* Variété de comparaison





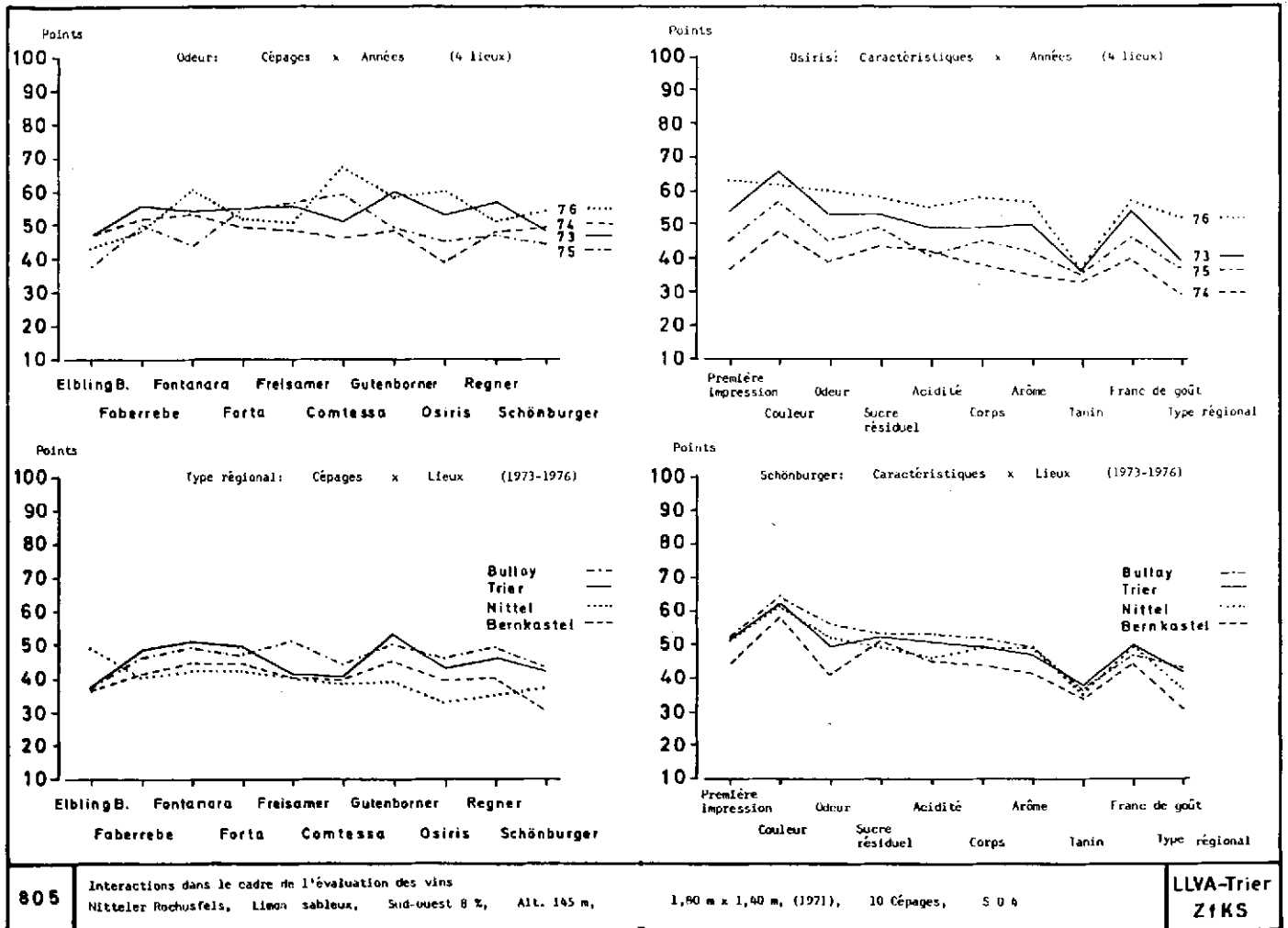
Tableau 4

Résultat d'évaluation des vins provenant d'une variété de comparaison non protégée et de 9 variétés protégées de raisins de cuve de l'emplacement "Nittel" H<sup>te</sup> Moselle portant sur 4 dégustations de vins effectuées en 1983 avec 4 millésimes, 10 critères et 125 dégustateurs

Critères d'évaluation		Millésime	Elbling*	Faber-rebe	Fontanara	Forta	Freisamer	Comtessa	Gutenborner	Osiris	Regner	Schönburger
Première impression	1973	45	60	57	53	56	51	63	54	58	48	
	1974	46	50	56	51	45	44	49	37	49	52	
	1975	39	52	46	54	58	60	54	46	50	45	
	1976	41	49	64	60	48	67	62	63	54	55	
Couleur	1973	65	69	67	68	70	64	70	67	69	68	
	1974	52	57	59	59	57	61	55	49	54	57	
	1975	56	62	58	63	63	65	60	58	56	59	
	1976	58	60	65	65	61	73	62	63	59	63	
Odeur	1973	47	57	56	56	57	51	60	54	57	49	
	1974	47	53	54	50	48	46	49	39	50	51	
	1975	39	51	45	56	57	59	51	46	48	45	
	1976	44	48	60	53	51	67	59	60	52	54	
Goût	Sucre résiduel	1973	47	55	56	51	57	51	60	54	58	51
		1974	47	51	55	52	47	47	49	44	53	52
		1975	43	51	47	54	54	57	54	49	52	50
		1976	41	50	61	58	49	62	59	58	54	53
	Acidité	1973	46	49	53	52	52	46	54	49	52	48
		1974	48	50	54	52	46	44	48	42	51	52
		1975	43	51	46	53	55	55	53	46	49	48
		1976	43	47	59	53	49	51	54	55	49	50
	Corps	1973	43	53	56	49	52	50	58	50	54	46
		1974	44	48	52	48	43	44	45	38	48	47
		1975	39	51	43	51	56	56	52	46	47	47
		1976	39	47	62	57	45	65	61	59	52	55
	Arôme	1973	42	52	54	51	51	48	60	50	55	47
		1974	41	48	51	47	42	41	44	36	47	46
		1975	37	49	41	51	55	55	49	43	46	43
		1976	36	44	61	56	45	65	59	57	50	52
	Tanin	1973	34	36	36	35	36	34	37	37	37	35
		1974	35	36	37	37	36	36	36	34	35	36
		1975	34	37	36	38	38	38	38	35	38	37
		1976	35	37	38	38	36	38	38	38	37	36
Franc de goût	1973	46	59	55	53	53	48	61	55	58	48	
	1974	45	50	52	51	45	46	48	40	50	50	
	1975	39	53	47	55	56	57	51	46	48	45	
	1976	42	49	59	53	45	59	57	58	51	50	
Type régional	1973	40	46	46	44	45	37	53	41	45	40	
	1974	43	44	47	42	37	31	41	31	42	43	
	1975	36	46	40	51	50	51	46	40	42	34	
	1976	41	41	53	49	41	44	49	50	44	39	
L'ensemble des critères d'évaluation	1973	455	536	536	512	529	480	576	511	543	480	
	1974	445	457	517	489	446	440	464	390	479	486	
	1975	405	503	449	526	542	553	508	455	476	453	
	1976	420	472	582	542	470	591	560	561	502	507	

\* Variété de comparaison

Tableau 5



Il existe en plus des interactions entre *variétés et lieux*, comme on le voit à l'exemple «Type régional» au tableau 5. A ce sujet on pourrait dire que dans l'évaluation c'est l'Elbling Blanc qui a la priorité à Nittel (Haute Moselle). Par contre à Bernkastel-Kues (Moyenne Moselle) on défend davantage les variétés avec un vin du type Riesling. A Bullay (Moselle Inférieure) où les vins ont moins de finesse on a déjà tendance à accepter un peu de bouquet.

Les interactions existant entre *caractéristiques x lieux* seront démontrées avec l'exemple «Schönburger», comme on le voit au tableau 5.

### Discussion

Dans la présente recherche, les vins de nouvelles variétés sont supérieurs à la variété traditionnelle Elbling Blanc, c.-à.-d. après une longue période de stockage.

Des tests de dégustation précédents (2, 8, 9, 10, 11, 12) montraient déjà que l'Elbling Blanc, même après une courte période de stockage, était inférieur aux nouvelles variétés, probablement en raison de sa faible acidité fruitée. Les nouvelles variétés représentent aussi pour la qualité du moût (5) une considérable amélioration par rapport à l'Elbling Blanc. Elle varie suivant la variété de 6° à 25° Oechsle sur une moyenne de 5 ans (1975-1979). On pourrait donc proposer toutes les variétés non classées au Ministère de Rhénanie-Palatinat pour engager la procédure de classement en passant par la commission d'examen des variétés de vigne. En prenant en considération les facteurs: basse dispersion annuelle et résultats positifs des années médiocres et moyennes (v. tableau

2), rentabilité (5) qui est très liée au rendement et en tenant également compte du type régional, les variétés Gutenborner, Forta, Fontanara, Regner et Freisamer seraient à conseiller pour la plantation. Sur le plan de la qualité, on accordera la priorité aux cépages Gutenborner et Forta tout en précisant que le premier garantit un meilleur profit (5).

### BIBLIOGRAPHIE

1. L. Kappen, H. Schöffling und E. Servaty (1981) - *Das Frostresistenzverhalten von neuen Rebsorten im Weinbaugebiet der Obermosel*. Die Wein-Wissenschaft 36, 155-164.
2. R. Ley (1980) - *Statistical Analysis of a Wine Evaluation Test with New Varieties in the Upper Moselle Wine-Growing District*. III. International Symposium of Grape Breeding. University of California, Davis.
3. H. Schöffling (1977) - *Résultats d'essais comparatifs de nouveaux cépages*. II. Symposium International sur l'Amélioration de la Vigne, Bordeaux.
4. H. Schöffling - *Frost Resistance of Vitis vinifera Varieties in the Upper Moselle Wine-Growing Area*. III. Symposium of Grape Breeding. University of California, Davis.
5. H. Schöffling (1980) - *Abschlußbericht über Verlauf und Ergebnis der Versuchsphase I im Rahmen des Forschungsauftrages HS 245 — Umstellung von Rebflächen des Obermoselgebietes auf qualitativ bessere Sorten*. Trier, Dezember 1980, 1-75.
6. H. Schöffling und F. Weiling (1973) - *Über eine Testweinprobe zur Selektion geeigneter Rebsorten für den Anbau unter den extremen Bedingungen des Weinbaugebietes «Obermosel»*. Die Wein-Wissenschaft 28, 203-209.
7. H. Schöffling, K.H. Faas, W. Faber und H. Duplessis - *Amélioration*

de la productivité par la mise en culture de nouveaux cépages (*Vitis vinifera*), Connaissance de la Vigne et du Vin, Im Druck.

8. F. Weiling und H. Schöffling (1976) - *Statistische Analysen von Testproben bei Weinen von Reben-Neuzuchten und Vergleichssorten aus einem Versuchsanbau im Gebiet der oberen Mosel*. I. Die Verlässlichkeit der Prüfer im Rahmen der sensorischen Prüfung Weinberg und Keller 23, 145-168.
9. F. Weiling, H. Schöffling und Ch. Unger - *Statistische Analysen von Testproben bei Weinen von Reben-Neuzuchten und Vergleichssorten aus einem Versuchsanbau im Gebiet der oberen Mosel*. II. Methodik und Ergebnis der Rangordnungsprüfung. Weinberg und Keller 23, 181-210.
10. F. Weiling, Ch. Unger und H. Schöffling (1976) - *Statistische Analysen von Testproben bei Weinen von Reben-Neuzuchten und Vergleichssorten aus einem Versuchsanbau im Gebiet der oberen Mosel*. III. Analyse

der Probeergebnisse unter Berücksichtigung der chemischen Analysen Weinberg und Keller 23, 285-311.

11. F. Weiling, H. Schöffling und Ch. Unger (1978) - *Statistische Analysen einer mittels «Bewertender Prüfung mit Skala (Scoring)» durchgeführten Testweinprobe mit 34 Weinen von 27 verschiedenen Rebsorten, angebaut im Weinbaugebiet der oberen Mosel*. I. Untersuchungen zur Verlässlichkeit der Gleichartigkeit der Urteile sowie zur Unterscheidbarkeit der geprobten Weine und deren Kriterien. Mitteilungen Klosterneuburg, Rebe und Wein, Obstbau und Fruchterwertung 28, 185-264.
12. F. Weiling, Ch. Unger und H. Schöffling (1979) - *Statistische Analyse einer mittels «Bewertender Prüfung mit Skala (Scoring)» durchgeführten Testweinprobe mit 34 Weinen und 27 verschiedenen Rebsorten, angebaut im Gebiet der oberen Mosel*. II. Multiple regressionsanalytische Untersuchung der sensorischen Beurteilungen und deren Beziehungen zu den Ergebnissen weinchemischer Analysen. Mitteilungen Klosterneuburg, Rebe und Wein, Obstbau und Fruchterwertung 29, 43-49.

## RESUME

### EVALUATION SENSORIELLE DE VINS DE NOUVELLES VARIETES DE VITIS VINIFERA EN COMPARAISON AVEC DES VARIETES TRADITIONNELLES

Dans le cadre de recherches patronnées par le Ministère de l'Agriculture de Bonn, on a procédé pendant 10 ans (1971-1980) à des examens de variétés dans la région viticole de la Moselle supérieure. Pour ce faire, on a pris en considération 10 emplacements et 25 nouvelles variétés ainsi que 5 variétés traditionnelles de comparaison. Le but des recherches était de remplacer la plantation du cépage traditionnel Elbling, connu pour son rendement, par de nouvelles variétés à caractère qualitatif marqué.

Dans l'examen présent effectué sur l'emplacement «Nittel», les 9 nouvelles variétés Faberrebe et Regner (Alzey), Freisamer (Fribourg), Comtesse et Forta (Geilweilerhof), Gutenborner et Schönburger (Geisenheim), Fontanara et Osiris (Wurzburg) furent testées. Le cépage de référence était la variété traditionnelle Elbling.

En tout, on a retenu 20 caractéristiques par variété dont l'évaluation sensorielle du vin, sujet de la présente communication.

Nous avons donc des vins de 4 années (1973, 1974, 1975 et 1976) à évaluer. Ils furent notés en 4 différents tests de dégustation par 200 dégustateurs en tout. Cela n'eut lieu qu'au début de 1983 afin de pouvoir étudier le vieillissement des vins, ce qui n'avait pas été fait jusque là. L'évaluation fut effectuée selon un schéma à 100 points. En plus de la clarté, il fallait noter 10 autres caractéristiques.

Les résultats de l'évaluation sensorielle montrent que:

- 1) les années ont été évaluées différemment (1976, la meilleure, 1974, la plus mauvaise). Pour cela, c'est la qualité de l'année qui est décisive, pas l'âge.
- 2) qu'il existe des différences dans les variétés tous les ans bien que le classement des variétés ne soit pas le même chaque fois;
- 3) que, dans la plupart des cas, les nouvelles variétés sont supérieures à la variété traditionnelle Elbling. C'est — sauf exceptions — surtout le cas pour les millésimes de haute qualité.

Quand, en 1985, les tests de dégustation avec les essais de coupage actuellement en cours seront terminés nous disposerons dans le cadre du projet de recherche HS 245 des résultats de 30 tests de dégustation comportant environ 30.000 critères distincts, effectués par plus de 2000 dégustateurs. Les résultats des récoltes des essais qui parlent également en faveur des nouvelles variétés permettent de préciser les variétés à recommander. Il n'est hélas pas à exclure que des décisions concernant la politique viticole freinent la mise en pratique des progrès en matière de culture et ce ne mettant pas de priorités en faveur des variétés traditionnelles.

## AN IMPROVED GRAPE CULTIVAR PRODUCED BY BREEDING CV. MOSCATEL ROSADO AND CV. CARDINAL (VITIS VINIFERA L.)

A. VIEIRA VOLPI

Faculty of Agricultural sciences - University of Chile

### Introduction

The grape cultivar Moscatel Rosado is under cultivation in Chile, Argentina and Perú since the colonial times, that is from the 18<sup>th</sup> Century or before. It is known under different regional names, as Moscatel de Talca, M. de Curtiduría, M. de San Javier, M. del Peumal, M. Argentina, Rosada Pastilla, etc. It is very popular among the Chilean consumers for its strong muscat flavor and taste, more accentuated than in any other variety at least known in Chile. For this reason this cultivar is used also in the production of aromatic wines and as first quality raw material for the elaboration of a type of brandy produced in a limited region of Chile under the name of Pisco.

As table grape of local consumption its price is normally double than that of any other variety. It is also exported with success to certain markets like Brasil, Colombia, Venezuela, Perú and Ecuador, and, in the last years, to France and some Arabic countries. In North America, where are preferred the seedless grape varieties, this cultivar have obtained lower prices than those types of grapes.

### Floral malformation of the cv. moscatel rosado.

The flowers of the Cv. Moscatel Rosado are pistillated and functionally females, with atrophied and strongly recurved stamens, whose anthers produce a very weak round shaped pollen, of about 98% of infertility.

During bloom, the calytra of these flowers can not be pushed by the stamens, which can not be erected as it happens in hermaphroditic or male flowers, despite the fact that abscission at the base of the corolla takes place. In this way, the calytra remains covering the reproductive organs, stamens and pistil. When the stigma is receptive to pollen, a sub-calyptal pollination is produced, with the highly unfertile pollen of the Moscatel Rosado anthers. Nevertheless this pollen is able to produce a stimulus enough to set parthenocarpic small berries of grapes.

There are always a number of flowers where the calytra falls down pushed by external factors, mainly breezes during high

temperature hours. As the stigma is so exposed, the possibilities of open pollination with fertile pollen are increased, which results in berries normally seeded reaching good size. These clusters, at maturity, show some well formed seeded berries surrounded by many small seedless ones.

#### **Marketing of the moscatel rosado grapes**

Logically, this condition influences the marketing performance of the Moscatel Rosado variety, whose prices are so strongly affected as table grapes. Nevertheless, these prices are, despite this fact, still better than those of any other variety in the Chilean market.

In foreign markets this situation is quite different: grapes in such condition are simply not accepted in them.

#### **Technological improvement of the quality of moscatel rosado grapes.**

To overcome this defect, growers have to hand pollinate the flowers of the Moscatel Rosado variety, a technology that requires knowledge and certain amount of good skill. This operation is made in two steps. First, the calyptas have to be removed to expose the receptive stigmas to fertile pollen. This is made during bloom time, rubbing the clusters with hands, naked or gloved. Then floral clusters of varieties whose pollen grains are fully fertile are brushed over those of Moscatel Rosado, which are then berry thinned removing the final part of the rachis, in 30 to 50% of its size. This serves also to label those clusters already treated, in order not to repeat this work on them.

Not all the clusters bloom at the same time. This requires to pass through the vineyard two or three times to be sure that all the flowers are well treated. It is possible to determine the most favorable moment for the stigma to be receptive to the pollen, just looking with a hand magnifying lens the drop of stigmatic exudate that is shown over this organ. This period lasts around one week for each flower.

#### **Problems derived from the hand pollination of grape flowers.**

*Costs.* Logically this operation has a very high cost. A great number of workers is in a very short time.

*Opportunity.* The delay in two or three days in this work, some times results in a very high percentage of failure, with the production of a big number of parthenocarpic berries of very small size.

*Compactness.* On the other way, there are instances where the results of this work is, in a wrong sense, too good, with the pro-

duction of too many seeded berries which results in very compact cluster, that should be hand thinned again, with the increase of costs and the decrease of the quality of the grapes, because of their excessive handling.

#### **Genetic improvement of the Cv. Moscatel Rosado**

In the carried on program of grape breeding at the Faculty of Agricultural Sciences of the University of Chile, which was started in 1971, a project was included searching for the improvement of the Cv. Moscatel Rosado, being its objective the obtention of one new variety of similar characteristics of the mentioned cultivar, but with hermaphroditic flowers in order to assure a normal fertilization of berries.

Many crosses were made looking for this scope, in which about forty table grapes varieties were selected as potential male progenitors because of their good characteristics. The procedure for this work was quite simple: Every year, and for four or five years, some days before bloom a number of floral clusters were bagged with paper bags. When the bloom starts, two or three fully flowering clusters of each variety selected as potential male progenitor, were introduced in every bag. This system makes unnecessary the tedious work of emasculation of the anthers of the Cv. Moscatel Rosado because, as it has been said, its pollen is not fertile. From the next day and during the following ten days, the bags were vigorously moved twice a day to loose and make it fall the calyptas and get the pollen reach the receptive stigmas.

Seeds were collected in March-April of each year, stratified in humid sterilized sand, and sowed in September according with the common procedure. From 6.700 seedlings, in the fourth and fifth years, only 103 were selected for further trials, being eliminated all of those that have female flowers. The following selection leaves only 9, being evaluated in a tasting sensory panel according to the procedure recommended for table grapes by Nelson et al.(1). In this trial the experimental varieties CAV 140 (Moscatel Rosado x Emperor) and CAV 1465 (Moscatel Rosado x Cardinal) were selected. Two years later, only CAV 1465 was conserved, because of the poor production of CAV 140.

Propagated in a cooperative trial with two growers, in 1984 an export to an Arabic country of 2.120 boxes were made with full acceptance.

#### **BIBLIOGRAPHIE**

1. Nelson K.E. G.A. Baker A.J. Winkler M.A. Amerine H.B. Richardson & Frances R. Jones. (1963) - *Chemical and Sensory Variability in Table Grapes*. Hilgardia 34 (1): 42 pg.

#### **SUMMARY**

##### **AN IMPROVED GRAPE CULTIVAR PRODUCED BY BREEDING CV. MOSCATEL ROSADO AND CV. CARDINAL**

*Moscatel Rosado is a very popular table grape cultivar, preferred for its strong muscat flavor by Chilean consumers. It is also exported to France, and Arab and South American countries. Nevertheless, due to the fact that its flowers are female, it needs hand cross pollination to obtain normal seeded berries. This increases considerably its costs of production.*

*For this reason, it has been included in the breeding programme carry at the Faculty of Agricultural Sciences of the University of Chile, where it has been crossed with at least forty other varieties.*

*The cross CAV 1.465 (Moscatel Rosado x Cardinal) has been tested for its replacement. It also has muscat flavor and a very similar appearance to Moscatel Rosado, and its hermaphroditic flowers make unnecessary the expensive work of hand pollination.*

# LA DEGUSTATION DES VINS UTILISEE COMME CRITERE DE SELECTION EN AMELIORATION GENETIQUE DE LA VIGNE

R. WAGNER - J.L. GUIRAUD

Station de Viticulture - INRA - Villeneuve les Maguelonne (France).

Malgré les progrès récents des techniques d'analyse, la dégustation reste encore le meilleur critère d'évaluation globale de la valeur technologique d'une variété de raisin de cuve.

Encore faut-il pouvoir l'intégrer facilement dans l'ensemble des résultats chiffrés qui permettent au sélectionneur d'effectuer un tri. Dans ce but nous avons considéré que la dégustation doit, de préférence, être utilisée pour distinguer des génotypes qui, par ailleurs, sont aussi semblables que possible, pour les principaux critères technologiques et culturaux: degré alcoolique, coloration du vin obtenu, système de conduite qui convient le mieux, rendement relevé à l'ha, etc.

Des groupes de génotypes homogènes pour tous ces critères ont un effectif forcément très réduit: en fait nous nous sommes limités à des séries comprenant soit 3, soit 4 échantillons.

Comme la tâche du dégustateur est considérablement simplifiée de ce fait, il est alors possible de lui demander à la fois un classement et des notations. On arrive ainsi très souvent à mettre en évidence des différences significatives dans une série de vins.

Il reste ensuite à résoudre le problème du regroupement de toutes les informations élémentaires, afin de pouvoir les utiliser dans le processus de sélection.

## Matériel et méthodes

Cette étude a été réalisée sur des descendance de croisements intraspécifiques de *Vitis vinifera* qui ont déjà subi deux tris. Le premier s'effectue alors que les génotypes ne sont représentés chacun que par une seule souche, le second intervient alors que les génotypes ont été multipliés à raison de 12 souches chacun.

L'étape suivante est l'expérimentation en vue de l'inscription des variétés au Catalogue. Les variétés qui sont étudiées ci-après se situent à ce niveau du processus de la sélection. Elles sont établies dans des parcelles qui suivent les prescriptions du règlement (1) formulées par le Comité Technique Permanent de la Sélection (CTPS): chaque variété comprend au moins 100 souches, dans un essai comportant au moins 3 répétitions. On vinifie de façon traditionnelle un volume d'environ 300 kg de vendange.

Chaque année, au mois de mars, d'après les résultats culturaux et l'analyse des vins on répartit les génotypes par 3 ou par 4 dans des séries aussi homogènes que possible.

Si on considère une suite d'années, les performances (tant du point de vue culturel qu'analytique) des génotypes les uns par rapport aux autres sont généralement assez variables.

Si bien que les séries constituées chaque année n'ont jamais la même composition. On s'efforce cependant d'inclure, dans chaque série un témoin, c'est à dire une variété largement cultivée (ex. le Grenache noir).

### 1. Comparaison à l'intérieur d'une série de vins

Le jury est invité à noter les 3 ou 4 vins présentés pour cha-

(1) Journal Officiel de la République Française du 12/02/1974.

cune des 3 caractéristiques suivantes:

- impression visuelle
- impression olfactive
- impression gustative (rétronasale).

Comme on veut pouvoir calculer des moyennes, cette notation s'effectue en plaçant une croix sur un segment de droite orienté. Le relevé des notes s'effectue après la dégustation en mesurant l'abscisse de la croix au double décimètre (Fabre et al. 1982). En outre une appréciation globale, sous la forme d'un classement est demandée; les ex aequo ne sont pas admis. Cette donnée permet une interprétation statistique immédiate par le test de Kramer (Salgues 1977). Elle constitue pour le dégustateur une information très appréciée.

Le jury comprend environ 12 dégustateurs en moyenne, appartenant au personnel d'organismes d'enseignement, de recherche ou de développement, soit publics soit professionnels. Une dégustation comprend le plus souvent 4 (ou 5) séries de 3 (ou 4) vins, soit 15 à 20 échantillons au total.

Série de qualité  
 Classement dans la série présentée

FEUILLE DE DEGUSTATION

Date: \_\_\_\_\_  
Nom: \_\_\_\_\_

CEPAGES	VOS IMPRESSIONS			Cl.	Observations
	VISUELLES	OLFACTIVES	GUSTATIVES		
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					

### 2. Comparaison des génotypes

Il faut rappeler que ceux-ci se trouvent dans des séries différentes d'une année à l'autre. Ce sont les notes données à chaque vin, pendant plusieurs années qui vont permettre de les comparer: à l'intérieur d'une série de vins et pour chaque dégustateur, on additionne les 3 notations correspondant aux impressions visuelles, olfactives et gustatives. Si dans cette série des différences non significatives entre 2 ou plusieurs vins ont été relevées par le test de Kramer, on affecte comme note à chacun des vins leur note moyenne. Par contre les vins trouvés significativement différents conservent évidemment leur note.

Tab. 1 - Performances des génotypes comparés: moyenne de longueur des segments cochés pour les impressions visuelles, olfactives et gustatives. Signification par rapport à la variété Merlot (code 1367)

Génotypes (code)	Performances (sur 50 mm)
1367	32,2 a
1397	31,5 a
1337	30,6 a
1400	29,5 a
1373	26,8 b
1394	25,5 b
1304	25,4 b
1135	25,2 b
1105	23,5 b
1358	22,0 b
1415	17,9 b

Les données présentées ici correspondent à 11 génotypes qui ont chacun fait l'objet d'au moins une dégustation par an en 1982, 1983 et 1984.

### 3. Analyse de ces données

L'ensemble des mesures se range dans un tableau à deux dimensions: années et génotypes. Chaque génotype a été jugé au moins une fois chaque année, mais le nombre de tests de dégustation peut varier de 1 à 3 par année et par génotype. Une analyse de variance non orthogonale est effectuée grâce à la procédure GLM de SAS (1982). Ce logiciel est implanté au Centre Universitaire Sud de Calcul (CNUSC) de Montpellier.

Les performances de chacun des génotypes sont estimées par la longueur moyenne des segments de droite cochés.

## Résultats

### 1. Comparaisons à l'intérieur d'une série de vins:

Sur 36 séries comprenant chacune 3 ou 4 vins, il y en a eu 33 où au moins une différence significative a été notée.

Dans la moitié des séries on a pu faire 3 classes: meilleur (s), moins bon (s), indifférentiable (s).

### 2. Analyse du tableau génotypes x années:

Les effets génotype et année sont hautement significatifs, mais l'interaction génotype x année est également hautement significative.

Sur les 11 génotypes étudiés sur 3 ans, on peut distinguer un groupe de tête comprenant 4 variétés qui ne peuvent pas être distinguées du témoin (variété Merlot, codée: «1367»).

## Discussion et conclusion

### 1. Importance de l'interaction génotypes x années:

C'est le point le plus important et qu'il importe de souligner: cela

implique de ne pas se contenter d'une seule année de résultats pour porter un jugement sur la valeur d'un génotype.

### 2. Ordre de présentation des vins lors des dégustations

Pour des raisons de commodité cet ordre est le même pour tous les dégustateurs. Ce dispositif introduit un biais pour l'interprétation statistique d'une série de vins: il serait préférable d'imposer une répartition aléatoire. Cependant comme la comparaison entre génotypes se situe non pas au niveau d'une année, mais bien évidemment entre toutes les séries analysées pendant au moins 3 ans, il peut être admis que cette façon de procéder n'avantage pas l'un ou l'autre génotype.

### 3. Constitution des séries

Il importe de constituer chaque année le plus grand nombre possible de séries ayant une composition différente, tout en veillant à assurer à l'intérieur de chacune d'elles une homogénéité aussi parfaite que possible pour les principaux critères technologiques et culturaux.

### 4. Comparaison des génotypes

L'intérêt de la méthode proposée est qu'elle permet la comparaison de génotypes les uns par rapport aux autres, afin de discerner ceux qui, globalement ont été trouvés les meilleurs. Toutes les combinaisons 2 à 2 entre les génotypes, n'ont pas besoin d'être représentées dans l'une ou l'autre des «séries» analysées: il est donc possible de classer l'une par rapport à l'autre deux obtentions, même si elles n'ont pas été directement comparées au moins une fois.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Fabre F., Agulhon R. et Bony D. (1982) - *Etude du marquage des raisins de table par les produits de traitement*. Vignes et vins n. 315, pp. 24-35.
2. Salgues M. (1977) - *Progrès Agricole et Viticole* n. 4, pp. 112-123.
3. SAS (1982) - *Statistical Analysis System: SAS user's guide*, Statistics, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina 27511, 584 p.

## RESUME

### LA DEGUSTATION DE VINS UTILISEE COMME CRITERE DE SELECTION EN AMELIORATION GENETIQUE DE LA VIGNE

*Malgré les progrès récents des techniques d'analyse, la dégustation reste encore le meilleur critère d'évaluation globale de la valeur technologique d'une variété de raisin de cuve.*

*Mais il faut pouvoir l'intégrer facilement dans l'ensemble des résultats qui permettent au sélectionneur d'effectuer un tri.*

*Dans ce but nous avons considéré que la dégustation doit, de préférence, être utilisée pour distinguer les génotypes qui, par ailleurs, sont aussi semblables que possible (technologie de vinification, degré alcoolique, coloration du vin, système de conduite, rendement à l'hectare, etc.). La tâche du dégustateur est alors simplifiée, dans la mesure où on ne lui demande d'apprécier que 3 ou 4 vins à la fois qui constituent une série homogène pour les critères cités ci-dessus.*

*En contre partie, il est exigé un classement, sans ex aequo, en plus d'une appréciation chiffrée.*

*Ainsi nous disposons, d'une part d'une comparaison très fine à l'intérieur d'une série de génotypes et, d'autre part, d'une notation relativement peu précise, mais néanmoins fort utile, entre des séries qui correspondent à des performances différentes.*

*Evidemment un même génotype ne se retrouve généralement pas comparé aux mêmes voisins d'une dégustation à l'autre, puisque degré, rendements, etc. fluctuent beaucoup entre parcelles et d'une année à l'autre. Nous avons donc été amené à définir une estimation des performances moyennes d'une obtention au sein d'un «bioclimat» bien défini.*

*Les données présentées à titre d'exemple se rapportent à 11 génotypes, dont les vins ont été dégustés à plusieurs reprises pendant 3 années par un jury de 12 dégustateurs. En général, il apparaît nettement un effet année et une interaction variété x année hautement significative.*

*Il en résulte qu'une seule dégustation n'a pas grande signification pour le sélectionneur. Seule une répétition de plusieurs résultats favorables peut permettre de retenir une variété pour son bon comportement technologique, sachant bien qu'on se limite à un type de vinification traditionnel.*

# Vignes résistantes aux champignons / Fungus-resistant vine varieties Viti resistenti alle malattie fungine

## CARATTERISTICHE PRODUTTIVE E QUALITATIVE DI ALCUNI NUOVI INCROCI ED IBRIDI TEDESCHI COLTIVATI IN CLIMI TEMPERATI SUB-CONTINENTALI

L. BAVARESCO - M. BOSELLI

Cattedra di Viticoltura - Università Cattolica S.C. - Piacenza (Italia)

L'ottenimento di nuove varietà adatte alle diverse condizioni climatiche, rappresenta per il genetista un lavoro molto complesso e difficile (Quamme e Stushnoff, 1983). Il concetto di «adattamento», implica, nel caso della vite, quello di qualità della produzione e viceversa; un vitigno che in un determinato ambiente presenta buone caratteristiche qualitative si può considerare «adattato».

I criteri per ottenere la qualità inoltre variano da ambiente ad ambiente e il grado di difficoltà nel lavoro di breeding è più elevato in condizioni climatiche limitanti (Alleweldt e Koepchen, 1978).

Lo scopo della presente ricerca è di studiare il comportamento in climi temperati sub-continentali di nuovi vitigni ottenuti nel clima temperato continentale dell'Europa Centrale, e di verificare quindi la loro eventuale adattabilità.

### Materiale e metodo

L'indagine di durata triennale (1982-1983-1984) è stata effettuata in una località del Piacentino (Ancarano di Rivergaro) situata a 44° 54' Lat. N., avente le seguenti caratteristiche climatiche (Mennella, 1967):

— Temperatura media annuale	:12,2° C
— Media delle temperature massime	:16,5° C
— Media delle temperature minime	: 8,4° C
— Escursione annuo diurna	:30,8° C
— Piovosità annua	:794 mm

Secondo la classificazione di Köppen (1923) si tratta di un clima C a.

Sono stati posti a confronto i seguenti incroci ed ibridi:

- Bacchus\*: (Silvaner x Riesling) x Müller-Thurgau
- Faber\*\*: Weissburgunder x Müller-Thurgau
- Huxelrebe\*\*: Gutedel x Courtillier musqué
- Kerner: Trollinger x Riesling
- Morio-Muskat: Silvaner x Weissburgunder
- Müller-Thurgau: Riesling x Silvaner
- Optima\*: (Silvaner x Riesling) x Müller-Thurgau
- Ortega: Müller-Thurgau x Siegerebe
- Scheurebe: Silvaner x Riesling
- Würzer\*\*: Gewürztraminer x Müller-Thurgau

— C 41-44\*: (V. riparia Millardet x Gamay noir) F<sub>2</sub> x Chaselas Michael Tompa

— C 43-39\*: [(Mouvedre x V. rupestris M.) x Riesling] x (V. riparia Millardet x Gamay noir) F<sub>2</sub> x Foster's White Seedling

— Castor\*: (V. riparia x Gamay noir) F<sub>2</sub> x Foster's White Seedling.

Su ciascun genotipo sono stati rilevati, alla vendemmia, i seguenti parametri produttivi e qualitativi: *produzione per ceppo (kg)*, *peso medio del grappolo (g)*, *peso medio della bacca (g)*, *fertilità media delle gemme*, *pH del mosto*, *solidi solubili (°Brix)*, *acidità titolabile del mosto (‰)*, *acido tartarico (g/l)*, *acido malico (g/l)*, *solidi solubili x 10/acidità titolabile*, *acido tartarico/acido malico*.

Nel 1983 è stata determinata la curva di accrescimento ponderale delle bacche e sono state controllate, dall'allegagione alla vendemmia, le variazioni dei contenuti uvali degli zuccheri, dell'acidità titolabile, degli acidi tartarico e malico. Nel 1982 e 1983 si è proceduto alla microvinificazione delle uve di alcuni incroci. Infine, si è cercato di stabilire l'influenza del clima sui fenomeni di maturazione, mediante il calcolo di alcuni indici bioclimatici per ciascuno dei tre anni di prova (tab. 1). I dati raccolti alla vendemmia sono stati sottoposti all'elaborazione statistica mediante l'analisi della varianza a due criteri di classificazione con interazione, tenendo separati gli incroci dagli ibridi.

### Risultati

#### A) CONFRONTO TRA GENOTIPI E ANNATE (analisi della varianza)

a) *Produzione (Kg/ceppo)*: tra gli incroci, il Bacchus ha presentato il valore più elevato (8,04 Kg/ceppo), mentre lo Scheurebe il più basso (5,37 Kg/ceppo). Il Müller-Thurgau si è collocato su livelli medio-alti (7,54 Kg/ceppo) (tab.2). Le differenze tra le annate non sono apparse statisticamente significative. Le produzioni/ceppo di ciascun incrocio appaiono pressoché costanti negli anni, ad eccezione di Bacchus, Optima e Würzer (tab. 4). Considerando gli ibridi, non si sono osservate differenze statisticamente significative né a carico dei genotipi né delle annate (tab. 3).

b) *Peso medio del grappolo (g)*: il parametro è apparso influenzato in maniera statisticamente significativa dal genotipo, dalle annate, e solo per gli incroci, dalla interazione. Tra gli incroci il peso medio più elevato è risultato essere quello dell'Huxelrebe (281 g) il più basso quello dell'Optima (131 g). Il Müller-Thurgau si colloca su valori intermedi (176 g). Nel 1983 si è avuto un valore medio più elevato (188 g) rispetto al 1984 (156 g). Alcuni incroci (Morio Muskat e Scheurebe) hanno mostrato una certa stabilità negli anni. Tra gli ibridi il Castor ha presentato il peso medio più elevato (221 g) ed è risultato anche il vitigno più stabile nel tempo. Il C 43-39 ha avuto il valore più basso (130 g).

I valori medi annuali hanno mostrato un andamento decrescente passando dal 1982 al 1984.

c) *Peso medio della bacca (g)*: è stato influenzato in maniera statisticamente significativa dal genotipo, dall'annata e dalla loro interazione. Lo Scheurebe tra gli incroci ha presentato il valore più elevato (1,69 g), il Würzer il più basso (1,16 g). Il 1982 e il 1983 hanno fornito valori medi simili tra loro (rispettivamente 1,46 e 1,45 g), più bassi rispetto al 1984 (1,53 g). Notevoli sono apparse le differenze tra gli ibridi (2,08 g per il Castor, 1,13 g per il C 43-39), più contenute quelle tra le annate (1,8 g nel 1982 e 1,48 g nel 1983).

\* Gentilmente forniti dal B.F.A. für Rebenzüchtung Geilweilerhof (R.F.G.)

\*\* Gentilmente forniti dal Landesanstalt für Rebenzüchtung, Alzey (R.F.G.)



Tab. 1 - Indici bioclimatici

Indici bioclimatici	1982	1983	1984
$\Sigma$ Temperature attive $\Sigma T^{\circ} M > 10^{\circ}$ ( $\Sigma Ta$ )	3.700	3.670	3.119
$\Sigma$ Temperature effettive $\Sigma (T^{\circ} M - 10^{\circ})$ ( $\Sigma Te$ )	1.900	1.890	1.419
T° media del mese più caldo (°C)	25,2	26,5	24,5
T° media mese pre-vendemmia (°C)	23,03	22,87	22,06
Piovosità (mm) da Aprile a Settembre (P)	318,8	304,8	585,0
Piovosità (mm) mese pre-vendemmia	192	109	216
Coefficiente idrotermico di Selianinov (K) $K = \frac{\Sigma P}{\Sigma Ta} \cdot 10$	0,86	0,83	1,88
Indice di Branas $Ih = \Sigma Te \cdot H \cdot 10^{-6}$	2,67	2,75	2,10
Indice di Costantinescu $Ibc = \frac{\Sigma Ta \times \Sigma Ie}{\Sigma P \times N \times 10}$	9,05	9,80	4,64

Tab. 2 - Valori medi di alcuni parametri produttivi e qualitativi degli incroci oggetto di indagine

Parametri	Incroci											Anni			
	Bacchus	Faber	Huxelrebe	Kerner	Morio Muskat	Müller Thurgau	Optima	Ortega	Scheurebe	Würzler	DMS 0,05	1982	1983	1984	DMS 0,05
Produzione (kg/ceppo)	8,04	6,11	5,72	7,59	7,06	7,54	5,96	6,13	5,37	6,59	1,03	—	6,50	6,72	N.S.
Peso medio grappolo (g)	200	138	281	158	170	176	131	158	132	173	21	—	188	156	10
Peso medio bacca (g)	1,50	1,20	1,56	1,65	1,32	1,66	1,34	1,65	1,69	1,16	0,10	1,46	1,45	1,53	0,06
Fertilità delle gemme	1,8	2,2	1,1	1,9	1,7	1,9	1,8	1,6	1,6	1,5	0,3	—	1,6	1,8	0,2
pH	3,42	3,21	3,27	3,25	3,34	3,30	3,34	3,36	3,20	3,39	0,03	—	3,37	3,25	0,01
Solidi solubili (°Brix)	15,6	17,2	12,5	15,8	14,6	15,6	15,3	16,8	16,6	16,1	1,0	17,0	14,9	15,0	0,6
Acidità titolabile (‰)	6,2	7,8	7,5	6,8	5,6	6,9	5,6	5,2	7,6	7,6	0,6	6,0	6,4	7,6	0,3
Acido tartarico (g/l)	3,8	5,1	6,3	5,8	4,6	5,0	4,5	5,0	4,9	4,3	0,3	5,0	4,7	5,0	0,2
Acido malico (g/l)	4,9	4,2	3,3	3,0	3,7	3,0	2,6	1,7	3,8	3,6	0,6	3,2	2,9	4,1	0,3
Solidi solubili x 10/Acidità titolabile	27,8	23,6	16,9	24,1	29,8	22,5	28,5	33,4	22,1	22,8	3,2	30,5	23,9	21,0	1,8
Acido tartarico/Acido malico	0,8	1,4	1,9	2,2	2,0	1,7	1,8	4,6	1,4	1,3	0,6	2,1	2,3	1,3	0,3

d) *Fertilità media delle gemme*: genotipi, annate e, solo per gli incroci, interazione hanno influenzato in maniera statisticamente significativa il parametro in oggetto. Il Faber appare il vitigno con la fertilità più elevata (2,2), l'Huxelrebe quello con la più bassa (1,1). Tutti gli altri genotipi presentano valori compresi tra 1,5 e 1,9. Nel 1983 si sono avuti valori medi di 1,6 nel 1984 di 1,8. Solo il Müller-Thurgau sembra mantenere nel tempo una fertilità costante. Tra gli ibridi il C 41-44 ha presentato il valore più alto (2,4), il Castor, quello più basso (1,7). Considerando i valori medi annuali, nel 1982 si è registrato il valore medio più elevato (2,5), nel 1983 il più basso (1,7). Il Castor rispetto agli altri ibridi, sembra quello più stabile nel tempo.

e) *pH del mosto*: i due fattori principali e la loro interazione hanno influenzato in maniera statisticamente significativa il parametro in oggetto. Scheurebe (pH = 3,20) e Faber (pH = 3,21) hanno presentato i valori medi più bassi, il Bacchus il più elevato (pH = 3,42). Nel 1983 si è avuto un valore medio più elevato (pH = 3,37) rispetto al 1984 (pH = 3,25). Huxelrebe, Optima e Ortega non sembrano subire l'influenza dell'annata (tab. 5). Tra gli ibridi il Castor ha fatto registrare il valore più elevato (pH = 3,22), il C 43-39 quello più basso (pH = 3,08). Più contenute appaiono le differenze tra le annate.

f) *Solidi solubili (° Brix)*: tra gli incroci, il Faber ha avuto il più elevato accumulo zuccherino (17, 2°), l'Huxelrebe il più bas-

Tab. 3 - Valori medi di alcuni parametri produttivi e qualitativi degli ibridi oggetto di indagine

Parametri	Ibridi				Anni			
	C 41-44	C 43-39	Castor	DMS 0.05	1982	1983	1984	DMS 0.05
Produzione (kg/ceppo)	8,69	4,18	5,93	N.S.	4,34	6,50	7,96	N.S.
Peso medio grappolo (g)	197	130	221	37	218	173	158	37
Peso medio bacca (g)	1,55	1,13	2,08	0,11	1,80	1,48	1,49	0,11
Fertilità delle gemme	2,4	2,1	1,7	0,5	2,5	1,7	2,0	0,5
pH	3,14	3,08	3,22	0,01	—	3,10	3,19	0,01
Solidi solubili (°Brix)	16,6	17,5	15,8	0,8	20,1	13,7	16,0	0,8
Acidità titolabile (‰)	9,5	9,2	7,2	0,8	6,5	9,5	9,9	0,8
Acido tartarico (g/l)	5,5	5,4	5,3	N.S.	4,0	6,4	5,8	0,2
Acido malico (g/l)	5,5	4,6	5,1	0,5	4,9	4,7	5,5	0,5
Solidi solubili x 10/Acidità titolabile	19,3	20,2	22,5	2,1	31,2	14,1	16,6	2,1
Acido tartarico/Acido malico	1,0	1,2	1,1	0,1	0,8	1,4	1,1	0,1

Tab. 4 - Valori medi annuali dei parametri produttivi per ciascun incrocio ed ibrido

Parametri produttivi	Produzione (kg/ceppo)			Peso $\bar{M}$ grappolo (g)			Peso $\bar{M}$ bacca (g)			Fertilità gemme		
	1982	1983	1984	1982	1983	1984	1982	1983	1984	1982	1983	1984
Incroci ed ibridi												
Bacchus	—	7,08	9,00	—	221	180	1,57	1,35	1,57	—	1,8	1,7
Faber	—	5,37	6,85	—	159	116	1,20	1,43	0,95	—	1,9	2,6
Huxelrebe	—	5,85	5,60	—	348	215	1,47	1,61	1,59	—	0,9	1,3
Kerner	—	8,38	6,80	—	140	175	1,73	1,58	1,64	—	2,0	1,8
Morio Muskat	—	6,42	7,70	—	169	170	1,10	1,10	1,74	—	1,4	2,0
Müller-Thurgau	—	7,12	7,97	—	193	160	1,61	1,63	1,75	—	1,9	1,9
Optima	—	7,02	4,90	—	151	111	1,25	1,09	1,68	—	1,8	1,7
Ortega	—	6,38	5,88	—	172	145	1,64	1,58	1,73	—	1,5	1,7
Scheurebe	—	5,88	4,87	—	139	125	1,89	1,61	1,77	—	1,7	1,5
Würzer	—	5,50	7,68	—	183	163	1,13	1,51	0,85	—	1,2	1,8
C 41-44	6,73	8,90	10,45	249	187	154	1,71	1,50	1,45	3,1	1,8	2,4
C 43-39	3,07	4,82	4,65	191	103	96	1,48	0,97	0,94	2,6	1,9	1,9
Castor	3,23	5,80	8,77	213	228	222	2,22	1,95	2,08	1,9	1,6	1,6

so (12,5°): la differenza tra i due valori è apparsa statisticamente significativa così come quella tra i valori medi del 1982 (17°) e del 1983 (14,9°). L'Huxelrebe sembra l'unico incrocio relativamente stabile nel tempo.

Il Castor è risultato l'ibrido con il minor contenuto zuccherino medio (15,8°), il C 43-39 l'ibrido con il contenuto zuccherino più elevato (17,5°). Nel 1982 e 1983 si sono registrati i valori estremi (rispettivamente 20,1° e 13,7°). Le differenze sono apparse statisticamente significative.

g) *Acidità titolabile (‰)*: genotipi, annate e loro interazione hanno influenzato in maniera statisticamente significativa l'espressione del parametro in oggetto. Il Faber ha presentato il più elevato contenuto finale di acidi organici (7,8%), l'Ortega il più basso (5,2%). L'acidità media annuale presenta un andamento crescente dal 1982 al 1984, con valori rispettivamente di 6‰, 6,4‰, 7,6‰. Il vitigno più stabile nel tempo sembra lo Scheurebe. Tra gli ibridi il Castor ha avuto il più basso contenuto di acidi organici (7,2%), il C 41-44 il più elevato (9,5%). Come gli incroci, i valori medi annuali si presentano crescenti passando dal 1982 al 1984.

h) *Acido tartarico (g/l)*: Il Bacchus e l'Huxelrebe hanno avuto il contenuto medio di acido tartarico rispettivamente più basso (3,8 g/l) e più elevato (6,3 g/l) e tra di loro statisticamente diverso. Le differenze tra i valori medi annuali sono minime, anche se significative, con valori uguali nel 1982 e 1984 (5 g/l) e più ele-

vati rispetto al 1983 (4,7 g/l). Ortega e Scheurebe sembrano presentare una certa stabilità nel tempo. Per gli ibridi, solo l'annata e la sua interazione con il genotipo ha influenzato significativamente il contenuto uvale di acido tartarico. Nel 1982 si sono registrati i valori più bassi (4 g/l) e nel 1983 i più elevati (6,4 g/l).

i) *Acido malico (g/l)*: i due fattori principali e la loro interazione, hanno influenzato in maniera statisticamente significativa il parametro in oggetto. Tra gli incroci il Bacchus ha presentato il valore medio più elevato (4,9 g/l), l'Ortega il più basso (1,7 g/l). Più basse sono apparse le differenze tra i valori medi annuali. Il Müller-Thurgau fornisce una certa costanza di risultati nel corso degli anni. Particolarmente sensibile alle variazioni meteorologiche è apparso il Morio Muskat, i cui contenuti medi annuali variano da 1,7 g/l nel 1983 a 7,4 g/l nel 1984. Molto più contenute sono state le differenze tra gli ibridi, con valori estremi di 4,6 g/l (C 43-39) e 5,5 g/l (C 41-44). Nel 1983 si è registrato il valore medio più basso (4,7 g/l), nel 1984 il più elevato (5,5 g/l).

l) *Rapporto: Solidi-solubili x 10/ Acidità tit.*

Il valore di questo indice di maturazione appare elevato per l'Ortega (33,4), molto basso per l'Huxelrebe (16,9). I valori medi annuali decrescono passando dal 1982 al 1984; Huxelrebe e Scheurebe presentano rapporti pressoché costanti negli anni. Tra gli ibridi il rapporto più elevato è a carico del Castor (22,5), il più basso

Tab. 5 - Valori medi annuali di alcuni parametri qualitativi e loro rapporto per ciascun incrocio ed ibrido

Parametri qualitativi	pH			Solidi solubili (° Brix)			Acidità titol. (‰)			Ac. tartarico (g/l)			Ac. malico (g/l)			Solidi solubili x 10/Acidità			Ac. tartarico/Ac. malico		
	'82	'83	'84	'82	'83	'84	'82	'83	'84	'82	'83	'84	'82	'83	'84	'82	'83	'84	'82	'83	'84
Bacchus	—	3,48	3,37	17,9	13,5	15,6	5,6	6,3	6,6	4,3	4,0	3,2	4,4	5,2	5,1	34,2	21,8	27,4	1,0	0,8	0,6
Faber	—	3,31	3,12	18,8	17,4	15,5	7,7	6,5	9,1	5,0	4,2	6,2	4,6	3,5	4,5	25,1	27,4	18,4	1,7	1,2	1,4
Huxelrebe	—	3,27	3,28	12,1	12,4	12,9	6,8	7,5	8,1	6,7	5,7	6,4	3,1	3,0	3,9	17,9	16,6	16,3	2,2	1,9	1,7
Kerner	—	3,29	3,21	18,2	12,7	16,5	6,1	6,8	7,4	6,8	6,0	4,7	1,9	4,3	2,9	30,0	19,8	22,5	3,6	1,4	1,6
Morio Muskat	—	3,42	3,27	17,8	13,6	12,6	3,9	5,0	7,9	4,0	5,3	4,5	1,9	1,7	7,4	46,5	26,7	16,1	2,2	3,1	0,6
Müller-Thurgau	—	3,36	3,24	16,2	16,4	14,3	6,3	6,5	8,0	5,7	4,2	5,2	3,2	2,8	2,9	24,6	25,4	17,7	1,8	1,5	1,8
Optima	—	3,33	3,35	16,2	14,1	15,6	4,7	5,8	6,2	4,4	5,0	4,0	2,2	2,2	3,4	34,7	25,1	25,7	2,1	2,2	1,1
Ortega	—	3,36	3,37	18,3	16,0	16,2	4,3	5,5	5,9	5,0	5,0	5,1	1,4	0,6	3,1	42,5	29,8	27,9	4,3	7,9	1,6
Scheurebe	—	3,28	3,13	17,6	15,1	17,1	8,0	7,3	7,6	4,9	4,8	5,0	5,1	2,3	4,0	22,3	21,3	22,7	1,0	2,1	1,3
Würzer	—	3,57	3,22	17,0	17,5	13,9	6,7	7,0	9,1	3,5	3,3	6,2	3,8	3,0	4,0	27,7	25,2	15,6	1,2	1,2	1,5
C 41-44	—	3,19	3,10	19,5	14,5	15,8	6,7	9,8	12,1	4,1	6,0	6,3	5,3	5,8	5,3	29,5	15,0	13,3	0,8	1,0	1,2
C 43-39	—	3,00	3,16	20,7	14,0	17,7	7,0	10,4	10,2	4,2	6,2	5,9	4,5	4,1	5,1	29,8	13,7	17,1	0,9	1,5	1,1
Castor	—	3,12	3,32	20,2	12,6	14,5	5,9	8,3	7,5	3,6	6,9	5,3	5,0	4,2	6,0	34,4	13,7	19,4	0,7	1,6	0,9

è a carico del C 41-44 (19,3). Tra le annate si sono riscontrate differenze notevoli.

m) Rapporto: Acido tartarico/ Acido malico

Per gli incroci i valori del rapporto sono variati da 0,8 (Bacchus) a 4,6 (Ortega). Nelle annate sono variati da 1,3 (1984) a 2,3 (1983). Il Müller-Thurgau e il Würzer sembrano gli unici incroci a presentare una certa stabilità nel tempo. Per gli ibridi i valori oscillano attorno all'1, variando da 1 (C 41-44) a 1,2 (C 43-39). Nelle annate i valori medi sono variati da 0,8 (1982) a 1,4 (1983). Relativamente agli altri ibridi il C 41-44 sembra il più stabile nel tempo.

