

# 中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1962—2010

---

## 马铃薯纺锤块茎类病毒检测

Detection of *potato spindle tuber viroid*(PSTVd)

2010-12-23 发布

2011-02-01 实施

---

中华人民共和国农业部 发布

## 前 言

本标准遵照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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：农业部脱毒马铃薯种薯质量监督检验测试中心（哈尔滨）。

本标准主要起草人：吕典秋、刘尚武、邱彩玲、宿飞飞、王绍鹏、李勇、于德才、张抒、王文重、王亚洲、范国权、李学湛。

## 马铃薯纺锤块茎类病毒检测

### 1 范围

本标准规定了马铃薯纺锤块茎类病毒(PSTVd)的检测方法。

本标准适用于马铃薯种薯、商品薯、试管苗及其根、茎、叶不同部位组织中的马铃薯纺锤块茎类病毒的检测。

### 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 分析实验室用水规格和试验方法

### 方法一 聚合酶链式反应

### 3 原理

类病毒是没有外壳蛋白、裸露的、低分子闭合环状 RNA 分子, RNA 分子大小在 246 nt~401 nt 之间,马铃薯纺锤块茎类病毒(PSTVd)的序列在 356 nt~360 nt 之间。根据 PSTVd 序列设计特异性引物,进行扩增,扩增片段大小为 359 bp 左右。

### 4 试剂与材料

以下所用试剂,除特别注明者外均为分析纯试剂,水为符合 GB/T 6682 中规定的一级水。

4.1 三氯甲烷。

4.2 M-MLV 反转录酶(200 u/ $\mu$ L)。

4.3 RNA 酶抑制剂(40 u/ $\mu$ L)。

4.4 *Taq* DNA 聚合酶(5 u/ $\mu$ L)。

4.5 焦碳酸二乙酯(DEPC)处理的水。

在 100 mL 水中,加入焦碳酸二乙酯(DEPC)50  $\mu$ L,室温过夜,121 $^{\circ}$ C 高压灭菌 20 min,分装到 1.5 mL DEPC 处理过的微量管中。

4.6 3 mol/L 乙酸钠溶液(pH 5.2)。

称取乙酸钠 $\cdot$ 3H<sub>2</sub>O 24.6 g,加水 80 mL 溶解,用冰乙酸调 pH 至 5.2,定容至 100 mL。

4.7 水饱和酚(pH 4.0)。

4.8 溴化乙锭溶液(10 mg/mL)。

称取溴化乙锭 200 mg,加水溶解,定容至 20 mL。

4.9 1 mol/L 三羟甲基氨基甲烷—盐酸(Tris-HCl)溶液(pH 8.0)。

称取 Tris 碱 121.1 g,溶解于 800 mL 水中,用浓盐酸调 pH 至 8.0,加水定容至 1 000 mL,121 $^{\circ}$ C 高压灭菌 20 min。

4.10 RNA 提取缓冲液。

称取 Tris 碱 12.12 g,氯化钠 5.88 g,乙二醇四乙酸二钠 3.75 g,加水至 900 mL,溶解,用浓盐酸调