

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4876.3—2017

DNA 条形码方法 第 3 部分：检疫性卷蛾

Method for DNA barcode—
Part 3: Quarantine species of *Tortricidae*

2017-11-07 发布

2018-06-01 实施

中 华 人 民 共 和 国 发 布
国家质量监督检验检疫总局



前 言

SN/T 4876《DNA 条形码方法》共分为 5 个部分：

- 第 1 部分：检疫性乳白蚁；
- 第 2 部分：检疫性断眼天牛；
- 第 3 部分：检疫性卷蛾；
- 第 4 部分：检疫性高粱属；
- 第 5 部分：曼陀罗属。

本部分为 SN/T 4876 的第 3 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本部分由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本部分起草单位：中华人民共和国江苏出入境检验检疫局、中华人民共和国珠海出入境检验检疫局。

本部分主要起草人：钱路、安榆林、徐森锋、李艳华、叶兼菱、廖力、张卫东、徐梅、梁照文、李健、汤晓军、伏建国。

DNA 条形码方法

第 3 部分: 检疫性卷蛾

1 范围

SN/T 4876 的本部分规定了我国检疫性卷蛾的 DNA 条形码检测鉴定方法。

本部分适用于我国进境植物检疫性卷蛾 DNA 条形码的测定、结果的比对分析与判定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

DNA 条形码 DNA barcodes

一段短的、标准化的基因片段,用于区分不同的物种。该片段在种间存在明显的遗传变异和分化并容易进行 PCR 扩增。DNA 条形码技术主要用于物种识别和新种发现。

3.2

凭证标本 Voucher specimens

DNA 条形码的实物参考凭证,凭证标本信息包括馆藏信息、采集信息、鉴定信息,用于复核。模式标本是用于分类学研究的凭证标本。

3.3

CO I 基因 CO I gene

线粒体基因组的蛋白质编码基因,全称为细胞色素 c 氧化酶亚基 I (cytochrome c oxidase subunit I),由于该基因进化速率较快,常用于分析亲缘关系密切的种、亚种及地理种群之间的系统关系。

4 检疫性卷蛾基本信息

中文名: 卷蛾

学名: *Tortricidae*

英文名: Leafroller Moths, Tortricid Moths

中国进境植物检疫性卷蛾包括 11 种: 黑头长翅卷蛾 *Acleris variana* (Fernald, 1886)、荷兰石竹卷蛾 *Cacoecimorpha pronubana* (Hübner, 1800)、云杉色卷蛾 *Choristoneura fumiferana* (Clemens, 1865)、苹果异形小卷蛾 *Thaumatotibia (Cryptophlebia) leucotreta* (Meyrick, 1913)、斜纹卷蛾 *Ctenopseustis obliquana* (Walker, 1863)、山楂小卷蛾 *Cydia janthinana* (Duponchel, 1835)、樱小卷蛾 *Grapholita*

(*Cydia*) *packardii* *Cydia packardii* (Zeller, 1875)、苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* (Linnaeus, 1758)、杏小卷蛾 *Grapholita* (*Cydia*) *prunivora* (Walsh, 1868)、梨小卷蛾 *Cydia pyrivora* (Danilevsky, 1947)、葡萄花翅小卷蛾 *Lobesia botrana* (Denis et Schiffermuller, 1775)。

目前全世界已定名的卷蛾科种类有 9 800 余种。卷蛾科种类寄主范围广泛,大部分为重要害虫,其幼虫常对农林生产造成严重的经济损失。

5 方法原理

根据卷蛾的 CO I 序列特征,应用 DNA 条形码技术对检疫性卷蛾进行鉴定。

6 仪器设备、用具及试剂

6.1 仪器设备与用具

常规 PCR 仪、微量分光光度仪、电泳仪、凝胶成像系统、酸度计、测序仪、高速冷冻离心机、生物安全柜、烘箱、高压灭菌锅、解剖镜、天平(感量 1/10 000)、匀浆研磨器、摇床、水浴锅、制冰机、纯水仪、旋涡振荡器、-70 ℃冰箱、冰箱、微量移液器(0.5 μL, 2 μL, 10 μL, 20 μL, 100 μL, 200 μL, 1 000 μL)、PCR 管(0.2 mL, 0.5 mL)。

