

拟穴青蟹

Green mud crab

(征求意见稿)

(本草案完成时间: 2025.12.01)

在提交反馈意见时, 请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

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专利的责任。

本文件由海南省农业农村厅提出并归口。

本文件起草单位：中国水产科学研究院南海水产研究所、三亚热带水产研究院、海南省水产品质量安全检测中心、海南新小海生态农业公司。

本文件主要起草人：柯常亮、王安伟、古小莉、黄珂、卓齐辉、马振华、刘天密、段星星、肖雅元、刘奇、戴世明。

拟穴青蟹

1 范围

本文件界定了拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*)的学名与分类,规定了主要外部形态特征、生长与繁殖特性、遗传学特性,描述了相应的检测方法,给出了判定规则。

本文件适用于拟穴青蟹的种质检测与鉴定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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 18654.2 鱼类种质检验 第2部分:抽样方法

GB/T 18654.6 鱼类种质检验 第6部分:繁殖性能的测定

GB/T 18654.12 鱼类种质检验 第12部分:染色体组型分析

GB/T 18654.13 鱼类种质检验 第13部分:同工酶电泳分析

GB/T 22213 水产养殖术语

3 术语和定义

GB/T 22213 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

甲宽 carapace width

从眼缘沿前侧缘向后侧缘方向,前侧缘左、右侧第九齿尖端之间的距离。

3.2

甲长 carapace length

额缘中间两齿底端连线的中点与头胸甲后缘中点之间的距离。

3.3

甲内宽 inner carapace width

头胸甲前侧缘左、右侧第九齿与第八齿间凹陷处之间的距离。

3.4

额宽 carapace frontal width

左、右眼窝背部头胸甲上两缝之间的距离。

3.5

额中齿高 frontal median spine height

额缘中间两齿顶端与底端之间的距离。

3.6

腕节内棘长 inner carpus spine length

腕节内棘刺基部到尖端之间的距离。

3.7

腕节外棘长 outer carpus spine length

腕节外棘刺基部到尖端之间的距离。

3.8

掌节内棘长 inner propodus spine length

掌节内棘刺基部到尖端之间的距离。

3.9

掌节外棘长 outer propodus spine length

掌节外棘刺基部到尖端之间的距离。

4 学名与分类地位

4.1 学名

拟穴青蟹 (*Scylla paramamosain*, Estampador, 1949)

4.2 分类位置

节肢动物门 (Arthropoda)、软甲纲 (Malacostraca)、十足目 (Decapoda)、短尾下目 (Brachyura)、梭子蟹科 (Portunidae)、青蟹属 (*Scylla*)。

5 主要外部形态特征

5.1 外部形态

头胸甲呈卵圆形，显绿色至墨绿色，无斑纹，长度约为宽度的三分之二，表面光滑，若干区域隆起，在胃区和心区位置形成“H”形凹痕。左、右眼窝背后在头胸甲各有一缝，左右两缝间的额缘具4枚三角形尖齿。头胸甲前侧缘左、右两边各具9个三角形尖齿。后侧缘向后收敛，后侧缘及后缘光滑平整。

具5对附肢：1对螯足、4对步足。螯足粗大强壮，螯掌背部显绿色，中部以上显绿色有多边形斑纹，中部以下显橙色无斑纹，近指节处有棘刺2枚，中部具明显钝突1处，指节和不动指切割缘具齿，中部显橙红色，指端尖；腕节内缘具棘刺1枚，外缘有钝突2处，长节背部前缘具棘刺3枚，底部后缘具棘刺2枚；第2至第4步足背部显绿色或翠绿色，无斑纹，边缘具刷状短毛；第5步足边缘有细密的刚毛，长节和腕节状扁，有不规则斑纹，掌节与指节扁平呈桨状，指节中间有纵向纹理。

腹部显灰色或白色，具腹节7段。雌蟹腹部呈半圆形，7段腹节界线明显，第7腹节形似等边三角形；雄蟹腹部呈狭长三角形，第3-5腹节界线不明显。拟穴青蟹外形图见图1。



a) 背面

b) 雄性腹面

c) 雌性腹面

图1 拟穴青蟹外形

5.2 可数性状

5.2.1 前侧缘齿数

前侧缘左、右两侧分别有 9 枚三角形尖齿。

5.2.2 额缘齿数

额缘有 4 枚三角形尖齿。

5.2.3 步足

步足5对：其中螯足 1 对；螯掌背部近指节处棘刺 2 枚、中部钝突 1 处；腕节内棘刺 1 枚、外钝突2 处；长节背部依次排列 3 枚棘刺，底部依次排列 2 枚棘刺。