B) DURATA DELLE FASI DI CRESCITA DELLE BACCHE E VARIAZIONI TEMPORALI DEI CONTENUTI UVALI DI ALCUNI PARAMETRI QUALITATIVI (tab.6)

La durata delle fasi I-II di crescita della bacca (dall'allegagione all'invaiaura) è variata in maniera apprezzabile in funzione dei diversi genotipi. Il Faber impiega 35 gg (il valore più basso), per completare le due fasi; l'Huxelrebe, il C 43-39 e il Castor invece

impiegano il maggior numero di giorni (55). Per l'Ortega e il C 41-44 non è stato possibile definire la fase II (di stasi). Ortega e Faber sembrano le varietà ad invaiatura più precoce (rispettivamente 33 gg e 38 gg dopo la fioritura), mentre Huxelrebe C 43-39 e Castor risultano le più tardive (55 gg dopo la fioritura).

Il Kerner sembra il genotipo dotato della maggior velocità di accumulo zuccherino, mentre l'Optima sembra essere il più lento. Il C 41-44 presenta il più elevato picco di massima dell'acidità titolabile (36,5‰), seguito dall'Huxelrebe (36,3‰), mentre il Kerner presenta il più basso valore del picco (30,1‰). Il valore di massima concentrazione acidica viene raggiunto dopo 33 gg dalla fioritura per Morio Muskat, Optima e Ortega e dopo 47 gg per il Müller-Thurgau. La velocità di degradazione dell'acidità è più elevata per l'Ortega (11 gg), più bassa per l'Huxelrebe (32 gg).

C) CARATTERISTICHE ANALITICHE DEI VINI (1983)

Gli incroci microvinificati presentano in complesso una graduazione alcolica discreta, con ottimi valori per il Faber (9,90°) e scadenti per Huxelrebe (6,5°), (tab. 7). I valori di pH e di acidità totale sono risultati mediamente superiori a quelli del mosto,

Tab. 6 - Relazione tra accescimento delle bacche, accumulo degli zuccheri e degradazione dell'acidità per ciascun genotipo (1983) (schema ricavato da Alleweldt e Koeppen, 1978)

Varietà	Durata della fase I-II	Inizio accumulo degli zuccheri (giorni dopo fioritura)	Incremento zuccheri da 6° Brix a 13° Brix (giorni)	Massimo dell'acidità (giorni dopo fioritura)		Riduzione dell'acidità fino a 14‰ (giorni)	Peso bacca g
				giorni	‰		
Bacchus	45	45	33	45	31,8	16	1,3
Faber	35	38	18	42	31,7	19	1,4
Huxelrebe	55	55	—	36	36,3	32	1,6
Kerner	51	51	16	39	30,1	26	1,6
Morio Muskat	45	45	30	33	30,6	27	1,6
Müller-Thurgau	42	47	20	47	36,2	14	1,6
Optima	40	40	36	33	30,3	24	1,1
Ortega	—	33	25	33	31,1	11	1,6
Scheurebe	43	43	18	43	33,3	22	1,6
Würzer	45	45	20	45	32,1	17	1,5
C 41-44	—	48	20	41	36,5	19	1,5
C 43-39	55	55	19	41	34,0	22	1,0
Castor	55	55	—	41	32,7	24	1,9

Tab. 7 - Analisi chimica del vino di alcuni incroci (1983)

Analisi parametri Varietà	Alcool (%)	pH	Acidità tot. (g/l)	Acidità volatile (g/l)	SO <sub>2</sub> libera (mg/l)	SO <sub>2</sub> totale (mg/l)	Fenoli tot. (mg/l)
Bacchus	7,45	2,85	6,60	0,13	12	90	44
Faber	9,90	2,96	8,30	0,21	7	120	53
Huxelrebe	6,50	2,85	13,00	3,67	3	110	78
Kerner	8,60	2,73	8,70	0,28	15	120	60
Müller-Thurgau	8,30	2,88	7,80	0,16	22	84	46
Optima	8,45	3,00	6,50	0,17	14	90	51
Ortega	9,30	3,01	6,00	0,12	20	84	70
Scheurebe	7,05	2,87	8,80	0,16	25	80	52

tà), sul quale ha influenzato pesantemente il contenuto di acidità volatile (3,67‰). Tralasciando l'Huxelrebe, i contenuti di acidi organici sono variati da 6‰ (Ortega) a 8,8‰ (Scheurebe). La SO<sub>2</sub> libera è variata da 3 mg/l (Huxelrebe) a 25 mg/l (Scheurebe), la SO<sub>2</sub> totale da 80 mg/l (Scheurebe) a 120 mg/l (Faber e Kerner). I polifenoli totali sono variati da 44 mg/l (Bacchus) a 78 mg/l (Huxelrebe).

### Discussione

Dall'analisi dei dati produttivi, appare evidente il diverso comportamento dei vari *incroci intraspecifici*, che nel complesso presentano buone attitudini produttive, con valori di fertilità media delle gemme superiori a 1,5 (ad eccezione dell'Huxelrebe). Tra tutti, oggetto di particolare interesse appaiono il Faber e l'Huxelrebe a causa delle loro caratteristiche spesso opposte: il primo presenta infatti grappoli piccoli e numerosi, il secondo pochi grappoli e grossi, e questo con produzioni per ceppo e per gemma quasi uguali. I peculiari caratteri produttivi dell'Huxelrebe si riflettono anche nella sfera qualitativa, essendo i suoi grossi grappoli i più poveri in zuccheri, i più ricchi in acido tartarico e con l'indice di maturità (zuccheri x 10/acidità) più basso. Contrariamente all'Huxelrebe, i piccoli e numerosi grappoli del Faber presentano il più elevato contenuto zuccherino. Il Müller-Thurgau, che nel presente lavoro è considerato termine di confronto, si conferma vitigno produttivo, fertile, dotato di una notevole stabilità genetica per quanto riguarda il peso medio della bacca e la fertilità. Per gli altri invece, i parametri produttivi sono apparsi influenzati dal clima, sia pure con intensità diversa.

Anche i parametri qualitativi hanno presentato apprezzabili variazioni in funzione del genotipo e dell'annata. Il grado zuccherino ha presentato un'ampia escursione tra i valori medi di ciascun incrocio, di quasi 5° Brix. L'accumulo zuccherino è apparso favorito da elevate temperature associate ad una adeguata disponibilità idrica.

Il Faber è l'unico incrocio a presentare (in valore assoluto) gli stessi accumuli zuccherini medi riscontrati in Germania (mentre per gli altri vitigni si osservano valori costantemente inferiori) anche se in termini relativi ha manifestato un comportamento diverso. Infatti mentre nell'ambiente tedesco il contenuto zuccherino medio si colloca su valori intermedi rispetto all'intero gruppo di incroci (Alleweldt, 1972), nel nostro ambiente esso risulta il più elevato e, nei diversi anni, appare in stretta relazione con alcuni indici bioclimatici ( $\Sigma Ta$ ,  $\Sigma Te$ , T° media del mese pre-vendemmia).

Dall'analisi della tabella 6, non risulta evidente alcuna relazione tra epoca di invaiatura e velocità di accumulo zuccherino e tra quest'ultima e i contenuti finali (alla vendemmia) nelle bacche.

I valori dell'acidità titolabile media relativi ai diversi incroci si collocano su livelli nettamente inferiori rispetto a quelli riscontrati nel Paese di origine e non sembrano in alcun rapporto (positivo o negativo) con i rispettivi contenuti zuccherini.

Per tutti gli incroci inoltre (tranne Faber e Scheurebe) si è notato un legame inversamente proporzionale tra contenuti medi an-

nuali di acidi organici e  $\Sigma Ta$ ,  $\Sigma Te$ , T° media del mese pre-vendemmia. Sempre per tale parametro, inoltre, non sembra sussistere relazione alcuna tra epoca di comparsa del picco di massima concentrazione, suo valore assoluto e velocità di riduzione dell'acidità.

Gli incroci in prova, ad eccezione del Bacchus, presentano un contenuto in acido tartarico più elevato rispetto all'acido malico contrariamente a quanto riscontrato normalmente nei climi più freddi tedeschi. Si notano inoltre alcuni vitigni stabili negli anni per quanto riguarda i contenuti finali di acido malico (Müller-Thurgau e Bacchus) ed acido tartarico (Ortega e Scheurebe).

L'Ortega presentando i valori degli indici di maturazione più elevati, appare un vitigno precoce, caratterizzato alla maturazione da un buon grado zuccherino ma da un'acidità, soprattutto malica, molto bassa, unitamente ad una precoce epoca di invaiatura e ad una rapida degradazione dell'acidità.

Lo Scheurebe ha dimostrato, nelle differenti condizioni climatiche dei tre anni di prova, di possedere un buon controllo genetico del rapporto zuccheri/acidità.

Il quadro generale offerto dall'analisi dei vini è positivo, ad eccezione dell'Huxelrebe, che accanto ad un basso grado alcolico, offre valori di acidità totale e soprattutto volatile molto elevati. Alla degustazione Müller-Thurgau, Optima, Kerner e Faber, sono sembrati i più equilibrati ed armonici.

Passando ad analizzare gli *ibridi interspecifici*, si può notare come il C 43-39, caratterizzato da una scarsa produzione per ceppo, ha prodotto grappoli piccoli e numerosi, con bacche di piccole dimensioni, presentando alla vendemmia il più elevato grado zuccherino ed una acidità sostenuta alla quale concorre l'acido tartarico in proporzione maggiore rispetto al malico. Il Castor invece, con una produzione media triennale più elevata del C 43-39, ma molto variabile nelle annate, presenta bacche e grappoli di maggiori dimensioni, mentre grado zuccherino ed acidità fanno registrare i valori più bassi. Il C 41-44 presenta delle buone caratteristiche produttive, legate a valori intermedi per i parametri qualitativi. I genotipi si mostrano inoltre molto sensibili alle condizioni ambientali.

### Conclusioni

I risultati ottenuti hanno messo in evidenza il ruolo fondamentale del genotipo e della sua interazione con le condizioni meteorologiche, sulla espressione finale dei parametri produttivi e qualitativi. Per gli *incroci intraspecifici* il peso medio della bacca è apparso il carattere più legato al genotipo, mentre l'acidità titolabile è risultata essere il parametro più strettamente connesso alle condizioni climatiche ed in particolare alla temperatura.

In complesso gli incroci hanno presentato un discreto livello produttivo, un contenuto zuccherino medio ed una buona acidità. I genotipi che più si scostano dalla media della popolazione per particolari caratteri sono apparsi l'Huxelrebe a causa dell'elevato peso medio del grappolo e il basso contenuto di solidi solu-

bili ed il Bacchus che mantiene il rapporto acido tartarico/acido malico inferiore ad 1.

Il Müller-Thurgau è apparso il vitigno più stabile per quanto riguarda i parametri produttivi; lo Scheurebe quello che ha controllato meglio il rapporto solidi solubili/acidità. Particolarmente sensibile alle differenti condizioni meteorologiche è sembrano il Morio-Muskat.

All'analisi sensoriale dei vini prodotti nei primi due anni di prova, si sono registrate le migliori caratteristiche organolettiche per Müller-Thurgau, Optima, Kerner, Faber.

Gli ibridi interspecifici, hanno presentato in complesso una acidità, soprattutto malica, più elevata rispetto agli incroci, ed un grado zuccherino di poco superiore.

Il C 43-39 presenta discrete caratteristiche qualitative anche se a scapito di quelle produttive, mentre il Castor, accanto a basse produzioni per ceppo e alla più bassa fertilità, associa mediocri caratteristiche qualitative.

Si ringrazia il Sig. Giuseppe Bruzzi, Tecnico dell'Istituto, per la collaborazione prestata.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Alleweldt G. (1972) - *Die Qualitäts und Ertragsbildung von Rebennzüchten*. «Weiberg und Keller», 19 (3): 139-156.

2. Alleweldt G. Koepchen W. (1978) - *Criteria of breeding for quality. «Génétique et amélioration de la Vigne»*, INRA, Paris, 387-396.
3. Belvini P. Dalla Costa L., Scienza A. (1978) - *Una tecnica di campionamento per il controllo della maturazione dell'uva anche in relazione al miglioramento genetico*. «Vignevini», 5: 35-38.
4. Breider H. (1971) - *Die neuen Rebensorten aus Franken (1971)*. «Weinberg und Keller», 18 (7): 299-316.
5. Einset J., Pratt C. (1975) - «Grapes» in «*Advances in fruit breeding*» ed. by Janick and Moore, Purdue University, West Lafayette, Indiana, 130-153.
6. Fregoni M. (1973) - *Ecologia e viticoltura: adattamento degli obiettivi della produzione dell'ambiente naturale*. «Frutticoltura», vol. XXXV, 12: 9-25.
7. Fregoni M. (1981) - *Lineamenti per la programmazione e la riconversione della viticoltura*. «Vignevini», 11: 23-32.
8. Köppen W. (1923) - *Die Klima der Erde*. Berlin: Walter de Gruyter and Co.
9. Mennella C. (1967) - *Il clima d'Italia nelle sue caratteristiche e varietà e quale fattore dinamico del paesaggio*. EDART, Napoli.
10. Olmo H. (1978) - *Genetic problems and general methodology of breeding*. «Génétique et amélioration de la vigne», INRA, Paris, 4-10.
11. Quamme H.A. Stushnoff C. (1983) - *Resistance to environmental stress*. «*Methods in fruit breeding*» ed. by Moore and Janick, Purdue University, West Lafayette, Indiana, 242-273.
12. Sistrunk W.A. Moore J.N. (1983) - *Quality «Methods in fruit breeding»*, ed. by Moore and Janick, Purdue University, West Lafayette, Indiana, 274-293.

#### RESUME

#### CARACTERISTIQUE PRODUCTIVES ET QUALITATIVES DE CERTAINS NOUVEAUX CROISEMENTS ET HYBRIDES ALLEMANDS CULTIVES SOUS DES CLIMATS TEMPERES SUBCONTINENTAUX

*Le but de la présente étude est d'évaluer l'adaptation éventuelle de certains nouveaux croisements et hybrides de constitution allemande aux climats tempérés sub-continentaux propres à la région de Piacenza grâce à l'étude de leur comportement productif et qualitatif.*

*L'enquête qui a duré 3 ans (1982-83-84) a intéressé 10 croisements (Bacchus, Faber, Huxelrebe, Moriot Muskat, Müller-Thurgau, Optima, Ortega, Scheurebe, Würzer) et 3 hybrides (C 41-44, C 43-39, B 7-2). Il résulte de l'analyse des paramètres productifs (production/cep, poids moyen de la grappe, fertilité, poids moyen de la baie) que le Faber et l'Huxelrebe ont un comportement opposé, le premier présente des grappes petites et nombreuses, le second des grappes plus grosses mais plus rares et ceci pour une même production. Ces caractéristiques se retrouvent également au niveau qualitatif, la Faber présente la teneur en sucres la plus élevée (17,2°) et l'Huxelrebe la plus faible (12,5°). Le Müller-Thurgau qui, dans cette étude, sert d'élément de comparaison étant donné ses caractéristiques bien connues, se présente comme un cépage productif, fertile, ayant des rapports sucres/acidité et acide tartrique/ acide malique équilibrés à maturation.*

*Le climat a surtout influencé les paramètres qualitatifs (sucres, acidité, surtout malique); les différences entre les valeurs moyennes annuelles relatives aux paramètres qualitatifs sont évidentes également pour les conditions météorologiques très variables au cours des trois années.*

*Huxelrebe, Ortega, Morio Muskat, semblent être les cépages qui s'adaptent le moins aux conditions climatiques du milieu d'expérimentation, alors que Müller-Thurgau, Kerner et Faber ont, par rapport aux autres, un comportement dans l'ensemble plus équilibré en ce qui concerne les aspects productifs et qualitatifs et surtout on présenté au cours de la dégustation (qui suit la microvinification) les meilleures caractéristiques organoleptiques.*

*Parmi les hybrides, le C 49-39 présente de bonnes caractéristiques qualitatives (teneur en sucres, bonne acidité) aux dépens des caractéristiques productives, alors que le B 7-2 associe à une basse production par cep et une basse fertilité, de médiocres caractéristiques qualitatives. Aucun des hybrides n'a été vinifié.*

## RESULTS OF NEW INTERSPECIFIC CROSSINGS WITH GENES OF AMERICAN, ASIAN AND EUROPEAN VITIS (WHITE WINE VARIETIES)

H. BECKER

Institute for Grapevine Breeding and Grafting  
Forschungsanstalt Geisenheim (Rep. Fed. of Germany)

The objectives of the Geisenheim long term breeding programme are to create resistant new white and red wine varieties for cool climate. The Vine improvement of our Institute includes

specific V. vinifera and interspecific hybridization with American, Asiatic and European Vitis species.

The vine breeding programme of the Geisenheim Institute was initiated in the last century. In 1882, the variety «Müller-Thurgau» was created in Geisenheim. Here it was always aim of vine improvement to get varieties with Riesling-like characteristics. Promising new Geisenheim V. vinifera cultivars were obtained patented and released.

In 1939, interspecific crosses were made to get white table wine with vinifera-taste. The complex French hybrid «Seibel 7053» was used as a source of resistance to mildew. «Seibel 7053» was crossed with Geisenheim (= Gm) White Riesling clones No. 118 Gm, 237 Gm, 239 Gm. Reciprocal crosses using «Sylvaner» x «Riesling» and «Riesling» x «Sylvaner» hybrids pollinated with «Seibel 7053» were performed. From these about 50 different promising types were selected and tested. Some V. vinifera types like Riesling x Sylvaner and Sylvaner x Riesling-crossings were open pollinated and got pollen supposed to be Seibel 7053. Open pollinated and

F<sub>2</sub>-seedlings from the best one's were raised and 1.200 preselected new types were planted in 1953. The best 120 of these were grafted, yield and wine-characteristics were evaluated. The wine of only 30 varieties tasted Riesling-like as a result of intensive sensory evaluation. They were grafted for further tests in 1966. Some promising varieties proved to be resistant to downy mildew in field tests. The yield of these best varieties, which are «Seibel 7053» x Riesling clone 239Gm F<sub>2</sub> and («Sylvaner» x «Riesling») x «Seibel 7053» F<sub>2</sub> turned out to be promising in a six-year experimental period, compared with Riesling clone 239 Gm. The must-quality proved to be comparable with Riesling. In 1971 we continued the breeding programme by back crossing Gm 323 58 (Seibel 7053 x Riesling clone 237 Gm) F<sub>2</sub> (open pollinated) with Ehrenfelser (Riesling x Sylvaner). These patented and recommended Geisenheim cultivar Ehrenfelser has a high tolerance to Oidium. Out of the big amount of seedlings those were selected and multiplied to be resistant or tolerant to both mildews and having a Riesling-like taste. The most interesting Geisenheim new interspecific types are all grafted on Geisenheim 5 C-rootstock and are left completely unsprayed without any treatment of pesticides in comparison to Riesling clone 239-34 Gm. Most of the new types proved to be tolerant to Oidium and Plasmopara to some extent to Botrytis too.

The new varieties are vigorous and healthy vines with tough leaves. The shape of leaves tend to vinifera but with characteristics of American species. They proved to be rather resistant to mildews and winterkill under climate conditions of Geisenheim. The leaves remain green in the fall for a long time and remain even after the first night frosts. At this time all viniferas have lost their leaves already.

Tab. 1 - Geisenheim interspecific varieties with genes of *V. vinifera* and Seibel 7053

No	Gm-No.	Genealogy
1	Gm 311 58	(Seibel 7053 x Riesling clone 239 Gm) F <sub>2</sub> = free pollination
2	Gm 312 58	(Silvaner x Riesling 1/81 Gm) x Riesling x Silvaner 7/44 Gm) F <sub>2</sub> = free pollination
3	Gm 313 53	(Müller-Thurgau x J.P.M.) F <sub>2</sub> = free pollination
4	Gm 316 57	(Silvaner x Riesling 4/98 Gm) x Seibel 7053 F <sub>2</sub> = free pollination
5	Gm 318 57	(Seibel 7053 x Riesling clone 239 Gm) F <sub>2</sub> = free pollination
6	Gm 320 58	(Silvaner x Riesling 1/81 Gm) x (Riesling x Silvaner 7/44) F <sub>2</sub> = free pollination
7	Gm 322 58	(Seibel 7053 x Riesling clone 239 Gm) F <sub>2</sub> = free pollination
8	Gm 324 58	(Seibel 7053 x Riesling clone 239 Gm) F <sub>2</sub> = free pollination
9	Gm 49-84	(Silvaner x Riesling 4/75 Gm) x Seibel 7053
10	Gm 341 58	(Silvaner x Riesling 1/81 Gm) x Riesling x Silvaner 7/44 Gm) F <sub>2</sub> = free pollination
11	Gm 6441-4	(Seibel 7053 x Riesling clone 239 Gm) x Müller-Thurgau
12	Gm 7116-1	Gm 323 58* x Ehrenfelser
13	Gm 7116-2	» »
14	Gm 7116-4	» »
15	Gm 7116-10	» »
16	Gm 7116-13	» »
17	Gm 7116-18	» »
18	Gm 7116-26	» »
19	Gm 7116-29	» »
20	Gm 7116-32	» »
21	Gm 7117-5	Gm 312 53 x Ehrenfelser
22	Gm 7117-10	» »
23	Gm 323 58*	(Seibel 7053 x Riesling clone 239 Gm) F <sub>2</sub> = free pollination

The hardwood of all new varieties is well matured and is not infected by Botrytis during the wet dormant season. The hardness of the canes and buds ensures a consistent yield. The new interspecific white wine varieties are not resistant to Phylloxera and must be grafted on resistant root-stocks.

Table 1 informs about the genealogy of the crossings with *V. vinifera* and the French Hybrid Seibel 7053. No. 12 to No. 22 were crossed 1971. They seem to be most promising. We have established a special plantation with all our resistant varieties without treatment of pesticides.

Fig. 1 gives the Data of yields. The clusterweight is different and responsible for the yield. The Oechsle degree of the Riesling was 1984 not very high because this year was not a very good vintage. Dates were published already about the yields of No. 1 to No. 8 (Becker, 1978, 1983). In this paper we are not able to offer all the data of our previous research. From all new types we have planted about 50 grafted vines. In comparison to Riesling the yield of the new types is reasonable and in general higher than Riesling.

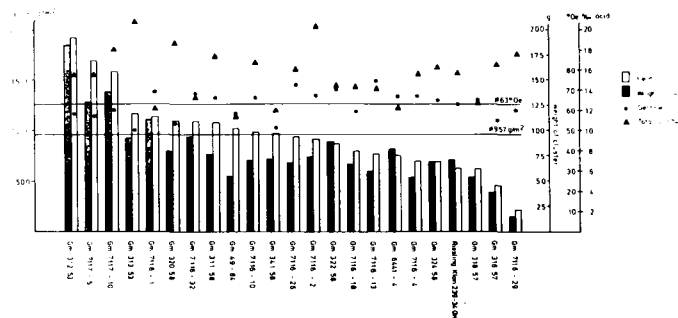


Fig. 1 - Yield, Clusterweight, Oechsle and Accidy of Geisenheim Varieties 1984 in comparison to Riesling.

Tab. 2 informs about the analysis of the wines after vinification in 50 l glascontainers. Most important objective is to gain Riesling-like wines. Our preselection was always combined with microvinification.

Fig. 2 gives the results of wine tastings. Most of the wines were scored relatively high and thought to be Riesling or close to Riesling. The wine of the variety Gm 322 58 is Riesling-like but with a flavor related to the «Scheu-Rebe». The Gm 49-84 «Breidecker» seems to be more of Müller-Thurgau-character. Only two varieties have had a strange taste. Most promising of all varieties concerning resistance and taste of wine as well are Gm 7117-5, Gm

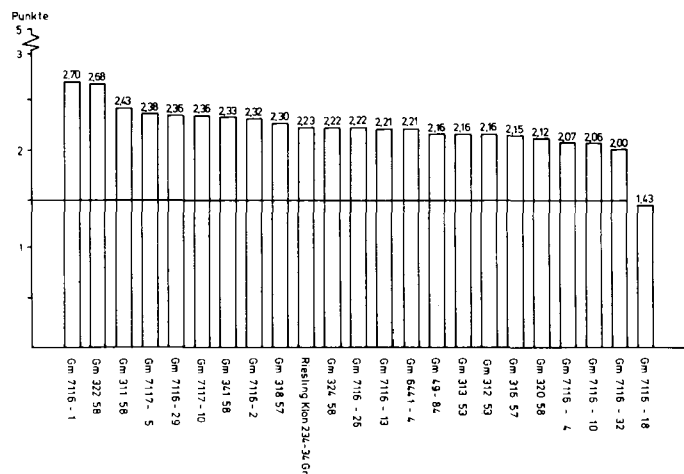


Fig. 2 - Organoleptic Evaluation of the wines of interspecific Geisenheim Varieties 1984 (Riesling in Comparison) Score (Punkte-Schema 1-5) 1-5 (New German System)

**Tab. 2 - Analytical dates of must and wines of different Geisenheim interspecific varieties**

Varieties	Must		Wine					total Acid	SO <sub>2</sub> free mg/l	total mg/l
	°Oe	Acid	Alcohol °Vol	Resid.Sugar	Extract g/l	pH				
Gm 311 58	66	17,8	9,6	1,8	21,2	3,35	9,8	47	58	
Gm 312 53	58	18,4	9,4	1,1	23,1	3,25	11,1	47	64	
Gm 313 53	50	20,7	9,5	1,8	25,5	3,20	12,5	45	65	
Gm 316 57	55	16,4	10,2	3,4	20,9	3,15	9,3	66	110	
Gm 318 57	65	12,6	9,7	1,5	25,3	3,40	8,7	84	127	
Gm 320 58	54	18,6	9,6	1,1	22,0	3,25	10,4	34	68	
Gm 322 58	75	14,2	9,6	2,9	24,3	3,35	9,0	40	76	
Gm 324 58	65	16,2	9,8	1,2	25,7	3,40	9,2	25	57	
Gm 49-84	58	11,4	9,8	3,1	21,5	3,20	8,2	44	85	
Riesling Kl. 239-34 Gm	63	15,6	9,4	1,4	23,9	3,30	9,2	49	64	
Gm 341 58	51	11,9	10,3	1,1	20,4	3,15	8,5	40	61	
Gm 6441-4	67	12,2	9,8	1,2	24,9	3,45	8,3	40	60	
Gm 7116-1	64	12,1	9,8	1,2	20,1	3,50	7,9	35	72	
Gm 7116-2	67	20,4	9,7	1,3	26,4	3,25	11,4	47	100	
Gm 7116-4	67	15,5	9,4	1,3	24,0	3,35	9,5	68	162	
Gm 7116-10	66	16,7	9,5	2,0	24,1	3,30	10,3	35	70	
Gm 7116-13	74	14,1	9,8	9,2	25,5	3,50	9,0	36	77	
Gm 7116-18	59	14,3	9,7	2,5	24,0	3,30	9,2	70	157	
Gm 7116-26	72	15,9	9,2	1,1	27,8	3,50	9,2	44	77	
Gm 7116-29	60	17,5	9,7	1,2	24,3	3,30	8,4	42	96	
Gm 7116-32	68	13,3	9,7	2,0	24,3	3,60	7,2	39	95	
Gm 7117-5	57	15,4	10,0	2,0	21,8	3,20	9,9	37	72	
Gm 7117-10	60	18,0	9,9	1,6	27,1	3,35	11,0	44	70	

**Tab. 3 - Production of Gm 723-1 (Arnsburger x Seyval blanc)**

Vintage	Yield (g/m <sup>2</sup> )	°Oechsle	Acidity (g/l)
1980	282	87	15,9
1981	2.298	63	16,1
1982	2.822	87	12,2
1983	2.194	76	15,7
∅ 80-83	1.899	78	15,0
Riesling klon 239 Gm			
∅ 73-83	876	81	11,9

Institut für Rebenzüchtung und Rebenveredlung der FAG (1984)

7116-1, Gm 7117-10, GM 312 53, Gm 322 58 and Gm 7116-26.

We continue the work of evaluation and feel to be on the right way. Besides of the mentioned group we have a lot of new interspecific varieties with genes of Riesling-clones and French hybrids. Mother variety is our patented Geisenheim variety «Arnsburger» (Riesling clone 88 Gm x Riesling and has a fine Riesling-like acidity. The production of Gm 723-1 is shown in Tab. 3. We expect from combinations with «Arnsburger» and resistant types further advantages in breeding and selecting resistant varieties with Riesling-character. Many new crossings with this combinations were grafted and planted for trial.

As already published (Becker, 1981) *Vitis amurensis* was used as donor of resistance to for cold hardiness at Geisenheim. The aim of this crossings is to create new varieties with good productivity, quality and adaption to cool climate regions. Thousands of seedlings were raised since 1964.

Backcrossings of Saperavi Severenyi (Malingre précoce x *Vitis amurensis*) with different *Vitis vinifera* proved to be very promis-

ing. The high and constant productivity, quality, early maturity, cold hardiness and resistance to *Botrytis* and *Plasmopara* could be inherited independently.

We selected and evaluated 6 new varieties (Tab. 4) after 14 years of vinification out of families as follows:

Gm 6493 Saperavi Severenyi (Malingre précoce x *V. amurensis*) x Muscat Ottonel

Gm 6494 Saperavi Severenyi (Malingre précoce x *V. amurensis*) x St. Laurent

Gm 6495 Saperavi Severenyi (Malingre précoce x *V. amurensis*) x Forsters white Seedling x Prachttraube

The characteristics of the Geisenheim *V. amurensis*-crossings are:

**A. Vegetative characteristics**

1. Very good maturation of hard wood and high grafting affinity to rootstocks;

**Tab. 4 - Production dates 1976-1984 of Geisenheim - *V. vinifera* - *V. amurensis* crossing (Grafted on 5 C Selection Geisenheim clone 6; Spacing row 1,60 m, vine 1,40 m)**

Varieties	Colour	∅ Yield g/m <sup>2</sup>	∅ °Oechsle	∅ tot. Acidity ‰ 0	Years
Gm 6494-2	R	1213	75,2	9,2	1976-84
Gm 6493-2	W	1202	85,1	8,5	1976-84
Gm 6494-5	R	1023	87,2	9,3	1977-84
Gm 6495-1	W	1127	86,0	8,6	1976-84
Gm 6495-2	W	1066	85,0	8,9	1976-84
Gm 6495-3	W	1416	77,7	9,3	1976-84
Riesling Kl. 239-25 Gm	W	1063	83,1	12,8	1976-84

W = white,  
R = red.

2. Winterhardiness superior to *Vitis vinifera*;
3. Leaves are robust, tough and of deep green colour;
4. Vigorous upright growth;
5. Budburst within the range of early *V. vinifera* cultivars;

#### B. Generative characteristics

1. Fertility is sufficient and very constant;
2. Early and fast pollination and very good fruitset;
3. Structure of cluster stems robust and resistant to *Botrytis*;
4. Skin of berries robust and relative resistant to *Botrytis*;
5. Maturation of the fruit relative early and constant.

#### C. Resistance to diseases

1. No resistance to root phylloxera, need to be grafted;
2. Formation of phylloxera leaf galls seems to be *Vinifera*-like;
3. Some of the varieties are resistant to *Plasmopara*, but not to *Oidium*;
4. Relative high resistance of grapes to *Botrytis*;

#### D. Wine character

1. Backcrossings of *Vinifera*-taste and scored as high quality wines;
2. Red wine varieties with good colour.

As far as we know the new Geisenheim varieties with *V. amurensis* are the only one in the western world to be ready of applications to be released. But there are legal restrictions in Europe to use interspecific varieties for the production of quality wines. Within the last years we selected and evaluated new crossings with Riesling clone 239 Geisenheim and Riesling clone 198 Geisenheim as a mother and the mentioned elite types of *V. amurensis*-crossings. This group of new varieties inherited many of the vegetative and generative characteristics of the described

new *V. amurensis*-types in combination with White Riesling. We expect a breakthrough after having evaluated and multiplied the very best varieties of this promising Geisenheim breeding programme.

#### LITERATUR

- Becker H. (1977) - *Results of interspecific hybridization in Geisenheim (table wine-varieties)*. Symposium International sur l'Amélioration de la Vigne Bordeaux, 165-171.
- Becker H. (1981) - *Erst Ergebnisse der Züchtung interspezifischer Ertragsarten mit der Erbmasse der Vitis amurensis R. in Geisenheim*. Deutsches Weinbau-Jahrbuch, 25-35.
- Becker H. - *Viticulture and Vine Improvement in Germany*. Washington State University, Cooperative Extension, 132-164.
- Becker H. (1984) - *Über die Verbesserung der Sämlingsaufzucht und Frühselektion in der Kreuzungszüchtung*. Deutsches Weinbau-Jahrbuch, 49-57.
- Cindric P. - *Breeding of Interspecific Grapevine Varieties*. III. International Symposium on Grape Breeding, Davis, USA, 175-178.
- Golodriga P. la (1977) - *Culture de Variétés de Vigne polyrésistantes*. II. Symposium Intern. sur l'Amélioration de la Vigne, Bordeaux, 14. bis 18.6.1977, Grape-vine Genetics and Breeding, 183-188.
- Golodriga P. la et Trochin L.P. (1977) - *Heritabilité des Caractères quantitatifs chez la Vigne*. II. Symposium Intern. sur l'Amélioration de la Vigne, Bordeaux, 14. bis 18.6.1977, Grapevine Genetics and Breeding, 114-117.
- Huang H. (1980) - *The grapes and wines of China*. III. International Symposium of Grape Breeding, University of California, Davis, June 15-18, 1980 Summary No. 4, S. 2.
- Koleda J. (1975) - *Ergebnisse von Kreuzungen zwischen Vitis amurensis und Vitis vinifera in der Züchtung frostwiderstandsfähiger Reben*. Vitis 14, 1-5.

## QUALITE DU RAISIN ET RESISTANCE DE LA VIGNE DANS LES POPULATIONS HYBRIDES INTERSPECIFIQUES

P. KOZMA

Chaire de Viticulture et d'Oenologie SZBKI - Kisfai - Budapest (Hongrie)

La plus grande mission des sélectionneurs de la vigne à notre époque est de créer des cépages, qui réunissent la productivité et la qualité des vignes européennes la résistance aux principales maladies cryptogamiques et parasitaires en aux froids d'hiver. Ces cépages nous permettent la réduction de frais de production, l'augmentation de la sûreté de production et la réduction de la pollution du milieu par le produit de protection des végétaux.

Par l'hybridation à la résistance de la vignes on a obtenu des résultats très importants en USA, en Europe et aussi en Extrême Orient. Je ne peux pas mentionner les expériences et les résultats dans cet exposé de détails, mais permettez-moi de citer le nom d'Allen, Richets, Arnold, Munson, Oberlin, Baco, Gasin, Couderc, Castel, Millardet et de Grasset, Seyve-Villard, Galibert, Paulsen, Ruggeri; Husfeld, Alleweldt, Becker; Micsurin, Potapenko, Golodriga; Olmo; et de Hongri Telekis, Csizmazia, Tamássy, Koleda, mais cette énumération n'est pas complète. L'activité des hybrideurs s'étaient étendue à l'obtention des variétés résistantes de porte-greffes, de raisins de table et de raisins de cuve. Comme source de gène de résistance on a employé d'une part les espèces

nord-américaines (*V. Labrusca*, *V. riparia*, *V. rupestris*, *V. Berlandieri*, *V. Lincecumii*, *V. aestivalis*, *V. rotundifolia*, *V. caribaea* etc.), d'autre part des espèces est-asiatique (*V. amurensis*, *V. Thunbergii* etc.).

La renaissance d'amélioration de la vigne à la résistance a pris de l'extension ces dernières décennies et on a créé un grand nombre de résultats, grâce auxquels nous avons pu approcher le but idéal.

C'est notre travail qui constitue une petite partie des activités des résultats internationaux. Je voudrais rendre compte sommairement de nos méthodes et résultats.

#### L'exposé de nos croisements

Il y a trente ans, que nous avons commencé l'obtention des hybrides interspécifique résistants ou tolérants aux parasites cryptogamiques (*Plasmopara viticola*, *Oidium Tuckeri*, *Botrytis cinerea*) et aux gelées d'hiver et donnant à la fois une bonne qualité. Nous pouvons diviser notre activité en trois périodes.

La première période a duré de 1952 jusqu'à 1963. Dans cette période nous avons employé comme ressources des gènes de résistance des variétés suivantes: *Riparia Gloire de Montpellier*, *Othello*, *Herbement* et *Ferdinand de Lesseps*. Nous avons employé les variétés suivantes: *V. vinifera*: *Muscat Ottonel*, *Chasselas musqué*, *Izsáki sárféher*, *Oportó*. Des croisements, nous avons constitué entièrement 9 polations  $F_1$  et parmi celes-la nous avons choisi 5 clones et nous les avons mis en expérimentation. Nous n'avons pas créé des recroisements et de croisements complémentaires. A cette époque nous avons semé des pépins en grand nombre, que nous avons obtenus par l'autofécondation de 5279 Seibel et nous avons élevé plus de mille des plantes du semis.

La deuxième période de croisements commença en 1964 et elle



s'est poursuivie en 1966 et 1967, en 1971 et 1972, en 1974, en 1976, 1977, 1978 et en 1980. Nous avons employé comme ressource des gènes de résistance 4986 et 5279 Seibel, 6 Ravat, 5276, 12.375 et 18.315 Seyve-Villard. Parmi les variétés de *V. vinifera* nous avons utilisé pour la plupart les variétés très précoces, murissement moyen et tardif à goût musqué ou riche de matières différentes des arômes et à pulpe agréable, comme Perle de Csaba, Reine des Vignes, Olimpia, Trésor de Pannonie, Attila, Muscat Thallóczy Lajos, Afuz Ali ensuite Biborkadarka, Kadarka x Kékfrankos Cs.2, Táltos, Muscat de Matra. Nous avons obtenu 114 populations hybrides  $F_1$  et parmi celles-là nous avons choisi 60 individus (clones). Des clones choisis en grand nombre avec recroisements et autofécondations nous avons créé aussi des populations petite-fille ( $F_2$ ), par exemple (4986 S x Olimpia) x 4986 S, (5276 S.-V. x Olimpia) x 5276 S.-V., (5986 S x Olimpia) af  $F_2$  (Kadarka x Pinot gris) x (4986 S x Olimpia), (Kadarka x Blaufränkisch) x (5276 S.-V. x Olimpia), (4986 S x Olimpia) x Biborkadarka, (4986 S x Olimpia) x (Biborkadarka x 18.315 S.-V.) etc.

La troisième période d'hybridations commença en 1975 et dure actuellement encore. Nous avons aussi employé comme ressource des gènes de résistance en dehors des variétés citées ci-dessus, des hybrides de *V. amurensis*-*V. vinifera* (Kunbarát, Kunleány). Les cépages de *V. vinifera* sont des variétés mentionnées ci-dessus. Des populations obtenues nous avons choisi jusqu'ici 2 clones. Nous avons élevé les populations hybrides et réalisé leurs analyses génétiques à la station de Recherche de Szigetcsép de la Chaire de Viticulture de l'Université d'Horticulture.

Les clones choisis des populations hybrides nous les avons appréciés en partie à Szigetcsép et en partie dans plusieurs régions de la Hongrie, dans des fermes d'État et dans des coopératives viticoles de production.

## Le résumé des résultats expérimentaux

### a. Les résultats des croisements parmi les variétés du porte-greffe, des hybrides producteur-directs, et de *V. vinifera*

— A la base de l'analyse des populations productives on peut constater que des populations  $F_1$  de croisements parmi des variétés de *V. vinifera* et Othello, Herbemont n'ont pas donné dans la plupart des cas des résultats considérables. La valeur du raisin à consommation comme raisin de table et à vinification n'atteint pas le niveau souhaitable ou le choix des individus ayant une bonne résistance, serait déjà motivé.

— Par ailleurs des hybridations obtenues de Ferdinand de Lesseps nous avons pu choisir 4 clones à résistance relativement bonne aux maladies cryptogamiques et possédant aussi les propriétés souhaitables du raisin. Les baies de deux clones sur 5 avait la chair juteuse et croquante et le saveur indifférente, tandis que les deux autres clones avaient un goût musqué très agréable. Chez le croisement entre Ferdinand de Lesseps à pulpe molle et goût foxé, et Muscat Ottonel, la résistance à *Plasmopara viticola* et aux gelées d'hiver s'est combinée à la consistance favorable et goût musqué de la baie. Nous avons examiné ces clones convenables, pendant plusieurs décennies et nous ne les avons pas transmis à qualification d'État, parce que dans la deuxième période des croisements, des hybrides nouveaux avaient plus de valeurs. Nos résultats renforcent les résultats de Pirovano (= Ferdinand de Lesseps x Madeleine royale = Primus).

— Nous avons examiné les descendants  $F_2$  obtenus par autofécondation de 5279 Seibel. Cependant parmi plus de mille plantes du semis aucune ne s'est montrée acceptable en propriétés de raisin pour la raison que les clones disposant de résistance augmentée n'ont pas valu la peine non plus d'être gardé. Les individus donnant des raisins aux saveurs herbacées et foxées sont apparus dans les populations.

### b. Les résultats des croisements d'hybrides franco-américains et d'hybrides de *V. amurensis*

— On a pu constater, que nous avons pu obtenir le résultat le plus favorable, quand nous avons employé des variétés résistantes comme le parent maternel, par exemple chez les croisements d'année 1966. Quand nous avons employé des cépages de *V. vinifera* comme le parent maternel, alors on a pu obtenir dans une proportion plus petite le grade souhaitable de la résistance c'est à dire un bien plus petit nombre d'individus a pu réunir en soi la résistance convenable et les propriétés très excellentes du raisin de *V. vinifera*.

— la résistance des parents résistants employés se combine bien avec les variétés de *V. vinifera*, surtout chez les descendants aux baies blanches. En partie importante des variétés résistantes utilisées parmi les descendants aux baies bleues, sont apparus aussi aux baies bleues monoglycosides, bien que certaines d'entre elles avaient une peau aux anthocyaninés de diglucosides. Par ailleurs chez les croisements réalisés avec 18.315 S.-V. la couleur à diglucosides de baie était si dominante, que parmi les individus réunissant une résistance augmentée et les propriétés favorables du raisin (grosse productivité, consistance favorable de la chair de la baie, saveur et arôme agréables de la baie et bouquet agréable du vin) il y en avait très peu de convenable pour la sélection.

— Tout comme dans la première période des croisements et même dans la deuxième période des croisements on a réussi à réunir dans les descendants l'arôme indifférent et même un goût musqué fin et en outre la grosse productivité et une tolérance augmentée et même une résistance (p.e. chez clone de No 92, No 159).

— Les populations obtenues dans la troisième période de nos croisements nous donnent droit à de grosses espérances. Leur partie importante est de descendre du croisement parmi plusieurs espèces résistantes et quelques variétés hybrides complexes de *V. vinifera* (p.e. clone No. 2423). L'évaluation est actuellement en cours.

— Chez les descendances  $F_1$  des croisements entre 12.375 S.-V. et des variétés européennes à baie blanche, c'est la couleur blanche de la baie qui est dominante. En dehors de cela la productivité moyenne domine bien que des clones très productifs à rendement au-dessus de 25 t/ha se rencontrent aussi. Il y a une très grande proportion de clones à raisin excellent ayant à la fois une résistance aux gelées d'hiver et aux maladies cryptogamiques. Je suis d'accord avec l'opinion sur le 12.375 S.-V. de Galibert.

— Dans les descendances, issues du croisement des 18.315 S.-V. et des variétés européennes, la capacité de production augmentée (30-50 t/ha) la grande teneur en sucre de raisin, la capacité augmentée de croissance et la proportion importante des générations résistantes aux gelées d'hiver et aux maladies cryptogamiques sont en particulier caractéristiques. Comme j'ai indiqué, c'est la couleur bleue des baies qui domine (bleue: blanche = 3:1). Ainsi en premier lieu nous avons pu faire apparaître des individus à baie blanche convenables afin d'expérimenter des clones. Parmi les individus à baie de couleur bleue il n'y en a eu, que 2-5% à anthocyanines monoglycosides. Pour cette raison nous n'avons pu faire sortir que 2-3 individus à baie bleue par population.

— La variété 4986 S et les variétés précoces de *V. vinifera* (Perle de Csaba, Reine des vignes) peuvent être croiser fructueusement. Parmi leurs descendances on peut obtenir des individus à raisin très précoce et précoce, musqué au goût agréable et à résistance importante.

— Des croisements de la 6 Ravat et des variétés européennes sont descendues relativement peu de générations, mais parmi celles-ci on a pu trouver peu de clones approchant du but.

— Des croisements de 5279 S, 5276 S.-V. et de variétés de *V. vinifera* n'ont pas donné de descendances approchant le but de sélection.

Si on met en balance la valeur de sélection des variétés franco-américaines interspécifiques, alors on doit faire sortir en premier lieu l'utilité des variétés 12.375 S.-V. et 4986 S., en deuxième lieu le 18.315 S.-V. Les hybrides interspécifiques issus de *V. amuren-*

sis et *V. vinifera* peuvent être des partenaires excellents. Les autres hybrides interspécifiques utilisés comme parent, ne répondent pas à l'attente.

La qualité du raisin, la résistance aux gelées d'hiver et aux maladies cryptogamiques est déterminée par plusieurs couples de gènes (polyfactoriellement). Leur apparition en quantité satisfaisante dans un seul individu se réalise dans peu de proportion. Ils apparaissent ensemble par hasard et avec peu de probabilité. Les populations à grand effectif (plus de 100.000, de million) peuvent donner des résultats sûrs.

Nos candidats des cépages hybrides interspécifiques et leurs propriétés principales sont les suivantes:

#### Les descendances des croisements de 4986 Seibel x Olimpia:

No.92. (Fig. 1) Cépage de cuve et raisin de table. Grappes moyennes, lâches, coniques, souvent ailées; baies moyennes, elliptiques courtes, vert-jaune, juteuses, fermes moyennes, pulpe charnue; saveur: neutre, fine. Époque de maturité: très précoce. Teneur en sucre des baies: élevée. Rendement: élevé. Résistance au Plasmopara: moyenne, à l'Oidium: élevée, au Botrytis: élevée, au froid d'hiver: élevée.



Fig. 1 - No. 92.

Cs FT 61. (Fig. 2) Cépage de cuve. Grappes grandes, compactes, cylindriques; baies moyennes, elliptiques courtes, vert-jaune, juteuses, molles; saveur: neutre, fine. Époque de maturité:



Fig. 2 - Cs FT 61.

moyenne. Teneur en sucre des baies: élevé. Rendement: élevé, très élevé. Résistance au Plasmopara élevée, à l'Oidium: élevée, au Botrytis: moyenne, au froid d'hiver: élevée.

#### Les descendances des croisements de 12.375 Seyve-Villard x Perle de Csaba

Cs FT 194. (Fig. 3). Cépage de cuve. Grappes moyennes, compactes moyennes, ailées; baies petites, arrondies, blanches, juteuses, molles; saveur: neutre, fine. Époque de maturité: moyenne. Teneur en sucre des baies: élevée. Rendement: élevé. Résistance au Plasmopara: élevée, à l'Oidium: élevée, au Botrytis: moyenne, au froid d'hiver: élevée.



Fig. 3 - Cs FT 194.

Cs FT 195. (Fig. 4). Cépages de cuve. Grappes grandes, compactes moyennes, ailées; baies moyennes, arrondies, vert-jaune, juteuses, molles; saveur: neutre, fine. Époque de maturité: moyenne. Teneur en sucre des baies: élevée. Rendement: élevé. Résistance au Plasmopara: élevée, à l'Oidium: élevée, au Botrytis: élevée, au froid d'hiver: élevée.



Fig. 4 - Cs Ft 195.

No 175. (Fig. 5). Cépage de cuve. Grappes grandes, compactes moyennes, rarement ailées, longues; baies moyennes, elliptiques courtes, vert-jaune, juteuses, molles; saveur: neutre, fine. Epo-



Fig. 5 - No. 175.

que de maturité: moyenne. Rendement: élevé. Résistance au Plasmopara: élevée, à l'Oidium: élevée, au Botrytis: élevée, au froid d'hiver: moyenne.

*Les descendances des croisements de 12.375 Seyve-Villard x reine des Vignes*

**No 159.** (Fig. 6). Raisin de table. Grappes grandes, lâches, ailées; baies grosses, troncovoïdes, jaunes, juteuses, pulpes char-



Fig. 6 - No. 159.

nues, fermes moyennes; saveur goût légèrement musqué très agréable. Époque de maturité: très précoce. Teneur en sucre des baies: moyenne. Rendement: élevé. Les raisins supportent bien le transport. Résistance au Plasmopara: moyenne, à l'Oidium: élevée, au Botrytis: moyenne, au froid d'hiver: moyenne.

*Les descendances des croisements de 4986 Seibel x Perle de Csaba*

**Cs VT 55.** (Fig. 7). Cépages de cuve. Grappes moyennes, coniques, ailées, compactes; baies petites, légèrement aplaties, bleu-noir, juteuses, molles; saveur: neutre, fine. Époque de maturité: moyenne. Teneur en sucre des baies: élevée. Rendement: élevé. Résistance aux maladies cryptogamiques: élevée, au froid d'hiver: élevée.



Fig. 7 - Cs VT 55.

*Les descendances des croisements de /Trésor de Pannonie x 5276 Seyve-Villard/ x Kunbarát:*

**No 2423.** (Fig. 8). Grappes grandes, ailées, compactes moyennes; baies petites, arrondies, vert-jaune, juteuses, molles; saveur: neutre, fine. Époque de maturité: précoce. Teneur en sucre des baies: élevée. Rendement: élevé. Résistance à l'Oidium, au Botrytis et aux froid d'hiver: élevée, au Plasmopara: moyenne.



Fig. 8 - No. 2423.

## RÉSUMÉ

### QUALITE DU RAISIN ET RESISTANCE DE LA VIGNE DANS LES POPULATIONS HYBRIDES INTERSPECIFIQUES

*Il y a trente ans, que nous avons commencé à obtenir des hybrides interspécifiques résistant aux maladies cryptogamiques et aux gelées d'hiver et tant à la fois de bonne qualité.*

*Pour ces croisements nous avons utilisé d'une part les variétés très précoces, à goût musqué ou riche en matière aromatique (Perle de Csaba, Reine des Vignes, Olimpia, Medoc noir, Táltos, Trésor de Pannonie etc.) et les variétés à maturité moyenne ou tardive de V. vinifera (Attila, Cs 2, Mairai muskotály, Biborkadarka, etc.) et d'autre part les variétés interspécifiques, comme Othello, Ferdinand Lesseps, Herbemont, Ravat 6, Seibel 4986, Seyve-*

Villard 5276, 12375, 18315, Kunbarát (*V. amurensis* x *V. vinifera*). De ces croisements nombreux nous avons pu analyser génétiquement beaucoup de populations hybrides.

— Par les croisements des variétés interspécifiques à goût foxé et à pulpe molle (Othello, Ferdinand Lesseps) et des variétés de raisin de table très précoce et précoce de *V. vinifera*, on peut obtenir chez les descendants la résistance cryptogamique et celle de gelée d'hiver avec le goût musqué, agréable, à pulpe juteuse ou croquante, mais seulement dans une petite proportion.

— En utilisant pour les croisements les variétés interspécifiques: Seibel 4986, Seyve-Villard 5276 et 12375 et les variétés de *V. vinifera*, la proportion des individus réunissant la résistance et la qualité augmente selon une large échelle du degré de résistance et du niveau de la qualité.

— Dans la population F<sub>1</sub>, des croisements des variétés Seyve-Villard et de *V. vinifera* on a pu remarquer un rendement considérable (30-50 t/ha), un degré de maturité élevé et une résistance importante à la gelée, mais dans le cas des individus à raisin noir on a pu aussi constater la dominance héréditaire des anthocyanines diglucosides.

— Avec les recroisements des hybrides interspécifiques, dans les populations F<sub>2</sub>, on a pu augmenter le nombre des hybrides convenant à l'amélioration.

