

doi:10.11937/bfyy.20164951

宁夏贺兰山东麓酿酒葡萄病毒病田间自然发病率调查及检测

吕苗苗, 纳莹, 孙牧笛, 徐全智, 顾沛雯

(宁夏大学 农学院, 宁夏 银川 750021)

摘 要:对宁夏贺兰山东麓 8 个酿酒葡萄种植地区 8 个葡萄品种的病毒病田间自然发病情况进行调查,采用 RT-PCR 方法,检测了 40 份样品中 GLRaV-1~5 这 5 种葡萄卷叶伴随病毒的感染率。结果表明:宁夏贺兰山东麓酿酒葡萄主要病毒病有葡萄卷叶病、扇叶病和栓皮病,其中葡萄卷叶病尤为严重;不同酿酒葡萄种植区和品种间葡萄卷叶病的感染存在着差异,老葡萄种植区中品种间葡萄卷叶病发病率明显高于新葡萄种植区的品种;“蛇龙珠”和“黑比诺”是感染葡萄卷叶病毒的主要品种,发病率高达 85.1%和 52.7%;利用 5 种葡萄卷叶伴随病毒引物进行 RT-PCR 检测,检出 3 种病毒类型,且 GLRaV-3 的检出率最高,为 87.5%。

关键词:宁夏贺兰山东麓;酿酒葡萄病毒病;田间自然发病率;葡萄卷叶伴随病毒(GLRaVs);RT-PCR 检测

中图分类号:S 436.631.1⁺9(243) **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)13-0055-08

宁夏贺兰山东麓地区是我国最佳酿酒葡萄生态区之一,按照宁夏回族自治区“十二五”发展规

第一作者简介:吕苗苗(1991-),女,硕士研究生,研究方向为生物防治与菌物资源利用。E-mail: miaomlv@163.com.

责任作者:顾沛雯(1969-),女,博士,教授,现主要从事植物病理学和生物防治及微生物资源利用的教学和科研工作。E-mail: gupeiwen2013@126.com.

基金项目:宁夏教育厅资助项目(NGY14011);宁夏“十三五”科技重大专项资助项目(NX2016)。

收稿日期:2017-02-09

划,6.67 万 hm^2 葡萄长廊建设是重中之重。目前宁夏已建成葡萄基地 4.20 万 hm^2 ,其中酿酒葡萄 3.80 万 hm^2 。为完成既定目标,宁夏大规模从国内外引进葡萄苗木,在检测体系极不完善的情况下,大面积引种推广,造成了近 10 年来宁夏酿酒葡萄病毒病前所未有的猖獗^[1]。

葡萄病毒病的种类繁多,分布广,至今已经报道的葡萄病毒病和类似病毒病已达到 30 多种,其中在经济上危害较大的有 4 种,即卷叶病毒(*grapevine leafroll-associated virus*, 简称 GLRaV)、扇叶病毒(*grapevine fan leaf virus*, 简称 GFLV)、

and including 240 polymorphic loci, the ratio of polymorphism was 97.96%, 4—13 alleles were amplified by per pairs of primer, with a mean of 9.8. The average of effective alleles was 2.740 5, the average of Shannon's information index was 1.052 0, the average of polymorphism information content was 0.595 5, illustrated the germplasms with high genetic diversity. The clustering analysis results showed that, when the genetic correlation coefficient was 0.612, the 27 resources could be divided into two big groups of plum and apricot.

Keywords: plum (*Prunus salicina* L.); apricot (*Prunus armeniaca* L.); SSR; genetic diversity; clustering analysis

栓皮病毒(grapevine corky bark virus, 简称 GCBV)和茎痘病毒(grapevine stem pitting-associated virus, 简称 GSPV)^[2-5]。葡萄卷叶病(GLRaV)是在世界范围内分布最广,造成损失最大的一种葡萄病毒病,已成为世界葡萄栽培地区中的一个严重问题^[3]。研究表明,引起该病的病原是葡萄卷叶伴随病毒(grapevine leafroll-associated virus, 简称 GLRaVs),该病毒目前查明共有 11 种,包括 GLRaV-1~9、GLRaV-Pr 和 GLRaV-De,这些病毒在血清学和分子生物学上互不相关,单独或复合侵染葡萄均可导致卷叶病的发生^[6]。

目前,在国内发现至少有 10 种葡萄卷叶伴随病毒(GLRaVs)与该病相关^[7],其中 GLRaV-1~5 是造成葡萄卷叶病的主要病原^[8-10],这 5 种病毒均属长链形病毒科(Closteroviridae),由于其基因组为正单链 RNA,且在葡萄树中病毒含量通常较低,因此逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)以其灵敏度高、特异性强的特点在这 5 种病毒检测中应用广泛。

