



主持人: 缪卫国

## 双条拂粉蚧基因组 DNA 提取方法的比较和优化

王宇航<sup>1,2</sup>, 孟秀丽<sup>2</sup>, 黄山春<sup>2</sup>, 林兆威<sup>2</sup>, 宋薇薇<sup>2</sup>, 唐庆华<sup>2</sup>, 覃伟权<sup>2</sup>

(1. 海南大学 植物保护学院, 海口, 570228; 2. 中国热带农业科学院 椰子研究所/海南省  
槟榔产业工程研究中心, 海南 文昌, 571339)

**摘要:** 为了提高双条拂粉蚧 (*Ferrisia virgata* Cockerell) 昆虫基因组 DNA 的提取浓度和质量, 以当天采集活体和经 95% 酒精-20 °C 冷藏浸泡 7 d 后的双条拂粉蚧 (*Ferrisia virgata* Cockerell) 成虫为实验材料, 采用 2 种试剂盒、3 种前处理研磨方法进行组合的方式, 设置 1 头、3 头、5 头、7 头和 10 头 5 个梯度, 提取不同头数的粉蚧基因组 DNA, 并对提取的基因组 DNA 浓度和 OD 比值 ( $A_{260}/A_{280}$ ) 进行了测定和评价。结果表明, 以活体双条拂粉蚧为材料, 使用 TIANGEN 试剂盒, 采用研磨杵+研磨仪作为前处理, 提取昆虫数为 10 头时, 双条拂粉蚧基因组 DNA 浓度较高、质量较好, 其 OD 比值 ( $A_{260}/A_{280}$ ) 为 1.80 ~ 1.90, 电泳条带清晰; 与其他组合的 OD 比值 (1.95 ~ 2.20) 相比所含杂质和污染最少。

**关键词:** 双条拂粉蚧; 基因组 DNA; 试剂盒法; 研磨方法

**中图分类号:** Q966 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-7054(2023)06-0636-06

王宇航, 孟秀丽, 黄山春, 等. 双条拂粉蚧基因组 DNA 提取方法的比较和优化 [J]. 热带生物学报, 2023, 14(6): 636-641. doi: 10.15886/j.cnki.rdsxb.20220085

双条拂粉蚧 (*Ferrisia virgata* Cockerell) 属半翅目 (Hemiptera)、粉蚧科 (Pseudococcidae) 昆虫, 刺吸式口器。该虫以寄生植物, 吸食植物叶片或果实的汁液存活, 其适应性较强。双条拂粉蚧作为一种重要的热带农林害虫在世界上分布和寄主植物都非常广泛, 并且双条拂粉蚧还是可可肿枝病毒 (Cacao swollen shoot virus, CSSV) 和槟榔黄叶病毒病 1 (Areca palm velarivirus 1, APV1) 等病毒病的传播媒介昆虫<sup>[1-2]</sup>。该虫还是一种进境水果检疫性粉蚧<sup>[3]</sup>。鉴于双条拂粉蚧昆虫在传播病原方面的多样性及其对热带作物的危害性, 研究该虫基因组 DNA 提取优化方法, 可以在分子实验基础上建立后续的昆虫防治<sup>[3]</sup>等方面的研究, 也可为后续研究双条拂粉蚧作为槟榔黄化病媒介昆虫的病原检测提供高质量 DNA。

植原体 (*Phytoplasma*) 是一种主要通过媒介昆

虫传播、存在于植物韧皮部及媒介昆虫的肠道、淋巴及唾液腺等组织内的原核生物<sup>[4-6]</sup>。近年来, 随着植原体对世界范围内对许多经济作物造成的严重减产, 对植原体病害也进行了更广泛的拓展研究<sup>[7]</sup>。目前中国是发现植原体病害最多的国家, 至今已报道 100 多种植原体病害, 由植原体感染引起的病害如枣疯病、甘蔗白叶病、槟榔黄化病等<sup>[8]</sup>可造成严重的经济损失。在海南, 植原体感染引起的槟榔黄化病 (Areca palm yellow leaf disease, YLD) 是一种毁灭性病害, 每年因该病造成的经济损失高达 20 亿以上<sup>[9]</sup>。