6.2 主要试剂

除另有规定外,所有试剂均为分析纯或生化试剂。实验用水应符合 GB/T 6682 要求。

提取液 A (1% SDS, 50 mmol/L Tris · Cl, 25 mmol/L NaCl, 25 mmol/L EDTA)、提取液 B (3 mmol/L KAc)、Tris 饱和酚、1×TE 缓冲液、蛋白酶 K、氯仿、异戊醇、异丙醇、75%乙醇、95%乙醇、RNase A、10×PCR 缓冲液、脱氧核糖核苷三磷酸(dNTPs)、*Ex Taq* 聚合酶、引物(见表 1)、DL2000 Marker、琼脂糖、溴化乙锭(EB)、PCR 产物纯化试剂盒。

表 1 扩增引物

目标基因	引物名称	引物序列(5'-3')	扩增片段
CO I	LCO1490	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	658 bp
	HCO2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	

7 DNA 条形码测定

7.1 核酸制备

取蛾类头部、胸部肌肉和足(大约 10 mg)用于 DNA 提取,乙醇浸泡标本可先用蒸馏水漂洗干净;将样品置于 1.5 mL 离心管中,加入 600 μL 1×TE 缓冲液,于 56 ℃温浴 2 h,期间间歇振荡;弃掉 TE 缓冲液,加入 200 μL 提取液 A(含 1% SDS, 50 mmol/L Tris · Cl, 25 mmol/L NaCl, 25 mmol/L EDTA),放入匀浆研磨器研磨充分,振荡混匀后于 65 ℃孵化 45 min 取出后加入等体积提取液 B[3 mmol/L KAc (pH 7.2)],上下颠倒混匀后(动作要轻)于冰上放置 1 h;12 000 r/min 离心 15 min,取上清液至新的 1.5 mL 离心管中,加入 2 倍体积冰冻无水乙醇混匀放置 -20 ℃冰箱 1 h 沉淀 DNA;12 000 r/min 离心 15 min,弃上清,加入 1 mL 75%酒精洗涤沉淀,12 000 r/min 离心 10 min,晾干酒精后用 100 μL 双蒸水溶解沉淀,-20 ℃保存备用。

该核酸制备也可采用 DNA 提取试剂盒法。

7.2 DNA 纯度与浓度的测定

用核酸蛋白分析仪测定 DNA 的纯度与浓度,分别取得 260 nm 和 280 nm 处的吸收值,计算核酸的纯度和浓度,计算公式如下:

$$\text{DNA 纯度} = \text{OD}_{260} / \text{OD}_{280}$$

$$\text{DNA 浓度} = 50 \times \text{OD}_{260} \mu\text{g/mL}$$

PCR 级 DNA 溶液的 $\text{OD}_{260} / \text{OD}_{280}$ 比值应为 1.7~1.9。

7.3 PCR 扩增与序列测定分析

7.3.1 PCR 扩增

PCR 扩增反应为 50 μL 每管,每体系分别加入 5 μL 10 \times PCR 缓冲液(含 Mg^{2+})、4 μL 的 dNTP 混合物(各 10 mmol/mL)、上下游引物各 2 μL (10 $\mu\text{mol/mL}$)、rTaq DNA 聚合酶 1 μL (5 U/ μL) ,最后加 ddH₂O 补充至总体积为 48 μL ,再加 2 μL DNA 模板,体系配好后进行 PCR 扩增。PCR 反应条件为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 5 min 预变性;5 个循环(94 $^{\circ}\text{C}$ 60 s,45 $^{\circ}\text{C}$ 90 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 90 s),30 个循环(94 $^{\circ}\text{C}$ 60 s,50 $^{\circ}\text{C}$ 60 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 60 s);最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 5 min 延伸,结束后产物于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

7.3.2 琼脂凝胶电泳

取 5 μL PCR 产物,在 1.5% 琼脂糖凝胶(5 V/cm)电压进行电泳,EB 染色,凝胶成像系统观察、拍照。

7.3.3 PCR 产物回收和克隆测序

取剩余 PCR 扩增产物 45 μL ,使用 DNA 产物纯化回收试剂盒纯化回收产物,进行克隆测序。

7.3.4 DNA 序列数据的处理

使用 DNA 测序仪对目的条带进行双向测序,PCR 扩增引物作为测序引物,测序原理同 Sanger 测序法。为确保测序结果的可靠性,需对测序质量进行评估,去除测序结果两端的低质量序列,质量评估以碱基的 Q 值为依据。应用软件进行序列拼接,去除引物区,获得相应的 DNA 序列,序列方向应与 PCR 扩增正向引物方向一致。

