



中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1745—2009

切花月季脱毒种苗

Virus-free stocks for cut roses

2009-04-23 发布

2009-05-20 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准由中华人民共和国农业部种植业管理司提出并归口。

本标准起草单位：农业部花卉产品质量监督检验测试中心（昆明）、云南省农业科学院花卉研究所、云南省农业科学院质量标准与检测技术研究所、昆明市农业局。

本标准起草人：唐开学、瞿素萍、王丽花、张颖、杨秀梅、王继华、雷正芳、倪森。

切花月季脱毒种苗

1 范围

本标准规定了各级切花月季脱毒种苗的术语和定义、检测对象、抽样、检测与生产维护、质量要求和判定原则。

本标准适用于各级切花月季脱毒苗生产及销售过程中的质量鉴定和认证等。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方,研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

NY/T 402 脱毒甘薯种薯(苗)病毒检测技术规程

NY/T 1280 花卉植物寄生线虫检测规程

NY/T 1281 花卉植物真菌病害检测规程

NY/T 1491 花卉植物病毒检测规程

SN/T 1840 植物病毒免疫电镜检测方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

切花月季 cut roses

自活体植株上剪切下的、以观赏鲜切花为主的月季种类总称。

3.2

脱毒种苗 virus-free stocks

应用茎尖分生组织脱毒、热处理、化学药剂处理等有效脱毒方法获得的再生试管苗,经检测确认不带李坏死环斑病毒(PNRSV)和苹果花叶病毒(ApMV)等检测对象的种苗,确认为脱毒种苗。

3.3

脱毒核心材料 virus-free nuclear materials

最先经过脱毒处理生成,经检测不携带有质量要求所规定检测对象的初始繁殖材料。

3.4

脱毒原原种苗 virus-free pre-elite stocks

用脱毒核心材料为种源,采用组培技术手段生产出的符合质量要求的繁殖用组培苗。

3.5

脱毒原种苗 virus-free elite stocks

用脱毒原原种苗作种源,在良好隔离条件下生产出的符合质量要求的种苗。

3.6

切花生产用脱毒种苗 virus-free certified stocks

用脱毒原种苗作种源,在隔离条件下生产出的,以生产切花为目的的种苗。

3.7

带病毒月季种苗 rose stock with viral diseases

具有叶脉褪绿、花叶、不规则黄斑、畸形等病毒病症状的种苗及无症带毒种苗。

3.8

其他病原真菌类 other pathogenic fungi

除本标准检测对象所规定的4种病原真菌以外的其他个别真菌。

3.9

病株允许率 permissible rate of diseased plant

病虫害检测呈阳性的植株在被检植株中所占比率的最高允许值,用百分率表示。

3.10

混杂植株允许率 permissible rate of mingled plant

混入被检品种或种类中的其他种类或品种植株在被检植株中所占比率的最高允许值,用百分率表示。

4 检测对象

4.1 病毒

李坏死环斑病毒 *Prunus necrotic ring spot virus*(PNRSV)

苹果花叶病毒 *Apple mosaic virus*(ApMV)

南芥菜花叶病毒 *Arabis mosaic nepovirus*(ArMV)

草莓潜隐环斑病毒 *Strawberry latent ringspot nepovirus*(SLRSV)

4.2 细菌

月季根癌病菌 *Agrobacterium tumefaciens*

发根农杆菌 *Agrobacterium rhizogenes*

4.3 真菌

月季黄萎病菌 *Verticillium* spp.

月季枯枝病菌 *Leptosphaeria coniothyrium*(anamorph *Coniothyrium fuckelii*)

银叶病菌 *Chondrostereum purpureum*

黑色烟霉病菌 *Chalaropsis thielavioides*

4.4 线虫

根结线虫 *Meloidogyne* spp.