本研究团队在槟榔黄化病媒介昆虫的研究中, 前期发现双条拂粉蚧体内携带植原体, 推断该虫可能为槟榔黄化病的媒介昆虫, 但想要更细致研究媒介昆虫的单头虫接种以及如何使病原分子检测更精确, 在采集昆虫样本进行基因组 DNA 提

收稿日期: 2022-09-01 修回日期: 2023-03-20

基金项目: 海南省重点研发项目 (ZDYF2022XDNY208); 海南省自然科学基金项目 (321QN346); 海南省院士创新平台科研专项 (YSPTZX202138)

第一作者: 王宇航 (1998-), 女, 海南大学植物保护学院 2020 级硕士研究生. E-mail: 2156724037@qq.com

通信作者: 唐庆华 (1978-), 男, 副研究员, 博士. 研究方向: 植原体病害综合防治. E-mail: tchuna129@163.com; 覃伟权 (1969-), 男, 研究员. 研究方向: 昆虫多样性与害虫生物防治等. E-mail: QWQ268@163.com

取时,防止 DNA 降解以及如何从体型微小的单个虫体提取足量的 DNA 是至关重要的<sup>[10]</sup>。为了获得高质量的双条拂粉蚧基因组 DNA,提高植原体的检出率,本研究采用 3 种研磨方法与 2 种试剂盒进行组合,对不同数量和不同保存时间的双条拂粉蚧进行了基因组 DNA 提取实验,确定最优能够获取提取单头双条拂粉蚧昆虫高浓度基因组的提取方法,为后续媒介昆虫的验证实验提供基础和依据。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验用虫** 所需实验用虫是中国热带农业科学院椰子研究所植物保护中心饲养的双条拂粉蚧 3 龄成虫。当天采集的活体双条拂粉蚧(A 处理)和经 95% 酒精浸泡并在 -20 °C 冰箱保存 7 d 后的双条拂粉蚧(B 处理)用于 DNA 提取试验。

**1.2 试剂盒及实验器材** TIANGEN 血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒(货号 DP304-03, TIANGEN, 中国,以下简称 TIANGEN 试剂盒)、QIAGEN DNeasy Blood & Tissue Kit(货号 69506, QIAGEN, 德国,以下简称 QIAGEN 试剂盒)2 种试剂盒,购自天根生化科技(北京)有限公司。用于组织研磨的 Servicebio KZ-III-F 型高速低温组织研磨仪购自武汉赛维尔生物科技有限公司,金属研磨杵同样购自天根生化科技(北京)有限公司,不锈钢钢珠(直径 5 mm)购自鼎特尔钢球有限公司。超微量紫外分光光度仪(Q5000 型,Quawell, 美国)购自上海洪纪仪器设备有限公司。

**1.3 不同保存时间和数量的蚧虫基因组 DNA 提取方法** 以双条拂粉蚧 3 龄成虫为实验材料,分别采用 TIANGEN、QIAGEN 2 种试剂盒进行基因组 DNA 提取。每种试剂盒分别采用研磨杵单独研磨、研磨仪单独研磨、研磨仪+研磨杵 3 种方法进行提取前研磨。各组合如下:(1)研磨杵+QIAGEN 试剂盒;(2)研磨仪+QIAGEN 试剂盒;(3)研磨杵+研磨仪+QIAGEN 试剂盒;(4)研磨杵+TIANGEN 试剂盒;(5)研磨仪+TIANGEN 试剂盒;(6)研磨杵+研磨仪+TIANGEN 试剂盒。将当天采集(A 处理)和预处理(B 处理,用灭菌水将经 95% 酒精浸泡的昆虫冲洗 3 次,用吸水纸吸干昆虫体表的水)后的 1、3、5、7 和 10 头双条拂粉蚧放入灭菌 2.0 mL 离心管中;QIAGEN 试剂盒先加

