

《生态环境损害鉴定评估指南 环境
DNA 检测技术（征求意见稿）》
编制说明

《生态环境损害鉴定评估指南 环境 DNA 检测技术》

标准编制组

2025 年 12 月

目 录

一、项目背景	1
二、项目立项目的与意义	1
1. 响应国家改革部署，落实政策法规的必然要求	1
2. 适配生态保护需求，破解实践难题的迫切需要	2
3. 提升环境治理效能，保障公众权益的重要支撑	2
三、工作过程	2
四、国内外相关标准研究	3
1. 国外情况	3
2. 国内情况	4
3. 存在问题	4
五、文件内容结构	4
六、主要条文说明	5
1. 范围	5
2. 规范性引用文件	5
3. 术语和定义	5
4. 工作程序	6
5. 试剂	7
6. 仪器设备和材料	7
7. 准备阶段	7
8. 样品采集与保存	8
9. 实验检测	9
10. 结果分析	11
11. 质量控制和质量保证	12
附件 1：《生态环境损害鉴定评估指南 环境 DNA 检测技术》立项论证会专家意见修改表	13

一、项目背景

为深入贯彻落实中共中央办公厅、国务院办公厅《生态环境损害赔偿制度改革方案》，进一步完善生态环境损害鉴定评估技术方法体系建设，规范生态环境损害鉴定评估工作，编制组承担了《生态环境损害鉴定评估指南 环境 DNA 检测技术》工作。本标准于 2025 年 12 月由广东省环境科学学会正式立项（粤环学函〔2025〕45 号）。

当前，环境 DNA（eDNA）技术在学术研究领域已趋于成熟，但国际上尚未形成专门针对利用环境 DNA 检测技术开展生态环境损害鉴定评估的统一标准方法体系，国内亦未出台该细分领域的专项技术指南，技术方法的缺失导致实践中相关生态环境损害案件办理缺乏统一遵循，难以满足生态环境损害赔偿磋商、环境公益诉讼等工作的实际需要。

为此，项目承担单位自 2021 年起开展了为期五年的专项研究。立足生态环境损害鉴定评估实践需求，参照《生态环境损害鉴定评估技术指南》中总纲、地表水与沉积物、土壤与地下水等国家标准，系统开展生态环境损害鉴定评估中环境 DNA 检测方法的专项研究工作，构建了一套与生态环境损害鉴定评估技术体系衔接的环境 DNA 检测技术方法，规范了环境 DNA 检测流程、试剂、仪器设备和材料、实验分析、结果分析、质量保证和质量控制全流程，为案件办理部门开展相关领域生态环境损害鉴定评估工作提供了标准化、可操作的技术依据。

二、项目立项目的与意义

1. 响应国家改革部署，落实政策法规的必然要求

生态环境损害赔偿制度是生态文明体制改革的基石。近年来，党中央、国务院对生态环境损害赔偿工作提出明确要求。习近平总书记在全国生态环境保护大会上强调“严格落实生态环境损害赔偿制度”，党的二十届三中全会《中共中央关于进一步全面深化改革推进中国式现代化的决定》提出“统筹推进生态环境损害赔偿”，中共中央办公厅、国务院办公厅印发的《生态环境损害赔偿制度改革方案》要求“建立健全统一的生态环境损害鉴定评估技术标准体系”，《生态环境损害赔偿管理规定》《关于深入推进生态环境损害赔偿制度改革若干具体问题的意见》也提出加强鉴定评估技术研究，鼓励各地结合实际开展技术方法探索，丰富技术规范体系。当前国家层面虽已初步构建生态环境损害鉴定评估技术标准框架，

但在生物多样性受损等领域，仍缺乏高精度的技术手段支撑。制定本标准，是广东省主动承接《生态环境损害赔偿制度改革方案》、细化落实《生态环境损害赔偿管理规定》的具体举措。本标准的制定，不仅填补了环境 DNA 检测技术在司法鉴定领域的专用标准空白，更是对国家现行技术规范体系的重要补充与延伸，具有显著的政策契合性与制度保障意义。