8 结果判定

8.1 中国检疫性有害生物 DNA 条形码鉴定系统判定

登录中国检疫性有害生物 DNA 条形码鉴定系统 <http://www.qbol.org.cn> ,点击“物种识别”导航条,进入物种识别页面。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。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(参见附录 A);否则请辅以其他鉴定方法。

8.2 国际通用数据库判定

登录 GenBank 数据库 BLAST 鉴定系统(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) ,在 BLAST 结果中查看序列相似性最高的物种,CO I 基因序列结果与已知卷蛾种类基因序列相似性最高,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,可明确判定检出相应的卷蛾种类。常见的检

性卷蛾种类 COI 基因序列信息参见附录 B。

8.3 植物有害生物检疫鉴定系统判定

登陆植物有害生物检疫鉴定系统(<http://www.exoticorganism.com/>),使用基因条码分析软件对查询序列进行分析比对,通过比对数据库中的鉴定特征,将符合该类群鉴定特征的且相似度为 100% 的物种判定为该未知种。“植物有害生物检疫鉴定系统”操作方法参见附录 C。

9 标本与原始数据保存

9.1 标本保存

采集到的标本应无水乙醇浸渍低温保存,并注明货物来源,寄主,采集时间、地点及采集者,保存期为 1 年,以备复验,如涉及贸易纠纷则须保存到纠纷解决完毕。保存期满后,按后期用途长久保存或处理。

9.2 原始数据保存

样品检测结束后,其原始记录单和检验报告或证书须归档,妥善保管,以备复验、谈判和仲裁。

附录 A
(资料性附录)

中国检疫性有害生物 DNA 条形码鉴定系统操作方法

中国检疫性有害生物 DNA 条形码鉴定系统操作方法见图 A.1、图 A.2。

中国检疫性有害生物DNA条形码鉴定系统

DNA BARCODE APPRAISAL SYSTEM ON CHINESE QUARANTINE PESTS

收藏 | 进入管理系统

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

AACGTTATATTTTCATTTTGGTATTTGAGCAGGTATAATTGGAACCTTCTTTAAGATTATTAAATTCGAGCAGAACTAGGAACCCCGGATCATTAAATGGTGACGATCAAAATTTATAACTATTGTACAGCTCATGCAITTTATTATAATTTTTTTATAGTAATACCTATTATAATTGGAGGATTTGGTAACCTGATTAGTACCTTTAATATTAGGAGCCCGAGATATAGCTTTCCACGAATAAATAATAGTTTTTGATTATTACCCCTCTATTATACTTTTAATCTCAAGAAGAATTGTTGAAAATGGAGCAGGAACAGGATGAACGGTTTACCCCTCTTTCATCTAATATTGCCATAGCGGAAGTTCTGTTGATTAGCTATTTCCTTTACATTAGCTGGTATTTTCATCAATTTTAGGAGCAGTAAATTTTATACCAATTATTAAATATACGACCTAATAATATATCTTTAGATCAAAATACCTTATTGTTGAGCTGTGGAATTACTGCTTTATTGCTACTTTTATCTTTACCTGTATTAGCTGGTGTCTATTACTATATTATTAACTGATCGAAATTTAAATACATCATTTTTTGACCTGCTGGAGGAGGAGATCCAATTTTATATCAACATTTTATT

提交鉴定

© 2012- 2015 中国检验检疫科学研究院 版权所有

图 A.1 物种识别页面

中国检疫性有害生物DNA条形码鉴定系统

DNA BARCODE APPRAISAL SYSTEM ON CHINESE QUARANTINE PESTS

收藏 | 进入管理系统

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

相似样本鉴定结果

序列编码	门	纲	目	科	属	种	相似度	遗传标记	E-Value
LBCH2590-10	Arthropoda	Insecta	Lepidoptera	Tortricidae	Acleris	Acleris variana	97.57%	COI-5P	0
LBCH2857-10	Arthropoda	Insecta	Lepidoptera	Tortricidae	Acleris	Acleris variana	97.57%	COI-5P	0
LBCH2803-10	Arthropoda	Insecta	Lepidoptera	Tortricidae	Acleris	Acleris variana	97.42%	COI-5P	0
CNKLD157-14	Arthropoda	Insecta	Lepidoptera	Tortricidae	Acleris	Acleris variana	97.28%	COI-5P	0
CNKLD2203-15	Arthropoda	Insecta	Lepidoptera	Tortricidae	Acleris	Acleris variana	97.28%	COI-5P	0
NGAAB057-14	Arthropoda	Insecta	Lepidoptera	Tortricidae	Acleris	Acleris variana	97.28%	COI-5P	0
XAH442-05	Arthropoda	Insecta	Lepidoptera	Tortricidae	Acleris	Acleris variana	96.96%	COI-5P	0
XAG329-05	Arthropoda	Insecta	Lepidoptera	Tortricidae	Acleris	Acleris variana	96.96%	COI-5P	0
XAG826-05	Arthropoda	Insecta	Lepidoptera	Tortricidae	Acleris	Acleris variana	96.96%	COI-5P	0
						Acleris			

