



中华人民共和国国家标准

GB/T 36829—2018

甘蔗宿根矮化病菌 实时荧光 PCR 检测方法

Detection of *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* by real-time PCR

2018-09-17 发布

2019-04-01 实施

国家市场监督管理总局
中国国家标准化管理委员会 发布

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
甘蔗宿根矮化病菌
实时荧光 PCR 检测方法
GB/T 36829—2018

*

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.org.cn

服务热线: 400-168-0010

2018年9月第一版

*

书号: 155066·1-61319

版权专有 侵权必究

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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:福建农林大学国家甘蔗工程技术研究中心、农业部甘蔗及制品质量监督检验测试中心、农业部福建甘蔗生物学与遗传育种重点实验室。

本标准主要起草人:高三基、孙生仁、王恒波、傅华英、黄美婷、王锦达、张慧丽、陈如凯。

引 言

本文件的发布机构提请注意,声明符合本文件时,可能涉及到与甘蔗宿根矮化病菌实时荧光定量 PCR 相关的专利的利用。

本文件的发布机构对于该专利的真实性、有效性和范围无任何立场。

该专利持有人已向本文件的发布机构保证,他愿意同任何申请人在合理且无歧视的条款和条件下,就专利授权许可进行谈判。该专利持有人的声明已在本文件的发布机构备案。相关信息可以通过以下联系方式获得:

专利持有人姓名:王恒波。

地址:福建省福州市仓山区上下店路 15 号。

请注意除上述专利外,本文件的某些内容仍可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

甘蔗宿根矮化病菌 实时荧光 PCR 检测方法

1 范围

本标准规定了甘蔗宿根矮化病菌(*Leifsonia xyli* subsp. *xyli*)实时荧光 PCR 检测方法的仪器与设备、试剂与材料、样品的采集与前处理、检测以及结果判断与表述等。

本标准适用于可能带有甘蔗宿根矮化病菌的活体寄主植物的快速检测、诊断。

2 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

CTAB:十六烷基三甲基溴化铵(Cetyltrimethyl Ammonium Bromide)

Ct 值:循环阈值(Cycle Threshold)

DNase:脱氧核糖核酸酶(Deoxyribonuclease)

FAM:6-羧基荧光素(6-Carboxy-Fluorescein)

Lxx:甘蔗宿根矮化病菌(*Leifsonia xyli* subsp. *xyli*)

Pat-1:甘蔗宿根矮化病菌基因组上编码的一种致病性基因(Pathogenicity Gene-1)

PCR:聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction)

RNase:核糖核酸酶(Ribonuclease)

TAMRA:6-羧基四甲基罗丹明(6-Carboxytetramethylrhodamine)

3 甘蔗宿根矮化病菌基本信息

甘蔗宿根矮化病菌属于微杆菌科 *Microbacteriaceae* 雷弗松氏细菌属 *Leifsonia* 成员,拉丁文学名称为 *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*,缩写为 Lxx。甘蔗宿根矮化病菌其他信息参见附录 A。

4 方法原理

根据宿根矮化病菌的致病基因 *Pat-1* 序列设计一对仅在该病菌 *Pat-1* 基因间保守的特异性引物和一条特异性的荧光双标记 TaqMan 探针。在实时荧光 PCR 扩增反应中,TaqMan 探针的荧光信号强度伴随着目标序列 PCR 扩增产物的增加呈正比关系,通过收集 PCR 扩增过程的荧光信号值,即可判断试样是否带有目标序列。

5 仪器与设备

5.1 实时荧光 PCR 检测仪:激发/检测波长范围 350 nm~750 nm;可用 SYBR Green I 染料和 TaqMan 探针;升降温速度 ≥ 2.0 °C/s;均一性 ± 0.5 °C;准确性 ± 0.3 °C;温度范围 4 °C~100 °C。

5.2 核酸蛋白分析仪或紫外分光光度计。

5.3 电子天平:感量 0.01 g。