2. 适配生态保护需求，破解实践难题的迫切需要

在全面推进美丽中国建设及履行国际生物多样性公约的背景下，对生物多样性保护与生态环境精细化监管提出了更高要求。环境 DNA 检测技术作为新型生态监测手段，在物种溯源、濒危物种监测及外来物种早期预警方面展现出巨大潜力。然而，由于缺乏统一的技术规范，目前行业内存在实验流程不一、参数设置各异等问题，导致鉴定结果在科学性、一致性及证据效力上存在争议，限制了该技术的规模化应用。制定本标准，旨在确立统一的技术底座，规范从采样到生物信息分析的全流程操作，有效破解“技术应用不统一”的实践难题，是提升生态损害量化精准度的迫切需要。

3. 提升环境治理效能，保障公众权益的重要支撑

广东省生态环境类型多元，环境敏感区分布广，近年来生态环境损害案件数量持续增长，环境执法、司法实践对标准化技术支撑的需求日益迫切。本标准的发布，将在全省范围内统一 eDNA 检测的评价尺度，提升跨区域、同类型案件办理的协同性与公正性。通过科学量化生态损害的实物量，本标准将为损害赔偿磋商、责任认定提供具有法律公信力的技术依据，有力支撑“损害担责”原则的落地，倒逼企业履行主体责任。同时，标准化的操作流程保障了公众环境权益的实现，通过高科技手段提升环境治理体系和治理能力现代化水平，为广东省和粤港澳大湾区的绿色发展提供高水平的技术保障。

三、工作过程

2022 年 7 月，组建了专项编制组，启动《生态环境损害鉴定评估指南 环境 DNA 检测技术》标准立项前期研究。编制组系统收集并分析了国内外环境 DNA 检测相关的技术规范、学术论文及司法鉴定案例，重点研判了环境 DNA 技术在水生生物、土壤微生物、海洋生物多样性等领域的应用成熟度。通过对技术可行性与法律适配性的深度分析，明确了标准编制的技术路线与核心框架。

2023~2024年，编制组进入实质性起草阶段，编制完成了《生态环境损害鉴定评估指南 环境DNA检测技术》标准底稿。为确保标准的科学性与可操作性，编制组选取了广东区域内5个典型的生态受损生境开展了大规模的技术测试与交叉验证。重点针对环境DNA采样布点、样本富集、高通量测序参数、生物信息学比对阈值等关键环节进行反复校准。形成了系统的实验数据支撑库，总结出一套适用于生态环境损害鉴定评估的环境DNA检测技术路径，为标准的量化指标确立提供了实测依据。

2025年1月，编制组编制完成《生态环境损害鉴定评估指南 环境DNA检测技术》标准立项申报材料，正式向广东省环境科学学会提出立项申请。

2025年12月，广东省环境科学学会在广州市组织召开团体标准《生态环境损害鉴定评估指南 环境DNA检测技术》立项论证会。来自省内高校和科研院所的专家组听取了汇报并审阅了相关材料。经认真讨论，认为本标准提供了支撑开展生态环境损害鉴定评估的环境DNA检测相关方法，对于完善生态环境损害鉴定评估技术体系具有重要意义。标准工作基础扎实，立项依据充分，技术路线和框架结构合理，内容较完整，给出了同意立项的结论。

2025年12月底，广东省环境科学学会印发了《广东省环境科学学会关于〈美丽园区建设指标体系〉等7项团体标准项目立项的通知》（粤环学〔2025〕45号），《生态环境损害鉴定评估指南 环境DNA检测技术》获批正式立项。

2026年1月，广东省环境科学学会组织召开《生态环境损害鉴定评估指南 环境DNA检测技术》（草案稿）专家咨询会。编制组邀请了生物多样性及环境科学领域的资深专家，就标准中的工作流程、实验检测、结果分析等关键条款进行了逐一研讨。结合专家意见，编制组对标准条文进行了深度优化，形成了目前的标准征求意见稿及其编制说明，为下一步公开征求社会各界意见奠定了坚实基础。

四、国内外相关标准研究

1. 国外情况

目前，国际上尚未形成专门利用环境DNA（eDNA）检测技术开展生态环境损害鉴定的标准体系。eDNA检测技术在全球水生生物监测领域迅速发展，已成为生物多样性评估和生态系统管理的重要工具。美国、欧盟、澳大利亚等国家和地区已系统推进eDNA技术的标准化与政策化。美国自2009年起在“亚洲鲤鱼事