入裂解液 ATL 和蛋白激酶 K、TIANGEN 试剂盒先加入裂解液 GA 和蛋白激酶 K。研磨杵手动研磨后按照基因组 DNA 提取试剂盒说明书提取基因组 DNA。研磨方法换为研磨仪,则在放有粉蚧的离心管中加入 2 粒直径为 5 mm 的钢珠,放入研磨仪研磨,参数设置为 60 s/120 Hz,研磨 2 次。研磨后再进行 DNA 提取。研磨方法为研磨杵+研磨仪,先将离心管中的粉蚧用研磨杵手动研磨,再在离心管中加入 2 粒钢珠,放入研磨仪(60Hz, 120s)研磨,2 次研磨后按照基因组 DNA 提取试剂盒说明书提取基因组 DNA。提取的 DNA 于 -20 °C 保存。

**1.4 DNA 电泳** 将 5  $\mu$ L 样品 DNA 与 1  $\mu$ L 溴酚蓝混合进行点样,分子量标记采用 Marker 2000。电泳用 1% 琼脂糖凝胶,1  $\times$  TAE 电泳缓冲液,电压 120 V,室温 30 ~ 40 min,凝胶成像系统获取凝胶图谱进行分析。

**1.5 实验数据分析** 所有实验数据用微量紫外分光光度仪测定提取基因组 DNA 的 OD 值和浓度值。采用 SPSS 26.0 进行统计软件正态性和方差齐性检验,采用平均值 $\pm$ 标准差(Mean  $\pm$  SD)表示,进行单因素方差分析, $P < 0.05$  与  $P < 0.01$  分别表示差异显著与极显著。使用 Adobe Photoshop 2022 (V23.5.1)进行实验电泳照片的编辑处理。

## 2 结果与分析

**2.1 6 种提取方法下不同数量和保存时间的蚧虫 DNA 浓度比较** 6 种提取方法下不同数量和保存时间的蚧虫 DNA 浓度比较结果(表 1、表 2)表明,双条拂粉蚧材料无论是 A 处理还是 B 处理均可完成基因组 DNA 的提取。在 2 种试剂盒中, TIANGEN 试剂盒在使用研磨杵和研磨仪研磨虫体后提取的 DNA 浓度更高( $P < 0.05$ ),尤其是用 1 或 3 头成虫进行提取,例如用 1 头粉蚧进行提取, TIANGEN 试剂盒搭配研磨杵+研磨仪获得的浓度是 QIAGEN 试剂盒相同条件下的 1.2 倍 ~ 1.5 倍。本实验数据还显示,2 种试剂盒均呈现随粉蚧数量增加获得的 DNA 浓度逐渐升高的趋势,在 10 头昆虫提取时获得的 DNA 最高,2 种不同处理下 3 组样品平均值分别为 185.43、148.23 ng  $\cdot$   $\mu$ L<sup>-1</sup>。B 处理提取的基因组 DNA 浓度不如 A 处理,所以建议在采集双条拂粉蚧样品后尽量当天进行基因

表1 6种方法提取当天采集蚱虫基因组DNA浓度(A处理)

虫量/头	6种方法提取的蚱虫基因组DNA浓度/(ng·μL <sup>-1</sup> )					
	QIA <sup>++</sup>	QIA <sup>+-</sup>	QIA <sup>+·</sup>	TIAN <sup>++</sup>	TIAN <sup>+·</sup>	TIAN <sup>+-</sup>
1	42.12±1.94e	27.98±3.21d	35.53±0.33e	62.95±2.04e	54.32±2.90d	58.42±1.37e
3	54.40±4.81d	34.82±3.88c	41.53±2.95d	92.83±2.31d	65.15±2.25c	95.48±3.91d
5	91.12±0.89c	41.90±4.04b	47.42±1.04c	134.13±6.00c	75.27±2.33b	110.47±1.09c
7	102.70±1.31b	52.48±3.45b	63.50±3.04b	176.78±2.5b	110.32±7.55a	123.77±3.33b
10	125.27±1.61a	73.87±3.92a	90.23±2.74a	185.43±1.93a	117.62±2.88a	165.23±3.72a

