

# 中国检验检疫科学研究院

## 项目进展简报

项目管理办公室 2012BAK11B00 第 18 期 2014 年 4 月 10 日

---

“ 检疫性有害生物 DNA 条形码检测数据库建设及应用 ”

### 项目研究进展

在项目组的组织下，各课题积极推进课题研究工作，在合作交流、样品收集与鉴定、实验技术和科研成果方面均取得了一些成绩，进展如下：

#### 一、样品收集

从青海收集奥斯特线虫、马歇尔线虫，其中鉴定虫体 450 条，分别为普通奥斯特线虫、达呼儿奥斯特线虫、布里亚特奥斯特线虫、阿洛夫奥斯特线虫、蒙古马歇尔线虫等，共计 10 种。（2012BAK11B04）

#### 二、研究进展

1．与宁波局开展检疫性线虫、与中山局开展医学媒介标本数字化研究工作。（2012BAK11B01）

2．两种拟谷盗类的实时荧光引物和探针特异性检测。应用前期设计合成的褐拟谷盗、黑拟谷盗的实时荧光探针和

引物，在 ABI 7500 荧光定量仪上进行了实时荧光 PCR，通过观察反应的扩增曲线，当样品中含有所要检测的靶核酸序列时，所得到的曲线呈“S”形；而当样品中不含靶核酸序列时，则扩增曲线几乎为一水平线。由此确定了引物和探针组合具有种的特异性，并初步优化了实时荧光 PCR 的反应体系。

( 2012BAK11B01 )

3. 对黄单胞菌属的 16S rDNA *gyrB*、*rpoD* 及 *avrBs2* 和 *hrpB* 基因进行扩增及序列分析，确定条码基因，测定扩增效率及鉴定区分能力。区分能力最强的为三型分泌系统中的 *avrBs2* 基因，是植物病原致病基因，在黄单胞菌属据报道所有研究菌株中均含有该基因，而且为单拷贝的，适合区分黄单胞不同种及致病变种。( 2012BAK11B02 )

4. 对烟草花叶病毒属通用扩增引物的设计筛选，同设计了 5 对引物，通过验证比较，获得一对引物能够很好的扩增出该属内所有的植物病毒，通过对序列进行比对分析，认为该引物适合扩增该属的植物病毒，并能够鉴定区分不同植物病毒，该研究结果已撰写论文。( 2012BAK11B02 )

5. 完成《检疫性小蠹 DNA 条形码鉴定方法》、《检疫性天牛 DNA 条形码鉴定方法》、《检疫性乳白蚁 DNA 条形码鉴定方法》、《检疫性卷蛾 DNA 条形码鉴定方法》、《检疫性豆象 DNA 条形码鉴定方法》、《检疫性异株苋亚属 DNA 条形码鉴定方法》、《检疫性苍耳属 DNA 条形码鉴定方法》、《曼陀罗属 DNA

条形码鉴定方法》、《菟丝子属 DNA 条形码鉴定方法》、《检疫性伞滑韧线虫 DNA 条形码鉴定方法》标准草案的编写。  
(2012BAK11B03)

6. 收集含有猪链球菌、结核杆菌等病原菌的病料以及 Genbank 中的核酸序列, 分析、比较序列差异, 筛选种属特异性序列。(2012BAK11B04)

7. 共获得 415 条蝇类、蜚蠊 DNA 条形码序列。开展蚊类条形码实验研究(核酸提取和扩增), 共提取 35 种 105 份蚊类核酸基因组, 另外扩增获得 24 种蚊类 41 增产物, 并进行克隆实验前准备和克隆预实验。(2012BAK11B05)

8. 继续开展实蝇线粒体测序工作以及疫霉核酸制备和转录组测序工作。(2012BAK11B06)

### 三、技术成果

1. 接收 SCI 文章 1 篇(期刊 Molecular Ecology Resources ,接收文章“Existence of Species Complex Largely Reduced Barcoding Success for Invasive Species of *Tephritidae*: a case study in *Bactrocera* spp.”)。  
(2012BAK11B01)

2. 自 2013 年 10 月至 2014 年 3 月, 广东局技术中心植检室应用 DNA 条形码技术从口岸送检样品中成功鉴定出 5 种重要有害生物, 其中检疫性有害生物 1 种(苹果异小卷蛾), 首次截获国内无分布的有害生物 3 种, 其它害虫 1 种。

( 2012BAK11B01 )

3. 投稿 SCI 文章 ( PLOS ONE ) 1 篇。 ( 2012BAK11B05 )

4. 投稿文章 2 篇。 ( 2012BAK11B06 )