Comme résultat de ces travaux nous avons pu choisir une dizaine de candidats des variétés, que nous observons actuellement dans les conditions normales de culture.

## CREATION DE VARIETES DE VIGNE RESISTANTES AUX MALADIES ET DE HAUTE QUALITE: PRINCIPES DE SELECTION ET CONSEQUENCES AGRONOMIQUES

J.P. DOAZAN

Station de Recherches de Viticulture - INRA Centre de Recherches de Bordeaux Pont-de-la-Maye (France)

### Introduction

Une conception de la lutte contre les maladies, qui intègre non seulement la notion de risque vis-à-vis de chacune d'elles mais aussi la réaction propre de chaque variété, selon qu'elle est plus ou moins résistante, s'inscrit dans la perspective générale d'une agriculture à la fois plus économe et plus efficace. Or la vigne étant sujette, tant sur ses feuilles que sur ses fruits aux attaques d'un grand nombre d'agents pathogènes, la contribution de la résistance génétique de la plante à la lutte raisonnée ne se conçoit que si cette résistance s'exerce à la fois à l'égard de plusieurs de ses parasites majeurs. La recherche de variétés de haute qualité et présentant une résistance génétique élevée bien que partielle paraît répondre à cet objectif dans la mesure où elle entraîne un abaissement significatif du nombre des interventions phytosanitaires et par suite réduit les quantités de pesticides épanchés.

La sélection de telles variétés, qui est poursuivie dans plusieurs pays viticoles, fait appel à différentes épreuves d'évaluation des résistances des descendants, tant au stade précoce de leur culture qu'au vignoble, dans les conditions naturelles, où leur réaction aux attaques est en définitive déterminante. C'est à ce stade de la sélection, en effet, que l'on peut estimer l'intérêt d'une nouvelle variété potentielle, à la fois du point de vue cultural et du point de vue gustatif.

Mais il paraît indispensable de définir pour un matériel végétal de ce type, dont la résistance aux différents agents pathogènes n'est que partielle, une sorte de mode d'emploi, indiquant les préconisations de traitements phytosanitaires. A cet effet, nous avons conduit un essai, sur un petit nombre de variétés caractéristiques, afin de définir la meilleure stratégie de traitement anti-mildiou, en utilisant une substance à action systémique. Puis cette stratégie a été mise à l'épreuve au vignoble, dans une parcelle expérimentale regroupant un grand nombre de génotypes variés, durant quatre années de récolte.

\* avec la collaboration technique de L. Bordenave et Marie Madeleine Ottenwaelter.

### Matériel et méthode

#### A - STRATEGIE DE TRAITEMENT ANTI-MILDIOU

L'essai destiné à définir la meilleure stratégie de traitement pour le matériel végétal considéré, mettait en oeuvre 4 variétés et 4 modes d'interventions chimiques anti-mildiou.

##### 1. Dispositif de l'essai

L'essai comptait 9 blocs comprenant chacun une parcelle élémentaire de chaque traitement, celle-ci étant constituée de 4 plants racinés de vigne. L'ensemble était équipé d'un dispositif de brumisation permettant de favoriser le développement du mildiou, selon le besoin. La proximité d'autres essais phytosanitaires relatifs au mildiou, assurait en permanence une pression d'inoculum très élevée, de sorte qu'il ne fut pas nécessaire de pratiquer une infection artificielle.

##### 2. Variétés

Trois cépages de *Vitis vinifera* ont été choisis en fonction de leur plus ou moins grande sensibilité au mildiou, d'après des observations antérieures: Cabernet-Sauvignon et Fer Servadou étant sensibles et Valdiguié étant moins sensible. La quatrième variété INRA 8502, résultant du croisement interspécifique (INRA 7489 x Fer Servadou), présente une résistance partielle au mildiou et à l'oïdium.

##### 3. Interventions chimiques

Quatre modalités ont été incluses dans l'essai: absence de tout traitement, traitement tous les 14 jours, 28 jours et 42 jours. Le produit utilisé était une association de Phosethyl Al et de Folpel à 400 g/hl. La première intervention eut lieu le 25 Juillet 1983 seulement, alors que la plantation des jeunes plants en pots datait du 10 Juin 1983, car on a attendu que la maladie soit uniformément installée.

##### 4. Notations

Les symptômes de mildiou ont été notés plante par plante, 5 fois en tout, selon deux modalités:

— importance de la surface de limbe attaquée: 4 notations ont été effectuées, à partir du début du mois d'Août, l'infection étant alors suffisamment généralisée et intense, chacune d'elles étant faite avant une intervention chimique.

— importance de la défeuillaison: cette notation fut effectuée le 17 Octobre 1983, en vue d'apprécier la proportion de feuillage subsistant encore sur chaque plante, en fin de cycle végétatif.

Dans chacun des deux cas, on a chiffré par une note comprise entre 0 et 10, le pourcentage du dommage dû à l'attaque du mildiou (Desaynard, 1968).

## B - RESISTANCE AUX MALADIES CRYPTOGRAMIQUES EN CHAMP

### 1. Matériel végétal

Les descendants de croisements interspécifiques, dont la résistance au mildiou avait été déjà jugée au stade précoce (Doazan et Kim, 1978) et la résistance à l'oidium au cours de leur culture préliminaire en serre, ont été plantés en Juin 1979 sous forme de plants en pots greffés sur Fercal, au Domaine Inra-Couhins, dans un sol sablo-graveleux. La vigne a une densité de 5.000 souches par hectare. Chaque descendant est représenté par 5 souches consécutives. Cinq descendances figurent dans cet essai, pour un total de 182 génotypes, plus quatre variétés témoins:

INRA 7489 x Chardonnay 11 descendants  
 INRA 7489 x Fer Servadou 58 descendants  
 Fer Servadou x INRA 7489 62 descendants  
 INRA 7489 x Muscat de Hambourg 17 descendants  
 INRA 7489 x Ugni blanc 34 descendants  
 Témoins: Chasselas, Merlot, Cabernet-Sauvignon, INRA 7489

### 2. Traitements phytosanitaires

L'année de plantation, la parcelle expérimentale a reçu les mêmes traitements que ceux faits sur les parcelles voisines plantées en cépages de *Vitis vinifera*. Puis, à partir de 1980, deux traitements anticryptogamiques seulement par cycle végétatif ont été appliqués, le premier au début de la floraison et le second un mois plus tard. Les substances utilisées en mélange sont, contre le mildiou, une association de Phosethyl Al et de Mancozède à 450 g/hl et, contre l'oidium le soufre mouillable à 1 kg/hl. Par contre les traitements dirigés contre les ravageurs animaux sont les mêmes que ceux de l'ensemble de l'exploitation: ils ne sont pas faits systématiquement mais seulement en fonction des risques estimés pour chaque parcelle. Aucune infection artificielle n'a été effectuée.

### 3. Notations des symptômes de maladies

Chaque année, plusieurs notations ont été faites, au cours de l'été et de l'automne, selon le degré d'infection naturelle par les divers parasites. L'importance des dégâts dus au mildiou et à l'oidium a donc été estimée tant sur les feuilles que sur les grappes dans une échelle à 6 classes (0 à 5). Les symptômes d'attaques par d'autres maladies cryptogamiques: Anthracnose, Blackrot, Excoriose, ont été notés eux aussi.

Enfin la plus ou moins grande persistance des feuilles sur les rameaux (défeuillaison) a été appréciée, en fin de cycle végétatif, selon l'échelle suivante:

- 0 - Aucune défeuillaison - Feuillage presque entièrement sain
- 1 - Défeuillaison faible ( $\leq 15\%$ ), feuillage présentant quelques taches éparses et de faible étendue, dues soit au mildiou soit à l'oidium.
- 2 - Défeuillaison importante (de 15 à 50 %), les feuilles restantes étant assez fortement endommagées par les maladies
- 3 - Défeuillaison très grave ( $> 50\%$ )

En outre, la plus grande importance est attachée à la résistance des raisins à la pourriture grise. Bien qu'une notation comparative générale de l'ensemble du matériel végétal compris dans l'essai, n'ait pas été possible du fait que les infections naturelles par *Botrytis cinerea* ont été très variables selon les années, nous avons soigneusement relevé le pourcentage d'attaque des raisins à la récolte.

## 4. Valeur culturelle et gustative des descendants

En plus de leur comportement vis-à-vis des parasites, les descendants ont été soumis à l'ensemble des observations et notations habituellement pratiquées dans une parcelle de sélection de ce type, en vue de préciser leurs caractéristiques culturelles. Les contrôles de récolte et les microvinifications des obtentions de cuve ainsi que les dégustations de raisins de celles de table ont permis d'estimer leurs potentialités de rendement et surtout leur valeur gustative.

### Résultats et discussion

#### A - DEFINITION D'UNE STRATEGIE DE TRAITEMENT ANTI-MILDIU

Les résultats de l'essai de stratégies de traitements sont consignés dans le tableau 1: étant donné qu'il y a 9 parcelles élémentaires par traitement et que l'échelle de notation utilisée va de 0 à 10, la somme des notes la plus élevée possible pour un traitement est 90 (somme des moyennes des 9 parcelles). L'analyse de variance de ces données fait apparaître que l'effet de chacun des facteurs: variétés et traitements, est très significatif, et que leur interaction l'est aussi, pour les deux types de notation. A titre indicatif, l'analyse de la variance des notes d'attaque du limbe est la suivante:

Source	dl	SCE	CM	F
Variétés	3	177,1163	59,0388	240,7528***
Traitements	3	122,0330	40,6777	165,8758***
Interaction				
Variétés x				
Traitements	9	13,5434	1,5048	6,1365**
Erreur	128	31,3889	0,2452	
Total	143	344,0816		

En outre la comparaison des moyennes deux à deux, utilisant le test de la p.p.d.s., a permis de déterminer des classes de signification portées au tableau 1.

#### 1. Variétés

On constate que les variétés Fer Servadou et Valdiguié sont toutes deux sensibles (classe de signification c), tandis que le Cabernet-Sauvignon présente une sensibilité significativement moindre (classe b). Mais c'est l'hybride interspécifique INRA 8502 qui, comme attendu, se distingue par une résistance réelle, bien que partielle (classe a). Dans le cas d'absence de tout traitement antimildiou, les symptômes d'attaque sont estimés à environ 80 pour cent de la surface foliaire de cette variété, contre 100% chez les trois cépages de *Vitis vinifera*. Avec un traitement tous les 28 jours, ce qui revient à deux interventions seulement avant la notation, le pourcentage d'attaque devient 63% contre 85% chez les viniferas. Quant à la défeuillaison en fin de cycle végétatif, alors que les viniferas ont perdu toutes leurs feuilles depuis longtemps, le 8502 en possède encore environ 30%.

#### 2. Traitements

Toutes les différences entre traitements sont significatives, ce qui ne peut surprendre, les propriétés anti-mildiou du Phosethyl Al étant déjà bien établies en 1983. Les écarts dans les degrés d'attaque enregistrés résultent très directement de la cadence des

**Tab. 1 - Stratégies de traitement contre le mildiou - Different plant protection strategies against Downy Mildew**

Variétés	Aucun traitement A	(Phosethyl Al + Folpel)			Classes de significat. (3)
		14 jours (B)	28 jours (C)	42 jours (D)	
Cabernet	(1) 90	64,5	75,5	82	b
Sauvignon	(2) 90	42	82	86	b
Fer Servadou	(1) 90	75	88	90	c
	(2) 90	71	87	90	c
Valdiguié	(1) 90	72	89,5	90	c
	(2) 90	71	89	89	c
INRA 8502	(1) 73	45	57	69	a
	(2) 64	14	31	43	a
Classe de signification*	a	b	c	d	

(1) Surface de limbe attaquée (note maximum par traitement 90) Notation faite le 16 Septembre 1983

(2) Défeuillaison (note maximum par traitement 90) Notation faite le 17 Octobre 1983

(3) Classes de signification: elles sont définies en fonction de la valeur de p.p.d.s. 0,05

soit pour (1) p.p.d.s. = 0,2288

et pour (2) p.p.d.s. = 0,3931

\* ce sont les même classes pour (1) et pour (2)

interventions: ainsi le peu de différence entre A (0 traitement) et D (cadence 42 jours) s'explique par le fait que D correspond en fait à une seule intervention, près de 8 semaines avant la notation. On peut d'ailleurs juger de l'intensité des attaques du mildiou dans l'essai, si l'on considère la note moyenne des 3 viniferas (près de 80% de la surface de limbe attaquée), même à la cadence d'un traitement tous les 14 jours, qui est celle conseillée en culture pour ce produit systémique, moderne et performant.

### 3. Interaction variétés x traitements

L'examen des données du tableau 1 fait apparaître que chez la variété INRA 8502, l'effet de l'augmentation de cadence des traitements chimiques se conjugue avec la résistance génétique propre à la variété pour entraîner une baisse du niveau d'attaque par le mildiou beaucoup plus importante que chez les viniferas; et cet effet ressort encore davantage de la notation de défeuillaison: ainsi, à la cadence 14 jours, le 8502 a perdu environ 15% seulement de ses feuilles le 16 Septembre alors que les viniferas en ont perdu 68%. On peut traduire cela en disant que la variété INRA 8502, du fait de sa résistance partielle, valorise l'action des traitements anti-mildiou, du moins lorsqu'on utilise le Phosethyl Al.

En définitive ce premier essai montre que le feuillage d'une variété dotée d'une résistance partielle peut être protégé efficacement par un petit nombre d'interventions anti-fongiques, dans des conditions de milieu où la maladie atteint irrémédiablement les cépages sensibles de *Vitis vinifera*. Il reste à démontrer que ce modèle de stratégie anti-mildiou, défini sur de jeunes plants d'un an et dans des conditions expérimentales particulières, peut être étendu à des ceps fructifères, en grande parcelle, et que le même raisonnement peut s'appliquer également aux autres maladies, dont l'oïdium.

## B - RESISTANCE AUX MALADIES EN VIGNOBLE ET QUALITE DES RAISINS

L'étude en vignoble de 182 descendants de croisements interspécifiques entre 4 cépages de *Vitis vinifera* et un géniteur commun de résistance, qui on été éprouvés précocement vis-à-vis du mildiou et de l'oïdium avant d'être établis en Vignoble, a porté sur l'ensemble de leurs caractéristiques culturales, mais nous rapportons seulement ici celles relatives à la résistance aux parasites et à la qualité des raisins.

Les différentes descendance ayant des effectifs très variés et faibles pour certaines d'entre elles, nous ne présentons pas d'étude particulière de chacune; par contre, la distribution des notes d'attaque par le mildiou et l'oïdium étant très comparable, nous considérons les résultats pour l'ensemble, toutes descendance confondues. En outre, l'infection naturelle par ces deux parasites a été plus ou moins sévère selon les années, de sorte que nous n'avons retenu que la notation correspondant à l'attaque la plus grave, sur les 4 années d'observation.

### 1. Relation entre notation précoce et notation au vignoble

La résistance des descendants à l'égard du mildiou et de l'oïdium a été jugée au cours de leur première année de culture en serre et seuls les plus résistants (classe 2 et 3 de la notation allant de 0 à 5) on été conservés et plantés en vignoble; malgré ce tronçage des descendance, les symptômes observés en conditions naturelles, tant pour l'oïdium que pour le mildiou, se sont répartis dans toute l'étendue de l'échelle de notation utilisée. Une comparaison des distributions des notes, relevées dans les deux conditions a donc été faite, grâce au critère Chi-deux. Les valeurs calculées sont très significatives:

— pour l'oïdium:  $X^2 = 273,44$  \*\*\*

— pour le mildiou:  $X^2 = 26,06$  \*\*\*

On peut donc en conclure qu'il existe une bonne concordance entre les notations faites précocement et celles faites sur les feuilles des souches plantées en vignoble.

### 2. Relation entre résistance au mildiou et importance de la défeuillaison

Nous avons déjà signalé (Doazan, 1980) qu'à degré égal d'attaque des feuilles par le mildiou, certains génotypes ont la capacité de conserver plus longtemps que d'autres leurs feuilles, même lorsque celles-ci sont assez sévèrement atteintes. A l'opposé, chez la plupart des cépages de *Vitis vinifera*, la chute des feuilles intervient en général vite, après une atteinte même modérée. Ce phénomène, dont les causes ne sont pas élucidées, présente un certain intérêt pratique. Dans l'essai considéré, nous avons cherché à préciser le degré de relation entre sensibilité - résistance au mildiou et défeuillaison automnale plus ou moins rapide. Il convient bien sûr de ne pas se laisser abuser par la chute normale des feuilles des descendants dont le cycle végétatif est plus court. Le calcul du Chi-deux correspondant aux distributions de ces deux séries de notes fait apparaître une excellente concordance ( $X^2 = 34,79$ \*\*\*). Cela nous autorise à considérer la persistance des feuilles sur la souche comme un critère de sélection supplémentaire utile.

### 3. Relation entre résistance au mildiou et résistance à l'oïdium

Une relation éventuelle entre les symptômes d'attaque en vignoble par le mildiou et par l'oïdium a été recherchée, en tenant compte pour chaque maladie de la plus forte attaque enregistrée, soit en 1980 pour le mildiou et en 1982 pour l'oïdium. Dans ces

conditions naturelles, et pour le matériel végétal considéré, la résistance à l'une et à l'autre paraissent complètement indépendantes, ce qui est en accord avec Boubals (1959). Ce fait est d'autant plus notable qu'il est établi sur une population volontairement tronquée, puisque les descendants jugés sensibles au stade précoce de leur culture ont été écartés.

#### 4. Symptômes sur grappes

Il n'a pas été possible d'établir avec certitude le degré de résistance relative des baies aux maladies: en effet, le choix des dates des deux traitements mixtes anti-mildiou et anti-oidium, a été fait précisément pour protéger les fleurs et les jeunes baies à l'époque de leur plus grande réceptivité. Cependant, l'observation des symptômes en 1983, année où les deux interventions phytosanitaires n'ont pas été suffisantes pour enrayer complètement les attaques fongiques, en raison de conditions climatiques estivales exceptionnellement favorables aux parasites, permet d'affirmer qu'aucun des descendants ne présente une sensibilité excessive. Des études complémentaires sont en cours pour préciser ce point.

#### 5. Sensibilité aux autres maladies

Etant donné la cadence de traitement adoptée, on pouvait s'attendre à un développement d'autres parasites foliaires, notamment les agents de l'antracnose et de blackrot. En fait, au cours des 4 années d'observation, on n'a jamais observé plus de 4 à 5 foyers par saison, de l'une ou l'autre maladie, limités à un petit secteur d'une seule souche, et la localisation de ces attaques fut différente d'une année à l'autre. En définitive, ces atteintes n'ont présenté aucune gravité car ces maladies n'on pu s'établir de façon durable. Par contre, en ce qui concerne la pourriture grise, les raisins d'un certain nombre de descendants se sont révélés sensibles: en fait, nous avons éliminé tout descendant présentant plus de 15 à 20% de raisins parasités à la récolte, pendant au moins deux des quatre années de contrôle.

#### 6. Appréciation de la qualité des raisins

Tous les descendants ont fait l'objet de contrôles de leur récolte, plusieurs années consécutives, portant sur la quantité et la qualité des raisins. Seuls sont vinifiés en vue de la dégustation de leur vin, ceux qui d'une part ont satisfait aux autres critères de sélection et qui, d'autre part, atteignent un équilibre convenable, fixé à priori, entre le degré probable ( $\geq 10^\circ$  d'alcool) et l'acidité totale ( $\leq 6$  g/l de  $H_2SO_4$ ). De la sorte, 48 descendants de cuve sur 165 au total, ont été vinifiés au moins une fois et la plupart deux fois ou plus, à raison d'au moins 10 kg de raisins. Le jugement de la qualité des vins obtenus a fait ressortir des écarts importants au sein de chaque descendance: mais cette situation est habituelle

dans un programme de sélection de cette sorte et, en tout état de cause, les différences de qualité ne sont pas supérieures à celles que l'on trouve entre des descendants de croisements intraspécifiques. En définitive, 29 descendants ont été retenus comme présentant un ensemble convenable de caractéristiques, à la fois culturelles et gustatives: leur expérimentation est actuellement poursuivie.

En ce qui concerne les descendants à raisins de table, issus du croisement avec Muscat de Hambourg, 6 (sur 17 au départ) ont été retenus: la qualité gustative de leur raisin est appréciée (certains d'entre eux sont musqués) mais les caractéristiques de la baie et de la grappe n'atteignent pas les valeurs exigées des meilleures variétés commerciales. Cependant, de fait de leur résistance partielle au mildiou et à l'oidium, ils peuvent satisfaire les exigences d'amateurs ne les destinant pas à un usage commercial.

En définitive, cet essai agronomique, bien qu'il ne comporte qu'une seule parcelle élémentaire de 5 souches de chaque descendant, contribue utilement à la connaissance de la résistance du matériel végétal expérimenté, vis-à-vis du mildiou et de l'oidium, dans les conditions pratiques de la viticulture. On relève notamment la bonne concordance entre les notations faites au stade précoce et celles effectuées en conditions naturelles, ainsi que l'indépendance entre résistance au mildiou et résistance à l'oidium. Cependant, on ne peut écarter la possibilité d'une évolution défavorable de cette résistance liée à une modification du pouvoir pathogène du parasite ce qui est discuté par Li, Clerjeau et Doazan (1985). Enfin, la qualité des raisins récoltés a pu être évaluée, encore que ce soit sur de petits volumes: un meilleur jugement ne sera possible que lorsqu'on disposera de volumes de vendages plus conséquents, comme l'ont fait notamment Becker et Zimmermann (1980).

#### Conclusion

La stratégie de traitement, appropriée à des variétés présentant une résistance partielle aux principaux parasites cryptogamiques, a été déterminée par un essai préalable, réalisé dans des conditions extrêmement favorables au développement du mildiou. La mise à l'épreuve de cette stratégie, dans les conditions naturelles propres à la culture, a montré qu'il était possible de cultiver ce type de matériel végétal avec 2 à 3 traitements mixtes dirigés contre le mildiou et l'oidium: les deux premiers encadrent la floraison et la nouaison, qui constituent les stades de plus grande réceptivité des feuilles et des jeunes baies; la décision d'en effectuer un troisième est liée à l'estimation du risque d'attaque. Cependant la résistance génétique ne peut contribuer à une économie substantielle, dans le cadre d'une lutte raisonnée, que si elle inclue la résistance, au moins partielle, à l'ensemble des parasites cryptogamiques: or, on a constaté, dans l'essai en vignoble, que l'antracnose et le blackrot n'ont pu s'établir de façon durable, ce qui laisse supposer l'existence d'un certain degré de résistance des descendants expérimentés; ce point est en cours de vérification.

#### RESUME

#### CREATION DE VARIETES DE VIGNE RESISTANTES AUX MALADIES ET DE HAUTE QUALITE: PRINCIPES DE SELECTION ET CONSEQUENCES AGRONOMIQUES

*L'introduction de caractères de résistance aux maladies chez les cultivars entraîne une diminution du nombre de traitements et réduit la quantité de fongicides répandue dans le vignoble. Etant donné la grande qualité du raisin et du vin qui est exigée, le choix de cépages de V. vinifera comme géniteurs s'impose. Si l'on considère par ailleurs le nombre élevé de maladies affectant la Vigne, l'objectif visant à l'acquisition d'une résistance au moins partielle à chacune d'elles paraît raisonnable, en recourant aux gènes de résistance caractéristiques du genre Vitis. Une série de croisements interspécifiques a été réalisée et leurs descendants ont été soumis aux diverses épreuves précoces permettant d'évaluer leur niveau de résistance vis à vis du Mildiou et de L'Oidium. Leur expérimentation au vignoble a permis d'apprécier la résistance en conditions naturelles durant 4 années de production et de la comparer avec le jugement fait aux stades plus précoces de la sélection. Par ailleurs, la qualité de la production de chaque descendant a pu être évaluée par dégustation de vins élaborés. L'utilisation de variétés dotées de résistances partielles suppose, de plus, la définition d'une stratégie de traitement adéquate: un essai portant sur un petit nombre de génotypes caractéristiques et mettant en oeuvre différentes stratégies de traitement vis à vis du Mildiou a permis une première approche. La transposition dans les conditions de la culture conduit à vérifier que ce type de matériel peut être cultivé avec 2 à 3 traitements anticryptogamiques. On n'a pas noté d'incidence fâcheuse de la réduction du nombre des traitements sur le développement des autres maladies.*

# VOLATILES OF FUNGUS-RESISTANT WINE-VARIETIES

**A. RAPP**

Bundesforschungsanstalt für Rebenzüchtung Geilweilerhof - Siebeldingen (Rep. Fed. of Germany)

The breeding of fungus-resistant wine varieties, comparable in the quality of their wines with the european varieties (*vitis vinifera*), belongs to the most important work of wine breeding for economical and ecological reasons. Nowadays wines of resistant varieties with a stain of unpleasant hybride flavour are often abjudged because the old hybride varieties usual had fox, grass or other «Off-Flavours». Though successful crossing out of the original unpleasant «hybride flavors» could be achieved, in these days also aroma notes appear with an unpleasant flavour, some of them are declined.

In order to succeed in wine breeding it is important to know the varietal character early and unbjectionable and especially the non-existence of undesired aroma notes in new varieties. An early and exact analytical identification of varieties with unpleasant («negative») aroma compounds would shorten the long way of the cross-breeding until the admission of these new varieties and therefore thus significantly increase the efficiency of breeding. For such an early diagnose the aroma notes take an important place. With the help of a comprehensive knowledge about the aroma composition of wine an anytical varietal characterization and an analytical judgement about the non-existence of unpleasant aroma compounds is possible.

The wine quality can be influenced through different unpleasant aroma compounds («Off-Flavours»). Some of these unpleasant «Off-Flavours» are dependant on the variety (strawberry note, currant note, phenol note, bitterness, adstringent), other «Off-Flavours» develop during the wine technology (Böckser, cork note, muff note, mousy note).

With the help of a concentration method developed by us, it is possible to concentrate the aroma compounds from wine berries and wine so comprehensively that the following capillar chromatography is able to seize and to determine some hundred of compounds.

Identification of the compound or compounds which cause a characteristic «Off-Flavour» is very difficult because there are several hundreds individual compounds in the aromagram. The technique of gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) could result in the identification of all the compounds individually. Each compound could then be sensorially evaluated with regard to its importance to the off-flavour. This method would be unending and unproductive for the most part because nearly all of the several hundred compounds which would be identified would have no contribution to the «Off-Flavour». A simple and rapid selection of those constituents which determine the unpleasant aroma note can be effected by means of the «sniffing» technique.

Applying this technique, those aroma components extracted from wine with a marked strawberry-like flavour were located in the «sniffing» chromatogram (fig. 1; dotted field). By means of gas chromatographic and mass spectrometric investigations the peak causing the strawberry-like aroma note was identified as 2,5-dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanon («furaneol»). This compound, initially identified by us in grape berries and wine of different varieties, has also been analyzed in fruits like pineapples and strawberries.

With the help of glass capillary columns 2,5-dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanon can be determined quantitatively in

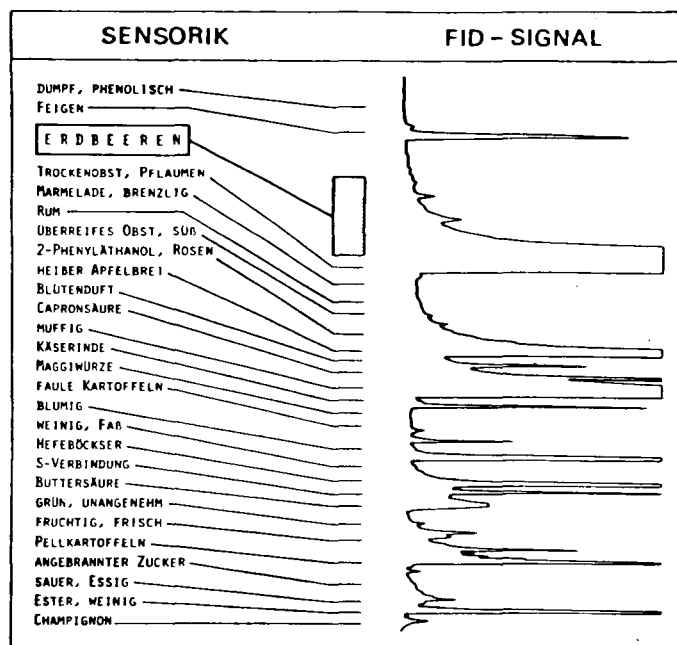


Fig. 1 - Section of a «sniffing» chromatogram of an aroma extract of the cv. Pollux (B-7-2). The strawberry-like aroma note typical of the variety is located in the dotted field.

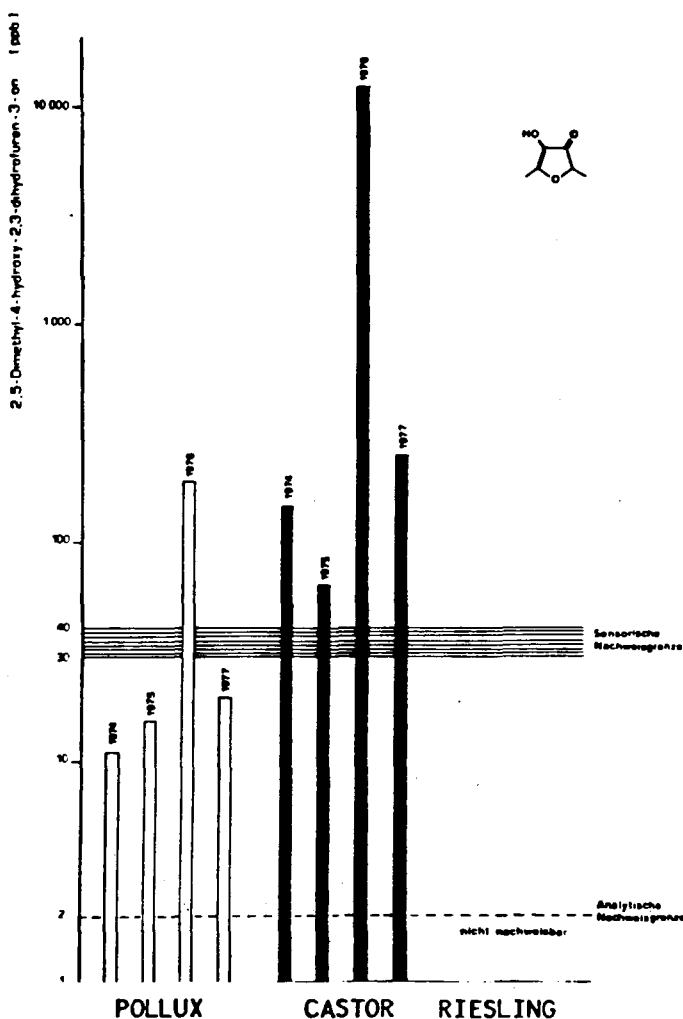


Fig. 2 - Amounts of 2,5-dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanon in different varieties and the vintages 1974-1977. Sensorial and analytical threshold values of these are indicated.



aroma concentrations of must and wines of different varieties. Fig. 2 shows the contents of 2,5-dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanon from wines of different varieties and the vintages 1974-1977. In all the samples, the strawberry-like aroma note of the variety Castor (B-7-2) was sensorially perceptible (the sensorial indication value in wine is between 30 and 40P ppb). In 1976 the strawberry-like «off-flavour» could be sensorially recognized in the cv. Pollux (B-16-8); in the other years, the content of the furaneol was below the sensorial indication value. Gas-chromatographic analysis however confirmed that the furaneol occurred in the cv. Pollux in all years (analytical indication value: 2 ppb) (fig. 2). As a typical over-mature component of the cv. Pollux, 2,5-dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanon is not recognizable by sensorial tests in bad vintage years; however, it can be analyzed with the help of capillary chromatography. Thus, seedlings forming this undesirable component can be identified at an early stage and be excluded from the breeding program.

Since the strawberry-like flavour is unknown in European varieties (*v. vinifera*), investigations have been carried out in order to identify the crossing partner with the component (2,5-dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanon) causing this aroma note in resistant cvs. as Castor (B-7-2) or Pollux (B-6-18). Fig. 3 shows the genetic descent (origin) of the cv. Castor together with chromatogram sections containing 2,5-dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanon (marked peak). From fig. 3 it can be seen that the furaneol (2,5-dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydro-3-furanon) is not present in berries of the American wild variety *v. riparia* or in *v. vinifera* Gamay, Oberlin 595 or *v. vinifera* Foster's White Seedling. However, we could identify the furaneol in the cv. Vi 5861 (fig. 3) as well as in the American wild variety *v. labrusca* and its

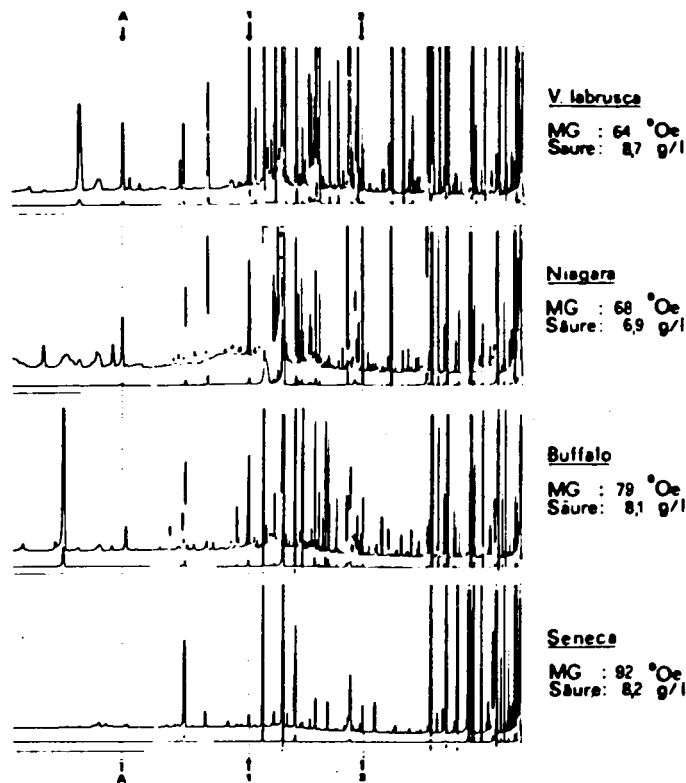


Fig. 4 - Aromagram sections of the cv. *v. labrusca* and its descendants. The furaneol peak is marked. With 1. A: Methylanthranilat, 2: 2,5-Dimethyl-4-methoxy-2,3-dihydro-3-furanon.

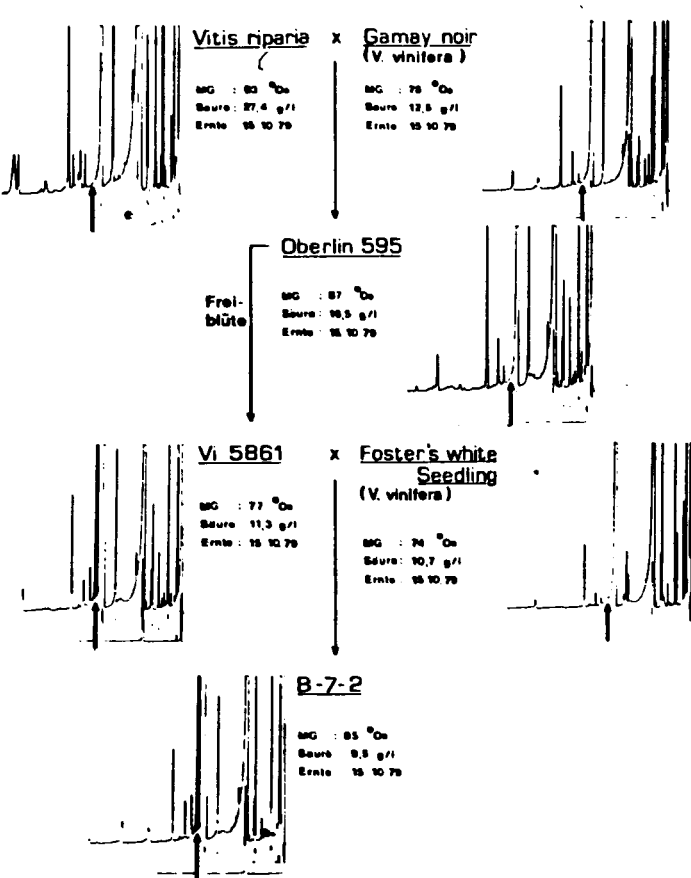


Fig. 3 - Origin of the interspecific cv. B-7-2 (Castor). Chromatogram sections of aroma extracts from grape berries. Retention time for the furaneol peak is marked with an arrow.

descendants (e. g. Niagara, Buffalo) (fig. 4). Based on these results it can be suggested that the origin of the cv. Vi 5861, called «Oberlin-595-Free-flowering» be the breeder, was due to cross fertilization with pollen from a variety containing *v. labrusca* genotypes. Further, as a result of this hybridization, progenies can occur which have both analytically measurable contents of the furaneol and a sensorially perceptible strawberry-like flavour.

The research on additional seedlings from Oberlin 595 Freiblüte showed that Furaneol in analytically traceable only in the seedling Vi 5861, while no furaneol was detected in the seedlings Vi 4704, Vi 4058, Vi 2932 and Vi 2703 which were also studied.

Because the gas chromatographic detection limit for Furaneol is very low, the analytical selection of new grape varieties in terms

Furaneolgehalt und sensorische Weinbeurteilung (FDW-Ringversuch 1977 - 1979)

Rebsorte	sensorische Beurteilung				Furaneolgehalt (ppb)
	1977	1978	1979	$\beta$	
FR 868-59	1.54	1.43	1.47	1.48	<30
FR 946-60	1.66	1.59	1.47	1.57	<5
Gm 318-57	1.63	1.76	1.52	1.64	<30
FR 993-60	1.58	1.70	1.66	1.66	<20
Gm 322-58	1.86	1.80	1.51	1.72	<30
Gm 312-53	1.66	2.09	1.68	1.81	10 - 80
B-6-18	1.71	1.99	1.88	1.86	20 - 300
Gm 324-58	1.87	1.99	1.72	1.86	<30
FR 986-60	1.90	2.02	1.72	1.88	<30
Gm 316-57	1.92	2.11	1.78	1.94	10 - 150
B-7-2	2.30	2.20	2.58	2.36	100 - 1000

- 1 = sehr gut
- 2 = neutral
- 3 = freud

Fig. 5 - Amounts of «Furaneol» in different varieties and the sensorial taste.

Rebsorte	Furaneol	Abstammung	Rebsorte	Furaneol	Abstammung
B-7-2	+	Vi 5861	Riesling	-	
B-6-18	+	Vi 5861	Silvaner	-	
B-5-3	+	Vi 5861	Müller-Thurgau	-	
B-8-8	+	Vi 5861	Forsta	-	
C-41-44	+	Vi 5861	Bacchus	-	
C-43-39	+	Vi 5861	Optima	-	
C-97-45	(?)	Vi 5861	Kerner	-	
Singfried	+		Ga 58-30	-	S.V. 12-375
Vi 5861	+		Ga 49-22	-	S.V. 12-375
V. Labrusca	+		Ga 51-27	-	S.V. 12-375
Concord	+		Ga 54-14	-	S.V. 12-375
Buffalo	+		Ga 47-42	-	S.V. 12-375
FR 993-60	+	S.V. 5276	Vi 4704	-	Oberlin 595
FR 868-54	+	Seibel 12481	Vi 4058	-	Oberlin 595
Ga 318-57	+	Seibel 7053	Vi 2932	-	Oberlin 595
Ga 322-58	+	Seibel 7053	Oberlin 595	-	-

Fig. 6 - Amounts of «Furaneol» in different fungus-resistant wine varieties.

of Furaneol content is more accurate than a selection using sensory evaluation.

A 3-year study in the frame of the FDW (Forschungsring des Deutschen Weinbaues) yielded a parallel conclusion: Sensory evaluation of various other wines whose furaneol content was analytically measured clearly showed that a foreign flavor was clearly recognizable at high concentrations, but that most of the tasters could not recognize the strawberry-like flavor at low concentrations (under 30 ppb) (fig. 5).

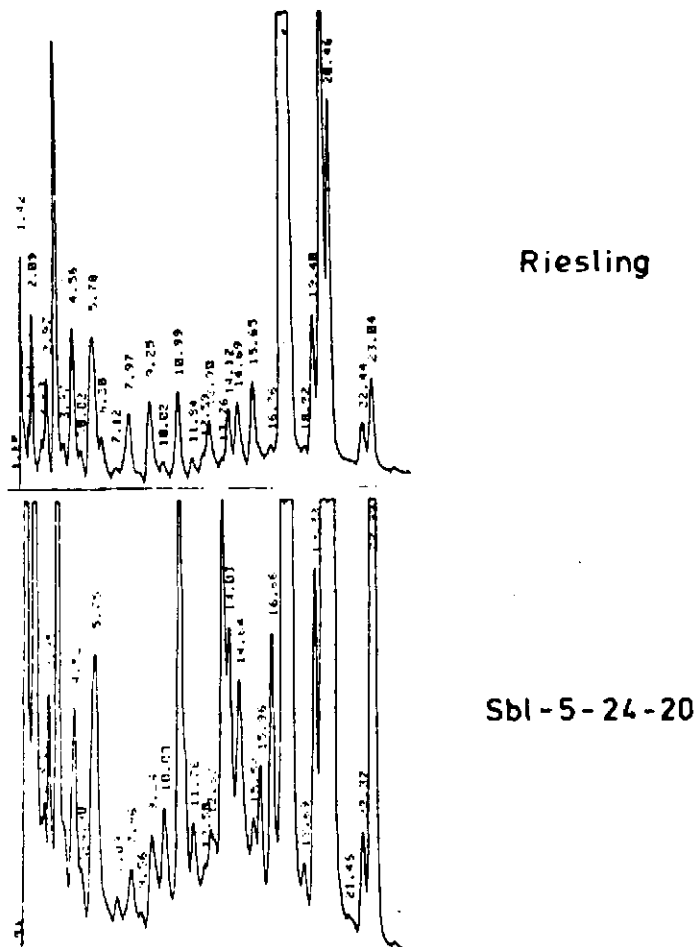


Fig. 7 - «Phenolpattern» (High-pressure-Liquid-chromatography) of the varieties Riesling and Sbl-5-24-20.

In fig. 6 some gaschromatographic results are presented for the determination of «furaneol» in fungus-resistant new breedings. It is shown that not all fungus-resistant new varieties contain «furaneol». The compound which causes the strawberry-like aroma note could be identified especially in new varieties originating from Vi 5861, Seibel 7053 respectively Labrusca types.

Further unpleasant aroma compounds («Off-Flavours») are the bitter, unripe-grass respectively phenolic aroma compounds. With the help of the high-pressure liquid chromatography more than 40 phenolic compounds can be separated and determined quantitatively from extracts of wine berries and wine. In fig. 7 comparable chromatogram sections of the variety Riesling and a variety (Sbl 5-24-20) with a distinct grass, bitter flavour are represented. In the phenol pattern clear differences are shown. The contents of cinnamic acid and their derivatives (p-Cumarsäure, Ferulasäure, Sinapinsäure) are clearly higher on the variety with a grass-bitter flavour (Sbl 5-24-20) than on the varieties Riesling and Silvaner (fig. 8).

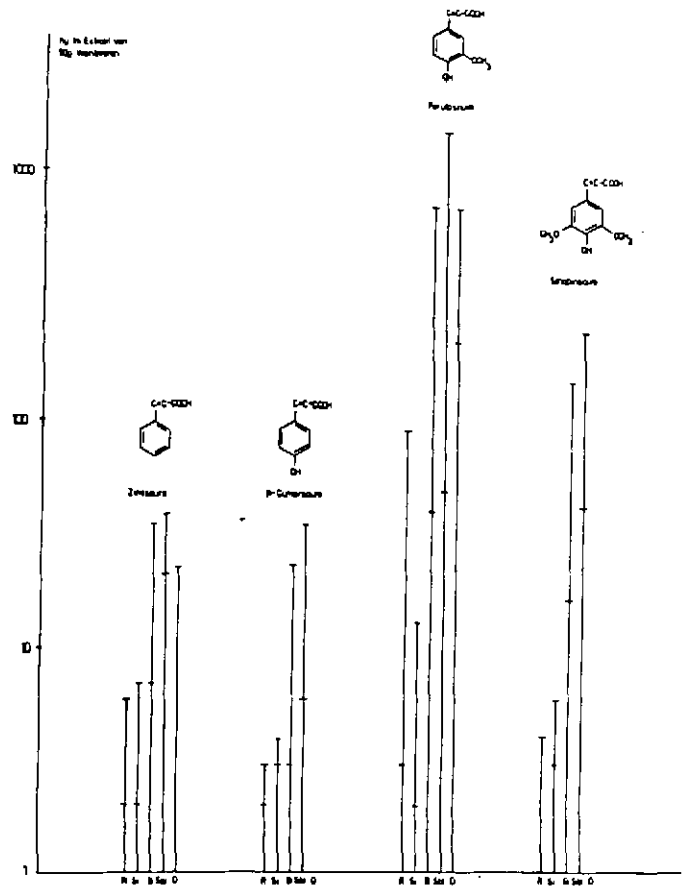


Fig. 8 - Amounts of phenolic compounds in different grape varieties (R = Riesling, Si = Silvaner, Sbl = Sbl 5-24-20).

Through the repeating HPLC-separation from extracts and the multiple trap of the single fractions the compounds can be concentrated that the judgement of taste is possible. The «Taste» chromatogram (fig. 9) shows that there are clear objectionable unripe (adstringent)-green-bitter-phenolic taste notes in some fractions.

After the identification of the marked (hatched) compounds a relation should be possible between the analysis and the sensorial judgement of the unpleasant aroma compounds (green, grass, bitter, phenolic).

The GC results show that each variety has a typical «Fingerprint-pattern» and there are only quantitative differences in the

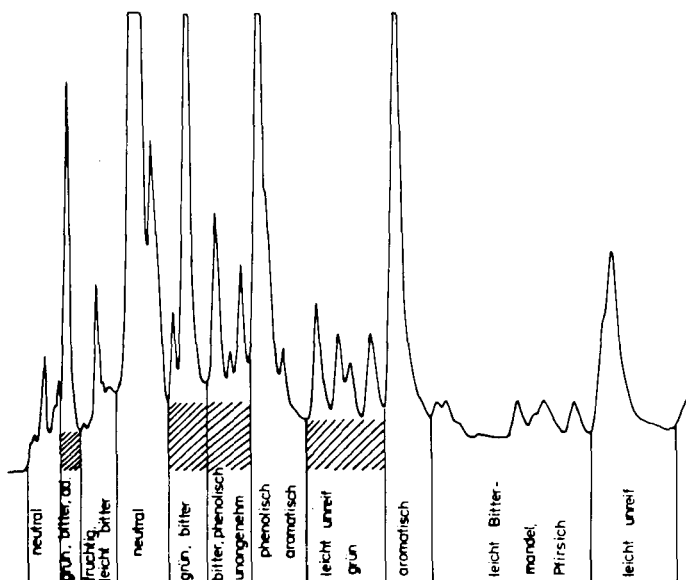


Fig. 9 - HPLC - «Phenol-pattern» of wine and the «taste»-profile.

«fingerprint-patterns» of the varieties, these differences are so distinct as to provide a basis for an analytical characterization of a variety. Within the «fingerprint patterns» the amounts of certain compounds or «key-substances» are characteristic of the particular variety under study. As a result a highly significant analytical differentiation between several varieties can be achieved by means of the multiple discriminant analysis. These aroma profiles characterizing a variety are practically independent from the location.

Components or groups of compounds of similar biogenetic origin with a distinct importance to the aroma are the terpenoids. Several authors have described the occurrence of these terpenes as characteristic components of Muscat varieties. In addition to the components known to date, e.g. linalool, geraniol, nerol, hotrienol, linalooloxides, we identified for the first time 8 terpenoid diols for example: (3,7-dimethyl-octa-1,5-dien-3,7-diol, and 3,7-dimethyl-octa-1,7-dien-3,6-diol, as constituents of the volatile components of grape berries and wine. There are clear differences in the «terpenoid profiles» (produced by only 12 terpenoid compounds) between the varieties with Muscat-like aroma (Muscat-type; the upper row in fig. 10) and the varieties with fruity and Riesling-like aroma («Riesling-type»; lower row in fig. 10). The contents

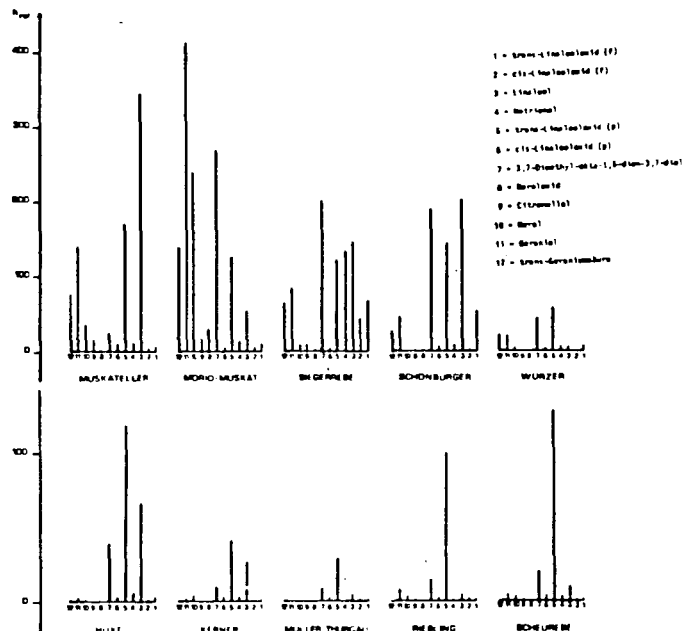


Fig. 10 - Relative peak heights of terpenoid components («terpenoid profiles») in grape berries of European cultivars.

of the compounds 11 and 12 (geraniol and trans-geranic acid) in varieties of the «Muscat type» are significantly increased compared to varieties of the «Riesling-type». The «terpenoid profile» of the «Riesling-type» is mainly characterized by the compounds 3, 5, 7 (linalool, trans-pyr.-linalool-oxide, 3,7-dimethyl-octa-1,5-dien-3,7-diol).

Although there is a certain agreement between the terpenoids occurring in the varieties «Muskateller», «Morio-Muskat», «Siegerrebe» and «Schönburger» («Muscat-type»; fig. 10), sufficient differences in the amounts of the 12 compounds within the terpenoid component can be detected which permit an analytical differentiation of the varieties.

The investigations show that it is not only possible to differentiate the individual varieties by analysis but also to correlate the analytical data with the sensorial evaluation. By these first and successful steps a basis has been provided for the application of the highly developed gas-chromatographic analytics for an early diagnosis in the field of grapevine breeding.

## SUMMARY

### VOLATILES OF FUNGUS-RESISTANT VINE VARIETIES

The breeding of fungus-resistant vine varieties, comparable in the quality of their wines with the European varieties, belongs to the most important work of vine breeding for economical and ecological reasons. Nowadays, wines of resistant varieties with a stain of unpleasant hybride flavour are often abjudged, because the old hybride varieties usual had fox, grass or other «Off Flavours». Though successful crossing out of the original unpleasant «hybride flavours» could be achieved; also in these days aroma notes appear with an unpleasant flavour, some of them are declined.

In order to succeed in vine breeding it is important to know the varietal character early and unobjectionable and especially the non-existence of undesired aroma notes in new varieties. For such an early diagnose, the aroma notes take an important place.

With the help of a concentration method developed in our Institute, it is possible to concentrate the aroma compounds from wine berries and wine so comprehensively that the following capillar chromatography is able to seize and to determine some hundreds of compounds.

In combination with the «sniff technique» especially those aroma compounds can be seized and determined exactly which are responsible for unpleasant aroma notes. This technique of analyses makes it possible to establish relations between the analytical data and the sensorial judgement and to get an early diagnose for selecting new varieties this way. With the help of the aroma-relevant aroma compounds and of the discriminant analysis an analytical varietal characterization of different vine varieties is possible.

## GENETIQUE ET CYTOGENETIQUE

## GENETICS AND CYTOGENETICS

## GENETICA E CITOGNETICA

## Génétique générale / General genetics / Genetica generale

**INHERITANCE OF QUALITATIVE AND  
QUANTITATIVE PROPERTIES OF  
SEEDLINGS OF F1 GENERATION ISSUED  
BY CROSSING OF VARIETIES CABERNET  
SAUVIGNON AND PROKUPATZ**

**L. AVRAMOV - A. JURCEVIĆ - M. JOVANOVIĆ - M. RUZEVIĆ  
- S. BJEKIĆ - D. ZUNIĆ**

Faculty of Agriculture - Belgrade - Zemun (Yugoslavia)

**Introduction**

Prokupatz is the most extended grapevine cultivar in Yugoslavia for table and qualitative pink and black wines, characterized by pronounced vigour, high productivity even with very short pruning and very resistant to *Botrytis cinerea*. In some grapevine regions Prokupatz is in monoculture amounting even over 90 per cent.

Taking into consideration the above advantages, and in order to improve properties of wine, extensive crossings of Prokupatz with many other grapevine cultivars has been conducted, in which much advantages manifested. cv. Cabernet Sauvignon as female parent. A special attention has been devoted in the above crossing to good colour and flavour (bouquet) of cv. Cabernet Sauvignon and high productivity of cv. Prokupatz, the combination of which should be particularly appreciated.

