

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 2249—2012

菠萝凋萎病病原分子检测技术规范

Technical specification of molecular detection for pineapple mealybug wilt pathogen

2012-12-07 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。

本标准由农业部农垦局提出。

本标准由农业部热带作物及制品标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：中国热带农业科学院环境与植物保护研究所。

本标准主要起草人：黄俊生、王国芬、彭军、杨腊英、梁昌聪、刘磊。

菠萝凋萎病病原分子检测技术规范

1 范围

本标准规定了菠萝凋萎病病原(包括菠萝凋萎伴随病毒和菠萝杆状病毒)的分子检测方法。
本标准适用于菠萝种苗及大田植株中菠萝凋萎伴随病毒和菠萝杆状病毒的定性检测。

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。凡是注明日期的引用文件,仅注明日期的版本适用于本文件。凡是不注明日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

SN/T 1193 基因检验实验室技术要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件

3.1

菠萝凋萎病病原 pathogen of pineapple mealybug wilt(PMW)

包括菠萝凋萎伴随病毒(*Pineapple mealybug wilt-associated virus*, PMWaV)和菠萝杆状病毒(*Pineapple bacilliform virus*, PBCoV),其中菠萝凋萎伴随病毒包括菠萝凋萎伴随病毒1号(PMWaV-1)、菠萝凋萎伴随病毒2号(PMWaV-2)和菠萝凋萎伴随病毒3号(PMWaV-3)。该病害病原的分类地位、寄主范围、危害症状及地理分布参见 A.1~A.4。

3.2

热休克蛋白-70 heat shock protein 70, HSP-70

分子量约为70 ku的 α -类热休克蛋白,是分子伴侣的主要成分,对蛋白的跨膜转运及特定构象的维持等起着重要作用,是进化序列保守的蛋白之一。

3.3

聚合酶链式反应 polymerase chain reaction, PCR

模板基因序列先经高温变性成为单链,在DNA聚合酶作用和适宜的反应条件下,根据模板序列设计的两条引物分别与模板DNA两条链上相应的一段互补序列发生退火而互相结合,接着在DNA聚合酶的作用下以四种脱氧核糖核酸(dNTP)为底物,使引物得以延伸,然后不断重复变性、退火和延伸这一循环,使欲扩增的基因片段以几何倍数扩增。

3.4

逆转录聚合酶链式反应 reverse-transcription polymerase chain reaction, RT-PCR

RT-PCR是先利用依赖于RNA的DNA聚合酶,将待测RNA逆转录为DNA;再以逆转录后的一段DNA作为模板,以模板DNA两端序列互补的一对特异性寡核苷酸序列作为引物,在四种脱氧核糖核苷三磷酸存在下,利用依赖于DNA的DNA聚合酶的催化作用。经过数十次变性、退火和延伸的反应循环,使模板上介于两个引物之间的DNA片段得到特异性的技术扩增,再通过电泳等手段检测到被特异性扩增的片段。

3.5

tRNA^{met}结合区

tRNA^{met}是携带延长肽链上甲硫氨酸的tRNA,它负责识别延伸中AUG密码子。tRNA^{met}结合区