



中华人民共和国国家标准

GB/T 31803—2015

棉花皱叶病毒检疫鉴定方法

Detection and identification of *Cotton leaf crumple virus*

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、中华人民共和国福建出入境检验检疫局、浙江大学、浙江出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:张永江、雷荣、沈建国、周雪平、鲁洁、张明哲、李桂芬、朱水芳。

棉花皱叶病毒检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了棉花皱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皱叶病毒的活体寄主植物叶片组织的检疫鉴定。

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 CLCrV 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 CLCrV 阳性。