

LA SELEZIONE CLONALE DELLA VITE IN ITALIA

Mannini Franco - Istituto Virologia Vegetale, Unità Staccata Viticoltura, CNR, Grugliasco (TO)

1. Introduzione

Negli ultimi decenni in tutti i Paesi in cui il settore vitivinicolo è una importante risorsa economica sono attuati programmi di miglioramento genetico e sanitario delle cultivar tramite selezione clonale. Ciò è particolarmente vero per i Paesi dell'Unione Europea che sin dal 1968 ha indirizzato il settore con apposite direttive recepite dalle legislazioni nazionali (68/193/CEE; 02/11/CE) e dove tale attività è ritenuta essenziale per la certificazione del materiale di propagazione. A titolo di esempio basti citare che sono stati registrati oltre 1000 cloni selezionati in Francia, più di 400 in Germania e oltre 600 in Italia. In Italia, sino al 2005 il settore è stato regolato dal DPR 1164/69 (e successive modifiche) che dettava norme sulla 'Produzione e commercializzazione del materiale di moltiplicazione della vite'. Con la pubblicazione del DM 8/02/2005 è stata recepita la nuova direttiva europea (02/11/CE) e attivato il nuovo Servizio nazionale di certificazione della vite. I protocolli di selezione sono ufficiali (DM 6/12/01) e le selezioni clonali ottenute sono vagliate da un apposito Comitato Nazionale istituito presso il Ministero delle Politiche Agricole e Forestali (DM 28/12/01). Lo stesso Ministero riconosce ufficialmente i costitutori cioè Istituzioni, generalmente pubbliche (CNR, Università, Istituti Sperimentali, ecc.) ma anche private (Aziende vivaistiche), deputate all'attività di selezione ed ha istituito un Catalogo Nazionale (DPR 1164/69), oggi modificato in Registro Nazionale (DM 6/12/2000) e regolarmente aggiornato (DM 9/07/2003, DM 7/05/04, DM 9/06/05), in cui vengono iscritti i cloni selezionati previa pubblicazione sulla G.U. L'importanza della selezione clonale è confermata dal fatto che tale attività è stata ed è tuttora finanziata con fondi pubblici (CNR, MIPAF, Regioni, ecc.) a cui si stanno aggiungendo negli ultimi anni anche fondi privati. Nel 2001 è stata fondata l'ACOVIT - Associazione Costitutori Viticoli Italiani (a sua volta membro dell'analoga associazione europea AEOCV) - che riunisce i principali Costitutori Nazionali.

2. Definizioni

1) **Clone**: una discendenza vegetativa derivata da una pianta di vite capostipite scelta per la sua identità varietale, i suoi caratteri fenotipici (morfologici, agronomici, produttivi ed enologici) ed il suo stato sanitario nei confronti delle malattie virali. Tutte le piante di una discendenza clonale sono identiche fra di loro e con la pianta originaria.

2) **Virosi**: sono malattie causate da agenti infettivi sistemici (virus) che possono causare alterazioni, talora gravi, alle piante e che permanendo nei tessuti di queste ultime si trasferiscono alle loro discendenze quando propagate. Le principali virosi della vite sono a) la degenerazione infettiva o complesso dell'arricciamento, causato da *nepovirus* quali il *grapevine fanleaf virus* (GFLV) e, poco diffuso in Italia, l'*Arabis mosaic virus* (ArMV); b) l'accartocciamento fogliare, causato da infezioni singole o miste di *Ampelovirus* di cui i più diffusi sono il *grapevine leafroll associated virus 1 e 3* (GLRaV-1 e -3) e da *Closterovirus*, di cui il *grapevine leafroll associated virus 2* è ritenuto il più pericoloso (GLRaV-2); c) il legno riccio, di cui si conoscono quattro sindromi, il *kober stem grooving* causato dal *grapevine virus A* (GVA), il *corky bark* o suberosi corticale associato al *grapevine virus B*, il *rupestris stem pitting* riferibile al *grapevine rupestris*