宁夏贺兰山东麓地区是国内重要的酿酒葡萄栽培基地之一,有关 GLRaV-1~5 在酿酒葡萄植株中的感染情况尚鲜见报道。为此,课题组对宁夏贺兰山东麓 8 个主要酿酒葡萄种植区 8 个葡萄品种的病毒病田间自然发病情况进行了系统调查,采用 RT-PCR 方法检测了 40 份酿酒葡萄样品 5 种葡萄卷叶伴随病毒的感染情况,旨在初步弄清这些品种的健康状况,以及危险性病毒在贺兰山东麓葡萄种植区的流行趋势和危害程度,以期宁夏管理和规范葡萄苗木生产市场、健全相关的检疫制度进行葡萄病毒病防控提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 调查地点

调查地点为宁夏贺兰山东麓的银川和永宁地区,分别为银川地区的广夏三基地、兰月谷酒庄、新牛酒庄和志辉·源石酒庄;永宁地区的新惠彬酒庄、农垦东大滩、农垦南大滩和立兰酒庄。

供试品种为“赤霞珠”(‘Cabernet Sauvignon’)、“蛇龙珠”(‘Cabernet Gernischt’)、“黑比诺”(‘Pinot Gris’)、“霞多丽”(‘Pinot Chardonnay’)、“品丽珠”(‘Cabernet France’)、“美乐”(‘Merlot Noir’)、“西拉”(‘Shiraz’)和“威代尔”

(‘Vidal Blanc’)。

1.2 试验方法

1.2.1 田间发病情况调查

2016 年 5—9 月,针对贺兰山东麓的银川和永宁地区种植的 8 个主要酿酒葡萄品种进行病毒病田间自然发病状况调查,记录其危害症状。调查方法为每块葡萄地随机选取 10 行,每行随机选取 3 个小区,每小区范围是 2 个架杆间的葡萄植株,区间内进行逐株调查。对植株发病严重程度进行分级,计算发病率和病情指数。发病严重程度按 5 级标准进行分级:0 级-无症状;1 级-仅在枝条基部老叶上有轻微卷叶病症状;2 级-植株有 1/3 以下的叶片有卷叶病的症状;3 级-植株上有 1/3~1/2 的叶片有卷叶病症状;4 级-植株上有 1/2 以上的叶片有卷叶病症状^[11]。发病率(%)=病株数/调查总株数×100;病情指数= $\sum(\text{各级病株数} \times \text{该病级值}) / (\text{调查总株数} \times \text{最高级值}) \times 100$ 。

1.2.2 葡萄卷叶伴随病毒检测

采样方法:在调查的银川和永宁地区种植的 8 个酿酒葡萄品种中,共采集 40 份样品,随机选择单株,每个单株分上、中、下 3 个部位随机剪取 3 片叶,立即用锡箔纸包好,置于液氮罐中,最后将采集分装完的样品置于 -80 ℃ 冰箱中保存备用。

RNA 提取:提取葡萄叶柄韧皮部组织(100 mg)在加液氮条件下快速研磨成粉末,并将粉末转移到 1.5 mL 的离心管中,然后用 RNA 提取试剂盒按照使用说明书进行总 RNA 的提取。

RT-PCR 检测:提取出的总 RNA 进行反转录成 cDNA,每个反应体系为 20 μL ,先加入总 RNA 4 μL 、Oligo dT₁₈ Primer 1 μL 、RNase-free Water 3 μL 置于 65 ℃ 温浴 5 min,取出冰浴 2 min;再加入 2×TS Reaction Mix 10 μL 、TransScript™ RT 1 μL 、gDNA Remover 1 μL ,轻轻混匀,于 42 ℃ 孵育 30 min,之后经 85 ℃ 加热 5 s,失活 TransScript™ RT 和 gDNA Remover,即可得到所需的 cDNA。参照设计的 GLRaVs-1、GLRaVs-2、GLRaVs-3、GLRaVs-4 和 GLRaVs-5 特异性引物^[12]进行样品检测。PCR 扩增反应体系 25 μL :总 DNA 2 μL 、正向引物、反向引物各 2 μL 、Max Taq 酶 25 μL 、RNase-free Water 18 μL ;PCR 扩增条件:94 ℃ 3 min,94 ℃ 1 min,55 ℃

45 s, 72 ℃ 1 min, 35 个循环, 72 ℃ 10 min。用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测产物。