**Material and methods**

Above crossings have been conducted in experimental vineyard of the working enterprise for research and application of science in viticulture and wine processing (oenology) "Radimilovac" - Vinca, near Belgrade.

Hybrid seedlings were obtained in greenhouse then planted in permanent place in grapevine collection in which they started to bear. Unilateral Guyot training system of grapestock has been applied. Distance among grapestocks is 3 x 0.50 m, i.e. 6666 seedlings per one hectare.

The observation of phenophases development of hybrid seedlings, as well as sampling of other data, was conducted during three consecutive years (1982-1984) on 71 seedlings. Obtained data have been elaborated statistically with the application of  $H^2$ , variance analysis and Duncan-test.

Genetical and statistical analysis included the following properties of hybrid seedlings: phenophases development date of maturation, flower type, skin colour of berry, grape yield, mean weight of berry and cluster, and content of total sugars and total acids in grape juice.

**Result and discussion**

Numerous authors investigated grapevine properties, as well as methods of hybridological analysis of generation obtained through crossings between cultivars and species, among whom should be mentioned the following ones: Avramov et al (1,2) Bodinova-Boneva (3), Calo (4), Gorodea et al (5), Matevska (6), Negru et al (7), Smirnov (8), Oprea (9), Zankov et al (10,11) and others.

**1. Variations of the beginning of dates of bud opening, flowering and grape maturation**

The analysis of results obtained shows a high variation of above mentioned parameters, which is proved by the following facts:

a) Bud opening beginning during three periods of investigation varied from 15th till 24th of April, manifesting a width of 10 days.

b) Flowering beginning varied from 20th of May till 18th of June, the variation width of which is 19 days.

c) Berry maturation varied from 15th of July till 5th of September. In that case the variation width is amounting up to 52 days.

The above mentioned variations were under high effect of meteorological conditions during corresponding phenophase of grape development in studied hybrids.

**2. The variation of grape maturation date**

The data presented in the Table n. 1 show that the variation in the date of grape maturation in various hybrids varied from 15th till 27th of October, the difference being 12 years. However, majority of hybrid seedlings (95.77 per cent) manifested grape maturation from 15th till 21st of October.

**3. Flower type inheritance**

On the basis of inheritance quotient ( $H^2$ ) concerning flower type the investigated hybrids manifested a monohybrid inheritance with a ratio of 3:1 (table n. 2).

**Tab. 1 - The time of date maturation in investigated hybrid seedlings from 1982-1984**

Seedling's group	Time of grape maturation	Number of seedlings	Seedling's participation in per cent
I	From 15th to 19th of Oct.	49	69
II	From 20th to 24th of Oct.	20	28
III	From 20th to 28th of Oct.	2	3

**Tab. 2 - The frequency of inheritance of flower type**

Seedling's group	Flower type	Number of seedlings	Seedling's participation in per cent
I	Hermaphrodite	59	83,10
II	Female	12	16,90

On the basis of analysis of data presented in the Table n. 2 it is evident that in investigated hybrids hermaphrodite flowers are dominant amounting up to 83.10 per cent, while 16,10 per cent of hybrids manifested female flowers. The above fact shows a heterozygotic type of inheritance of flower properties in Cabernet Sauvignon and Prokupatz. Therefore, the crosses between those two cultivars have in 75 per cent morphologically and functionally hermaphrodite flowers.

#### 4. Colour skin inheritance

On the basis of consideration of data presented in the table n. 3 as well of the analysis of inheritance quotient ( $H^2$ ) it is clear that in this respect monohybrid inheritance, with the ratio 3:1, i.e. black-red colour, occurs.

In that case black and red skin colour of berry is expressed in 88.28 per cent of hybrids, while white one in only 19.72 per cent of hybrid seedlings. The above fact shows that here the parents are heterozygotic concerning inheritance of skin colour of berries. Therefore, in the offspring obtained trough crossing of Cabernet Sauvignon and Prokupatz up to 75 percent of hybrids will have blue, red and black colour of berries.

#### 5. The Variations of yields in hybrid seedlings

The data presented in the Table n. 4 show significant and very significant differences concerning yield of hybrid seedlings being highest in the group II (49.30 per cent), in which mean yield per one grape stock was 10,00 l g to 2,000 g. while the lowest one was in the seedlings of group IV (8.45 per cent) being only 3,00l to 4,200 g per one stock as average.

However, statistical analysis shows that above difference is not significant, which can be explained by the fact that all seedlings belong to the same genotype in F. group. Therefore, any seedlings and particularly those with highest yield can be used for further crossings.

**Tab. 3 - Frequency of inheritance of skin colour**

Seedling's group	Skin colour	Number of seedlings	Seedling's participation in per cent
I	Black-red	57	88,28
II	White	14	19,72

**Tab. 4 - Grape yield variation in hybrid seedling in g per stock**

Seedling's group	Yield in g/stock maturation	Number of seedlings	Seedling's participation in per cent
I	From 0.164 to 1.000	22	30,99
II	From 1.001 to 2.000	35	49,30
III	From 2.001 to 3.000	8	11,26
IV	From 3.001 to 4.200	6	8,45

#### 6. The variations of mean berry weight in seedlings (in g per one stock)

The data presented in the table n. 5 show statically significant and very significant differences in berry weight in various hybrids, being highest in the group II (53.52 per cent), followed by group I (43.77 per cent), and the lowest one in group II (only 2.81 per cent).

Since the above property is conditioned by the same genotype any seedling of F1 generation can be used for crossing, but particularly those ones with highest berry weight similar to male parent in the crossing (Prokupataz).

#### 7. The variations of mean weight of grape in seedlings (in g.)

In the above standpoint the differences are significant and very significant, which is proved by the data presented in the table n. 6.

The highest value shows seedlings in the group II (53.22 per cent), followed by group I (36.62 per cent), and group III (7.04 per cent), while the lowest one was in group IV (only 2,82 per cent).

Since above property is based on the same genotype, any hybrid seedling can be used for further crossing, and particularly seedlings of the group III and IV manifesting the largest grape weight.

**Tab. 5 - Variation of mean berry weight in g**

Seedling's group	Berry weight in g maturation	Number of seedlings	Seedling's participation in per cent
I	From 1,13 to 2,00	31	43,67
II	From 2,01 to 3,00	38	53,52
III	From 3,01 to 3,42	2	2,81

**Tab. 6 - Variation of mean grape weight in hybrid seedlings in g**

Seedling's group	Grape weight in g maturation	Number of seedlings	Seedling's participation in per cent
I	From 38,70 to 100,00	26	36,62
II	From 101,00 to 200,00	38	53,52
III	From 200,00 to 300,00	5	7,04
IV	From 301,00 to 312,50	2	2,82

**8. The variations of sugar content in grape**

The data presented in the table n. 7 show a considerable variation width, amounting from 11.88 till 24.06 per cent, the content of total sugars in grape being significant and very significant in 46.48 per cent of seedlings in the group IV and 2.81 per cent in the group I (mostly 50 per cent), which could be due to female parent Cabernet Sauvignon, very strong in this standpoint.

The above data prove also that between grape yield and sugar content in grape juice there is a negative correlation, which is just a rule in grapevine. However, in some seedlings there is an exception, being very productive and with high sugar content. Such seedlings will be used for further crosses in order to improve new grape cultivars.

**Tab. 7 - Variation of total sugar in grape juice in per cent**

Seedling's group	Grape weight in g maturation	Number of seedlings	Seedling's participation in per cent
I	From 11,80 to 15,31	7	9,86
II	From 15,32 to 18,82	29	40,85
III	From 18,83 to 22,33	33	46,48
IV	From 22,34 to 24,06	2	2,81

**9. The variations of total acids in grape**

The data presented in the Table n. 8 show a considerable variation width concerning total acids content in the grape of hybrid seedlings, being from 3,80 to 8,68 per cent, while index of increase compared with the lowest one is amounting up to 203.

On the basis of above results it can be stated that the seedlings of groupes III and IV manifested a favorable level to total acids in grape juice, and that there is a positive correlation between grape yield and total acids content (but with some exceptions).

However, such harmonized ratio between yield and total acids and sugars in investigated hybrid seedlings orients us on the vinification, since in the above case wine quality can be determined

only from the standpoint of its organoleptic properties, assuming the use of the most precise methods of wine analysis.

**Tab. 8 - Variation of mean content of total acids in grape juice in ‰**

Seedling's group	Total acids in ‰ maturation	Number of seedlings	Seedling's participation in per cent
I	From 3,80 to 4,92	4	5,63
II	From 4,93 to 6,04	22	30,99
III	From 6,05 to 7,17	28	39,44
IV	From 7,18 to 8,68	17	23,94

**Conclusion**

On the basis of results obtained in three years investigation (1982 to 1984) of hybrid seedlings by crosses of Cabernet Sauvignon and Prokupatz the following conclusions can be inferred:

1. The investigation was conducted during the increasing yield of hybrid grapevine seedlings, showing significant differences in all studied parameters of grapevine phenology.
2. The difference between earliest and latest grape ripening in investigated seedlings was 12 days.
3. Hybridological analysis shows a monohybrid type of inheritance concerning flower and skin colour of grapevine seedlings with the ratio 3:1.
4. Considerable difference manifested hybrid seedlings concerning grape yield varying from 0.164 till 4.188 g per one stock, or expressed per one hectare from 10.932 to 27.917 kg.
5. Berry and grape weight manifests high variation width too
6. Total sugar content in grape juice varied from 11.80 to 24.06 per cent, and total acids from 3.80 to 8.68 per cent.
7. On the basis of all results obtained it can be concluded, in general, that the crossing between Cabernet Sauvignon and Prokupatz gave an interesting hybrid population in F1 generation, among whom some are already of positive agrobiological and technological properties and thus valuable for ampelographic practice, due to the influence of male parent Prokupatz, a domestic cultivar very appreciated by both productivity and grape quality.

**LITERATURE CITED**

1. Avramov et al. (1966) - "Vitis", B. 6.
2. Avramov et al. (1980) - III International symposium of vine selection, Davis, California.
3. Bozinova-Boneva I. (1978) - Gradinarska i lozarska nauka, no. 6.
4. Calo A. (1980) - Rivista di viticoltura e di enologia, n. 7.
5. Gorodea G., Neagu J.M. (1978) - Génétique et amélioration de la vigne, Paris.
6. Matevska A. (1975) - Avtoreferat, Plovdiv.
7. Negrul A.M. (1963) - Lju Ju Jan, Trudi NIIIVV "Magarac", t. 12.
8. Smirnov K.V. (1956) - Disertacija, Samarkdand.
9. Oprea St. (1978) - Génétique et amélioration de la vigne. Paris.
10. Zankov Z. (1964) - Gradinarska i lozarska nauka, N. 3.
11. Zankov Z. (1985) - Zankov Z., Todorov I. (1985) Rastenievodni nauki no. 1. 1985.

## INTHERITANCE OF QUALITATIVE AND QUANTITATIVE PROPERTIES OF SEEDLINGS OF F1 GENERATION ISSUED BY CROSSING OF VARIETIES CABERNET SAUVIGNON AND PROKUPATZ

*Prokupatz is the most widely spread variety of table and qualitative coloured wines in Yugoslavia. Because of its convenient vigor, high fertility and good resistance to Botrytis cinerea it represents the monoculture of certain regions, where it is being spread to the amount of 90% among all varieties. In order to enable the maintaining of this variety, as well as to improve the quality components of wine, this variety was crossed with other varieties and especially with the variety cabernet sauvignon, as mother partner.*

*In this purpose a F1 generation of seedling was produced, the qualitative and quantitative properties of which were genetically analysed in the phase of increasing fertility. Following properties were statistically surveyed: type of flower, colour of skin, average weight of berry, average weight of cluster, average production of grapes, sugar contents, acid contents, and time of maturity of grapes.*

*Analysis of functions of flower shows two types of flower in the F1 generation: functionally hermaphrodite and functionally female, as well as the monohybrid inheritance.*

*Analysis of til colour shows black-red, white and yellow-green til colours and also the monohybrid inheritance.*

*Average weight of berries, average weight of cluster and average production of grapes show differences among which some are statistically significant and others very significant.*

*Sugar contents largely vary from 11,80% to 24,06%.*

*Acid contents also vary from 3,80% to 8,68%.*

*The differences between the earliest and the latest maturity of grapes of the F1 generation seedling is 12 days, which is, according to Pulliat, a whole epoch of maturity.*

## OSSERVAZIONI SU CROMOSOMI DI VITE EVIDENZIATI CON METODI DIVERSI

R. BOTTA <sup>(1)</sup> - G. ME <sup>(1)</sup> - S. SACERDOTE <sup>(2)</sup>

R. VALLANIA <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Istituto di Frutticoltura Industriale Università di Torino (Italia)

<sup>(2)</sup> Centro di Studio per il Miglioramento Genetico della Vite - C.N.R. - Torino (Italia)

### Introduzione

I coloranti più comunemente usati per l'evidenziazione dei cromosomi nei vegetali sono il reattivo di Schiff, nella colorazione Feulgen, il carminacetico e l'orceina acetica.

L'uso di questi reattivi garantisce, nella maggior parte dei casi, una buona colorazione, utile ai fini del conteggio, ma che non è sempre in grado di fornire indicazioni sulla struttura dei cromosomi per l'identificazione degli omologhi.

A questo scopo è stata utilizzata da vari autori su diverse specie vegetali (Dumas de Vaulx, 1980; Tilquin *et al.* 1979) la colorazione Giemsa che, evidenziando l'eterocromatina, permette di riconoscere le bande caratteristiche di ciascuna coppia.

Le variabili che entrano in gioco in queste diverse tecniche sono in numero molto limitato per quanto riguarda l'uso del carminacetico e dell'orceina acetica; nella Feulgen è critica la scelta del tempo di idrolisi, ma, data la specificità della reazione, i risultati sono generalmente soddisfacenti e facilmente ripetibili.

Il metodo di Giemsa, invece, prevede diverse fasi che precedono la colorazione; alcune di queste risultano di particolare importanza (Schweizer, 1973) ai fini dei risultati, soprattutto per l'ottenimento del bandeggio. Per questo motivo il metodo va adattato, utilizzando tempi e concentrazioni diverse dei reattivi, alle diverse specie vegetali.

Nel caso della vite, lo studio dei cromosomi è particolarmente difficoltoso a causa delle loro ridotte dimensioni. Per questa specie il metodo Feulgen è stato messo a punto da Bouquet (1978) con buoni risultati, mentre poco è ancora noto riguardo alla colorazione Giemsa.

In questo lavoro si sono fatte alcune prove di applicazione di

tale tecnica, utilizzando pretrattamenti diversi e confrontandone i risultati con quelli ottenibili con la colorazione Feulgen.

### Materiali e metodi

Le osservazioni sono state eseguite su apici radicali prelevati da talee appartenenti alla cultivar «Dolcetto», messe a radicare in celle climatiche a temperatura costante di 22°C con alternanza giorno/notte di 15/9 ore.

Tali apici sono stati suddivisi in quattro gruppi che hanno subito diversi pretrattamenti e colorazioni:

- 1) pretrattamento con  $\alpha$ -monobromonaftalina per 1 ora a temperatura ambiente e colorazione Feulgen;
- 2) pretrattamento con colchicina 0,05% per 4 ore a 4°C e colorazione Feulgen;
- 3) pretrattamento con  $\alpha$ -monobromonaftalina per 1 ora a temperatura ambiente e colorazione Giemsa;
- 4) pretrattamento con colchicina 0,05% per 4 ore a 4°C e colorazione Giemsa.

Tutti i campioni dopo il trattamento preliminare alla colorazione sono stati sciacquati e fissati in Carnoy.

Gli apici da colorare col metodo Feulgen sono stati sottoposti ad idrolisi con HCl 5N a temperatura ambiente per 20' e quindi colorati per 3 ore col reattivo di Schiff; allo scopo di facilitarne lo schiacciamento in carminacetico (Bouquet, l.c.) sono stati tenuti in pectinasi 1% per 1 ora a temperatura ambiente. Anche negli apici destinati alla colorazione Giemsa, è stata facilitata la dissociazione utilizzando lo stesso trattamento (pectinasi 1%) unito ad una macerazione con HCl 1N o 5N per 15'.

Lo schiacciamento degli apici da colorare in Giemsa è avvenuto in acido acetico 45% su vetrini gelatinati; l'adesione è stata facilitata con un leggero riscaldamento, quindi è stato eliminato il coprioggetto col metodo di ghiaccio secco (Conger e Fairchild, 1953).

Dopo l'asciugatura, eseguita a temperatura ambiente per almeno 24 ore, i preparati venivano immersi in una soluzione di Ba(OH)<sub>2</sub> al 4,5% per 10', quindi sciacquati e posti in 2×SSC a 60°C per un tempo variabile da 15' a 4 ore.

I vetrini, previo risciacquo, erano infine colorati per 5'-60' col Giemsa preparato al momento (soluzione al 2% in tampone fosfato pH 6,9), fatti asciugare e montati in Euparal.

### Risultati e discussione

I preparati allestiti con il metodo Feulgen hanno dato buoni

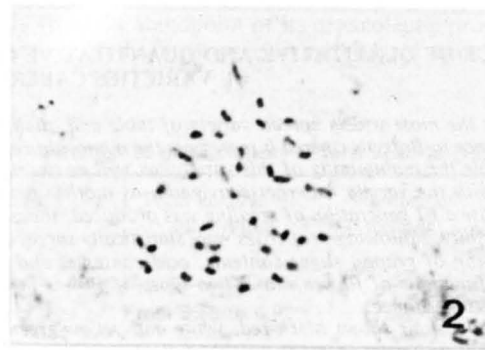
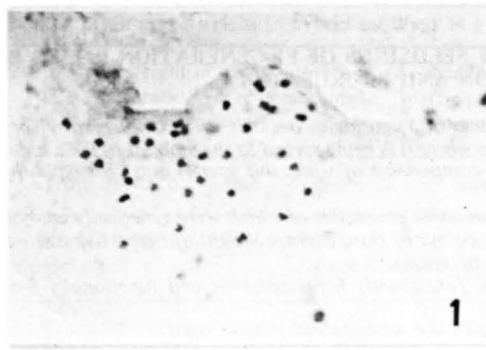
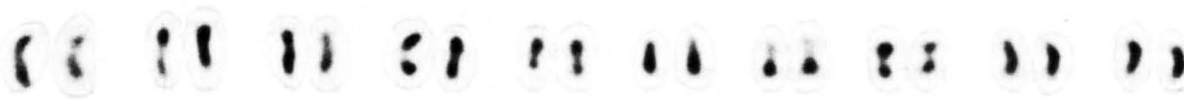


Fig. 1-2 - Cromosomi di vite cv. «Dolcetto» in cellule di apici radicali trattati con  $\alpha$ -monobromonaftalina (fig. 1) o colchicina (fig. 2) e colorati col metodo Feulgen ( $\times 1300$ ).



3

Fig. 3 - Stadio iniziale di metafase in cui sono evidenziabili coppie di cromosomi simili per forma, dimensioni e posizione del centromero. Colorazione Feulgen, pretrattamento con  $\alpha$ -monobromonaftalina ( $\times 2500$ ; particolari  $\times 3800$ ).

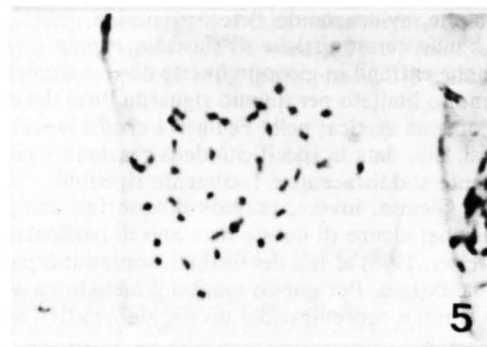
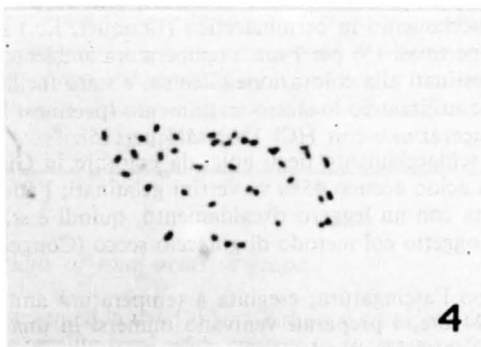


Fig. 4-5 - Cromosomi di vite cv. «Dolcetto» in cellule di apici radicali trattati con  $\alpha$ -monobromonaftalina (fig. 4) o colchicina (fig. 5) e colorati col metodo Giemsa ( $\times 1300$ ).

risultati sia con il pretrattamento con  $\alpha$ -monobromonaphthalene che con la colchicina (fig. 1-2). In entrambi i casi è stato possibile il conteggio, in piastre metafasiche, e l'individuazione della posizione del centromero.

Inoltre si è notato che i cromosomi prometafasici mostrano zo-

ne più o meno intensamente colorate in base alle quali si è tentato un accoppiamento di alcuni omologhi (fig. 3).

Per quanto riguarda la colorazione Giemsa, essa è risultata sufficientemente indicativa allo scopo del conteggio, ma non ha fornito indicazioni sulla distribuzione dell'eterocromatina (fig. 4-5).



I due pretrattamenti hanno dato risultati analoghi, mentre per quanto riguarda l'idrolisi in acido cloridrico si sono avuti preparati migliori utilizzando la concentrazione 1N.

Si è invece notato che una permanenza prolungata (4 ore) in  $2 \times \text{SSC}$  non giova la bandeggio e che tempi inferiori (15'-30') sono più favorevoli per l'individuazione della forma dei cromosomi.

Non si sono riscontrate infine differenze sostanziali con tempi di colorazione tra 15' e 60'.

Dal confronto tra la reazione Feulgen e il metodo Giemsa è emerso che la prima dà risultati migliori per l'individuazione della posizione del centromero e per l'evidenziazione morfologica dei cromosomi, mentre il secondo, a causa del maggior numero di trattamenti, può dare più facilmente origine a deformazioni e rotture dei cromosomi. Questo fatto, già rilevato da Tilquin et al. (l.c.), induce a ritenere che i risultati più attendibili ai fini della definizione del cariogramma si possano ottenere confrontando piastre metafasiche allestite coi due diversi metodi.

Nel caso della vite l'ottenimento del bandeggio sarebbe di par-

ticolare rilevanza in quanto molte coppie di omologhi sono simili per forma e dimensioni.

I tentativi futuri saranno quindi rivolti al completo adeguamento della tecnica Giemsa alle caratteristiche di questa specie.

#### BIBLIOGRAFIA

- Bouquet A. (1978) - *Méthode de dénombrement chromosomique dans le genre Vitis*. Ann. Amélior. Plantes 28: 251-255.  
Conger A.D., Fairchild L.M. (1953) - *A quick-freeze method for making smear slides permanent*. Stain Techn. 28: 281-283.  
Dumas De Vaulx R. (1980) - *Technique de coloration ou de surcoloration des chromosomes par le «Giemsa R»*. Ann. Amélior. Plantes 30: 218-219.  
Schweizer D. (1973) - *Differential staining of plant chromosomes with Giemsa*. Chromosoma 40: 307-320.  
Tilquin J.P., Dujardin M., Louant B.P. (1979) - *L'observation des chromosomes de Cichorium intybus L. au moyen de la technique du Giemsa C-banding*. Ann. Amélior. Plantes 29: 419-425.

#### RESUME

#### OBSERVATIONS SUR DES CHROMOSOMES DE VIGNE MIS EN EVIDENCE PAR DIFFERENTES METHODES

*Des plaques métaphasiques de différents cultivars de vignes traitées et colorées par différentes méthodes ont été comparées.*

*L'importance d'un pré-traitement approprié (-monobromonaphtaline ou colchicine) a été confirmée pour notre recherche, (c'est à dire le calcul et l'individualisation de couples d'homologues).*

*Les colorants utilisés sont la réaction de Feulgen et la méthode Giemsa. La première permet de déterminer plus précisément la position du centromère, la seconde est plus appropriée pour la détermination de la forme des chromosomes.*

## DIFFERENZE VARIETALI NELL'ASSORBIMENTO DEL POTASSIO DEI PORTINNESTI DI VITE. I. LA VELOCITÀ DI ASSORBIMENTO DEL $\text{K}^+$ ( $\text{Rb}^{86}$ ) IN RADICI RECISE

**M. FREGONI - M. BOSELLI - B. VOLPE**

Cattedra di Viticoltura - Università Cattolica S.C. - Piacenza (Italia)

È comunemente accertato che l'assorbimento del  $\text{K}^+$  attuato dalle radici delle piante superiori è un fenomeno piuttosto complesso (15, 28). Inoltre esiste un'ampia variabilità genetica nelle varietà di molte specie nell'assorbimento, accumulo, traslocazione ed utilizzazione degli elementi minerali (15, 16, 24, 37) ed in molti casi le differenze varietali nel trasporto degli ioni riflettono differenze nel meccanismo di trasporto selettivo (6, 13, 35, 36).

I primi studi che evidenziarono da parte delle piante un controllo genetico della nutrizione minerale risalgono agli anni '30 (19, 29, 42).

Numerose ricerche a tale proposito sono state condotte anche per la vite, mediante l'analisi di tessuti vegetali, evidenziando tra l'altro la diversa capacità dei portinnesti di assorbire o dei vitigni di utilizzare gli elementi minerali (1, 2, 3, 4, 5, 7, 11, 12, 14, 25, 27, 32, 34, 38, 39, 40, 41).

Il portinnesto, nella economia della pianta, è responsabile del soddisfacimento delle esigenze nutritive della parte epigea, in particolare, della sede principale di sintesi rappresentata dalle foglie.

È, dunque, necessario un equilibrio fra capacità funzionale di

assorbimento del portinnesto ed esigenze della marza, al fine di garantire un funzionamento regolare del metabolismo della pianta. Se viene a mancare questo equilibrio si realizzano turbe fisiologiche che si manifestano con alterazioni vegetative e produttive.

La frequenza con la quale si sono presentate le fisiopatie originate da disordini nutrizionali, ha portato in primo piano, nell'ambito del miglioramento genetico della vite, la problematica di una corretta ed equilibrata nutrizione, coinvolgendo pertanto il portinnesto per il ruolo svolto nella fase di assorbimento e primo trasporto degli elementi utili dal terreno. L'interesse dei ricercatori si è soprattutto concentrato su due elementi: K e Mg, per i quali si ritrovano meccanismi di assorbimento di tipo selettivo. Lo scopo del presente lavoro è quello di mettere a punto e verificare un metodo di diagnosi precoce per la selezione di portinnesti che si dimostrino particolarmente efficienti nell'assunzione del potassio.

Si tratta di un primo approccio al problema, estremamente complesso, dello studio dei meccanismi di trasporto transmembrana. Nella continuazione del lavoro verranno prese in considerazione le cinetiche della reazione, variando le concentrazioni di materiale radioattivo ed il tempo di contatto con le radici ( $V_{\text{max}}$ ); sarà verificata la linearità di assorbimento fra  $\text{K}^+$  e  $\text{Rb}^+$ .

#### Materiali e metodi

**Materiale vegetale:** talee legnose bigemme di genotipi portinnesti (Rupestris du Lot, Riparia G.M., Berlandieri R. n° 1, 3309, Kober 5BB, SO4, 1103 P, 44-53, 106-8) sono state fatte radicare su substrato costituito da sabbia, alla luce. Alla fine del periodo di radicazione (40 gg circa) le talee manifestavano sulla parte aerea diversi gradi di carenza minerale.

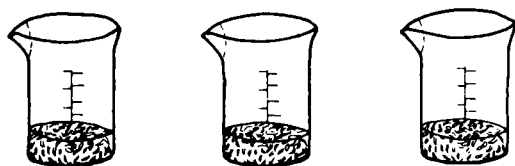
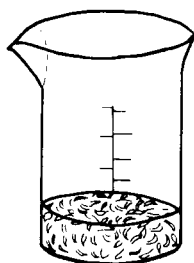
**Misura della velocità di assorbimento:** segmenti di radici lunghi circa 2 cm, di 1 g di peso, sono stati messi a bagno avvolti in un tulle per 4 ore, in una soluzione di  $\text{CaSO}_4$  1 mM per rimuovere il  $\text{K}^+$  dagli spazi liberi. I segmenti di radici sono stati poi trasferiti in becker di plexiglas contenenti ciascuno 100 ml di

Lavoro eseguito con un contributo del CNR nell'ambito del P.F. IPRA - Sottoprogetto 1. Pubblicazione N. 455.

**Tab. 1 - Materials and methods**

1) radici recise (2 cm) a bagno per 4h in soluzione  $\text{CaSO}_4$  1 mM

3 ripetizioni x x 1 grammo



2) Bagno di 30' in beckerini singoli contenenti 100 ml di soluzione  $\text{CaSO}_4$  in mM + Tris 1 mM a cui viene aggiunto 1 ml di  $\text{RbCl}$  0,1 mM.



3) Lavaggio con spruzzetta contenente soluzione  $\text{CaSO}_4$  1 mM +  $\text{RbCl}$  1 mM + 2 lavaggi per immersione (10') nella stessa soluzione

4) si mettono le radici nei boccetti di vetro con circa 5-8 ml di  $\text{H}_2\text{O}_2$  e si pongono su bagno di sabbia a  $180^\circ\text{-}200^\circ$ , aggiungendo  $\text{H}_2\text{O}_2$  fino a completa mineralizzazione.



5) Si aggiungono poi 10 ml di liquido scintillatore per ciascun boccetto e si leggono i CPM.

soluzione  $\text{CaSO}_4$  1 mM + TRIS 1 mM (fino a pH 7) a cui è stato aggiunto  $^{86}\text{Rb}^+$  (come  $\text{RbCl}$  0,1 mM) (New England Nuclear Corp.). Il prodotto radioattivo collocatosi negli spazi liberi è stato rimosso mediante il lavaggio con  $\text{CaSO}_4$  1 mM +  $\text{RbCl}$  1 mM e altri due lavaggi per immersione (10 min) nella stessa soluzione (tabella 1).

La scelta del  $^{86}\text{Rb}$  è giustificata dalle ristrette possibilità di impiego del  $^{42}\text{K}$  che ha un'emivita media di sole 12 h, contro i 18,7 giorni del  $^{86}\text{Rb}$ .

La possibilità di impiegare il Rb come tracciante del K è stata sperimentata lungamente (9, 10, 17, 18, 20, 21, 22, 23, 26, 33, 37, 43) anche se esistono comunque incertezze sulla perfetta linearità di comportamento dei due elementi.

Dopo aver effettuato il lavaggio, le radici vengono poste in boccette di vetro contenenti  $\text{H}_2\text{O}_2$  posti su sabbia mantenuta a  $180^\circ\text{-}200^\circ\text{C}$  e si aggiunge ancora  $\text{H}_2\text{O}_2$  fino a completa mineralizzazione. La radioattività è misurata aggiungendo al campione 10 ml di liquido scintillatore impiegando un contatore a scintillatori liquidi (Packard Instr. Tri-Carb 460 CD). Sui medesimi genotipi sono state inoltre eseguite prove impiegando un inibitore metabolico (cianuro di sodio 0,1 M) aggiunto alla soluzione di  $\text{CaSO}_4$  1 mM + TRIS 1 mM prima dell'aggiunta del Rb marcato, seguendo poi la procedura descritta per impedire l'assorbimento contro gradiente. In una ulteriore prova su altri campioni nella soluzione di  $\text{CaSO}_4$  + TRIS è stato aggiunto  $\text{RbCl}$  2 mM, appena prima dell'aggiunta di  $\text{RbCl}$  marcato per avere una quantità elevata di elemento a disposizione.

## Risultati e discussione

### A) Velocità di assorbimento del $^{86}\text{Rb}$

Uno degli elementi principali nella creazione e selezione di portinnesti di vite è il ridotto fabbisogno di elementi minerali. Il po-

ter stabilire a priori la capacità di assorbire determinati elementi è quindi di grande utilità pratica.

Per poter fare dei raffronti significativi sono stati presi in considerazione per la prova genotipi che hanno un comportamento noto sotto il profilo dell'utilizzo del  $\text{K}^+$  (Tabella 2) e se ne è verificata la corrispondenza con i dati ottenuti.

Dai risultati ottenuti (Tabella 2) emerge una notevole differenza nella velocità di assorbimento di  $^{86}\text{Rb}^+$  per unità di tempo (1 h).

Il genotipo che in assoluto ha mostrato il valore più elevato è stato la Riparia, con 10,99 nM di  $^{86}\text{Rb}^+$  ( $\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$ ) e confermando il dato riportato dalla letteratura. Anche per il Berlandieri x Riparia Kober 5BB e il (Cord. x Rup.) x (Rup. x Rip.) 44-53 sono stati rilevati valori elevati di velocità di assorbimento con rispettivamente 8,38 nM e 7,36 nM.

Tali dati confermano le attese riguardo i due genotipi, anche se la valutazione data dalla letteratura al Kober 5BB è forse inferiore alle reali possibilità del portinnesto.

I genotipi che mostrano valori intermedi fra quelli osservati sono la Berlandieri Ress. N° 1 e l'SO4, rispettivamente con 4,56 nM e 3,94 nM di  $^{86}\text{Rb}^+$  assorbito. Se da un lato il comportamento Berl. x Rip. SO4 è conosciuto e tra l'altro il dato emerso risul-

**Tab. 2 - Rootstocks resistance to K-deficiency (Data from many Authors)**

High resistance	Medium resistance	Low resistance
44-53	Kober 5BB	99 R
196-17	SO4	101-14
40-10	420 A	3309
Riparia G.M.	16-16	106-8
	161-49	Rup. du Lot

**Tab. 3 - Primary Data for  $^{86}\text{Rb}^+$  Influx on Vine Roots Segments per hour**

Excised root of	Uptake rates $\text{nmol (g fr. wt)}^{-1}\text{h}^{-1}$		
	Total uptake	Uptake with inhibitor (0,1 M NaCN)	Uptake with excess (2 mM RbCl)
Rupestris du Lot	0,87	0,23	0,21
Riparia G. M.	10,99	0,20	1)
Berlandieri Ress. N° 1	4,56	0,19	1)
3309	1,21	0,45	1)
Kober 5BB	8,38	0,33	1)
SO4	3,94	0,43	0,59
1103 P	0,43	0,17	1)
44.53	7,36	0,38	0,84
106-8	0,46	0,27	1)

1) Non detected

ta pienamente affine, della Berlandieri non si conosce il comportamento nei confronti del  $\text{K}^+$ .

Fra i genotipi che hanno mostrato di assorbire poco il  $^{86}\text{Rb}^+$  ne esistono alcuni molto noti ed assai impiegati: Rip. x Rup. 3309 (1,21 nM), Rupestris du Lot (0,87 nM), Berl. x Rup. 1103 P (0,43 nM) e (Rip. x Cord.) x Rup. 106-8 (0,46). Come si può rilevare, l'elemento comune a tutti è la presenza come genitore della *V. rupestris*, che probabilmente ha dato ai discendenti il carattere di scarsa selettività nei riguardi del  $\text{K}^+$ .

Come rilevato in precedenza esistono dubbi circa l'assenza di discriminazioni cinetiche fra l'assorbimento di  $\text{K}^+$  e  $\text{Rb}^+$ , e certamente la capacità di sostituire il  $\text{K}^+$  da parte del  $\text{Rb}^+$  risulta maggiormente inficiata allorché si vogliono ricercare dei valori reali di afflusso di  $\text{K}^+$ , mentre ha una certa validità per prove di comparazione che considerino le differenti capacità di assorbimento del  $\text{K}^+$  da parte dei genotipi diversi (33). Con prove che saranno condotte successivamente verrà indagata se esiste piena corrispondenza fra influsso di  $\text{K}^+$  e  $\text{Rb}^+$ .

#### B) Influenza dell'impiego di un inibitore metabolico (0,1 M di NaCN) sull'influsso di $^{86}\text{Rb}^+$

È stato esaminato l'effetto di un inibitore metabolico aggiunto al substrato sull'influsso di  $^{86}\text{Rb}^+$ .

Si è assistito ad una marcata diminuzione dei valori di concentrazione del  $^{86}\text{Rb}^+$  nelle radici recise. Tra l'altro le differenze fra i genotipi risultano molto ridotte. Si può ritenere pertanto che il  $\text{Rb}^+$  venga assorbito nella vite per la maggior parte contro gradiente elettrochimico mediante un trasporto attivo, mentre l'influsso per diffusione sia molto ridotto, in accordo con quanto espresso da Cocucci et al. (8). Ad analoghe considerazioni fanno pervenire i risultati ottenuti immettendo un'elevata quantità di  $\text{Rb}^+$  nel substrato. Si assiste infatti ad una minore efficienza dei portinnesti, notoriamente buoni utilizzatori, in presenza di forti concentrazioni dell'elemento, a riprova che nella vite risulterebbe più efficiente il meccanismo di trasporto a basse concentrazioni. Si tratta comunque di indicazioni che meritano di una ulteriore riprova per poter essere confermate.

#### Conclusioni

Dai risultati esposti viene confermata l'ampia variabilità genetica fra i genotipi portinnesti nei riguardi dell'assorbimento di nutrienti minerali. La differente conformazione anatomica e morfologica di origine genetica del sistema radicale ne modifica le capacità di assorbimento e di traslocazione degli elementi nutritivi.

L'impiego di radici recise di vite per valutare la velocità di assorbimento del  $\text{K}^+$  ( $^{86}\text{Rb}^+$ ) in genotipi di vite, appare da quanto esposto in precedenza, realizzabile in accordo con altri Autori (30, 31) ed analogamente a quanto effettuato sulle piante erbacee.

Questo rende anche possibile un'analisi dei meccanismi della membrana cellulare che stanno alla base dell'assorbimento degli ioni nutritivi.

È stata confermata la diversità di comportamento dei genotipi portinnesti conosciuti nei confronti dell'assorbimento di cationi, confermando i risultati offerti dalla letteratura sull'argomento.

È stata osservata un'alta velocità di assorbimento da parte della *V. riparia* vr. Gloire de Montpellier, del *Berl. x Rip.* Kober 5BB e del (Cord. x Rup.) x (Rup. x Rip.) 44-53.

Per contro limitato assorbimento di  $\text{K}^+$  ( $^{86}\text{Rb}^+$ ) hanno dimostrato *V. rupestris* vr. du Lot, *Berl. x Rup.* 1103 P e (Rip. x Cord.) x Rup. 106-8.

Di un certo interesse è risultato il confronto con i dati di assorbimento in presenza di inibitore e di eccesso di  $\text{Rb}^+$  che hanno dimostrato un notevole appiattimento su valori molto bassi per tutte le varietà. Questo può essere interpretato ipotizzando una maggiore efficienza del trasporto attivo contro gradiente elettrochimico con bassa concentrazione di elemento.

#### Ringraziamenti

Si ringrazia il Prof. M. Cocucci per il contributo dato all'interpretazione e discussione dei risultati e i tecnici C. Bordoni e G. Bruzzi per la collaborazione prestata.

#### BIBLIOGRAFIA

- Alleweldt G., Pollak V. (1976) - *Sortenspezifität der K-aufnahme*. C.R. 4<sup>e</sup> Coll. Intern. Contrôle Alim. Plantes, Gent, Vol. I: 314-326.
- Boulay H. (1982) - *Absorption différenciée des cépages et des porte-greffes en Languedoc*. Progrès Agric. Vitic., 99 (19): 431-434.
- Bovay E. (1959) - *Diagnostic foliaire de la vigne et action du porte-greffe sur l'alimentation du Chasselas*. Rev. Romande Agric. Vitiv. Arbor. 15 (4): 35-37.
- Bovay E., Gallay R. (1956) - *Étude comparative par la méthode du diagnostic foliaire de l'alimentation de divers porte-greffes de Chasselas sur deux sols différents*. Rev. Romande Agric. Vitic. Arboric. 12 (10): 85-88.
- Bovay E., Isoz M. (1965) - *Influence du porte-greffe sur la nutrition de cultivars de Vitis vinifera dans les conditions de la Suisse romande*. Vignes et Vins, 139: 13-17.
- Cacco G., Ferrari G., Lucci G.C. (1976) - *Uptake efficiency of roots in plants at different ploidy levels*. J. Agric. Sci. (Comb.) 87: 585-589.
- Charles J., Calmes J., Alquier-Bouffard A., Magny J. (1966) - *Contribution à l'étude de l'influence du porte-greffe sur la composition minérale de la vigne*. C.R. Acad. Sci., 263: 1845-1848.
- Cocucci S., Cocucci M., Morgutti S. (1982) - *Fisiologia vegetale*. Ed. CLESAV, Milano: 137-138.
- Collander R. (1941) - *Selective absorption of cations by higher plants*. Plant Physiol. 16: 691-720.
- De La Guardia M.D., Fournier J.M., Benloch M. (1985) - *Effect of potassium status on  $\text{K}^+$  ( $\text{Rb}^+$ ) uptake and transport in sunflower roots*. Physiol. Plant. 63: 176-180.
- Delas J., Pouget R. (1979) - *The influence of rootstock on the mineral nutrition of the vine and the consequence for fertilization*. C.R. Coll. Inst. Intern. Potasse, Seville: 227-238.
- Dietrich J.U. (1975) - *Influence de l'alimentation minérale des porte-greffes sur la production qualitative et quantitative de la vigne*. C.R. 3<sup>e</sup> Coll. Europ. Medit. sur le contrôle de l'alimentation des plantes cultivées, Budapest: 681-691.
- Dunlop J., Tomkins B. (1976) - *Genotypic differences in potassium translocation in ryegrass*. In Transport and Transfert Processes in Plants. (I.F. Wardlaw et J.B. Passioura, eds.) pp. 145-152 - Academic Press. Inc., New York.
- Ecevit F.M., Ilter E., Kismali I. (1982) - *Effets de certains porte-greffes américains sur la nutrition minérale de la vigne V. vinifera var. Yavurlak Cekirdeksiz (Sultana)*. C.R. Symp. Int. Raisin de Table - Raisin sec, Héraklion Grèce: 327-338.

15. Epstein E. (1972) - *Mineral nutrition of plants: Principles and Perspectives*. John Wiley and Sons, New York.
16. Epstein E., Jefferies R.L. (1964) - *The genetic basis of selective ion transport in plants*. Ann. Rev. Plant. Physiol. 15: 169-184.
17. Epstein E., Rains D.W., Elzam O.E. (1963) - *Resolution of dual mechanism of potassium absorption by barley roots*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S., 49.
18. Freytag H.E. (1952) - *Über eine flammenphotometrische Rb- Bestimmungsmethode und ihre Anwendung auf physiologische Untersuchungen der Stoffaufnahme junger Pflanzen*. Dissertation, Jena.
19. Harvey P.H. (1939) - *Hereditary variation in plant nutrition*. Genetics 24, 437-461.
20. Jackson P.C., Adams H.R. (1963) - *Cation anion balance during potassium and sodium absorption by barley roots*. J. Gen. Physiol., 46: 369-386.
21. Jensen P., Kylin A. (1980) - *Effects of ionic strength and relative humidity on the efflux of  $K^+$  ( $^{86}Rb$ ) and  $Ca^{2+}$  ( $^{45}Ca$ ) from roots of intact seedlings of cucumber, oat and wheat*. Physiol. Plant, 50, 199-207.
22. Jensen P., Pettersson S. (1980) - *Varietal variation in uptake and utilization of potassium (rubidium) in high-salt seedlings of barley*. Physiol. Plant. 48: 411-415.
23. Kochian L.U., Lucas W.Y. (1982) - *Potassium transport in corn Roots*. I. Resolution of kinetics into a saturable and linear component. Plant Physiol., 70: 1723-1731.
24. Läuchli A. (1976) - *Genotypic variation in transport*. In Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 2, Part B (U. Luhge et M.G. Pitman, eds.), pp. 372-393 - Springer Verlag, New York.
25. Lefort P.L. (1978) - *Les relations quantitatives entre porte-greffes et greffons*. In Génétique et Amélioration de la Vigne. C.R. II<sup>e</sup> Symp. Int. Amel. Vigne: 303-308, Bordeaux, juin 1977, INRA.
26. Lindberg S., Wingstrand G. (1985) - *Mechanism for  $Ca^{2+}$  inhibition of ( $K^+$  +  $Mg^{2+}$ ) ATPase activity and  $K^+$  ( $^{86}Rb^+$ ) uptake in roots of sugar beet (*Beta vulgaris*)*. Physiol. Plant. 63: 181-186.
27. Lollé A. (1977) - *Le contrôle de la nutrition minérale et plus particulièrement potassique de la vigne per l'analyse du vegetal. Liaison avec l'analyse du sol. Colloque sur le potassium dans ses rapports avec la vigne et le vin, Montpellier*.
28. Lüttge U., Higinbotham N. (1979) - *Transport in Plants* - Springer Verlag, New York, pp. 125-128.
29. Lyness A.S. (1936) - *Varietal difference in the phosphorus feeding capacity of plants*. Plant Physiol., II: 665-688.
30. Maggioni A. (1979) - *Misure di assorbimento di ioni potassio in radici recise, per una migliore definizione delle caratteristiche intrinseche dell'apparato radicale*. Riv. Vitic. Enol. (Conegliano), 32: 188-196.
31. Maggioni A., Varanini Z. (1983) - *Free-space binding and uptake of ions by excised roots of grapevines*. In Genetic aspects of Plant Nutrition (Sonic M.R., Loughman B.C. eds.), The Hayne, Netherlands Martinus Nyhoff: 133-137.
32. Marcelin H. (1977) - *Comportement des cépages et des porte-greffes du vignoble méridional à l'égard du potassium, du magnésium et du manganèse*. Progr. Agric. Vitic., 94: 617-620.
33. Marschner H., Schimansky Ch. (1971) - *Suitability of using Rubidium 86 as a tracer for Potassium in Studying Potassium Uptake by Barley plants*. Z. Pflanzenernährung Bodenkunde, 128: 129-143.
34. Morard Ph., Torres P., André L. (1981) - *Influence des porte-greffes sur la nutrition minérale de la vigne (variété Grenache)* - Progrès Agric. Vitic. 98 (5/6): 604-608.
35. Nielsen N.E., Barber S.A. (1978) - *Differences among genotypes of corn in the kinetics of P uptake*. Agron. J. 70: 695-698.
36. Pettersson S. (1978) - *Varietal differences in rubidium uptake efficiency of barley roots*. Physiol. Plant, 44: 1-6.
37. Pettersson S., Jensen P. (1983) - *Variation among species and varieties in uptake and utilization of potassium*. Plant and Soil, 72 (2/3): 231-237.
38. Pouget R., Delas J. (1982) - *Interaction entre le greffon et le porte-greffe chez la vigne. Application de la méthode des greffages réciproques à l'étude de la nutrition minérale*. Agronomie, 2 (3): 231-242.
39. Saric M.R., Zoric M., Buric D. (1977) - *Einfluss der Unterlage und des Reises auf die Ionenaufnahme und verteilung*. Vitis, 16: 174-183.
40. Scienza A., Casassa M.T., Visai C., Conca E. (1984) - *Il controllo genetico della nutrizione potassica nella vite*. Riv. Vit. Enol. Conegliano, 12: 682-691.
41. Scienza A., Mezzadri G. (1980) - *Differenze nella composizione chimica delle foglie di alcuni cloni di Barbera e di Bonarda evidenziate mediante l'analisi discriminante*. Atti 5° Coll. Int. Cont. Nutr. Pianta Colt. Vol. I: 651-673, Castelfranco V.to.
42. Smith S.N. (1934) - *Responses of inbred lines and crosses in maize to variations of nitrogen and phosphorus supplied as nutrients*. J. Am. Soc. Agron. 26, 785-805.
43. Vakhmistrov D.B., Zakjavina A.A. (1968) - *Localization of the receptor in the self-regulation system of potassium accumulation in sunflower plants in connection with the hypothesis of cell carriers*. Fiziol. Rastenij, 15: 589-596.

#### RIASSUNTO

#### METODO PER LA DIAGNOSI PRECOCE DELLA SELETTIVITÀ DELLE RADICI VERSO IL POTASSIO DI NUOVI IBRIDI PORTINNESTI: L'ASSORBIMENTO DEL $^{86}Rb$

La ricerca genetica nel campo dei portinnesti è stata indirizzata verso numerosi obiettivi fra i quali uno dei più importanti è rappresentato dalla creazione e selezione di portinnesti con fabbisogni ridotti di elementi minerali o che dimostrino una maggiore efficienza nell'utilizzazione dell'elemento. A tale riguardo il potassio riscuote un interesse particolare perché caratterizzato da un assorbimento di tipo selettivo e per i suoi notevoli coinvolgimenti a livello metabolico.

Lo scopo del presente lavoro è quello di mettere a punto metodi di diagnosi precoce per selezionare portinnesti che si dimostrino particolarmente efficienti nell'assunzione del potassio.

Il metodo prevedeva di utilizzare radici recise di alcuni portinnesti e rubidio radioattivo ( $Rb\ 86$ ).

La capacità di sostituire il potassio da parte del rubidio è stata dimostrata in numerose prove durante le quali non si sono riscontrate differenze cinetiche nell'assorbimento dei due elementi.

I risultati ottenuti nel corso di 3 anni di prove, hanno confermato per i portinnesti di uso corrente le indicazioni fornite dalla sperimentazione già condotta su di essi: Kober 5BB, 44-53, Riparia, hanno dimostrato una elevata capacità di assunzione del potassio, contrariamente al 1103 P, 420 A e altri; è stato possibile ottenere delle prime informazioni sul comportamento nei riguardi del potassio di portinnesti nuovi o di scarsa presenza sul mercato vivaistico nazionale.

#### RESUME

#### METHODE POUR LA DIAGNOSE PRECOCE DE LA SELECTIVITE DES RACINES DE NOUVEAUX HYBRIDES PORTE-GREFFES POUR LE POTASSIUM: L'ABSORPTION DU $^{86}Rb$

La recherche génétique dans le secteur des porte-greffes a eu de nombreux objectifs parmi lesquels un des plus importants est la création et la sélection de porte-greffes ayant des besoins réduits en éléments minéraux ou utilisant plus efficacement l'élément.

Le potassium représente, à ce sujet, un intérêt particulier car il se caractérise par une absorption de type sélectif et par son importance au niveau métabolique.

Le but de la présente étude est de mettre au point des méthodes de diagnose précoce pour sélectionner des porte-greffes particulièrement efficaces dans l'absorption du potassium.

La méthode prévoit l'utilisation de racines de certains porte-greffes et du rubidium radioactif ( $Rb\ 86$ ).

De nombreuses expérimentations ont démontré que le rubidium peut substituer efficacement le potassium et qu'il n'y a aucune différence cinétique dans l'absorption des deux éléments.

Les résultats obtenus au cours de 3 années d'expérimentations ont confirmé pour les porte-greffes d'utilisation courante les indications fournies par les expériences dont ils ont déjà été l'objet: Kober 5 BB, 44-53, Riparia ont une capacité d'absorption élevée contrairement au 1103 P, 420 A et autres; il a été possible d'obtenir des premières informations sur le comportement envers le potassium de porte-greffes nouveaux ou rares sur le marché pépiniériste national.

