

葡萄脱毒培养与病毒检测技术研究进展

张 丽^{1,2}, 石 磊^{1,2}, 甘晓燕^{1,2}, 李 苗^{1,2}, 陈虞超^{1,2}, 宋玉霞^{1,2}

(1. 林木育种国家工程实验室, 北京 100083; 2. 宁夏农业生物技术重点实验室, 宁夏 银川 750002)

摘 要:葡萄病毒病是影响葡萄质量和产量的重要限制性因素之一。开展脱毒苗的生产, 采用高灵敏的病毒检测手段进行监控, 是防治葡萄病毒病的有效途径。现对目前生产上主要发生的葡萄病毒病、脱毒培养技术和病毒检测技术进行简要综述, 并对当前的研究进展做以展望。

关键词:葡萄病毒; 脱毒; 病毒检测; 进展

中图分类号:S 663. 103. 6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)04-0174-04

葡萄是果树中易感染病毒病的树种之一, 具有病毒种类多、分布广、危害大等特点^[1]。目前, 葡萄病毒病已增加到 20 个属, 有 55 种之多^[2]。其中葡萄扇叶病(Grapevine fanleaf disease)、葡萄卷叶病(Grapevine leafroll disease)、葡萄斑点病(Grapevine fleck disease)、葡萄茎痘病(Grapevine stem pitting disease)和葡萄栓皮病(Grapevine corky bark disease)是葡萄的主要病害。由于葡萄繁殖主要靠扦插和嫁接, 使得病毒长期积累和重复感染, 并表现为复合侵染和以潜伏性特征存在, 甚至是同种病毒由于侵染的品种和发病时期不同也表现各异, 因而给病毒的识别和诊断带来极大的困难。此外, 病毒的侵染源复杂, 传播途径广泛也进一步加大了防治的困难。

多年来, 实现无病毒化栽培一直是国内外努力解决的问题。脱毒和病毒检测技术是实现无病毒化栽培的关键。自 1964 年召开的第一届葡萄病毒病害学术会议以来, 葡萄病毒病的工作迅速地开展起来。欧美国家在该方面的研究工作方面起步较早, 在病毒种类的鉴定, 病毒防治措施的制定上都打下了良好的基础。对葡萄病毒检测技术的研究也由传统的生物学鉴定, 病毒血清学检测技术, 发展到目前广泛应用的分子杂交、双链 RNA 和 PCR 等高灵敏的分子生物学技术。我国在葡萄病毒病方面起步较晚, 从 20 世纪 80 年代中期才开始对葡萄病毒病的探索^[3]。目前针对葡萄病毒病的研究主要集中在三方面: 一是葡萄主要病毒病的研究; 二是探索建

立高效率、低成本、可操作性强的葡萄种苗脱毒培育体系的建立; 三是探索建立准确、灵敏、简单、快速的葡萄病毒检测方法。

1 葡萄主要病毒病的研究

1.1 葡萄扇叶病

葡萄扇叶病是世界上分布最广泛的葡萄病毒病之一。病株表现为生长受阻, 枝、叶变形, 结果时间缩短, 可造成果实产量下降 50%~70%, 严重影响果实品质^[4]。近年来在葡萄扇叶病的病毒属性的研究方面有了突破性的进展。Ritzenthaler 等^[5]和 Serghini 等^[6]完成了葡萄扇叶病毒全部核苷酸序列测定。管汉成等^[7]也通过 RT-PCR 技术完成扇叶病毒外壳蛋白基因的序列分析。但此病毒在不同株系、不同品种上的症状各有差异, 且存在复合侵染现象, 不易从表症上进行病毒鉴定。

1.2 葡萄卷叶病

葡萄卷叶病是葡萄生产上另一重要的病毒病。病害分布广, 发生于葡萄所有种和品种中, 具有阶段隐症的特点。感染该病毒的病树果穗数量减少, 可造成减产 40% 左右^[8]。果实成熟期推迟, 含糖量大幅度降低^[9], 抗逆性降低。自 1984~1996 年, 已发现至少有 7 种病毒与卷叶病相关, 被称之为卷叶相关病 1~7(GLRaV-1~GLRaV-7)。其中 GLRaV-1、GLRaV-3、GLRaV-7 可以作为卷叶病的代表。裴光前等^[10]对我国葡萄主栽区 58 株表现卷叶病的葡萄上采集休眠枝条进行卷叶病毒 ELISA 和 RT-PCR 检测, 不同程度地检测出 GLRaV-1、2、3、4、5 和 7 这 6 种葡萄卷叶病的发生。并通过葡萄卷叶病毒 HSP70 基因序列构建系统进化树分析 6 种卷叶病毒的进化关系, 发现 GLRaV-1、3 和 7 可归为一类, GLRaV-2、4 和 5 可聚一类。

