

海南省地方标准
《拟穴青蟹》编制说明

(征求意见稿)

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

归口单位：海南省农业农村厅

目 录

一、项目简况.....	1
二、制定标准的目的和意义.....	2
(一) 解决拟穴青蟹养殖产业发展无标可依的困局	2
(二) 为“和乐蟹”地理标志产品保护提供技术支撑.....	3
三、编制过程简介.....	4
(一) 成立起草小组.....	4
(二) 起草阶段.....	4
(三) 征求意见阶段.....	7
四、制定标准的原则和依据, 与现行法律法规、标准的关系	8
(一) 标准制定原则.....	8
(二) 标准制定依据.....	9
(三) 与现行法律法规、标准的关系	10
五、主要条款的说明.....	12
(一) 标准文件结构.....	12
(二) 核心指标编制依据.....	13
(三) 与锯缘青蟹差异性分析.....	33
(四) 与其他蟹类 DNA 序列差异性.....	36
(五) 鱼类种质检验方法对本标准的适用性分析	37
六、公平竞争审查情况.....	38
七、重大分歧意见的处理依据和结果.....	38
八、采用国际标准或国外先进标准的, 说明采标程度, 以及国内外 同类标准水平的对比情况.....	38
九、推广实施.....	39
十、其他应予说明的事项.....	40
参考文献	40

一、项目简况

(一) 标准名称：拟穴青蟹

(二) 任务来源(项目计划号)：海南省市场监督管理局关于下达《海南省2024年第四批地方标准制修订项目计划的通知》，项目计划号：2024-Z052。

(三) 起草单位：中国水产科学研究院南海水产研究所

(四) 单位地址：广东省广州市海珠区新港西路231号

(五) 参与起草单位：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

(六) 标准起草人：标准起草小组共11人，分别形态分析、遗传特征分析、生长繁殖分析、标准文件编写等工作，具体分工见表1

表1 标准起草人

序号	姓名	工作单位	职务/职称	项目分工	联系方式
1	柯常亮	中国水产科学研究院南海水产研究所	副研究员	项目负责人	13430242812
2	王安伟	海南省水产品质量安全检测中心	高级工程师	形态特征分析	13637645836
3	古小莉	中国水产科学研究院南海水产研究所	副研究员	遗传特征分析	020-84450770
4	黄珂	中国水产科学研究院南海水产研究所	常务副主任/副研究员	项目协调	020-84450770
5	卓齐辉	海南新小海生态农业公司	总经理	生长繁殖分析	18876089992
6	马振华	中国水产科学研究院南海水产研究所	研究员	送审稿审定	020-84450770
7	刘天密	海南省水产品质量安全检测中心	研究员	征求意见稿审核	13976611600

8	段星星	中国水产科学研究院南海水产研究所	助理研究员	遗传特征分析	020-84450770
9	肖雅元	中国水产科学研究院南海水产研究所	渔业资环分技委秘书长/副研究员	标准草案审核和意见征集	020-84450770
10	刘奇	中国水产科学研究院南海水产研究所	助理研究员	参与收集资料、仪器分析	020-84450770
11	戴世明	三亚热带水产研究院	助理研究员	生长繁殖分析	15018770898

二、制定标准的目的和意义

(一) 解决拟穴青蟹养殖产业发展无标可依的困局

《中华人民共和国渔业法》鼓励和支持水产优良品种的选育、培育和推广。农业农村部《水产苗种管理办法》规定，从事水产种质资源开发利用、品种选育培育、苗种生产经营的单位和个人，应对水产种质资源进行鉴定，提供符合种质标准的亲本及种质检验证明。海南自由贸易港促进种业发展若干规定》支持建设水产原良种场，明确要求“提升种质资源精准鉴定与评价能力”。《海南省省级水产原(良)种场建设要点》《海南省省级水产原(良)种场资格验收及管理办法》要求：提供合法亲本来源证明(含水产苗种生产许可证、种质检测报告、引种证明等)，并接受不定期抽检。因此，种质鉴定和检验标准是开展水产养殖、种质保护和改良的基础。国家和海南省已出台与水产种质保护、良种场申报直接相关的规章制度，并明确规定了种质检验报告的要求，为《拟穴青蟹》种质标准的制定提供了坚实的法规依

据和实践需求。

拟穴青蟹 (*Scylla paramamosain*) 隶属于梭子蟹科青蟹属，是我国华南沿海及东南亚地区重要的海产经济蟹类，具有个体大、生长迅速、味道鲜美、营养丰富等特点，是重要的海水经济品种。海南是拟穴青蟹种质资源最丰富、分布最集中的区域，野生种质资源量占比达80%。拟穴青蟹也是海南省特色水产养殖产业的核心品种之一，年产超过1万吨，产值接近20亿元，经济效益显著，带动渔民增收致富。因缺乏拟穴青蟹种质鉴定与检验标准，种质鉴定、检验无标可依，原(良)种场申报与建设缺乏依据，制约了海南拟穴青蟹养殖业发展、种质保护及品质改良。

(二) 为“和乐蟹”地理标志产品保护提供技术支撑

拟穴青蟹，在海南省俗称“和乐蟹”，享誉海内外，与文昌鸡、嘉积鸭、东山羊并称为“海南四大名菜”，是其中唯一的海产代表，具有千年饮食文化传承。“和乐蟹”于2007年获批为国家地理标志产品。因拟穴青蟹 (*Scylla paramamosain*) 与近缘的锯缘青蟹 (*Scylla serrata*) 形态相似度高，难以准确区分，容易混淆。2006年颁布的海南省地方标准《DB46/T 60-2006 地理标志产品 和乐蟹》将和乐蟹误定为锯缘青蟹，直至2023年发布《DB46/T 60-2023 地理标志产品 和乐蟹》，才将其修订为拟穴青蟹。虽然该标准文件将“和乐蟹”学名修订为拟穴青蟹，但是依然缺乏生物学上、遗传学角度界定“和乐蟹”品种的

标准文件。

现行标准中，尚无拟穴青蟹种质鉴定和检验相关标准。海南省是拟穴青蟹核心种质资源地，“和乐蟹”在海南具有千年饮食文化历史。制定拟穴青蟹种质鉴定与检验标准，填补相关技术标准空白，不仅对保护海南特色种质资源、防止物种基因污染、推动品种改良、促进拟穴青蟹养殖与种业高质量发展具有重要意义，也为界定和乐蟹物种归属、支撑地理标志产品保护提供科学依据。

三、编制过程简介

（一）成立起草小组

2024年11月，收到海南省市场监督管理局《关于下达海南省2024年第四批地方标准制修订项目计划的通知》后，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等单位的柯常亮、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、戴世明等人组成编制小组。经过小组讨论，明确了标准主要起草单位、进度安排、任务分工（见表1），编制完成了《2024年海南省地方标准制修订项目实施方案--拟穴青蟹》，于2024年12月报送海南省市场监督管理局。

（二）起草阶段

1. 标准编制相关法规及标准调研

起草组系统学习了《中华人民共和国标准化法》《国家标准化发

展纲要》《地方标准管理办法》《DB46/T 74—2021 地方标准制修订工作规范》《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》《GB/T 20001.10-2014 标准编写规则 第 10 部分：产品标准》等法规与标准，明确了起草工作遵循的依据，确保编制工作合规、规范。

2.拟穴青蟹以及种质鉴定相关标准调研

为确保标准内容科学合规，起草组查阅了《SC/T 2016-2012 拟穴青蟹 亲蟹和苗种》《SC/T 9431-2019 水生生物增殖放流技术规范 拟穴青蟹》《DB33/T 398.2-2015 拟穴青蟹 第 2 部分：养殖技术规范》《DB33/T 398.1-2015 拟穴青蟹 第 1 部分：苗种生产技术规范》《DB46 60-2023 地理标志产品 和乐蟹》《DB 440500/T14-2017 拟穴青蟹养殖技术规范》《DB 4420/T 58—2024 拟穴青蟹池塘养殖技术规范》《T/ZJSC 0011-2025 拟穴青蟹用药减量技术规范》《T/GXAS 1125-2025 拟穴青蟹复产技术规程》等与拟穴青蟹相关的标准，未发现种质鉴定与检验相关标准。同时查阅了《SC/T 1054-2025 罗氏沼虾》《GB/T 19782-2023 中国对虾》等现行种质鉴定与检验标准，明确了本标准文件编写的技术核心内容。

