

### 西番莲种苗病毒检测技术规程

Guidelines for Detection of Virus in Passionfruit Seedling

(征求意见稿)

(本草案完成时间: 2021.2.9)

在提交反馈意见时, 请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由海南省农业农村厅提出并归口。

本文件起草单位：中国热带农业科学院热带生物技术研究所、农业农村部热带作物种子种苗质量监督检验测试中心。

本文件主要起草人：王健华、应东山、尹慧祥、余乃通、刘志昕、王军、王辉。

# 西番莲种苗病毒检测技术规程

## 1 范围

本文件规定了西番莲 (*Passiflora* sp.) 种苗病毒检测的术语和定义、检测对象、质量要求、抽样方法、检测方法和判定规则。

本文件适用于海南西番莲生产及种苗调运过程中的病毒检测。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

NY/T 401 脱毒马铃薯种薯（苗）病毒检测技术规程

NY/T 3179 甘蔗脱毒种苗检测技术规范

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

#### 无特定病毒原种

通过茎尖组培等脱毒技术获得的、或经检测确认未受本文件规定的检测对象侵染的西番莲种苗。

### 3.2

#### 采穗母株

用无病毒原种作种苗，在防虫网室、温室等严格隔离条件下保存或扩繁，专门为生产西番莲种苗提供嫁接接穗和扦插枝条的西番莲植株。

## 4 检测对象

西番莲的无病毒原种、采穗母株和商品种苗必需检测马铃薯Y病毒属 (*Potyvirus*)。该病毒属的常见病毒如东亚西番莲病毒 (EAPV)、夜来香花叶病毒 (TeMV) 可根据需要选择检测。

## 5 质量要求

西番莲种苗生产中目测检查和病毒检测应符合表1和表2的规定。

表1 目测检查质量要求

项 目	允许率 <sup>a</sup> (%)		
	无特定病毒原种	采穗母株	商品苗
疑似病毒病症状 (花叶、畸形等)	0	2.0	5.0

项 目	允许率 <sup>a</sup> (%)
<sup>a</sup> 表示有疑似病毒症状样品数占检查样品总数的百分比。	

表2 病毒检测质量要求

项 目	允许率 <sup>a</sup> (%)		
	无特定病毒原种	采穗母株	商品苗
马铃薯Y病毒属 ( <i>Potyvirus</i> )	0	0	5.0
<sup>a</sup> 表示阳性样品数占检测样品总数的百分比。			

## 6 抽样方法

### 6.1 无特定病毒原种

每株必检，每3个月进行病毒检测1次，出现症状或检测为阳性的植株立即拔除并进行无害化处理。

### 6.2 采穗母株

每半年病毒检测1次，每株一年内至少被抽检1次，出现症状或检测为阳性的植株立即拔除并进行无害化处理。

### 6.3 商品苗

同一批生产批次或同一调运批次的种苗为同一检验批。采用随机抽样方法，按同一检验批不小于0.5%的比例抽样，最低抽样数量为20株。

## 7 检测方法

### 7.1 目测检查法

在苗圃生产及调运条件下，先采用目测方式检查疑似病毒病症状。西番莲病毒毒常见症状可参考附录A。

### 7.2 试纸条检测法

商品苗的现场快速检测，宜用马铃薯Y病毒属的市售检测试纸条进行检测。按产品说明操作。

### 7.3 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 法

检测样品数量较多时，宜用马铃薯Y病毒属的通用抗血清进行ELISA检测。按NY/T 401的附录A规定执行。

### 7.4 逆转录聚合酶链式反应 (RT-PCR) 检测法

需更高精度检测、或需对其它检测方法检测结果进行复核时，宜用马铃薯Y病毒属通用引物进行RT-PCR检测，其中上游引物：5'-GCWKCHATGATYGARGCHTGGG-3'，下游引物：5'-AYYTGYTYMTCHCCATCCATC-3'，退火温度45℃，目标片段：680 bp。按NY/T 3179的附录C规定执行。

## 8 判定规则

### 8.1 检测试验可靠性判定

用已知含目标病毒的西番莲样品或含目标病毒扩增片段的质粒做阳性对照；用已知不含目标病毒的西番莲样品或不含目标病毒扩增片段的质料做阴性对照；用等体积的无菌ddH<sub>2</sub>O替代样品做空白对照。只有在阳性对照、阴性对照和空白对照的检测结果均正常时，方可说明检测试验可靠，其结果可用于对被检样品进行检验判定。

### 8.2 样品检测结果判定

ELISA检测法中被检样品与阴性对照之间的OD<sub>405</sub>值比值 $\geq 2$ ，样品检测结果判定为阳性。

试纸条检测法中被检样品试纸条近液端和远液端同时出现2条反应线，样品检测结果判定为阳性。

RT-PCR检测法，被检样品电泳泳道出现与目标大小一致的电泳条带，样品检测结果判定为阳性。

---

附录 A  
(资料性附录)  
西番莲常见病毒病症状

A.1 花叶

指由于形状不规则的深绿、浅绿、黄绿而形成的不规则杂色，不同颜色部位的轮廓是清楚的叶片。见图1。



图1 花叶症状

A.2 斑驳

指由于形状不规则的深绿、浅绿、黄绿而形成的不规则杂色，但变色部位的轮廓不很清楚的症状。见图2。



图2 斑驳症状

A.3 畸形

指植物整株或局部的形态异常。全株性生长不正常的畸形，常见的有矮化和矮缩，叶片的畸形主要表现为叶片变小、叶缺和叶面高低不平的皱缩。见图3。



图3 斑驳症状

#### A. 4 蚀纹

该指因叶片表皮细胞死亡所形成的各种斑纹现象。见图4。



图4 蚀纹症状