stem pitting associated virus (RSPaV) e l'*LN33 stem grooving*, il cui agente causale specifico è ancora sconosciuto; d) la maculatura infettiva, causata dal *grapevine fleck virus* (GFkV); e) esistono infine alcune malattie simil-virali, quali il mosaico e la necrosi delle nervature, i cui agenti non sono ancora stati individuati. I virus non sono curabili in campo e pertanto è indispensabile propagare solo piante che ne siano esenti. Esistono tuttavia tecniche di risamento (termoterapia e coltura di meristemi) tramite le quali è possibile ottenere in laboratorio materiale sano che potrà essere utilizzato come punto di partenza di una nuova discendenza clonale [3]. Molti virus possono inoltre diffondersi in natura tramite vettori naturali quali i nematodi (GFLV) o le cocciniglie (GLRaVs).

3) Campo di omologazione: vigneto in cui si confrontano le attitudini agronomiche ed enologiche di diverse discendenze clonali (almeno 20 ceppi ciascuna) per un triennio di piena produzione al fine di poter individuare tra di esse quelle ritenute più interessanti per gli obiettivi selettivi prefissati.

4) Omologazione: atto ufficiale finale che riconosce l'idoneità della selezione e quindi la validità del clone a fini vivaistici. Consiste nella pubblicazione del clone sulla G.U. e la sua iscrizione nel Registro Nazionale delle Varietà di Vite previo parere favorevole del Comitato Nazionale istituito presso il Ministero delle Politiche Agricole e Forestali. Dopo l'omologazione il clone può essere premoltiplicato sotto la responsabilità del costituente presso un Nucleo ed entrare così nella filiera vivaistica.

5) Costituente: la qualifica di costituente di materiale clonale della vite viene riconosciuta dal competente Ministero alle persone fisiche e/o giuridiche pubbliche o private che svolgono attività di miglioramento genetico e sanitario, nel rispetto dei protocolli ufficiali di selezione clonale e che abbiano ottenuto il riconoscimento ufficiale delle loro selezioni (omologazione), provvedendo inoltre, sotto la propria responsabilità, alla conservazione della fonte primaria e alla selezione di mantenimento. Nel caso che alla selezione di un singolo clone partecipino più costituenti (co-costituenti) dovrà obbligatoriamente individuarsi tra questi un 'costituente di riferimento' responsabile della conservazione della fonte primaria del clone e della selezione di mantenimento.

6) Screen-house: serra dotata di copertura con rete anti-insetto atta a mantenere in isolamento dall'esterno la 'fonte primaria' dei cloni omologati, ciascuno generalmente presente con 2-3 piante in vaso. La finalità della *screen-house* consiste nel mantenere i cloni al riparo da rischi di reinfezioni virali che è una delle responsabilità del costituente.

7) Categorie del materiale di moltiplicazione: la normativa attuale (D.M. 8/02/05) suddivide il materiale di moltiplicazione in quattro categorie, a) 'materiali standard' (etichetta arancione) prodotti dai vivaisti propagando materiale non selezionato, sono garantite solo le buone caratteristiche tecniche della barbatella (vitalità, idoneo sviluppo radicale e dei tralci, perfetta saldatura del punto di innesto) nonché la rispondenza della marza e del portinnesto alla varietà dichiarata; b) 'materiali iniziali' (etichetta bianca con banda trasversale viola), ottenuti dal costituente tramite selezione clonale e sanitaria, sono destinati ai Nuclei di premoltiplicazione per la produzione di materiale di base; c) 'materiali di base' (etichetta bianca) prodotti dai Nuclei di premoltiplicazione sotto la responsabilità del costituente e destinati ai vivaisti per la produzione dei materiali certificati; d) 'materiali certificati' (etichetta azzurra) prodotti dai vivaisti partendo dal materiale di base e destinati alla costituzione di vigneti da frutto.