3.拟穴青蟹生产情况调研

起草小组于 2025 年 6 月、9 月先后赴海南省水产技术推广站、海南新小海生态农业公司等技术及养殖单位开展现场调研，落实拟

穴青蟹养殖生长与繁殖监测工作。



图 1 海南省水产技术推广站调研



图 2 拟穴青蟹养殖公司调研

4. 拟穴青蟹核心指标测试

根据分工，海南新小海生态农业公司监测了拟穴青蟹从“大眼幼体”“稚蟹”“蟹种”“成蟹”到“育肥蟹”等关键生长阶段数据，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的技术人员，分别在海南万宁、儋州等养殖区采集样本共 187 尾，开展外部形态、染色体、同工酶等技术指标测定。为从生物学、遗传学层面解决拟穴青蟹与近缘物种的鉴定难题，起草组在实施方案基础上新增分子遗传学鉴定研究，完成线粒体 *COI* 基因片段测序分析，建立精准、可验证的分子鉴定依据。为准确区分拟穴青蟹及其近缘物种锯缘青蟹，起草小组还采集锯缘青蟹样本，从形态学、遗传学层面开展对比分析，编制完成《拟穴青蟹》征求意见稿（草案）。

5. 拟穴青蟹核心指标验证

为为确《拟穴青蟹》征求意见稿核心指标的准确性，编制小组将草案核心指标提交农业农村部水产种质检验测试中心（广州）验证。验证结果显示，拟穴青蟹各项指标与该中心测试结果基本一致。

（三）征求意见阶段

验证完成后，起草小组编制完成《拟穴青蟹》标准征求意见稿及编制说明，向 21 家相关单位、30 位专家发送征求意见稿、编制说明、《征求意见稿意见表》、征求意见函等材料，征集专家对标准草案

的意见。截至 2026 年 4 月 30 日，起草小组收到 16 家单位的 23 名专家的回函，收集建议 168 条。起草小组对意见建议进行汇总、分析与梳理，据此对标准征求意见稿及编制说明进行修改、补充与完善，形成修订后的《拟穴青蟹》标准征求意见稿，于 2026 年 5 月 20 日邀请了中国热带农业科学院分析测试中心、海南省检验检测研究院、海南大学、海南省海洋与渔业科学院、海南蓝泰邦生物技术有限公司以及海南省农业农村厅专家代表在海南省水产品质量检测中心召开征求意见论证会。会议上共收到 11 条建议，全部采纳。会后，起草组根据采纳的建议对标准文本进行完善。



图 3 地方标准征求意见

四、 制定标准的原则和依据，与现行法律法规、标准的关系

（一）标准制定原则

在标准编制过程中，遵循了“科学性、统一性、协调性、适用性、一致性、规范性”原则。力求文本结构清晰、表述准确，与现行法律

法规及相关标准协调一致，兼具适用性与可操作性。

1.科学性：基于实地调研、实验验证及多年研究成果，数据可靠，反映行业先进技术水平，兼顾现有成熟技术与未来发展需求，为产业提供科学指导。

2.适用性：在标准技术内容、检验规则、技术指标设定等方面，始终把经济实用性和可操作性作为重要依据，确保标准的内容便于实施，并且易于被生产上采用和其他标准和文件引用。

3.规范性：本标准严格按照《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》《GB/T 20001.6—2017 标准编写规则 第6部分：规程标准》《DB46/T 74—2021 地方标准制修订工作规范》等标准起草，格式规范统一。

4.统一性：技术表述、文本结构、文体形式保持一致，避免歧义。

5.协调性：符合《中华人民共和国标准化法》《海南省地方标准管理办法》等法规，与现行相关标准互补、无冲突。

6.一致性。主要技术内容未采用国家或行业标准，相关指标符合现有标准要求。

（二）标准制定依据

本标准文件严格依据《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》《GB/T 20001.10-2014 标准编写规则 第10部分：产品标准》《海南省地方标准管理办法》《DB46/T

74—2021 地方标准制修订工作规范》附录 D、E 等文件编制。

条款围绕拟穴青蟹名称与分类、外部形态、生长繁殖、遗传学特性、检测方法、判定规则等核心内容制定，参考以下标准与文献：

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；

FAO (1998) . Species Identification Guide for Fishery Purposes.

The Living Marine Resources of the Western Central Pacific, volume 2:
Cephalopods, crustaceans, holothurians and sharks.

刘瑞玉.中国海洋生物名录. 北京：中国科学出版社，2008.

Keenan C P, et al. A revision of the genus *Scylla* de Haan 1833.
Raffles Bulletin of Zoology, 1998, 46(1): 217-245.

(三) 与现行法律法规、标准的关系

1. 为相关法律法规实施提供技术支撑

本标准为首次制定的拟穴青蟹种质鉴定专项标准，为《中华人民共和国渔业法》《水产苗种管理办法》《水产种质资源保护区管理暂行办法》《海南省省级水产原（良）种场建设要点》等法规提供技术支撑，与现行法律、行政法规、标准无冲突。

2. 与现行拟穴青蟹相关标准互补，形成标准化生产链条

现行的拟穴青蟹相关的标准主要有：

《SC/T 2016-2012 拟穴青蟹 亲蟹和苗种》规定了拟穴青蟹雌性亲蟹及人工培育蟹苗的质量要求、检验方法、判定规则、蟹苗计数方法以及包装与运输,适用于拟穴青蟹和人工培育苗种的质量评定。

《SC/T 9431-2019 水生生物增殖放流技术规范 拟穴青蟹》规定了拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*)增殖放流的海域条件、本底调查、放流苗种质量、检验放流操作,资源保护与监测效果评价等技术要求,适用于拟穴青蟹的增殖放流。

《DB33/T 398.2-2015 拟穴青蟹 第2部分：养殖技术规范》规定了拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*)养殖生产的产地环境、苗种放养、饲养管理、病害防治、收获与运输技术,适用于拟穴青蟹池塘养殖。

《DB33/T 398.1-2015 拟穴青蟹 第1部分：苗种生产技术规范》规定了拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*)苗种生产的术语和定义、产地环境和设施、亲蟹培育、幼体培育、仔蟹培育、苗种质量要求及出池和运输等技术,适用于拟穴青蟹池塘苗种的工厂化生产和质量管理。

《DB46 60-2023 地理标志产品 和乐蟹》规定了地理标志产品和乐蟹的术语和定义、保护范围、自然条件、产品分类、养殖管理、质量要求、检验方法、检验规则、标签、标志、包装、运输和贮存以及生产档案等要求,适用于《地理标志产品保护规定》批准保护的和乐蟹活体。

《DB 440500/T14-2017 拟穴青蟹养殖技术规范》规定拟穴青蟹养殖技术规范的定义，养殖条件，仔蟹培育（标粗），养成，越冬管理，防病，生产记录和收获等内容，适用于汕头辖区内拟穴青蟹池塘养殖，包括港汊、港塭养殖。

《DB 4420/T 58—2024 拟穴青蟹池塘养殖技术规范》适用于中山市拟穴青蟹池塘养殖。

《T/ZJSC 0011-2025 拟穴青蟹用药减量技术规范》规定了拟穴青蟹养殖条件与准备、养殖、疾病防控与治疗、科学用药等方面的技术要求，适用于拟穴青蟹养殖和用药管理。

《T/GXAS 1125-2025 拟穴青蟹复产技术规程》规定了场地要求、产后室内池暂养、产后性腺、促熟管理、膏蟹管理、孵化管理、病害防治、尾水处理的操作指示及追溯方法，适用于拟穴青蟹复产过程。

现行标准聚焦养殖、苗种、增殖放流、地理标志等环节，缺少种质鉴定标准。本标准填补空白，与现有标准形成全链条体系，支撑种质保护、品种改良、产业健康发展及生态修复。

五、 主要条款的说明，包括条款编制依据，主要技术指标、参数、试验验证的论述

（一）标准文件结构

标准章节包括：范围、术语和定义、名称与分类、主要外部形态特征、生长与繁殖、遗传学特性、检测方法、判定规则、附录，核心

为外部形态、遗传学特性，适用于拟穴青蟹种质检测与鉴定。

（二）核心指标编制依据

1. 学名与分类地位

青蟹属 (*Scylla*)，也称泥蟹 (*Mud crab*)，广泛分布于西太平洋沿岸海域，涵盖东南亚、印度、澳大利亚等地区；我国主要分布于浙江、福建、中国台湾地区、广西、海南沿岸海域[1]。青蟹属物种因形态高度相似，物种分类长期存在两种学术观点。关于青蟹属蟹类的品种分类一直存在两种争议。Estampador 于 1949 年在《*The Philippine Journal of Science*》发表论文，提出青蟹属包含多个物种，即拟穴青蟹、远海青蟹、大洋青蟹、青蟹拟曼赛亚种[2]。Serene 在越南发现四种形态型青蟹，但将两个物种名称用于不同“形态型”[3]。另一种观点认为，现有证据表明青蟹属只有锯缘青蟹 (*Scylla serrata*) 1 个物种，不同地理种群差异由环境导致，不足以独立成种，该观点曾被广泛认同[4]。在中国，青蟹属仅锯缘青蟹一种的观点被长期沿用，这也是“和乐蟹”曾被误定为锯缘青蟹的原因。

