

ICS

点击此处添加中国标准文献分类号

# 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

XX/T XXXXX—XXXX

## DNA 条形码物种鉴定操作规程

Protocol for species identification based on DNA barcode databases

点击此处添加与国际标准一致性程度的标识

(报批稿)

(本稿完成日期：2015.7.1)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局  
发布

## 前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中国检验检疫科学研究院、国家质检总局信息中心、山东出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：陈岩、张燕平、迟海英、赵文军、吴绍强、朱水芳。

# DNA 条形码物种鉴定操作规程

## 1 范围

本标准规定了我国检疫性有害生物DNA条形码鉴定系统的鉴定流程。

本标准适用于我国动物、植物与口岸卫生检疫性有害生物的DNA条形码物种鉴定。

## 2 术语

下列术语和定义适用于本标准。

### 2.1 DNA 条形码技术 DNA BARCODING

DNA条形码技术是利用标准化的、有足够变异的、易扩增且相对较短的基因片段，用于物种鉴定和新种发现的生物身份识别技术。

### 2.2 中国检疫性有害生物 DNA 条形码鉴定系统

中国检疫性有害生物DNA条形码鉴定系统，网址 <http://www.qbol.org.cn>。

### 2.3 S 值与 E 值

S值（S-score）表示两条DNA序列（查询序列和目标序列）的相似程度，分值越高表明它们之间相似的程度越大。E值（E-value）是S值可靠性的评价。E值表示在随机情况下，其它目标序列与查询序列的相似度要高于查询序列和目标序列相似度的可能性。E值越低，S值越可靠，也就是说目标序列和查询序列相似度越高。当E值小于 $10^{-5}$ 时，表明两序列有较高的相似性。

### 2.4 FASTA 格式

在生物信息学中，FASTA格式是一种基于文本用于表示核苷酸序列或氨基酸序列的格式。在这种格式中碱基对或氨基酸用单个字母来编码，且允许在序列前添加序列名和注释。序列文件的第一行是由大于号“>”开始，用于序列标记。从第二行开始为序列信息，只允许使用既定的核苷酸或氨基酸编码符号。通常核苷酸符号大小写均可，而氨基酸只用大写字母。示例见附录A。

### 2.5 DNA 条形码

C01: 线粒体细胞色素c氧化酶亚基1，动物DNA条形码

ITS: 内转录间隔区，真菌和植物DNA条形码

*rbcL*: 叶绿体基因，植物DNA条形码

*matK*: 叶绿体基因，植物DNA条形码

16S: 16S核糖体RNA，细菌DNA条形码

## 3 DNA 条形码物种鉴定策略

### 3.1 Blast 鉴定

BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) 基于局部序列比对, 对数据库进行快速搜索, 其特点是仅搜索序列之间高度相似的区域, 可以兼顾到搜索的精确性和搜索速度, 是目前应用最广泛的序列相似性搜索工具之一。BLAST的运行方式是先用目标序列建立数据库, 数据库里面的每一条序列为目标序列, 然后用查询序列与数据库中的目标序列做两两序列局部比对, 从而得到全部比对结果。

### 3.2 BLAST 判定标准

首先构建标准的参考数据库, 参考数据库需包含要鉴定物种的样品, 在一定的E值下对数据库进行BLAST搜索, 如果查询序列的最佳匹配均为目标物种的不同样品, 不包含其他物种的样品, 则认为与该查询序列最接近的物种是目标物种。

## 4 系统鉴定流程

4.1 登录平台主页 <http://www.qbol.org.cn>, 点击“物种识别”导航条, 进入物种识别页面。见附录 B。

4.2 在鉴定框内输入 FASTA 格式 (或纯文本格式) 序列后, 点击“提交鉴定”, 系统进行 BLAST 后, 自动生成鉴定结果。见附录 C。

4.3 研究结果判定, 相似度最高的 10 条序列为相同物种, 且最大相似度在 98%以上, 可明确判定为该物种; 否则请辅以其他鉴定方法。

附 录 A  
(资料性附录)  
FASTA 格式文件

>*Solenopsis invicta*

```
TGGTCAACCAACATAAAGATATTGGAATTTTATATTTTATTCTTGCAATTTGAGCAGGAATAATTGGATCATCTATAAGAATAATCAT  
CCGATTAGAACTAGGATCTTGAATTTCTAATTAATAATGATCAAATCTACAACCTTAGTTACTAGACACGCTTTTATTATAATTT  
TTTTTATAGTTATGCCCTTCATAATTGGAGGATTTGGAAATTTCTTAGTGCCCTTAATACTTGGGTCCCCGATATGGCCTATCCTCGA  
ATAAATAATATAAGATTTTGACTTCTGCCACCTTCTCTAACTCTTTTACTTATCAGAAGATTTATTAACAGAGGAGTAGGAACAGGATG  
AACTATCTACCCACCATTAGCCTCCAATATTTTTACAGAGGGCCTCTATTGATCTATCTATTTTTTCCTTACATATCGCCGGAATAT  
CATCAATTTTAGGAGCTATTAATTTTATTCTACAATCATTAAACATACACCATAAAAAATTTTACTATAGATAAAAATCCCCCTACTAGTT  
TGATCTATCCTTATTACAGCCATTCTTCTTTTACTTTCACTCCCAGTTCTTGCAGGAGCTATTACAATATTACTAACTGACCGTAATTT  
AAACACCTCCTTCTTCGATCCCTCAGGAGGAGGAGATCCCATTTCTATACCAACATTTATTCTGATTTTTTGGTCACCTGAAAGTTAAA
```

