

中华人民共和国国家标准

GB/T 31800-2015

李痘病毒检疫鉴定方法

Detection and identification of Plum pox virus

2015-07-03 发布 2015-11-27 实施

前 言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 给出的规则起草。

本标准由全国植物检疫标准化技术委员会(SAC/TC 271)提出并归口。

本标准起草单位:中华人民共和国宁波出入境检验检疫局、中华人民共和国广东出入境检验检疫局、中国检验检疫科学研究院。

本标准主要起草人:陈先锋、张慧丽、陈定虎、张吉红、徐瑛、郭立新、闻伟刚、杨红霞、杜洪忠、吴品珊。

李痘病毒检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了李痘病毒的免疫学和分子生物学检疫鉴定方法。

本标准适用于植物材料,包括无性繁殖材料、组培苗、种子、花和果实中李痘病毒的检疫鉴定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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。

GB/T 6682 分析试验室用水规格和试验方法

SN/T 1840 植物病毒免疫电镜检测方法

3 仪器设备和主要试剂

3.1 仪器设备

普通 PCR 仪、实时荧光 PCR 仪、酶标仪、电子天平(1/1~000~g)、电泳仪、电泳槽、凝胶成像系统、水浴锅、台式高速冷冻离心机、-80~ C超低温冰箱、超净工作台、高压灭菌锅、制冰机、微波炉、涡旋振荡器。可调式微量移液器($2~\mu$ L、 $10~\mu$ L、 $100~\mu$ L $1000~\mu$

3.2 主要试剂

除特别规定外,所有实验用试剂均为分析纯,实验用水应符合 GB/T 6682 中相关规定。

Trizol、焦碳酸二乙酯 (DEPC)、液氮、三氯甲烷、异丙醇、乙醇、 β -巯基乙醇、RNA 反转录酶、Taq DNA 聚合酶、SYBR green I、DNA 相对分子质量标准物、溴化乙锭、琼脂糖、溴酚蓝等。双抗体酶联免疫吸附测定方法(DAS-ELISA)检测试剂配制方法见附录 B中 B.1。

4 检疫鉴定方法

4.1 症状检查

仔细检查植株的叶片及花、果实、果核是否有褪色、环斑、畸形等可疑症状,如果出现了典型症状(参见附录 A),可采集表现症状的花、叶片或果实进行后续检测。

4.2 双抗体酶联免疫吸附测定方法(DAS-ELISA)

DAS-ELISA 具体操作步骤见附录 B。

4.3 普通 RT-PCR 检测方法

普通 RT-PCR 检测方法具体操作步骤见附录 C。