1998 年 Keenan 等针对青蟹属分类混乱问题，采集红海、印度、太平洋多地样本，通过同工酶电泳与线粒体 DNA 测序，首次从遗传学证实青蟹属至少包含 4 个独立物种，除了锯缘青蟹 (*Scylla serrata*) 外，还包括紫螯青蟹 (*Scylla tranquebarica*)、拟穴青蟹 (*Scylla paramamosain*) 和榄绿青蟹 (*Scylla olivacea*)，并指出南海沿岸（中

国厦门至湄公河三角洲一带) 拟穴青蟹为优势种[5]。日本学者 Imai 等利用ITS-1长度/酶切分析及 16S rDNA 标记, 区分了日本、中国台湾地区、澳大利亚、印度尼西亚、菲律宾分布的 4 种青蟹属蟹类[6]。

厦门大学林琪调查我国东南沿海青蟹属种类组成并开展遗传多样性研究, 确认存在锯缘青蟹、紫螯青蟹、拟穴青蟹、榄绿青蟹 4 种; 其中拟穴青蟹分布最广, 其余 3 种仅少量见于海南沿海及北部湾[7,8]。马凌波等采集广东、广西、海南沿海蟹苗, 测定线粒体COI碱基序列, 证实我国沿海青蟹均为拟穴青蟹, 以往研究常将其误定为锯缘青蟹[9,10]。

1998 年联合国粮农组织 (FAO) 出版《西太平洋中部海洋生物资源: 头足类、甲壳类、海参和鲨鱼》, 将拟穴青蟹列为青蟹属第四个有效物种[1]。同时, *Scylla paramamosain* 为 FAO 官方学名, 在渔业统计物种清单中归为: 十足目(Decapoda)、短尾下目(Brachyura)、梭子蟹科 (Portunidae) (FAO Fisheries and Aquaculture, 2026)。中国科学院海洋研究所《中国海洋生物名录》中, 拟穴青蟹分类地位为: 节肢动物门、软甲纲、十足目、短尾下目、梭子蟹科、青蟹属。

综上, 本文件确定拟穴青蟹 (*Scylla paramamosain*, Estampador, 1949), 英文名称Green mud crab[1], 分类位置确定为: 节肢动物门 (Arthropoda)、软甲纲 (Malacostraca)、十足目 (Decapoda)、短尾下目 (Brachyuran)、梭子蟹科 (Portunidae)、青蟹属 (*Scylla*)。

2.外部形态特征

综合不同生长阶段观察，拟穴青蟹外部形态特征如下：

2.1 外部形态



图4 拟穴青蟹背甲

拟穴青蟹头胸甲呈卵圆形，甲长小于甲宽，约为甲宽 $2/3$ ；表面光滑，绿色至墨绿色，无斑纹；甲壳表面隆起，在胃区、心区有“H”形凹痕。头胸甲左、右前侧缘各有9枚大小相近的三角形尖齿，额缘左、右眼眶背面各有1缝，两眶之间有4枚大小相近的三角形尖齿，左、右后侧缘以及后光滑无尖齿，后缘平整光滑

拟穴青蟹具具 5 对附肢：1 对螯足、4 对步足。螯足螯掌上半部绿色、有斑纹，下部橙红色、无斑纹；近指节背缘具内、外2枚棘刺，绿橙交界处具瘤状突起；螯掌末端呈钳状，指节（可动指）与不动指中部对应处显橙红色；腕节内侧中部具1 枚棘刺，外侧前部 1 枚、后部 1 处瘤状突起；长节边缘具刚毛，内侧 3 枚棘刺、近基部 1 处瘤突，外侧 2 枚棘刺；长节边缘有刚毛，内侧有尖锐棘刺3枚，近基部有瘤状突起1处，外侧分别有尖锐棘刺2枚。第 2-4 步足形态相近，上部绿色、下部橙白相间；长节、腕节、掌节、指节均侧扁、依次缩小，指节尖锐，边缘具橙色刚毛。第 5 步足边缘橙色刚毛明显、具斑纹；长节、腕节扁平，掌节、指节桨状，指节中央具纵纹。





图5 拟穴青蟹步足（大、中、小分别为不同规格）

具两对触角：第一触角（小触角）位于额缘齿下方触角窝，原肢 3 节，横向折叠收纳于触角窝；第二触角（大触角）位于第一触角外侧、眼眶旁，原肢 3 节，末节鞭状、多节。眼柄自眼眶伸出，末端覆黑色角膜。窝位于第一触角窝下方，与触角窝以口上板相隔。





图6 拟穴青蟹触角及眼部

拟穴青蟹腹面为灰色或白色。雄蟹腹部呈长三角状，7节；第1节细长，位于头胸甲下；第3-5节融合，其间界线仅中间小段可见，不

能单独活动，尾节形似三角形。雌蟹腹部呈半圆形，7节，界线清晰，第1节细长，位于头胸甲下，尾节形似三角形，各节都能单独活动。



图7 拟穴青蟹腹面（左：雄蟹，右边：雌蟹）

2.2 可数性状

基于160尾样本统计与文献校核，确定核心可数性状如下：

前侧缘齿：自眼眶外齿起向后，左、右两侧各9枚三角形尖齿；

额缘齿：4枚三角形尖齿；

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；长节背部前缘棘刺3枚，底部后缘2枚；

步足：4对；

第一触角：1对，折叠于额缘齿下左、右触角窝；

第二触角：1对，原肢由三节组成，最后一节似一根多节的鞭。

腹节：7节，其中雄性的第3-5节界线不明显。

2.4 可量性状

本文件可量性状的测定，共测定来自海南省万宁市和儋州市的拟穴青蟹样本187只，测量指标为甲宽、甲内宽、甲长、体高、额缘宽、腹部宽、第3步足长节长、第3步足腕节长、第4步足指节长和第5步足指节长等（图8）。计算获得拟穴青蟹可量性状的比值，详见表3。对实际测量值进行整理得到的数值区间与验证报告一致，因此本标准在可量性状采用数值见表3。用数字游标卡尺进行了24项指标的测量，精确到 0.1mm。测量点的位置示意图见图 8（A-E）。