2 结果与分析

2.1 宁夏贺兰山东麓酿酒葡萄病毒病症状

2.1.1 酿酒葡萄卷叶病症状

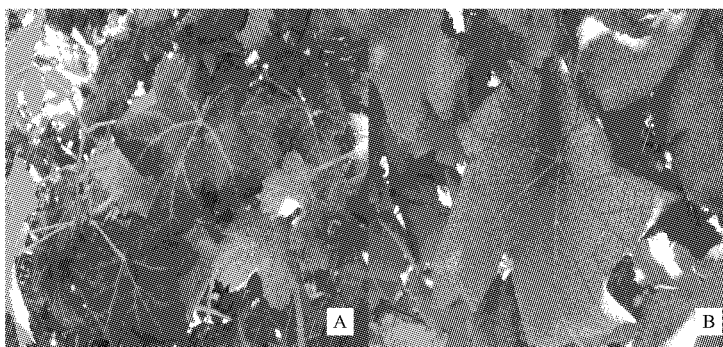
酿酒葡萄红色品种感染卷叶病毒后, 发病初期下部叶片叶肉呈现红色斑块, 以后逐渐扩大并连接成片, 仅叶脉保持绿色(图 1A)。白色品种感病后, 叶片褪绿黄化, 症状也从下部叶片开始(图 1B)。无论红色品种还是白色品种, 变色的叶片叶缘均向后反卷、增厚、变脆。受害葡萄树果穗变

小, 果粒发育不整齐, 着色不良, 糖度降低。

2.1.2 酿酒葡萄扇叶病症状

宁夏贺兰山东麓地区酿酒葡萄扇叶病表现 3 种类型症状。图 2 为“赤霞珠”品种的病症表现。

I 型(扇叶型症状): 叶片基部平展, 叶片呈不对称状, 叶缘锯齿增多, 长短不齐, 呈扇子状, 叶裂变深, 主脉聚拢, 褪绿(图 2A)。II 型(花叶型症状): 叶片上分布着边缘不清晰, 形状不规则的黄色斑点, 扩散成黄绿色花斑叶或不规则的褪绿斑, 叶片主脉黄化(图 2B)。III 型(镶脉型症状): 叶片上沿叶脉出现不规则的褪绿黄化斑纹, 叶片边缘出现轻微畸形(图 2C)。

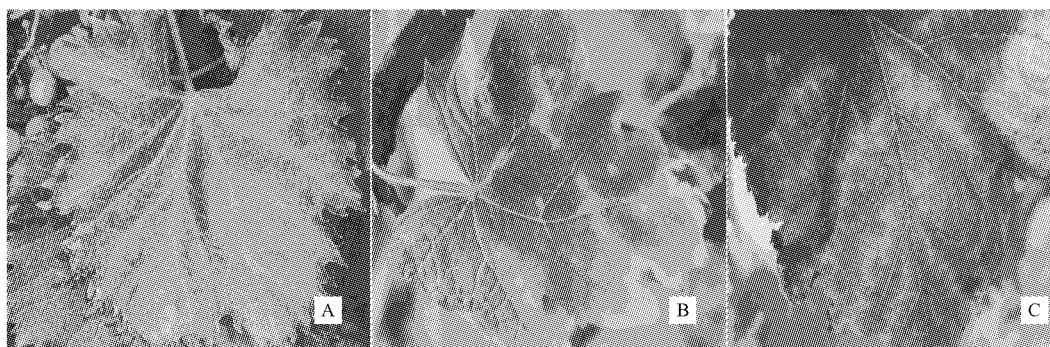


注: A. “赤霞珠”(红色品种)卷叶病症状; B. “霞多丽”(白色品种)卷叶病症状。

Note: A. Grapevine leafroll-associated disease symptoms of ‘Cabernet Sauvignon’ (Red varieties); B. Grapevine leafroll-associated disease symptoms of ‘Pinot Chardonnay’ (White varieties).

图 1 酿酒葡萄卷叶病症状

Fig. 1 Symptoms of wine grape leafroll-associated disease



注: A. 扇叶型症状; B. 花叶型症状; C. 镶脉型症状。

Note: A. Symptoms of grapevine fan leaf type; B. Symptoms of grapevine mosaic type; C. Symptoms of grapevine vein banding type.