件”中应用 eDNA 技术进行物种追踪，并于 2024 年发布《国家水生 eDNA 战略》，全面推进该技术在水生生物监测中的标准化和应用。欧盟明确规划至 2030 年将 eDNA 监测推广至所有成员国，尤其重视鱼类及水生态评价指标体系的构建。澳大利亚 2023 年制定了《将环境 DNA 科学融入澳大利亚海洋公园：路线图》，系统推动 eDNA 技术在海洋生物监测和管理中的应用。国际标准方面，欧洲标准化委员会（CEN）已于 2023 年发布《水质——水体样本 DNA 的采集、捕获和保存》（ISO/DIS 17805），并于 2025 年更新，标志着国际 eDNA 方法标准化已进入实质性阶段。

2. 国内情况

我国 eDNA 技术研究与应用虽起步稍晚，但发展迅速，已在鱼类多样性监测、濒危物种保护和生态系统健康评估中取得显著成效。目前国内已有多个团体标准和地方标准发布，如北京市地标《鱼类贝类环境 DNA 识别技术规范》《淡水大型底栖无脊椎动物环境 DNA 监测技术规范》、江苏省地标《淡水生物环境 DNA 监测技术方法》。另外，《淡水生物监测环境 DNA 宏条形码法》《淡水生物 DNA 条形码构建技术规程》《基于环境 DNA 的淡水生物评价技术指南》等 3 个团体标准于 2023 年 1 月 4 日发布实施，这些标准在一定程度上推动了 eDNA 技术的应用。更值得注意的是，2025 年 11 月生态环境部办公厅《关于征求〈生态环境损害鉴定评估技术标准体系建设方案（征求意见稿）〉意见的函》（环办便函〔2025〕373 号）将环境 DNA 溯源技术作为未来标准体系技术方法之一，然而，现有标准多聚焦于水生生物类群，尚未关注沉积物、土壤及大气等其他环境介质中的使用需求，也未能应用在生态环境损害鉴定评估中，在技术流程、操作方法及质量控制方面也尚未形成全国统一、系统性的规范。

3. 存在问题

当前，国际上尚未形成专门针对利用环境 DNA 检测技术开展生态环境损害鉴定评估的统一标准方法体系，国内亦未出台该细分领域的专项技术指南，技术方法的缺失导致实践中相关生态环境损害案件办理缺乏统一遵循，难以满足生态环境损害赔偿磋商、环境公益诉讼等工作的实际需要。

五、文件内容结构

1 范围

- 2 规范性引用文件
- 3 术语和定义
- 4 工作流程
- 5 试剂
- 6 仪器和材料
- 7 样品采集与保存
- 8 实验检测
- 9 结果分析
- 10 质量控制和质量保证

六、主要条文说明

1. 范围

本文件规定了支撑开展生态环境损害鉴定评估的环境 DNA (eDNA) 检测的检测流程、试剂、仪器设备和材料、实验分析、结果分析、质量保证和质量控制等技术要求。

本文件适用于地表水、沉积物、土壤、地下水、大气和海洋等环境介质中环境 DNA 检测，以及基于该检测开展的生物多样性调查评估与环境损害确认等相关工作。

2. 规范性引用文件

本部分为在运用环境 DNA 检测技术开展生态环境损害鉴定评估及相关工作时所需要遵循的相关环境保护标准和文件。这些标准和文件的有关条文将成为本标准的组成部分。编制过程中，重点引用了高通量测序国家标准 (GB/T 30989) 及生态环境损害鉴定评估总纲 (GB/T 39791)，确保了本技术指南与国家司法鉴定体系的逻辑统一性与合规性。

