

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4077—2014

齿兰环斑病毒检疫鉴定方法

Detection and identification of odontoglossum ringspot virus

2014-11-19 发布

2015-05-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国厦门出入境检验检疫局、中华人民共和国江苏出入境检验检疫局、厦门市植保植检站。

本标准主要起草人：陈青、黄峰、李彬、廖富荣、谢毅璇、陈红运、林石明。

齿兰环斑病毒检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了齿兰环斑病毒检疫鉴定的免疫学和分子生物学检测方法。
本标准适用于可能带有齿兰环斑病毒的兰花苗及植物产品的检疫鉴定。

2 齿兰环斑病毒基本信息

学名: *odontoglossum ringspot virus*

缩写: ORSV

分类地位: 烟草花叶病毒属 (*Tobamovirus*) 的成员。

ORSV 主要通过机械性传播, 桃蚜能传毒。

详细资料参见附录 A。

3 方法原理

根据齿兰环斑病毒与抗体之间的特异性反应, 对兰花叶片进行 ELISA 检测; 根据该病毒基因组特性进行 PCR 特异性检测, 通过电泳条带大小进行结果判定。

4 仪器、设施及试剂

4.1 仪器与设施

酶联检测仪、电子天平(感量 0.000 1 g)、PCR 仪、电泳仪、电泳槽、凝胶成像系统、恒温水浴、低温冰箱、普通冰箱、离心机等; 微量移液器(2.5 μ L, 10 μ L, 20 μ L, 100 μ L, 200 μ L, 1 000 μ L); 酶联板、研钵等; 防虫温室。

4.2 试剂

酶联检测试剂(见附录 B), RT-PCR 检测试剂(见附录 C), IC-RT-PCR 检测试剂(见附录 D)。

5 检疫与鉴定

5.1 制样

观察样品, 有症状(如: 叶片畸形、花叶、斑驳等)的苗木编号单独检测。没有症状的分组并编号检测, 分组, 10 株为一组, 采集的叶片分成两份, 分别用于酶联检测和分子生物学检测, 不足 10 株可每株取样进行检测。

5.2 检测方法

5.2.1 双抗体夹心酶联免疫吸附检测(DAS-ELISA)

把制备的样品上清液加入已包被 ORSV 抗体的 96 孔酶联板中, 进行 DAS-ELISA 检测。每个样品