8) Premoltiplicazione: è la propagazione dei 'materiali iniziali' di un clone forniti dal costituente per la produzione di materiale di moltiplicazione 'di base'. La premoltiplicazione deve essere effettuata, secondo rigorosi criteri di salvaguardia genetica e sanitaria, da parte di appositi organismi denominati Nuclei di premoltiplicazione. I nuclei, che devono essere riconosciuti dal Ministero delle Politiche Agricole e Forestali, costituiscono con i materiali iniziali dei costituenti i vigneti di piante madri clonali da cui traggono marze e/o talee per produrre il materiale 'di base'.

3. Il protocollo tecnico di selezione genetica per vitigni ad uva da vino

La direttiva 68/193/CEE indicava l'opportunità di "limitare la commercializzazione di materiali di moltiplicazione della vite certificati a quelli ottenuti per selezione clonale". Questa normativa fu recepita a livello nazionale dal già citato DPR 1164 del 24/12/69 in cui si recita: "i materiali di moltiplicazione di base" sono prodotti "secondo metodi di selezione idonei alla conservazione della varietà". Solo in anni successivi (1974) un gruppo di lavoro specificamente istituito (Gruppo di ricerca per il miglioramento genetico della vite) stabilì che il metodo idoneo era la selezione clonale (genetica e sanitaria) e ne stilò il protocollo tecnico [1, 2, 4, 5]. Tale protocollo tecnico, con l'eccezione degli aspetti sanitari di cui parleremo successivamente, si è mantenuto praticamente inalterato sino al 2000. Esso stabiliva la necessità di impiantare almeno due campi di confronto (detti campi di omologazione) in località ecologicamente differenziate, con la presenza di almeno 24 ceppi per clone innestati su due diversi portinnesti. I controlli agronomici ed enologici dovevano poi venir effettuati in entrambi i vigneti per almeno un triennio di piena produzione. I controlli agronomici prevedevano (pur con qualche variazione a seconda del costituente) il rilievo della vigoria vegetativa, della fertilità potenziale (n.° di infiorescenze per tralcio), della produttività per ceppo, delle dimensioni medie del grappolo e del comportamento nei confronti delle ampelopatie (in particolare la sensibilità alla muffa grigia del grappolo). I controlli enologici prevedevano il rilievo dei principali componenti del mosto (zuccheri, pH e acidità fissa, talora acido tartarico e acido malico) e del vino ottenuto tramite microvinificazione. Per quanto riguarda le microvinificazioni, tuttavia, il numero di annate ed il tipo di parametri analitici da prendere in considerazione per il vino sono state a discrezione del costituente, così come il tipo di 'degustazione' utilizzata per valutare le caratteristiche sensoriali dei prodotti. Del clone, infine, venivano indicate le fasi fenologiche (germogliamento, fioritura, invaiatura e maturazione) e, in genere, fornita una descrizione ampelografica più o meno approfondita atta ad evidenziarne i possibili caratteri distintivi. Il protocollo, pur valido nella sua impostazione generale, è stato oggetto di critica nel corso degli anni perché comportava tempi piuttosto lunghi (circa 10 anni) prima di addivenire alla richiesta di omologazione di un clone selezionato. Il protocollo, inoltre, lasciava un certo margine di discrezionalità per quanto riguardava la valutazione delle potenzialità enologiche del clone generando talora una scarsa attenzione su questi aspetti o perlomeno metodi di valutazione non omogenei tra costituente e costituente.