3. 术语和定义

本部分为执行本文件制定的专门的术语和对容易引起歧义的名词进行的定义。

表 1 术语和定义来源

术 语	定义来源
-----	------

术 语	定义来源
环境 DNA environmental DNA; eDNA	参考DB32/T 4539—2023, 环境介质(水、土壤、沉积物、生物膜、空气等)或混合生物组织中存在的脱氧核糖核酸(DNA)等生物遗传物质。
引物 primer	参考 GB/T 35890-2014, 在 DNA 复制过程中, 结合于模板链上并提供 DNA 合成起点, 具有一定长度和顺序的寡核苷酸链。
DNA 条形码 DNA barcode	参考 SN/T 4278—2015, 生物体细胞核或者细胞器中一段公认的能够代表该物种的标准的、有足够变异的、易扩增的短 DNA 序列, 可用于实现生物的认识和鉴定。
高通量测序 high-throughput sequencing	参考 GB/T 30989—2014, 区别于传统 Sanger(双脱氧链末端终止法)测序, 能够一次并行对大量核酸分子进行平行序列测定的技术。
DNA 宏条形码 DNA metabarcoding	利用高通量测序获取环境DNA中的特定DNA片段, 根据物种间特定DNA序列差异识别物种, 进而获取物种组成和群落结构。
索引 index	通过 PCR 或文库准备过程中为每个样品添加 1 个短序列的核苷酸碱基对, 允许多个样品在一个高通量测序运行中被汇集。这个序列对于运行中的每个样本都是不同的, 并使序列能够在测序后分配回他们来自的样本。
操作分类单元 operational taxonomic unit; OTU	DNA 宏条形码测序数据按照一定的序列相似性阈值进行聚类, 获得的用于表征物种的分子水平的分类单元。
扩增序列变体 amplicon sequence variants; ASV	DNA 宏条形码技术中, 通过生物信息学剔除 PCR 扩增和测序产生的错误序列后形成的独特 DNA 序列, 即每条序列至少有一个碱基不相同, 可以根据 ASV 的序列差异进行物种鉴定。
阴性对照 negative control	参考 SN/T 4278—2015, 不含待测物种或者所有物种 DNA 的样品(如灭菌超纯水), 与待测样品同步实验, 用于判断待测样品是否被污染。
阳性对照 positive control	参考 SN/T 4278—2015, 已知物种组成的基因组 DNA 或人工合成含有目标序列的 DNA 片段的混合物, 与待测样品同步实验, 用于判断结果是否可靠。
生物多样性调查评估 biodiversity survey and assessment	基于环境 DNA 检测数据, 分析特定区域内物种的组成、数量、分布及群落结构特征, 评估生态系统多样性状况的过程。
生态环境损害确认 ecological and environmental damage confirmation	依据环境 DNA 检测结果反映的物种变化、群落结构异常等信息, 结合环境基线, 确认生态环境是否发生损害的过程。

4. 工作程序

本条提出环境 DNA 检测流程。主要包括准备阶段(资料收集和现场踏勘、

采样方案制定)、样品采集与保存、实验检测(DNA提取、DNA质量检测和保存、PCR扩增、高通量测序等)、结果分析、质量控制和质量保证等。

5. 试剂

本条明确检测中所需的相关实验试剂。主要包括环境DNA提取试剂、PCR通用引物及扩增试剂、DNA凝胶电泳试剂、DNA胶回收试剂、DNA建库试剂及DNA高通量测序试剂要求。

6. 仪器设备和材料

6.1 本条明确检测中所需的仪器设备。主要包括高压蒸汽灭菌器、烘箱、微量移液器、制冰机、超纯水仪、水浴锅、超净工作台、低温离心机、涡旋仪、微量紫外分光光度计、荧光光度计、PCR仪、凝胶成像分析系统、电子天平、电泳仪、电泳槽、切胶仪、高通量核酸蛋白分析系统、高通量测序仪。

6.2 本条明确检测中所需的检测材料。主要包括无菌手套、口罩、无菌离心管、无菌冻存管、枪头、PCR管与板、密封膜、消毒用品。

7. 准备阶段

7.1 本条提出资料收集和现场踏勘相关要求,与生态环境损害鉴定评估技术要求相衔接。应参照《生态环境损害鉴定评估技术指南 总纲和关键环节 第2部分:损害调查》(GB/T39791.2)中要求开展资料收集、现场踏勘和人员访谈,获取污染事件调查需要的信息,确定调查重点,明确所需样品的环境介质。确保环境DNA检测不是孤立的生物实验,而是损害调查的重要手段方法之一。

7.2 本条提出采样方案制定相关要求。应先明确需要调查的环境要素,与生态环境损害鉴定评估技术要求相衔接。针对不同的环境介质制定采样方案,设置污染区域和对照区域。

鉴于现有标准中对采样方案的具体内容基本已有明确要求,采样方案可参照现有标准执行,对于未明确样品数量的,提出了重复采样点位最低数量。土壤和地下水采样方案制定执行《生态环境损害鉴定评估技术指南 环境要素 第1部分:土壤和地下水》(GB/T 39792.1—2020)、《生态环境损害鉴定评估技术指南 总纲和关键环节 第4部分:土壤生态环境基线调查与确定》(GB/T 39791.4—2024)相关要求;地表水和沉积物采样方案制定执行《生态环境损害鉴定评估技术指南 环境要素 第2部分:地表水和沉积物》(GB/T 39792.2—2020);大气采样方