图 A.2 鉴定结果页面

附 录 B

(资料性附录)

检疫性卷蛾种类 CO I 序列

表 B.1 给出了检疫性卷蛾种类 CO I 序列信息。

表 B.1 检疫性卷蛾种类 CO I 序列信息

中文名	学名	GenBank 登录号
黑头长翅卷蛾	<i>Acleris variana</i>	KM553720, KM553432, KM552950, KM549898, KM545885, HQ106463, HQ106469, HM864666, HM864372, HM864349, HQ106479
云杉色卷蛾	<i>Choristoneura fumiferana</i>	GQ890282, KM555028, KM554419, KM551965, KM540817, GU438801, GU096711, GU096705, HQ106918, HQ106911, HQ106903, GQ890279
苹果异形小卷蛾	<i>Thaumatotibia (Cryptophlebia) leucotreta</i>	KM352504, KM352503, KM352502
斜纹卷蛾	<i>Ctenopseustis obliquana</i>	AF016469, AF016470, AF016481, FJ225475, FJ225480, AF016470, AF016470, FJ225580, FJ225576, FJ225573, FJ225568, FJ225524
苹果蠹蛾	<i>Cydia pomonella</i>	KM572180, KF491664, KF405693, JQ027368, JQ027363, JF859814, GU093187, GU091041, GU095782, KP072623, KP072620, KJ789223
樱小卷蛾	<i>Grapholita (Cydia) packardii</i>	KR449966, KR449311, KR455483, KF491773, GU095867, GU095866, GU095863, FJ412592, AY728156, AY728155, AY728154
杏小卷蛾	<i>Grapholita (Cydia) prunivora</i>	KT619459, AY728153, AY728152, AY728151, AY728150, AY728149, AY728148
葡萄花翅小卷蛾	<i>Lobesia botrana</i>	KP677508, NC_029193
荷兰石竹卷蛾	<i>Cacoecimorpha pronubana</i>	LC031966, LC031967, LC031968, LC031969, LC031970, LC031971, LC031972, LC031973, LC031974, LC031975, JF703047

附录 C
(资料性附录)

植物有害生物检疫鉴定系统操作方法

登录植物有害生物检疫鉴定系统(<http://www.exoticorganism.com/>),首页选择“基因条码”模块,在“输入比对的序列”窗口中粘贴查询序列。点击“比对”,软件会在数据库范围内比对,输出物种鉴定结果。结果中相似性最高的条码序列对应分类阶元为查询序列所属分类阶元。在“更多比对结果”里,点击“开始对比”,将符合该类群鉴定特征的且相似度为 100% 的物种判定为该未知种。

以黑头长翅卷蛾 *Acleris variana* 为例,在“输入比对的序列”窗口中粘贴 CO I 基因片段,点击“比对”,结果见图 C.1,相似性最高的条码序列对应分类阶元为长翅卷蛾属 *Acleris*,相似性为 100%。在这一栏点击“开始对比”,结果见图 C.2,相似度为 100% 的序列对应物种为黑头长翅卷蛾 *A. variana*,即可判定查询序列为该物种。

植物有害生物检疫鉴定系统

数字标本 | 辅助鉴定平台 | 基因条码 | 基因库 | 标本库 | 有害生物查询 | 在线留言 | 系统管理

最新公告: 陆“我的平台”,在“数字标本”下方“我要上传信息”里上传标本图片和相关信息。

输入比对的序列:

GCAGGTATAGTTGGAACTTCITTAAGATTATTAATTCGAGCAGAACIAGGAAACCCGGATCATTAATGGTGATGATCAAAITTTATACTATTGTAACAGCTCATGCATT
ATTATAATTTTTTATAGTAATACCTATTATAATTGGAGGATTGGTAATTGATTAGTACCTTTAATATTAGGAGCCCGAGATATAGCTTTCCACGAAATAATAATAAGT
TTTGTATTACTACCCCTCTATTATACCTTTAATCTCAAGAAAGATTGTGAAAATGCGAGCAGAACAGCATGAAGGGTTACCCCTCTTCATCTAATATTGCCATAGC
GGAAGTTCGTGTGATTAGCTATTTCTCTTTACATTTAGCTGGTATTTCATCAATTTTAGGAGCAGTAAATTTATTACCACAATTATTATATACGACCTAATAATATATCT
TTAGATCAAAATACCCITATTGTGTGAGCTGTGGAAATTATGCTTTATTTACCTTTTACCTGTATTAG