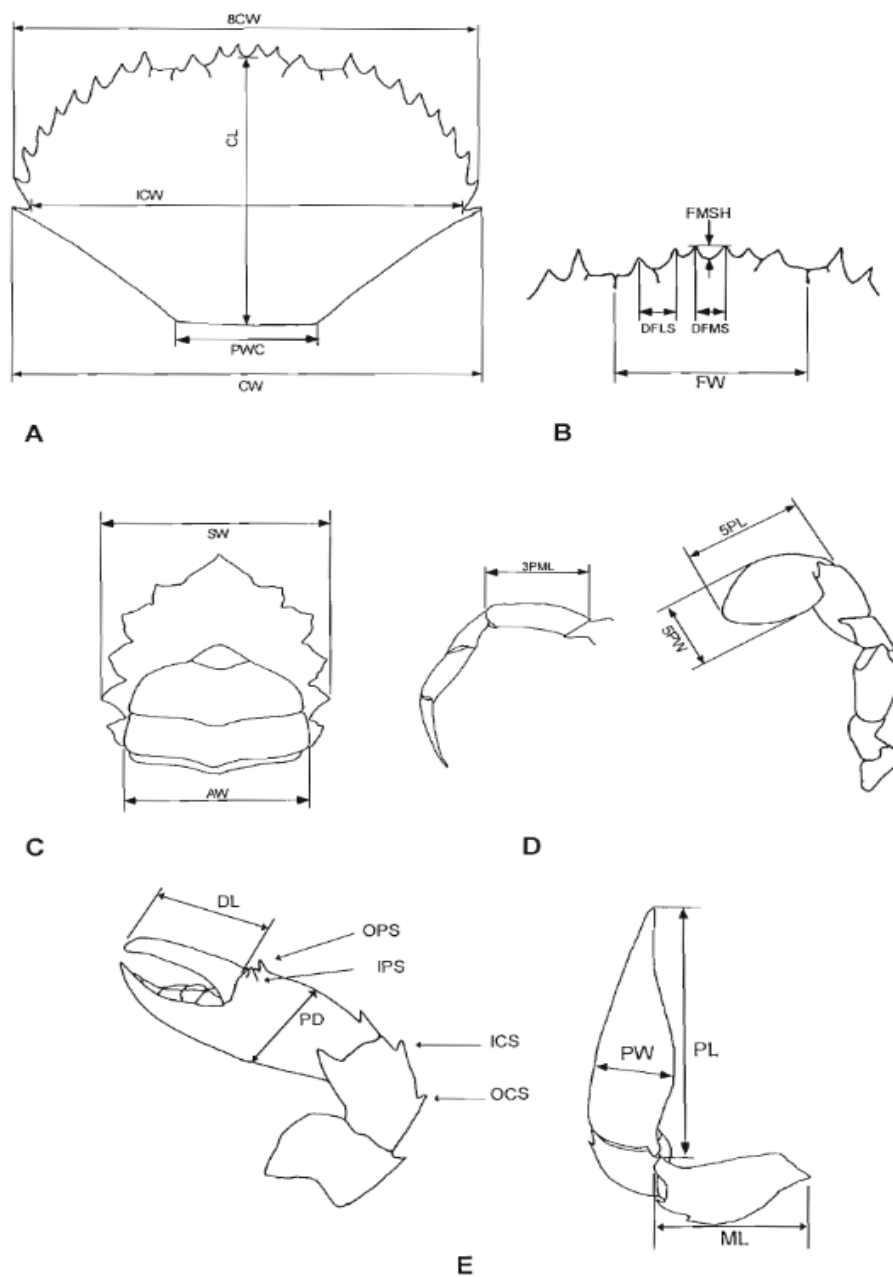


图8 测量部位 (甲宽 (carapace width,CW)、第8棘处甲宽 (8CW)、甲内宽 (Internal carapace width,ICW)、甲长 (Carapace length, CL)、甲后宽 (Posterior width of carapace, PWC)、额宽 (Carapace frontal width, FW)、额中齿高 (Frontal median spine height, FMSH)、两额中齿间距 (Distance between frontal median spines, DFMS)、两额侧齿间距 (Distance between frontal lateral spines, DFLS) 腹宽 (Abdomen width, AW)、胸宽 (Sternum width, SW)、BH (体高)、掌节长 (Propodus length, PL)、指节长 (Dactyl length, DL)、掌节宽 (Propodus width, PW) 掌节高 (Propodus depth, PD)、掌节内棘长 (Inner propodus spine, IPS)、掌节外棘长 (Outer propodus spine, OPS)、腕节内棘长 (Inner carpus spine, ICS)、腕节外棘长 (Outer carpus spine, OCS) 长节长 (Merus length, ML)、第3步足长节长(3rd periopod merus length, 3PML)、第5步足指节宽 (5th periopod dactyl width, 5PW), 第5步足指节长 (5th periopod dactyl length, 5PL)) (图片源自Keenan论文^[5])

表3 拟穴青蟹主要形态性状比值

部位	测量比值		平均值±标准差		
			雌	雄	总体
腹背甲	甲内宽/甲宽	ICW/CW	0.93±0.066	0.935±0.098	0.933±0.086
	甲宽/第8齿甲宽	CW/8CW	1.028±0.012	1.099±0.425	1.065±0.306
	甲长/甲宽	CL/CW	0.686±0.112	0.674±0.059	0.679±0.084
	甲长/甲内宽	CL/ICW	0.743±0.138	0.743±0.233	0.743±0.199
	甲后宽/甲内宽	PWC/ICW	0.393±0.057	0.398±0.188	0.396±0.14
	额宽/甲内宽	FW/ICW	0.351±0.081	0.36±0.148	0.356±0.125
	甲后宽/额宽	PWC/FW	0.989±0.082	0.906±0.192	0.946±0.154
	胸宽/甲内宽	SW/ICW	0.566±0.082	0.595±0.249	0.581±0.187
	腹宽/胸宽	AW/SW	0.73±0.154	0.649±0.026	0.688±0.114
额齿	额中齿高/额宽	FMSH/FW	0.175±0.038	0.17±0.045	0.172±0.042
	额中齿高/两额中齿间距	FMSH/DFMS	1.271±0.521	1.149±0.462	1.207±0.489
	两额中齿间距/额宽	DFMS/FW	0.151±0.036	0.157±0.026	0.154±0.031
	两额侧齿间距/额宽	DFLS/FW	0.134±0.012	0.152±0.029	0.143±0.024
	两额中齿间距/ 两额侧齿间距	DFMS/DFLS	1.135±0.288	1.050±0.202	1.091±0.248
步足	掌节长/甲内宽	PL/ICW	0.659±0.111	0.797±0.37	0.731±0.284
	指节长/掌节长	DL/PL	0.497±0.028	0.497±0.065	0.497±0.05
	掌节宽/掌节长	PW/PL	0.258±0.038	0.285±0.038	0.272±0.04
	掌节高/掌节长	PD/PL	0.400±0.035	0.436±0.062	0.419±0.054
	掌节内棘长/掌节长	IPS/PL	0.071±0.025	0.062±0.039	0.067±0.033
	掌节外棘长/掌节长	OPS/PL	0.053±0.019	0.039±0.016	0.046±0.018
	掌节内棘长/掌节外棘长	IPS/OPS	1.582±0.853	1.649±0.918	1.617±0.879
	腕节内棘长/腕节外棘长	ICS/OCS	0.977±0.346	0.944±0.34	0.96±0.34
	腕节内棘长/掌节长	ICS/PL	0.047±0.017	0.034±0.013	0.04±0.016
	腕节外棘长/掌节长	OCS/PL	0.049±0.012	0.039±0.014	0.044±0.014
	长节长/掌节长	ML/PL	0.568±0.067	0.558±0.069	0.563±0.067
第5步足指节宽/第5步足指节长	5PW/5PL	0.502±0.116	0.656±0.443	0.582±0.335	
第3步足长节长/甲内宽	3PML/ICW	0.258±0.04	0.297±0.089	0.281±0.076	

Keen等认为没有任何单一特征能区分青蟹属四个物种，判别函数分析显示，腕节内棘长/腕节外棘长（ICS/OCS）、额中齿高/额宽（FMSH/FW）和额宽/甲内宽（FW/ICW）等三个测量比值对物种区分效果最佳，四个物种区分度达 94.05%^[5]。Fazhan等基于优选壁纸构建判别函数，FMSH/ICW、FMSH/FW、FMSH/SW、FMSH/3PCL和 FMSH/PL等五项比值判别青蟹属雄性置信度为 97.1%；IPS/ICW、FMSH/FW、3PCL/AW、FMSH/5PW 和 IPS/OPS 等对雌性判别置信度为 93.2%^[12]。元磊等分析海南、广西、广东、福建和浙江5个地理种群拟穴青蟹仔蟹，发现甲长/甲宽（CL/CW）和额宽（FW）/甲内宽（ICW）两项对不同地理种群拟穴青蟹的形态差异判别累积可达 92.4%^[13]，其余 13 个比值则通过递减的量提高了区分能力。

结合以上研究，结合以上研究，本文件根据不同测量值，选择反映青蟹主要外部形态特征、与其它青蟹属物种区分度明显的形态特征，作为辅助拟穴青蟹外形特征判定的指标，主要包括甲长/甲宽（CL/CW）、额宽（FW）/甲内宽（ICW）、两额中齿间距/额宽（DFMS/FW）、两额侧齿间距/额宽（DFLS/FW）、两额中齿间距/两额侧齿间距（DFMS/DFLS）、掌节内棘长/掌节外棘长（IPS/OPS）、腕节内棘长/腕节外棘长（ICS/OCS）等18个参数。

