



中华人民共和国国家标准

GB/T 28062—2011

GB/T 28062—2011

柑桔黄龙病菌实时荧光 PCR 检测方法

Detection of *Candidatus Liberibacter asiaticus* using the
real-time fluorescent PCR

中 华 人 民 共 和 国

国 家 标 准

柑桔黄龙病菌实时荧光 PCR 检测方法

GB/T 28062—2011

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲 2 号(100013)
北京市西城区三里河北街 16 号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235
读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

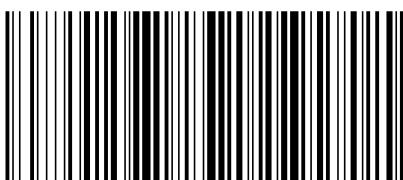
*

开本 880×1230 1/16 印张 1.5 字数 33 千字
2012 年 4 月第一版 2012 年 4 月第一次印刷

*

书号: 155066 · 1-44586 定价 24.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



GB/T 28062-2011

2011-12-30 发布

2012-06-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

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:重庆大学、农业部农业技术推广服务中心、中华人民共和国北京出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:殷幼平、王中康、王玉玺、高文娜、夏玉先、曹月青、彭国雄、李正国。

附录 G
(资料性附录)

柑桔黄龙病菌亚洲种实时荧光 PCR 检测试剂盒组成及使用说明

G.1 试剂盒组成

每个试剂盒可做 48 个检测,包括以下成分:

样品制备液 I	50 mL×1 瓶
样品制备液 II	10 mL×5 管
样品制备液 III	20 mL×1 瓶
阴性对照(健康柑桔叶片 DNA)	100 ng/管×2 管
阳性对照(柑桔黄龙病菌亚洲种重组质粒 DNA)	100 ng/管×2 管
固相化试剂检测管	八联管×6 条
恢复液	10 mL×5 瓶

G.2 试剂盒说明

G.2.1 样品制备液 I: 主要成分为三羟甲基氨基甲烷(Tris)、乙二胺四乙酸(EDTA)和十二烷基磺酸钠(SDS),外观为无色液体,常温保存时可能有絮状沉淀,使用前应在 65 ℃下水浴加热溶解沉淀。使用前按说明书要求加入蛋白酶 K 水溶液。

G.2.2 制备液 III 第一次使用时应按包装上注明的剂量加入无水乙醇,然后常温密闭保存备用,可保存 2 个月。

G.2.3 恢复液 用于溶解荧光 PCR 固相化混合试剂。

G.2.4 用于荧光染料法检测的固相试剂检测管中包含除待测样品 DNA 外的所有 PCR 扩增反应试剂及荧光染料,用于荧光探针检测的固相试剂检测管中包含除待测模板 DNA 外的所有 PCR 反应试剂及荧光探针。

G.3 功能

所列试剂盒可用于柑桔黄龙病叶片和果实等组织样品中柑桔黄龙病菌亚洲种的实时荧光 PCR 检测和病害鉴定。若需检测样品带菌量,则样品和阳性对照都需要定量。具体操作按使用说明进行。

柑桔黄龙病菌实时荧光 PCR 检测方法

1 范围

本标准规定了柑桔黄龙病菌(Candidatus Liberibacter asiaticus)实时荧光 PCR 检测的样品制备、检测操作方法及结果判定标准。

本标准适用于对芸香科和非芸香科植物罹病植株和传播媒介柑桔木虱中黄龙病菌(Candidatus Liberibacter asiaticus)的检测和病害鉴定。

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 5040 柑桔苗木产地检疫规程

GB/T 19495.2 转基因产品检测实验室技术要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

柑桔黄龙病 Citrus Huanglongbing

一种由韧皮杆菌引起的植物检疫性病害。主要侵染柑桔属、金柑属和枳属等柑桔类植株。由带菌种苗远距离传播,田间主要由柑桔木虱取食传播。典型受害植株叶片斑驳不均匀黄化,枝梢黄化,果实畸形,种子败育,严重时可引起植株死亡。

3.2

实时荧光 PCR real-time fluorescent PCR

实时荧光聚合酶链式反应,一种在体外扩增微量的特殊 DNA 片段的方法,在扩增过程中由于荧光物质的释放或荧光物质与扩增产物结合并被实时检测而能够快速、灵敏地检出模板 DNA 的存在。

3.3

扩增引物 primer

人工合成的寡核苷酸序列,其序列与待扩增的目标 DNA 序列中的一段相同,用于引导 DNA 体外扩增。

3.4

扩增模板 template

DNA 体外扩增中所用的待扩增的靶标序列。

3.5

Ct 值 cycle threshold value

实时荧光 PCR 反应中每个反应管内荧光信号达到设定阈值时所经历的循环数。

3.6

亚洲韧皮杆菌重组质粒 DNA recombinant plasmid DNA

利用特异性引物扩增柑桔黄龙病菌(Candidatus Liberibacter asiaticus)基因组模板,获得的亚洲韧皮杆菌特异性 DNA 扩增产物。