序号	比对结果 (%)	分类阶元	标准条码名称	上游引物	下游引物	查看序列图	更多对比结果
1	100	长翅卷蛾属 <i>Acleris</i>	长翅卷蛾属 <i>Acleris</i> COI	LepF1 (5' -ATTCAACCAATCATAAGATATTG-3')	LepR1 (5' -TAACTTCTGGATGTCCAAAAATCA-3')	点击查看	开始对比
2	88.5	树蜂科 <i>Siricidae</i>	树蜂科 <i>Siricidae</i> COI	LepF1 (5' -ATTCAACCAATCATAAGATATTG-3')	LepR1 (5' -TAACTTCTGGATGTCCAAAAATCA-3')	点击查看	开始对比
3	82.75	小灰尖蛾属 <i>Ceratitis</i> <i>Macleany</i>	<i>Ceratitis</i> COISF-2	LepF1 (5' -ATTCAACCAATCATAAGATATTG-3')	LepR1 (5' -TAACTTCTGGATGTCCAAAAATCA-3')	点击查看	开始对比
4	81.89	灯蛾科 <i>Arctiidae</i>	美国白蛾及近缘种 COI	LepF1 (5' -ATTCAACCAATCATAAGATATTG-3')	LepR1 (5' -TAACTTCTGGATGTCCAAAAATCA-3')	点击查看	开始对比
5	81.27	树蜂属 <i>Sirex</i>	树蜂属 <i>Sirex</i> COI	10W152	D08253	点击查看	开始对比
6	79.01	小卷蛾属 <i>Cydia</i>	小卷蛾属 <i>Cydia</i> COI	LepF1 (5' -ATTCAACCAATCATAAGATATTG-3')	LepR1 (5' -TAACTTCTGGATGTCCAAAAATCA-3')	点击查看	开始对比
7	77.99	色卷蛾属 <i>Choristoneura</i>	色卷蛾属 <i>Choristoneura</i> COI	LepF1 (5' -ATTCAACCAATCATAAGATATTG-3')	LepR1 (5' -TAACTTCTGGATGTCCAAAAATCA-3')	点击查看	开始对比
8	77.97	异形小卷蛾属 <i>Cryptophlebia</i>	异形小卷蛾属 <i>Cryptophlebia</i> COI	LepF1 (5' -ATTCAACCAATCATAAGATATTG-3')	LepR1 (5' -TAACTTCTGGATGTCCAAAAATCA-3')	点击查看	开始对比
9	77.84	花翅小卷蛾属 <i>Lobesia</i>	花翅小卷蛾属 <i>Lobesia</i> COI	LepF1 (5' -ATTCAACCAATCATAAGATATTG-3')	LepR1 (5' -TAACTTCTGGATGTCCAAAAATCA-3')	点击查看	开始对比