案执行《环境空气质量监测点位布设技术规范（试行）》（HJ 664—2013）；海洋采样方案执行《近岸海域环境监测技术规范》（HJ 442—2008）。部分标准（比如 GB/T 39791.4—2024）中已规定对照点位数量，对于现有标准中未规定采样点位数量的，考虑到保证所取样本对所在采样区域的代表性，本标准要求每个采样区域应设置至少 3 个重复采样点位。

8. 样品采集与保存

8.1 本条提出样品采集方案。首先，本标准提出了重复样品采集的最低数量，以及 DNA 富集的优选方案和备选方案。其次，本标准主要总结了现行的生态环境损害鉴定评估标准中引用的各类环境样品采样的常规标准，保证了本工作与生态环境损失鉴定评估工作充分衔接。最后，本标准对阴性对照样品做出要求，供开展阴性对照试验使用。

根据采样方案开展样品采集。可选取一种或多种适宜的采样介质作为环境 DNA 来源。每个点位应采集至少 3 个重复样品，并做好环境 DNA 采样记录。无论选用何种采样介质，均应优先在现场完成环境 DNA 富集；不满足现场富集条件时，则应按终浓度 0.01% 添加阳离子表面活性剂类杀菌剂或将采样介质存放在单独的无菌洁净容器内置于干冰、液氮等超低温环境中储存，并在 24h 内完成环境 DNA 富集；若不满足上述条件，则应将采样介质存放在单独的无菌洁净容器内置于干冰、液氮等超低温环境中长期储存，以便带回实验室完成环境 DNA 富集。

地表水样品执行《地表水环境质量监测技术规范》（HJ 91.2—2022）；沉积物样品执行《水质采样 样品的保存和管理技术规定》（HJ 494—2009）；土壤样品采集执行《土壤环境监测技术规范》（HJ/T 166—2004）；地下水样品执行《地下水环境监测技术规范》（HJ 164—2020）；大气样品执行《总悬浮颗粒物采样器技术要求及检测方法》（HJ/T 374—2007）；海水样品执行《近岸海域环境监测技术规范》（HJ 442—2020）。

在环境样本采集的同时准备阴性对照样本，沉积物、土壤和水样可使用无菌水作为阴性对照，空气样本使用未经采样的滤膜作为阴性对照。

8.2 本条针对样品保存和运输环节提出要求。针对不同的环境介质采集的不同类型样品保存要求分别提出要求，第一组为土壤、沉积物样品，第二组为地表

水、地下水、海水、空气样品过滤后的滤膜样品。同时，针对低温保存和常温保存对运输过程分别提出要求。

采集的土壤、沉积物样品，应立即置于干冰或-80℃保存。若不能即刻转移，可暂存于≤4℃条件下（如冰盒），30 min 内转移至干冰或-80℃保存。

采集的地表水、地下水、海水、空气样品过滤后的滤膜样品，应放置于无菌容器，应立即置于干冰或-80℃保存。若不能即刻转移，可暂存于≤4℃条件下（如冰盒），30 min 内转移至干冰或-80℃保存。

应在干冰条件下进行运输。保存及运输过程应避免反复冻融。如需常温保存或运输，宜将样品浸润于稳定剂中。

9. 实验检测

9.1 本条提出样品前处理方案。对针对不同样品提出不同的前处理方案，第一组为土壤、沉积物样品，第二组为地表水、地下水、海水、空气样品过滤后的滤膜样品。

采集的土壤、沉积物样品：固定剂保存的样品应高速（不低于 12000 rpm）离心 20 min，留取沉淀物。低温保存的样品可进均质仪均质后冷冻干燥，充分混匀。

采集的地表水、地下水、海水、空气样品过滤后的滤膜样品：利用研磨珠和裂解液将滤膜振荡破碎，必要时可先将滤膜剪碎。

9.2 本条提出 DNA 提取步骤及常规要求。

根据不同的样本类型选择市售的 DNA 提取试剂盒提取样品中的 DNA。DNA 提取的具体操作步骤参照试剂盒说明书。

提取过程中，每次都应设置无菌水作为提取的阴性对照。其中每批样本应设置 2 个阴性对照样本，用于验证 DNA 提取流程无污染。

9.3 本条提出 DNA 质量检测 and 保存常规要求。

样本 DNA 浓度建议不低于 1 ng/μL，DNA 在 260 nm 和 280 nm 波长处的吸光度值比值（OD 260 nm/OD 280 nm）应在 1.7~2.0 范围内。如 DNA 质量不合格，可再次对 DNA 进行纯化后复检。DNA 在-20℃及以下保存，避免反复冻融。

