

# SN

## 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3287—2012

---

### 棉花皱叶病毒分子检疫鉴定方法

Molecular detection and identification of cotton leaf crumple virus

2012-10-23 发布

2013-05-01 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：中国检验检疫科学研究院、中华人民共和国浙江出入境检验检疫局、中华人民共和国广东出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：张永江、张明哲、李明福、冯黎霞、李桂芬。

# 棉花皱叶病毒分子检疫鉴定方法

## 1 范围

本标准规定了棉花皱叶病毒(参见附录 A)核酸的提取、PCR 及实时荧光 PCR 检测的方法。本标准适用于进出境植物检疫中棉花皱叶病毒的检疫鉴定。

## 2 方法原理

棉花皱叶病毒学名:Cotton leaf crumple virus,缩写:CLCrV。该病毒的分子生物学特征是本标准制定的主要依据。

## 3 仪器设备、用具及试剂

### 3.1 仪器设备

PCR 仪、电泳系统、高速冷冻离心机、凝胶成像系统、振荡器、4℃冰箱、电子分析天平(0.001 g)、超净工作台、水浴锅、-80℃超低温冰箱、高压灭菌锅、制冰机、微波炉。

### 3.2 用具

可调移液器(2.5 μL,10 μL,20 μL,100 μL,1 000 μL)及灭菌的吸头、离心管、PCR 管和研钵等。

### 3.3 试剂

除有特殊说明外,所有实验用试剂均为分析纯或生化试剂。

实时荧光 PCR 试剂、三氯甲烷、异戊醇、乙醇、*Taq* DNA 聚合酶、DNA 分子标记、溴化乙锭、琼脂糖等。

试剂配制见附录 B。

## 4 检疫鉴定方法

### 4.1 常规 PCR 检测

提取样品 DNA,设置阳性对照、阴性对照和空白对照,进行常规 PCR 扩增。具体操作步骤见附录 C。

### 4.2 实时荧光 PCR 检测

提取样品 DNA,设置阳性对照、阴性对照和空白对照,进行实时荧光 PCR 扩增。具体操作步骤见附录 D。

## 5 结果判断

样品经 PCR 及实时荧光 PCR 检测为阴性时,判定样品不携带 CLCrV。