Con il dichiarato intento di semplificare ed accelerare le procedure di selezione, con il DM 6/12/01 si sono dettate le norme di un nuovo protocollo tecnico per la selezione clonale. In un unico articolo il DM stabilisce la riduzione da due campi di confronto ad uno solo, la riduzione da due portinnesti ad uno solo, la riduzione dalle 24 piante a sole 20 viti per clone. Il periodo di osservazione viene mantenuto per almeno un triennio. I parametri agronomici e ampelografici rimangono per convenzione quelli presi in considerazione in precedenza. La verifica delle 'potenzialità enologiche' del presunto clone, invece, prevedono ex-novo una nutrita serie di analisi sui componenti fenolici della buccia e della polpa dell'acino (profilo degli antociani, degli acidi idrossicinnamici e dei flavonoli, indice degli antociani totali, ecc.), oltre all'effettuazione delle curve di maturazione degli zuccheri e dell'acidità. Al nuovo protocollo, pur non esente da critiche, va riconosciuta la volontà di definire meglio rispetto al passato la valutazione delle potenzialità enologiche dei cloni dove esso prevede "l'esecuzione di microvinificazione per almeno due annate con analisi chimiche e sensoriali". Questo punto stabilisce in modo incontrovertibile che per una corretta valutazione delle potenzialità enologiche di un clone è necessario arrivare al prodotto finale cioè il vino (sebbene in piccola scala).

4. Protocollo di selezione sanitaria

La normativa nazionale sulla moltiplicazione e la certificazione della vite da tempo necessita di un aggiornamento per adeguarsi alla grande evoluzione di cui il settore è stato oggetto negli ultimi anni. L'occasione è fornita dalla recente emanazione della Direttiva 2002/11/CE e dei relativi allegati (2005/43/CE del 23/06/05) che modificano la direttiva 68/193/CEE ormai obsoleta. Alcune delle novità più significative riguardano i requisiti sanitari minimi nei confronti delle malattie virali e dei virus ai fini della selezione clonale e della certificazione del materiale vivaistico. A tal riguardo va sottolineato che la normativa formalmente vigente era rimasta quella del DPR 1164/69, la quale ovviamente risultava più che sorpassata in relazione agli odierni avanzamenti nel campo della virologia e della diagnostica. A tale situazione negli anni ha posto rimedio il Comitato Nazionale Vite che preposto al giudizio di idoneità delle richieste di omologazione, e annoverando numerosi esperti del settore, nel tempo ha fatto propri e applicato i criteri di selezione sanitaria ritenuti opportuni e piuttosto severi. Questi prevedono che un clone per poter essere omologato debba risultare esente dai virus e dalle virosi in elenco effettuando i seguenti controlli:

- assenza di sintomi ascrivibili a virosi;
- test ELISA per GFLV, GLRaV-1 e GLRaV-3, GVA e GFkV;
- test su indicatori legnosi quali *V. rupestris* S. George (GFLV e GFkV), Barbera o Cabernet s. o altra varietà sensibile di *V. vinifera* (*leafroll*), Kober 5BB (legno riccio-*Kober stem grooving*), *V. rupestris* du Lot (legno riccio-*Rupestris stem pitting*), LN 33 (legno riccio-LN33 *stem grooving* e *corky bark*),
- test su indicatori legnosi quali 110 Richter (necrosi nervature) e *V. riparia* Gloire (mosaico nervature), tuttavia l'eventuale positività al test non impedisce l'omologazione.
- test ELISA sono raccomandati (ma non obbligatori) anche per GLRaV-2 e GVB.

Come è facilmente intuibile questo protocollo consente uno standard virologico ottimale ai cloni italiani di recente omologazione ma rende anche difficile reperire in natura cloni in grado di soddisfarlo.

La revisione della Direttiva 68/193/CEE conseguente alla emanazione della 2002/11/CE, ed in particolare dei relativi allegati I-IV, stabilisce i seguenti requisiti minimi per la selezione e la certificazione dei materiali clonali oltre che le modalità di controllo delle viti madri:

- assenza di GFLV e ArMV;
- assenza di GLRaV-1 e GLRaV-3;
- assenza di GFkV, solo per i portinnesti

E' palese la notevole distanza tra il nuovo protocollo europeo e quello attualmente in vigore in Italia. I sostenitori della proposta europea privilegiano la necessità di avere un protocollo di facile e generalizzata applicazione. L'allegato infatti prevede periodici controlli sulle viti madri (rispettivamente ogni 5, 6 e 10 anni per materiali 'iniziali', 'di base' e 'certificati') che, considerando le estese superfici di vigneti piante-madri esistenti, comporteranno un investimento economico rilevante.