9.4 本条提出 PCR 扩增常规要求。

针对不同生物类群选择 PCR 通用引物扩增目标宏条形码序列，在引物序列

双端添加碱基条形码,用于扩增大批量样品时区分样品以及减少测序过程中引入的错误。推荐的碱基条形码见附录表 B.1。

每个样品设置 3 个重复样品,以削弱随机性的影响。

PCR 扩增反应体系: 总体积一般为 25 μL , 一般包括 PCR 试剂预混液、引物、模板 DNA, 剩余体积用灭菌超纯水补齐。各组分浓度宜根据酶和实验优化条件确定。

PCR 反应程序设置: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 每对扩增引物的扩增条件不同, 推荐引物的退火温度可参考附录 A.1, 退火时间为 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 45 s; 变性、退火、延伸过程共 35 个循环, 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 下延伸 10 min。4 $^{\circ}\text{C}$ 保存扩增产物。

应设置 PCR 扩增的阴性对照(以 DNA 提取阴性对照为模板)和阳性对照(含有目的片段的 DNA 为模板)。

9.5 本条提出 PCR 反应产物的凝胶电泳检测常规要求。

反应结束后, PCR 产物采用 1%~2%的琼脂糖凝胶, 1X 电泳缓冲液 TAE, 在稳压 150 V 下电泳约 30 min。依据胶图检测扩增的有效性。阴性对照应无目的条带; 阳性对照和受试样品应在目标长度位置出现条带, 判定 PCR 扩增结果是否合格的判定标准见表 2。

表 2 PCR 扩增结果是否合格的判定标准

PCR 产物类别	是否合格
A 类	合格, PCR 样品浓度 $\geq 15 \text{ ng}/3 \mu\text{L}$
B 类	风险样本 $3 \text{ ng}/3 \mu\text{L} \leq \text{PCR 样品浓度} < 15 \text{ ng}/3 \mu\text{L}$
C 类	不合格样本, 无目的条带, PCR 样品浓度 $< 3 \text{ ng}/3 \mu\text{L}$

9.6 本条根据电泳检测结果, 对不同类别 PCR 产物提出混样相关要求。

将 3 个 PCR 重复产物混合, 其中 A 类样本和 B 类样本可以直接进行混样, 按等总量原则进行混样, C 类样本应重新进行实验, 不建议混样。针对 eDNA 浓度极低的特征, 制定了样本分级管理要求。明确只有 A 类和 B 类样本可进入后续建库, C 类样本必须重做, 这一分类法极大地提升了鉴定报告的稳健性。

9.7 本条提出 PCR 产物纯化和保存常规要求。

将混样样本使用凝胶回收试剂盒回收 PCR 混合产物, TE 缓冲液洗脱回收目

标 DNA 片段。用荧光光度计检测 PCR 回收产物的总量。PCR 产物在-20℃温度条件下保存，保存时间一般不超过 1 年。

9.8 本条提出建库常规要求。

对回收产物依次进行末端修复、接头连接及 PCR 扩增等建库操作。利用高通量核酸蛋白分析系统对构建完成的文库进行质控检测，文库的浓度和片段大小应符合预期，质控合格后使用高通量测序仪进行测序。

9.9 本条提出高通量测序相关要求。

将多个质检合格的文库按比例混合，参考《高通量基因测序技术规程》（GB/T 30989—2014）和《高通量基因测序结果评价要求》（GB/T 35537—2017）对宏条形码扩增产物进行测序。同一试验样本宜安排在同一批次上机测序。每个样本的预期的有效序列数不低于 100,000 条，确保了对低丰度受损物种的有效覆盖。