## MODELE DU CEPAGE IDEAL DANS LA SELECTION ET LA GENETIQUE DE LA VIGNE

P.Y. GOLODRIGA - L.P. TROCHINE  
Institut National de Recherches sur l'Oenologie et la Viticulture  
«Magaratch» (URSS)

RESUME

### MODELE DU CEPAGE IDEAL DANS LA SELECTION ET LA GENETIQUE DE LA VIGNE

*L'orientation générale de la sélection de toutes les cultures agricoles, y compris la sélection de la vigne, est la création de cépages idéaux dont les génotypes rassembleraient les facteurs suivants: rendement élevé, haute qualité de production, résistance aux facteurs biotiques et abiotiques, précocité, etc. En outre, les cépages doivent présenter la stabilité phénotypique au cours de l'ontogénèse et dans les différentes conditions écologiques, et répondre aux exigences du degré maximal de mécanisation des processus nécessitant beaucoup de main d'oeuvre pour leur culture.*

*Dans le but d'élever le coefficient d'efficacité des travaux de sélection, on a créé le modèle du cépage idéal dans lequel est formalisée la tâche concrète de sélection et où l'on tient compte des facteurs limitants du milieu écologique concret. Le modèle comprend les paramètres des indices et des caractéristiques économiques et biologiques, physiques et biochimiques, technologiques, anatomiques, morphologiques et phénologiques (Golodriga P.Y., Trochine L.P., 1978; Golodriga, 1984).*

*Les modèles des cépages idéaux seront réalisés plus vite, si on emploie les donneurs de gènes de plusieurs pays. Le moment est venu d'élaborer ensemble le programme international à destination spéciale — «Intervitis», prévoyant la participation en commun des spécialistes des pays intéressés dans la sélection des cépages idéaux aux étapes différentes du processus de sélection (création de banques de données; appréciation agro-biologique et technologique de nouveaux cépages dans les milieux écologiques, élaboration des éléments de l'agrotechnique des cépages; évaluation des formes initiales en tant que producteurs, d'après les donneurs des gènes correspondants; diagnose de la spécificité génotypique, etc.).*

*L'introduction de tels cépages dans la production assurera la réduction du taux des pesticides dans le milieu ambiant, ainsi que la diminution du prix de revient de la production.*

## METHODES RAPIDES DE DIAGNOSE DE LA SPECIFICITE GENOTIPIQUE DE LA VIGNE

P.Y. GOLODRIGA - V.A. ZLENKO - M.A. KOSTIK - D.S. ROUDICHINE - E.N. SERGUÉEV  
Institut National de Recherches sur l'Oenologie et la Viticulture  
«Magaratch» (URSS)

RESUME

### METHODES RAPIDES DE DIAGNOSE DE LA SPECIFICITE GENOTIPIQUE DE LA VIGNE

*L'obtention de nouveaux cépages est effectuée essentiellement par l'hybridation des formes initiales — donneurs d'un complexe d'indices. Etant donné que la vigne représente une hétérozygotisme complexe, l'évaluation de chaque semis des populations nombreuses  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $I_1$  exige beaucoup de temps, de moyens et de travail.*

*Dans le but d'accélérer, le processus de sélection, les chercheurs de l'Institut National de Recherches sur l'Oenologie et la Viticulture «Magaratch» élaborent des tests objectifs pour la diagnose de la spécificité génotypique des plantes:*

*— d'après la photochimiluminescence de la feuille on détermine la résistance des plantes au froid (Certificats d'auteur I 217115, 231947) et leur résistance à la chaleur (Certificat d'auteur I 231948);*

*— d'après la valeur absolue de la résistance complexe du tissu et l'intensité de fluorescence de la feuille on détermine la résistance des plantes au gel (Certificats d'auteur N 5357927, 5217115);*

*— le degré de dépolarisation de la lumière polarisée par les système des feuilles et en corrélation avec la précocité des plantes (Certificat d'auteur N 293576);*

*— les isoenzymes des modèles principaux des électrophorogrammes de la peroxydase des feuilles sont des marqueurs précis du génotype de la plante, ce qui permet de les employer dans le domaine de la génétique, de la sélection et de la taxonomie de la vigne.*

*— la méthode de culture du tissu isolé in vitro permet de déterminer, d'après la couleur du callus, la couleur de la pellicule et du jus des baies au cours de la première année de croissance du plant de semis, bien que la récolte ne sera obtenue qu'à la quatrième ou à la cinquième année (Certificat d'auteur N 948339). L'élaboration des méthodes de diagnose de la spécificité génotypique des plantes avec l'emploi de méthodes modernes de biophysique, de biochimie, de physiologie et de culture du tissu in vitro continue à évoluer.*

## OBSERVATIONS EMPIRIQUES SUR L'HERITABILITE DE QUELQUES CARACTERES DE VITIS VINIFERA UTILISES COMME GENITEURS EN SUISSE

A. JAQUINET  
Station Fédérale de Recherches Agronomiques - Nyon (Suisse)

La très grande variabilité dans le genre *Vitis*, plus particulièrement de *Vitis vinifera*, offre de très bonnes chances d'améliora-

tion des cépages par voie de croisements. On ne connaît cependant que peu de choses sur la structure du contrôle génétique des caractères, et les connaissances se limitent à des caractères simples, tels la coloration des fruits et le déterminisme du sexe pour les plus étudiés.

Dans ces conditions, l'hybrideur choisit ses géniteurs sur des bases fort imprécises. D'une part, il se fonde sur des phénotypes qui ne seront pas forcément transmis à la descendance. D'autre part, les variétés de vigne sont fortement hétérozygotes et des génotypes imprévisibles peuvent apparaître dans les obtentions. La pratique de l'hybridation conduit cependant petit à petit à une meilleure connaissance des cépages et de leur patrimoine héréditaire.

Nous poursuivons des travaux de croisements et de sélection depuis plus de 15 ans. Sans prétendre avoir fait de la génétique quantitative, nous pensons pouvoir rendre compte d'un certain nombre d'observations empiriques.

Au départ, deux programmes furent mis en place. Le premier concernait le Chasselas, cultivé en Suisse comme raisin de cuve, le second le Pinot noir.

Le but du programme Chasselas était de donner à ce cépage plus de caractère et de bouquet, davantage de richesse en sucre, une sensibilité moindre à la coulure et des récoltes plus régulières. C'est surtout dans les vignobles peu favorisés climatiquement que ces défauts sont les plus accusés. C'est pour ces régions qu'une amélioration est la plus nécessaire, alors que le Chasselas est parfaitement adapté aux meilleures appellations helvétiques. Le Chardonnay et le Riesling, puis le Traminer furent les géniteurs améliorants utilisés. On a pu sélectionner, dans les populations issues de ces croisements, quelques types correspondant aux objectifs fixés. Le tableau 1 donne les résultats d'une parcelle expérimentale. On y voit que l'augmentation du degré est réalisée. Pour le Chasselas x Riesling on y arrive avec une quantité de récolte proche de celle du Chasselas. Le Riesling augmente l'acidité du Chasselas, ce qui peut être une qualité ou un défaut, selon les vignobles. Par contre, le Riesling ne transmet pas sa tardiveté. Ce croisement, sur le plan ampélographique, rappelle le Riesling. Il donne des vins qui, eux aussi, font penser à ce dernier cépage. Par contre, il ne présente pas les défauts souvent apportés dans cette combinaison, tels la sensibilité au dessèchement de la rafle et à la pourriture grise.

Tab. 1 - Résultats des récoltes de nouveaux cépages blancs comparés au Chasselas planté dans les mêmes conditions: moyennes de 8 années de culture.

Cépage	kg/m <sup>2</sup>	°Oechsle	acidité
Chasselas	1,11	65	9,0
Chasselas x Riesling 2-25	0,98	72	10,4
Chasselas x Chardonnay 1-21	0,70	77	13,7
Chasselas x Chardonnay 1-33	1,17	73	8,9

Les deux Chasselas x Chardonnay illustrent bien la variation que l'on peut retrouver après une hybridation. Le 1-21 est plus faible producteur que le Chasselas, mais il a le degré le plus élevé, ainsi qu'une forte acidité. Son vin, comme ses performances, le rapprochent du Chardonnay. Le 1-33 a une production élevée, un degré supérieur et une acidité très basse. Son vin est assez neutre, bien qu'ayant plus de personnalité que le Chasselas.

Le croisement du Chasselas avec le Traminer n'a rien donné d'intéressant.

Dans le second programme de croisement, on a cherché à améliorer la résistance du Pinot noir à la pourriture grise. En croisant le Pinot avec le Merlot, on pensait arriver à obtenir des grappes moins serrées, et par là moins sensibles au Botrytis, tout en gardant la noblesse du cépage. Le résultat espéré ne fut pas atteint. Par contre, on a obtenu des descendants à raisins blancs, ce qui démontre que tant le Pinot noir que le Merlot sont hétérozygotes pour la couleur.

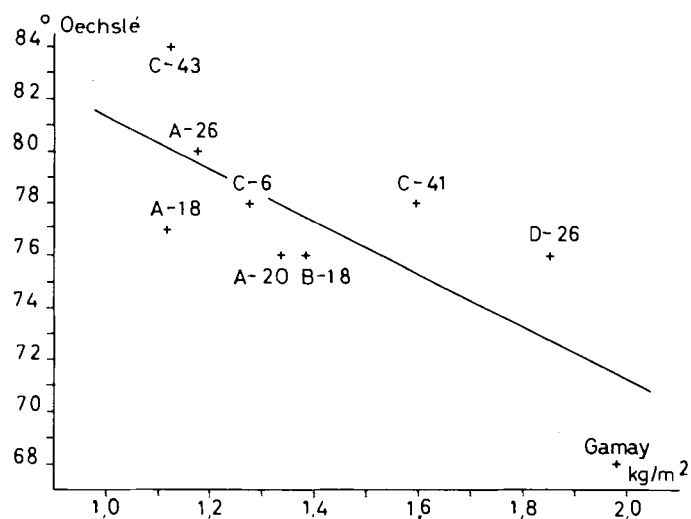
Par la suite, le nombre des géniteurs a été augmenté. On a utilisé 27 cépages et on a obtenu plus de 100 croisements différents. L'étude de chacune de ces descendances a permis de mettre en évidence que certaines d'entre elles étaient dénuées d'intérêt. Ainsi, le Pinot noir et le Traminer, repris dans d'autres croisements, n'ont jamais laissé de descendants de valeur. L'Ugni blanc, retenu pour son type de grappe, a donné des hybrides présentant de bonnes qualités agronomiques, mais sans avenir sur le plan oenologique. On a aussi utilisé un *Vitis sylvestris* indigène, espérant transmettre sa rusticité. Les pépins obtenus d'un plant femelle ont eu un pouvoir germinatif remarquable, supérieur à 90%. Les caractères

sauvages dominent dans la descendance, en particulier la petitesse des baies. D'autres cépages, tels que l'Aligoté, le Nebbiolo, le Grolleau ou des variétés locales comme l'Arvine et l'Amigne se sont aussi avérés décevants.

D'autres croisements sont en cours d'étude, mais leur sélection n'est pas suffisamment avancée pour tirer des conclusions définitives. Parmi ceux-ci figure le cépage italien Ancellotta, très riche en matières colorantes. On espère retrouver cette qualité chez ses descendants. Les premiers fruits obtenus semblent l'affirmer. Ces raisins sont tous rouges et l'on peut penser que l'Ancellotta est homozygote pour la couleur.

Le Sauvignon, croisé avec le Chasselas, transmet la saveur herbacée caractéristique de ce cépage. Le Cabernet-Sauvignon, la Syrah, le Sylvaner sont aussi parmi les géniteurs qui laissent quelques espoirs. Pour les cépages les meilleurs, on a établi un nouveau programme de travail.

Tab. 2 - Résultats des récoltes de nouveaux cépages rouges comparés au Gamay planté dans les mêmes conditions: moyennes de 7 années de culture. Equation de la régression rendement x en kg/m<sup>2</sup> et qualité y en degré Oechsle:  $y = 91,48 - 10,15 x$ .



En effet, après cette prospection dans un assez large éventail de variétés, on a opté pour une recherche plus approfondie et plus rigoureuse au sein d'un nombre limité de cépages. On a retenu en priorité ceux que les croisements antérieurs avaient montré aptes à conférer certaines aptitudes à leurs descendants. Dans ce projet, on s'est inspiré de la proposition de Rives, présentée au premier symposium de génétique de la vigne, sous le titre «Réflexion pour une stratégie de l'amélioration de la vigne». On a aussi tenu compte des «familles de cépages» de Levadoux et choisi les géniteurs dans des groupes présumés éloignés.

Le Chasselas reste pour nous le cépage blanc à améliorer. Chez les rouges, on a remplacé le Pinot noir par le Gamay. Les géniteurs considérés améliorants sont le Chardonnay, le Reichensteiner et le San Giovese. Après un diallele initial, les obtentions sont reprises entre elles de façon à obtenir toutes les combinaisons possibles, mais sans qu'on y retrouve deux fois l'un des cépages initiaux.

Le Chasselas, lors de l'hybridation, se comporte mieux s'il est utilisé comme femelle. Son pollen semble avoir un mauvais pouvoir fécondant qui expliquerait la sensibilité de ce cépage à la coulure. Il transmet bien sa bonne fertilité. Croisé avec des variétés à petites baies, il fait augmenter la taille de celles-ci.

Le Gamay amène d'une manière générale une diminution de la vigueur qui peut être excessive dans certains cas. Il a été croisé avec le Reichensteiner, cépage blanc obtenu à Geisenheim et issu du croisement de Müller-Thurgau x (Madeleine Angevine x blanc

de Calabre). Ce croisement est un peu le fruit du hasard: des grappes de Gamay avaient été castrées et étaient prêtes à être fécondées. Les fleurs du cépage père prévu au programme de croisement n'étant pas épanouies, on a utilisé le seul pollen à disposition: celui du Reichensteiner. On a obtenu de ce croisement 101 plants fertiles, 52 rouges et 49 blancs, soit des proportions conformes aux lois de Mendel. Les blancs se sont avérés peu intéressants. par contre, chez les rouges, on a trouvé des types très précoces, mûrs 10 à 15 jours avant le Gamay, riches en matières colorantes et en sucre et ayant une bonne résistance à Botrytis cinerea. Le tableau 2 indique les performances des cépages dont l'expérimentation se poursuit. On voit qu'ils sont supérieurs au Gamay

sur le plan de la qualité. Cette constatation se confirme à la dégustation. La production de ces nouveaux cépages est en revanche inférieure à celle du Gamay dont le fertilité est parfois même excessive.

Les qualités du Reichensteiner l'ont fait maintenir dans le programme de croisement, tout comme le Chardonnay. Enfin, on a ajouté le San Giovese, cépage italien bien connu. Ce dernier a été choisi pour sa fertilité, sa résistance, sa grappe peu serrée, ainsi que sur la base des résultats déjà obtenus. Enfin, de par son origine, le San Giovese devrait apporter dans les diverses combinaisons une augmentation intéressante de la variabilité.

#### RESUME

### OBSERVATIONS EMPIRIQUES SUR L'HERITABILITE DE QUELQUES CARACTERES DE VITIS VINIFERA UTILISES COMME GENITEURS EN SUISSE

*La très grande variabilité dans le genre Vitis, plus particulièrement de Vitis vinifera, offre de très bonnes chances d'amélioration des cépages par voie de croisements. On ne connaît cependant que peu de choses sur la structure du contrôle génétique des caractères, et les connaissances se limitent à des caractères simples, telles la coloration des fruits et le déterminisme du sexe pour les plus étudiés.*

*Dans ces conditions, l'hybrideur choisit ses géniteurs sur des bases fort imprécises. D'une part, il se fonde sur des phénotypes qui ne seront pas forcément transmis à la descendance et, d'autre part, les variétés de vigne sont foriemment hétérozygotes et des génotypes imprévisibles peuvent apparaître dans les obtentions. La pratique de l'hybridation conduit cependant petit à petit à une meilleure connaissance des cépages et de leur patrimoine héréditaire.*

*Nous poursuivons des travaux de croisements et de sélection depuis plus de 15 ans. Sans prétendre avoir fait de la génétique quantitative, nous pensons pouvoir rendre compte d'un certain nombre d'observations empiriques.*

### SIMULATION MATHÉMATIQUE DE LA VARIABILITE A L'INTERIEUR D'UNE POPULATION DE LA VIGNE

V.S. OSTROVERKHOV - L.P. TROCHINE

Institut National de Recherches sur l'Oenologie et la Viticulture «Magaratch» (URSS)

#### RESUME

### SIMULATION MATHÉMATIQUE DE LA VARIABILITE A L'INTERIEUR D'UNE POPULATION DE LA VIGNE

*Les auteurs ont élaboré le modèle mathématique de la dépendance de la variabilité des indices quantitatifs polygènes à l'intérieur d'une population de la vigne, de la norme de réaction du génotype et des conditions différentes de croissance des plantes. Les paramètres du modèle caractérisent les possibilités potentielles des génotypes, ainsi que celles, réalisées dans les populations étudiées. Le modèle permet de construire le graphique de la dépendance des indices de l'intensité intégrale des facteurs écologiques, qui a généralement l'aspect d'une courbe sigmoïde.*

*En ce qui concerne la fertilité, dans les conditions de la Crimée le plus souvent c'est la partie inférieure concave de la norme de réaction des génotypes des cépages de vigne qui est réalisée, ce qui conditionne l'asymétrie droite dans la distribution de l'indice. L'analyse des paramètres du modèle a permis d'établir des différences quantitatives entre les normes de réaction des génotypes de plusieurs cépages de vigne. En particulier, chez les cépages Riesling rhénan et Sylvaner on voit se réaliser la partie plus douce de la pente de la norme de réaction des génotypes, ce qui conditionne leur moindre fertilité et leur faible réponse à l'amélioration de l'agrotechnique.*

*Nous proposons l'indice quantitatif, qui caractérise le degré d'utilisation des facteurs écologiques par les plantes. Les facteurs du milieu sont utilisés de la manière la plus efficace par les populations, dans lesquelles est réalisée la partie moyenne de la réaction des génotypes avec la meilleure réponse à l'amélioration des conditions de croissance. Nous avons également élaboré la méthodologie de l'évaluation de cet indice pour la vigne et d'autres plantes cultivées.*

### FLOWERING, POLLINATION AND FERTILIZATION IN VITIS

G. STAUDT

Staatliches Weinbauinstitut Freiburg im Breisgau (Fed. Rep. of Germany)

#### Introduction

Although methods of modern biotechnology may produce new strategies of breeding procedures, conventional methods of hybridization will still be practiced by grape breeders in coming

years. Therefore efforts should be made to obtain a thorough knowledge of all factors which deal with hybridization.

As a matter of fact, breeders engaged with hybridization of grape vines know how to make crossings. However do they know all steps of development of flowers, all steps of pollination, fertilization and embryo growth and their dependance on environmental conditions?

During the last few years, we did some experimental work in these fields from which we think that some results may be of interest for those who are engaged with grape vine breeding.

#### Results

##### Flowering and emasculation

During two years, flowering has been investigated in the

cultivars Müller-Thurgau and Blauer Spätburgunder. Ten inflorescences each, belonging to the same stage of development were selected, and the time of blooming of all flowers was recorded. From 5 a.m. until 8 p.m. opened flowers were recorded, every 30 minutes, removed and put into a fixing solution immediately.

In both years about 95% of the flowers opened within 5 days. The remaining flowers began blooming over the following 6 days (Fig. 1). These flowers can certainly be neglected in further considerations because their opening was delayed due to abnormal conditions.

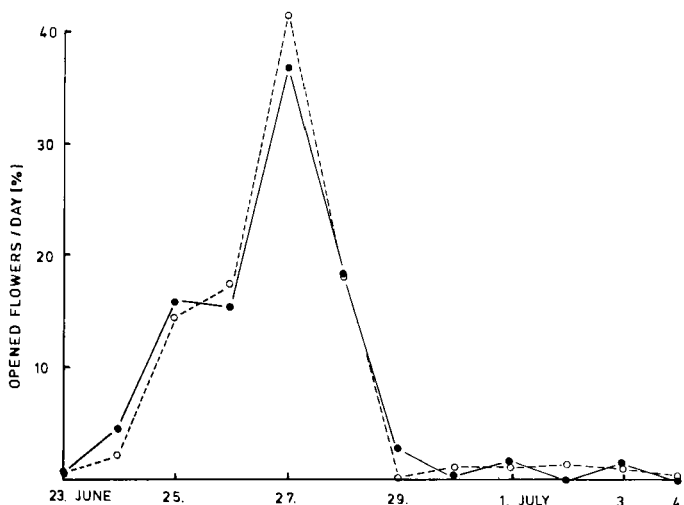


Fig. 1 - Opening of the flowers per inflorescence of *Vitis vinifera* cv. Müller-Thurgau ( - ) and cv. Blauer Spätburgunder (0-0) 1975.

Therefore, within one inflorescence the age of the single flowers differs up to 5 days.

All flowers fixed at the time of their opening were investigated for pollen germination and pollen tube growth. In both years a certain number of flowers had been pollinated before opening. Grape vines, therefore, can be called facultative cleistogamous.

From former investigations it is known that pollen germination and pollen tube growth depends on temperature (Staudt, 1981, 1982). Therefore, it was possible to calculate the probable time of pollination using the length of the pollen tubes and the corresponding temperature. Most flowers, pollinated before opening, were probably pollinated up to 4 hours before. But some must even have been pollinated up to 24 hours before opening.

There was a considerable difference in the extent of cleistogamy between the two cultivars, i.e. 60% 1975 and 63% 1976 in Müller-Thurgau and 18% 1975 and 16% 1976 in Blauer Spätburgunder. This phenomenon and the fact of corresponding rates of cleistogamy between the years hint at a genetical basis of this character.

To prevent any self-pollination emasculation should be carried out at least one day before the first flower of an inflorescence comes to bloom.

#### Longevity of pollen grains

At a room temperature of about 22° C, pollen can be stored for 3 days without loss of viability. Within 30 days the original viability of 70% decreased close to 0 (Fig. 2). Viability was always proved by germination tests.

Pollen stored in an dessicator containing CaCl<sub>2</sub> at -5° C retained their original viability for 6 months. During the following 6 month it decreased to 50%.

In a long term experiment, pollen was stored in a dessicator containing CaCl<sub>2</sub> at -22° C. Germination capacity showed after

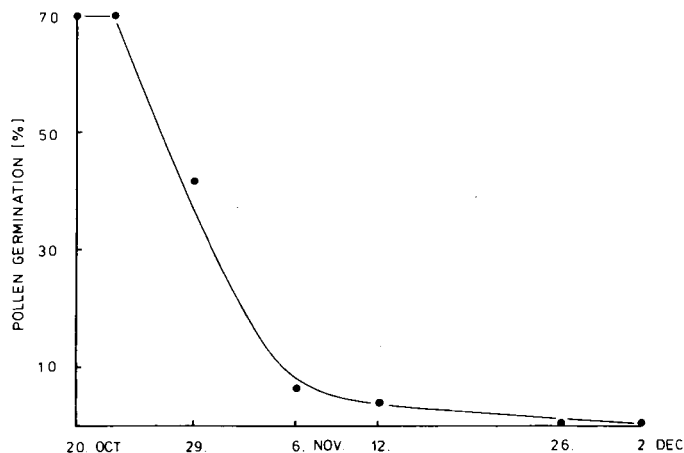


Fig. 2 - Course of germination capacity of pollen of *Vitis vinifera* stored at room temperature (ca. 22° C).

1 year continuous reduction. After 4 years, germination of 3,6% could still be observed. In this case the original germination capacity had been only 42%.

Viability of stored grape vine pollen is not only a question of the applied technique but also a question of the original viability and probably some other hitherto unknown causes.

For example, samples of pollen with the same original viability may not necessarily result in the same viability after a certain time under the same conditions of storage.

In areas near the northern borderline of vine growing, temperatures very often drop down near to 0° during the time of emasculation and pollination. It has therefore been investigated whether pollen germination and pollen tube growth are disturbed by low temperatures. Flowers were pollinated and subsequently kept up to 2 days under 2°, 5° and 10° C. To follow, they were brought back under normal conditions of 28° C. In all these experiments, pollen germinated after the cold treatment as normal and pollen tube growth was adequate (Tab. 1).

#### Longevity of stigmata and styles

Very often there is the question: within which time after emasculation should the flowers be pollinated. To solve this problem pistillate flowers of the same age, i.e. flowers which had opened on the same day, were pollinated 1, 3, 4, 5 and 6 days after opening. After 2 days respectively styles and stigmata were investigated for germinated pollen grains and pollen tube growth. In all flowers without those which were 5 and 6 days old when pollinated, pollen tube growth was found. Stigmata, therefore, retain their receptivity and can successfully be pollinated up to the fourth day after opening.

When inflorescences were treated with different low temperatures immediately after pollination no pollen germination

Tab. 1 - Pollen tube growth after cold treatment for 48 h and subsequent growth at 28° C for 48 h

Treatment	Length of pollen tubes (µm) $\bar{x} \pm s$
2° C	2 502 ± 49
5° C	2 145 ± 143
10° C	2 265 ± 68
28° C (no cold treatment)	2 408 ± 41



could be observed after a treatment longer than 6 days with 5° C. In order to decide whether these low temperature conditions injure the pollen grains or the stigmata and styles, flowers from treatment after which no further pollen germination had been found, were pollinated for a second time and subsequently grown under 28° C. From the results of these experiments it can be concluded that stigmata and styles may get over low temperatures down to 2° C for at least 2 days without any injury. Pollen germination and the ability of penetration into the style and pollen tube growth was normal if temperatures were raised subsequently to 28° C.

#### *Longevity of egg cells*

Under normal conditions, first symptoms of degeneration in egg cells of unpollinated flowers occurred from the third day after opening on (Kassemeyer and Staudt, 1981). This time corresponds with former results after which ovules of flowers grown under 10° C showed first signs of degeneration after about 4 days. Egg cells of grape vines therefore most probably must be fertilized within 2 days after opening of the flowers.

#### *Pollination and fertilization*

There are several notes in literature about grape vine flowers

and their receptivity for pollen grains by producing droplets of secretion on their stigmata. From our investigations, especially those about successful pollination in unopened flowers, one can learn that receptivity does not necessarily depend on a visible droplet of secretion produced by the stigma.

The rate of pollen tube growth mainly depends on temperature. At a continuous temperature of 25° — 28° C, fertilization could be expected to take place from 12 hours after pollination on, at a temperature of 20° C after about 24 hours and at 15° C after about 48 hours. As a matter of fact, under in vitro conditions at 25° C, it has been found that fertilization occurred from 12 hours after pollination of (Roth and Staudt, unpublished). Under field conditions it has already been shown that fertilization occurred 24 hours after opening of the flowers (Kassemeyer and Staudt, 1981, 1982).

#### LITERATURE CITED

1. Kassemeyer H. - H. and Staudt G. (1981) - *Ober die Entwicklung des Embryosacks und die Befruchtung der Reben*. *Vitis* 20, 202-210.  
— 1982: *Der Mitosezyklus der Zygotenkerne von Vitis vinifera*. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* Bd. 95, 449-455.
2. Staudt G. (1981) - *Die Abhängigkeit der Pollenkeimung und des Pollenschlauchwachstums von der Temperatur bei Vitis rupestris in vitro*. *Mitt. Klosterneuburg* 31, 233-230.  
— 1982: *Pollenkeimung und Pollenschlauchwachstum in vivo bei Vitis und die Abhängigkeit von der Temperatur*. *Vitis* 21, 205-216.

#### SUMMARY

##### FLOWERING POLLINATION AND FERTILIZATION IN VITIS

*From failures after crossings, which can be recognized by missing seed set or signs of self-pollination one may conclude that not all processes concerning emasculation and pollination are yet sufficiently known. In the course of our investigations about the flowering biology we made some observations which may be of use for all who are engaged in grape breeding.*

#### 1. Flowering and emasculation

*Under normal weather conditions, average daily temperatures between 15-18° C, about 95% of the flowers of an inflorescence come to flower within 5 d. In a certain number of flowers anthers dehisce already before opening and germination of pollen grains and pollen tube growth may begin up to 24 h before that time.*

*In order to exclude any self-pollination emasculation must, therefore, precede the opening of the first flower of an inflorescence.*

#### 2. Storage of pollen

*At room temperatures, 22° C, pollen can be stored without loss of viability for 3 d, at a temperature of -5° C in an exsiccator with CaCl<sub>2</sub> for half a year and for one year at -21° C.*

*After pollination pollen grains may survive temperature up to 25DC for at least two days without any injure of their ability of germination and pollen tube growth.*

#### 3. Viability of stigma and style

*At normal temperatures the receptive stigma can successfully be pollinated up to the fourth day after blooming. Pollinated stigmata and the styles may survive temperatures up to 2° C for two days without any effect on germination of pollen grains, penetration of pollen tubes into the style and further growth.*

#### 4. Viability of egg cells

*At normal temperatures first symptoms of degeneration occur in the egg cells of unpollinate flowers beginning with the third day after blooming. Considering ca. 24 hours for pollen tube growth, the stigmata, therefore, should be pollinated within two days after opening of the flowers.*

#### 5. Pollination and fertilization

*The receptivity of the stigma does not necessarily depend upon a visible drop of secretion produced by the stigma. Egg cells are fertilized at normal temperatures within 24 hours after pollination. In inflorescences grown in vitro at permanent temperatures of 25° C the first fertilization could be observed 12 hours after pollination.*

SUMMARY

**GENETIC STUDY OF DIFFERENT TYPES OF CV. SULTANINA (VITIS VINIFERA L.)**

*This paper reports on a comparative study of different types of cv. Sultanina on the basis of electrophoretic separation of protein from pollen. The enzyme polymorphisms, electrophoretically detected, as a direct product of genes action, allows the definition of genetic synthesis of organism. In the present study the following types of cv. Sultanina grown in Greece were studied: 1) Sultanina (seedless) 2) Agro-Sultani (berries of this type usually have 2 seeds); 3) Sultanina monococcus (berries of this type have 1 seed); 4) Sultanina strogylorrhax; 5) Sultanina microrrhax and 6) Sultanina macrorrhax.*

*Pollen samples of all these types were collected from different geographic location and from experimental vineyard of Agricultural College of Athens. All electrophoretic assays were performed on horizontal starch cells. The following enzymes were studied: peptidase (PEP), esterase (ES), leucine aminopeptidase (LAP), phosphoglucosmutase (PGM), isocitrate dehydrogenase (ICD), tetrasolium oxidase (TO), fumarase (FH) and  $\alpha$ GPD).*

*All of these enzymes showed identical banding patterns in all types of cv. Sultanina studied.*

*These results (absence of genetic variation within all types of cv. Sultanina were studied) are consistant with the hypothesis that cv. Sultanina (seedless) is a somatic mutation of Agro Sultanin and Agro Sultanin is the direct parent of cv. Sultanina (seedless).*

**APTITUDE DE QUELQUES CEPAGES  
A LA COMBINAISON**

**M. VLACHOS**

Département de Viticulture - Université Aristote de Thessaloniki  
- Thessaloniki (Grèce)

Cette communication se rapporte à l'aptitude à la de combinaison des cépages: «Krystallo aspro Naoussis», «Muscat Reine des Vignes», «Opsimos Edessis», «Razaki» et «Fraoula kokkini» qui ont été croisés avec les cépages «Perle de Csaba», «Italia», «Muscat de Hambourg» et «Perlette».

**Principaux caractères**

1. *Krystallo Aspro Naoussis*. Cépage vigoureux de production satisfaisante; fleur femelle, austostérile; grappes moyennes à grosses, cylindroconiques; baies grosses (25x18 mm) ovoïdes de couleur vert jaune. Maturation tardive à très tardive.

2. *Muscat Reine des Vignes*. Cépage vigoureux, productif; fleurs hermaphrodites; grappes moyennes à grosses cylindroconiques; souvent compactes; baies grosses (25 x 22 mm) ovoïdes, blanches-jaune cire. Maturité précoce.

3. *Opsimos Edessis*. Cépages vigoureux de production abondante et constante; fleurs hermaphrodites, autofertiles; grappes moyennes à grandes, cylindroconiques, souvent très compactes; baies moyennes à grosses, ovoïdes, vert jaune ou vert pâle; maturité tardive à très tardive.

4. *Razaki*. Cépage vigoureux à très vigoureux, productif; fleurs morphologiquement et physiologiquement hermaphrodites; grappes moyennes, grosses cylindroconiques; baies très grosses, ellipsoïdes, de couleur jaune ambre; maturation dans la seconde quinzaine d'août.

5. *Phraoula kokkini*. Cépage vigoureux de production moyenne à grande; fleurs morphologiquement et physiologiquement hermaphrodites; grappe grande, très longue, cylindrique, cylindroconique; baies grosses, ovoïdes de couleur rouge vif.

6. *Perle de Csaba*. Cépage peu vigoureux, peu productif, très précoce; fleurs hermaphrodites; grappes moyennes, cylindroconiques, compactes; baies moyennes, sphériques, blanc jaunâtre.

7. *Italia*. Cépage vigoureux, productif de maturation tardive; fleurs hermaphrodites; grappes assez grandes, cylindroconiques; baies très grosses, ellipsoïdes de couleur jaune ambré.

8. *Muscat d'Hambourg*. Cépage vigoureux et productif; il mûrit dans la seconde quinzaine d'août; fleurs hermaphrodites; grappe moyenne, peu dense; baies assez grosses, ellipsoïdes.

9. *Perlette*. Cépage très vigoureux, productif; de maturation précoce; fleurs hermaphrodites; grappes grosses, ailées, cylindriques; baies moyennes, sphérique, de couleur jaune doré.

**Résultats**

Les résultats de l'étude sont regroupés dans les tableaux 1, 2, 3, 4 et se rapportent aux principaux caractères des descendants  $F_1$ .

**1. Vigueur**

Ce caractère a été étudié ayant comme critère la vitesse de croissance des tiges pendant la floraison en combinaison avec le poids du bois qui a été enlevé pendant la taille.

L'aptitude des cépages à la création des plantes vigoureuses était par ordre décroissant

«Opsimos Edessis» (79.6 p. 100), «Muscat Reine des Vignes» (71.8 p. 100), «Krystallo Aspro Naoussis» (68.5 p. 100), «Phraoula kokkini» et «Razaki» (41.1 p. 100).

**2. Sexe**

Un pourcentage de 68.5 p. 100 de descendants avait des fleurs hermaphrodites, 22.7 p. 100 des fleurs femelles et 8.8 p. 100 des fleurs anormales (mâles).

L'aptitude à la combinaison du cépage homozygote «Krystallo Aspro Naoussis» était remarquable: 44.6% de descendants avaient des fleurs femelles comme le cépage parent.

**3. Production**

La productivité a été déterminée ayant comme critère le nombre de grappes par sarment et la fertilité des bourgeons.

Par ordre décroissant la productivité des descendants pour chaque cépages était: «Krystallo Aspro Naoussis» (59.2 p. 100), «Muscat Reine des Vignes» (42.5 p. 100), «Opsimos Edessis» (37.2 p. 100), «Phraoula kokkini» (28.6 p. 100) et «Razaki» (22.4 p. 100).

**4. Époque de maturité**

Ce caractère a été à un haut pourcentage aux descendants chez

**TABEAU 1**  
Distribution des caractères de la vigueur, du sexe, de la production  
et de l'époque de maturité dans les descendance F<sub>1</sub>:

Croisement	Nombre de descendants	Vigueur			Sexe			Production			Epoque de maturité				
		Forte	Moyenne	Faible	herm.	fem.	masc.	E	M	F	TP	P	SP	ST	T
"Krystallo Aspro Naoussis"X"Perle de Csaba"	12	8	2	2	7	5	—	7	5	—	—	1	4	6	1
"Krystallo Aspro Naoussis"X"Italia"	7	5	2	—	5	2	—	4	2	1	—	—	—	2	5
"Krystallo Aspro Naoussis"X"Muscat de Hambourg"	6	3	1	2	2	4	—	3	3	—	—	1	1	4	—
"Krystallo Aspro Naoussis"X"Perlette"	8	6	2	—	3	4	1	5	1	1	—	1	1	5	—
"Muscat Reine des Vignes"X"Perle de Csaba"	5	3	1	1	4	—	1	2	1	1	—	2	2	—	—
"Muscat Reine des Vignes"X"Italia"	7	6	1	—	6	1	—	4	2	1	—	2	3	2	—
"Muscat Reine des Vignes"X"Muscat de Hambourg"	6	4	2	—	4	1	1	1	4	—	—	4	1	—	—
"Muscat Reine des Vignes"X"Perlette"	8	6	2	—	6	1	1	3	4	—	—	2	3	2	—
"Opsimos Edessis"X"Perle de Csaba"	7	6	1	—	5	1	1	2	2	2	—	1	2	3	—
"Opsimos Edessis"X"Italia"	8	8	—	—	8	—	—	2	6	—	—	1	3	2	2
"Opsimos Edessis"X"Muscat de Hambourg"	8	5	3	—	5	2	1	4	—	3	—	—	5	1	1
"Opsimos Edessis"X"Perlette"	10	7	3	—	8	1	1	3	5	1	—	2	2	2	3
"Razaki"X"Perle de Csaba"	9	3	2	4	6	3	—	—	8	1	—	3	6	—	—
"Razaki"X"Italia"	13	5	6	2	8	3	2	3	4	4	—	—	6	5	—
"Razaki"X"Muscat de Hambourg"	7	3	2	2	4	1	2	2	2	1	—	2	3	—	—
"Razaki"X"Perlette"	10	5	3	2	7	2	1	2	5	2	—	3	6	—	—
"Phraoula kokkini"X"Perle de Csaba"	6	2	2	2	3	2	1	2	2	1	—	—	1	4	—
"Phraoula kokkini"X"Italia"	15	11	4	—	10	4	1	3	1	10	—	—	—	6	8
"Phraoula kokkini"X"Muscat de Hambourg"	8	4	2	2	6	2	—	1	7	—	—	4	2	2	—
"Phraoula kokkini"X"Perlette"	5	4	1	—	5	—	—	2	2	1	—	2	1	2	—

E : élevée  
M : moyenne  
F : faible  
TP : très précoce  
P : précoce  
SP : semi précoce  
ST : semi tardive  
T : tardive

**TABEAU 2**

Distribution des caractères de la grappe, de la baie,  
du nombre des pépins par baie et de la teneur en sucre  
dans les descendance F<sub>1</sub>.

Croisement	Nombre de descendants	Grappe			Baie					Pépins				Teneur en sucre			
		G	M	P	B	R	N	G	M	P	0	1-2	2-3	3-4	E	M	B
"Krystallo Aspro Naoussis"X"Perle de Csaba"	12	—	8	4	8	1	3	4	7	1	—	2	7	3	4	5	3
"Krystallo Aspro Naoussis"X"Italia"	7	2	5	—	4	—	3	5	2	—	—	2	5	—	3	1	3
"Krystallo Aspro Naoussis"X"Muscat de Hambourg"	6	1	5	—	3	1	2	1	4	1	—	1	2	3	2	2	2
"Krystallo Aspro Naoussis"X"Perlette"	7	4	2	1	7	—	—	6	—	1	—	1	5	1	5	2	—
"Muscat Reine des Vignes"X"Perle de Csaba"	4	—	3	1	4	—	—	2	2	—	1	1	2	—	1	1	2
"Muscat Reine des Vignes"X"Italia"	7	2	5	—	3	1	3	4	1	2	—	—	7	—	3	2	2
"Muscat Reine des Vignes"X"Muscat de Hambourg"	5	3	1	1	2	1	2	2	3	—	—	2	1	2	1	4	—
"Muscat Reine des Vignes"X"Perlette"	7	3	4	—	5	2	—	4	2	1	—	3	4	—	4	3	—
"Opsimos Edessis"X"Perle de Csaba"	6	2	3	1	6	—	—	1	3	2	—	—	5	1	1	5	—
"Opsimos Edessis"X"Italia"	8	4	4	—	5	1	2	2	6	—	—	1	4	3	3	2	3
"Opsimos Edessis"X"Muscat de Hambourg"	7	1	5	1	3	1	3	1	4	2	—	3	2	2	4	3	—
"Opsimos Edessis"X"Perlette"	9	4	3	2	7	2	—	4	3	2	—	3	4	2	5	2	2
"Razaki"X"Perle de Csaba"	9	2	4	3	9	—	—	4	1	4	—	2	7	—	2	6	1
"Razaki"X"Italia"	11	4	7	—	2	2	7	6	3	2	—	6	5	—	6	5	—
"Razaki"X"Muscat de Hambourg"	5	1	4	—	3	—	2	3	1	1	—	1	3	1	3	1	1
"Razaki"X"Perlette"	9	2	7	—	5	1	3	2	4	3	2	—	4	3	7	2	—
"Phraoula kokkini"X"Perle de Csaba"	5	2	2	1	1	—	4	3	2	—	—	2	1	2	—	3	2
"Phraoula kokkini"X"Italia"	14	8	4	2	2	2	10	3	8	3	—	7	4	3	2	6	6
"Phraoula kokkini"X"Muscat de Hambourg"	8	5	2	1	4	2	2	6	—	2	—	3	5	—	1	4	3
"Phraoula kokkini"X"Perlette"	5	3	2	—	1	4	—	1	—	4	1	4	—	—	2	1	2

G : grosse      B : blanche  
M : moyenne    R : rouge  
P : petite      N : noir  
E : élevée  
M : moyenne  
B : basse

TABLEAU 3

Distribution des caractères de la vigueur, du sexe, de la production et de l'époque de maturité dans les descendance F<sub>1</sub> (p. 100 du nombre de descendants).

Croisement	Nombre de descendants	Vigueur			Sexe			Production			Epoque de maturité				
		Forte	Moyenne	Faible	herm.	fem.	masc.	Élevée	Moyenne	Faible	T-P	P	SP	ST	T
"Krystallo Aspro Naoussis"X"Perle de Csaba"	12	66.6	16.7	16.7	58.1	41.5	—	58.0	42.0	—	—	8.3	33.3	50.0	8.3
"Krystallo Aspro Naoussis"X"Italia"	7	71.5	28.5	—	71.5	28.5	—	57.2	28.5	14.3	—	—	—	28.6	71.4
"Krystallo Aspro Naoussis"X"Muscat de Hambourg"	6	50.0	16.6	33.3	33.2	66.4	—	50.0	50.0	—	—	16.8	16.8	66.4	—
"Krystallo Aspro Naoussis"X"Perlette"	8	75.0	25.0	—	37.5	50.0	12.5	71.4	14.3	14.3	—	14.3	14.3	71.4	—
Moyenne		65.8	21.7	12.5	50.1	46.6	3.2	59.2	33.7	7.1	0.0	9.9	16.1	54.1	19.9
"Muscat Reine des Vignes"X"Perle de Csaba"	5	60.0	20.0	20.0	80.0	—	20.0	50.0	25.0	25.0	—	50.0	50.0	—	—
"Muscat Reine des Vignes"X"Italia"	7	85.7	14.3	—	85.8	14.2	—	57.2	28.6	14.3	—	28.6	42.9	28.6	—
"Muscat Reine des Vignes"X"Muscat de Hambourg"	6	66.7	33.3	—	66.4	16.3	16.3	20.0	80.0	—	—	80.0	20.0	—	—
"Muscat Reine des Vignes"X"Perlette"	8	75.0	12.5	12.5	75.0	12.5	12.5	42.9	57.2	—	28.6	42.8	28.6	—	—
Moyenne		71.8	20.0	8.1	76.8	10.8	12.2	42.5	47.7	9.8	7.1	50.4	35.4	7.1	—
"Opsimos Edessis"X"Perle de Csaba"	7	85.8	14.2	—	71.5	14.3	14.3	33.3	33.3	33.3	—	16.5	33.4	50.1	—
"Opsimos Edessis"X"Italia"	8	100.0	—	—	100.0	—	—	25.0	75.0	—	—	12.5	37.5	25.0	25.0
"Opsimos Edessis"X"Muscat de Hambourg"	8	62.5	37.5	—	62.5	25.0	12.5	57.2	—	42.8	—	—	71.4	14.3	14.3
"Opsimos Edessis"X"Perlette"	10	70.0	30.0	—	80.0	10.0	10.0	33.3	55.6	11.1	—	22.2	22.2	22.2	33.4
Moyenne		79.6	20.4	0.0	78.5	12.3	9.2	37.2	41.0	21.8	0.0	12.8	41.1	27.9	18.2
"Razaki"X"Perle de Csaba"	9	33.3	22.2	44.4	66.6	33.3	—	—	88.8	11.1	—	33.3	66.6	—	—
"Razaki"X"Italia"	13	38.5	46.2	15.3	61.6	23.1	15.4	27.2	36.4	36.4	—	—	54.6	45.4	—
"Razaki"X"Muscat de Hambourg"	7	42.8	28.6	28.6	57.2	14.3	28.6	40.0	40.0	20.0	—	40.0	60.0	—	—
"Razaki"X"Perlette"	10	50.0	30.0	20.0	70.0	20.0	10.0	22.2	55.6	22.2	—	33.3	66.6	—	—
Moyenne		41.1	31.7	27.1	63.8	22.7	13.5	22.4	55.2	22.4	0.0	26.7	62.0	11.3	0.0
"Phraoula kokkini"X"Perle de Csaba"	6	33.3	33.3	33.3	50.1	33.3	16.6	40.0	40.0	20.0	—	—	20.0	80.0	—
"Phraoula kokkini"X"Italia"	15	73.3	26.7	—	67.0	26.8	6.7	22.0	7.0	71.0	—	—	—	42.6	57.4
"Phraoula kokkini"X"Muscat de Hambourg"	8	50.0	25.0	25.0	75.0	25.0	—	12.5	87.5	—	—	50.0	25.0	25.0	—
"Phraoula kokkini"X"Perlette"	5	80.0	20.0	—	100.0	—	—	40.0	40.0	20.0	—	40.0	20.0	40.0	—
Moyenne		59.1	26.2	14.6	73.0	21.3	5.8	28.6	43.6	27.8	0.0	22.5	16.2	46.9	14.4

TP : très précoce  
P : précoce  
SP : semi précoce  
ST : semi tardive  
T : tardive

TABLEAU 4

Distribution des caractères de la grappe, de la baie, du nombre des pépins par baie et de la teneur en sucre dans les descendance F<sub>1</sub> (p. 100 du nombre de descendants).

Croisement	Nombre de descendants	Grappe			Baie						Pépins				Teneur en sucre		
		Grosse	Moyenne	Petite	Couleur			Grosueur			0	1-2	2-3	3-4	Élevée	Moyenne	Basse
					Blanche	Rouge	Noir	Grosse	Moyenne	Petite							
"Krystallo Aspro Naoussis"X"Perle de Csaba"	12	—	66.4	33.2	66.5	8.5	25.0	33.2	58.1	8.3	—	16.6	58.4	25.0	33.5	41.5	25.0
"Krystallo Aspro Naoussis"X"Italia"	7	28.6	71.5	—	57.0	—	43.0	71.5	28.6	—	—	28.5	71.5	—	42.9	14.2	42.9
"Krystallo Aspro Naoussis"X"Muscat de Hambourg"	6	16.7	83.5	—	50.0	17.0	33.0	16.7	66.8	16.7	—	16.5	33.4	50.1	33.4	33.4	33.4
"Krystallo Aspro Naoussis"X"Perlette"	7	-57.2	28.6	14.3	100.0	—	—	85.8	—	14.3	—	14.3	71.4	14.3	71.5	28.5	—
Moyenne		25.6	62.5	11.9	68.5	6.3	25.2	51.8	38.4	9.8	0.0	19.0	58.7	22.4	45.3	29.4	25.3
"Muscat Reine des Vignes"X"Perle de Csaba"	4	—	75.0	25.0	100.0	—	—	50.0	50.0	—	25.0	25.0	50.0	—	25.0	25.0	50.0
"Muscat Reine des Vignes"X"Italia"	7	28.6	71.5	—	42.9	14.3	42.9	57.2	14.3	28.6	—	—	100.0	—	42.8	28.6	28.6
"Muscat Reine des Vignes"X"Muscat de Hambourg"	5	-60.0	20.0	20.0	40.0	20.0	40.0	40.0	60.0	—	—	40.0	20.0	40.0	20.0	80.0	—
"Muscat Reine des Vignes"X"Perlette"	7	-42.9	57.2	—	71.5	28.6	—	57.2	28.6	14.3	—	42.8	57.2	—	57.2	42.8	—
Moyenne		32.9	55.9	11.2	63.6	15.7	20.7	51.1	38.2	10.7	6.2	27.0	56.8	10.0	36.2	44.1	19.7
"Opsimos Edessis"X"Perle de Csaba"	6	33.4	50.1	16.7	100.0	—	—	16.7	50.1	33.4	—	—	83.5	16.5	16.5	83.5	—
"Opsimos Edessis"X"Italia"	8	-50.0	50.0	—	62.5	12.5	25.0	25.0	75.0	—	—	12.5	50.0	37.5	37.5	25.0	37.5
"Opsimos Edessis"X"Muscat de Hambourg"	7	14.3	71.5	14.3	42.9	14.3	42.9	14.3	57.2	28.6	—	42.9	28.6	28.6	57.2	42.8	—
"Opsimos Edessis"X"Perlette"	9	-44.4	33.3	22.2	77.7	22.2	—	44.4	33.3	22.2	—	33.3	44.4	22.2	55.6	22.2	22.2
Moyenne		35.5	51.2	13.3	70.8	12.3	17.0	25.1	53.9	21.0	0.0	22.2	51.6	26.2	41.7	43.4	14.9
"Razaki"X"Perle de Csaba"	9	22.2	44.4	33.3	100.0	—	—	44.4	9.1	44.4	—	22.2	77.8	—	22.2	66.7	11.1
"Razaki"X"Italia"	11	-36.4	63.7	—	18.2	18.2	63.7	54.6	27.3	18.2	—	54.5	45.5	—	54.5	45.5	—
"Razaki"X"Muscat de Hambourg"	5	20.0	80.0	—	60.0	—	40.0	60.0	20.0	20.0	—	20.0	60.0	20.0	60.0	20.0	20.0
"Razaki"X"Perlette"	9	22.2	77.7	—	55.5	11.1	33.3	22.2	44.4	33.3	22.2	—	44.5	33.3	77.7	22.3	—
Moyenne		25.2	66.5	8.3	58.4	7.3	34.3	45.5	25.4	29.1	5.5	24.2	57.0	13.3	53.6	38.6	7.8
"Phraoula kokkini"X"Perle de Csaba"	5	40.0	40.0	20.0	20.0	—	80.0	60.0	40.0	—	—	40.0	20.0	40.0	—	60.0	40.0
"Phraoula kokkini"X"Italia"	14	56.8	28.4	14.2	14.2	14.2	72.0	21.4	57.2	21.4	—	50.0	28.5	21.5	14.0	43.0	43.0
"Phraoula kokkini"X"Muscat de Hambourg"	8	62.5	25.0	12.5	50.0	25.0	25.0	75.0	—	25.0	—	37.5	62.5	—	12.5	50.0	37.5
"Phraoula kokkini"X"Perlette"	5	60.0	40.0	—	20.0	80.0	—	20.0	—	80.0	20.0	80.0	—	—	40.0	20.0	40.0
Moyenne		54.8	33.4	11.8	26.0	29.8	44.2	44.1	24.3	31.6	5.0	52.0	27.5	15.5	16.6	43.3	40.1

les cépages précoces, semi-précoces et semi-tardifs, tandis que chez les cépages tardifs et très tardifs les descendants étaient plus précoces que les parents.

C'est ainsi que les descendants du cépage précoce «Muscat Reine des Vignes» étaient d'une maturation précoce (50.4 p. 100); ceux du tardif «Phraoula kokkini» étaient semi-tardifs (46.9 p. 100). Au contraire les cépages tardifs «Krystallo Aspro Naoussis» et «Opsimos Edessis» avaient des descendants plus précoces (80.1 p. 100 et 81.8 p. 100).

#### 5. Poids de la grappe

La plupart des descendants de 4 cépages produisent des grappes d'un poids moyen: «Razaki» (66.5 p. 100), «Krystallo Aspro Naoussis» (62.5 p. 100), «Muscat Reine des Vignes» (55.9 p. 100) et «Opsimos Edessis» (51.2 p. 100), tandis que les descendants du cépage «Phraoula kokkini» ont donné un pourcentage de grappes plus grandes (54.8 p. 100).

#### 6. Grosseur de la baie

Le caractère de grosseur des baies des cépages parents a été transmis aux descendants, par ordre décroissant, comme suit: «Krystallo Aspro Naoussis» (51.8 p. 100), «Muscat Reine des Vignes» (51.1 p. 100), «Razaki» (45.5 p. 100), «Phraoula kokkini» (44.1 p. 100) et «Opsimos Edessis» (25.1 p. 100).

#### 7. Couleur

Aux descendants des croisements entre des cépages blancs, ce caractère a été transmis à un grand pourcentage (dans la plupart des cas 100 p. 100). Les descendants des croisements des cépages

blancs avec le cépage noir «Muscat de Hambourg» avaient une couleur noire (p.e. les descendants des cépages «Muscat Reine des Vignes» et à Opsimos Edessis» avec le cépage «Muscat d'Hambourg»).

Les descendants du cépage-parent «Phraoula kokkini» (rouge) avaient une couleur bleutée ou rouge à un pourcentage de 74.0 p. 100.

#### 8. Nombre de grains

Un pourcentage 50.3 p. 100 des descendants avaient 2-3 grains par baie; 28.9 p. 100 avaient 1-2 grains; 17.5 p. 100 3-4 grains et seulement 3.3 p. 100 étaient sans grains. Le pourcentage le plus élevé des baies sans grains appartenait aux cépages «Muscat Reine des Vignes» (6.2 p. 100), «Razaki» (5.5 p. 100) et «Phraoula kokkini» (5.0 p. 100).

#### 9. Teneur en sucre

Quant à la teneur en sucre les descendants s'étaient répartis en teneur élevée (150-180 g/l), moyenne (130-150 g/l) et basse (130 g/l). Une teneur en sucre élevée appartenait aux descendants de cépages «Razaki» (53.6 p. 100), «Krystallo Aspro Naoussis» (45.3 p. 100) et «Opsimos Edessis» (41.7 p. 100).

#### Conclusion

Malgré le nombre limité des descendants étudiés nous avons fait quelques observations intéressantes.

Pour la création des variétés nouvelles, le cépage homozygote «Krystallo Aspro naoussis» est très intéressant. De même les cépages «Muscat Reine des Vignes» et «Opsimos Edessis» à cause de leur grande aptitude à la combinaison.

#### RESUME

#### APTITUDE DE QUELQUES CEPAGES A LA COMBINAISON

*Au cours de la période 1959-1970 nous avons fait, dans le vignoble expérimental de l'Université Ariostote de Thessaloniki, de nombreux croisements de cépages «Muscat Reine des Vignes», «Razaki», «Phraoula kokkini», «Opsimos Edessis» et «Krystallo Aspro Naoussis» avec d'autres, afin d'obtenir des cépages améliorés.*

*Chez les biotypes obtenus on a étudié la vigueur, l'hérédité du sexe, le rendement, la précocité de maturation, la dimension des grappes, la couleur et la dimension des baies, le nombre des grains et la teneur en sucre.*

*L'aptitude à la combinaison des cépages étudiés, par ordre décroissant, est «Krystallo Aspro Naoussis», «Muscat Reine des Vignes», «Opsimos Edessis», «Razaki» et «Phraoula kokkini».*

*De ce travail nous avons sélectionné des plants de grande valeur qui sont essayés dans différentes régions viticoles du pays.*

## Mutagenèse / Mutagenesis / Mutagenesi

### LA TRANSFORMATION GENETIQUE DE LA VIGNE PAR LA MUTAGENESE INDUITE

#### D. BADITESCU

Station de Recherches Viticoles Stefanesti - Arges (Roumanie)

Dans le cadre des méthodes d'amélioration, la mutagenèse somatique de la vigne représente la source par laquelle on assure une variabilité génétique prononcée à la suite de la séparation de

certaines caractères et caractéristiques qui se trouvent en corrélation et qui ne peuvent être séparés à la recombinaison; en permettant leur reproduction non-altérée par la multiplication végétative.