附录 B  
(资料性附录)  
物种识别页面

 **中国检疫性有害生物DNA条形码鉴定系统** 收藏 | 进入管理系统

DNA BARCODE APPRAISAL SYSTEM ON CHINESE QUARANTINE PESTS

首页 | 植物有害生物 | 动物疫病 | 医学媒介 | **物种识别** | 凭证标本 | 关于我们

动物鉴定 [COI & ITS] | 真菌鉴定 [ITS] | 植物鉴定 [rbcL & matK & ITS] | 微生物鉴定 [16S]

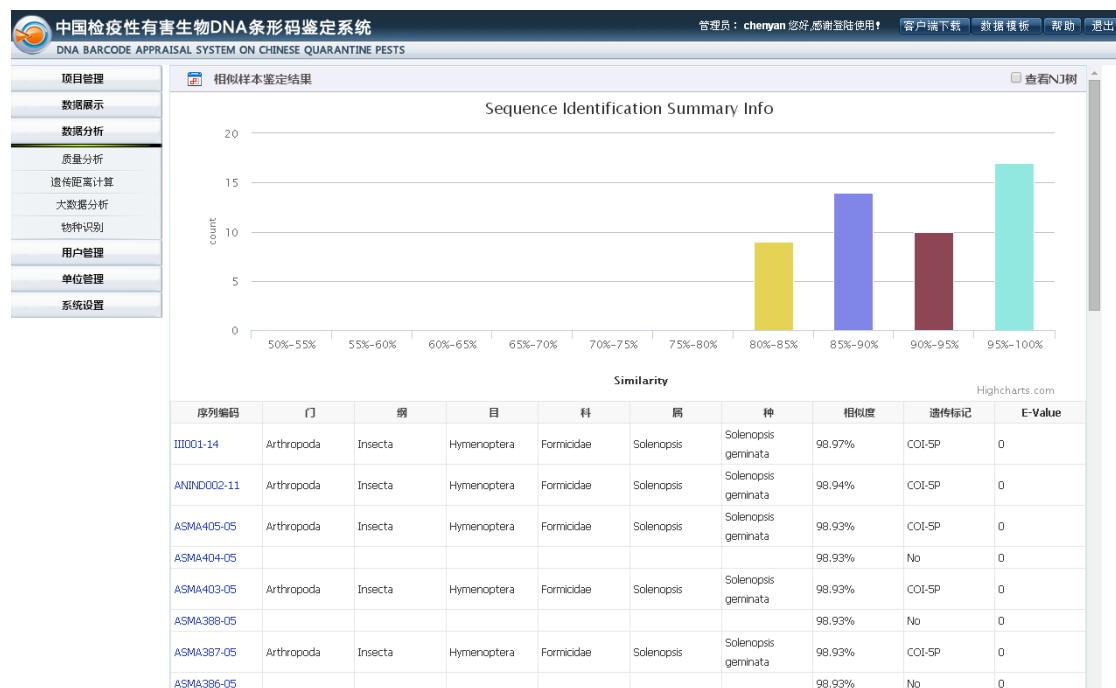
输入 fasta 格式的序列:

```
TGGTCAACCAACATAAAGATATTGGAATTTTATATTTTATTCTTGAATTTGAGCAGGAATAATTGGATCATCTATAAGAATAATCATCCGATTAGAAGTGGATCTTGAATTTCTTAATTAATAATGATCAAACTACA  
ACTCCTTAGTACTAGACACGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTATGCCCTTCATAATTGGAGGATTTGGAATTTCTTAGTCCCTTAATACTTGGTCCCGGATATGCCCTATCCTCGAATAAATAATAAGATT  
TTGACTTCTGCCACCTTCTTAACCTTTTTACTTATCAGAAGATTIATTAACAGAGGAGTAGGAACAGGATGAACTATCTACCCACCATTAGCCTCCAAATTTTTTCACAGAGGGGCTCTATTGATCTATCTATTTTTCC  
TTACATATGCCGGAATATCATAAATTTAGGAGCTATTAATTTTATTCTACAATCATTAAACATACACCATAAAAAATTTACTATAGATAAAAATCCCCCTACTAGTTTGATCTATCCTTATTACAGCCATCTCTTTTAC  
TTTCACTCCAGTTCTTGAGGAGCTATTACAATATTACTAAGTACCGTAATTTAAACACCTCCTTCTTCGATCCCTCAGGAGGAGGAGATCCCATTTATACCAACATTTATTCTGATTTTTGGTACCTGAAAGTTAA  
A
```

[提交鉴定](#)

© 2012- 2015 中国检验检疫科学研究院 版权所有

附录 C  
(资料性附录)  
鉴定结果页面



参 考 文 献

1. Tautz D., Arctander P., Minelli A. et al. A plea for DNA taxonomy. *TRENDS in Ecology and Evolution*.2003,18(2):70-74.
2. Hebert P, Ratnasingham S, deWaard J. Barcoding animal life: cytochrome *c* oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol Sci.* 2003, 270: S96-S99.
3. Hebert P, Cywinska A, Ball S, et al. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol Sci.* 2003, 270: 313-321.
4. Ratnasingham S, Hebert P. Bold: The Barcode of Life Data System. *Molecular ecology notes.* 2007, 7(3): 355-364.
5. <http://www.boldsystems.org/>
6. <http://www.q-bank.eu/>