



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1146—2010
代替 SN/T 1146—2002

烟草环斑病毒检疫鉴定方法

Detection and identification of tobacco ringspot virus

2010-05-27 发布

2010-12-01 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。

本标准代替 SN/T 1146—2002《烟草环斑病毒检疫鉴定方法》。

本标准与 SN/T 1146—2002 相比，主要技术变化如下：

- 现场检疫抽样按照 SN/T 2122—2008《进出境植物及植物产品检疫抽样》执行(见 6.2)；
- 删除了原标准规范性附录 A；
- 增加了“症状检查”一节(见 6.3)；
- 免疫电镜方法按照 SN/T 1840—2006《植物病毒免疫电镜检测方法》标准(见 7.3)。

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：中华人民共和国深圳出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：陈枝楠、邓琼、郑耘、凌杏园、郑文华、王东勇。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- SN/T 1146—2002。

烟草环斑病毒检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了进出境植物检疫中对烟草环斑病毒的检疫鉴定方法。
本标准适用于进出境植物及其产品中烟草环斑病毒的检疫鉴定。

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。

SN/T 1840 植物病毒免疫电镜检测方法

SN/T 2122 进出境植物及植物产品检疫抽样规则

3 原理

烟草环斑病毒(tobacco ringspot virus,简称 TRSV),异名为银莲花坏死病毒(anemone necrosis virus)、蓝莓坏死环斑病毒(blueberry necrotic ringspot virus)、烟草环斑病毒1号(tobacco ringspot virus 1)。该病毒为等轴多面体球状病毒,直径为 25 nm~29 nm,属线虫传多面体病毒属成员,可侵染 54 科、300 多种植物,其中主要的经济作物有豆类、马铃薯、甘薯、烟草、西瓜、黄瓜、甜瓜、胡萝卜、唐菖蒲、百合、鸢尾、李属、苹果、葡萄、甜樱桃等。受 TRSV 感染的植株症状因寄主而异,通常叶片出现环状或线状纹、褪绿斑或斑驳、坏死斑;根腐烂、茎顶枯,所结的果畸形等。该病毒主要依靠线虫和种子进行传播,主要分布于北美洲、大洋洲、欧洲、非洲等地区,具有寄主广泛,危害症状明显、免疫原性强、容易制备高滴度、专化性强的病毒抗血清等特点(参见附录 A)。通过血清学双抗体夹心法(DAS-ELISA)结合鉴别寄主生物学鉴定方法或免疫电镜检测,作为检疫工作中鉴定该病毒的依据。

4 用具、设备、设施

研钵、微量榨汁机、酶标仪、低速离心机(转速为 4 000 r/min)、生物培养箱(具有光照,温度可调范围为 0℃~50℃)、酶联板(48 孔或 96 孔)、Eppendorf 管(体积为 1.5 mL)、单道移液器(10 μL、100 μL、1 000 μL)、8 道移液器(100 μL 或 200 μL)、恒温水浴锅或恒温培养箱、分析电子天平、pH 计、白瓷盘(40 cm×50 cm)、钝头镊子、隔离检疫温(网)室。

5 试剂

5.1 10×PBST 缓冲液

将氯化钠(NaCl)80 g、磷酸二氢钾(KH₂PO₄)2 g、磷酸氢二钠(Na₂HPO₄)11.5 g、氯化钾(KCl)2 g、吐温-20(Tween-20)5 mL溶于蒸馏水,定容至 1 000 mL。

5.2 样品提取缓冲液

将亚硫酸钠(Na₂SO₃)1.3 g、聚乙烯吡咯烷酮(MW24 000~40 000,PVP)20 g、叠氮钠(NaN₃)