5.2.4 触角

触角 2 对。第一触角，1 对，每根触角由 3 节组成，折叠于额缘齿下左、右触角窝；第二触角 1 对，原肢由 3 节组成，最后 1 节触须具环状纹理。

5.2.5 腹节

腹节共计 7 节，其中雄性第 3-5 腹节界线不明显。

5.3 可量性状

拟穴青蟹成蟹的主要形态性状比值见表1。

表1 拟穴青蟹主要形态性状比值（平均值±标准差）

测量部位	雌蟹	雄蟹	总体
甲长/甲宽	0.69±0.11	0.67±0.06	0.68±0.08
额宽/甲内宽	0.35±0.08	0.36±0.15	0.36±0.13
额中齿高/额宽	0.18±0.04	0.17±0.05	0.17±0.04
掌节内棘长/掌节外棘长	1.58±0.85	1.65±0.92	1.62±0.88
腕节内棘长/腕节外棘长	0.98±0.35	0.94±0.34	0.96±0.34

6 生长与繁殖特性

6.1 生长

雄蟹甲宽与体重关系见式（1）：

$$W = 1 \times 10^{-4} \times L^{3.1464} \quad (r = 0.9879) \dots\dots\dots (1)$$

式中：

W-- 体重，单位为克（g）；

L-- 甲宽，单位为毫米（mm）。

雌蟹甲宽与体重关系见式（1）：

$$W = 1 \times 10^{-4} \times L^{3.0016} \quad (r = 0.9609) \dots\dots\dots (2)$$