1.3 葡萄茎痘病

当砧穗组合感染葡萄茎痘病后长势衰退与死亡, 产

第一作者简介:张丽(1982-), 女, 宁夏银川人, 硕士, 研究实习员, 现主要从事植物生物技术育种研究工作。

责任作者:宋玉霞(1963-), 女, 宁夏银川人, 硕士, 研究员, 现主要从事植物生物技术育种研究工作。

基金项目:北京林业大学林木育种国家工程实验室开放课题资助项目(FOP2010-6)。

收稿日期:2011-12-08

量减少 50% 以上。病症表现为树皮粗糙、木栓化,木质部和树皮形成层分布着纵向突起及凹槽。嫁接愈合差,发芽迟,枝蔓生长缓慢,树体矮化,产量降低。病树树势减退,一般不表现症状,不易察觉,给该病传播提供了传播空间。据目前的研究表明,葡萄茎痘病的传播途径仅局限于嫁接传播。其致病病原为茎痘病相关病毒-1 (GSPaV-1),其 RNA 序列与苹果茎痘病(ASPV)、马铃薯 M 病毒(PMV)和马铃薯 X 病毒(PXV)具有一定的相似性^[11-13]。

2 葡萄脱毒培养技术

2.1 热处理脱毒

热处理脱毒法是利用高温下使植物组织中的病毒部分钝化或完全失去活性的方法^[14-18]。利用某些病毒受热后不稳定的特点,将葡萄完整植株或组织器官进行热处理,使病毒失去活性。但这种方法不适用于对热敏感的品种以及不受高温影响的病毒。单独使用该方法脱毒率较低,且不耐热的植物材料易在热处理脱毒过程中死亡。

2.2 茎尖培养脱毒

茎尖培养脱毒是目前应用最广的植物脱毒技术之一^[19-20]。该方法是利用病毒在感染植株上茎尖生长点(0.1~1.0 mm)含病毒很少或无病毒侵染,因而通过植物组织培养技术切取微茎尖进行培养,从而达到脱除病毒的目的。一般来说,可直接从大田中获取的葡萄茎尖以组织培养方式获得无菌苗,通过病毒检测后,再切取无菌苗的茎尖分化成苗,栽植后再经病毒检测证明无毒后即可作为原种母树,以脱毒母树提供无病毒营养系砧木或优种繁殖材料。通常,所取得茎尖大小控制在 0.3~0.4 mm 时,脱毒率可控制在 60% 以上。韩艳婷等^[21]以带 GLRaV-3 病毒的“红地球”为试材,进行了茎尖脱毒培养。研究筛选出适宜茎尖初始培养以及分化培养的培养基及培养条件,并获得了 28 株脱毒苗;同时表明了茎尖大小是脱毒率与成活率的关键因素,它的大小与成活率成正比,与脱毒率成反比。因此,茎尖大小的控制对操作人员的技术要求较高。

此外,有研究表明,以茎尖培养为基本培养方式,结合热处理或低温处理可进一步提高病毒脱毒率,比使用单一脱毒方法获得更好的脱毒效果^[22]。目前利用这种复合培养的方法在葡萄、苹果、马铃薯等植物病毒脱除上已有广泛应用。张福庆等^[23]用通过茎尖培养+热处理的方法对赤霞珠、黑比诺等酿酒葡萄品种进行脱毒培养,成功地脱除了葡萄扇叶病毒和葡萄卷叶病毒,脱毒率达到 100%。

2.3 病毒抑制剂的应用

病毒抑制剂是在脱毒培养过程中通过抑制病毒复

制而发挥作用的^[24-25]。目前主要的病毒抑制剂有病毒唑、板蓝根、鸟嘌呤和尿嘧啶类等多种物质,各种抑制剂作用机理也不相同。病毒抑制剂在苹果、马铃薯脱毒中已有广泛应用^[26-27]。牛建新等在葡萄脱毒培养过程中通过使用浓度为 2.0、4.0 g/L 板蓝根,成功获得了葡萄茎尖脱毒试管苗^[28]。病毒抑制剂在使用时与茎尖培养结合对病毒脱除效果更好,但其本身对分化成苗也有一定的影响,常常需要进行适宜浓度的筛选^[29]。