经专家论证，精简后保留甲长/甲宽（CL/CW）、额宽/甲内宽（FW/ICW）、额中齿高/额宽（FMSH/FW）、腕节内棘长/腕节外棘

长 (ICS/OCS)、掌节内棘长/掌节外棘长 (IPS/OPS) 等 5 项核心比值进行物种判别。

2.5 生长

拟穴青蟹为甲壳动物，间接发育、周期性蜕壳生长，生活史分：胚胎、浮游幼体、底栖幼蟹至成蟹三阶段。亲蟹抱卵完成胚胎发育，历经受精卵、卵裂、囊胚 / 原肠、无节幼体雏形、附肢形成分化、复眼色素形成、孵化前期，最终孵出幼体，完成胚胎阶段发育。浮游幼体时期先后历经 5 期蚤状幼体，各龄期均通过蜕壳实现形态分化与生理机能完善，发育至末期后变态为大眼幼体。大眼幼体蜕壳后为稚蟹，转入完全底栖生活模式。

青蟹生长节律与蜕壳频次高度关联，甲壳宽度 3 cm 以下稚蟹蜕壳间隔约 4 d，3~5 cm 亚成体蜕壳周期约 15 d，甲壳宽度 5 cm 以上个体蜕壳周期延长至每月 1 次，直至个体发育至性成熟。雌雄成蟹完成交配后，雌性个体性腺逐步发育形成膏蟹并再次抱卵，由此完成整个世代生活史循环。

拟穴青蟹生长呈阶梯式，生长进程严格依赖蜕壳行为，体重增长并非线性变化，主要由蜕壳频率与单次蜕壳增重幅度共同决定。体重 ≤ 5 g 的稚蟹快速发育，以躯体组织构建与内脏器官分化为主，虽体型较小，但相对生长速率最高；体重 30~100 g 为蟹种阶段，是体尺与体重快速扩增的关键时期，亦是养殖生产中标粗培育的核心阶段，

该阶段增重效果直接决定商品蟹养成规格；体重 ≥ 200 g 进入成蟹缓生阶段，蜕壳间隔显著延长，单次蜕壳增重效率持续下降，养殖管理由促生长逐步转向营养育肥；进入性腺发育育肥期后，青蟹蜕壳活动大幅减少甚至停止，头胸甲尺寸基本不再增长，机体营养持续积累并定向供给肝胰腺与卵巢发育，实现商品蟹肉质与膏体品质提升。

拟穴青蟹雌雄个体生长存在明显性别差异。体重 150 g 以下生长阶段，雌雄个体生长速率无显著差异；当头胸甲宽度达到 9~10 cm、体重至 200~250 g 后，雄性个体生长优势逐步凸显，生长速度显著高于雌性，最终极限体型亦大于雌蟹。自然野生群体与人工养殖群体生物学特征基本一致，雄性成蟹最大头胸甲宽度可达 18~20 cm，极限体重 1.5~2.0 kg；雌性成蟹最大头胸甲宽度为 15~17 cm，极限体重 1.0~1.5 kg。雌性个体进入性成熟阶段后，机体大量能量物质优先供给性腺发育，躯体生长发育速率随之放缓。

通过实测头胸甲宽度与体重生物学数据拟合，建立海南地区拟穴青蟹甲宽-体重生长关系式：

$$\text{雄蟹： } W=1 \times 10^{-4} \times L^{3.1464} \quad (1) \quad (\text{相关系数 } r=0.9879)$$

$$\text{雌蟹： } W=1 \times 10^{-4} \times L^{3.0016} \quad (2) \quad (\text{相关系数 } r=0.9609)$$

式中：

W -- 体重，单位为克 (g) ；

L -- 甲宽，单位毫米 (mm) 。

本研究拟合所得生长模型符合甲壳动物通用幂函数生长方程 $W=aL^b$ ^[14-16]，与中华绒螯蟹、三疣梭子蟹种质标准采用的生长模型体系一致。两组拟合方程相关系数 r 均高于 0.95，拟合精度良好，证实拟穴青蟹头胸甲宽度与体重呈极显著正相关关系（雄蟹：0.9879，雌蟹：0.9609），表明曲线拟合度好，表明头胸甲宽度与体重之间存在高度正相关关系。

拟穴青蟹的甲宽与体重密切相关^[17,18]。甲宽/体重通用判定标准，依据甲壳动物异速生长判定标准，幂指数 b 值趋近于 3 为等速生长， $b > 3$ 为正异速生长， $b < 3$ 为负异速生长^[14,15]。本研究结果显示，海南地区拟穴青蟹雄性个体生长方程 b 值为 3.1464，表明雄蟹个体呈现正异速生长；雌性个体 b 值接近 3，属于等速生长，该生长规律与现有拟穴青蟹形态生长相关研究结论一致^[16,18]。

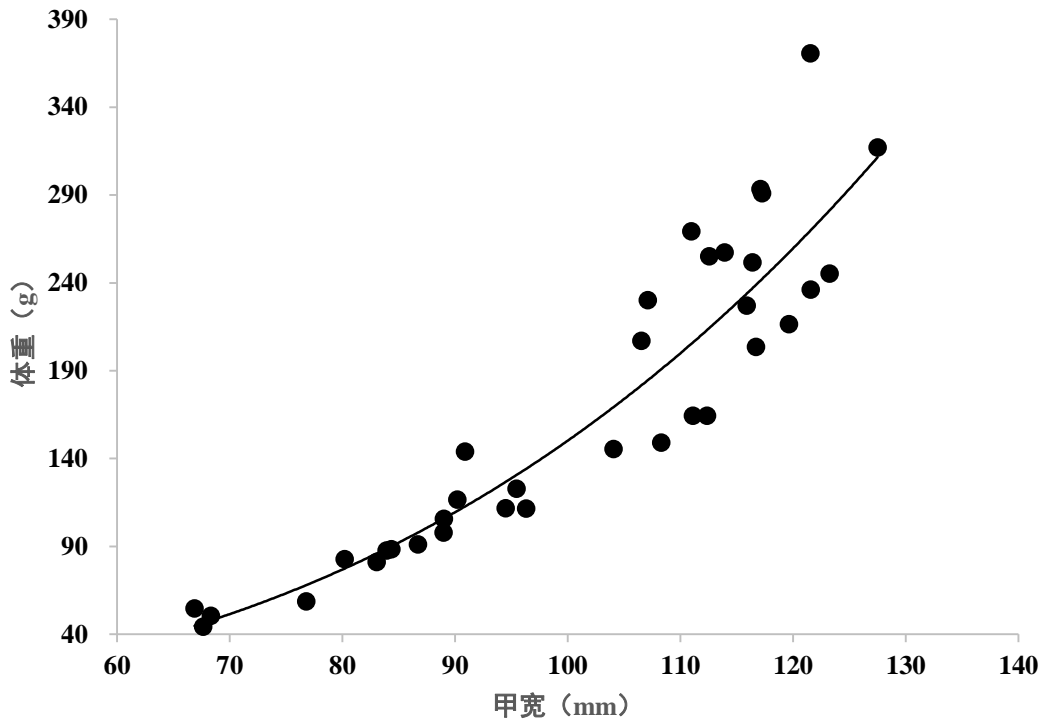


图9 雄蟹体重与甲宽生长拟合曲线

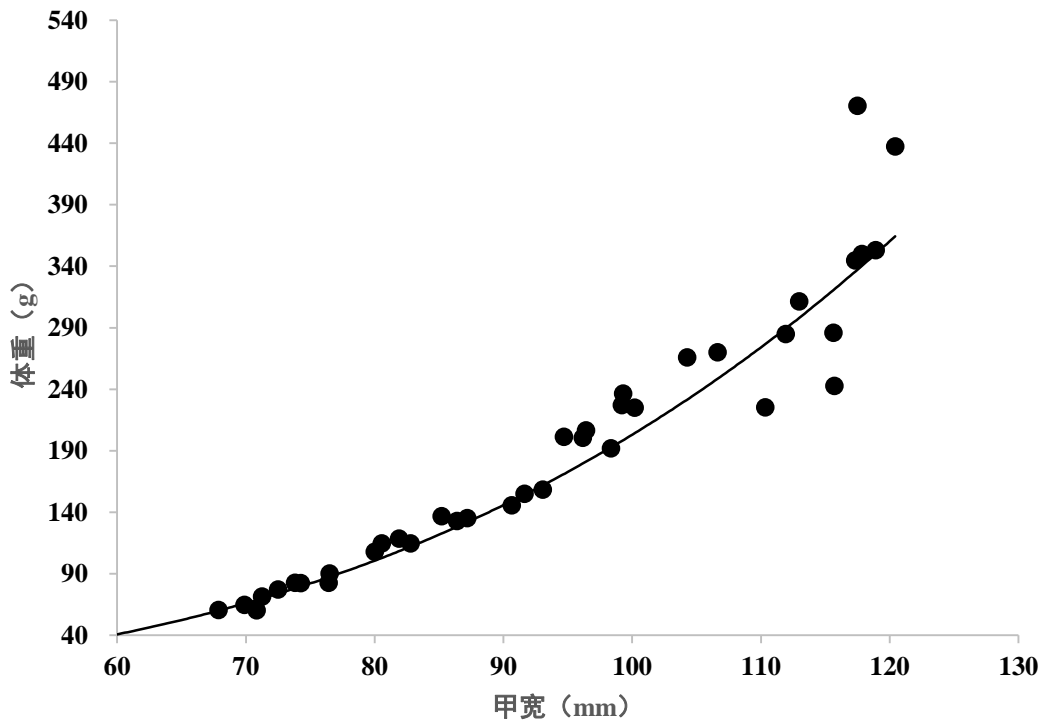


图10 雄蟹体重与甲宽生长拟合曲线

2.6 繁殖特性

性成熟月龄：在海南地区自然水温下，雌蟹初次性成熟 6 月龄起，甲宽 9 厘米以上（体重200 克以上）；雄蟹略小即可成熟，初次性成熟 4 月龄起，甲宽 8 厘米以上（体重 200 克以上）。用于繁殖的雌蟹和雄蟹的最佳规格要大于上述规格，但也不宜过大。