图 2 “赤霞珠”酿酒葡萄品种扇叶病症状

Fig. 2 Grapevine fan leaf disease symptoms of ‘Cabernet Sauvignon’

2.1.3 酿酒葡萄栓皮病症状

图 3 为“赤霞珠”品种的病症表现。发病植株老蔓靠近地面处表皮粗糙、纵裂, 剥掉树皮后可见

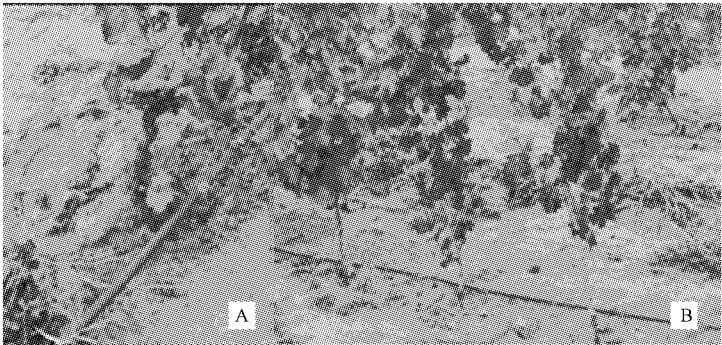
木质部呈现沟槽(图 3A), 叶片后期呈红化症状与葡萄卷叶病不同之处是叶片整体变红(图 3B)。

2.2 宁夏贺兰山东麓不同种植区和品种间葡萄病毒病感染状况

由表 1 可知,宁夏贺兰山东麓酿酒葡萄感染的病毒病主要是葡萄卷叶病、扇叶病和栓皮病,其中葡萄卷叶病在各酿酒葡萄种植区域均有发生,表现出分布广、发生范围大和发病品种集中的特点。葡萄卷叶病于 7 月中下旬起被害状在田间陆续可见,以后逐渐加重,8 月下旬至 9 月葡萄成熟时症状表现最为明显。调查的 8 个品种中,“蛇龙

珠”的发病率最高,在新牛酒庄和新惠彬酒庄的葡萄园,发病率分别达 85.1%、52.7%;其次是广夏三基地葡萄园的“黑比诺”,发病率为 25.7%。该病症状出现的早晚与树体自身的营养状况有关,老葡萄园往往受害明显。

葡萄扇叶病症状多表现在葡萄开花前后至幼果期,即 5—6 月,以后随气温升高,出现隐症现象。由表 1 可知,在 8 个酿酒葡萄种植基地中,仅新惠彬酒庄葡萄园的“西拉”和兰月谷酒庄的



注:A. 枝蔓表现症状;B. 叶片表现症状。

Note: A. Symptom of wine grape corky bark disease in branches and tendrils; B. Symptom of wine grape corky bark disease in leaf.

图 3 “赤霞珠”酿酒葡萄品种栓皮病症状

Fig. 3 Grapevine corky bark disease symptoms of ‘Cabernet Sauvignon’

表 1 宁夏贺兰山东麓酿酒葡萄病毒病田间自然发病情况

Table 1 Natural incidence investigation with wine grape virus disease in Helan Mountain East Region of Ningxia

病毒病种类	调查地点	种植年限	显症品种	发病率
Type of viral disease	Survey site	Planting-life/年	Show disease varieties	Morbidity/%
葡萄卷叶病	新惠彬酒庄	20	“赤霞珠”‘Cabernet Sauvignon’	6.0
			“蛇龙珠”‘Cabernet Gernischt’	52.7
			“黑比诺”‘Pinot Gris’	17.8
			“品丽珠”‘Cabernet France’	5.8
			“西拉”‘Shiraz’	5.6
	农垦南大滩	7	“霞多丽”‘Pinot Chardonnay’	4.4
			“美乐”‘Merlot Noir’	4.8
			“赤霞珠”‘Cabernet Sauvignon’	9.2
			“黑比诺”‘Pinot Gris’	25.7
	广夏三基地	18	“品丽珠”‘Cabernet France’	7.7
			“美乐”‘Merlot Noir’	6.3
			“西拉”‘Shiraz’	2.7
			“赤霞珠”‘Cabernet Sauvignon’	22.9
			“蛇龙珠”‘Cabernet Gernischt’	22.9
葡萄扇叶病	农垦东大滩	9	“美乐”‘Merlot Noir’	5.6
		4	“赤霞珠”‘Cabernet Sauvignon’	17.6
			“霞多丽”‘Pinot Chardonnay’	13.7
	志辉·源石酒庄	5	“赤霞珠”‘Cabernet Sauvignon’	7.1
	新牛酒庄	8	“蛇龙珠”‘Cabernet Gernischt’	85.1
	兰月谷酒庄	5	“威代尔”‘Vidal Blanc’	0.0
	新惠彬酒庄	20	“西拉”‘Shiraz’	5.6
葡萄栓皮病	兰月谷酒庄	5	“威代尔”‘Vidal Blanc’	4.7
	新惠彬酒庄	20	“赤霞珠”‘Cabernet Sauvignon’	1.0
	广夏三基地	18	“赤霞珠”‘Cabernet Sauvignon’	0.8
	志辉·源石酒庄	5	“赤霞珠”‘Cabernet Sauvignon’	0.3