2.4 花药培养脱毒

花药培养脱毒苗的理论目前尚不清楚,但通过花药培养已在草莓等植物中成功地获得了脱毒植株^[30]。由于植物种类及基因型的差异,以花药为外植体诱导分化过程较为困难,且培养时间较长,获得的再生植株少,这对葡萄花药脱毒培养设置了一定的障碍。

3 葡萄病毒检测技术

3.1 指示植物检测法

指示植物检测法是利用对某些病毒敏感的植物进行病毒鉴定的方法。这些指示植物一旦被病毒感染便能很快地表现出病征,因而能较好的反应病毒的生物学特性,具有较高的诊断价值。汁液摩擦和嫁接传染是常用的接种病毒的方法。Martin 等^[31]以指示植物法为基础为快繁葡萄而设计了绿枝嫁接技术成功地检测出了葡萄类病毒。应用该方法在葡萄栓皮病和葡萄扇叶病的检测中也获得了很好的效果^[32]。指示植物法是一种可靠地病毒检测方法之一,但其局限性在于对复合浸染或阶段性隐性症状的病毒不能通过症状识别。

3.2 血清学方法

血清学方法检测植物病毒是利用血清反应原理来实现的。由于不同植物病毒产生的抗血清都有各自的特性,因此可通过已知病毒的抗血清来鉴定病毒种类。目前应用最多的为酶联免疫吸附测定(ELISA),该方法是以酶催化的颜色反应指示抗原抗体的结合。由于其具有灵敏、快速、特异性强等优点,可用于大规模样品调查,因此已成为诊断植物病毒病的常规方法。双抗体夹心法 ELISA(DAS-ELISA)和 A 蛋白双抗夹心 ELISA 法(PAS-ELISA)是酶联免疫吸附测定(ELISA)的 2 种主要方法。在对葡萄扇叶病毒、葡萄卷叶病毒的检测中均获得了很好的效果^[33-34]。利用 ELISA 法检测植物病毒也存在一些缺点:由于抗血清制备时间较长,易发生假阳性反应;此外,该方法不宜同时检测多种病毒。

3.3 分子生物学检测

分子生物学检测是从核酸水平来检测病毒是否存在,可在 fg 水平上检测到病毒,且适用性广,所以比血清学方法灵敏度更高、应用范围更广。聚合酶链式反应(PCR)、双链 RNA(dsRNA)以及核酸分子杂交为最为常

用的分子生物学检测技术。

3.3.1 聚合酶链式反应(PCR)技术 PCR技术是一种选择性体外扩增DNA或RNA的方法。由于大部分的病毒是RNA病毒,因此以待测病毒RNA为模板,反转录合成cDNA,随后在耐热的多聚酶作用下,使微量的病毒核酸连续扩增,便于分析检测。目前葡萄病毒检测中,RT-PCR技术已成功应用于葡萄扇叶病毒、葡萄卷叶病毒Ⅲ的检测^[35-36]。牛建新等^[37]利用多重RT-PCR技术准确检测出葡萄卷叶病毒Ⅲ和扇叶病毒,建立了葡萄卷叶病毒Ⅲ和扇叶病毒多重RT-PCR检测体系。免疫捕捉反转录聚合酶链式反应(IC-PCR)是将ELISA与RT-PCR相结合的一种方法,该方法集合2种技术的优点,在病毒检测中表现出很高的效率。Nolasco等^[38]利用该方法同时检测了10种植物病毒与类病毒。陈建军等^[39]通过DSA-ELISA、RT-PCR、IC-RT-PCR对葡萄卷叶病毒Ⅲ进行了检测,比较得出IC-RT-PCR效果最佳,是值得推广的一种病毒检测方法。

3.3.2 双链RNA(dsRNA)技术 dsRNA技术是含有RNA病毒、类病毒侵染的植物组织中因RNA病毒、类病毒在基因组复制过程中,要形成双链的复制型或复制中间体,即大分子量的dsRNA($>1 \times 10^6$),且每种病毒所形成的dsRNA都存在特异性,因而可利用dsRNA进行RNA病毒的检测。Habibi等^[40]报道了已从感染病毒的葡萄中提取到特异性的大分子dsRNA。目前,dsRNA技术已成功应用于葡萄卷叶病毒葡萄扇叶病毒的检测中^[41-49]。