注:不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。QIA<sup>++</sup>:使用研磨仪、研磨杵和QIAGEN提取试剂盒进行实验;QIA<sup>+-</sup>:使用研磨杵和QIAGEN提取试剂盒进行实验;QIA<sup>+·</sup>:使用研磨仪和QIAGEN提取试剂盒进行实验;TIAN<sup>++</sup>:使用研磨仪、研磨杵和TIANGEN提取试剂盒进行实验;TIAN<sup>+·</sup>:使用研磨杵和TIANGEN提取试剂盒进行实验;TIAN<sup>+-</sup>:使用研磨仪和TIANGEN提取试剂盒进行实验。下同。

表2 6种方法提取经95%酒精浸泡7d后蚱虫基因组DNA浓度(B处理)

虫量/头	6种方法提取的蚱虫基因组DNA浓度/(ng·μL <sup>-1</sup> )					
	QIA <sup>++</sup>	QIA <sup>+-</sup>	QIA <sup>+·</sup>	TIAN <sup>++</sup>	TIAN <sup>+·</sup>	TIAN <sup>+-</sup>
1	22.68±3.14e	8.12±1.61d	17.23±3.20e	26.20±1.82d	10.10±1.85d	21.70±2.67e
3	35.67±0.84d	10.77±1.27d	25.53±3.88d	55.80±2.69c	43.68±4.48c	53.70±4.31d
5	82.93±1.65c	26.90±3.00c	47.82±3.35c	110.32±5.67b	65.10±2.67b	72.27±2.84c
7	94.38±2.65b	45.88±1.65b	63.98±2.80b	137.17±2.55a	81.15±0.72a	125.38±3.00b
10	102.03±1.35a	73.27±2.28a	74.32±1.50a	148.23±13.26a	84.45±0.88a	143.48±3.57a

组提起以获得相对高浓度的DNA,如不能当日提取也可酒精浸泡保存,并尽量在双条拂粉蚱提取时选择多头数提取。

**2.2 6种提取方法下不同数量和保存时间蚱虫DNA质量比较** 对A处理当天采集的双条拂粉蚱进行基因组DNA提取,然后测定OD值。根据2种试剂盒的说明书,提取的基因组DNA样品的 $A_{260}/A_{280}$ 通常在1.9左右代表样品基因组DNA提取质量比较高,蛋白质、酚类及多糖杂质去除的比较完全。OD值如果大于正常范围则表示提取的DNA样品中有RNA污染;小于正常范围说明含有少量蛋白质及酚类物<sup>[11]</sup>。表3和表4显示,

TianGen研磨杵+研磨仪法整虫提取法在A处理和B处理双条拂粉蚱提取基因组DNA的OD值远优于其他方法,OD值均为1.80~1.95。能提出较好的基因组DNA质量。其他方法组提取的OD值均为1.95~2.20,OD值大都偏高说明DNA含有杂质。

**2.3 6种提取方法DNA电泳图的比较** 选用了2种适用于昆虫基因组DNA提取的试剂盒及3种不同研磨方法提取双条拂粉蚱的基因组DNA,然后采用琼脂糖凝胶电泳检测提取的DNA完整性。电泳后条带清晰明亮,说明DNA提取方法较好、浓度和纯度相对较高<sup>[12]</sup>。凝胶电泳结果(图1)

表3 6种方法提取当天采集蚱虫基因组DNA纯度(A处理)

虫量/头	6种方法提取的蚱虫基因组DNA纯度( $A_{260}/A_{280}$ )					
	QIA <sup>++</sup>	QIA <sup>+-</sup>	QIA <sup>+·</sup>	TIAN <sup>++</sup>	TIAN <sup>+·</sup>	TIAN <sup>+-</sup>
1	2.08±0.11a	2.04±0.18a	1.9±0.09b	1.92±0.13a	2.09±0.01a	1.85±0.05a
3	2.09±0.02a	2.08±0.05a	2.01±0.03ab	1.84±0.02a	2.02±0.03a	1.83±0.03a
5	2.15±0.02a	1.97±0.05a	2.09±0.07a	1.88±0.02a	1.99±0.09ab	1.95±0.23a
7	2.19±0.07a	2.17±0.14a	2.16±0.12a	1.81±0.05a	1.88±0.12b	1.87±0.03a
10	1.96±0.04b	2.03±0.05a	1.90±0.12b	1.86±0.01a	1.74±0.03c	1.85±0.03a