“威代尔”品种上有扇叶病症状,发病率分别为 5.6%和 4.7%。葡萄栓皮病在葡萄整个生育期均表现出病症,仅在新惠彬酒庄、广夏三基地和志辉-源石酒庄葡萄园发现,主要在“赤霞珠”品种上表现症状,且发病率均低于 1%。

2.3 宁夏贺兰山东麓各种植区和品种间酿酒葡萄卷叶病感染状况

2.3.1 不同种植地区发病情况差异

由表 2 可知,在宁夏贺兰山东麓的银川和永宁种植区中,除兰月谷酒庄种植的酿酒葡萄品种“威代尔”没有发现葡萄卷叶病外,其余种植区均有葡萄卷叶病的发生,且地区之间存在差异性。种植品种均为“蛇龙珠”的 3 个种植区中,新牛酒庄葡萄园的卷叶病发病率最高,达到 85.1%,病情指数为 41.0;其次是新惠彬葡萄园的葡萄,卷叶病发病率为 52.7%,病情指数为 31.1;而农垦东大滩种植区的“蛇龙珠”卷叶病发病率相对较低,为 22.9%,病情指数为 7.0。在种植“黑比诺”

的 2 个种植区中,广夏三基地葡萄园卷叶病发病率较新惠彬葡萄园高,分别为 25.7%和 17.8%,病情指数分别为 9.3 和 6.4。在种植“赤霞珠”的 5 个种植区中,农垦东大滩和立兰酒庄葡萄园卷叶病发病率较其它 3 个种植区高些,分别为 22.9%、17.6%,病情指数分别为 7.0 和 9.3,农垦东大滩比志辉-源石酒庄、广夏三基地和新惠彬酒庄葡萄园卷叶病的发病率高了 2 倍多。在种植“霞多丽”的 2 个种植区中,立兰酒庄与农垦南大滩的卷叶病的发病情况相差较大,立兰酒庄葡萄园的发病率为 13.7%,病情指数为 4.9,而农垦南大滩葡萄园的发病率仅为 4.4%,病情指数为 1.1。种植“品丽珠”“美乐”“西拉”的葡萄园葡萄卷叶病病情指数均不到 3%。由此说明贺兰山东麓种植年限越长的葡萄园,由于早期种苗检疫手段的缺乏,加之葡萄病毒病的防治难度大,随种植年限的增加,葡萄卷叶病的发病情况加重。

表 2 宁夏贺兰山东麓不同种植地区酿酒葡萄卷叶病田间自然发生情况

Table 2 Natural incidence investigation of different planting areas with grapevine leafroll-associated disease in Helan Mountain East Region of Ningxia

调查地点	种植年限	品种	调查株数	发病率	病情指数
Survey site	Planting-life/年	Varieties	Investigate number/株	Morbidity/%	Disease index
新惠彬酒庄	20	“赤霞珠” ‘Cabernet Sauvignon’	117	6.0	1.5
农垦东大滩	18		96	22.9	7.0
广夏三基地	18		76	9.2	2.6
立兰酒庄	4		108	17.6	9.3
志辉-源石酒庄	15		84	7.1	2.1
新牛酒庄	8	“蛇龙珠” ‘Cabernet Gernischt’	67	85.1	41.0
新惠彬酒庄	20		110	52.7	31.1
农垦东大滩	18		96	22.9	7.0
新惠彬酒庄	20	“黑比诺” ‘Pinot Gris’	118	17.8	6.4
广夏三基地	9		70	25.7	9.3
新惠彬酒庄	20	“品丽珠” ‘Cabernet France’	154	5.8	1.6
广夏三基地	18		78	7.7	2.2
农垦东大滩	9		126	5.6	1.4
广夏三基地	18	“美乐” ‘Merlot Noir’	79	6.3	1.9
农垦南大滩	7		126	4.8	1.2
新惠彬酒庄	20	“西拉” ‘Shiraz’	71	5.6	2.5
广夏三基地	18		74	2.7	0.7
农垦南大滩	7		92	4.4	1.1
立兰酒庄	4	“霞多丽” ‘Pinot Chardonnay’	102	13.7	4.9
兰月谷酒庄	5		90	0.0	0.0

2.3.2 不同品种间发病情况差异

选取种植年限长的 2 个种植区,分别为新惠彬酒庄和广夏三基地,进行品种间发病情况调查。由表 3 可知,在新惠彬酒庄葡萄园的 5 个酿酒葡

萄品种中,“蛇龙珠”品种的卷叶病发病率最高达到 52.7%,病情指数为 31.1;其次是“黑比诺”品种的卷叶病发病率为 17.8%,病情指数为 6.4;其余 3 个品种卷叶病发病率均低于 6.0%。在广夏

