

ICS 65.020.01
B 16



中华人民共和国国家标准

GB/T 31791—2015

GB/T 31791—2015

棉花曲叶病毒检疫鉴定方法

Detection and identification of *Cotton leaf curl virus*

中华人民共和国
国家标准
棉花曲叶病毒检疫鉴定方法
GB/T 31791—2015

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)
网址 www.spc.net.cn
总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

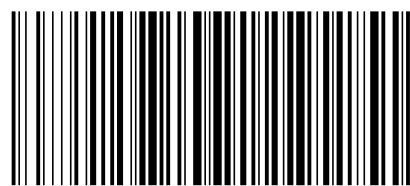
*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 18 千字
2015年8月第一版 2015年8月第一次印刷

*

书号: 155066·1-49767 定价 18.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



GB/T 31791—2015

2015-07-03 发布

2015-11-27 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由全国植物检疫标准化技术委员会(SAC/TC 271)提出并归口。

本标准起草单位:中国检验检疫科学研究院、中华人民共和国广东出入境检验检疫局、中华人民共和国云南出入境检验检疫局、中华人民共和国新疆出入境检验检疫局、浙江大学、中华人民共和国深圳出入境检验检疫局、中华人民共和国茂名出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:张立、张永江、冯黎霞、李旻、张祥林、周雪平、郑耘、马洁、李海林、辛言言、朱水芳、李明福。

C.5 琼脂糖凝胶电泳检测

制备 1% 的琼脂糖凝胶,按比例混匀电泳上样缓冲液和 PCR 扩增产物,用 DNA Marker 作为分子量标记,进行电泳分析。电泳结束后在凝胶成像仪的紫外透射光下观察是否扩增出预期的特异性 DNA 条带,并拍摄记录。

C.6 结果判定

如果阳性对照出现约 791 bp 的条带,检测样品、阴性对照和空白对照未出现特异性条带,可判定样品为 CLCuV 阴性。

如果阳性对照及检测样品出现约 791 bp 的条带,阴性对照和空白对照未出现特异性条带,可判定样品为 CLCuV 阳性。

棉花曲叶病毒检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了棉花曲叶病毒的免疫学及分子生物学检疫鉴定等方法。
本标准适用于可能携带棉花曲叶病毒的植物组织的检疫鉴定。

2 仪器设备、用具和试剂

2.1 仪器设备

电子分析天平(0.001 g)、小型离心机、台式冷冻离心机、恒温水浴锅、酶标仪、普通 PCR 仪、实时荧光 PCR 仪、电泳系统、pH 计、凝胶成像系统、4 ℃ 冰箱、超净工作台、-80 ℃ 超低温冰箱、高压灭菌锅、制冰机、涡旋振荡器、微波炉等。

2.2 用具

可调移液器(2.5 μL、10 μL、20 μL、100 μL、1 000 μL)、吸头、离心管、Eppendorf 管(0.2 mL、0.5 mL、1.5 mL)和研钵等。

2.3 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。
DAS-ELISA、常规 PCR 及实时荧光 PCR 检测试剂分别见附录 B、附录 C 及附录 D。

3 检疫鉴定方法

3.1 DAS-ELISA 检测

DAS-ELISA 检测见附录 B。

3.2 常规 PCR 检测

常规 PCR 检测见附录 C。

3.3 实时荧光 PCR 检测

实时荧光 PCR 检测见附录 D。

4 结果判断

3.1、3.2 及 3.3 中两种不同原理的检测方法的结果为阳性,即可判定样品为 CLCuV 阳性。一般是 DAS-ELISA 检测为阳性后,常规 PCR 或实时荧光 PCR 检测结果为阳性即可判断样品为 CLCuV 阳性。