伤残短体线虫 *Pratylenchus vulnus*

穿刺短体线虫 *Pratylenchus penetrans*

裂尾剑线虫 *Xiphinema diversicaudatum*

4.5 害虫

牧草虫 thrips

蚜虫 aphids

5 抽样

5.1 脱毒核心材料

每株必须检测。

5.2 脱毒原原种

在整个组培扩繁过程的前、中和后期,采用随机取样法抽取1%~2%的组培种苗。

5.3 田间抽样

5.3.1 脱毒原种苗抽样

切花月季脱毒原种苗在生长前、中、后期,在目测全田的基础上,采用五点取样法,抽样数量按照 NY/T 402 的 4.2.1 进行。若在抽样目测中发现抽样点以外的种苗表现病毒病、根癌病或其他病虫害症状,则应额外抽取。抽样后样品置于 3℃~10℃ 存放待检测。

5.3.2 切花生产用脱毒种苗抽样

在脱毒种苗培育的前、中与后期,在目测的基础上采用随机取样法,取样数量执行 NY/T 402 的 4.2.2 进行。若在抽样中目测发现抽样点以外的种苗有病毒病、根癌病或其他病虫害症状,则应额外抽取。抽样后样品置于 3℃~10℃ 存放待检测。

6 检测与生产维护

6.1 检测方法

切花月季种苗有害生物检测方法见表 1。

表 1 切花月季种苗有害生物主要检测方法

有害生物类型	检测方法
病毒	Cs, ELISA, DAS - ELISA, RT - PCR, ISEM
真菌	V, Gm, Ac, PCR, EM
细菌	V, Gm, Ac, PCR, EM
线虫	Gm, PCR
害虫	V, Gm

注:Cs 指指示植物检测方法;ELISA 指酶联免疫吸附检测方法;DAS - ELISA 指双夹心酶联免疫吸附检测方法;RT - PCR 指逆转录聚合酶链式反应检测方法;ISEM 指免疫电泳检测方法;V 指感官目测症状表现检测方法;Gm 指常规镜检检测方法;Ac 指病原菌分离培养检测方法;PCR 指聚合酶链式反应检测方法;EM 指电泳检测方法。

病毒检测按 NY/T 1491 或 SN/T 1840 规定执行。

病原真菌检测按 NY/T 1281 规定执行。

寄生线虫的检测按 NY/T 1280 规定执行。

害虫检测依据危害症状与害虫各时期形态目测或借助解剖镜、显微镜进行判定。

混杂率检测在植株开花后结合品种特征图谱进行判定。

检测时,对照表 1,用 1 种以上(含 1 种)的检测方法对抽取或委托的检测样品进行逐一检测。

6.2 脱毒核心材料的检测与生产维护

对用茎尖脱毒、热处理、化学药剂处理等有效脱毒方法获得的脱毒核心材料,逐株检测上述所有检测对象。扩繁过程中,严格消毒操作器具且不得接触带毒植株,经 2 次以上(包括 2 次)检测,所有检测对象均为阴性时,才能确认为脱毒核心材料。推荐病毒检测方法为 RT - PCR。

6.3 脱毒原原种苗的检测与生产维护

在组培扩繁过程中,严格消毒操作器具且不得接触带毒植株。每扩繁 1 次随机抽取 1%~2% 的样品进行检测,每年不少于 3 次检测,且所有检测对象均为阴性,经观察 1 年以上无病毒与其他病虫害症状表现时,才能确认为脱毒原原种。推荐病毒检测方法为 RT - PCR。

6.4 脱毒原种苗的检测与生产维护

6.4.1 隔离条件

采用隔离温室进行隔离,隔离温室的防虫网纱孔径要求达到 60 目~80 目,相通温室内不能种植原种以上级别的月季种苗或茄科、十字花科等蚜虫寄主植物。温室周围 10 m 范围内不能有其他可能成为月季病虫害侵染源或可能成为蚜虫寄主的植物,使用经严格消毒的基质。

6.4.2 检测与生产维护

繁殖期间工作人员进出温室和所有农事工具应经过消毒处理,定期观察有无病虫害现象并随机抽取样品检测所有检测对象,每个生长季不少于3次检测,若发现病毒、细菌、真菌、线虫或其他生长不良等症状的植株,应立即清除并做好周围环境的消毒处理工作,达到质量要求的才确认为脱毒原种苗。推荐病毒检测方法为 DAS-ELISA。

6.5 切花生产用脱毒种苗的检测与生产维护

6.5.1 隔离条件

采用隔离温室或自然隔离条件良好的种植区进行隔离。隔离温室要求同脱毒原种,自然隔离条件良好的种植培育区,要求500 m内无茄科、十字花科、非脱毒种苗、切花生产种植等区域以及其他可能成为月季病虫害浸染源或可能成为蚜虫寄主的植物。使用经严格消毒的基质或选用两年内未种植过茄科、十字花科、非脱毒月季种苗及切花生产等区域的土壤。