10. 结果分析

10.1 本条提出生物信息学分析相关技术要点。主要包括数据质控、序列拼接、聚类、物种注释和特征表等。

10.2 本条提出生物多样性指数的常规分析方法。主要通过群落丰富度和群落多样性进行评价，将复杂的分子序列转化为直观的生态健康指标，实现调查结果的表征。

生物多样性指数可以通过群落丰富度和群落多样性来反映。

群落丰富度指的是一个样本中物种数目的多少，可以通过 Chao1 指数估计样本中所含 OTU 数目。Chao1 值越大表示物种总数越多。

群落多样性指的是物种丰富度和物种均匀度的综合指标，可以通过 Shannon-Winner 指数衡量。Shannon-Winner 值越大表示生物多样性越高。

10.3 本条提出生态环境损害确认条件。主要与生态环境损害鉴定评估技术相衔接，参考了生态环境损害鉴定评估技术指南 总纲与关键环节 第 1 部分：总纲》（GB/T 39791.1—2020）中“5.3 生态环境损害确定”（d）条款中的相关要求，通过环境 DNA 检测实现生态环境损害确认。

对比评估区生态环境及其服务功能现状与基线，必要时开展专项研究，确定评估区生态环境损害的事实和损害类型。生态环境损害确认应满足以下任一条件：

a) 评估区生物种群特征（如指示物种、濒危保护物种的相对丰度）与基线

相比发生不利改变；

b) 评估区有害生物（如病原微生物的相对丰度）与基线相比发生不利改变；

c) 评估区生态系统特征（如生物多样性指数）与基线相比发生不利改变。

11. 质量控制和质量保证

11.1 本条提出质量保证需参考的标准。实验室工作区域的设置宜符合《高通量基因测序技术规程》（GB/T 30989—2014）中有关实验室工作区域的要求。

11.2 本条提出平行样品需要设置的数量，以及平行样品平均值的选取。每个位点应设置至少3个生物重复样品，可根据试验需求和试验条件适当设置DNA提取、PCR 建库测序平行样品。平行样品的相对丰度取平均值作为位点的相对丰度。

11.3 本条提出阴性对照试验相关技术要点，设置数量及要求。阴性对照样品为灭菌超纯水。每批次DNA提取实验中应设置不少于2个DNA提取的阴性样品。每批次PCR扩增实验时应设置不少于2个PCR扩增阴性对照样品。在PCR的结果中，阴性对照样品应无目的条带，否则本批次样品应重新检测。混样时，阴性样本应按照体积进行混样，而不是总量。

11.4 本条提出阳性对照试验想干技术要点，设置数量及要求。阳性对照为不少于10个特定物种的基因组DNA或人工合成含有目标序列的DNA片段的等摩尔量混合物，样品浓度一般不低于1 ng/μL。每次PCR扩增实验应设置不少于2个阳性对照样品。阳性对照样品应在目标长度位置出现条带。否则本批次样品应重新检测。

附件 1：《生态环境损害鉴定评估指南 环境 DNA 检测技术》立项论证会专家意见修改表

序号	意见	采纳情况
1	优化采样方案的相关内容。	采纳，已在“7.2”章节中补充采样方案制定相关内容。
2	进一步完善质量保证的相关要求。	采纳，已在“11.3”“11.4”章节中完善阴性对照实验和阳性对照实验的相关要求。

《生态环境损害鉴定评估技术指南 环境 DNA 检测技术》团体标准立项论证会专家意见

2025 年 12 月 22 日，广东省环境科学学会在广州市组织召开了《生态环境损害鉴定评估技术指南 环境 DNA 检测技术》团体标准立项论证会。专家组（名单见附件）听取了编制单位对标准立项背景、必要性、可行性、已有工作基础及标准文本初稿的汇报，经质询讨论，形成意见如下：

一、该标准提供了支撑开展生态环境损害鉴定评估的环境 DNA 检测相关方法，对于完善生态环境损害鉴定评估技术体系具有重要意义。

二、该标准工作基础扎实，立项依据充分，技术路线和框架结构合理，内容较完整。

三、建议

1. 优化采样方案的相关内容；
2. 进一步完善质量保证的相关要求。

专家组同意立项。

附件：立项论证会专家组名单

专家组（签字）：



2025 年 12 月 22 日

附件：

《生态环境损害鉴定评估技术指南 环境 DNA 检测技术》

团体标准立项论证会专家组名单

2025 年 12 月 22 日

序号	姓名	工作单位	职称	签名
1	林亲铁	广东工业大学	教授	
2	原效凯	广东省建筑设计研究院集团股份有限公司	教授级高级工程师	
3	刁增辉	仲恺农业工程学院	教授	
4	谢志宜	广东省生态环境监测中心	正高级工程师	
5	杜长明	中山大学	副教授	