发情期（求偶期）：雌蟹在蜕壳变为软壳蟹（交配蜕壳）前后进入发情期。此时，雌蟹通过释放信息素（可能存在于尿液中）吸引雄蟹。雄蟹会守护即将蜕壳的雌蟹，形成“怀抱”姿态，直至其蜕壳。

交配行为：交配发生在雌蟹新壳尚未硬化（蜕壳后数小时内）时。雄蟹将精英输送到雌蟹纳精囊内储存。一次交配，雌蟹可终身（多次产卵）使用储存的精子，但后续产卵可能发生多次交配以补充精子。

2.7 产卵特性

产卵期：在海南全年均可产卵，但存在明显的高峰期。主要产卵季与水温、盐度稳定期相关，通常为 3-6月 和 9-11月 两个高峰。

抱卵量与影响因素：拟穴青蟹为多次产卵型，同一个体在一个产卵季可产卵2-3次。抱卵量（怀卵量）与母体大小呈幂函数正相关。抱卵量约 1.0×10^6 至 4.0×10^6 粒/次（对应甲壳宽 10-13 cm 的雌蟹）。抱卵初期为橙色，接近孵化时变为灰黑色。

孵化与幼体发育：雌蟹将受精卵粘附于腹肢上，进行抱卵孵化，时长约 10-18天（28℃水温下）。孵化后经历5期溞状幼体和1期大眼

幼体，在适宜条件下，从孵化至变态为仔蟹约需 18-25天，成活率受饵料、水质、病害影响极大。

2.8 细胞遗传学特性

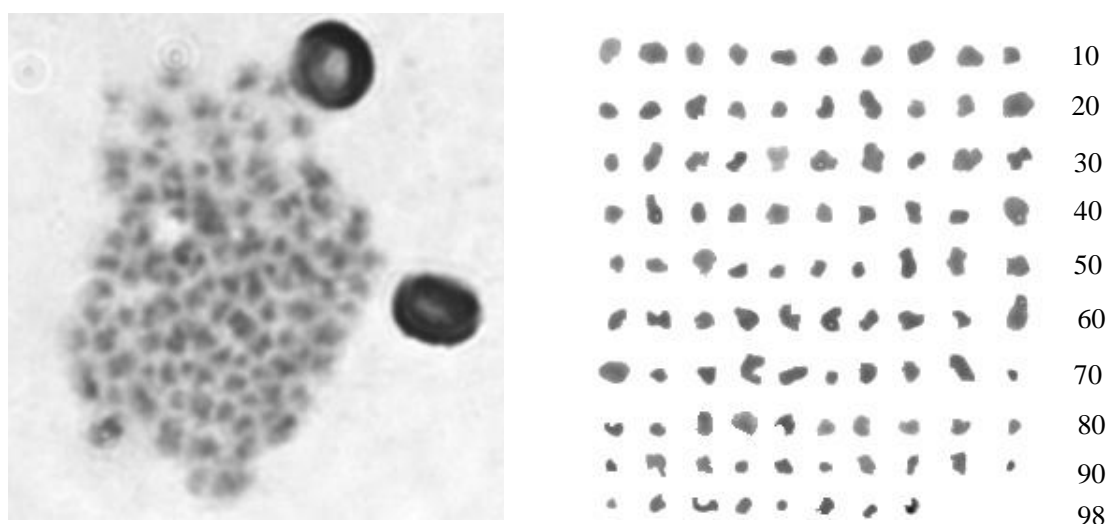


图11 拟穴青蟹染色体分裂相

染色体及核型的分析严格遵循GB/T 18654.12《养殖鱼类种质检验 第12部分：染色体组型分析》方法，起草组采用体细胞体内培养法进行了拟穴青蟹染色体检测，向拟穴青蟹体内注射秋水仙素，取雄性拟穴青蟹的精巢组织，获得染色体中期分裂相。确定拟穴青蟹的体细胞染色体数： $2n=98$ 。因染色体数量众多，染色体个体微小，难以观测染色体着丝点位置，暂未确定染色体核型公式。从众多染色体分裂相中选取本标准染色体图（图7），与文献报道一致^[19]。农业农村部水产种质检验测试中心(广州)验证报告染色体数量98条。

2.9 同工酶谱型

同工酶的分析按照GB/T 18654.13养殖鱼类种质检验中同工酶电泳分析标准进行,分析了肌肉组织和心脏组织的乳酸脱氢酶(LDH),发现肌肉组织乳酸脱氢酶(LDH)显带清楚、稳定、重现性好,所以选择了肌肉组织乳酸脱氢酶(LDH)作为拟穴青蟹种质标准同工酶酶谱,拟穴青蟹肌肉中乳酸脱氢酶(LDH)的电泳图谱见图12,表现为1条谱带。经农业农村部水产种质检验测试中心(广州)验证,机构组织乳酸脱氢酶为1条清晰谱带,与本机构基本一致。

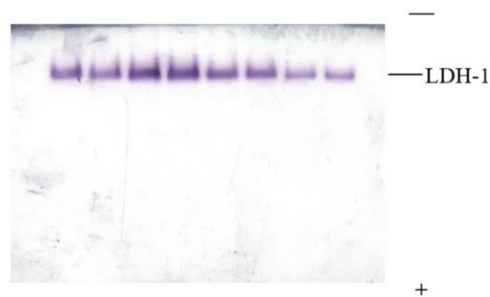


图12 拟穴青蟹肌肉乳酸脱氢酶LDH电泳图

2.10 分子遗传学特征

线粒体 *COI* 基因序列分析:取拟穴青蟹肌肉组织,采用酚-氯仿抽提法或试剂盒提取 DNA。

*COI*引物序列为:

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

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

序列扩增与测序:

PCR反应体系 (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。

PCR产物经2.0%琼脂糖凝胶电泳、回收纯化后进行正反双向测序。采用 Kimura 2-parameter (K2P) 模型计算样品间两两遗传距离。

为保证检测准确, 分别采集海南万宁、儋州及广东阳江、广州等地拟穴青蟹样本, 测定线粒体 COI 基因序列。

万宁拟穴青蟹的碱基序列 (684bp) :

```
ATAAAGATAT TGGTACTCTA TATTTTATTT TTGGAGCATG ATCTGGAATA GTAGGAACCT 60
CATTAAGTTT AATTATTCGT GCTGAACTAG GACAACCAGG AACACTTATT GGTAATGATC 120
AAATTTATAA TGTTGTTGTT ACCGCTCATG CTTTCGTTAT AATCTTTTTT ATAGTTATAC 180
CAATTATAAT TGGAGGATTT GGTAATTGAC TAGTCCCCCT TATATTAGGA GCCCCTGACA 240
TAGCATTCCC TCGTATAAAC AATATAAGAT TTTGACTCTT ACCCCCATCT CTGACTCTAT 300
TATTAATAAG AGGTATAGTA GAAAGAGGTG TCGGCACAGG CTGAACTGTC TATCCCCCAC 360
TAGCAGCAGC TATTGCCCAT GCAGGGGCTT CAGTCGATCT AGGTATTTTC TCACTTCATC 420
TTGCAGGTGT CTCTTCTATT CTTGGTGCAG TTAATTTTAT AACAACTGTA ATTAATATAC 480
GATCTTTTGG TATAAGAATA GACCAAATAC CTTTATTTGT TTGATCTGTA TTTATTACTG 540
CAATTCTCTT ACTTTTATCC TTACCAGTTC TAGCAGGAGC AATTACTATA CTCTAACCG 600
ATCGAAACCT TAATACATCA TTTTTTGACC CTGCTGGCGG TGGAGACCCT GTTTTGTACC 660
AGCATTTATT CTGATTTTTT GGTC 684
```