Stante l'importanza della materia l'ACOVIT ha proposto un protocollo sanitario per la selezione e la certificazione in Italia che, mediando i due protocolli precedenti, prevede [6]:

- assenza al test ELISA (or PCR) di GFLV, ArMV, GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3, GVA, GVB e GFkV*
- assenza di sintomi con saggi biologici su Barbera o Cabernet s. o altra varietà di *V. vinifera* sensibile (*leafroll*) e su Kober 5 BB (legno riccio-KSG),

* Test obbligatorio solo per i portinnesti.

Il Comitato Vite ai fini dell'omologazione è orientato a far propria la proposta di procollo dell'Acovit.

Un clone può risultare virologicamente idoneo (cioè esente dai virus sopra citati) già in natura, tuttavia per una maggior garanzia di sanità o nel caso di vitigni o di certi areali di coltura ove non si riesca a reperire in vigneto cloni sani, è possibile ricorrere a tecniche di risanamento quali la termoterapia e/o la coltura di meristemi.

5. La moltiplicazione del materiale clonale dal costituente al viticoltore

Ottenuta l'omologazione e l'iscrizione del clone selezionato nel Registro Nazionale, il costituente fornisce i 'materiali iniziali' ad un Nucleo di premoltiplicazione che li pone nei propri vigneti di piante madri per la produzione del materiale 'di base'. Questa fase, detta 'pre-moltiplicazione', è finalizzata a fornire il materiale di moltiplicazione del clone ai vivaisti che con esso a loro volta costituiranno i propri vigneti di piante madri. I vivaisti propagheranno gemme e/o talee prelevate annualmente da questi vigneti producendo il materiale 'certificato' che viene commercializzato con etichetta azzurra ai viticoltori per l'impianto dei vigneti. Dal momento dell'omologazione del clone a quando questo sarà disponibile al viticoltore dovranno quindi passare alcuni anni, tuttavia questa organizzazione della filiera vivaistica, a norma di legge, consente la migliore garanzia per l'utilizzatore finale che la barbatella che mette a dimora possieda le stesse caratteristiche genetiche e sanitarie della fonte primaria del clone a mano del costituente.

6. L'attività condotta in Piemonte

In Piemonte la selezione clonale è stata condotta principalmente dal Centro di Studio per il Miglioramento Genetico e la Biologia della Vite del Consiglio Nazionale delle Ricerche (oggi divenuto Unità Staccata Viticoltura dell'Istituto di Virologia Vegetale) con sede a Grugliasco presso la Facoltà di Agraria dell'Università di Torino. Il CVT (questo l'acronimo del Centro) ha avviato l'attività di selezione della vite nella nostra Regione, e nelle limitrofe Liguria e Valle d'Aosta, sin dalla prima metà degli anni '70. Nel corso di un trentennio di attività il CVT, grazie ai finanziamenti ricevuti nel corso degli anni dal CNR, dal MAF e in ultimo dalla Regione Piemonte, ha ottenuto l'omologazione e l'iscrizione nel Registro Nazionale delle Varietà di Vite di ben 69 cloni appartenenti a 22 diversi vitigni. Alla selezione hanno collaborato fattivamente il DI.VA.P.R.A. dell'Università di Torino per gli aspetti enologici ed in particolare di analisi sensoriale, l'Istituto di Patologia vegetale dell'Università di Bologna per gli aspetti virologici, con particolare riferimento ai saggi biologici e, in anni più recenti, il Centro Sperimentale Regionale Tenuta Cannona di Carpeneto (AL) che si è fatto carico delle microvinificazioni. I cloni CVT, dopo l'omologazione, sono stati messi a disposizione del Nucleo di premoltiplicazione piemontese CE.PRE.MA.VI., sito in fraz. Vaccheria del comune di Alba (CN) e gestito dalla Regione Piemonte, al fine di essere propagati a norma di legge come materiale 'di base'. Presso il Nucleo e grazie alla collaborazione del Vivalb, braccio operativo del CE.PRE.MA.VI., il CVT ha realizzato nel 2004 una *screen-house* di moderna concezione che, sotto il controllo del costituente, ospita in vaso le fonti primarie dei cloni omologati. Per quanto riguarda la sanità virologica del materiale va sottolineato come molti dei cloni CVT di recente omologazione derivino da una pianta capostipite sottoposta a termoterapia e/o a coltura di meristemi. Entrambe le tecniche consentono di ottimizzare lo standard sanitario dei cloni nei confronti delle malattie virali. Una menzione particolare merita, infine, l'attività di selezione definita 'debole' operata dal CVT sui vitigni minori del Piemonte e finalizzata ad individuare per ciascuna cultivar, ceppi di buone

