

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 2014—2007

番茄黑环病毒检疫鉴定方法

Identification of tomato black ring virus

2007-12-24 发布

2008-07-01 实施

中 华 人 民 共 和 国 发 布
国家质量监督检验检疫总局

前 言

本标准的附录 A、附录 D 为规范性附录，附录 B、附录 C 为资料性附录。

本标准由认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国天津出入境检验检疫局、中华人民共和国上海出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：夏惠娟、杨翠云、刘勇、郭京泽、刘鹏、廖芳、罗加凤、于翠。

本标准系首次发布的出入境检验检疫行业标准。

番茄黑环病毒检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了番茄黑环病毒检疫鉴定的方法。

本标准适用于所有进出境活体植物材料,包括无性繁殖材料、组培苗、种子和苗木中番茄黑环病毒的检疫鉴定。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

双抗体夹心酶联免疫吸附测定

在固相支持物上(酶联板)包被病毒特异性抗体,加入待测样品后,再用酶标记的病毒抗体进行免疫识别,最后通过酶促化学反应检测病毒是否存在的一种血清学检测方法。

2.2

RT-PCR

利用反转录酶将病毒 RNA 反转录为 cDNA,并以耐热 DNA 聚合酶和一对引物(与待测目标核酸分子序列同源的 DNA 片段)通过高温(DNA 分子变性)和低温(引物和目标核酸分子复性并被耐热 DNA 聚合酶延伸)交替循环扩增待测目标核酸分子的方法。

3 原理

番茄黑环病毒学名[Tomato black ring virus(缩写:TBRV)],分类地位:跗豆花叶病毒科(Comoviridae),线虫传多面体病毒属(*Nepovirus*)。

该病毒主要通过介体传播(线虫 *Longidorus attenuatus* 和 *L. elongatus*)、机械传播、种子(繁缕和大豆等)传播,也可通过无性繁殖材料的运输等进行长距离传播。

该病毒粒体为等轴多面体病毒,直径约为 30 nm。

该病毒基因组含两条 ssRNA。RNA 1 长 7.358 kb;RNA 2 长 4.618 kb(英国血清型)和 4.662 kb(德国血清型)。

该病毒的血清学、生物学、分子生物学和粒体形态等特性是鉴定该病毒的依据。

4 仪器设备和设施、用具和试剂

4.1 仪器设备

酶标仪、电子天平(1/10 000 g)、PCR 仪、电泳仪、电泳槽、凝胶成像系统、透射电子显微镜、微量移液器、水浴锅、低速离心机(转速为 3 000 r/min~5 000 r/min)、生物培养箱(具有光照条件,温度可控制范围为 0℃~50℃)、高速冷冻离心机、-80℃超低温冰箱。

4.2 设施

隔离温室(10℃~30℃)

4.3 用具

可调式微量移液器(2.5 μL、10 μL、100 μL、200 μL、1 000 μL、5 000 μL)及相应的移液器吸头、酶联板、Eppendorf 管、研钵、pH 计或各范围的 pH 试纸条、量筒、封口膜、吸水纸、白瓷盘及镊子等。