6.5.2 检测与生产维护

培育期间使用经消毒处理的农事工具,定期观察有无病虫害现象并随机抽取样品检测所有检测对象,每个生长季至少检测2次,若发现病毒、细菌、真菌、线虫或其他生长不良等症状的植株,应立即清除并做好周围环境的消毒处理工作,对于PNRSV应加强检测,达到第7章质量要求的才确认为切花生产用脱毒种苗。推荐病毒检测方法为 DAS-ELISA。

6.6 水肥管理与病虫害防治措施

6.4和6.5所述材料的种植均须按照标准的切花月季种植技术进行水肥管理,并定期喷洒农药防治病虫害发生。

7 质量要求

7.1 基本要求

新育成的品种或繁殖多年的老品种皆可作为种源进行繁殖,但作为种源的必要条件除良好的园艺性状与品种特性外,应毫无病毒症状表现,尤其是用已进入市场流通的品种做种源时,应采用前面所述的有效脱毒方法进行脱毒培养后方可使用。切花月季脱毒种苗分为脱毒核心材料、脱毒原原种苗、脱毒原种苗和切花生产用脱毒种苗四个级别。

7.2 外观质量要求

7.2.1 叶片

整株切花脱毒月季种苗的叶片数 ≥ 4 ,叶片色泽浓绿、厚实。

7.2.2 根系状况

根系完整且新鲜、丰满匀称,根粗壮且数量较多,有4条根以上,根长最少超过2 cm。

7.2.3 整体感

生长旺盛,新鲜程度好,无畸形、药害、肥害和机械损伤。

7.3 脱毒核心材料质量要求

对于脱毒核心材料,要求不带有任何病毒和病虫害症状表现,混杂植株允许率为0,第4章规定的所有检测对象应均为阴性,生长状况良好的材料为合格品。

7.4 脱毒原原种苗、脱毒原种苗和切花生产用脱毒种苗质量要求

对于脱毒原原种苗和脱毒原种苗的混杂植株允许率为0,切花生产用脱毒种苗的混杂植株允许率要求 $\leq 2\%$,各级规定检测对象的病株允许率见表2。

表 2 脱毒原原种苗、脱毒原种苗和切花生产用脱毒种苗的病株允许率

	脱毒原原种苗	脱毒原种苗	切花生产用脱毒种苗
病毒病 Viruses diseases	0	0	0.5%
月季根癌病 <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	0	0	0
黄萎病 <i>Verticillium</i> spp.	0	0.5%	0.5%
枝枯病 <i>Leptosphaeria coniothyrium</i> 银叶病 <i>Chondrostereum purpureum</i> 黑色烟霉病 <i>Chalaropsis thielavioides</i>	0.1%	0.5%	2%
其他的真菌病害 Other pathogenic fungi	0	充分地脱除	—
昆虫 Insects	0	充分地脱除	—
注：“—”表示该项目不需检测。			

8 判定原则

8.1 判定的基本原则

应用本标准第 6 章所规定的 1 种或几种检测方法,凡检测结果为阳性者则判为带毒种苗。由于不同检测方法的灵敏度不一致,第 6 章还提供了不同级别切花月季脱毒种苗的推荐检测方法。

8.2 病虫害等检测对象判定

对于脱毒核心材料、脱毒原原种苗、脱毒原种苗和切花生产用脱毒种苗等,应根据所要求的检测对象,达到质量要求的材料即判定为合格,反之则为不合格。

8.3 混杂率判定

脱毒核心材料、脱毒原原种苗、原种苗的混杂率要求为 0,切花生产用脱毒种苗的混杂率要求 ≤2%,若达到质量要求的材料即判定为合格,反之则为不合格。

8.4 综合判定

客户委托对送检样品进行检测时,可作全项检测,亦可作单项检测,但单项检测不可进行脱毒核心材料、脱毒原原种苗、脱毒原种苗和切花生产用脱毒种苗的级别判定;进行级别判定时,需由质检机构按标准要求跟踪抽查整个生产过程,且每次均进行全项检测后,综合起来才能进行脱毒核心材料、脱毒原原种苗、脱毒原种苗和切花生产用脱毒种苗的级别判定。只有按照标准生产程序并达到相应级别的质量要求,才能判定为该级别。