caratteristiche (identità varietale, sanità virologica accettabile, ecc.) da cui prelevare materiale di moltiplicazione idoneo da mettere a disposizione della vivaistica pur senza attivare le complesse e costose procedure tipiche della selezione clonale.

Negli anni '80, la Camera di Commercio di Alessandria, in collaborazione con l'Istituto di Coltivazioni arboree dell'Università Cattolica di Piacenza, ha lavorato su alcuni vitigni dell'areale alessandrino ottenendo l'omologazione di un certo numero di cloni che sono attualmente premoltiplicati dal CEPREMAVI.

Vi sono poi altri costitutori, operanti principalmente su areali vitivinicoli diversi da quelli del Piemonte, che hanno svolto alcune selezioni di vitigni di interesse per la vitivinicoltura piemontese. Si tratta dei Vivai Cooperativi di Rauscedo, dell'Università di Milano, dell'Università Cattolica di Piacenza e della Federazione Italiana Consorzi Agrari.

Schema delle diverse fasi della propagazione del materiale clonale selezionato



BIBLIOGRAFIA

1. Baldini E., Intrieri C., 1974. Aspetti genetici, sanitari e normativi della selezione del materiale viticolo di base: aspetti legislativi. *Ann. Accad. Naz. Agric.*, 94, 2: 149-155.
2. Baldacci E., Belli G., 1974. Aspetti genetici, sanitari e normativi della selezione del materiale viticolo di base: definizione del metodo per la selezione sanitaria. *Ann. Accad. Naz. Agric.*, 94, 2: 137-147.
3. Gribaudo I., Mannini F., Cuzzo D., Gobetto M., Lenzi R., Credi R., 2001. Risanamento da malattie virali e virus-simili di cloni di vite (*Vitis vinifera* L.). *Quad. Vitic. Enol. Univ. Torino*, 39-50.
4. Loreti F., Lalatta F., 1974. Aspetti genetici, sanitari e normative della selezione del materiale viticolo: definizione del metodo per la selezione clonale del materiale viticolo di base. *Ann. Accad. Naz. Agric.*, 94, 2:127-135.
5. Mannini F., 2000. Miglioramento genetico - Selezione clonale. In: *Contributo della Scuola italiana al progresso delle scienze vitivinicole. Acc. It. Vite e Vino*, Vol. I, 85-107.
6. Mannini F., 2004. Ruolo dei costitutori: proposte per la definizione di nuovi protocolli nella selezione clonale della vite. Atti Convegno 'La vite: aspetti tecnici, normativi e sanitari della certificazione della vite in vista del recepimento della direttiva 11/2002/CE e relativi allegati. Fond. Biotecnologie, Torino 2-3/12/2004.