三基地葡萄园的5个酿酒葡萄品种中,“黑比诺”品种的卷叶病发病率最高达到25.7%,病情指数为9.3;其次是“赤霞珠”品种卷叶病发病率为9.2%,病情指数为2.6;其余3个品种卷叶病发病率均低于8.0%。由此可见,不同酿酒葡萄品种对卷叶病表现的抗病性不同,其中“蛇龙珠”“黑比诺”品种是葡萄卷叶病的易感品种。

2.4 酿酒葡萄卷叶伴随病毒 RT-PCR 检测

对宁夏贺兰山东麓的银川和永宁种植区的

8个酿酒葡萄品种随机抽40份样品进行5种葡萄卷叶伴随病毒的RT-PCR检测。由表4可知,40份样品检测到了3种卷叶伴随病毒类型,分别为GLRaV-1、GLRaV-3和GLRaV-5,且GLRaV-3的检出率最高,在7个品种上均有检出,“蛇龙珠”和“美乐”品种的检出率高达100.0%;其次是GLRaV-1,在8个品种上,有6个品种检测出,检出率均大于50%。在8个品种的检测中,“蛇龙珠”的检出率最高,GLRaV-1、GLRaV-3和

表3 宁夏贺兰山东麓不同酿酒葡萄品种间葡萄卷叶病自然发病情况

Table 3 Natural incidence investigation of different wine grape varieties grapevine leafroll-associated disease in Helan Mountain East Region of Ningxia

品种 Varieties	调查地点 Survey site	种植年限 Planting-life/年	调查株数 Investigation number/株	发病率 Morbidity/%	病情指数 Disease index
“赤霞珠”‘Cabernet Sauvignon’	新惠彬酒庄	20	117	6.0	1.5
“蛇龙珠”‘Cabernet Gernischt’			110	52.7	31.1
“黑比诺”‘Pinot Gris’			118	17.8	6.4
“品丽珠”‘Cabernet France’			154	5.8	1.6
“西拉”‘Shiraz’			71	5.6	2.5
“赤霞珠”‘Cabernet Sauvignon’	广夏三基地	18	76	9.2	2.6
“黑比诺”‘Pinot Gris’			70	25.7	9.3
“品丽珠”‘Cabernet France’			78	7.7	2.2
“美乐”‘Merlot Noir’			79	6.3	1.9
“西拉”‘Shiraz’			74	2.7	0.7

表4 葡萄卷叶伴随病毒 RT-PCR 检出率

Table 4 RT-PCR detection rate with grape leafroll-associated virus

品种 Varieties	调查地点 Survey site	GLRaV-1 检出率 GLRaV-1 detection rate/%	GLRaV-3 检出率 GLRaV-3 detection rate/%	GLRaV-5 检出率 GLRaV-5 detection rate/%	严重程度 Severity	二重复合侵染率 Double compound infection rate/%	三重复合侵染率 Triple compound infection rate/%
“赤霞珠” ‘Cabernet Sauvignon’	新惠彬酒庄						
	农垦东大滩						
	广夏三基地	60.0	80.0	0	+++	40.0	0.0
“蛇龙珠” ‘Cabernet Gernischt’	立兰酒庄						
	志辉·源石酒庄						
	新牛酒庄						
“黑比诺” ‘Pinot Gris’	新惠彬酒庄	66.7	100.0	33.3	+++++	100.0	33.3
	农垦东大滩						
	新惠彬酒庄	100.0	50.0	0	++++	50.0	0.0
“霞多丽” ‘Pinot Chardonnay’	广夏三基地						
	农垦南大滩	100.0	50.0	0	+++	50.0	0.0
	立兰酒庄						
“品丽珠” ‘Cabernet France’	新惠彬酒庄	50.0	50.0	0	++	0.0	0.0
	广夏三基地						
	农垦东大滩						
“美乐”‘Merlot Noir’	广夏三基地	0	100.0	33.3	++	33.3	0.0
	农垦南大滩						
	新惠彬酒庄						
“西拉”‘Shiraz’	广夏三基地	50.0	50.0	0	++	0.0	0.0
	三兰谷酒庄	0	0	0	—	0.0	0.0
“威代尔”‘Vidal Blanc’							

注:“+”代表检测出卷叶病,数量越多,表示严重程度越高;“—”表示未检测出卷叶病。

Note: ‘+’ represents detected of the leaf curl disease, the higher the number, the more severity; ‘—’ represents no detected.