式中：

W -- 体重，单位为克（g）；

L -- 甲宽，单位为毫米（mm）。

6.2 繁殖

6.2.1 性成熟年龄

雌蟹初次性成熟 6 月龄起，甲宽 9cm 以上（体重 200g 以上）；雄蟹初次性成熟 4 月龄起，甲宽 8 cm 以上（体重 200 g 以上）。

6.2.2 抱卵量

海南地区全年可产卵，其中 3~6 月和 9~11 月是抱卵高峰，200 g ~ 300 g 雌蟹单次抱卵量 1.0×10^6 粒~ 4.0×10^6 粒。

7 遗传学特性

7.1 细胞遗传学特性

体细胞染色体数： $2n = 98$

7.2 生化遗传学特性

拟穴青蟹肌肉组织乳酸脱氢酶（LDH）电泳图谱表现为 1 条谱带（LDH-1）图 2。

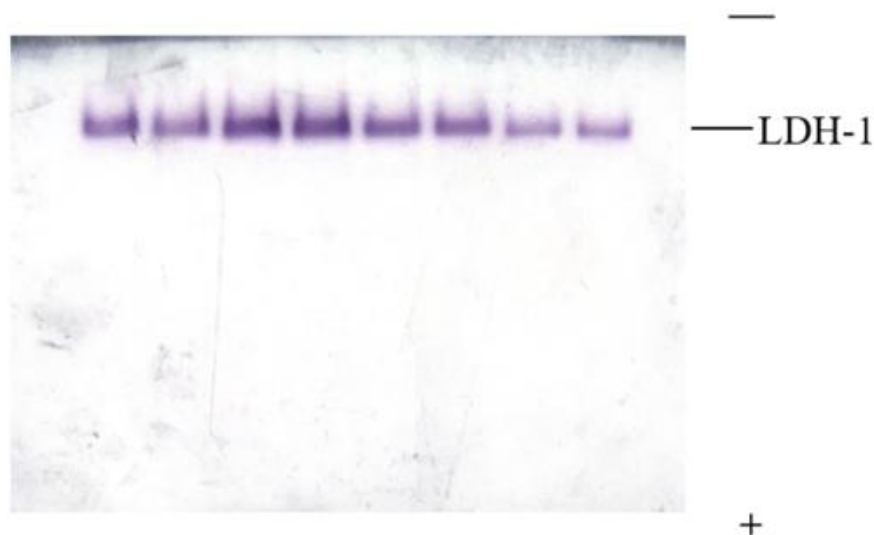


图2 乳酸脱氢酶LDH

7.3 分子遗传学特性

线粒体 *COI* 基因片段的碱基参考序列如下（684 bp）：

ATAAAGATAT TGGTACTCTA TATTTTATTT TTGGAGCATG ATCTGGAATA GTAGGAACCT 60

CATTAAGTTT	AATTATTCGT	GCTGAAGTAC	GACAACCAGG	AACACTTATT	GGTAATGATC	120
AAATTTATAA	TGTTGTTGTT	ACCGCTCATG	CTTTCGTTAT	AATCTTTTTT	ATAGTTATAC	180
CAATTATAAT	TGGAGGATTT	GGTAATTGAC	TAGTCCCCT	TATATTAGGA	GCCCCTGACA	240
TAGCATTCCC	TCGTATAAAC	AATATAAGAT	TTGACTCTT	ACCCCATCT	CTGACTCTAT	300
TATTAATAAG	AGGTATAGTA	GAAAGAGGTG	TCGGCACAGG	CTGAACTGTC	TATCCCCCAC	360
TAGCAGCAGC	TATTGCCAT	GCAGGGCTT	CAGTCGATCT	AGGTATTTTC	TCACTTCATC	420
TTGCAGGTGT	CTCTTCTATT	CTTGGTGCAG	TTAATTTTAT	AACAACGTGA	ATTAATATAC	480
GATCTTTTGG	TATAAGAATA	GACCAAATAC	CTTTATTTGT	TTGATCTGTA	TTTATTACTG	540
CAATTCTCTT	ACTTTTATCC	TTACCAGTTC	TAGCAGGAGC	AATTACTATA	CTTCTAACCG	600
ATCGAACCT	TAATACATCA	TTTTTTGACC	CTGCTGGCGG	TGGAGACCCT	GTTTTGTACC	660
AGCATTTATT	CTGATTTTTT	GGTC				684

种内K2P (Kimura 2-Parameter) 遗传距离小于 2%。

8 检测方法

8.1 抽样方法

按 GB/T 18654.2 的规定执行。

8.2 主要形态结构特征测定

8.2.1 外部形态测定

鲜活样品，自然摆放于带碎冰的托盘中，肉眼观察外形特征，按5.1规定的内容进行描述。

8.2.2 可数性状测定

肉眼观察，按 5.2 描述的内容进行计数。

8.2.3 可量性状测定

按附录 A 指示的部位，用游标卡尺测定，精确至 0.1 mm。

8.3 生长与繁殖特性测定

8.3.1 生长测定

用游标卡尺测定甲长，精确至 0.1 mm；用电子天平称量体重，精确至 0.1 g。

8.3.2 抱卵量测定

按 GB/T 18654.6 规定的方法测定。

8.4 细胞遗传学测定

按附录 B 规定的方法测定。

8.5 生化遗传学测定

按 GB/T 18654.13 规定的方法测定。

8.6 分子遗传学测定

按附录 C 规定的方法测定。

9 判定规则

9.1 当检测结果符合第 5 章的要求时，可以判定为该物种。当可数性状符合本文件要求，但外部形态、可量性状与本文件规定存在明显差异时，应结合遗传学等其他指标进行综合判定。

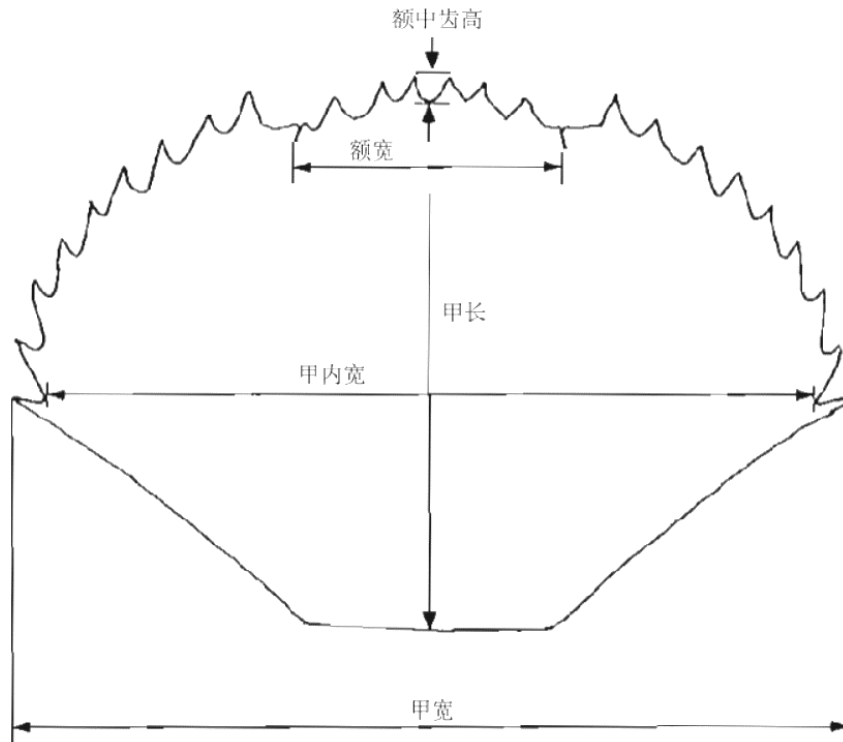
9.2 当出现下列情况时，需增加检测其他章节内容，依据检测结果对物种进行综合判定：