3.3.3 核酸分子杂交技术 核酸杂交技术是对病毒整个基因组或部分基因组检测和鉴定的方法。用核苷酸的互补脱序列作为探针,在一定条件下与靶病毒的核苷酸单链通过碱基配对形成杂合双链,从而实现病毒的检测与分析。常见的杂交方法有斑点杂交、原位杂交等。核酸分子杂交技术在葡萄卷叶病毒、扇叶病毒的检测中有成功的报道^[40,50],我国已有学者采用斑点杂交技术检测了葡萄扇叶病毒,证明其灵敏度达到pg水平^[51]。

4 现状及展望

随着葡萄产业的迅速发展,葡萄栽培面积不断扩大,由于葡萄栽培主要采用营养繁殖的方式,因而易遭受病毒病的积累和感染,致使树体生长不良,产量下降,品质变劣,给生产带来巨大的经济损失。近年来我国葡萄病毒病发生严重,受害面积之广,受害品种之多,已严重影响了葡萄种植效益的提高,且对葡萄产业的健康发展构成了严重威胁。采用组培脱毒的方法来生产无病毒苗,以病毒检测手段进行监控,是防治葡萄病毒病的有效途径。单一的脱毒方法虽然能够脱除几种主要的病毒或在一定程度上降低病毒的浓度,但脱毒率均比较

低。若将几种脱毒技术结合使用,如:热处理加微茎尖培养、热处理加微体嫁接等可收到很好的效果。此外,基于病毒外壳蛋白基因的转基因技术培育抗病毒的葡萄品种成为目前研究的热点,即通过基因工程手段将病毒外壳蛋白基因导入植物体内诱发植物对病毒的免疫性,培育出对病毒具有一定免疫力的工程植株,从而进一步提高工程植株的抗病性。在病毒检测方面,目前国内针对葡萄病毒病的检测方法是血清学检测法和分子生物学检测法。血清学方法检测植物病毒需要大量地制备高纯度、高特异性的抗血清,不仅需要较长的时间且检测时还会产生假阳性反应,从而影响了检测的可靠性。而近几年发展起来的dsRNA分析、分子杂交、PCR等分子生物学相关技术在病毒检测实践中的应用,已使得病毒的鉴定方法发生了革命性的变化,尤其是PCR技术具有特异性强、灵敏度高、快速简便又无放射性的危害,在葡萄病毒检测上具有广泛的发展前景。

参考文献

- [1] 刘永清,王国平. 葡萄病毒病研究进展[J]. 中国果树,2002(4):47-51.
- [2] 王引权,古勤生,陈建军,等. 葡萄病毒病研究进展[J]. 果树学报,2004,21(3):258-263.
- [3] 陈剑平,施农农,陈履荣,等. 葡萄病毒及类病毒的研究进展[J]. 世界农业,1989(2):32-34.
- [4] Flahertydl, Jensenfl, Kasimatisan. Grapepest management[M]. Berkeley: Agriculture Sciences Publications, University of California, 1981:84-92.
- [5] Ritzenthaler C, Viry M, Pinck M, et al. Complete nucleotide sequence and genetic organization of grapevine fanleaf nepovirus RNA1[J]. Journal of General Virology, 1991, 72:2357-2365.
- [6] Serghini M A, Fuchs M, Pinck M, et al. Pinck RNA2 of grapevine fanleaf virus: sequence analysis and coat protein cistron location[J]. Gen. Virol., 1990, 71:1433-1441.
- [7] 管汉成,蔡文启,莽克强,等. 葡萄扇叶病毒外壳蛋白基因的克隆序列分析及其在大肠杆菌中的表达[J]. 生物工程学报,1996,12(2):124-128.
- [8] Woodham R C, Antcliff A J, Krake L R, et al. Yield differences between Sultana clones related to virus status and genetic factors[J]. Vitis, 1984, 23:73-83.
- [9] 余旦华. 葡萄的病毒病[J]. 中国果树,1986(4):42-49.
- [10] 裴光前,董雅凤,张尊平. 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.
- [11] Meng B, Pang S Z, Forsline P L, et al. Nucleotide sequence and genome structure of grapevine rupestris stem pitting associated virus-1 reveal similarities to apple stem pitting virus [J]. Gen. Virol., 1998, 79:2059-2069.
- [12] Baozhong M, Johnson R, Perssini S. Rupestris stem pitting associated virus-1 is consistently detected in grapevines that are infected with rupestris stem pitting[J]. European Journal of Plant Pathology, 1999, 105:191-199.
- [13] Meng B, Zhu H Y, Gonsalves D. Rupestris stem pitting-associated virus-1 consists of a family of sequence variants[J]. Archives of Virology, 1999, 144:2071-2085.
- [14] 章德明,李春敏,马云霞,等. 近几年葡萄病的病研究的进展[J]. 葡萄栽培与酿酒,1998(4):61-63.
- [15] 杜学梅,毛静琴. 我国北方果树病毒病及无毒栽培[J]. 山西果树,2001(2):32-33.