GLRaV-5 的检出率分别达 66.7%、100.0% 和 33.3%。

在 8 个酿酒葡萄品种中,除“威代尔”品种未检测出卷叶伴随病毒外,其它品种均检测出不同类型的卷叶伴随病毒,其中在 5 个品种上检测出有 2 种病毒类型复合侵染(二重复合侵染),检出率为 62.5%，“黑比诺”和“霞多丽”的二重复合侵

染率达 50.0%；新惠彬酒庄葡萄园 20 年的品种“蛇龙珠”检测到有 3 种病毒类型复合侵染(三重复合侵染),侵染率为 33.3%。由此可见,在贺兰山东麓地区葡萄卷叶病主要危害的酿酒葡萄品种为“蛇龙珠”和“黑比诺”,其次是“赤霞珠”和“霞多丽”,而且复合侵染的葡萄品种往往在发病中表现出严重的叶肉坏死的症状(图 4)。

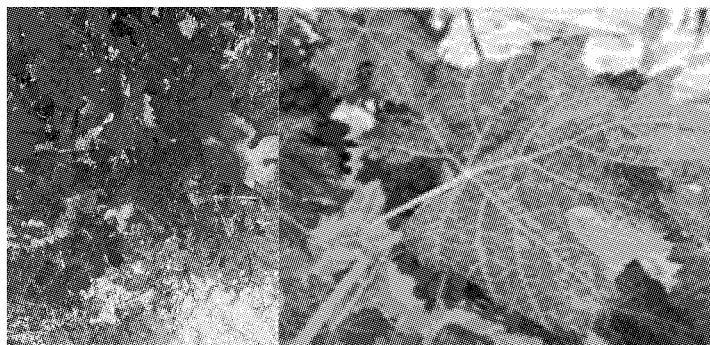


图 4 酿酒葡萄卷叶伴随病毒复合侵染症状(“蛇龙珠”品种)

Fig. 4 Compound infection symptoms with wine grape leafroll-associated virus ('Cabernet Gernischt')

3 讨论

该研究系统的研究了宁夏贺兰山东麓酿酒葡萄主要病毒病的种类、类型和分布特点,以及葡萄主栽品种的病毒感染状况。宁夏贺兰山东麓酿酒葡萄种植区的葡萄病毒病有葡萄卷叶病、扇叶病和栓皮病,其中 GLRaV-3 是贺兰山东麓发生最为普遍的病毒种类和类型;在被检测的所有葡萄品种中,8 个葡萄品种的病毒感染率为 33.3%~100.0%,并且多数品种是目前贺兰山东麓的主栽品种(“赤霞珠”“美乐”和“霞多丽”)。在一个特定的葡萄种植区内,一个品种感病,往往该葡萄品种所有单株都被同一种病毒感染,因此,葡萄繁育材料的引进和输出是病毒病传播侵染的主要途径。

在贺兰山东麓感染卷叶病毒的葡萄植株中,红色品种约在 7 月中、下旬出现害状,且各大酿酒葡萄基地均有发生,其中“蛇龙珠”品种感染率最高,症状表现突出。“蛇龙珠”作为宁夏主栽品种目前种植面积达 600 hm² 左右。但就笔者从贺兰山东麓 8 个生产基地采集的“蛇龙珠”而言,其卷叶病毒的测定结果不容乐观,8 个生产基地的“蛇龙珠”样本卷叶伴随病毒的检测结果均表现为阳性,说明葡萄卷叶病毒病在贺兰山东麓广泛分布,

这一点肉眼观测与分子检测结果一致。此外,在新垦区的“西拉”“威代尔”和“赤霞珠”上发现有葡萄扇叶病和栓皮病症状,尽管目前发病率均低于 6%,但需要引起足够的重视,以防这 2 种病毒通过种苗(条)和介体在田间传播和蔓延。

在贺兰山东麓卷叶伴随病毒的 RT-PCR 检测中,仅检测出了 3 种病毒类型,分别为 GLRaV-1、GLRaV-3 和 GLRaV-5,且 GLRaV-3 的检出率最高。除了“威代尔”品种未检测出卷叶病外,其余 7 个品种均检测出不同的卷叶伴随病毒,其中在 5 个品种上检测出有 2 种病毒类型的复合侵染,且新惠彬酒庄葡萄园的“蛇龙珠”上检测出有 3 种病毒类型复合侵染。在田间病毒的复合侵染往往造成症状加重,树势早衰,果实生青味,转色不一,糖度降低,酸度明显升高^[13]。

