

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 4 期 2013 年 1 月 11 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

项目自 2012 年 12 月以来,相关课题与合作单位交流讨论,明确分工,签署合作协议,并进行了样品的收集、引进工作,进展如下:

一、项目组织与协调

1. 通过与国家认监委沟通交流,国家认监委同意涉及到 DNA 条形码的通用性标准及部分技术成熟的标准 2013 年立项,其他标准根据研究进展分批立项,这确保了该项目研究及后续应用的标准化与科学化。

2. 课题三“植物检疫性昆虫、线虫与杂草 DNA 条形码检测技术与示范应用”与厦门局、山东局、湖北局、浙江

局、西北农林科技大学等单位分别签署昆虫不同种类条形码研究技术协议，和检科院、天津局、江苏局、广东局、厦门局、上海局等有关线虫专家就线虫条形码研究主要步骤进行初步讨论，建议各有关单位先保存好有关线虫样品，拟进一步制订具体分工及工作内容。

3. 课题四“动物病原微生物 DNA 条形码检测技术与示范应用”就进一步开展蚊虫 DNA 条形码实验室研究召开了研讨会，要求按计划按进度进行实验。

二、样品收集情况

1. 通过与国内实验室交流，获取 70 株植物病原菌菌株，正在进行鉴定，这将植物病原菌 DNA 条形码检测数据库，并能提高条码基因的可靠性。

2. 新扩增昆虫（蛾类、白蚁、象甲、长蠹）16 种，获得条码序列 34 条，杂草收集标本 45 种，获得条码序列 30 条，新完成线虫测序近 100 次，所涉及的主要是 18S、ITS、28S 和 COI 等基因。经过和南京农业大学等的交流，已获得一批欧盟的固定线虫标本，主要是剑属线虫和长针属线虫。

3. 收集疑似蠕形蚤样品 36 份，疑似感染环形泰勒虫羊、牛血液样品 12 份，可传播环形泰勒虫蜱虫样本 46 份。鉴定普通奥斯特线虫、宁陕奥斯特线虫、新疆马歇尔线虫总计 68 份样本。

4. 整理蝇类标本约 4800 头，鉴定约 1200 头，分别为

40 多个种，提取蝇类样本 75 个 DNA，测序 255 条，尝试从微小样本螨类中提取 DNA，尝试从保存了 10 年以上的蝇类样本中提取 DNA；整理云南采集的蚊类标本 300 份并开展蚊类 DNA 条形码实验前试剂配制。

5. 正在办理 ATCC、CBS 和 CABI 引进实验用菌株材料的审批手续。

三、成果概况

1. 进一步优化单条线虫 DNA 提取方法，已初步开展对幼虫以及已固定和甘油处理过的线虫标本的 DNA 提取方法研究。目前，经过对单条线虫 DNA 提取方法的优化，可以保证对单条拟松材线虫进行 200 次以上的 PCR 扩增，对以后的线虫条形码研究具有重要意义。

2. 通过不同试剂盒对腥黑粉菌单孢子基因组扩增的比较筛选，确定了最优的试剂盒和扩增方案，并通过 ITS 验证其有效性。通过文献调研等方式，摸索疫霉、轮枝菌、炭疽菌等真菌的 RNA 提取方案，拟采用核酸提取系统进行提取。通过自行设计引物、优化核酸提取质量、优化 PCR 扩增条件等方法，提高 COI 片段扩增成功率。

3. 新发表 5 篇论文。