Les succès obtenus, spécialement les dernières décennies, sur le plan mondial, ont conduit à l'amélioration du génofonds de germoplasme, en obtenant des cépages ayant des qualités supérieures en ce qui concerne les caractéristiques de qualité, précocité, résistance et vigueur de croissance (Boubals, 1976; Durqueti, 1976; Golodriga, 1980; Basso, 1981; Sacerdote, 1981).

D'autres nombreux cépages obtenus par la mutagenèse naturelle ou induite constituent à présent un matériel biologique précieux pour l'amélioration et pour les études génétiques (Nemet Narton, 1968; Sarma-Mukherjee, 1972; Staudt, 1972, etc.).

Bien que largement discuté par de nombreux auteurs, le problème de l'efficacité de la méthode d'amélioration par la mutagenèse a attiré aussi certaines critiques dont la conception réprobatoire est basée sur le fait qu'une grande partie des mutants apparus ont une vitalité plus réduite, étant accompagnée aussi par d'autres caractères négatifs, ou moins compétitifs par rapport à leurs formes initiales.

Les adeptes de la méthode, par des recherches relativement récentes sur de nombreuses plantes de culture, font mention de la fréquence des formes mutantes ayant des caractéristiques généralement plus méritantes, en comparaison avec l'hybridation. En outre, par l'utilisation des mutations, les périodes de l'obtention et de l'introduction en production des nouveaux cépages, sont considérablement réduites (Gaul, 1963; Stubbe, 1967).

Il est nécessaire de tenir compte du fait que les données expérimentales accumulées jusqu'à présent, concernant la mutagenèse appliquée à la vigne, ne nous permettent pas une comparaison juste avec les autres méthodes classiques d'amélioration. L'affirmation est basée sur le fait qu'on connaît trop peu encore sur le mécanisme de la mutation et l'identification des formes mutantes en état hétérozygote et surtout que celles géniques ou intragéniques sont difficile à réaliser.

Les recherches effectuées jusqu'à présent ne nous mettent pas en possession des données concernant l'efficacité des différents agents mutagènes sur les systèmes biologiques de la plante et sur certains facteurs modificateurs de l'effet mutagène. Pour préciser les limites de variation résultant de la modification du génotype sous l'effet mutagène, en conditions favorables pour l'amélioration, on a expérimenté l'effet de certains agents radiomutagènes (diéthylesulfate et radiations gamma) sur les semences et les bourgeons axiaux appartenant à certains cépages Vinifera (Galbena de Odobesti, Feteasca neagra et Muscat de Hamburg). Pour établir la radiosensibilité des cépages, on a tenu compte de l'obtention d'une fréquence élevée des mutations, en considérant comme valeur moyenne  $DL = 50$ .

Dans le cas des semences traitées, on a utilisé comme variante de contrôle, les semences obtenues par l'autofécondation, en postulant que l'estimation des valeurs obtenues dans l'expérience est appréciée en fonction des indices de ségrégation en  $F_1$ , grâce au caractère hétérozygote du genre *Vitis*.

Chez certaines mutantes obtenues dans le domaine de la dose critique, on a poursuivi la fréquence de la variabilité génétique, pour mettre en évidence et sélectionner les mutations récessives, considérées plus utiles sous l'aspect économique, pour l'amélioration et les études génétiques.

## Résultats obtenus

### 1. Le test de la sensibilité chez les radiations gamma.

Les tests de contrôle effectués dans le but de l'intégration du matériel biologique (bourgeons et semences) dans le domaine de la dose critique, conduisent à la conclusion qu'il y a des différences de comportement dans les réactions de sensibilité. En poursuivant la valeur critique appréciée en fonction de  $DL = 50$ , on remarque (fig. 1) le fait que les bourgeons ont une sensibilité environ deux fois plus élevée en comparaison avec les semences soumises aux radiations de ionisation émises par les particules gamma. Pour 50% de létalité, la radiosensibilité des bourgeons est affectée à 6 kr et celle des semences à 15 kr.

Dans le cas de l'application d'une dose d'irradiation de 10 kr chez les bourgeons et en valeurs égales d'équivalence létale chez les semences (25 kr), la radiosensibilité augmente considérablement, le pourcentage des plantes viables étant sous 20%, 24-28% de celles qui présentent le caractère de sous-létalité.

L'initiation et le déclenchement des phases de végétation chez les bourgeons et les semences ont été retardés et échelonnés pour une période assez grande de temps, étant proportionnellement cor-

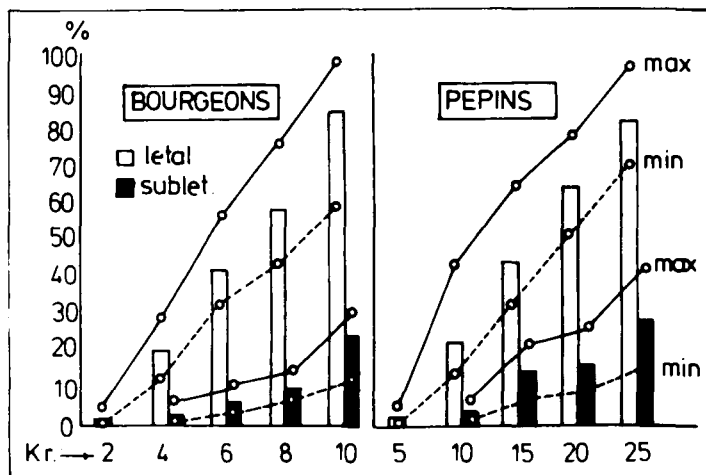


Fig. 1 - L'effet des radiations gamma sur la viabilité des bourgeons et des pépins pour différentes doses de traitement.

réées avec la dose d'irradiation. Par l'application d'une dose de 2 kr, le commencement de la végétation des bourgeons est prolongé de 12 jours et par l'augmentation de la dose en proportion géométrique jusqu'à 8 kr, le déclenchement du commencement de la végétation des bourgeons est retardé de 16 et respectivement 39 jours. Des effets similaires peuvent être constatés aussi dans le cas de l'organogénèse des semences à l'appartition des radicules, les traitements aux doses approchées de la létalité 50% ou plus grandes (10 kr et 20 kr) prolongeant la période de germination de 11 et 23 jours. Chez les deux catégories de matériel biologique on remarque aussi que par l'augmentation de la dose d'irradiation, la période optimale du commencement de la végétation se déroule avec un retard d'environ 25 jours chez les bourgeons et 14 jours chez les semences (fig. 2).

Pendant la période de végétation, on a enregistré le phénomène de sous-létalité chez un grand nombre de plantes, à la suite de la manifestation de certains gènes létaux dominants et du dérèglement de certaines fonctions physiologiques, un pourcentage élevé de plantules ayant des déficiences chlorophylliennes, des malformations de l'appareil foliaire, des fasciations, l'atrophie des cellules du canal de croissance etc.

### 2. Le test de la sensibilité aux agents mutagènes alchilants (diéthylesulfate)

De même que dans le cas de l'effet radiomutagène produit par les radiations gamma, nous avons considéré comme variantes optimales les limites de concentrations qui influencent la viabilité du matériel biologique initial en proportions différentes, mais pas plus grandes que 50%. Dans le cas de l'emploi du diéthylesulfate comme agent mutagène, les concentrations de 0,3% peuvent être considérées comme des limites maximums de résistance biologique dans le cas où le traitement ne dépasse pas la durée de 8 heures. A ces niveaux on a enregistré, pour les deux catégories de matériel biologique, un pourcentage de 40-50% de létalité et 12-28% de sous-létalité (fig. 3).

En effet, la sensibilité des bourgeons et des semences est affectée dans le cas des concentrations plus petites, beaucoup plus petites (0,05% DES), mais à ces niveaux on a constaté que l'effet létal a été enregistré seulement dans le cas où ce matériel biologique n'a pas parcouru intégralement les étapes de l'ontogénèse.

En prenant en considération la corrélation de la concentration de l'agent mutagène avec la durée de l'immersion, on constate tant dans le cas des bourgeons que dans le cas des semences, un prolongement du temps et un retard du moment optimum du commencement de la végétation. Dans le cas des bourgeons, le moment

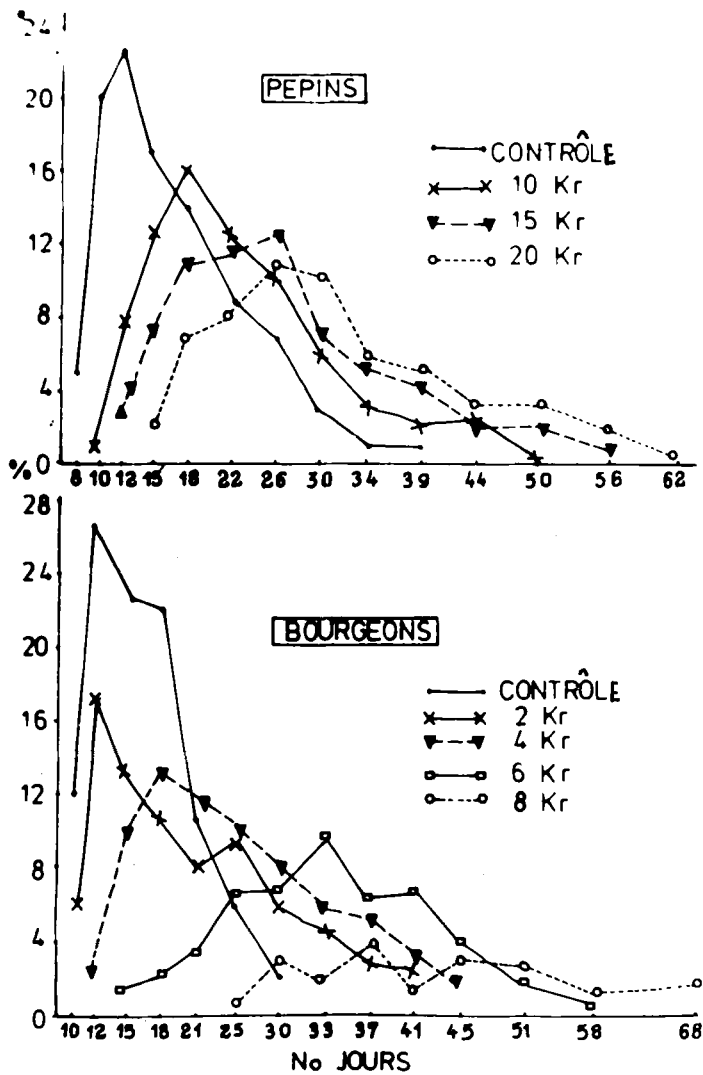


Fig. 2 - La dynamique du débourrement et de la germination des pépins dans le cas du traitement aux doses différentes d'irradiation.

optimum de la phase de débourrement, exprimé par les valeurs maximums, a lieu 10-17 jours plus tard. La période du parachèvement de cette phénomphase est prolongée de 10-16 jours quand on emploie une concentration de 0,1-0,2% DES pendant 6 heures et de 22-29 jours quand on emploie la même concentration, mais pendant 24 heures d'immersion (Fig. 4).

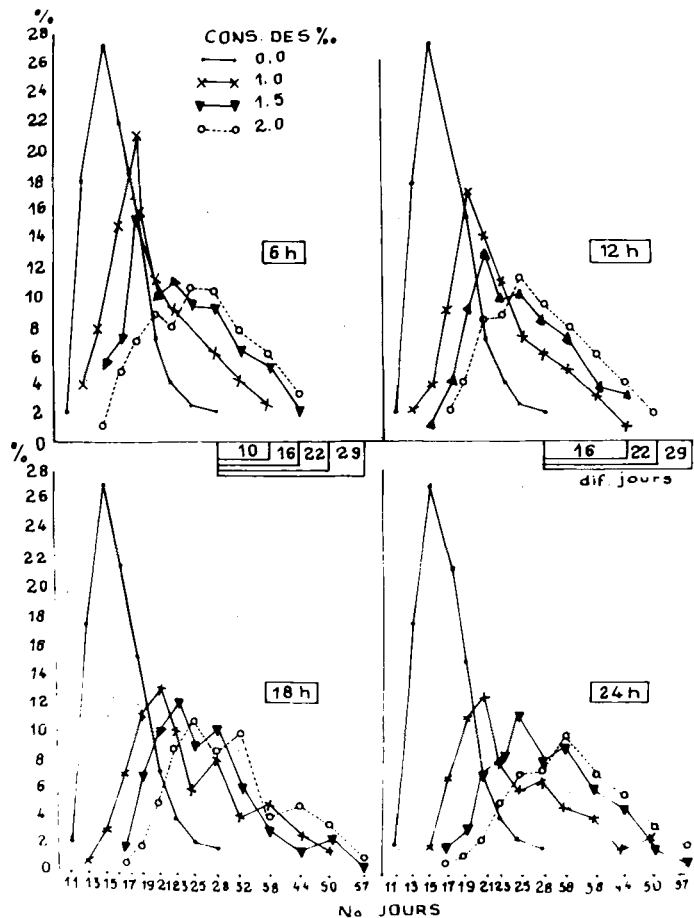


Fig. 4 - La dynamique du débourrement, en fonction de la concentration et de la durée du traitement avec DES.

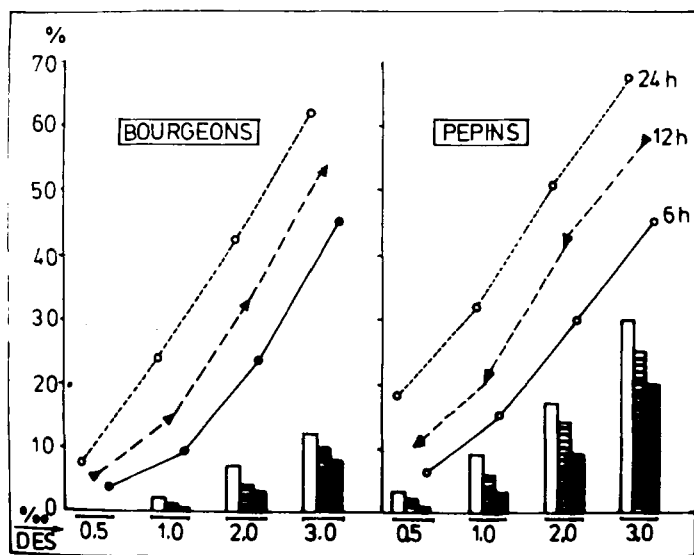


Fig. 3 - La fréquence de la létalité et de la sous-létalité produites par le DES, fonction de la concentration et de la durée du traitement appliqué aux bourgeons et aux pépins.

En vue de la détermination exacte des limites de la concentration et de l'efficacité dans le temps, de l'agent alchilanté mutagène, on a pris en considération comme des facteurs d'éterminants, le potentiel rhédox (Eh) et le niveau pH de la solution d'immersion. On a constaté que les limites DL situées entre 30-50% ont été assurées dans le cas où les valeurs du potentiel rhédox ont été situées entre 205-250 Eh et le pH a enregistré les valeurs de 3,2, respectivement 2,5 (fig. 6). Parce que par le prolongement de la durée du traitement à la même concentration la valeur de l'acidité et du potentiel rhédox sont réduites, le changement de la solution de traitement est nécessaire, à 3-4 heures, de maintien ces paramètres qui sont considérés optimums. Ayant comme base le schéma ci-joint, on a établi les limites de concentration dans le cas de l'emploi des autres agents mutagènes alchilants: le diméthylesulfate, le méthyle-éthylesulfate et le méthane-éthanesulfate, qui ont été expérimentés parallèlement dans nos recherches.

### 3. Le spectre radiomutagène et les limites de la variabilité génétique.

Pour mettre en évidence l'effet radiomutagène, on a pris en considération les modifications de phénotype, à la suite des anomalies morphologiques connues aussi sous le nom de radiomor

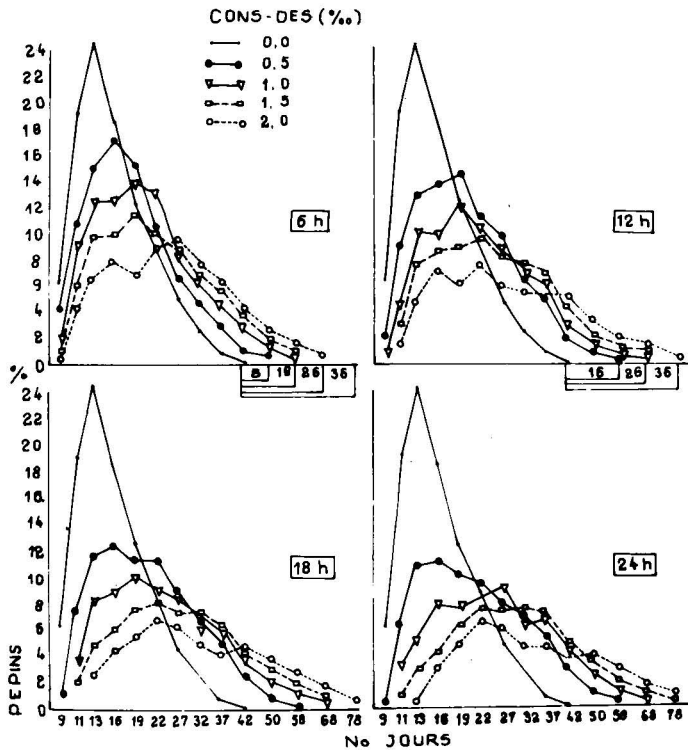


Fig. 5 - La dynamique de la germination des pépins, fonction de la concentration et de la durée du traitement avec DES.

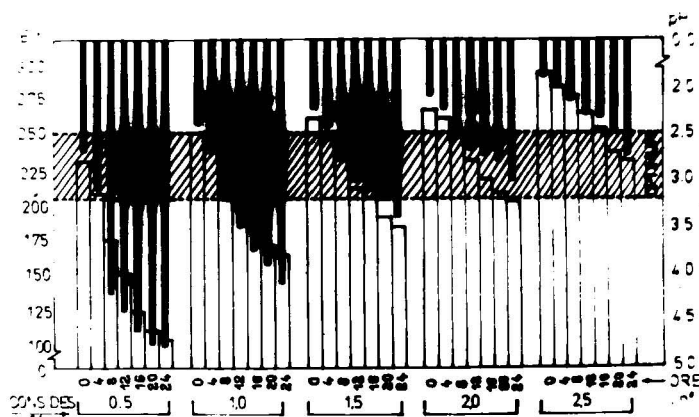


Fig. 6 - Les valeurs du pH et du potentiel rédox, qui sont considérées optimales dans le traitement avec DES.

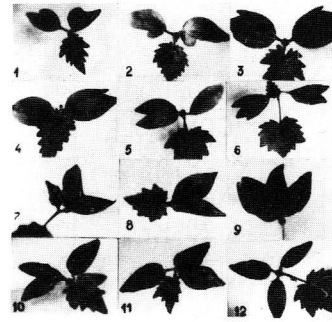


Fig. 7 - Des mutants symétriques et asymétriques chez les feuilles cotylédonaire, obtenues par le traitement des pépins, avec DES.

trées avec une fréquence plus élevée et parmi ci, quelques unes sont incapables d'émettre les pointes de croissance et, à la suite, leur disparition précoce est inévitable (7 et 9 dans la figure).

Ayant comme base ces modifications du phénotype, on a continué avec la sélection des mutants somatiques, les premières petites feuilles apparues du mérisistème apical étant un indice du maintien des mutations géniques dans l'organogénèse du système foliaire. Chez les plantules passées en conditions de serres et puis dans le champ des plantules obtenues de pépins, on a effectué des déterminations ampélométriques et des tests cytologiques en vue de la détection du type de mutation en  $M_1$  ( $X_1$ ).

A l'encontre des variations des bourgeons, qui sont surtout des mutations somatiques sectorielles, les modifications qui persistent chez les plantes obtenues de pépins ont un spectre plus large de variabilité ayant une position périnclinales, et, en conséquence, plus stable. Aux doses modérées d'irradiations et de DES, les mutations plus fréquentes sont de nature génique, en déterminant la modification de certains caractères plus simples, comme par exemple la forme et la couleur des baies, la pigmentation de la feuille et de la jeune pousse, la teneur en substances protéiques et en antocyanidines etc.

La variation calculée en pour-cent, des anomalies morphologiques et mutations somatiques en  $M_1$  chez les cépages vinifera du champ des plantules, dépend du type de l'agent mutagène et de la dose ou la concentration employée pour les traitement a des pépins. Prenant en considération la descendance parentale résultant de l'autofécondation ( $F_1$ ) et employée comme variante de contrôle, on constate que le pourcentage des plantes ayant des modifications morphologiques augmente parallèlement avec la dose d'irradiation et la concentration de DES. Dans le cas de ces modifications de phénotype, dans la plus grande partie non-héréditaires, un pourcentage assez élevé est représenté par les mutations somatiques ayant des caractères négatifs, si nous considérons la valeur économique ou leur utilisation comme matériel initial pour l'amélioration et les étude génétiques (tableau 1). Aux doses modérées d'irradiations et de concentration en agent mutagène on obtient un nombre plus élevé de mutants ayant des caractères et des traits égoaux ou supérieurs aux formes initiales. Les doses gamma de 20-30 kr et les concentrations de 0,3% DES produisent des effets défavorables pour certains caractères, qui, exprimés en nombre de plantes, représentent une croissance calculée en pour-cent de 3-4 fois, en comparaison avec les doses et les concentrations modérées.

A ces effets négatifs on ajoute aussi le pourcentage assez élevé de létalité des plantes, un pourcentage qui augmente proportionnellement, pendant les périodes de végétation, avec l'augmentation de la concentration de l'agent mutagène et du temps d'exposition employé au traitement du matériel biologique (tableau 2). Les résultats sont significatifs dans ce cas aussi, pour tous les cépages aux doses et concentrations élevées, les différences entre la valeur réelle et la valeur relative croissant en moyenne 3-6 fois.

En considérant comme plus efficaces pour l'amélioration les doses et les concentrations modérées des agents mutagènes, nous avons employé les méthodes statistiques pour évaluer la variabilité, en utilisant les principaux indices de la structure des feuilles comme un système réceptif aux modifications, dans le but de l'application de la sélection des mutants intrasomiques de  $M_1$ .

phoses. Quand on a employé des doses pondérées d'irradiations et d'agents alchilants, des mutations somatiques ont été induites, des mutations semblables d'après les caractéristiques phénotypiques, les divergences étant, dans tous les cas, du point de vue de la fréquence et des rapports quantitatifs des types de radiomorphose.

Dans le cas des traitements effectués sur des bourgeons, des mutations somatiques sectorielles instables ont été obtenues, c'est pourquoi leur rétention et direction par sélection intrasonique ont été très difficiles à la suite de la manifestation du caractère sélectif diploïque au niveau cellulaire. Les traitements appliqués aux pépins ont conduit à l'obtention des mutations somatiques qui se sont manifestées pendant les premières phases de végétation de plantules, sur les feuilles cotylédonaire (fig. 7). Le pourcentage le plus élevé est représenté par "les mutants asymétriques" (4-12), en comparaison avec "les mutants symétriques" qui agissent uniformément sur les caractéristiques des deux feuilles cotylédonaire (1-3). Dans le cas des doses élevées d'agents mutagènes (plus de 10 kr et 0,2% DES), ces mutants asymétriques sont rencon-



Tab. 1 - La variation calculée en pour-cent, dans le cas des plantes ayant des modifications du phénotype en M<sub>1</sub>, fonction du type et de la dose de l'agent mutagène.

Le traitement	La dose	% plantes ayant des modifications morphologiques	desquelles: % mutations somatiques ayant un ou plusieurs caractères modifiés							
			polymorphisme foliaire	feuilles uniformément modifiées	Déficiences chlorophyllienne	Modifications de la coloration	Renouvelant axial multiple (éventail)	Plantes ayant des fasciations	Plantes stériles	Plantes juvéniles
<i>Galbena de Odobesti</i>										
Radiations gamma (en kr)	10	19	7	2	4	2	1	0	1	2
	20	20	8	2	8	2	0	1	3	3
	30	39	6	0	11	1	3	3	9	8
Diéthylesulfate (Des %)	0,05	6	3	0	3	1	0	0	0	0
	0,1	23	9	1	2	6	0	1	1	4
	0,2	22	7	3	6	4	1	0	4	5
	0,3	36	13	1	6	1	3	1	8	7
<i>Feteasca neagra</i>										
Radiations gamma (en kr)	10	11	5	0	5	2	0	0	0	0
	20	14	6	1	3	3	0	0	4	4
	30	24	9	1	8	0	2	1	8	6
Diéthylesulfate (DES %)	0,05	5	4	0	2	1	0	0	0	0
	0,1	15	3	0	3	4	1	0	1	2
	0,2	21	7	2	3	2	3	2	5	5
	0,3	41	5	1	6	3	8	1	4	10

Tab. 2 - La dynamique de la survivance des mutations somatiques M<sub>1</sub> obtenues à l'aide du traitement alchilant avec DES, chez certains cépages vinifera

Concentrations DES (1:1000)	La durée du traitement (heures)	Galbena de Odobesti			Feteasca neagra			Chasselas doré		
		Val. rel.	Différence	Signification	Val. rel.	Différence	Signification	Val. rel.	Dif.	Signif.
1	6	92	-7,5		97	-2,5		97	-3,0	
2	6	84	-15,5		93	-6,0	oo	93	-6,5	
3	6	75	-23,5	o	89	-11,0	ooo	81	-18,5	ooo
1	12	88	-11,5		93	-6,5	oo	93	-7,0	
2	12	78	-21,0	o	86	-13,5	ooo	84	-15,0	oo
3	12	68	-31,0	oo	79	-20,0	ooo	64	-34,5	ooo
1	18	86	-13,0		90	-9,0	ooo	81	-18,5	ooo
2	18	72	-26,5	oo	84	-16,0	ooo	74	-25,0	ooo
3	18	60	-38,0	ooo	67	-32,0	ooo	59	-39,0	ooo
1	24	78	-21,0	o	88	-11,5	ooo	77	-21,5	ooo
2	24	62	-36,0	ooo	79	-20,0	ooo	71	-28,0	ooo
3	24	48	-49,5	ooo	64	-35,0	ooo	55	-43,0	ooo
0 (contrôle)	12	100	—	—	100	—	—	100	—	—

DL 5 % = 18,9    DL 5 % = 4,4    DL 5 % = 10,4  
 DL 1 % = 24,9    DL 1 % = 5,8    DL 1 % = 13,7  
 DL 0,1% = 31,8    DL 0,1% = 7,4    DL 0,1% = 17,5

Pour les cépages étudiés on a enregistré des valeurs plus élevées des indices de variabilité (S%) chez les formes mutantes, en comparaison avec la filiation parentale (FP) obtenue par l'autofécondation contrôlée, de même que dans le cas de plantes obtenues des pépins traités (tableau 3). Les limites de variabilité croissante de ces caractères pour la génération parentale représentent des conséquences de la ségrégation du matériel génétique en F<sub>1</sub>, étant fortement hétérozygote, spécifique pour le genre *Vitis*. Les valeurs moyennes enregistrées pour connaître l'effet mutagène alchilant montrent des modifications de la structure des feuilles. Ces modifications sont gardées dans la descendance végétative, le calcul des sous-dimensions des feuilles et la multiplication du nombre des stomates ayant la plus grande fréquence, chez tous les cépages étudiés, sur l'unité de superficie. Bien que ces valeurs moyennes qui expriment certains caractères quantitatifs semblent être défavora-

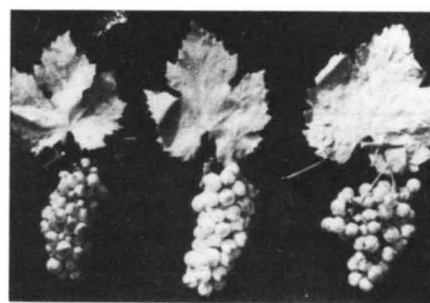
bles, surtout en ce qui concerne la vigueur de croissance de la feuille, les valeurs des indices de variabilité et le degré de la dispersion des individus en classes de variation montrent aussi l'existence de certaines mutations ayant un caractère hétérosis. L'identification des mutations par ces méthodes biométriques, accompagnée par la sélection des génotypes utiles ont été capables de nous permettre l'appréciation du degré de mutabilité de certains caractères, en fournissant en même temps des données d'orientation en ce qui concerne l'induction orientée, dirigée de tels caractères.

Pour certains caractères ayant un déterminisme polygénique, restructurés par l'application de certaines grandes doses d'irradiation chronique (30 kr) et de certaines concentrations élevées des DES (0,3%), on a identifié certaines corrélations entre la diminution de la superficie foliaire - la profondeur des sinus latéraux et

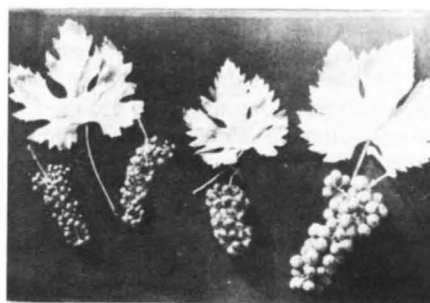
**Tab. 3 - Les limites de la variabilité des caractères morphologiques chez les feuilles des vignes résultant des pépins, à la suite du traitement effectué avec des doses modérées de DES**

Le cépage	Les mutantes et la filiation parentale	Sup. (cm <sup>2</sup> )		L'indice de lobation x 100		La longueur du pétiole (cm)		La denture du limbe (n°/dm <sup>2</sup> )		Les caractéristiques des stomates			
										la dimension (microns)		la fréquence (n°/mm <sup>2</sup> )	
		$\bar{x} \pm S\bar{x}$	s%	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	s%	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	s%	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	s%	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	s%	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	s%
Galbenà de Odobesti	M <sub>1</sub>	106,0 ± 2,8	21,0	50 ± 0,18	21,7	7,92 ± 0,033	26,3	61 ± 0,28	28,5	26,3 ± 0,020	9,5	243 ± 6,0	24,5
	FP	150,3 ± 7,1	15,8	68 ± 0,25	19,7	8,22 ± 0,031	16,7	41 ± 0,21	22,5	26,5 ± 0,017	6,3	220 ± 3,7	16,7
Fetească neagra	M <sub>1</sub>	91,4 ± 2,0	19,0	40 ± 0,11	22,7	6,59 ± 0,016	20,2	56 ± 0,28	40,2	26,6 ± 0,032	10,9	196 ± 5,1	25,7
	FP	136,7 ± 7,9	18,2	44 ± 0,55	12,5	9,20 ± 0,016	18,3	42 ± 0,22	20,9	31,2 ± 0,022	7,2	164 ± 4,2	25,6
Chasselas doré	M <sub>1</sub>	74,1 ± 1,6	15,3	50 ± 0,17	17,8	7,23 ± 0,026	18,7	62 ± 0,35	29,1	26,7 ± 0,020	7,4	213 ± 4,9	24,2
	FP	105,5 ± 3,7	11,9	59 ± 0,68	14,2	10,09 ± 0,034	16,4	48 ± 0,15	15,1	26,5 ± 0,018	6,9	196 ± 4,5	22,9
Muscat de Hamburg	M <sub>1</sub>	101,3 ± 2,3	18,8	41 ± 0,21	19,9	9,62 ± 0,036	24,1	53 ± 0,31	28,8	28,8 ± 0,021	8,2	182 ± 5,8	23,6
	FP	142,6 ± 4,8	17,2	48 ± 0,43	16,3	11,22 ± 0,041	19,2	46 ± 0,24	23,2	29,3 ± 0,017	7,3	166 ± 5,2	19,3

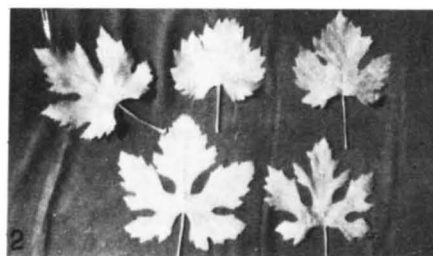
la quantité - la qualité de la production des raisins; Chez les cépages Galbenà de Odobesti et Fetească neagra, les formes mutantes ayant un indice prononcé de lobation (fig. 8) ont présenté des caractères ancestraux en ce qui concerne la dimension, la structure et la composition des baies de la grappe. Chez certaines mutantes on a obtenu aussi des phénomènes d'androstérilité, millerandage ou stérilité totale; chez des autres, ayant un indice réduit de lobation par l'application des doses ou des concentration modérées de mutagènes, on a obtenu des mutantes ayant des caractères favorables en ce qui concerne l'aspect et le niveau de la produc-



**Fig. 9 - Des mutations géniques apparues chez les grappes ayant des caractères positifs dans le cas de Galbenà de Odobesti et négatifs dans le cas de Fetească neagra - des mutantes obtenues par irradiations.**



**Fig. 8 - Des radiomorphoses chez les feuilles des cépages Galbenà de Odobesti (1) et Fetească neagra (2), obtenues par le traitement aux radiations.**



tion des raisins (Fig. 9).

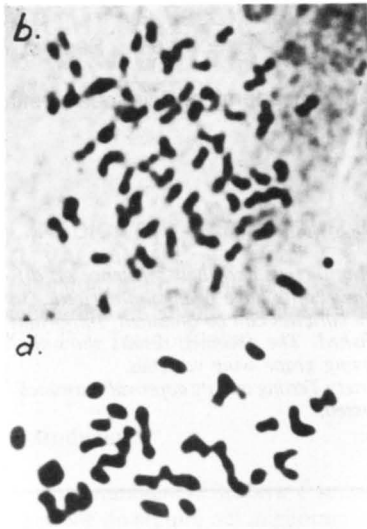
En poursuivant la modification d'un ou deux traits de qualité, tout au plus, chez ces cépages, par l'obtention des mutations géniques aux doses ou concentrations réduites de mutagènes, on a réussi, dans le cas des cépages pour les raisins de table (Muscat de Hamburg et Chasselas doré) à rendre plus rares les petites baies de la grappe, ce caractère étant accompagné par l'augmentation du poids moyen de la baie. Chez les cépages Fetească neagra et Muscat de Hamburg, on a obtenu des mutantes ayant des baies blanches (Fig. 10); dans le cas du cépage Galbenà de Odobesti on a obtenu une mutante ayant une capacité croissante de résistance à la pourriture, l'acidité du moût étant élevé, ayant ainsi des qualités supérieures en comparaison avec les cépages de départ.

Les résultats obtenus concernant l'effet radiomutagène sur les

pépins pendant les étapes prégerminatives révèlent aussi le fait que les indices de mutabilité dépendent en grande mesure du cépage et surtout de la sensibilité relative des cellules embryonnaires qui



**fig. 10 - Des mutantes qui présentent la modification de la couleur des baies chez le cépages Muscat de Hamburg - des mutantes obtenues par irradiation.**



**Fig. 11 - Des mutations ayant des modifications de génome (mixoploïdes) chez le cépage Galbena de Odobesti, par l'action radiomutagène.**  
 a) métaphase diploïde ( $2n = 38$ ) en mitose  
 b) métaphase tétraploïde ( $2n = 76$ ) en mitose

se trouvent dans différentes phases du cycle cellulaire. A la suite de l'asynchronie des étapes mitotiques de la population de cellules somatiques de la structure de l'embryon séminal, par l'irradiation chronique avec une dose pondérée (10 kr), on a réussi à obtenir une mutante mixoploïde ( $2n = 38$  et  $2n = 76$ ) chez le cépage Galbena de Odobesticette cette mutante s'est extériorisée du point de vue phénotypique par le caractère "hétérosis" de la vigueur de croissance (fig. 11). Cette mutante a été isolée en  $M_1$  et étudiée à côté d'autres mutantes, pour la manifestation possible des autres caractères récessifs, étant en même temps une source de matériel génétique pour l'amélioration.

Pendant les phases précoces du développement de l'embryon séminal, par irradiation sévère (30 kr), on a identifié des cellules

tétraploïdes pendant la métaphase mitotique, et, pendant la division méiotique et mitotique chez certaines plantes mutantes de premières phases de végétation, ces mutantes ont eu un caractère sous-létal. Il est possible que dans ce cas, une série de perturbations métaboliques profondes soit accompagnée par la manifestation des autres caractères doublement récessifs qui déterminent la létalité des plantes mutantes pendant certaines phases précoces de végétation.

### Conclusion

1. Chez les cépages vinifera, les doses d'irradiation chronique (gamma) et les concentrations de mutagènes alchiliants (DES) situées entre DL30 et DL50 peuvent être utilisées comme valeurs limite dans la transmission des caractères mutables favorables pour l'obtention des cépages ayant une valeur économique supérieure aux cépages de départ.

2. L'accentuation de l'effet radiomutagène sur la mutation de certains caractères ayant un degré élevé de potentialité pour l'amélioration, a été réalisée par le traitement des bourgeons à l'aide des doses d'irradiations de 6-8 kr et aux concentrations de 0,10-0,15% DES, et pour les pépins 10-51 kr et 0,15-0,20% DES.

3. A l'encontre des bourgeons, pour lesquels on a obtenu par le traitement mutagène un pourcentage plus élevé de radiomorphoses et de mutations chimériques, dans le cas des pépins on a obtenu des mutations géniques qui influencent simultanément le changement de plusieurs caractères contrôlés par des gènes pléiotropes, les caractères étant transmis en  $M_1$ .

4. Grâce au caractère hétérozygote fortement marqué du genre Vitis, l'emploi de certaines doses et concentrations plus élevées de mutagènes détermine en  $M_1$  une variabilité prononcée à la suite de l'amplification de la fréquence des gènes récessifs homozygotes accompagnées par des effets négatifs (stérilité, juvénilité des plantes ecc.), en déterminant aussi l'augmentation du pourcentage de létalité.

### RESUME

#### LA TRANSFORMATION GENETIQUE DE LA VIGNE PAR LA MUTAGENESE INDUITE

*Dans le but de l'amélioration génétique de l'assortiment viticole, on a induit des mutations somatiques chez les cépages vinifera (Galbena de Odobesti, Feteasca neagra, Muscat de Hamburg et Chasselas doré) par l'emploi des radiations gamma et du diéthylesulfate (DES) sur les bourgeons axillaires pendant la période de repos et sur les pépins humectés résultants d'une autofécondation.*

*Le résultat des recherches effectuée sur un grand nombre de variantes a démontré que les doses d'irradiation chronique (gamma) et les concentrations de diéthylesulfate situées entre DL30 et DL50 peuvent être considérées comme des valeurs limite dans la transmission des caractères mutant pour l'obtention des génotypes ayant une valeur économique supérieure aux formes initiales. Ces effets mutagènes favorables ont été obtenus aux doses d'irradiations de 6-8 kr et aux concentrations de 0,10-0,15% DES, pour les bourgeons et 10-15 kr, respectivement 0,15-0,20% DES pour les pépins.*

*À l'encontre des bourgeons, pour lesquels on a obtenu des radiomorphoses et des mutations chimériques en pourcentage élevé, chez les pépins on a obtenu plus souvent des mutations géniques qui ont déterminé la modification simultanée de plusieurs caractères qui ont été transmis en  $M_1$ .*

*Par l'emploi de certaines doses et concentrations de mutagènes plus élevées, on a obtenu en  $M_1$  une variabilité génétique prononcée, accompagnée par des effets négatifs et par l'augmentation du pourcentage de létalité à la suite de l'amplification de la fréquence des gènes récessifs homozygotes, en limitant ainsi la variabilité génétique dans le but de l'amélioration.*

## POSSIBILITIES TO IMPROVE GRAPEVINE VARIETIES BY USING EXPERIMENTAL MUTAGENESIS

I. BOZHINOVA-BONEVA (1) - A. MEHANDJEV (2)

(1) Institute of Introduction and Plant Resources - Sadovo - (Bulgarie)

(2) Institute of Genetics - Bulgarian Academy of Sciences - Sofia (Bulgarie)

### SUMMARY

#### POSSIBILITIES TO IMPROVE GRAPEVINE VARIETIES BY USING EXPERIMENTAL MUTAGENESIS

*The optimum doses and concentrations for independent and combined treatment with physical and chemical mutagens and their influence on different parts of a grape wine (grape berries, grape stalks, pollen and whole plants) have been established and the results have been summarized. On this basis the work on further application of experimental mutagenesis aiming at the creation of better grape wine varieties can be obtained. Important characteristics of mutation selection and mutative variability of grape wines have also been studied and established. The obtained results show that by using experimental mutagenesis rich genetic variability of grape wines can be obtained and used for improving grape wine varieties.*

*The first mutant variety «RADIOLA» which we have obtained is now being tested by The State Committee for Variety Testing and its approval is awaited. The further development of this problem by using the possibilities of modern biotechnologies is also discussed.*

---

## RESULTS FROM THE APPLICATION OF EXPERIMENTAL MUTAGENESIS IN VINES

I. BOZHINOVA-BONEVA (1) - A. MEHANDJEV (2)

(1) Institute of Introduction and Plant Resources - Sadovo - (Bulgarie)

(2) Institute of Genetics - Bulgarian Academy of Sciences - Sofia (Bulgarie)

### SUMMARY

#### RESULTS FROM THE APPLICATION OF EXPERIMENTAL MUTAGENESIS IN VINES

*Optimal rates and concentrations have been established for independent and combined application of physical and chemical mutagens upon the different vine plants (seeds, cuttings, pollen, and intact plants). Thus, a basis was created for future work on the use of experimental mutagenesis to improve vine cultivars.*

*At the same time, important specific characters of the mutation vine breeding, as well as the character of mutation variability have been revealed. The results obtained show that a rich genetic diversity can be obtained by means of experimental mutagenesis which could successfully be used for improving vine cultivars by combining mutation and hybrid variabilities. The first mutant variety Radiola has been developed.*

---

## INDUZIONE DI VARIABILITÀ NELLA VITE MEDIANTE IRRAGGIAMENTO CON RAGGI $\gamma$

A. CALÒ - A. COSTACURTA - P. MANNINO

Istituto Sperimentale per la Vitecultura di Conegliano - (Italia)

### RESUME

#### INDUCTION DE LA VARIABILITE DANS LA VIGNE PAR L'EMISSION DE RAYONS $\gamma$

*Si l'on prend en considération la perte de variabilité due à la pression sélective que l'on observe dans les cultures viticoles et la difficulté d'obtenir des variabilités par des croisements sans modifier les caractéristiques de base du genotype de départ, l'induction de mutations grâce à un rayonnement  $\gamma$  peut devenir une méthode importante pour amplifier le gamme de variabilités afin d'obtenir une base plus vaste pour le processus de sélection.*

*C'est dans ce but, qu'à partir de 1978 à l'I.S.V. n° 1000 boutures des cépages suivants ont été irradiées: Merlot, Cabernet f., Tocai f., Prosecco Chardonnay, Sauvignon, Corvina v., Garganega, Italia.*

*La sélection sur les populations obtenues a permis d'isoler certains individus, pour chacun des cépages expérimentés, particulièrement intéressants pour la longueur des phases phénologiques et pour leur développement végétatif.*

# PRIME VALUTAZIONI DEGLI EFFETTI DELL'IRRAGGIAMENTO $\gamma$ SUL VITIGNO «DOLCETTO»

L. RADICATI<sup>(1)</sup> - R. BOTTA<sup>(1)</sup> - G. ME<sup>(1)</sup> - S. SACERDOTE<sup>(2)</sup> - R. VALLANIA<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Istituto di Frutticoltura industriale - Università di Torino (Italia)

<sup>(2)</sup> Centro di Studio per il Miglioramento Genetico della Vite - C.N.R. - Torino (Italia)

## Introduzione

La mutagenesi indotta è senza dubbio una delle più interessanti vie da seguire nel miglioramento genetico dei vegetali in quanto incrementa la frequenza delle mutazioni che in natura risulta piuttosto bassa (Donini e Veglio, 1974). Essa inoltre permette di modificare in un individuo soltanto alcuni caratteri senza alterare profondamente il genotipo della cultivar (Olmo, 1960; Broertjes, 1974) e, soprattutto nei fruttiferi, di ottenere cultivar migliorate in tempi più brevi (Donini, 1976).

Nella vite, sia le mutazioni spontanee (Rives, 1961) sia quelle indotte (Breider, 1964) sono solitamente di natura chimerica. Quindi, dopo trattamento delle gemme con agenti mutageni, è necessario isolare le diverse porzioni dei germogli sorti da esse.

Le tecniche più frequentemente adottate risultano l'irraggiamento con raggi  $\chi$  e  $\gamma$ , neutroni termici, neutroni veloci o lenti e raggi ultravioletti. Si fa anche ricorso ad agenti mutageni chimici (Das e Mukherjee, 1968; Sarasola, 1966).

La dose di irraggiamento che consente la sopravvivenza di oltre il 50% delle piante trattate e al medesimo tempo induce mutazioni è intorno ai 2000 rad (Einset e Pratt, 1975) mentre molti vitigni, secondo Romisondo *et al.* (1974), tollerano senza eccessivi danni dosi fino al 4 kR.

I fenotipi devianti più comunemente osservati e riferibili a mutazione indotta sono: assenza o scarsità di clorofilla nelle foglie; variazioni in forma, grandezza, tomentosità delle foglie; parziale sterilità dovuta ad asinapsi dei cromosomi (che può indurre una minore compattezza del grappolo); variazioni di dimensioni degli acini e del numero di semi; anticipo della maturazione dei frutti e del legno; cambiamenti nell'aroma dei frutti; resistenza alle basse temperature (Reichardt, 1955; Breider, J.C.; Olmo, J.C.; Das e Mukherjee, J.C.).

Anche la poliploidia è stata frequentemente riscontrata in natura (Olmo, 1935; Scherz, 1940; Einset e Pratt, 1954; Gargiulo, 1957) e a seguito di irraggiamento (Fry, 1963; Sacerdote *et al.*, 1981); essa si manifesta soprattutto con maggiori dimensioni degli acini e dei tralci. Questo fenomeno è stato anche osservato allo stato chimerico (Thompson e Olmo, 1963).

Prove di irraggiamento con raggi  $\gamma$  (fonte Co<sup>60</sup>) sono state condotte dall'Istituto di Frutticoltura Industriale in collaborazione con il Centro di Studi per il Miglioramento Genetico della Vite del C.N.R. e il laboratorio ENEA della Casaccia (Roma) sul vitigni «Dolcetto» a partire dal 1969, nell'ambito di un programma di miglioramento genetico di vitigni da vino e da tavola attraverso la mutagenesi indotta.

Il vitigno in questione ha, come è noto (Dalmasso, 1959), la sua tipica area di coltura in Piemonte. Trattasi nel complesso di una cultivar con peculiari esigenze pedoclimatiche che limitano la sua diffusione ad un ristretto areale: le colline delle Langhe e del Monferrato (provincia di Cuneo, Alessandria e Asti).

Il vitigno è di modesta vigoria e la sua produttività varia da

zona a zona, ma in media non supera i 2 kg/pianta. I grappoli, di media grandezza e compattezza, hanno bacche con buccia sottile e maturano nella seconda metà di settembre.

Il mosto ha grado zuccherino medio variabile fra il 18,5% e il 21%; il vino è molto apprezzato perché armonico e poco acido, e pertanto non richiede un lungo invecchiamento.

Un difetto tipico del «Dolcetto» è la tendenza delle bacche a cascolare prima o in corrispondenza della maturazione, determinando perdite di prodotto che possono arrivare al 25%. A livello istologico si osservano lacerazioni tra acino e pedicello (Schneider e Montacchini, 1978-79; Vallania *et al.*, in corso di stampa).

In fasi precoci tali discontinuità nella polpa possono insorgere già in corrispondenza dell'invaiaura, provocando un arresto della maturazione degli acini che, se ancora presenti sul grappolo alla vendemmia, influiscono negativamente sulla qualità del vino.

Questo fenomeno ha senza dubbio matrice genetica, ma appare influenzato anche dall'area di coltura (fuori degli ambienti tipici la cascola è generalmente più elevata) e dall'andamento climatico.

Obiettivo del lavoro è l'ottenimento di mutanti con le caratteristiche qualitative tipiche del vitigno, ma presentanti assenza di cascola, elevata produttività e maggiore resistenza alla *Botrytis cinerea*, carattere che unito ad un'epoca di maturazione più precoce, limiterebbe i danni provocati dal parassita.

## Materiali e metodi

Il vigneto oggetto dell'indagine, situato sui colli monregalesi a Vicoforte (CN) a m 600 s.l.m., è stato ottenuto da materiale irraggiato presso il laboratorio ENEA della Casaccia (Roma) e in seguito autoradicato.

388 talee di «Dolcetto» (indicate con V<sub>0</sub> in fig. 1) sono state sottoposte nel 1972 a irraggiamento  $\gamma$  (fonte Co<sup>60</sup>) alla dose di 3kR, con intensità di esposizione di 176 R/h e con schermatura della parte basale, per evitare difficoltà di radicazione.

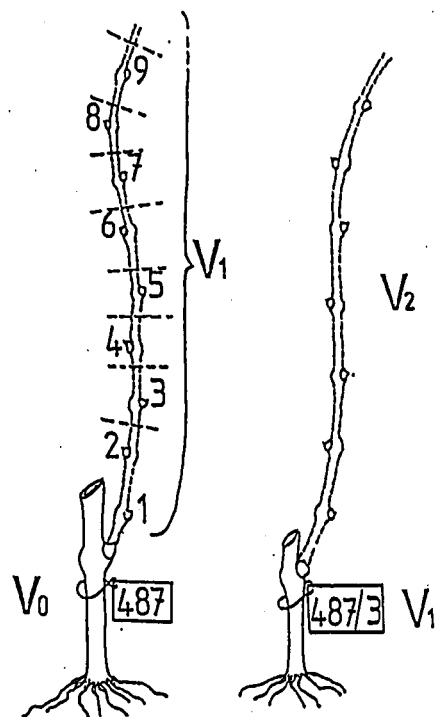


Fig. 1 - Schema della metodologia adottata per l'ottenimento delle barbatelle; ciascuna di esse viene indicata con due numeri: il primo si riferisce alla pianta madre, il secondo alla posizione delle gemme di origine sul tralce V<sub>1</sub>.

Nell'anno successivo alla radicazione delle talee, il tralcio V<sub>1</sub> sviluppatosi è stato tagliato dopo il secondo nodo e se ne sono ricavate talee monogemma, a loro volta poste a radicare in serra, mantenendole etichettate secondo la posizione sul tralcio e la pianta d'origine (Romisondo *et. al.*, l.c.).

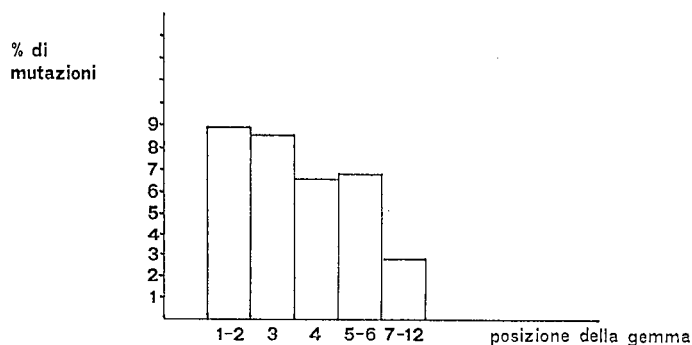
Per mezzo di tale procedura si intendevano isolare eventuali mutazioni sia sulle piante Vo (potate a 2 gemme), sia sulle piante V<sub>1</sub>, accertando anche in quale posizione del tralcio queste si manifestassero con maggiore frequenza.

La messa a dimora di tutte le barbatelle ottenute (complessivamente 557, di cui 123 piante Vo e 434 piante V<sub>1</sub>) è avvenuta nel 1975, dopo due anni di permanenza in vivaio. L'impianto è costituito da 5 filari con orientamento NE-SW. Le piante sono state poste a distanza di m 0,80 sulla fila e m 2,20 tra le file, allevandole a contropalliera con potatura «Guyot» semplice (mediamente 7 gemme per capo a frutto).

**Tab. 1 - Percentuali di mutazioni osservate in relazione alla posizione della gemma sul tralcio V<sub>1</sub>.**

Posizione della gemma sul tralcio	N. di piante complessive	N. di piante mutate	% di mutazioni
1-2 (*)	123	11	8,94
3	117	10	8,54
4	92	6	6,52
5-6	118	8	6,78
7-12	107	3	2,80
Totale	557	38	6,82

(\*) Gemme rimaste sulla pianta Vo dopo la potatura a due gemme.



**Fig. 2 - Relazione fra la frequenza di mutazioni e la posizione, lungo il tralcio ottenuto dalla talea irraggiata, delle gemme da cui sono derivati i ceppi.**

A partire dall'entrata in produzione i seguenti caratteri sono stati periodicamente rilevati e comparati con quelli corrispondenti di piante testimoni:

- produttività;
- aspetto dei grappoli;
- entità della cascola degli acini (valutazione in base alla forza di distacco dell'acino dal pedicello, misurata con dinamometro Carpo a punta modificata, su 50 bacche per ceppo);
- colatura;
- acinellatura;
- caratteristiche del mosto:
  - grado zuccherino al rifrattometro;
  - acidità totale (secondo i metodi ufficiali CEE);
  - pH;
- precocità di maturazione in base al rapporto zuccheri % / acidità % e al prodotto °Brix X pH<sup>2</sup> (Coombe *et. al.*, 1980).

