

# SN

## 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3438—2012

---

### 南方菜豆花叶病毒检疫鉴定方法

Detection and identification of southern bean mosaic virus

2012-12-12 发布

2013-07-01 实施

---

中华人民共和国  
国家质量监督检验检疫总局 发布



# 南方菜豆花叶病毒检疫鉴定方法

## 1 范围

本标准规定了南方菜豆花叶病毒的血清学和分子生物学检测方法。  
本标准适用于可能携带南方菜豆花叶病毒的豆科种子的检疫鉴定。

## 2 原理

南方菜豆花叶病毒(southern bean mosaic virus, SBMV)为南方菜豆花叶病毒属(sobemovirus)的典型成员。抗原特性和基因组特征(参见附录 A)是检疫鉴定的主要依据。

## 3 仪器、设施及试剂

### 3.1 仪器与设施

酶联检测仪、电子天平(感量 0.000 1 g)、定性 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  $\mu$ L, 10  $\mu$ L, 20  $\mu$ L, 100  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 1 000  $\mu$ L);酶联板、研钵等;防虫温室。

### 3.2 试剂

酶联检测试剂(见附录 B), RT-PCR 检测试剂(见附录 C)。

## 4 检疫与鉴定

### 4.1 制样

挑取畸形、不成熟的种子播于灭菌土中,待长出 3~4 片真叶后将表现症状的植株编号,未表现症状的植株分组(10 株为 1 组)并编号。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。

### 4.2 检测

#### 4.2.1 双抗体夹心酶联免疫吸附检测

把制备的样品上清液加入已包被 SBMV 抗体的 96 孔酶联板中,进行 DAS-ELISA 检测。每个样品平行加到两个孔中。健康的植物组织作阴性对照,感染 SBMV 的植物组织作阳性对照,样品提取缓冲液作空白对照,其中阴性对照种类和材料(如:种子或叶片)应尽量与检测样品一致。不同的检测试剂或试剂盒根据试剂或试剂盒的说明操作。

具体操作见附录 B。

#### 4.2.2 RT-PCR 检测

分别提取样品和对照的总 RNA,反转录合成 cDNA 后,进行 PCR 扩增。健康的植物组织作阴性对照,感染 SBMV 的植物组织作阳性对照,用超纯水作空白对照。



具体操作见附录 C。

## 5 结果判定

酶联检测阳性,使用 SBMV 特异性引物进行 RT-PCR 检测,扩增出目的条带,判定样品是携带 SBMV,否则不携带。

样品酶联检测阳性,使用 SBMV 特异性引物未扩增出目的条带,可用南方豇豆花叶病毒的特异引物对该样品进行 RT-PCR 检测(参见附录 A)。

## 6 样品保存、结果记录与资料保存

### 6.1 样品保存

经检测确定携带 SBMV 的样品应在合适条件下保存,种子保存在 4 °C,病叶冻干保存在-20 °C 或者-80 °C 冰箱中,做好标记和登记工作。

### 6.2 结果记录与资料保存

完整的实验记录包括:样品的来源、种类、检测时间、地点、方法和结果等,并要有经手人和检测人员的签字。酶联测定应有酶联板反应原始数据,RT-PCR 检测应有扩增结果图片,生物学接种应有症状照片。