表 4 6 种方法提取经 95% 酒精浸泡 7 d 后蚧虫基因组 DNA 纯度(B 处理)

虫量/头	6种方法提取的蚧虫基因组DNA纯度( $A_{260}/A_{280}$ )					
	QIA <sup>++</sup>	QIA <sup>+</sup>	QIA <sup>-</sup>	TIAN <sup>++</sup>	TIAN <sup>+</sup>	TIAN <sup>-</sup>
1	2.11±0.07a	2.15±0.12a	2.08±0.19a	1.84±0.04b	2.07±0.13a	1.96±0.10a
3	1.98±0.03a	2.14±0.15a	2.07±0.03a	1.96±0.03a	2.03±0.11a	1.95±0.09a
5	2.08±0.14a	2.11±0.02a	2.08±0.05a	1.94±0.05a	1.93±0.03ab	1.92±0.01a
7	2.11±0.09a	2.03±0.17a	1.86±0.06b	1.92±0.05a	1.95±0.03ab	1.92±0.03a
10	2.04±0.06a	1.94±0.06a	1.92±0.06ab	1.92±0.01a	1.86±0.03b	1.93±0.01a

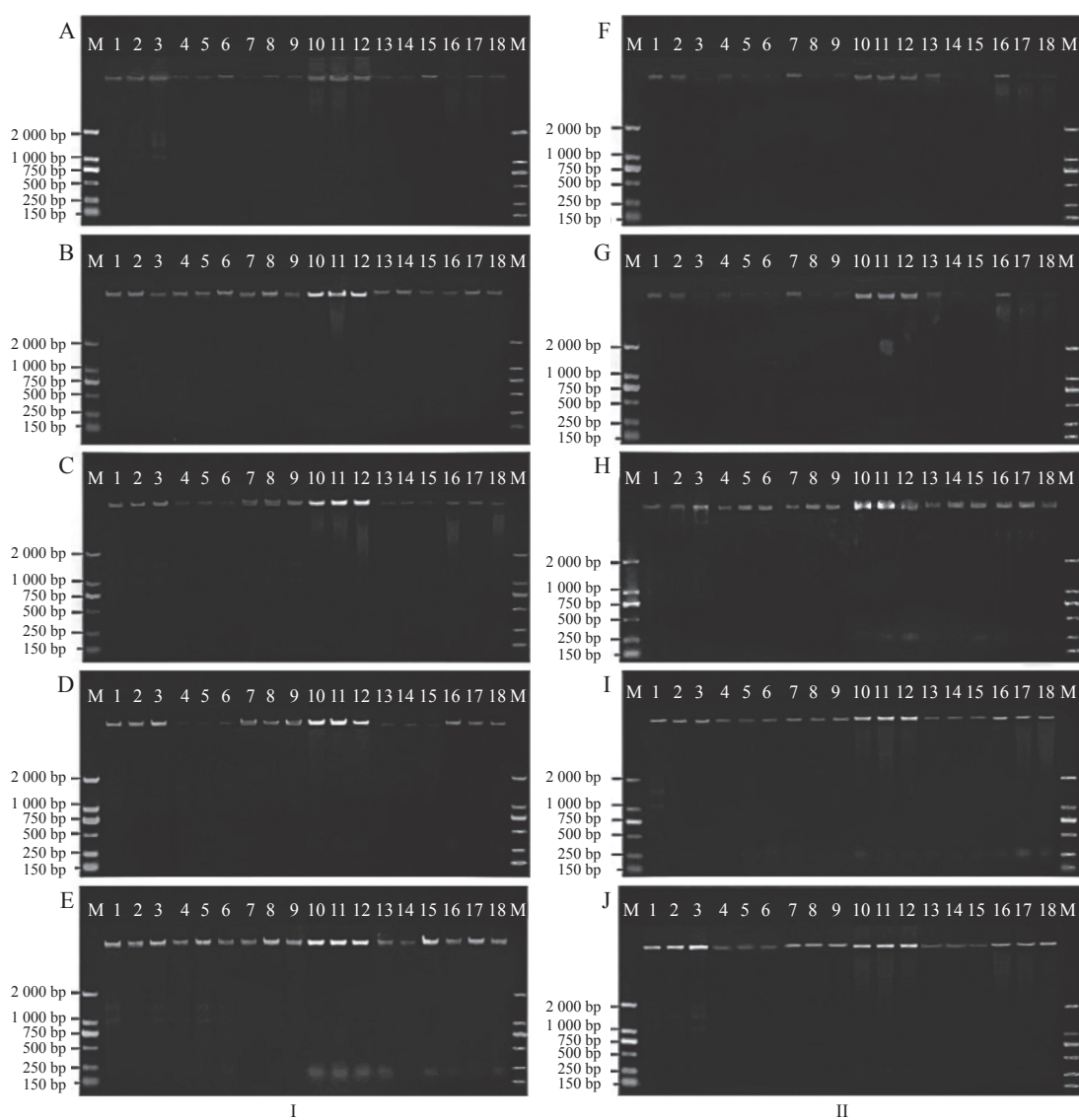


图 1 双条拂粉蚧基因组 DNA 电泳图

I : A 处理, 当天采集双条拂粉蚧提取的基因组 DNA; II : B 处理, 经 95% 酒精浸泡 7 d 后提取的基因组 DNA。