将测定线粒体COI基因片段与NIH的National Library of Medicine基因库 (Genbank) 数据库比对, 本研究序列与库中拟穴青蟹序列接近 100% 匹配 (图13)。

Sequences producing significant alignments

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Scylla paramamosain mitochondrion, complete genome	Scylla parama...	1230	1230	100%	0.0	99.27%	15824	JX457150.1
Scylla paramamosain mitochondrion, complete genome	Scylla parama...	1230	1230	100%	0.0	99.27%	15825	NC_012572.1
Scylla paramamosain 10-IX-22_KBP mitochondrial cox1 gene for cytochrome c oxidase subunit 1, parti...	Scylla parama...	1227	1227	99%	0.0	99.41%	676	LC852607.1
Scylla paramamosain mitochondrion, complete genome	Scylla parama...	1225	1225	100%	0.0	99.12%	15816	MG197997.1
Scylla paramamosain voucher XMU202573 mitochondrion, complete genome	Scylla parama...	1225	1225	100%	0.0	99.12%	15814	PX672829.1

图 13 拟穴青蟹序列与基因库 (Genbank) 比对截图

海南儋州拟穴青蟹碱基序列 (684 bp) :

```

ATAAAGATAT TGGTACTCTA TATTTTATTT TTGGAGCATG ATCTGGAATA GTAGGAACCT 60
CATTAAGTTT AATTATTCGT GCTGAACTAG GACAACCAGG AACACTTATT GGTAATGATC 120
AAATTTATAA TGTTGTTGTT ACCGCTCATG CTTTCGTTAT AATCTTTTTT ATAGTTATAC 180
CAATTATAAT TGGAGGATTT GGTAATTGAC TAGTCCCCCT TATATTAGGA GCCCCTGACA 240
TAGCATTCCC TCGTATAAAC AATATAAGAT TTTGACTCTT ACCCCCATCT CTGACTCTAT 300
TATTAATAAG AGGTATAGTA GAAAGAGGTG TCGGCACAGG CTGAACTGTC TATCCCCCAC 360
TAGCAGCAGC TATTGCCCAT GCAGGGGCTT CAGTCGATCT AGGTATTTTC TCACTTCATC 420
TTGCAGGTGT CTCTTCTATT CTTGGTGCAG TTAATTTTAT AACAACTGTA ATTAATATAC 480
GATCTTTTGG TATAAGAATA GACCAAATAC CTTTATTTGT TTGATCTGTA TTTATTACTG 540
CAATTCTCTT ACTTTTATCC TTACCAGTTC TAGCAGGAGC AATTACTATA CTCTAACCG 600
ATCGAAACCT TAATACATCA TTTTTTGACC CTGCTGGCGG TGGAGACCCT GTTTTGTACC 660
AGCATTTATT CTGATTTTTT GGTC 684

```

广东阳江拟穴青蟹碱基序列 (681 bp) :

```

TAAAGATATT GGTACTCTAT ATTTTATTTT TTGGAGCATG ATCTGGAATA GTAGGAACCT 60
CATTAAGTTT AATTATTCGT GCTGAACTAG GACAACCAGG AACACTTATT GGTAATGATC 120
AAATTTATAA TGTTGTTGTT ACCGCTCATG CTTTCGTTAT AATCTTTTTT ATAGTTATAC 180
CAATTATAAT TGGAGGATTT GGTAATTGAC TAGTCCCCCT TATATTAGGA GCCCCTGACA 240

```

TAGCATTCCC TCGTATAAAC AATATAAGAT TTTGACTCTT ACCCCCATCT CTGACTCTAT 300
TATTAATAAG AGGTATAGTA GAAAGAGGTG TCGGCACAGG TTGAACTGTC TATCCCCCATT 360
AGCAGCAGCT ATTGCCCATG CAGGGGCTTC AGTCGATCTA GGTATTTTCT CACTTCATCT 420
TGCAGGTGTC TCTTCTATTC TTGGTGCAGT TAATTTTATA ACAACTGTAA TTAATATACG 480
ATCTTTTGGT ATAAGAATAG ACCAAATACC TTTATTTGTT TGATCTGTAT TTATTACTGC 540
AATTCTCTTA CTTTATCCT TACCAGTCT AGCAGGAGCA ATTACTATAC TTCTGACCGA 600
TCGAAACCTT AATACATCAT TTTTGTACCC TGCTGGCGGT GGAGACCCTG TTTTGTACCA 660
ACATTTATTC TGATTTTGT G 681

广东广州拟穴青蟹碱基序列 (678 bp) :

TATTGGTACT CTATATTTTA TTTTGGGGCA TGATCCGGAA TAGTAGGAAC CCTCATTAAG 60
TTTAATTAT CGTCTGAAC TAGGACAACC AGGAACACTT ATTGGTAATG ATCAAATTTA 120
TAATGTTGTT GTTACCGCTC ATGCTTTCGT TATAATCTTT TTTATAGTTA TACCAATTAT 180
AATTGGAGGA TTTGGTAATT GACTAGTCCC CTTATATTA GGAGCCCCTG ACATAGCATT 240
CCCTCGTATA AACAAACATAA GATTTTACT CTTACCCCC ATCTCTGACT CTATTATTAA 300
TAAGAGGTAT AGTAGAAAGA GGTGTCGGCA CAGGTTGAAC TGCTATCCC CCACTAGCGG 360
CAGCTATTGC CCATGCAGGG GCTTCAGTCG ATCTAGGTAT TTTCTCACTT CATCTTGACG 420
GTGTCTCTTC TATTCTTGGT GCAGTTAATT TTATAACAAC TGTAATTAAT ATACGATCTT 480
TTGGTATAAG AATAGACCAA ATACCTTTAT TTGTTTGATC TGTATTTAT ACTGCAATTC 540
TCTTACTTTT ATCCTTACCA GTTCTAGCAG GAGCAATTAC TATACTTCTA ACCGATCGAA 600
ACCTTAATAC ATCATTTTTT GACCCTGCTG GCGGTGGAGA CCCTGTTTTG TACCAGCATT 660
TATTCTGATT TTTTGGTC 678

为进一步确认检测结果的准确性，项目采集了广东地区两个地区养殖的拟穴青蟹肌肉组织进行DNA片段测定，得出线粒体*COI*基因片段的碱基序列。综上可得，四地样本 **K2P** 遗传距离最大为1.05%，完全符合Hebert 提出的种内**K2P** 遗传距离小于2%的结论，判定为统一物种^[20]。

(三) 与锯缘青蟹差异性分析

1. 主要形态特征差异



a) 锯缘青蟹

b) 拟穴青蟹

图 14 锯缘青蟹与拟穴青蟹背甲形态

拟穴青蟹曾长期被误定为锯缘青蟹。本部分从形态学与分子遗传学两方面对比两者差异。锯缘青蟹与拟穴青蟹的可数性状，没有明显差异。背甲差异明显，锯缘青蟹密布浅色斑点，拟穴青蟹光滑无斑。



a) 额缘齿（锯缘青蟹上）

b) 泳足（锯缘青蟹左）

图 14 额缘齿与泳足差异

锯缘青蟹的额缘齿宽钝、中间具纵纹，拟穴青蟹尖细、无纵纹。其次，锯缘青蟹泳足斑纹深且清晰，拟穴青蟹斑纹浅淡。

2. 分子遗传学差异

为进一步区分锯缘青蟹与拟穴青蟹，采集了锯缘青蟹样本并测定了线粒体 COI 基因片段碱基序列。锯缘青蟹（684）：

```

ATAAAGATAT TGGTACTCTA TATTCATCT TTGGAGCATG ATCTGGAATA GTAGGGACTT 60
CATTAAGTCT AATTATCCGT GCTGAATTAG GACAGCCAGG TACACTTATT GGCAACGATC 120
AAATCTATAA TGTTGTTGTT ACCGCTCATG CTTTTGTTAT AATCTTTTTC ATAGTTATAC 180
CAATTATAAT TGGAGGATTT GGTAATTGAT TAGTTCCACT TATACTAGGA GCTCCTGATA 240
TAGCTTTTCC TCGTATAAAT AATATAAGAT TCTGACTTTT ACCTCCATCT CTA ACTCTAT 300
TATTAATAAG AGGTATAGTA GAAAGAGGAG TTGGTACAGG TTGAACTGTT TATCCACCTT 360
TAGCAGCAGC TATTGCCCAT GCAGGTGCTT CAGTCGACCT TGGTATTTTT TCGCTCCATC 420
TTGCAGGTGT CTCTCAATC CTGGTGCAG TTAATTTTAT AACTACTGTA ATTAATATAC 480
GATCTTTCGG TATAAGAATA GACCAAATAC CTTTATTCGT TTGATCTGTT TTCATTACGG 540
CAATTCTTCT TCTTTTATCC CTACCAGTTC TAGCAGGAGC AATCACTATA CTTTAAACCG 600
ACCGAAATCT TAATACATCA TTTTGACCC TGCTGGTGGT GGAGACCCTG TCTTATATCA 660
ACACTTATTC TGATTTTTG GTC 683

