

# 中华人民共和国农业行业标准

NY/T 2679—2015

---

## 甘蔗病原菌检测规程 宿根矮化病菌 环介导等温扩增检测法

Detection procedures of sugarcane pathogen—*Leifsonia xyli* subsp.*xyli*—  
Detection method of loop-mediated isothermal amplification

2015-02-09 发布

2015-05-01 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—2009 给出的规则起草。

本标准由农业部种植业管理司提出。

本标准由全国果品标准化技术委员会(SAC/TC 510)归口。

本标准起草单位：福建农林大学农业部福建甘蔗生物学与遗传育种重点实验室、农业部甘蔗及制品质量监督检验测试中心。

本标准主要起草人：许莉萍、阙友雄、郭晋隆、吴期滨、陈如凯、周定港、罗俊、陶玲。

# 甘蔗病原菌检测规程 宿根矮化病菌 环介导等温扩增检测法

## 1 范围

本标准规定了环介导等温扩增技术检测甘蔗宿根矮化病菌(*Leifsonia xyli* subsp. *xyli*)的原理、试剂和材料、仪器和设备、操作步骤、结果判定与表述等技术内容。

本标准适用于甘蔗组培苗、田间植株、种苗、种茎中甘蔗宿根矮化病菌的 LAMP 检测。

## 2 缩略语和符号

### 2.1 下列缩略语适用于本标准

- 2.1.1 LAMP: loop-mediated isothermal amplification, 环介导等温扩增。
- 2.1.2 dNTPs Mixture: deoxyribonucleoside triphosphates mixture, 脱氧核苷三磷酸混合液。
- 2.1.3 ddH<sub>2</sub>O: double distilled H<sub>2</sub>O, 双蒸水。
- 2.1.4 CTAB: hexadecyltrimethylammonium bromide, 十六烷基三甲基溴化铵。
- 2.1.5 Tris: tris(hydroxymethyl)methyl aminomethane, 三(羟甲基)氨基甲烷。
- 2.1.6 EDTA: Edetate disodium, 乙二胺四乙酸钠。
- 2.1.7 LF: forward loop primer, 正向环引物。
- 2.1.8 LB: backward loop primer, 反向环引物。

### 2.2 下列符号适用于本标准

- 2.2.1 F3c: 在靶基因的 3' 末端设定的一个区段。
- 2.2.2 F2c: 在靶基因的 3' 末端设定的一个区段, 位于 F3c 的 5' 端。
- 2.2.3 F1c: 在靶基因的 3' 末端设定的一个区段, 位于 F2c 的 5' 端。
- 2.2.4 B1: 在靶基因的 5' 末端设定的一个区段。
- 2.2.5 B2: 在靶基因的 5' 末端设定的一个区段, 位于 B1 的 5' 端。
- 2.2.6 B3: 在靶基因的 5' 末端设定的一个区段, 位于 B2 的 5' 端。
- 2.2.7 F3(forward outer primer): 正向外引物, 含有与目标 DNA 上的 F3c 序列互补的区段。
- 2.2.8 B3(backward outer primer): 反向外引物, 含有与目标 DNA 上的 B3 相同序列的区段。
- 2.2.9 FIP(forward inner primer): 正向内引物, 在 3' 末端含有与 F2c 互补的 F2 区段, 在 5' 末端含有与 F1c 相同序列的区段。
- 2.2.10 BIP(backward inner primer): 反向内引物, 在 3' 末端含有与 B2c 互补的 B2 区段, 在 5' 末端含有与 B1c 相同序列的区段。

## 3 原理

LAMP 是一种恒温核酸扩增方法。DNA 在 65℃ 左右处于动态平衡状态, 任何一个引物向双链 DNA 的互补部位进行碱基配对延伸时, 另一条链就会解离成为单链。在靶基因的 3' 末端设定 F3c、F2c、F1c 3 个区段, 在 5' 末端设定 B1、B2、B3 3 个区段。针对靶基因的 6 个区域设计 4 种特异引物, 利用链置换 DNA 聚合酶在等温(65℃ 左右)条件下保温一定的时间, 即可完成核酸扩增反应。以感染了甘蔗宿根矮化病菌(*Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, Lxx)的甘蔗为供试样品, 提取的甘蔗总 DNA 里含有病原细菌的 DNA, 可用于检测。