- [16] 刘华清. 果树无毒化栽培及脱毒技术应用[J]. 福建果树, 1997, 101: 30-31.
- [17] 李春敏. 果树病毒病与无毒化栽培[J]. 河北果树, 2000(8): 52-55.
- [18] 高术国, 苏翠军, 家新军, 等. 酿酒葡萄脱毒技术[J]. 山西果树, 1999(2): 18-19.
- [19] 宋瑞琳. 柑橘良种无病毒苗木的繁育技术[J]. 福建农业科技, 1993(1): 26-27.
- [20] 王国平. 我国果树病毒病发生危害现状与防治对策[J]. 北方果树, 1997(1): 8-10.
- [21] 韩艳婷, 石雪晖, 杨国顺, 等. 红地球葡萄 GLRaV-3 的茎尖培养脱毒及 RT-PCR 检测[J]. 中国农学通报, 2011, 27(4): 198-202.
- [22] 岩原世之. 茎尖培养消除葡萄病毒. 葡萄组织培养译文集[M]. 曹孜义, 译. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1989: 52-55.
- [23] 张福庆, 于向君, 薛俊, 等. 酒用葡萄组培脱毒快繁技术的研究[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2001(1): 14-16.
- [24] 魏梅生. 植物无性种质材料中病毒的检测与治疗[J]. 世界农业, 1995(10): 30-31.
- [25] De Fazio G, Caner J, Vicente M. Inhibitory effect of virazole (ribavirin) on the replication of tomato white necrosis virus (VNBTV) [J]. Arch. Virol, 1978, 58: 153-156.
- [26] Hansen A J, Lane W D. Elimination of Apple Chlorotic Leafspot Virus from Apple Shoot Cultures by Ribavirin [J]. Plant Disease, 1984, 69: 134-135.
- [27] 王际轩. 苹果脱毒技术的研究与应用[J]. 北方果树, 1994(2): 24.
- [28] 牛建新, 王玉国, 李东栋, 等. 中西药剂在葡萄脱毒中的应用研究[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2001(1): 15-17.
- [29] 洪燕萍, 林顺权. 草莓离体培养研究进展[J]. 园艺学报, 1988, 15(3): 38-41.
- [30] 高庆玉, 李光裕, 周恩, 等. 关于草莓脱毒技术的研究[J]. 东北农学院学报, 1993, 24(2): 231-236.
- [31] Martin C, Vernoy R, Carre M, et al. Vignes et techniques de culture *in vitro*. Quelques resultants d'une collaboration entre recherche publique et entreprise privee [M]. Bull. OIV, 1987: 675-676, 447-458.
- [32] 顾沛雯, 龚玉梅. 三种 ELISA 方法检测葡萄卷叶病毒和扇叶病毒的比较[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2002(3): 14-17.
- [33] 蔡文启, 郭德银, 徐绍华, 等. 葡萄扇叶病毒的分青、鉴定、提纯及血清学研究[J]. 植物病理学报, 1990, 20(2): 99-104.
- [34] 陈建军, 李培睿, 杨向英, 等. DAS-ELISA 和 PAS-ELISA 检测 GFLV 的技术研究[J]. 河南农业科学, 2004(11): 48-51.
- [35] Minafra A, Hadidi A. Sensitive detection of grapevine virus A, B and leafroll-associated III from viruliferous mealybugs and infected tissue by DNA amplification[J]. Virol. Methods, 1994, 47: 175-188.
- [36] 刘三军, 张亚冰, 郭卫东, 等. 葡萄卷叶病毒 III RT-PCR 检测技术研究[J]. 果树学报, 2002, 19(1): 15-18.
- [37] 牛建新, 陈萍, 马冰钢, 等. 葡萄病毒病多重 RT-PCR 检测技术体系优化分析[J]. 果树学报, 2004, 21(2): 120-123.
- [38] Nolasco G, Blas D C, Torres V, et al. A method combining immunocapture and PCR amplification in microtiter plate for the detection of plant virus and subviral pathogens [J]. Virol Methods, 1993, 45(2): 201-208.
- [39] 陈建军, 刘崇怀, 古勤生, 等. DAS-ELISA、RT-PCR 和 IC-RT-PCR 检测葡萄卷叶病毒 III 的比较研究[J]. 果树学报, 2003, 20(3): 173-177.