- a) 第 5 章的内容无法进行检测或者准确判定时，增加检测第 7 章的内容；
- b) 第三方提出要求检测第 7 章全部或部分内容时；
- c) 全项检测时。

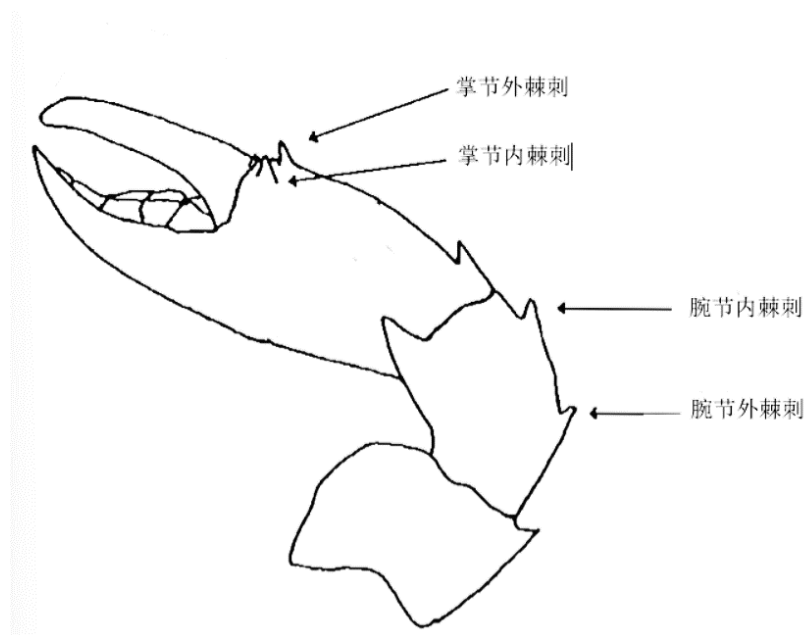
附录 A
(规范性)

拟穴青蟹可量性状测定示意图

拟穴青蟹背甲和螯足测量示意图见A.1和A.2。



图A.1 拟穴青蟹背甲测量示意图



图A.2 拟穴青蟹螯足测量示意图

附 录 B
(规范性)
染色体检测

B.1 秋水仙素注射

配制秋水仙素浓度为 4 mg/mL，于第 2 步足基部进行肌肉注射，处理时间 3 h~5 h。

B.2 低渗处理

解剖取精巢组织并剪碎，置于浓度为 0.075 mol/L 氯化钾(KCl)溶液中，静置低渗 40 min~50 min。

B.3 细胞固定

配制固定液（无水甲醇：乙酸 = 3:1，现配现用）。将低渗后的卵巢组织置于研磨器中加入 1 mL 固定液充分研磨，经 100 目纱布过滤制备细胞悬浮液。向细胞悬浮液中补加固定液至总体积 4 mL，室温固定 20 min；用 1 200 r/min 离心 8 min~12 min，吸取上清固定液，避免吸起细胞沉淀。向离心管中再次加入固定液，混匀细胞，重复固定、离心操作 2 次~3 次。

B.4 滴片干燥

将末次离心后的细胞沉淀加入约 3 mL 固定液，轻柔吹打制成均匀细胞悬浮液；吸取 3 滴~4 滴细胞悬浮液加于预冷载玻片上，细胞浓度低时可适当增加滴液量；将载玻片置于酒精灯上方缓慢烘烤至完全干燥。

B.5 后续操作

染色体染色、镜检、中期分裂相观察及核型分析等其他步骤，均按 GB/T 18654.12 的规定执行。

附 录 C

(规范性)

线粒体 *COI* 基因片段的序列分析方法

C.1 总 DNA 提取

取拟穴青蟹肌肉组织，采用酚-氯仿抽提法或使用试剂盒提取 DNA。

C.2 引物序列

COI-F: 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3';

COI-R: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'。

C.3 序列扩增与测序

PCR反应总体系为25 μ L: 12.5 μ L Taq Mix(2X), 上下游引物各1.5 μ L, DNA模板1.5 μ L, 灭菌蒸馏水8 μ L。

PCR扩增参数: 94 $^{\circ}$ C预变性 3 min; 94 $^{\circ}$ C变性30 s, 50 $^{\circ}$ C退火30 s, 72 $^{\circ}$ C延伸90 s, 循环35次; 72 $^{\circ}$ C延伸10 min。

测序: 产物采用正反双向测序。

C.4 遗传距离分析

利用Kimura两参数模型 (Kimura 2-parameter, K2P) 计算检测样品序列与参考序列间的遗传距离。
