

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 2288—2012

黄瓜绿斑驳花叶病毒检疫检测 与鉴定方法

Detection and identification of *Cucumber green mottle mosaic virus*

2012-12-24 发布

2013-03-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1 给出的规则起草。

本标准由农业部种植业管理司提出。

本标准由全国植物检疫标准化技术委员会(SAC/TC 271)归口。

本标准起草单位:全国农业技术推广服务中心、辽宁省植物保护站、沈阳农业大学。

本标准主要起草人:王福祥、蔡明、吴元华、熊红利、李潇楠、江冬、李明福、李眷、张昆。

黄瓜绿斑驳花叶病毒检疫检测与鉴定方法

1 范围

本标准规定了农业植物检疫中黄瓜绿斑驳花叶病毒检疫检测及鉴定方法。
本标准适用于黄瓜绿斑驳花叶病毒的检疫检验与鉴定。

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 15569 农业植物调运检疫规程

3 原理

黄瓜绿斑驳花叶病毒 *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV),属烟草花叶病毒属,随嫁接穗、砧木和种子传播。该病毒可在西瓜上引起果肉暗红色出现空洞,并且呈丝状纤维化,最终腐烂变味。其病原形态、生物学特性、典型症状及双抗体夹心酶联免疫吸附(ELISA)检测和荧光定量 PCR 反应结果(RT-PCR)是该病毒病监测与鉴定的重要依据。

4 试剂与材料

碳酸钠(Na_2CO_3)、碳酸氢钠(NaHCO_3)、叠氮化钠(NaN_3)、无水磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)、无水磷酸二氢钾(KH_2PO_4)、氯化钠(NaCl)、氯化钾(KCl)、氯化镁(MgCl_2)、无水亚硫酸钠(Na_2SO_3)、氢氧化钠(NaOH)、乙醇($\text{C}_2\text{H}_5\text{CH}_2\text{OH}$)、对硝基苯磷酸二钠(PNPP)、焦碳酸二乙酯(DEPC)、无菌水、市售抗体、市售酶标抗体、市售 PCR 试剂、市售 Trizol 试剂等。检验中所需的其他试剂配比参见附录 A。

所有试剂均为分析纯。

5 仪器及用具

台式离心机、分光光度计、电子天平、PCR 仪、酶联板、酶联读数仪、微量加样器、水浴锅、电泳仪及水平电泳槽、培养箱、冰箱等。

6 取样方法

6.1 种子样品

取样数量与方法按 GB 15569 的规定进行

6.2 植株或果实样品

随机选取发病叶片或果实,以幼嫩叶片和果实为主。每份样品数量不少于 200 g,装入自封袋中密封低温保存,并注明采集时间、地点、采集人等信息。

7 检疫鉴定

7.1 症状检验

在瓜类作物生长期,选择有代表性的地块,检查叶片、果梗、果实,与黄瓜绿斑驳花叶病毒的典型症状进行比较,参见附录 B。

7.2 快速诊断检验