## Risultati

Le osservazioni eseguite hanno permesso di individuare diversi ceppi presentanti alcuni caratteri devianti dalla norma e probabilmente ascrivibili a mutazioni. Tali piante rappresentano il 6,82% del totale; si nota anche (tab. 1 e fig. 2) che la percentuale di mutazioni risulta maggiore nelle piante derivate dalle prime 6 gemme, mentre decresce sensibilmente dalla 7<sup>a</sup> gemma in poi.

Le piante selezionate (tab. 2 e 3) hanno mostrato caratteristiche produttive migliorate:

— anticipo della maturazione di circa 10 giorni rispetto al testimone ed assenza di cascola (nella valutazione di questo aspetto si sono considerati non cascolanti i ceppi con indice medio di distacco delle bacche superiore a 0,8 N) in 722/9; 602/7; 840/3; 689/4;

— assenza di cascola accompagnata da buona produttività in 615/3; 862/6; 855/3; 737/6; 692/3; 831/3; 528; 864.

Altre piante hanno mostrato i seguenti caratteri devianti:

— acinellatura dolce; si è manifestata in 13 piante 699/5 (90% degli acini acinellati); 533, 527/3 e 717/3 (70%); 649/5 e 839/3 (60%); 842, 682 e 738 (50%); 795, 611/4 e 675/6 (30%); 788 (20%);

— acinellatura verde presente in 6 piante (563/8, 695/4, 653, 692, 869, 699/3), in misura variabile dal 20 al 50%;

— colatura quasi totale nelle piante 768/6 e 786/4 e colatura accompagnata da acinellatura al 30% nella pianta 832/5 e al 70% nelle piante 712/5 e 728/4.

Infine (tab. 4) si segnalano 2 piante (635/4, 847/3) presentanti diversi aspetti anomali: la prima è dotata di scarsa produttività, di grappoli spargoli e acini poco pruinosi (foto 1). Il mosto ottenuto è risultato di elevata acidità e basso tenore zuccherino. La seconda ha foglie di colore non uniforme e bordo giallo (foto 2); anch'essa ha fornito una produzione modesta, con grappoli piccoli a acini apireni.

**Tab. 2 - Dati relativi alle analisi di laboratorio eseguite nel 1984 sul mosto delle piante selezionate per precocità di maturazione e assenza di cascola.**

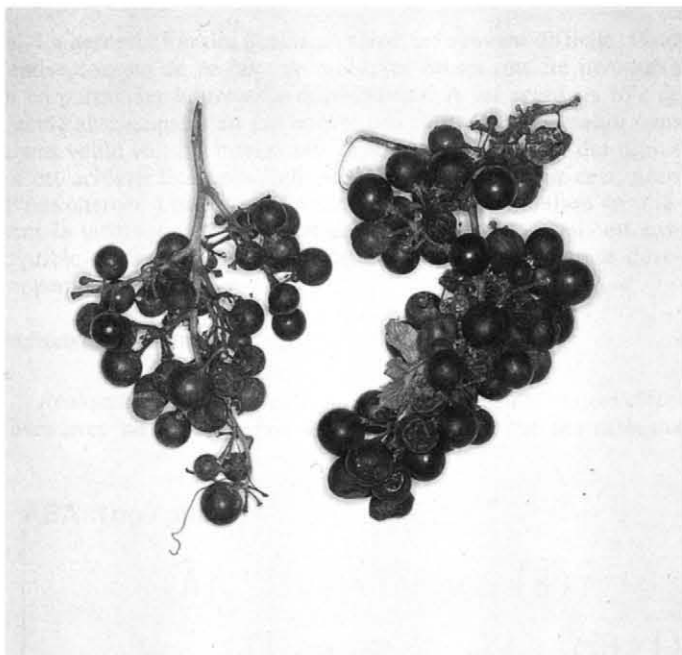
pianta	grado zuccherino al rifrattometro		acidità titolabile g/l acido tartarico		pH		zuccheri % acidi %		°Brix x pH <sup>2</sup>	
	28/9	8/10	28/9	8/10	28/9	8/10	28/9	8/10	28/9	8/10
722/9	20,7	22,6	8,92	8,47	3,15	3,30	2,25	2,60	207,66	248,51
602/7	20,9	21,2	10,42	9,36	3,20	3,14	1,94	2,20	215,76	211,59
840/3	22,2	22,6	8,32	8,06	3,26	3,14	2,61	2,75	237,84	225,04
689/4	23,3	24,2	9,30	8,60	3,31	3,22	2,47	2,80	257,90	253,78
Testimone	19,2	20,5	9,93	9,51	3,06	3,16	1,83	2,08	181,65	206,50

**Tab. 3 - Dati relativi a ceppi presentanti assenza di cascola accompagnata da buona produttività.**

pianta	Grado rifrattometrico alla raccolta			produzione kg/ceppo	
	'82	'83	'84	'83	'84
615/3	19,0	19,1	19,0	2,3	3,9
862/6	20,0	22,0	19,3	2,0	4,3
855/3	21,0	19,0	20,2	2,8	4,2
737/6	21,8	19,4	20,8	2,5	3,3
692/3	21,0	21,0	19,5	2,5	3,1
831/3	19,0	20,1	19,5	3,0	3,2
528	19,0	19,2	19,0	2,3	3,3
864	20,0	20,0	19,5	2,1	3,0
Test.	19,0	20,0	20,5	1,7	1,9

**Tab. 4 - Dati relativi alle piante 635/4 e 847/3.**

pianta	grado rifrattometrico alla raccolta			pH	acidità titolabile g/l ac. tartarico
	'82	'83	'84		
635/4	19,0	15,0	14,8	2,90	16,97
847/3	17,0	—	24,8	—	—

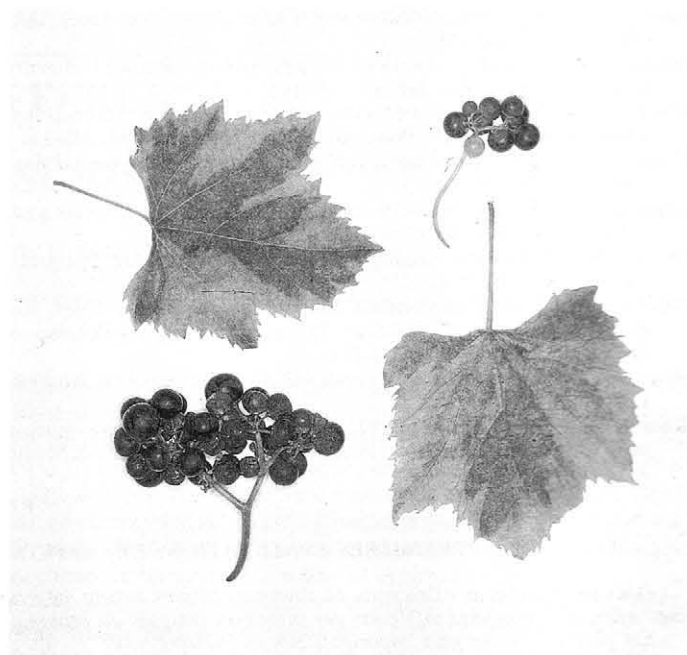


**Foto 1 - Grappoli caratteristici della pianta 635/4.**

### Discussione

Dalle osservazioni condotte sulle piante in esame è emerso che l'effetto più comune provocato dall'irraggiamento consiste in una riduzione di fertilità. Tale fenomeno rappresenta il 68% delle mutazioni rilevate e si manifesta con colatura e acinellatura più o meno accentuate.

Gli effetti positivi del trattamento con raggi  $\gamma$  sono meno frequenti, ma indicano che esiste la possibilità di migliorare alcuni caratteri del «Dolcetto»: in primo luogo è da segnalare la precocità di maturazione di alcuni ceppi, in particolare l'840/3 e il 689/4. La possibilità di anticipare la raccolta di una decina di giorni è



**Foto 2 - Foglie e grappoli della pianta 847/3.**

senza dubbio vantaggiosa in autunni piovosi, in quanto consente di sfuggire agli attacchi di *Botrytis cinerea*.

Altro risultato positivo è l'assenza di cascola riscontrata in alcuni ceppi.

Essa consente da un lato di ottenere un prodotto più pregiato perché completamente maturo, dall'altro di eliminare le perdite di produzione che si verificano normalmente in questo vitigno.

Relativamente alla posizione delle gemme sul tralcio  $V_1$  va rilevato che il maggior numero di ceppi si sono ottenuti dalla porzione prossimale del tralcio; ciò dipende, in alcuni casi, dal fatto che il tralcio ha avuto uno sviluppo limitato (e quindi se ne sono ricavate poche talee monogemma), in altri casi dal fatto che le parti distali non erano sufficientemente vigorose per dare origine a barbatelle; ciò potrebbe anche essere una conseguenza dell'irraggiamento.

Dai risultati ottenuti appare comunque che le gemme più soggette a mutazione sono quelle della parte basale del tralcio  $V_1$ .

### BIBLIOGRAFIA

- Breider H. (1964) - *L'utilité pratique des mutations somatiques déclenchées par des rayons X pour les plantes cultivées qui vivent longtemps, et qui sont multipliées végétativement*. - The use of induced Mutations in plant breeding. Report of the FAO/IAEA technical meeting. Roma: 25/5 - 1/6/1964. Pergamon Press: 701-706.
- Broertjes C. (1974) - *Progressi nella selezione per mutazione*. Atti delle Giornate di Studio sull'uso di tecniche nucleari per il miglioramento e la difesa dei fruttiferi. C.S.N. Casaccia, 8-10 aprile 1974: 9-12.
- Coombe B.G. Dundon R.J. Short A.W.S. (1980) - *Indices of sugar-acidity as ripeness criteria for winegrapes*. J. Sci. Food. Agric. 31: 495-502.
- Dalmasso G. Dell'Olio G. Ricci P. (1959) - *Dolcetto* - Ann. Sperim. Agr., Roma, n.s., vol. XIII (3): 1-15.
- Das P.K. Mukherjee S.K. (1968) - *Effect of  $\gamma$  radiation adn ethylmethane sulphonate on seeds, cuttings and pollen in grapes*. Indian J. Gen. Plant Breed. 28: 347-351 (Biol. Abstr. 52: 31585).
- Donini B. (1976) - *Breeding methods and applied mutagenesis in fruit plants*. - Proceedings of a workshop on the use of Ionizing Radiation in Agriculture, 22-24 marzo 1976. Wageningen, the Netherlands: 453-471.
- Donini B. Veglio P. (1974) - *Impiego della mutagenesi per il miglioramento delle piante da frutto*. - Atti delle Giornate di Studio sull'uso di tecniche nucleari per il miglioramento e la difesa dei fruttiferi, C.S.N. Casaccia, 8-10 aprile 1974: 13-55.

- Einset J. Pratt C. (1954) - «Giant» sports of grapes. - Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 63, 251-256.
- Einset J. Pratt C. (1975) - *Advances in fruit breeding*. - Purdue University Press, West Lafayette, Indiana: 130-153.
- Fry B.O. (1963) - *Production of tetraploid Muscadine (var. rotundifolia) grapes by  $\gamma$  radiation*. - Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 83, 388-394.
- Gargiulo A. (1957) - *Spontaneous tetraploid mutation in Barbera d'Asti*. - Vitis, 1: 156-158.
- Olmo H.P. (1935) - *Bud mutation in the vinifera grape. II. Sultanina gigas*. - Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 33: 437-439.
- Olmo H.P. (1960) - *Plant breeding program aided by radiation treatment*. - Calif. Agr. 14 (7): 4.
- Reichardt A. (1955) - *Experimentelle Untersuchungen über den Effekt von Röntgenstrahlen in der vegetativen Vermehrung einer alten Rebensorte*. Gartenbauwissenschaft 2: 255-413.
- Rives M. (1961) - *Genetic bases of clonal selection in grape*. - Ann. Amélior. Plantes 11: 337-348.
- Romisondo P. Donini B. Me G. (1974) - *Induzione di mutazioni gemmarie nella vite mediante radiazioni ionizzanti* - Atti delle Giornate di Studio sull'uso di tecniche nucleari per il miglioramento e la difesa dei fruttiferi - C.S.N. Casaccia, 8-10 aprile 1974: 85-94.
- Sacerdote S. Vallania R. Radicati L. Me G. (1981) - *Osservazioni su due casi di poliploidia indotta in Vitis vinifera L. (cv. Barbera)*. - Vitis 20: 335-340.
- Sarasola J.A. (1966) - *A method to induce mutations by treating detached buds of grape vines with ethylmethane sulphonate*. - Boll. Genét. Inst. Fitotec. 2: 41-45.
- Scherz W. (1940) - *Über somatische Genommutanten der Vitis, vinifera Varietät «Moselriesling»*. Der Züchter 12: 212-225.
- Schneider A. Montacchini F. (1978-79) - *Aspetti morfologici e istologici della zona di ascissione nei frutti di «Vitis vinifera» L.* Allionia 23: 109-118.
- Thompson M.M. Olmo H.P. (1963) - *Cytological studies of cytochimeric and tetraploid grapes*. - Ann. Jour. Bot., 50: 901-906.
- Vallania R. Sacerdote S. Me G. Radicati L. Schneider A. - *Osservazioni su un ceppo di «Dolcetto» irradiato presentante cascola ridotta* - (In corso di stampa su Vignevini).

## RESUME

### PREMIERES EVALUTATIONS DES EFFETS DE RAYONS $\gamma$ SUR LE CEPAGE «DOLCETTO»

Dans un vignoble de «Dolcetto» où toutes les plantes avaient été irradiées par des rayons  $\gamma$  à des fins mutagènes, nous avons mis en évidence des ceps ayant des caractères différents des caractères typiques du cépage.

Les phénomènes les plus importants mis en évidence sont:

- précocité de maturation;
- absence de coulure des baies;
- amélioration qualitative et quantitative de la production;
- coulure.

De plus, nous avons pris en considération la relation entre fréquence des mutations et position le long du sarment obtenu par la bouture irradiée, des bourgeons dont dérivent les vignes greffées qui ont été plantées.



# THEMES DIFFERENTS

## DIFFERENT SUBJECTS

### TEMI DIVERSI

#### INFLUENCE DE L'INCISION ANNULAIRE SUR LA QUALITE DES PEPINS DE RAISIN: CONSEQUENCES SUR LEURS TENEURS EN ACIDE ABCISSIQUE ET LEURS POSSIBILITES DE GERMINATION.

M. BROQUEDIS - J. BOUARD

Laboratoire de Physiologie végétale et Ampélogie - Université de Bordeaux Talence (France).

La germination des pépins de raisin est souvent difficile. Pour rendre compte de ce fait, de multiples causes ont été invoquées et en particulier la présence d'inhibiteurs. A cet égard, le rôle de l'acide abscissique n'est pas encore très clair. C'est pourquoi nous avons voulu voir s'il existait une relation entre la teneur des pépins en cet acide et leurs possibilités de germination. Pour cela, nous avons cherché à obtenir des pépins de différentes qualités en utilisant la technique de l'incision annulaire qui, on le sait, est susceptible d'entraîner des modifications importantes dans le développement des baies.

#### Matériel et méthodes

*Réalisation des incisions.* Les incisions annulaires ont été effectuées avec un inciseur, peu après la nouaison, sur des rameaux

principaux de Cabernet Sauvignon portant deux grappes G1 et G2 (Bouard, 1978). Les entre-coeurs situés au niveau de ces grappes ont été éliminés et les incisions réalisées de la façon suivante: soit entre les deux grappes (une seule par rameau: traitements EG1 et EG2), soit de part et d'autre de ces deux grappes (deux incisions par rameau: traitement 2ia). Chaque traitement a été répété sur 30 pieds, dans deux vignes situées dans deux régions différentes du vignoble bordelais, Couhins et Arveyres.

*Germination des pépins.* Les pépins correspondant aux différents traitements et aux témoins T1 et T2 ont été récoltés au moment des vendanges, fin septembre 1984. Ils ont été conservés au laboratoire, à 20° C, pendant 8 jours, puis réhydratés par immersion pendant 72 heures dans de l'eau déminéralisée, à 20° C et à l'obscurité. Ils ont ensuite été placés pendant 60 jours dans une chambre froide à 2°C ± 1, sur des supports humides assurant leur imbibition. Au cours de leur germination, les pépins disposés sur papier filtre humide (remplacé périodiquement) ont subi pendant une période de 8 jours les alternances de températures suivantes: 30°C pendant 3 heures, puis 20°C pendant 21 heures (Balthazard, 1979). Par la suite, la température a été maintenue constante à 25°C.

*Dosage de l'acide abscissique.* Les grappes utilisées ont été congelées aussitôt après leur récolte. Les pépins ont ensuite été prélevés et rapidement lyophilisés. L'acide abscissique (ABA), sous ses formes libre et liée, a été extrait selon une méthode déjà décrite (Broquedis, 1983) et récemment modifiée pour accroître à la fois la simplicité, la sensibilité et la reproductibilité de l'extraction quantitative de cet acide: on utilise un système de dialyse qui permet de réunir en même temps, sans les mélanger, trois types de solvants (deux phases aqueuses et une phase étherée) et de réaliser ainsi la majeure partie de l'extraction en une seule fois. Les dosa-

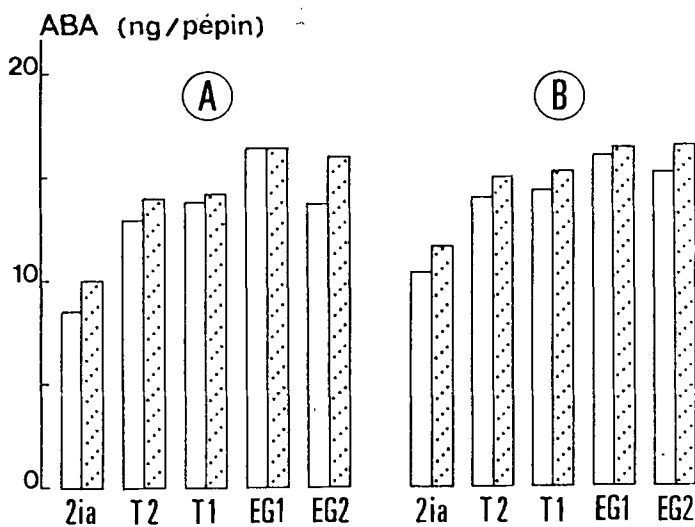


Fig. 1 - Teneurs en ABA libre et en ABA lié (en pointillé) des différents types de pépins au moment de leur récolte. A = vigne de Couhins, B = vigne d'Arveyres.

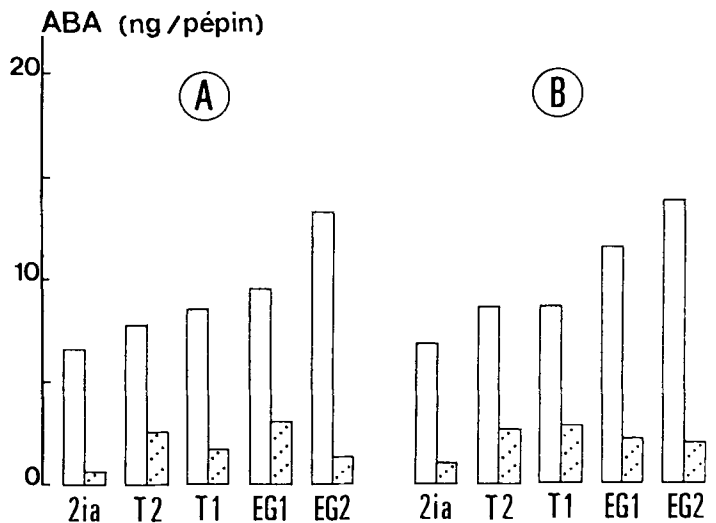


Fig. 2 - Teneurs en ABA libre et en ABA lié (en pointillé) des différents types de pépins au moment de leur mise en germination. A = vigne de Couhins, B = vigne d'Arveyres.

ges de l'ABA on été effectués par HPLC selon un protocole déjà décrit (Broquedis, 1983).

## Résultats

### A— INFLUENCE DES INCISIONS ANNULAIRES SUR LA TENEUR EN ACIDE ABCISSIQUE DES PEPINS.

Les dosages ont été effectués au moment de la récolte des pépins et au moment de leur mise en germination.

#### a) Teneur en ABA des pépins au moment de leur récolte

Si l'on exprime les teneurs en ABA libre et en ABA lié en ng/pépin, trois groupes de valeurs peuvent être distingués. En effet, par rapport aux pépins témoins de types T1 et T2 (fig. 1) qui ont des teneurs en ABA équivalentes, les pépins de types EG1 et EG2 apparaissent caractérisés par les valeurs *un peu plus fortes*, ceux de type 2ia par des valeurs *nettement plus faibles*. L'influence des incisions annulaires se trouve ainsi parfaitement mise en évidence. On remarque en outre que les teneurs en ABA libre et lié sont peu différentes mais pratiquement toujours à l'avantage de l'ABA lié. Le rapport entre les deux formes d'ABA reste en effet toujours compris entre 0,9 et 1 et n'atteint cette dernière valeur que dans un seul cas.

Si l'on exprime maintenant la teneur en ABA des pépins en Mg pour 100 g de matière sèche (Tab. I), il est clair que les valeurs les plus fortes sont obtenues pour les traitements 2ia puis EG1, la valeur la plus faible caractérise le traitement EG2, les témoins T1 et T2 ayant des valeurs intermédiaires. Le classement des différents types de pépins en fonction de leurs teneurs décroissantes en ABA se présente finalement de la façon suivante: EG2 < T2 < T1 < EG1 < 2ia. Ce classement est le même pour les deux vignes.

Tab. 1 - Poids sec des pépins (en g par pépin) et teneurs en ABA total (en µg pour 100 g de matière sèche), en fonction des différents types d'incisions annulaires.

Types d'incisions		EG2	T2	T1	EG1	2ia
Cauhins	Poids	3,001	2,699	2,550	2,390	1,255
	ABA	98,77	102,33	111,29	134,61	152,11
Arveyres	Poids	3,095	2,602	2,568	2,402	1,330
	ABA	102,91	112,04	114,82	138,65	166,89

#### b) Teneur en ABA des pépins après réhydratation et traitement par le froid

Avant d'être placés dans les conditions favorables à leur germination, les pépins ont subi une réhydratation pendant 72 heures, puis l'action du froid (2°C) pendant 60 jours. Après ces traitements, on constate (fig. 2) que l'ABA lié a considérablement diminué (de 88% en moyenne) et qu'il en est de même pour l'ABA libre bien que sa diminution (de 30% en moyenne) soit moins accentuée. Il apparaît ainsi une différence très nette entre les deux formes d'ABA avec une inversion de la tendance observée au moment de la récolte, puisqu'à cette époque les teneurs de la forme liée étaient les plus importantes.

On constate en outre que le classement en trois groupes de valeurs noté à la récolte, en fonction de la distribution de l'ABA libre, n'est pas modifié et qu'il est même un peu plus accentué. On peut cependant remarquer que les pépins de type EG2 con-

tiennent davantage d'ABA libre que ceux de type EG1 dans les deux vignes, contrairement à ce qui avait été observé lors de la récolte.

### B — CONSEQUENCES DE LA TENEUR EN ABA DES PEPINS SUR LEUR DEVELOPPEMENT ET LEUR GERMINATION.

Sous l'influence des incisions annulaires, le développement des pépins comme celui des péricarpes subit des modifications et l'on peut se demander quelle est l'influence de l'acide abscissique.

#### a) ABA et développement des pépins

Lorsque deux incisions (2ia) sont pratiquées de part et d'autre des deux grappes, afin de les isoler toutes les deux de l'extrémité et de la base du rameau porteur, le poids sec des pépins issus de

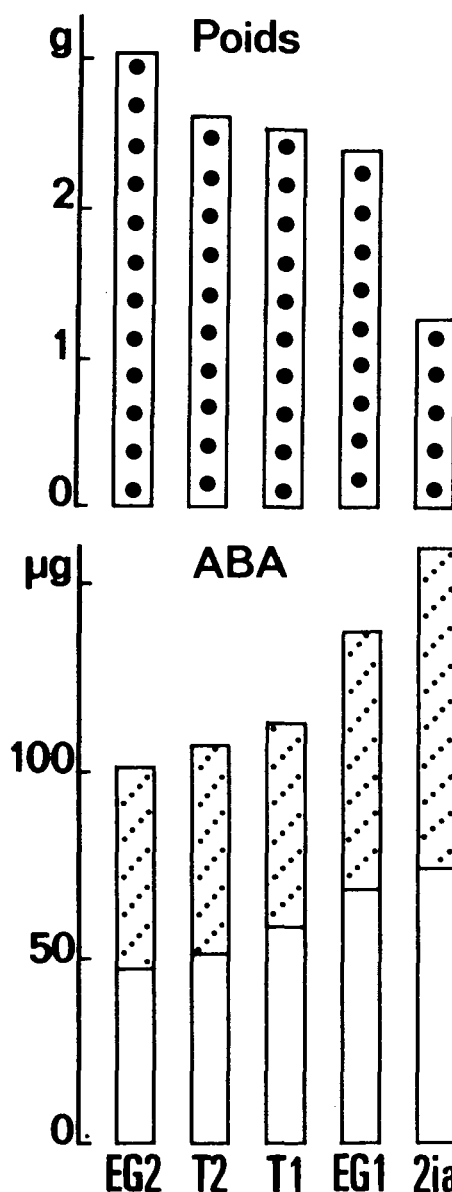


Fig. 3 - Comparaison des poids secs moyens et des teneurs moyennes en ABA total des différents types de pépins des deux vignes. L'ABA total = ABA libre et ABA lié (en pointillé).

ces grappes diminue fortement (de 50% en moyenne) par rapport à celui des témoins (Tab. 1).

Lorsque l'incision est réalisée entre les deux grappes, le poids sec des pépins issus de la première (EG1), la plus proche de la base du rameau, diminue légèrement (de 6% en moyenne) par rapport à celui des pépins des grappes T1 de même rang. En revanche, le poids sec des pépins de la deuxième grappe (EG2), située au-dessus de l'incision, subit une augmentation relativement importante (de 15% en moyenne) par rapport à celui des pépins témoins T2.

Finalement, en fonction de leur poids sec les pépins des différents traitements peuvent être classés dans l'ordre suivant:

EG2 > T2 > T1 > EG1 > 2ia et ce classement est valable pour les deux vignes. Il montre que l'incision annulaire réalisée après la nouaison sur les rameaux principaux de Cabernet Sauvignon a une influence sur le développement des pépins et le tableau I permet de préciser que cette influence est très nette.

Si l'on compare maintenant ce classement à celui qui a été établi précédemment en ce qui concerne les teneurs en ABA, on constate qu'il est exactement inverse.

Ainsi, grâce à l'incision annulaire et aux pépins de différentes qualités qu'elle permet d'obtenir, il est possible de mettre en évidence l'existence d'une relation entre la croissance pondérale du pépin et sa teneur en ABA, relation qui suggère un effet inhibiteur de la part de cet acide (fig. 3).

#### b) ABA et germination des pépins

Les figures 4A (Couhins) et 4B (Arveyres) qui représentent les pourcentages de germination obtenus avec les différentes catégories

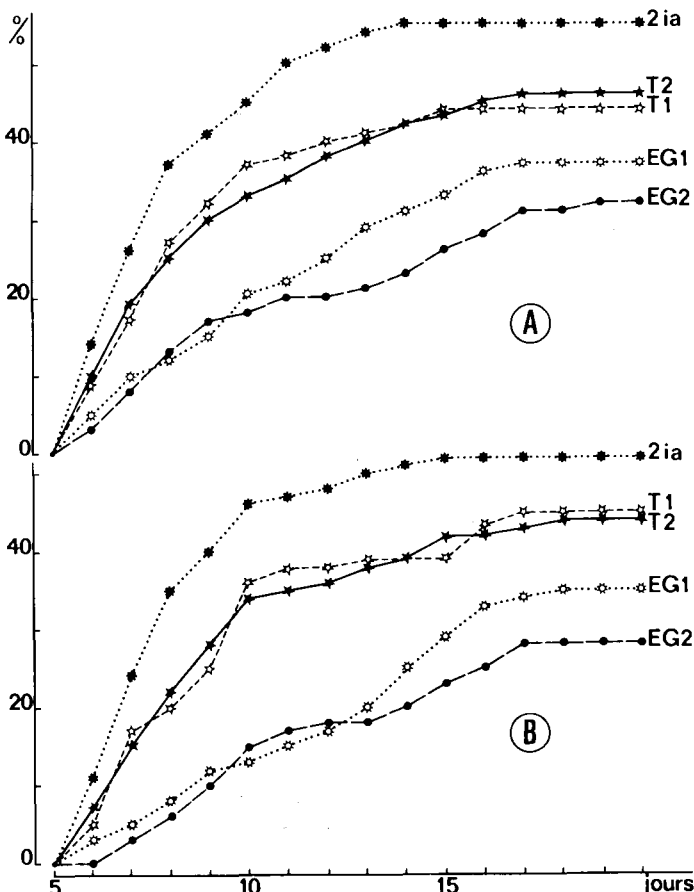


Fig. 4 - Variations des pourcentages de germination des différents types de pépins en fonction du temps. A = vigne de Couhins, B = vigne d'Arveyres.

ries de pépins montrent clairement l'influence des incisions annulaires puisque trois ensembles de courbes se détachent: d'une part, les courbes de germination correspondant aux pépins témoins T1 et T2 qui sont pratiquement confondues, d'autre part celles des pépins de type 2ia qui représentent le pourcentage de germination le plus élevé, enfin celles des pépins EG2 caractérisés par le pourcentage de germination le plus bas. Les vitesses de germination sont différentes aussi, la plus rapide étant observée pour les pépins de type 2ia, les plus lentes pour ceux de types EG1 et surtout EG2, les pépins témoins T1 et T2 ayant des vitesses de germination intermédiaires.

Ces résultats suggèrent immédiatement l'existence d'une relation entre les teneurs en ABA des pépins au moment de leur mise en germination (fig. 2) et leurs possibilités de germination. Cette relation apparaît tout particulièrement claire avec les teneurs en ABA libre que l'on trouve dans les pépins après le traitement de levée de dormance par le froid. On constate en effet qu'il existe une remarquable corrélation entre ces dernières teneurs et les courbes de germination. A la plus faible teneur en ABA libre (2ia), correspondent les meilleures possibilités de germination. A la plus forte teneur en ABA libre correspond la germination la plus mauvaise (EG2) et pour des teneurs sensiblement égales (T1 et T2), l'aptitude à la germination est pratiquement la même. EG1 se situe entre T1 et T2 d'une part et EG2 d'autre part.

Il semble donc exister une relation très nette entre les possibilités de germination des différents types de pépins et leurs teneurs en ABA libre au moment de leur mise en germination. Dans la mesure où l'ABA peut être impliqué dans les phénomènes de dormance, cette relation pourrait traduire l'existence d'une dormance résiduelle plus ou moins marquée chez les différents types de pépins.

Il y a lieu de préciser enfin que si l'on compare les poids des différents types de pépins à la récolte et les possibilités de germination de ces pépins (Tab. 1 et fig. 4), on constate que ces dernières sont les meilleures pour les pépins de type 2ia, c'est à dire ceux dont les poids sont les plus faibles, et les plus mauvaises pour les pépins de type EG2, c'est à dire ceux dont les poids sont les plus élevés. Comme ces résultats s'observent très nettement pour les deux vignes considérées, il apparaît clairement que, dans nos conditions expérimentales, les meilleures possibilités de germination des pépins ne sont pas liées à la présence de la quantité de réserves la plus grande.

#### C — DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Il est difficile de s'interroger sur le déterminisme de la disparition d'une partie importante de l'ABA contenu dans les pépins après leur traitement par le froid sans évoquer une éventuelle relation entre la teneur en ABA de ces graines et leur dormance. Les résultats que nous avons obtenus sont en accord avec ceux de certains auteurs (cf. Walton, 1980 et Côme, 1982) qui constatent que l'élimination de la dormance par le froid est concomitante d'une baisse de la teneur en ABA des graines.

Nous avons alors cherché à préciser les modalités de la disparition de l'ABA des pépins entre leur récolte et leur mise en germination.

En ce qui concerne la diminution de la quantité totale d'ABA (libre et lié), il est remarquable de constater qu'elle s'est produite dans les deux vignes dans des proportions importantes, de l'ordre de 60%, mais comparables pour les différents types d'incisions annulaires, à l'exception de EG2 où elle a été plus faible (Tab. II).

La disparition de l'ABA lié est spectaculaire, de l'ordre de 90%, quel que soit le type de pépins, T1, T2, 2ia, EG1 ou EG2. Elle est due à la fois au lessivage des téguments au cours de la réhydratation (Broquedis, 1984) et au traitement de levée de dormance par le froid. La disparition presque complète de cette forme d'ABA peut être attribuée aux conditions favorables à son hydrolyse, ce qui fait alors apparaître de l'ABA libre.

L'ABA libre semble avoir diminué moins fortement (de 30%

**Tab. 2 - Comparaison de la teneur en ABA total des pépins (en ng/pépin) au moment de leur récolte (R) et au moment de leur mise en germination (G).**

Types d'incision		EG2	T2	T1	EG1	2ia
Couchins	R	29,70	26,89	28,00	32,83	18,50
	G	14,47	10,32	10,10	14,47	7,20
Arveyres	R	31,80	28,98	29,60	32,43	22,03
	G	15,73	10,22	10,29	13,65	7,84

en moyenne) que l'ABA lié, si l'on ne considère que la quantité initiale de cette forme libre. En fait, la quantité d'ABA disparue sous forme libre est très importante car l'ABA lié est une source potentielle d'ABA libre. On peut donc penser que la totalité de l'ABA libre qui a disparu correspond à la totalité de l'ABA libre initial et à une partie de l'ABA libre provenant de l'hydrolyse de l'ABA lié dont la diminution considérable ne peut s'expliquer que de cette façon. Les résultats montrent aussi que cette diminution de l'acide libre (celui qui était libre et celui qui a été libéré par hydrolyse) ne s'est pas produite, contrairement à ce qui s'est passé pour l'acide lié, avec la même amplitude pour toutes les catégories de pépins puisqu'on enregistre des variations allant de 6 à 39%. Les variations se retrouvent pour les deux vignes. On peut admettre que ces différences significatives sont en rapport avec la qualité de chaque type de pépins, avec leur état physiologique ou moment de leur récolte (maturité des embryons surtout) puisque la teneur en ABA libre de tous ces pépins, pour tant traités de la même façon avant leur mise en germination, n'a pas diminué dans les mêmes proportions et qu'ils n'ont pas tous acquis les mêmes possibilités de germination.

La quantité totale d'ABA endogène des pépins ayant baissé en moyenne de 60% (Tab. II) au moment de la mise en germination, donc après réhydratation et traitement par le froid, il était intéressant de préciser à quel moment la disparition de l'ABA s'est produite. Pour cela on a analysé les eaux dans lesquelles les pépins ont trempé pendant 72 heures, puis celles des morceaux de coton qui ont servi à maintenir l'imbibition pendant 60 jours et aussi les eaux de rinçage des pépins au bout de ces 60 jours.

Ces analyses montrent que la quasi totalité de l'ABA qui a disparu des pépins en 72 heures se retrouve sous sa forme libre dans l'eau de trempage. Il ne subsiste en effet qu'une faible différence entre la quantité d'ABA perdue par les pépins et celle retrouvée dans l'eau de trempage. Cette importante diffusion dans l'eau a sans doute été facilitée à la fois par une perméabilité accrue des téguments des pépins (ramollissement par l'eau et augmentation de la perméabilité membranaire due à l'ABA) et par des conditions physiques favorables (réhydratation et température élevée).

Après le trempage, sous l'influence du froid, la perte d'ABA s'est accentuée pour atteindre finalement les 60% de sa valeur initiale. On retrouve de nouveau de l'acide libre dans les eaux de rinçage et dans le morceau de coton qui ont assuré l'imbibition des graines. Les pépins ont donc encore cédé de l'ABA libre par diffusion et, si l'on compare la totalité de l'ABA libre cédé au milieu extérieur à la quantité initiale d'ABA, il apparaît entre les deux une différence nette. Il est possible que cette différence corresponde à une dégradation de l'ABA provoquée par les embryons dont l'activité a repris et qui sont alors le siège de phénomènes complexes (Milborrow et Vaughan, 1979). Ces embryons jouent certainement un rôle prépondérant dans la libération de l'ABA à partir de l'ABA lié présent dans les téguments des pépins et dans la dégradation ultérieure d'une autre partie de l'ABA par la voie de l'acide phaséique.

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Athman A. (1983) - *Recherches sur l'incision annulaire de la Vigne*. Thèse Docteur-Ingénieur, Bordeaux.
- Balthazard J. (1979) - *Contribution à l'amélioration de la germination des graines de Vigne*. Thèse Doctorat d'Université, Dijon.
- Barthe PH. (1983) - *Acide abscissique et dormance embryonnaire chez Pyrus malus L.* Thèse d'Etat, Nice.
- Bouard J. (1978) - *Possibilités de développement des ovules et qualité des pépins de raisin en fonction du rang des grappes sur les sarments*. In Génétique et amélioration de la Vigne, 59-67, I.N.R.A. 472 p.
- Broquedis M. (1983) - *Evolution de l'acide abscissique lié (abscissate de B-D-Glucopyranose) et de l'acide abscissique libre au cours du développement de la baie de raisin*. *Connaissance Vigne Vin*, 17, (4), 247-257.
- Broquedis M. (1984) - *Sur la diffusion d'une partie de l'acide abscissique des pépins de raisin au cours de la phase de réhydratation nécessaire à leur germination*. *Connaissance Vigne vin*, 18, (4), 273-276.
- Broquedis M. et Bouard J. (1980) - *Abscissic acid in different seed categories of two grapes varieties, Ugni blanc and Cabernet Sauvignon*. *Proceedings of U.C.D. grape and wine centennial symposium*. University of California, Davis, 1982, 156-158.
- Côme D. (1982) - *Germination*. In P. Mazliak, *Physiologie végétale II, Croissance et développement*. Hermann, Paris, 129-225.
- Düring H. (1978). *Studies on the environmentally controlled stomatal transpiration in grape vines. II - Effects of girdling and temperatures*. *Vitis*, 17, 1-19.
- Lepage-Degivry M.Th. et Bulard C. (1979) - *Acide abscissique lié et dormance embryonnaire chez Pyrus malus*. *Physiol. Plant.*, 46, 115-120.
- Milborrow B.V. (1970) - *Metabolism of abscissic acid*. *J. Exp. Bot.*, 21, 17-29.
- Milborrow B.V. (1974) - *The chemistry and physiology of abscissic acid*. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 25, 259-307.
- Milborrow B.V. et Vaughan G. (1979) - *The long term metabolism of ( $\pm$ ) - (2-<sup>14</sup>C) abscissic acid by apple seeds*. *J. Exp. Bot.*, 30, 983-995.
- Walton D.C. (1980-81). - *Does ABA play a role in seed germination? Israel J. Bot.*, 29, 168-180.

## INFLUENCE DE L'INCISION ANNULAIRE SUR LA QUALITE DES PEPINS DE RAISIN: CONSEQUENCES SUR LEUR TENEUR EN COMPOSES PHENOLIQUES

**G. DARNÉ - J. BOUARD**

Laboratoire de Physiologie végétale et Ampélogie - Université de Bordeaux Talence (France)

Dans le cadre d'une étude plus générale sur la germination, nous avons cherché à obtenir des pépins de différentes qualités

au moyen d'incisions annulaires réalisées à différents niveaux sur des rameaux fructifères. Cette technique qui a une influence sur le développement et la maturation des baies entraîne aussi des modifications des pépins, et les résultats que nous donnons ici se rapportent à leurs teneurs en polyphénols.

#### Matériel et méthodes

Les raisins ont été récoltés en 1983 dans une vigne de Merlot greffée sur SO4 et âgée de 14 ans. Sur chaque souche, un rameau fructifère portant deux grappes a été incisé peu après la nouaison. L'incision a été pratiquée soit avant les grappes (AV), soit entre les deux grappes (EG1 et EG2), soit après les grappes (AP), soit simultanément avant et après les deux grappes (il y a alors deux incision: 2ia). Chaque type d'incision a été répété sur vingt pieds

différents. Les deux grappes portées par les rameaux incisés ont été prélevées à l'époque de la maturité des grappes témoins T1 et T2 (grappes de rangs 1 et 2).

Les pépins ont été extraits des baies préalablement congelées, puis répartis en 7 lots correspondant respectivement aux deux lots témoins, T1 et T2, et aux autres lots, EG1, EG2, AV, AP et 2ia. Dans les trois derniers lots, les pépins des grappes 1 et 2 ont été réunis. Tous les pépins ont été immédiatement lyophilisés.

L'extraction des composés phénoliques solubles totaux a été réalisée selon le protocole de Darné et Madero (1979). Les teneurs en composés phénoliques solubles totaux (CPST) et en tanins proanthocyanidiques (TPA) ont été respectivement estimées par le réactif de Folin-Ciocalteu et par la transformation des proanthocyanidines par chauffage en milieu acide ("réaction de Bate-Smith") selon les méthodes décrites par Riberreau-Gayon et Stonestreet (1966).

## Résultats et discussion

Les résultats obtenus se rapportent aux teneurs en CPST et en TPA. Les tableaux I et II donnent les valeurs trouvées rapportées respectivement à un gramme de matière sèche et à un pépin. Ils permettent de préciser l'influence exercée par une seule incision annulaire ou par deux incisions.

Tab. 1 - Teneurs en CPST et en TPA des pépins de merlot en fonction des différents types d'incisions annulaires. (Les CPST sont exprimés par l'indice de Folin-Ciocalteu: 10 D.O./g MS, les TPA en mg/g MS)

Pépins de types	T1	AP	EG1	T2	AV	EG2	2ia
CPST	9,55	11,00	10,80	12,60	12,55	13,99	11,31
TPA	70,82	95,26	91,35	107,62	113,69	120,51	95,29

Tab. 2 - Teneurs en CPST et en TPA d'un pépin de merlot en fonction des différents types d'incisions annulaires. (Les CPST sont exprimés par l'indice de Folin-Ciocalteu: 10 D.O. par pépin, les TPA en mg/pépin)

Pépins de types	T1	AP	EG1	T2	AV	EG2	2ia
CPST	0,249	0,268	0,287	0,317	0,346	0,391	0,305
TPA	1,77	2,32	2,43	2,71	3,14	3,36	2,57

### A) INFLUENCE D'UNE SEULE INCISION ANNULAIRE

#### 1. Sur le gradient de teneurs en CPST et en TPA qui existe entre les pépins des grappes 1 et 2.

Tous les dosages effectués montrent que les teneurs en CPST et en TPA des pépins des grappes 1 et 2 sont différentes. En effet, les pépins des grappes de rang 2 sont toujours plus riches en CPST et en TPA que ceux des grappes de rang 1.

Cette différence entre les deux grappes se retrouve lorsqu'elles sont isolées l'une de l'autre par une incision annulaire, que les résultats soient exprimés par rapport à 1 gramme de matière sèche ou par rapport à un pépin.

Le gradient de teneurs en composés phénoliques qui existe normalement entre les pépins des deux premières grappes n'est donc pas modifié par l'incision annulaire et l'on constate ainsi que ce sont toujours les pépins de la grappe la plus proche de l'extrémité apicale du rameau (T2 et EG2) qui sont les plus riches en CPST et en TPA (fig. 1).

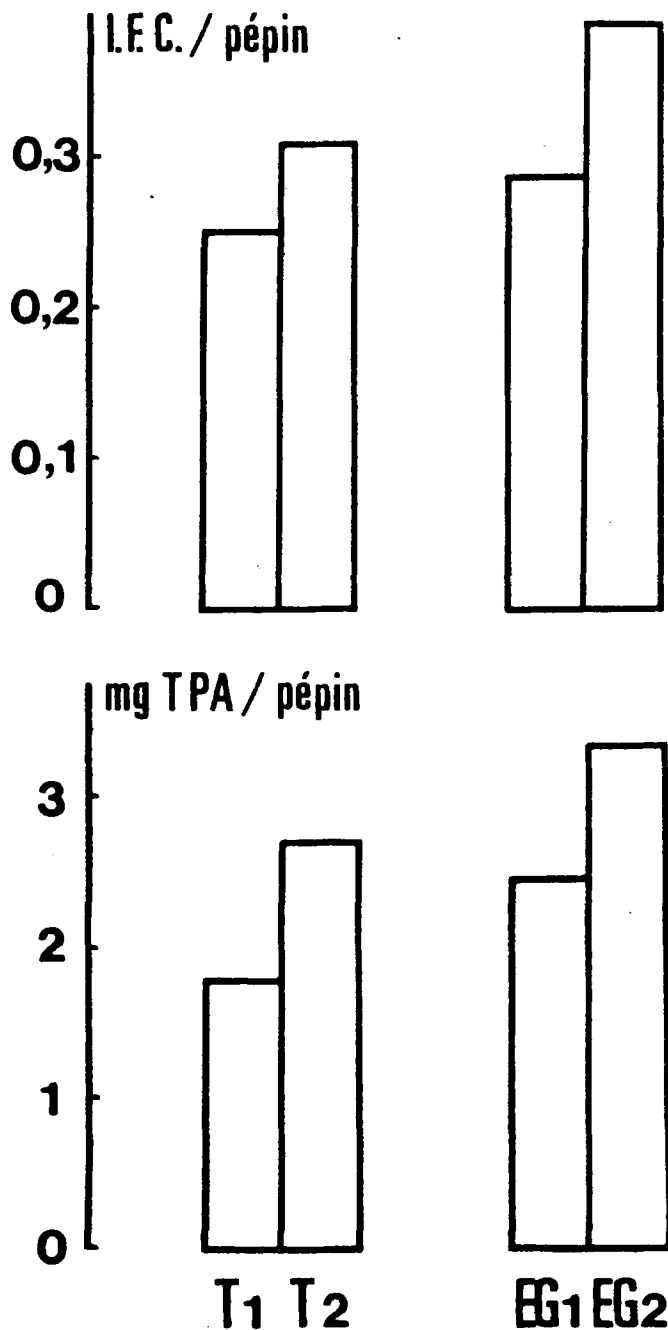


Fig. 1 - Influence du rang de la grappe (Merlot) sur les teneurs en CPST et en TPA d'un pépin. La grappe 2 est plus riche en composés phénoliques. L'incision annulaire entre les 2 grappes ne modifie pas ce gradient et augmente les teneurs.

#### 2. Sur les teneurs en CPST et en TPA des pépins des deux grappes

Lorsqu'une seule incision annulaire est effectuée sur le rameau fructifère, que ce soit avant les deux grappes (AV), entre les deux grappes (EG1 et EG2) ou après les deux grappes (AP), il se produit toujours une augmentation des teneurs en CPST et en TPA dans les pépins. Cette augmentation s'observe aussi bien pour la grappe 1 que pour la grappe 2, quel que soit le mode d'expression utilisé.

Un tel résultat montre que le traumatisme provoqué par une incision annulaire, quelle que soit sa position, ainsi que les entraves aux migrations des assimilats photosynthétiques qui en sont la conséquence, semblent favoriser l'accumulation et peut-être la

synthèse des CPST et des TPA dans les pépins des deux premières grappes.

Il est intéressant de préciser cependant que l'importance de cette augmentation des teneurs en CPST et TPA n'est pas la même pour les différents traitements. Il existe donc des variations en fonction de la position de l'incision par rapport aux grappes et ces variations ne sont pas quelconques. On constate en effet, qu'au moment de la maturité des baies des témoins, les pépins provenant des grappes soumises aux diverses expérimentations ont des teneurs en polyphénols qui s'échelonnent toujours dans le même ordre, quel que soit le mode d'expression utilisé: EG2 > AV > T2 > EG1 > AP > T1.

Un tel classement montre clairement que les variations des teneurs en polyphénols des pépins se font dans un sens très précis. Les plus fortes teneurs sont toujours observées dans les pépins des grappes situées au-dessus de l'incision annulaire (EG2 et AV), les plus faibles toujours dans les pépins des grappes placées au-dessous de l'incision (EG1 et AP). Deux cas doivent donc être discutés:

— *cas des teneurs les plus fortes.*

Elles résultent d'une augmentation en CPST supérieure à 20% (AV = +39%, EG2 = +23%) et d'une augmentation en TPA variant de +24% pour EG2 à +77% pour AV par rapport aux témoins correspondants (T1 et T2). Par ailleurs (Athman, 1983, Athman et al., 1983), nous avons pu vérifier qu'une augmentation des teneurs en polyphénols se produisait également au niveau de tous les organes placés au-dessus d'une incision annulaire et restés en relation avec l'extrémité apicale du rameau (mérithalles, rafles, feuilles et pellicules des baies).

La barrière que constitue l'incision annulaire provoque donc l'arrêt de la migration par le liber des polyphénols ou de leurs précurseurs photosynthétisés dans les feuilles des parties moyenne et apicale du rameau fructifère, feuilles qui sont les plus actives. Cela se traduit essentiellement par une biosynthèse accrue des anthocyanes dont les teneurs augmentent beaucoup plus rapidement et fortement que chez le témoin non incisé, non seulement au niveau des pellicules des baies dont la véraison est plus précoce, mais aussi au niveau des feuilles dont les couleurs automnales apparaissent plus tôt. Cette augmentation de teneur en anthocyanes mérite d'être signalée ici car elle peut aider à interpréter certains aspects du métabolisme polyphénolique liés à la pratique de l'incision annulaire.

— *cas des teneurs les plus faibles*

Elles correspondent aussi à une augmentation en CPST, mais inférieure à 20% (+15% pour EG1 et +7,5% pour AP) et à une augmentation en TPA de +37% pour EG1 et de +31% pour AP par rapport aux pépins témoins correspondants.

Une telle augmentation en CPST et en TPA dans le cas des grappes de types AP et EG1 peut paraître surprenante puisque les produits photosynthétisés par les feuilles placées au-dessus de l'incision ne peuvent parvenir aux grappes. En revanche, les produits photosynthétisés par les feuilles placées au-dessous de cette incision, en particulier la feuille F2 (traitements AP) et la feuille F1 (traitements AP et EG1) ont la possibilité de migrer vers les pépins par le liber. En outre, une migration pourrait, dans ces conditions anormales, se produire à partir du reste de la plante et cela pourrait peut-être expliquer l'existence d'une accumulation plus faible de polyphénols dans les pépins de ces grappes placées au-dessous d'une incision annulaire et reliées au reste de la plante.

Si l'on tient compte du fait qu'une synthèse d'anthocyanes se manifeste tardivement au niveau des pellicules des baies situées au-dessous de l'incision annulaire, et si l'on admet que la pratique de l'incision active le métabolisme phénolique, on est amené à penser qu'une partie des polyphénols synthétisés ne pourrait plus être accumulée sous forme de tanins proanthocyanidiques dans les pépins parce qu'elle aurait la possibilité d'être transformée en

anthocyanes destinées aux pellicules. Par suite de cette compétition entre les deux voies métaboliques qui conduisent soit aux tanins des pépins, soit aux anthocyanes des pellicules, l'accumulation des polyphénols au niveau des pépins serait évidemment moins importante.

## B) INFLUENCE DE DEUX INCISIONS ANNULAIRES

L'isolement des grappes de rangs 1 et 2 au moyen de deux incisions annulaires réalisées l'une avant la grappe 1, l'autre après la grappe 2, entraîne deux conséquences importantes:

— première conséquence

Sous l'effet des deux incisions, le métabolisme phénolique des pépins des deux grappes isolées est activé. En effet, on constate que, par rapport aux pépins des grappes témoins, il se produit une augmentation importante des teneurs en CPST (+22,5%) et plus importante encore des teneurs en TPA (+45%). En revanche, les baies ne parviennent pas à vérer.

Les dosages effectués dans les autres organes (Athman, 1983, Athman et al., 1983) montrent qu'une telle activation du métabolisme phénolique n'est pas limitée aux pépins. Les CPST augmentent aussi dans les mérithalles et dans les rafles situés entre les deux incisions, ainsi que nous l'avons remarqué.

— deuxième conséquence

L'absence de véraison dans les grappes isolées par deux incisions annulaires suggère qu'il s'établit une compétition pour les polyphénols entre les pépins et les pellicules des baies.

Les précurseurs du métabolisme phénolique ne peuvent provenir que des feuilles F1 et F2 laissées respectivement en face des grappes 1 et 2 puisque les deux incisions isolent ces deux grappes en empêchant toute relation par le liber avec l'extrémité apicale du rameau d'une part, et le tronc d'autre part. Les polyphénols qui pourtant sont produits en plus grande quantité s'accumulent donc préférentiellement sous forme de TPA dans les pépins et ne se transforment pas en anthocyanes dans les pellicules.

Il semble donc qu'une substance nécessaire à la synthèse des anthocyanes fasse défaut ou ne soit pas présente en quantité suffisante par suite de l'interruption de la circulation libérienne. Il pourrait s'agir d'un glucide puisque les anthocyanes sont toujours sous forme glycosylée, ou bien d'une enzyme nécessaire à l'orientation des synthèses polyphénoliques vers la voie des anthocyanes.

Dans quelques cas de doubles incisions pratiquées sur d'autres cépages en 1984, nous avons pu constater que la véraison des baies parvenait parfois à se manifester très tardivement. La cause devra en être recherchée. Peut-être quelques tubes criblés étaient-ils demeurés fonctionnels?