- [40] Habili N, Fazeli H Z, Ewart C F A, et al. Natural Spread molecular analysis of grapevine leafroll-associated virus 3 in Australia [J]. Phytopathology, 1995, 85: 1418-1422.
- [41] 李东栋, 牛建新, 潘立忠, 等. 葡萄卷叶病毒双链 RNA 提纯分析研究[J]. 石河子大学学报, 2000, 4(3): 205-210.
- [42] Ricardo Flores, Nuria Duran-Vila. Detection of Viroid and Viroid-like RNAs from Grapevine [J]. Gen Virol, 1985, 66: 2095-2102.
- [43] Goszczynski. Detection of Two Strains of Grapevine Leafroll-Associated Virus [J]. Vitis, 1996, 35(3): 133-135.
- [44] Monette P L, James D, Godkin S E. Comparison of RNA extracts from *in vitro* shoot tip cultures of leafroll-affected and leafroll-free grapevine cultivars [J]. Vitis, 1989, 28: 229-235.
- [45] Tanne E, Sela I, Harpaz K M. Purification and characterization of a virus associated with the grapevine leafroll disease [J]. Phytopathology, 1977, 67: 442-447.
- [46] Valverde R A, Nameth S T, Jordan R L. Analysis of double-stranded RNA for plant virus diagnosis [J]. Plant Disease, 1990, 74(3): 255-258.
- [47] Pinck L, Fuchs M, Pinckl M. A Satellite RNA in Grapevine Fanleaf Virus Strain F13 [J]. Journal of General Virology, 1988, 69: 233-239.
- [48] Habili N, Fazeli C F, Rezaian M A. Identification of a cDNA clone specific to grapevine leaf roll-associated virus 1, and occurrence of the virus in Australia [J]. Plant Pathology, 1997, 85: 1418-1422.
- [49] 牛建新. 葡萄病毒病的双链 RNA(dsRNA)检测技术研究[J]. 果树学报, 2002(3): 149-152.
- [50] Fuch M, Pinck M, Etienne L, et al. Characterization and detection of grapevine fanleaf virus by using cDNA Probes [J]. Phytopathology, 1991, 81: 559-565.
- [51] 魏梅生, 相宁, 张作芳, 等. 用生物素标记外壳蛋白基因 cDNA 探测葡萄扇叶及马铃薯 Y 病毒[J]. 植物病理学报, 1995, 25(4): 331-334.

(该文作者还有陈晓军, 工作单位同第一作者。)

Advances on Techniques for Virus-free Culture and Virus Detection of Grape

ZHANG Li^{1,2}, SHI Lei^{1,2}, GAN Xiao-yan^{1,2}, LI Miao^{1,2}, CHEN Yu-chao^{1,2}, SONG Yu-xia^{1,2}, CHEN Xiao-jun^{1,2}

(1. National Engineering Laboratory of Tree Breeding, Beijing 100083; 2. Ningxia Key Laboratory for Agro Biotechnology, Yinchuan, Ningxia 750002)

Abstract: Grape virus diseases is the one of the important limiting factors to affect grape quality and yield. The effective prevention of viral diseases is to carry out the production of virus-free seedlings and to use of highly sensitive virus detection methods for monitoring. The advances in virus diseases, virus-free culture techniques and virus detection techniques on grape were reviewed and the researching trend was further pointed.

Key words: grape virus diseases; virus-free culture; virus detection; advances