图 C.1 黑头长翅卷蛾 *Acleris variana* 在条码数据库分类阶元中的比对结果

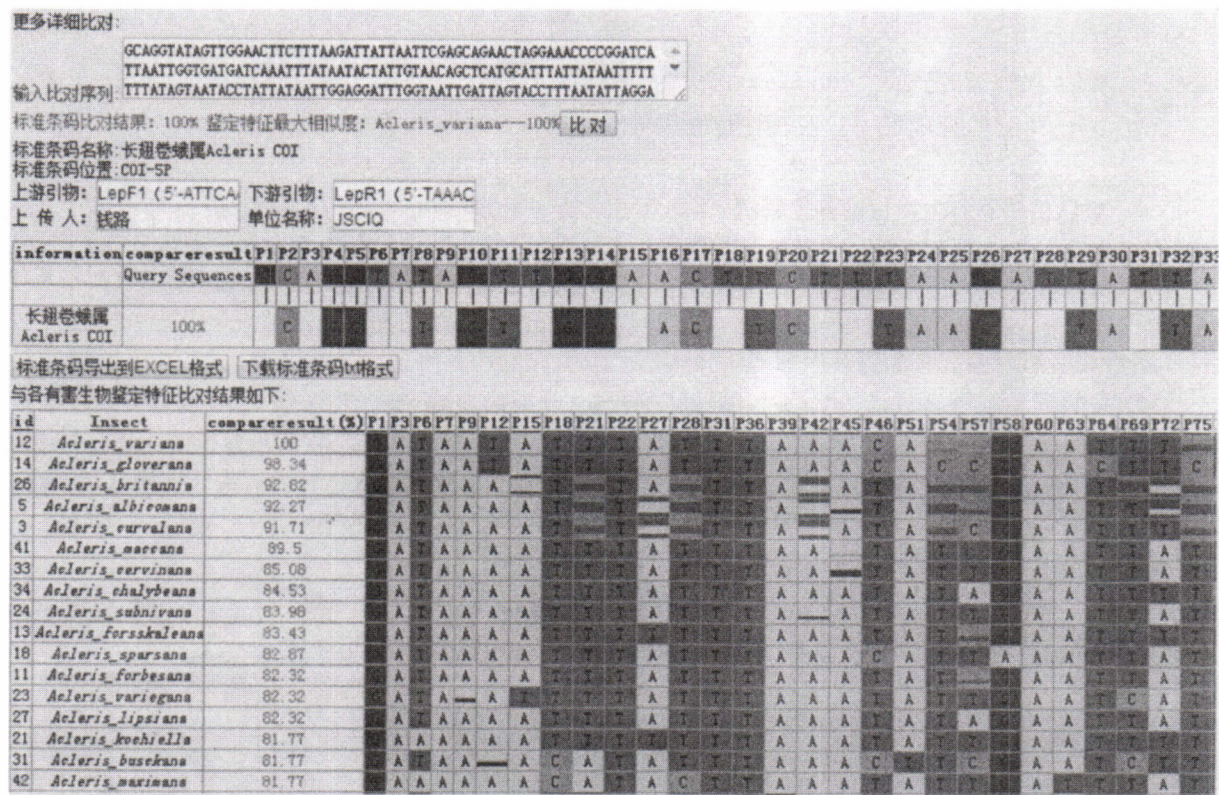


图 C.2 黑头长翅卷蛾 *Acleris variana* 在长翅卷蛾属条码数据库中的比对结果

参 考 文 献

- [1] 李玉婷,王康,郑燕,门秋雷,钱路,安榆林,等.基于 CO I 基因序列分析的甘肃河西走廊苹果蠹蛾种群遗传分化研究.西北农林科技大学学报,2013,41(9):1-6.
- [2] 陈士林.中药 DNA 条形码分子鉴定.北京:人民卫生出版社,2012:1-510.
- [3] 廖力,徐森锋,张卫东,等.应用 DNA 条形码技术鉴别谷实夜蛾与棉铃虫.植物检疫,2012(6):12-16.
- [4] 陈士林,姚辉,韩建萍,等.中药材 DNA 条形码分子鉴定指导原则.中国中药杂志,2013,38(2):141-148.
- [5] Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, et al. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc R Soc Lond B*, 2003, 270(1512):313-321.
- [6] Folmer O., Black M., Hoeh W. et. al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1994, 3:294-299.
- [7] Ratnasingham S & Hebert PDN. BOLD: The barcode of life data system (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular Ecology Notes*, 2007, 7(3):355-364.
- [8] Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, and Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, 30:2725-2729.
- [9] Zheng Y, Peng X, Liu G, Pan H, Dorn S, Chen MH. (2013) High Genetic Diversity and Structured Populations of the Oriental Fruit Moth in Its Range of Origin. *PLoS ONE* 8(11):e78476.
- [10] Xiaoye LI, Lu Qian, Yulin An, Maohua Chen. DNA barcoding of four Tortricidae species (Lepidoptera: Tortricoidea: Tortricidae) from China, Xiaoye Li, Lu Qian, Yulin An, Maohua Chen. DNA barcoding of four Tortricidae species (Lepidoptera: Tortricoidea: Tortricidae) from China, the fifth international barcode of life conference, pp 117.

中华人民共和国出入境检验检疫

行 业 标 准

DNA 条形码方法

第 3 部分: 检疫性卷蛾

SN/T 4876.3—2017

*

中国标准出版社出版

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)

总编室:(010)68533533

网址 www.spc.net.cn

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 20 千字

2018 年 7 月第一版 2018 年 7 月第一次印刷

印数 1—500

*

书号: 155066 · 2-44556 定价 18.00 元



SN/T 4876.3—2017