A~E、F~J 依次为 1、3、5、7 和 10 头双条拂粉蚧成虫的基因组 DNA 电泳图; 1~3: 研磨杵、研磨仪和 QIAGEN 提取试剂盒; 4~6: 研磨杵和 QIAGEN 提取试剂盒; 7~9: 研磨仪和 QIAGEN 提取试剂盒; 10~12: 研磨杵、研磨仪和 TIANGEN 提取试剂盒; 13~15: 研磨杵和 TIANGEN 提取试剂盒; 16~18: 研磨仪和 TIANGEN 提取试剂盒。M: 2 000 bp DNA 分子量标准。

表明,不同提取方法对 DNA 完整性影响不同,6 种方法获得的 DNA 均有一定程度的降解。A 处理(当天采集双条拂粉蚧)6 种方法提取样品 DNA 均在 2 000 bp 以上区域有明显条带(图 1-I)。B 处理(20 ℃ 中经 95% 酒精浸泡 7 d 后)QIAGEN 试剂盒法和使用研磨杵的 TIANGEN 试剂盒法所提 DNA 电泳无明显条带、条带亮度较弱(图 1-II),这表明保存 7 d 后的蚧虫基因组 DNA 会降解并且这几种方法提取的 DNA 产率不高。总体来看,使用研磨仪+研磨杵+TIANGEN 试剂盒法所提 DNA 完整性最好,跑胶条带最为清晰。

### 3 讨论

本实验以 B 处理的 20℃ 冷藏用 95% 酒精浸泡 7 d 后的双条拂粉蚧作为实验材料,在数量较少时(1 或 3 头),基因组 DNA 的浓度较低,其 OD 值与 A 处理当天采集昆虫样品提取的基因组 DNA OD 值相差不大,这表明酒精保存并没有对基因组 DNA 的质量产生较大影响。但用单头粉蚧进行提取时,无论用哪种研磨方法或试剂盒,提取的 DNA 浓度均低于 A 处理当天采集的粉蚧样品提取的 DNA。因此,采集的粉蚧样品若当天或 2 d 内无法进行 DNA 提取时,不建议用酒精冷冻保存过长时间,因为这可能对后续 PCR 扩增(如虫体内植原体检测)产生一定影响。