Lorsque les pellicules des baies de type 2ia sont ainsi parvenues à synthétiser des anthocyanes, nous avons constaté que cette synthèse s'accompagnait d'une diminution nette des teneurs en polyphénols des pépins par rapport à celles des pépins des témoins (-31% de CPST, -39% de TPA). Ce phénomène semblerait bien confirmer l'existence d'une compétition entre la synthèse des tanins constitutifs des pépins et la synthèse des anthocyanes des pellicules lorsqu'elle est possible.

## Conclusions

L'incision annulaire pratiquée sur le rameau fructifère de la Vigne provoque une augmentation des teneurs en composés phénoliques solubles totaux et en tanins proanthocyanidiques dans les pépins des grappes portées par ce rameau. Elle semble donc activer le métabolisme polyphénolique.

Cette accumulation, qui se produit dans tous les cas, est plus forte dans les pépins des grappes situées au-dessus d'une incision, c'est à dire celles qui sont en relation avec les feuilles de l'extrémité apicale du rameau, alors qu'elle est plus faible dans les pépins des grappes placées au-dessous de l'incision.

Lorsque deux incisions annulaires sont faites afin d'isoler les grappes du reste de la plante, la teneur en polyphénols des pépins augmente toujours lorsque les baies ne vérent pas, mais diminue lorsqu'une synthèse d'anthocyanes parvient à se produire au niveau des pellicules: l'évolution de cette teneur est donc liée à la véraison.

L'interprétation de l'ensemble des phénomènes observés suggère finalement une compétition entre le métabolisme polyphénolique des pépins qui accumulent des tanins proanthocyanidiques, et le métabolisme anthocyanique des pellicules. On peut penser que la biosynthèse des polyphénols, qui semble toujours activée par l'incision annulaire donne naissance à un précurseur phénolique, peut-être un flavanonol. Ce corps, lorsqu'il ne peut pas être transformé en anthocyanane glycosylé du fait de l'arrêt, par l'incision, d'une enzyme ou d'un glucide élaboré au niveau des feuilles photosynthétiquement actives du rameau, pourrait être transformé en

flavanédiols-3,4, éléments constitutifs des tanins proanthocyanidiques qui s'accumulent préférentiellement dans les pépins.

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Athman A. (1983) - *Recherches sur l'incision annulaire de la Vigne*. Thèse Docteur-Ingénieur, Bordeaux, 156 p.
- Athman A., Darné G. et Bouard J (1983) - *Influence de l'incision annulaire sur les composés phénoliques totaux et les tanins proanthocyanidiques des rameaux principaux de la Vigne*. 2ème Symposium international sur la Physiologie de la Vigne, Bourgas, Bulgarie.
- Darné G. et Madero J. (1979) - *Mise au point d'une méthode d'extraction des lipides solubles totaux, des glucides solubles totaux et des composés phénoliques solubles totaux des organes de la Vigne*. *Vitis*, 18, 221-228.
- Ribereau-Gayon P. et Stonestreet E. (1966) - *Dosage des tanins du vin rouge et détermination de leur structure*. *Chim. Anal.*, 48, 188-196.

## INFLUENCE DE L'INCISION ANNULAIRE SUR LA QUALITE DES PEPINS DE RAISIN: CONSEQUENCES SUR LEURS TENEURS EN LIPIDES.

J.J. LAVAUD - J. BOUARD

Laboratoire de physiologie végétale et Ampélogie - Université de Bordeaux - Talence (France).

On sait que les pépins contiennent d'abondantes réserves lipidiques et qu'ils sont particulièrement riches en acides gras insaturés. Dans le cadre d'une étude plus générale sur la germination, nous avons cherché à modifier expérimentalement cette teneur en lipides. Pour cela, nous avons employé la technique de l'incision annulaire et ce sont les résultats obtenus qui font l'objet de ce travail.

### Matériel et méthodes

Les raisins ont été récoltés en 1983 dans une vigne de Merlot greffée sur SO4 et âgée de 14 ans. Sur chaque souche, un rameau fructifère portant deux grappes a été incisé peu après la nouaison. L'incision a été pratiquée soit avant les grappes (AV), soit entre les deux grappes (EG1 et EG2), soit après les grappes (AP), soit simultanément avant et après les deux grappes (il y a alors deux incisions; 2ia). Chaque type d'incision a été répété sur 20 pieds différents. Les deux grappes portées par les rameaux incisés ont été prélevées à l'époque de la maturité des grappes témoins T1 et T2 (grappes de rangs 1 et 2).

Les pépins ont été extraits des baies préalablement congelées, puis répartis en 7 lots correspondant respectivement aux deux lots témoins T1 et T2, et aux autres lots, EG1, EG2, AV, AP et 2ia. Dans les trois derniers lots, les pépins des grappes 1 et 2 ont été réunis. Tous les pépins ont été immédiatement lyophilisés.

Les lipides totaux ont été extraits selon la technique de Bligh et Dyer (1959) adaptée aux organes de la Vigne par Darné et Madero (1979). Les lipides neutres ont été séparés des lipides polaires par chromatographie sur colonne d'acide silicique suivant la technique décrite par Vorbeck et Marinetti (1965), modifiée par Chavant et Sancholle (1977). Le dosage des acides gras a été réalisé par chromatographie en phase gazeuse selon la méthode décrite en détail par Atalay (1975) pour les organes de la Vigne.

Tab. 1 - Teneurs en acides gras insaturés (AGI) et saturés (AGS), en mg/g MS et par pépin, et proportions relatives des AGI et des AGS. (Merlot, 1983).

Types d'incisions		2ia	AP	EG1	T1	T2	EG2	AV
Teneurs mg/g MS	AGI	95,3	101,3	92,8	88,2	84,4	76,2	74,4
	AGS	10,8	11,8	10,1	9,5	9,2	8,5	8,3
Teneurs par pépin	AGT	2794	2693	2708	2443	2339	2227	2178
	AGI	89,8	89,6	90,2	90,3	90,2	90,0	89,9
%	AGS	10,2	10,4	9,8	9,7	9,8	10,0	10,1

### Résultats

#### A — INFLUENCE DES INCISIONS ANNULAIRES SUR LES ACIDES GRAS DES PEPINS

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tab. 1. Exprimés par rapport à la matière sèche, ils permettent de grouper les pépins, en fonction de leurs teneurs en acides gras totaux, en 3 ensembles. Le premier est constitué par les témoins T1 et T2, le second comprend les traitements EG1, AP et 2ia, caractérisés par des teneurs en acides gras plus élevées et le troisième rassemble les traitements EG2 et AV dont les teneurs en acides gras sont plus faibles.

Il apparaît donc clairement que les incisions annulaires entraînent une modification des teneurs en acides gras des pépins qui, suivant le cas, peut être une augmentation ou une diminution. Cela dépend de la localisation de l'incision.

Si l'on classe les différents traitements en fonction des teneurs en acides gras totaux des pépins, par ordre décroissant par exemple, il apparaît évident que les variations observées: AP > EG1 > T1 > T2 > EG2 > AV ne se font pas de façon quelconque, mais dans un sens très précis. On constate en particulier qu'il existe déjà une différence de teneur en acides gras entre les pépins des grappes T1 et T2, puisque ceux de la grappe T2, la plus proche de l'extrémité du rameau, sont moins riches en acides gras totaux que ceux de la grappe T1, la plus proche de la base du rameau. On remarque en outre que cette différence s'accroît lorsque ces deux grappes sont isolées l'une de l'autre par une incision annulaire: la teneur en acides gras de EG2 est en effet plus faible que celle de T2 et, inversement, celle de EG1 est plus forte que celle de T1 (fig. 1).

Ces résultats montrent que tout se passe comme si la suppression des relations entre la grappe T1 et l'extrémité apicale du rameau stimulait la synthèse des acides gras dans les pépins de cette grappe, le phénomène inverse se manifestant pour la grappe T2. Une telle interprétation s'accorde bien avec les valeurs obtenues

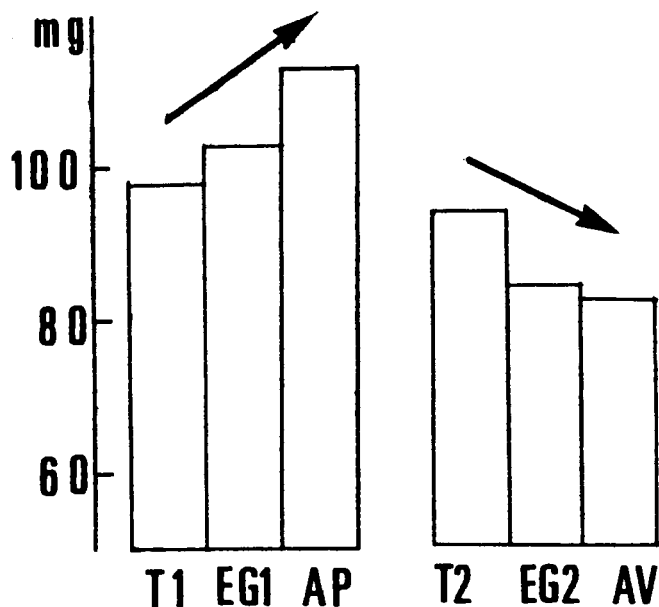


Fig. 1 - Teneurs en acides gras totaux des pépins des différents traitements. (explication dans le texte).

pour les traitements AP et AV, respectivement comparables à EG2 et à EG1 quant à leurs rapports avec l'extrémité apicale du rameau.

On retrouve les trois ensembles précédemment définis quand on exprime les teneurs en acides gras par rapport à un pépin. Mais on constate alors que l'on peut considérer comme égales (Tab. 1) les teneurs en acides gras totaux des pépins de types T1 et T2 (2400 µg), celles des pépins de types EG2 et AV (2200 µg) et celles des pépins de types EG1 et Ap (2700 µg).

Dans le cas d'une double incision annulaire (2ia), les valeurs obtenues pour les acides gras totaux sont assez inattendues. Il est en effet curieux de constater qu'elles se situent entre celles qui ont été obtenues pour les traitements AP et EG1 quand on exprime les teneurs en fonction de la matière sèche et qu'elles sont les plus élevées lorsque les teneurs sont exprimées par pépin, alors que les pépins de type 2ia sont les plus petits.

Les incisions annulaires n'entraînent pas de modifications dans les proportions entre les acides gras saturés (environ 10%) et les acides gras insaturés (environ 90%) comme le montre le tableau I. Cette conclusion s'applique aussi au traitement 2ia. Il semble cependant que, sous l'effet des incisions annulaires, et quelle que soit leur localisation, le rapport entre les acides gras insaturés et saturés ait très légèrement tendance à baisser. Si un tel résultat se confirmait, cela montrerait que les incisions annulaires pourraient avoir une action sur les possibilités de désaturation.

## B — INFLUENCE DES INCISIONS ANNULAIRES SUR LES LIPIDES DE RESERVE DES PEPINS

Les lipides neutres qui constituent les réserves lipidiques des pépins représentent, dans tous les traitements, au moins 93% des lipides totaux (Tab. II). Les lipides polaires sont donc présents en faible quantité et les glycolipides (GLP), soit environ 5% des lipides totaux, sont trois fois plus abondants que les phospholipides (PLP).

L'influence des incisions annulaires se manifeste nettement sur les lipides neutres, ce qui n'a rien de surprenant étant donné l'importance de cette catégorie lipidique. On retrouve donc des résultats comparables à ceux qui ont été signalés à propos des acides gras totaux. La grappe T2, déjà moins riche en lipides neutres que la grappe T1 voit sa teneur s'abaisser encore (traitement EG2) lorsqu'elle est isolée de G1 et ce phénomène s'accroît dans le cas du traitement AV. Le phénomène inverse se produit pour

Tab. 2 - Teneurs en lipides neutres (LN) et en lipides polaires (LP) en fonction des différents types d'incisions annulaires (PLP = phospholipides, GLP = glycolipides) et proportions relatives de ces différents lipides. (les teneurs sont exprimées en µg/g MS).

Types d'incisions	2ia	AP	EG1	T1	T2	EG2	AV	
Teneurs	LN	94600	106800	96430	91490	87540	80890	77650
	GLP	4899	4720	4673	4966	4378	4540	4080
	PLP	1780	1589	1829	1269	1657	1480	1051
	LP	6679	6309	6502	6235	6035	6020	5131
%	LN	93,4	94,4	93,7	93,6	93,6	93,1	93,8
	GLP	4,8	4,2	4,5	5,1	4,7	5,2	4,9
	PLP	1,8	1,4	1,8	1,3	1,7	1,7	1,3
	LP	6,6	5,6	6,3	6,4	6,4	6,9	6,2

la grappe T1, normalement la plus riche en lipides neutres, qui voit sa teneur augmenter dans le cas du traitement EG1 et davantage encore lorsqu'il s'agit du traitement AP. Le classement des différents traitements en fonction de leur teneur en lipides neutres est donc le même que celui déjà noté pour les acides gras totaux.

Dans le cas des glycolipides, on observe également une diminution de leurs teneurs par rapport à T2 dans le cas des incisions de types AV et EG2 et une augmentation par rapport à T1 dans le cas des incisions de types AP et EG1.

Si l'on examine maintenant les différents acides gras qui interviennent dans la constitution des trois catégories lipidiques (Tab. 3), on est amené à faire les remarques suivantes:

— l'acide linoléique (C18:2) est l'acide gras de beaucoup le plus abondant; il représente environ 78% de la teneur en acides gras des lipides neutres, environ 73% de celle des GLP et environ 54% de celle des PLP.

— les acides palmitique (C16:0), stéarique (C18:0) et linoléique (C18:3) sont toujours présents en plus grande quantité dans les PLP que dans les GLP et les lipides neutres. Dans les GLP, ils représentent respectivement 27 à 31%, 4 à 5% et 1,5% des acides gras, dans les PLP seulement 10 à 11%, 3 à 4% et 0,5% et dans les lipides neutres moins encore 8%, 1,5% et 0,3%.

— l'acide oléique (C18:1) est représenté en quantités sensiblement égales (de 11 à 13%) dans les trois catégories de lipides.

Dans le cas des lipides neutres, l'influence des incisions annulaires ne se manifeste pas sur tous les acides gras (Tab. 3), mais sur deux seulement, l'acide palmitique et surtout l'acide linoléique. Ce sont les variations de ces deux acides qui sont responsables à la fois de la diminution observée dans les traitements EG2

Tab. 3 - Teneurs (en µg/g MS) des différents acides gras dans les lipides neutres (LN), dans les glycolipides (GLP) et dans les phospholipides (PLP).

Types d'incisions	2ia	AP	EG1	T1	T2	EG2	AV	
LN	16:0	7660	8780	7460	7040	6760	6440	6060
	18:0	1310	1580	1440	1360	1310	1240	1320
	18:1	9890	11700	10900	1480	9930	10110	9920
	18:2	75390	84400	76310	72330	69220	62790	60120
GLP	16:0	505	674	489	500	444	538	452
	18:0	139	204	139	147	127	138	145
	18:1	545	584	561	609	523	594	549
	18:2	3685	3222	3460	3687	3261	3238	2913
PLP	16:0	25	36	24	23	23	32	21
	16:0	479	454	516	369	442	399	323
	18:0	88	78	79	65	78	59	53
	18:1	183	168	196	156	186	171	114
PLP	18:2	993	862	1008	657	926	818	545
	18:3	37	27	30	22	26	33	16



et AV par rapport à T2 et de l'augmentation notée dans les traitements EG1 et AP par rapport à T1. Les teneurs des autres acides gras, C18:0, C18:1 et C18:3 ne sont pas modifiées sous l'influence des incisions annulaires.

Pour les phospholipides, quantitativement très peu abondants, les résultats sont différents. On remarque en effet que les teneurs de tous les acides gras augmentent dans les traitements AP et EG1 et qu'elles diminuent dans les traitements AV et EG2.

Si l'on considère enfin les proportions des acides gras saturés totaux dans les différentes catégories de lipides, on constate qu'elles sont extrêmement différentes, comprises entre 9 et 10 pour les lipides neutres, entre 13 et 15 pour les GLP et entre 30 et 35 pour les PLP. Sous l'influence des incisions annulaires, il semble se produire une très légère augmentation de ces proportions dans le cas des GLP et des lipides neutres.

## Discussion et conclusion

Les résultats obtenus peuvent paraître *a priori* étonnants. On sait en effet que les incisions annulaires ont pour conséquence de bloquer les migrations par le liber et l'on pouvait donc s'attendre à ce que la synthèse des acides gras dans les pépins de types EG2 ou AV soit favorisée. Or, ce sont les pépins de types EG1, AP et même 2ia qui se trouvent être les plus riches en acides gras et il en est ainsi quel que soit le mode d'expression des résultats, par rapport à la matière sèche ou par rapport à un pépin. La différence entre ces deux ensembles de traitements réside dans le fait que les grappes sont ou ne sont pas en relation avec l'extrémité apicale du rameau, responsable de la quasi totalité de l'activité photosynthétique.

Des recherches antérieures (Athman, 1983) faites sur les teneurs en glucides du moût en fonction de ces mêmes types d'incisions annulaires et sur le même cépage avaient abouti à des résultats inverses. Elles avaient montré en effet que les moûts de types AV et EG2 étaient toujours les plus riches en glucides et que ceux de types AP, EG1 et 2ia par conséquent en contenaient moins. Il en était d'ailleurs de même pour les composés phénoliques solubles totaux. Mais, qu'il s'agisse des glucides et des composés phénoliques du moût ou des acides gras des pépins. Le même classement en deux ensembles, EG2 et AV d'une part, EG1, AP et 2ia d'autre part, se retrouve toujours, ce qui montre bien que les variations des acides gras totaux et des lipides de réserve des pépins en fonction des différentes incisions annulaires se font dans un sens très précis.

Nous avons constaté en outre que le poids des pépins par rapport au poids total de la baie était plus élevé dans le cas des baies de type 2ia que dans celui des baies de types EG2 ou AV. Il semble donc que tout se passe comme si le développement des pépins était privilégié par rapport à celui de la pulpe lorsque les conditions de nutrition sont peu favorables.

Si l'on remarque enfin que dans le traitement 2ia (Athman, 1983) les rafles sont peu affectées en ce qui concerne leurs teneurs en acides gras, alors que les mérithalles voisines le sont de façon importante, on peut dire que c'est toute la grappe qui est privilégiée pour la synthèse des acides gras et cela aux dépens des mérithalles voisines dont l'aouêtement ne se fait pas.

Dans le cas des traitements EG2 ou AV, l'une des conséquences du blocage de la migration des produits élaborés par photosynthèse est que la pulpe des raisins s'enrichit en glucides. Dans le cas du traitement EG1 au contraire, les baies situées au-dessous de l'incision annulaire ne peuvent plus recevoir les glucides synthétisés par l'extrémité du rameau et elles sont effectivement beaucoup moins riches en sucre. Dans le même temps, les pépins des grappes AV ou EG2 contiennent moins d'acides gras, alors que ceux des grappes EG1 en accumulent davantage. Il semble donc y avoir antagonisme entre les possibilités d'accumulation des sucres et des composés phénoliques par le péricarpe d'une part, et les possibilités d'accumulation des acides gras par les pépins d'autre part. En définitive, l'ensemble des variations observées montre que les incisions annulaires sont susceptibles d'entraîner des modifications importantes dans le métabolisme lipidique des pépins.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Atalay D. (1975) - *Recherches sur l'évolution des principaux acides gras des sarments de Vigne au cours du cycle végétatif et des boutures au cours de la rhizogenèse*. Thèse Docteur-Ingénieur, Bordeaux, 182 p.
- Athman A. (1983) - *Recherches sur l'incision annulaire de la Vigne*. Thèse Docteur-Ingénieur, Bordeaux, 156 p.
- Bligh E.G. et Dyer W.S. (1959) - *A rapid method of total lipid extraction and purification*. Can. J. Biochem. Biophys., 37, 911-917.
- Chavant L. et Sancholle M. (1977) - *les lipides de deux moisissures: Mucor mucedo et Aspergillus ochraceus se développant sur un même milieu*. Physiol. Vég., 15, (2), 209-218.
- Darné G. et Madero-Tamargo J. (1979) - *Mise au point d'une méthode d'extraction des lipides solubles totaux, des glucides solubles totaux et des composés phénoliques solubles totaux des organes de la Vigne*. Vitis, 18, 221-228.
- Vorbeck M.L. et Marinetti G.U. (1965) - *Separation of glycosyl diglyceride from phosphatide using silice and chromatography*. J. Lip. Res., 6, 3-6.

## UPON SOME ANATOMICAL CHARACTERS OF GRAPEVINE

I.G. KOVACHEV

High School of Agriculture «V. Kolarov» Plovdiv (Bulgarie)

### SUMMARY

#### UPON SOME ANATOMICAL CHARACTERS OF GRAPEVINE

Two main types of epidermis have been established — with plicate epidermic cells and with unplicated ones. In addition to that, two main types of palisade chlorenchyma with cells wide two or three times less than their height and a palisade chlorenchyma with cells 9-10 times higher than wide.

# CARIOLOGIA E ISTOCHIMICA DELLA BACCA DI VITE

R. JONA

Istituto di Coltivazioni Arboree - Tecnica Vivaistica - Università  
di Torino (Italia)

## RESUME

### CARYOLOGIE ET HISTOCHIMIE DES BAIES DE LA VIGNE

*L'étude du développement de la baie et la comparaison entre deux cultivars ("Freisa" et "Barbera") ont été effectuées en analysant une série importante de paramètres. On a observé avant tout la durée de la croissance par mitose qui s'est avérée assez brève (une douzaine de jours en tout). On a étudié ensuite la croissance en volume des cellules en la comparant à celle des baies, on a ainsi relevé un parallélisme intéressant.*

*Les polysaccharides de la paroi cellulaire ont été mesurés en les distinguant par groupes chimiques, dès le début de la croissance.*

*On a constaté que le "Barbera" a un taux de synthèse de toutes les substances beaucoup plus élevé que la "Freisa".*

*On a pu également observer, pour les deux cultivars, que les parois cellulaires de la baie sont constituées pour la moitié environ, de pectines insolubles qui diminuent à maturation parce qu'elles subissent une hydrolyse.*

*Le rapport entre les différents polysaccharides est sensiblement le même chez "Freisa" et "Barbera". La paroi cellulaire de ce dernier est cependant plus riche en polysaccharides.*

*Vice versa, on note une variation intéressante du nombre des cellules de la véraison à la maturation, nombre qui décroît différemment chez les deux cultivars.*

## OBSERVATIONS OF METAXENIA IN GRAPES

simmon), zapallo (squash) y papas (potatoes). No hemos encontrado referencias del mismo respecto a la vid.

Las principales manifestaciones de este efecto se refieren a tamaño de los frutos, variaciones en la forma de ellos, fecha de madurez, y número de semillas.

A. VIEIRA VOLPI

Faculty of Agricultural Sciences - University of Chile

*El programa de cruzamientos en vides de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad de Chile*

Iniciando en 1971, busca mejorar diversos aspectos de las variedades de vid en cultivo, o crear nuevas, de determinadas características, tanto de uvas de mesa como para vinificar.

El Cv. Moscatel Rosado se ha polinizado, en este programa, con algo más de cuarenta cultivares de mesa, tratando de obtener una nueva variedad lo más parecida posible a ella, pero con flores hermafroditas en lugar de las funcionalmente femeninas que este cultivar posee.

### *Observación preliminar sobre posibles efectos matexénicos*

En 1983 nuestra atención fué atraída, al coleccionar los racimos polinizados para obtener semillas, por la existencia de diferencias apreciables a simple vista entre ellos, en cuanto al calibre general, de las bayas. Decidimos replicar las polinizaciones y hacer algunas mediciones al respecto, lo que realizamos en el verano 1983-84.

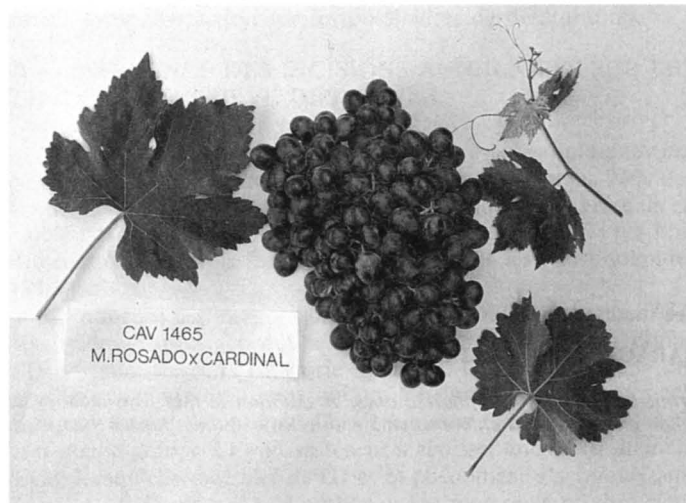
### *Mediciones*

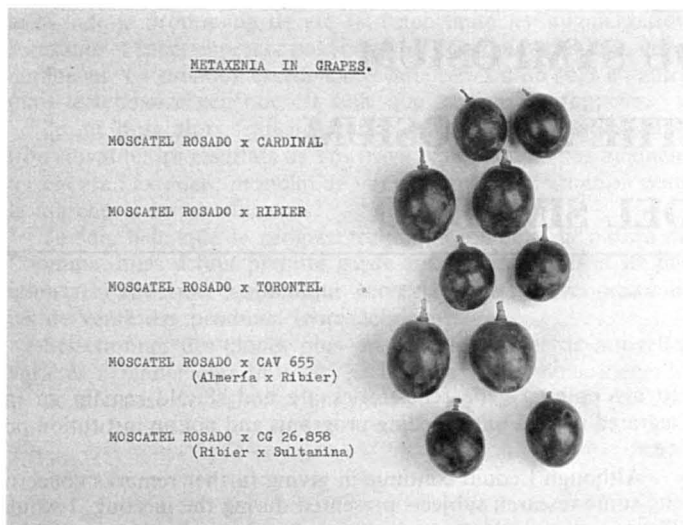
Las variaciones de calibre sólo fueron detectadas por efecto del polen de dos de los progenitores usados como masculinos: Ribier y la variedad experimental CAV 655 (Almería x Ribier). Este efecto no se manifestó con el polen de otros descendientes de Ribier, como Cardinal (Angelino x Ribier) y GC 26.858 (Ribier x Sultanina). Tampoco fué aparente con el de Torontel, cultivar normalmente usado en Chile para la polinización a mano de la Moscatel Rosada en el cultivo industrial a fin de evitar la formación de bayas apiécicas de pequeño tamaño, ni con el de ninguna otra de las variedades usadas en nuestro programa de cruzamiento.

### Introducción

El término «metaxenia» ha sido definido como «el efecto del polen sobre las partes de la semilla y el fruto ubicadas fuera del embrión y el endosperma» (Swingle).

Este efecto, sin embargo, se presenta excepcionalmente y ha sido cuestionado por algunos investigadores, en tanto que otros lo han reportado para manzanas, peras, dátiles, algodón, kaki (per-





Cultivar Prigenitor Masculino	No. de bayas	T.M. calibre polar	T.M. calibre ecuatorial	T.M. del No. de semillas por baya
Cardinal	85	2,05 cm.	1,60 cm.	2,08
Torontel	92	2,19 cm.	1,69 cm.	2,17
CG 26.853	121	2,08 cm.	1,65 cm.	2,19
Ribier	103	2,52 cm.	1,84 cm.	2,41
CAV 655	75	2,48 cm.	1,88 cm.	2,49

ladas resultantes de cinco polinizaciones. Se contó, además, el número de semillas por baya de estas mismas uvas, calculándose así la media de estos valores, los que se detallan en el cuadro siguiente:

### Conclusiones

Existe una alta significancia en cuanto al efecto metaxénico del polen de dos cultivares usados como progenitores masculinos sobre

bayas de Moscatel Rosado. Estos cultivares son Ribier y la variedad experimental CAV 655 (Almería x Ribier).

Ello dejaría suponer que este efecto deriva de alguna condición genética originada por Ribier. Sin embargo el mismo no se presenta con otros cultivares en que éste entra en su composición, como Cardinal y GC 26.853 (Ribier x Sultanina). Asimismo, no se manifestó con el polen de alrededor de cuarenta otros cultivares usados en el programa de cruzamientos.

El aumento de calibre observado proviene del mayor porcentaje de semillas producidas en las bayas polinizadas por los dos cultivares citados primeramente.

Como conclusión práctica, deriva la recomendación de usar polen de Ribier para la polinización cruzada a mano de la Moscatel Rosada, en lugar del de Torontel empleado en Chile en forma industrial para la producción de esta variedad.

### SUMMARY

#### OBSERVATIONS OF METAXENIA IN GRAPES

*The ongoing grape breeding programme at the Faculty of Agricultural Sciences of the University of Chile, has given us the opportunity to search for metaxenial effects in grape cultivars (Vitis vinifera L.).*

*The only measurable metaxenial effect found till now was due to the pollen of Cv. Ribier and Cv. CAV 655 (Almería x Ribier) on berries of Cv. Moscatel Rosado.*

---

# CONCLUSIONS DU SYMPOSIUM

## CONCLUSIONS OF THE SYMPOSIUM

### CONCLUSIONI DEL SIMPOSIO

---

#### FINAL REMARKS

**Coming to the conclusion of the more scientific part of our Symposium, I am pleased to present some final remarks.**

My first impression is that the 4th International Symposium on Grapevine Breeding has demonstrated once again the frontiers of our knowledge in the broad field of breeding research. We could recognize the interesting progress of research in certain fields during the last 4 years since we had our meeting in Davis, Calif., perfectly organized by Professor Olmo. As I had mentioned in my opening address, the future of breeding shall be determined by the techniques of in vitro culture and the possibility of genetic engineering. An essential prerequisite, however, is the understanding of the mechanisms controlling regeneration of tissue cultures or single cells to plantlets. The first presented results towards this aim are very promising but simultaneously they have demonstrated a pronounced lack of knowledge which has to be overcome by many experiments in the near future, in order to face the problems of genetic engineering. Another prerequisite is our knowledge of gene expression and its biochemical control. The problem is well known. Nevertheless, some contributions indicate again the lack of our knowledge and the difficulties with which we are confronted. I consider the possibilities of regeneration and genetic engineering to become a very important step towards the improvement of grapevines. It has to be emphasized that the in vitro culture of grapevines and the future possibilities of genetic engineering cannot replace the conventional breeding programs. Moreover, we have to consider them as very useful and important techniques to improve our breeding efforts and to make breeding more efficient. Tissue culture is and remains an integrated part of breeding.

I express my hope that all researchers concerned with the techniques of in vitro culture may not lose the contact to conventional breeding efforts.

A second general remark concerns the worldwide interest and efforts to maintain the genetic resources of *Vitis* germplasm. There is no doubt about the necessity to intensify our efforts in this field, but I am afraid that the second step determines our activities before the first step is brought to a successful end, because meanwhile facilities are provided to store genotypes before we are sure how to identify these genotypes and before we actually know what genes ought to be stored. I don't want to be misunderstood. I am aware that we cannot evaluate all features of interest and we cannot predict the genes which may become of general importance in perhaps 20 or 30 years ahead. Thus any program of evaluation is a permanent procedure. Furthermore it is necessary that all repositories, regardless where they are located, know the sorted genotypes or what genotypes may be holders of desirable genes in order to serve the demand of breeding. The first step is therefore an international expected procedure of evaluation, as it has been initiated by IBPGR. Again I would like to emphasize that

to my opinion gene repositories are and should remain an integrated part of our breeding programs and not an institution per se.'

Although I could continue in giving further remarks concerning some research subjects presented during the meeting, I would like to mention the second aspect of our meeting. I am thinking in terms of personal contacts, of communications, of discussing our problems with colleagues of other parts of the world, of the very valuable part that friendships play within our cooperations. I am sure that this meeting has created new friendships and renewed older ones.

I regret in this context that our colleagues from Russia obviously had not received permission to join the meeting. If you agree, I shall express our regret to them and our hope to meet them at the next meeting of grapevine breeders.

The realization of this 4th International Symposium on Grapevine Breeding is the result of the very intensive efforts of our colleague and friend Dr. Fregoni. On behalf of all participants, representing 23 countries, I wish to express our sincerest thanks to you, Dr. Fregoni, for the wonderful organization of the meeting, for the generous hospitality we have received during our stay, for the beautiful sunshine during our contributions indoors and for the beautiful rainfall while visiting the most famous town of Venice.

We also want to thank the Scientific Foundation «Sergio Bolla» and its president as well as the president of Cassa di Risparmio for supporting this symposium. Please pass on our thanks to your staff, Dr. Fregoni, who - I am sure - had a very tough time to coordinate the many details of organization.

Last but not least I want to thank our interpreters. They have translated our papers and discussions with a very remarkable devotion.

Although the meeting will still continue for another two days, I may finally give an answer to the question when and where the 5th International meeting ought to be organized. In accordance with the organizing committee I have the honour and pleasure to invite you to come to Germany where the next meeting shall be organized in 1989 at the Federal Research Centre for Grapevine Breeding Geilweilerhof.

*G. Alleweldt*

Monsieur le Président, Mesdames, Messieurs,  
En qualité de Vice Président de l'OIV, je voudrais m'associer aux excellentes paroles de félicitations et de remerciements du Professeur Alleweldt et dire au Professeur Fregoni qui une fois de plus a été sur la brèche que le succès de ce 4<sup>ème</sup> Symposium International lui revient ainsi qu'à ses collaborateurs.

Je rappellerai que personnellement je ne suis ni généticien ni chercheur et que mes préoccupations sont plutôt d'ordre économique. J'ai néanmoins suivi avec un intérêt soutenu vos travaux scientifiques et vous félicite pour les résultats remarquables obtenus dans les divers pays. Je me suis beaucoup enrichi à votre contact.

Cependant aux cours de vos travaux une préoccupation permanente a dominé mon esprit, car vous n'ignorez pas que dans

le Monde la production de vin est importante, en augmentation constante et supérieure aux possibilités de consommation qui, elles, diminuent. La situation excédentaire varie certes d'un pays à l'autre mais le tendance générale est celle que je viens de rappeler.

Je me pose alors franchement et je vous pose aussi la question suivante: les résultats de vos travaux ne vont-ils pas augmenter encore l'excédent mondial de vin et aggraver la situation pour le marché et les producteurs?

Je sais bien que le progrès technique est dans la nature de l'homme, mais il faut prendre garde aux conséquences et ne pas ignorer la situation économique générale et surtout les possibilités de vente des produits, leurs débouchés.

Sélectionner des clones plus productifs et créer de nouvelles variétés à rendements plus élevés, où cela va-t-il nous mener?

Je m'excuse de ces réflexions pessimistes, elles ne sont pas des-

tinées à briser votre enthousiasme, mais vous devez tenir compte dans vos travaux de ces considérations et privilégier à mon avis tout ce qui concourt à réduire les coûts de production et améliorer la qualité. Certains exposés vont dans ce sens, je souhaite leur mise en pratique rapide, d'autres contribuent à l'accroissement des rendements, il est nécessaire jusqu'à nouvel ordre de les freiner.

Voilà ma conscience déchargée et mon dernier message aux généticiens, hommes de science enthousiastes que vous êtes, mais spécialistes solidaires d'un ensemble économique en difficulté.

Encore toutes mes excuses et merci de m'avoir écouté et j'espère compris.

Uhlen  
(Vice-Président de l'O.I.V.)

# INDEX - INDICE

---

## OUVERTURE DU SYMPOSIUM OPENING OF THE SYMPOSIUM APERTURA DEL SIMPOSIO

---

		Zlenko V.A., Golodriga P.Y., Boutenko R.G. Lévenko B.A. (URSS)	
		<i>Biotechnique de multiplication rapide de la vigne par la méthode «in vitro».</i>	36
		Yu Dan Hua, Meredith C.P. (USA)	
	pag.	<i>Environmental and developmental factors affecting adventitious shoot formation in Vitis vinifera.</i>	36
Alleweldt G. (Fed. Rep. of Germany)			
<i>Objectifs du Symposium.</i>			
<i>Aims of the Symposium.</i>			
<i>Obiettivi del Simposio.</i>			
Fregoni M., Bavaresco L. (Italia)			
<i>La contribution italienne dans l'amélioration génétique de la vigne.</i>			
<i>Italy's contribution to the genetic improvement of grape-vine.</i>			
<i>Il contributo italiano nel miglioramento genetico della vite.</i>	1		

### SECTION 1

---

## RESSOURCES GENETIQUES, METHODES DE CONSERVATION DU GERMLASM ET ETUDES D'AMPELOGRAPHIE GENETIC RESOURCES, GERMLASM STORAGE AND AMPELOGRAPHIC STUDIES RISORSE GENETICHE, METODI DI CONSERVAZIONE DEL GERMOPLASMA E STUDI DI AMPELOGRAFIA

---

### Culture in vitro / In vitro culture / Coltura in vitro

Golodriga P.Y., Martchenko A.O., Sidorov V.A. (URSS)			
<i>Organogénèse du callus et perspectives de son emploi dans la sélection de la vigne.</i>			
Gribaudo I. Jona R., Vigliocco R. (Italia)			
<i>La vite nella coltura di tessuti.</i>			
Harst M. (Fed. Rep. of Germany)			
<i>Effects of growth inhibitors on grapevine varieties.</i>			
Haydu Z. (Hungary)			
<i>Application of in vitro cultures in the research on grapevine genetics.</i>			
Kim S.K., Reisch B.I., Aldwinckle H.S. (USA)			
<i>In vitro grape shoot-tip mutagenesis: effects of EMS, ethionine, caffeine and gamma radiation.</i>			
Mauro M.C., Nef C., Ambid C., Fallot J. (France)			
<i>Utilisation de l'embryogénèse somatique en vue d'augmenter la variabilité chez vitis vinifera, var. Cabernet-Sauvignon.</i>			
Mullins M.G. (Australia)			
<i>Progress in the regeneration of grapevines in vitro.</i>			
Reisch B.I., Roberts M.H. (USA)			
<i>Embryogenesis from petiole cultures of «Horizon» grapes.</i>			
Spiegel-Roy P., Sahar N., Baron I., Lavi U. (Israel)			
<i>Ovule and seed culture from early ripening seedless and seeded grape cultivars.</i>			
		Ampélographie / Ampelography / Ampelografia	
		Ahmedullah M. (USA)	
		<i>Pollen morphology of Vitis cultivars using scanning electron microscopy and the significance of pollen classification in grape improvement programme.</i>	54
		Alleweld G., Dettweiler E. (Fed. Rep. of Germany)	
		<i>Ampelographic studies to characterize grapevine varieties.</i>	56
		Almeida Camargo U., Falcão Dias M. (Brasil)	
		<i>Conservation, caractérisation et évaluation du germplasm de vigne au Brésil.</i>	60
		Bisson J. (France)	
		<i>Essai d'ampélographie génétique appliqué au Sauvignon autofécondé.</i>	63
		Boselli M., Fregoni M., Volpe B. (Italia)	
	7	<i>Differenziazione tassonomica delle varietà di vite mediante l'elettroforesi di estratti vegetali.</i>	65
		Calò A., Costacurta A., Cersosimo A., Giust M., Marchetti S., Serafin L. (Italia)	
	8	<i>Studio sull'applicazione del codice internazionale per la descrizione standardizzata delle varietà di viti.</i>	69
		Fanizza G., Intrieri C., Iodice F. (Italia)	
	22	<i>Diversity analysis for seed fatty acid composition in «Vitis vinifera».</i>	73
		Scienza A., Piergiovanni L., Visai C., Conca E., Romano F. (Italia)	
	25	<i>Il profilo antocianico delle uve quale mezzo tassonomico per il riconoscimento dei vitigni rossi.</i>	75
		Truel P., Boursiquot J.M. (France)	
	26	<i>Etude sur le matériel introduit dans les collections ampélographiques en vue de son identification et de la recherche des synonymes.</i>	81
	27		
	29		
		Vignes sauvages / Wild vines / Viti selvatiche	
	32	Boneva I., Kovatchev I. (Bulgarie)	
		<i>Etudes sur la vigne sauvage (Vitis silvestris Gmel), en Bulgarie.</i>	85
	34		

- Golodriga P.Y., Nilov N.G., Doubovenko N.P. (URSS)  
*Banque internationale de données: méthodologie de collecte, d'accumulation et d'emploi de l'information.* 86
- Scienza A., Protti A., Conca E., Romano F., (Italia)  
*Diffusione e caratteristiche della «Vitis vinifera silvestris» Gmelin, in Italia.* 86
- Silvestroni O., Marangoni B., Faccioli F. (Italia)  
*Identificazione e conservazione dei vitigni locali (Vitis vinifera L.) in Emilia-Romagna.* 95

## SECTION 2

### RESISTANCES GENETIQUES ABIOTIQUES ABIOTIC GENETIC RESISTANCE RESISTENZE GENETICHE ABIOTICHE

- Résistance au froid / Freeze resistance / Resistenza al freddo**
- Becker H., Ries R. (Fed. Rep. of Germany)  
*Frost resistance of different grapevine cultivars.* 101
- Egger E., Borgo M. (Italia)  
*Valutazione sulla resistenza al freddo di varietà di vite coltivate nel Veneto in prove di laboratorio.* 105
- Eriş A. (Turkey)  
*Frost-resistance tests of some grape varieties grown in Ankara conditions.* 105
- Fisher K.H., Wiebe J., Hunter D.M., Stevenson S.E. (Canada)  
*The use of freezing test for selection in grape breeding programmes.* 111
- Résistance à la sécheresse / Drought tolerance / Resistenza alla siccità**
- Düring H. (Fed. Rep. of Germany)  
*Aspects of drought tolerance in grape breeding.* 113
- Ries R. (Fed. Rep. of Germany)  
*Water consumption of different grapevine cultivars.* 116
- Zamboni M., Fregoni M., Iacono F. (Italia)  
*Comportamento di specie ed ibridi di vite in condizioni di siccità.* 119
- Résistance à la salinité / Salinity resistance / Resistenza alla salinità**
- Alsaïdi I.H. (Iraq)  
*Effect of saline conditions on growth of some grapevine (Vitis vinifera L.) transplants.* 123
- Aspects différents / Different aspects / Aspetti differenti**
- Becker H. (Fed. Rep. of Germany)  
*New Vitis vinifera varieties with deep red colour for cool climate.* 123
- Clindrić P. (Yugoslavia)  
*Breeding grapevine varieties based on hybridisation of Vitis vinifera x Vitis amurensis.* 127
- Gardea A.A., Madero E.E., Obando R.G., Mancilla R. (Mexico)  
*Behaviour and adaptation of certified grape cultivars under Comarca Lagunera-Mexico ecological conditions.* 132
- Golodriga P.Y., Oussatov V.T., Kiréeva L.K., Kostik M.A., Maltchikov Y.A. (URSS)  
*Théorie, pratique et tâches immédiates pour l'obtention de cépages de vigne résistant aux facteurs biotiques et abiotiques.* 133
- Mayer G. (Austria)  
*Influence of soluble iron and concentration of HCO<sub>3</sub> in nutritive solution on growth and occurrence of chlorosis in rooted cuttings of different vine cultivars.* 133

- Pouget R., Ottenwaelter M. (France)  
*Recherche de porte-greffes adaptés aux sols acides: une nouvelle variété, le Gravesac.* 134

## SECTION 3

### RESISTANCES GENETIQUES BIOTIQUES BIOTIC GENETIC RESISTANCE RESISTENZE GENETICHE BIOTICHE

- Ressources génétiques / Genetic resources / Risorse Genetiche**
- Oussatov V.T., Maltchikov Y.A. (URSS)  
*Le fonds infectieux complexe: méthode effective d'appréciation du degré de résistance du fonds génétique de la vigne aux maladies cryptogamiques et à la phylloxera.* 138
- Valtchev V.J. (Bulgarie)  
*Ressources génétiques pour la création de variétés de vignes résistantes et les résultats obtenus en Bulgarie.* 138
- Résistance aux champignons / Fungus resistance / Resistenza alle malattie fungine**
- Blaich R., Stein U. (Fed. Rep. of Germany)  
*Morphological and biochemical factors of Botrytis resistance in new cultivars of vitis.* 141
- Bouquet A. (France)  
*Introduction dans l'espèce «Vitis vinifera L.» d'un caractère de résistance à l'Oïdium (Uncinula necator) Schw. Burr. issu de l'espèce «Muscadinia rotundifolia» (Michx) Small.* 141
- Chen Ziwen, Yu Dan-Hua, Wang Baoliang, Ye Yong-Gong (China)  
*Latent infection of grape by Glomerella cingulata (Ston.) Spauld et Shrenk and a rapid method for resistance assessment.* 146
- Coutinho M.P., Martins A., (Portugal)  
*Quelques résultats sur la résistance de la vigne au Mildiou et à l'Oïdium.* 148
- Heintz C., Stein U., Blaich R. (Fed. Rep. of Germany)  
*Recherches sur la résistance de nouvelles variétés de vigne à l'Oïdium.* 153
- Li H., Clerjeau M., Doazan J.P. (France)  
*L'hétérocaryose chez «Plasmopara viticola»: mise en évidence, conséquences agronomiques sur la sélection de variétés de vigne résistantes au Mildiou.* 157
- Li H., Doazan J.P. (France)  
*Evaluation de différences de sensibilité au Mildiou (Plasmopara viticola) entre cépages de Vitis vinifera. Analyse préliminaire de deux descendances.* 160
- Yu Dan-Hua, Wang Baoliang, Ye Yonggong, Chen Ziwen (China)  
*Microstructure of grape skin in relation to resistance to Glomerella cingulata (Ston.) Spauld et Shrenk.* 163
- Résistance aux nématodes / Nematode tolerance / Resistenza ai nematodi**
- Lider L.A., Goheen A.C. (USA)  
*Field resistance to the grapevine fanleaf virus: Xiphinema index complex in interspecific hybrids of vitis.* 166
- Aspects différents / Different aspects / Aspetti differenti**
- Korbuly J., Kozma P., Szegedi E. (Hungary)  
*Selection of grapevine hybrids for Crown Gall resistance.* 169

- Olmo H.P. (USA)  
*Evolution of Phylloxera resistance in american vitis.* 172
- Walker M.A., Meredith C.P., Goheen A.C. (USA)  
*A survey of species for resistance to grapevine fanleaf virus.* 175

#### SECTION 4

### AMELIORATION GENETIQUE DE LA QUALITE GENETIC QUALITY IMPROVEMENT MIGLIORAMENTO GENETICO DELLA QUALITÀ

#### Vitis vinifera

- Ahmedullah M. (USA)  
*Efforts to improve quality in grapes.* 179
- Bronner A. (France)  
*Conduite d'un essai diallèle en vue de l'obtention de populations de vigne de raisin de cuve à large variabilité génétique.* 182
- Calò A., Costacurta A., Cancellier S. (Italia)  
*Ereditarietà del carattere precocità in una serie di incroci di Vitis vinifera.* 185
- Calò A., Costacurta A., Cancellier S. (Italia)  
*Variabilità del rapporto glucosio-fruttosio nelle bacche, in discendenza da incrocio di viti.* 188
- Carbonneau A. (France)  
*Interaction «génotype x milieux»: exemples d'interactions «porte-greffe x sol x système de conduite» pour les cépages rouges des Appellations de Bordeaux.* 191
- Durquety P.M. (France)  
*Variétés nouvelles créées à la Station de Recherche de Viticulture.* 195
- Evans E.P., Smit C.J. (Republic of South Africa)  
*The breeding value of Black Monukka, Perlette, Ruby Seedless and Sultanina for drying purposes.* 196
- Fanizza G. (Italia)  
*Estimates of genetic variances and heritabilities using a sib analysis (N.C.M.2.) in Vitis vinifera.* 199
- Garcia de Lujan A., Bustillo J.M., Morales M., Lara M. (Espagne)  
*Premiers résultats d'un programme d'amélioration génétique de la vigne dans le Sud de l'Espagne.* 202
- Hajdu E. (Hungary)  
*Results of quality breeding in Vitis vinifera L. varieties.* 206
- Madero E. (Mexique), Boubals D., Truel P. (France)  
*Transmission héréditaire des principaux caractères des cépages Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon et Merlot (Vitis vinifera L.).* 209
- Pospíšilová D., Páleník V. (Tchecoslovaquie)  
*Effet d'hétérosis dans les croisements d'inzucht-hétérosis de la vigne.* 219
- Schöffling H., Bender G. (Fed. Rep. of Germany)  
*Evaluation sensorielle de vins de nouvelles variétés de Vitis vinifera comparées à la variété traditionnelle Elbing blanc, dans la région viticole de la Haute Moselle.* 224
- Viera Volpi A. (Chile)  
*An improved grape cultivar produced by breeding cv. Moscatel rosado and cv. Cardinal (Vitis vinifera L.)* 230
- Wagner R., Guiraud J.L. (France)  
*La dégustation de vins utilisée comme critère de sélection en amélioration génétique de la vigne.* 232
- incroci ed ibridi tedeschi, coltivati in climi temperati sub-continentali.* 234
- Becker H. (Fed. Rep. of Germany)  
*Results of new interspecific crossings with genes of American, Asian and European Vitis (white wine varieties).* 239
- Kozma P. (Hongrie)  
*Qualité du raisin et résistance de la vigne dans les populations hybrides interspécifiques.* 242
- Doazan J.P. (France)  
*Création de variétés de vigne résistantes aux maladies et de haute qualité: principes de sélection et conséquences agronomiques.* 246
- Rapp A. (Fed. Rep. of Germany)  
*Volatiles of fungus-resistant wine-varieties.* 250

#### SECTION 5

### GENETIQUE ET CYTOGENETIQUE GENETICS AND CYTOGENETICS GENETICA E CITOGNETICA

- Génétiq ue générale / General genetics / Genetica generale**
- Avramoy L., Jurčević A., Jovanović M., Ružević M., Bječić S., Žunić D. (Yugoslavia)  
*Inheritance of qualitative and quantitative properties of seedlings of F<sub>1</sub> generation issued by crossing of varieties Cabernet Sauvignon and Prokupatz.* 254
- Botta R., Me G., Sacerdote S., Vallania R. (Italia)  
*Osservazioni su cromosomi di vite evidenziati con metodi diversi.* 257
- Fregoni M., Boselli M., Volpe B. (Italia)  
*Differenze varietali nell'assorbimento del potassio dei portinnesti di vite. I. La velocità di assorbimento del K<sup>+</sup> (Rb<sup>86</sup>) in radici recise.* 259
- Golodriga P.Y., Trochine L.P. (URSS)  
*Modèle du cépage idéal dans la sélection et la génétique de la vigne.* 263
- Golodriga P.Y., Zlenko V.A., Kostik M.A., Roudichine S.D., Serguéév E.N. (URSS)  
*Méthodes rapides de diagnose de la spécificité génotypique de la vigne.* 263
- Jaquinet A. (Suisse)  
*Observations empiriques sur l'héritableté de quelques caractères de Vitis vinifera utilisés comme géniteurs en Suisse.* 263
- Ostoverkhov V.S., Trochine L.P. (URSS)  
*Simulation mathématique de la variabilité à l'intérieur d'une population de la vigne.* 265
- Staudt G. (Fed. Rep. of Germany)  
*Flowering, pollination and fertilization in Vitis.* 265
- Stavrakakis M. (Grèce)  
*Genetic study of different types of cv. Sultanina (Vitis vinifera L.).* 268
- Vlachos M. (Grèce)  
*Aptitude de quelques cépages à la combinaison.* 268
- Mutagenèse / Mutagenesis / Mutagenesi**
- Baditescu D. (Roumanie)  
*La transformation génétique de la vigne par la mutagenèse induite.* 271
- Bozhinova-Boneva I., Mehandjiev A. (Bulgarie)  
*Possibilities to improve grapevine varieties by using experimental mutagenesis.* 278
- Bozhinova-Boneva I., Mehandjiev A. (Bulgarie)  
*Results from the application of experimental mutagenesis in vines.* 278

#### Vignes résistantes aux champignons / Fungus-resistant vine varieties / Viti resistenti alle malattie fungine

- Bavaresco L., Boselli M. (Italia)  
*Caratteristiche produttive e qualitative di alcuni nuovi*



- Calò A., Costacurta A., Mannino P. (Italia)  
*Induzione di variabilità nella vite mediante irraggiamento con raggi  $\gamma$ .*  
 Radicati I., Botta R., Me G., Sacerdote S., Vallania R. (Italia)  
*Prime valutazioni degli effetti dell'irraggiamento  $\gamma$  sul vitigno «Dolcetto».*

278

279

---

SECTION 6

THEMES DIFFERENTS

DIFFERENT SUBJECTS

TEMI DIVERSI

---

- Broquedis M., Bouard J. (France)  
*Influence de l'incision annulaire sur la qualité des pépins de raisin: conséquences sur leurs teneurs en acide abscissique et leurs possibilités de germination.*

283

- Darné G., Bouard J. (France)  
*Influence de l'incision annulaire sur la qualité des pépins de raisin: conséquences sur leur teneur en composés phénoliques.*  
 Lavaud J.J., Bouard J. (France)  
*Influence de l'incision annulaire sur la qualité des pépins de raisin: conséquences sur leurs teneurs en lipides.*  
 Kovachev I.G. (Bulgarie)  
*Upon some anatomical characters of grapevine.*  
 Jona R. (Italia)  
*Cariologia ed istochimica della bacca di vite.*  
 Viera Volpi A. (Chile)  
*Observations of metaxenia in grapes.*

286

289

291

292

292

---

CONCLUSIONS DU SYMPOSIUM  
 CONCLUSION OF THE SYMPOSIUM  
 CONCLUSIONI DEL SIMPOSIO

---