有研究报道发现葡萄园中的线虫、叶蝉和粉蚜^[14]等可作为传毒介体特异性传播病毒,给生产上病毒的检测和防控带来很大困难^[15],但目前,就贺兰山东麓地区来说,葡萄园究竟哪些昆虫介体可以传播葡萄病毒,可以传播哪些病毒尚未见报道。今后,要加强对葡萄园内昆虫介体的生态分布及动态变化与葡萄病毒病感病情况的调查,并根据介体昆虫的特性和病毒的结构功能特性来

分析研究葡萄病毒病的传毒机理,为宁夏贺兰山东麓酿酒葡萄病毒病防治提供参考依据。

参考文献

- [1] 顾沛雯,洪波,马永明,等.宁夏玉泉营地区葡萄卷叶病田间自然发病调查及检测[J].宁夏农学院学报,2001,3(22):21-23.
- [2] 徐美隆,陈春伶,谢军,等.宁夏贺兰山东麓地区葡萄卷叶病发病与危害调查[J].北方园艺,2015(22):118-121.
- [3] 沙月霞,王国珍,樊仲庆.贺兰山东麓酿酒葡萄病毒病田间发生状况调查[J].中国果树,2010(4):60-63.
- [4] 范旭东,董雅凤,张尊平,等.葡萄病毒分子检测技术研究进展[J].园艺学报,2014,41(5):1009-1019.
- [5] 沙月霞,王国珍,樊仲庆.贺兰山东麓主栽葡萄品种病毒病鉴定及健康状况评价[J].西北农业学报,2010,19(12):188-193.
- [6] 王建辉,刘建军,陈克玲,等.葡萄卷叶伴随3型病毒和葡萄A病毒的多重检测及其系统进化分析[J].园艺学报,2011,38(12):2401-2410.
- [7] 裴光前,董雅凤,张尊平,等.我国葡萄主栽区卷叶病相关病毒种类的检测分析[J].果树学报,2011,28(3):463-468.
- [8] 任芳,董雅凤,张尊平,等.葡萄病毒研究最新进展[J].园艺学报,2014,41(9):1777-1792.
- [9] 张丽,石磊,甘晓燕,等.葡萄脱毒培养与病毒检测技术研究进展[J].北方园艺,2012(4):174-177.
- [10] 徐章逸,王国平,刘亚萍,等.葡萄卷叶伴随病毒-3外壳蛋白的原核表达及其特异性抗血清的制备[J].植物病理学报,2010,40(2):129-134.
- [11] 顾沛雯,张军翔.葡萄卷叶病的研究进展[J].宁夏农学院学报,2003,1(24):73-75.
- [12] 裴光前,董雅凤,张尊平,等.4种葡萄卷叶伴随病毒多重RT-PCR检测[J].植物病理学报,2010,40(1):21-26.
- [13] 何应琴,陈文龙,周常勇,等.果树病毒病传毒媒介及防控技术研究进展[J].天津农业科学,2012,18(6):95-99.
- [14] TSAI C W, ROWHANI A, GOLINO D A, et al. Mealybug transmission of grapevine leafroll viruses: An analysis of virus-vector specificity[J]. Phytopathology, 2010, 100(8): 830-834.
- [15] 任芳,董雅凤,张尊平,等.葡萄病毒研究最新进展[J].园艺学报,2014,41(9):1777-1792.

Natural Incidence Investigation and RT-PCR Detection of Wine Grapes Virus Disease in Helan Mountain East Region of Ningxia

LYU Miaomiao, NA Ying, SUN Mudi, XU Quanzhi, GU Peiwen
(Agricultural College, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021)

Abstract: Eight wine grape planting areas in Helan Mountain East Region of Ningxia for grape virus diseases natural infection situation were investigated, by adopting RT-PCR method to test 40 samples of five kinds of grape leaf roll virus infection from GLRaV-1 to 5. The results showed that the major wine grape virus diseases in Helan Mountain East Region of Ningxia include grapevine leaf roll disease, grapevine fan leaf disease and grapevine corky bark, meanwhile grapevine leaf roll disease was particularly serious. There was difference between different wine grape planting areas as well as wine grape varieties of grape leaf roll disease infection. And the varieties of leaf roll disease incidence in the old grape wine region were obviously higher than the new wine region; ‘Cabernet Gernischt’ and ‘Pinot Gris’ were the main grape varieties with grape leaf roll-associated virus with incidence rate as high as 85.1% and 52.7%. By RT-PCR detection for five kinds of grape leaf roll-associated virus primers, three types of viruses were diagnosed with GLRaV-3 acting out the highest detection rate at 87.5%.

Keywords: Helan Mountain East Region of Ningxia; wine grape virus diseases; natural incidence investigation in the field; grapevine leafroll-associated virus (GLRaVs); RT-PCR detection