近年来试剂盒法在各实验领域的应用越来越广泛,试剂盒提取方法也在不断优化更新,其目的都是利用优化的试剂盒法更快速、简便、高效地提取基因组 DNA。因此,对于粉蚧类小型昆虫,基因组 DNA 提取多采用高效快速的试剂盒法<sup>[13-15]</sup>,试剂盒法在提取昆虫时对样品的虫数要求较少,且不需要其他特殊的试剂和实验器材,简单、省时,大大提高了对样品基因组的提取效率。近年来,不同实验室使用试剂盒法进行 DNA 提取与纯化中的应用越来越多。例如,黄凤兰等<sup>[16]</sup>使用优化条件后的试剂盒法,通过对提取过程中处理条件优化,优化后提取出的基因组 DNA 质量更高。何衍彪等<sup>[17]</sup>和陈哲等<sup>[18]</sup>用 DNA 抽提试剂盒法成功提取扶桑绵粉蚧和 12 种粉蚧的基因组 DNA,并且试剂盒法提取的基因组 DNA 质量能很好地支持后续分子鉴定、基因序列比较等实验。周梦月等<sup>[19]</sup>在几种提取方法比较实验中发现使用试剂盒

法所得 DNA 进行 PCR 扩增的成功率最高。在试剂盒法的优化 DNA 提取过程中,多是采用裂解条件、裂解时间<sup>[20]</sup>、洗脱液的用量等优化方法。在实验前处理的研磨方法上研究较少,本实验在研磨方法上提出改良,也为后续研究其他 DNA 提取方法优化提供参考。

昆虫基因组 DNA 提取的关键步骤之一是对实验用虫虫体的破碎,常用的就是研磨杵、研磨仪、液氮研磨等研磨方法。对于双条拂粉蚧这种小型昆虫的破碎,笔者在前期实验过程中发现,在用液氮研磨时,由于昆虫较小,在研钵中研磨后昆虫组织并不易收集。但若单用研磨杵研磨双条拂粉蚧,因为虫体柔软没有太坚硬外骨骼,研磨时由于虫体翻滚使得研磨杵不便于着力,导致短时间较难将整虫研磨好,但长时间研磨可能会导致基因组降解。所以本实验最终选择的研磨杵+研磨仪的双研磨方式既解决了昆虫组织不易收集的问题,又使得基因组不在长时间研磨后被自身的核酸酶降解。

本研究结果为后续进行槟榔黄化病区采集的双条拂粉蚧样品进行病原植原体检测(尤其是田间粉蚧数量较少情况下样品的检测)以及带“毒”双条拂粉蚧接种验证等研究奠定了基础。

### 参考文献:

- [1] 肖春霞,李百胜,廖太林,等.传播可可肿枝病毒病的几种主要粉蚧[J].植物检疫,2008,22(3):170-171.
- [2] WANG H, ZHAO R, ZHANG H, et al. Prevalence of yellow leaf disease (YLD) and its associated areca palm velarivirus 1 (APV1) in betel palm (*Areca catechu*) plantations in Hainan, China [J]. *Plant Disease*, 2020, 104(10): 2556-2562.
- [3] 康芬芬,朱雅君,杨菲,等.进境水果检疫性粉蚧辐照处理及安全评价技术研究[Z].国家科技成果,2015.
- [4] 黄启星,张雨良,伍苏然,等.甘蔗螟虫生物防治策略展望[J].热带生物学报,2012,3(3):287-292.
- [5] BUOSO S, LOSCHI A. Micro-tomato grafting for stolbur-phytoplasma transmission: different grafting techniques[A]// *Phytoplasmas*. New York: Humana Press, 2019: 9-19.
- [6] JARIYA R, YOUICHI K, YUPA H. Characteristics of sugarcane white leaf phytoplasma transmission by the leafhopper *Matsumuratettix hiroglyphicus* [J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2019, 167(2): 108-117.
- [7] CANALE M C, LOPES J R S, NESI C N, et al. Role of

- Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) gender on maizebushy stunt phytoplasma transmission [J]. *Phytopathogenic Mollicutes*, 2018, 8(1): 32.
- [8] 耿显胜, 舒金平, 王浩杰, 等. 植原体病害的传播、流行和防治研究进展[J]. *中国农学通报*, 2015, 31(25): 164 – 170.
- [9] 徐平洛, 翟晓巧. 植物植原体病害研究进展[J]. *河南林业科技*, 2020, 40(4): 20 – 23.
- [10] 石晶, 谢映平, 薛皎亮, 等. 蚧虫基因组 DNA 不同提取方法的比较[J]. *昆虫知识*, 2005, 42(2): 207 – 211.
- [11] 张红, 王超楠, 范伟强, 等. 植物基因组 DNA 的高效提取方法[J/OL]. *分子植物育种*, 2022: 1-14[2022-06-20]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220617.1559.006.html>.
- [12] 蒙兴慧, 陈艳, 李金福, 等. 4 种试剂盒提取病理组织切片中裂头蚴 DNA 效果的比较[J]. *中国人兽共患病学报*, 2018, 34(7): 635 – 638.
- [13] 黄灵芝, 姜广泽, 丁艳菲, 等. 核桃乳 DNA 提取方法优化与 DNA 条形码鉴定[J]. *浙江农业学报*, 2022, 34(8): 1752 – 1761.
- [14] 徐瑶, 王鸿斌, 王梅, 等. 舞毒蛾标本 DNA 提取和 COI 基因扩增[J]. *林业科学研究*, 2020, 33(2): 43 – 53.
- [15] SIDORUK K V, LEVITIN E I, SVIRIDOV B V, et al. A method of DNA extraction from a wide range of objects via treatment with ammonium salts [J]. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2021, 57(8): 899 – 906.
- [16] 黄凤兰, 郭志强, 孟凡娟, 等. 试剂盒法提取蓖麻基因组 DNA 的条件优化[J]. *内蒙古民族大学学报(自然科学版)*, 2010, 25(1): 29 – 33.
- [17] 何衍彪, 万宣伍, 詹儒林, 等. 基于 DNA 序列的 12 种粉蚧亲缘关系分析[J]. *热带作物学报*, 2011, 32(12): 2324 – 2330.
- [18] 陈哲, 张姜, 傅杭飞, 等. 基于形态特征和线粒体 COI 基因探讨扶桑绵粉蚧物种的有效性并记述一体色变异型扶桑绵粉蚧[J]. *生物多样性*, 2012, 20(4): 443 – 450.
- [19] 周梦月, 邢冉冉, 王楠, 等. 6 种食用香辛料基因组 DNA 提取方法比较[J]. *食品科学*, 2021, 42(16): 246 – 253.
- [20] 陈婉姨, 李新佳, 罗素兰, 等. 信号芋螺基因组 DNA 提取方法的优化[J]. *热带生物学报*, 2020, 11(2): 238 – 244.

## Comparison and optimization of methods for genomic DNA extraction from *Ferrisia virgata* Cockerell

WANG Yuhang<sup>1,2</sup>, MENG Xiuli<sup>2</sup>, HUANG Shanchun<sup>2</sup>, LIN Zhaowei<sup>2</sup>, SONG Weiwei<sup>2</sup>,  
TANG Qinghua<sup>2</sup>, QIN Weiquan<sup>2</sup>

(1. School of Plant Protection, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Coconut Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Wenchang, Hainan 571339, China)

**Abstract:** In order to improve the concentration and quality of genomic DNA extracted from the striped mealybug (*Ferrisia virgata*), the adults of the striped mealybug were collected on the same day and soaked in 95% alcohol for 7 days, and their genomic DNAs were extracted from a gradient of 1, 3, 5, 7 and 10 adults by using different combinations of two kits and three pre-treatment grinding methods. The concentration and OD value of the extracted genomic DNAs ( $A_{260}/A_{280}$ ) were estimated and evaluated. The results showed that when 10 adults were used for extraction under the combination of TIANGEN kit and grinding pestle + grinding instrument as pretreatment, the concentration and quality of the genomic DNAs of the striped mealybug were high; the OD value ( $A_{260}/A_{280}$ ) was 1.80-1.90; the gel band was clear. Compared with other combinations (1.95-2.20), this combination extracted genomic DNA with the least impurities and contamination.

**Keywords:** *Ferrisia virgata*; genomic DNA; kit method; grinding method

(责任编辑:叶 静)