```

The screenshot displays the BLAST search results for the query sequence. The search was performed using the BLASTN program against the core_nt database. The results show four sequences from the Scylla serrata GenBank database that produced significant alignments. The table below summarizes these results:

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Scylla serrata voucher AKJ2013-1 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds, mitochondrial	Scylla serrata	1264	1264	100%	0.0	100.00%	705	KF612462.1
Scylla serrata mitochondrion, complete genome	Scylla serrata	1258	1258	100%	0.0	99.85%	15775	NC_012565.1
Scylla serrata voucher SSSI5 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds, mitochondrial	Scylla serrata	1256	1256	99%	0.0	100.00%	680	KM528133.1
Scylla serrata isolate CIBA_Sser_01 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds, mitoch...	Scylla serrata	1249	1249	99%	0.0	100.00%	685	PZ274820.1
Scylla serrata clone RGCA-SS-01 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds, mitochondrial	Scylla serrata	1216	1216	96%	0.0	100.00%	658	KC200562.1

图 14 锯缘青蟹基因库（Genbank）比对截图

结果显示，4个拟穴青蟹样品与锯缘青蟹的K2P 遗传距离超过10%，大于2%阈值。因此，通过线粒体 COI 基因片段的碱基序列区分拟穴青蟹与同属的锯缘青蟹。

(四) 与其他蟹类 DNA 序列差异性

本研究比对拟穴青蟹与梭子蟹科三疣梭子蟹 *COI* 基因序列。三疣梭子蟹 *COI* 基因片段，碱基序列 (682 bp) :

```
TAAAGATATT GGTACATTAT ATTTATTTT TTGGAGCATG ATCAGGAATA GTAGGAACTT 60
CACTTAGTCT AATTATTCGT GCTGAATTAG GACAACCCGG TACTCTTATT GGCAACGACC 120
AAATTTACAA TGTTGTAGTC ACAGCTCATG CTTTCGTCAT GATTTTCTTT ATAGTTATAC 180
CAATCATAAT TGGAGGATTC GGTAATTGAT TAGTACCCTT AATATTAGGA GCTCCTGATA 240
TAGCCTTCCC CCGTATAAAT AACATAAGAT TCTGACTTCT TCCTCCTTCA TTAACTCTTC 300
TTCTTATAAG AGGTATAGTA GAAAGAGGTG TAGGTACTGG ATGAACTGTA TATCCTCCTC 360
TTTCTGCCGC AATTGCCCAT GCCGGTGCAT CAGTAGACTT AGGAATTTTT TCTCTTCATT 420
TTAGCAGGAG TTTCATCTAT TTTAGGTGCA GTAAATTTTA TAACCACTGT TATTAATATA 480
CGATCTTTTG GTATAAGAAT AGACCAAATA CCACTATTTG TATGATCGGT ATTTATTACT 540
GCAATTCTTC TTCTTTTATC TCTCCCTGTT CTGGCAGGAG CTATTACTAT ACTTCTCAC 600
GATCGTAATT TAAATACTTC ATTCTTCGAC CCTGCCGGGG GTGGAGACCC CGTTCTTTAC 660
CAACATCTCT TCTGATTTTT TG 682
```

The screenshot displays the BLAST results interface. At the top, it shows the NIH logo and search details for RID-0N9P2SR0014. A 'Filter Results' panel is visible, showing search criteria like 'Organism' and 'Percent Identity'. Below this, a table titled 'Sequences producing significant alignments' lists four entries, all of which are *Portunus trituberculatus* mitochondrial complete genomes. The table columns include Description, Scientific Name, Max Score, Total Score, Query Cover, E value, Per Ident, Acc. Len, and Accession.

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession
Portunus trituberculatus mitochondrion complete genome	Portunus tritube...	1256	1256	100%	0.0	100.00%	16017	MW232435.1
Portunus trituberculatus voucher NSMK-MS-0025807 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, parti...	Portunus tritube...	1256	1256	100%	0.0	100.00%	708	QI877265.1
Portunus trituberculatus mitochondrion complete genome	Portunus tritube...	1256	1256	100%	0.0	100.00%	16026	MT755580.1
Portunus trituberculatus mitochondrion complete genome	Portunus tritube...	1251	1251	100%	0.0	99.85%	16028	PV548042.1

图 15 三疣梭子蟹基因库 (Genbank) 比对截图

4个拟穴青蟹样品与三疣梭子蟹的K2P遗传距离约18%，大于2%，可明确区分两物种。

（五） 鱼类种质检验方法对本标准的适用性分析

因蟹类专属种质标准缺乏，本标准在抽样、繁殖性能、染色体、同工酶等检测中，引用了《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》等标准文件。

GB/T 18654 系列虽为鱼类种质标准，但其抽样、染色体、同工酶、繁殖性能检测方法为水产通用技术，适用于拟穴青蟹的种质检验需求。由于相关品种的种质检验标准不完善，近些年新颁布的非鱼类种质检验标准很多引用了GB/T 18654 鱼类种质检验系列标准。甲壳类种质检验标准《GB/T 20552-2023 长牡蛎》引用了GB/T 18654.2。虾类种质检验标准如《SC/T 1054-2025 罗氏沼虾》引用了GB/T 18654.2、GB/T 18654.13；《GB/T 19782-2023 中国对虾》引用了GB/T 18654.12；《SC/T 1144-2020 克氏原螯虾》引用了了GB/T 18654.2、GB/T 18654.12、GB/T 18654.15。蟹类标准如《GB/T 19783-2005 中华绒螯蟹》引用了GB/T 18654.12。

因此，本标准引用该系列标准为检测方法通用原理借鉴，结合青蟹甲壳类生物学特征做了实操适配。后续修订若立项行业标准或国家标准，可制定甲壳类专属方法；本次地方标准暂不新增整套方法，避免标准冗余。

六、 公平竞争审查情况

依据《关于建立海南省地方标准公平竞争审查机制的通知》及《公平竞争审查条例》有关规定，项目起草单位对照《海南地方标准公平竞争审查表》逐条自查。经审查，该标准文件未含有限制或者变相限制市场准入和退出、限制或者变相限制商品要素自由流动、影响经营者生产经营成本、影响经营者生产经营行为等内容。已在起草阶段依法公开征求社会公众意见，有关方面未提出市场公平竞争影响的意见。我们认为，该标准不妨碍有关行业经营者依法平等进入市场或者公平参与市场竞争，符合《公平竞争审查条例》有关规定。在此基础上，起草单位如实填写并提交《海南地方标准公平竞争审查表》。

七、 重大分歧意见的处理依据和结果

关于专家提出的意见，起草小组慎重对待专家提出的每一条意见，并进行了认真研讨和分析，结合生产实际情况，针对同意的意见，积极采纳并认真修改，对不采纳的意见，详细说明不采纳的理由。标准在征求意见的过程中未产生重大分歧意见。

八、 采用国际标准或国外先进标准的，说明采标程度，以及国内外同类标准水平的对比情况

无

九、 推广实施（包括相关行业主管部门、起草单位实施标准的政策措施；实施方向，如以标准为依据开展的产业推广、宣贯培训、监督检查等有关活动；配套资金等）

因没有拟穴青蟹种质鉴定标准，海南地区原良种场申报无标准可依，制约拟穴青蟹种质资源保护和养殖产业发展。本标准文件的颁布与实施，一是解决了拟穴青蟹原种场和良种场建立和申报有据可依的现实难题，推动海南省拟穴青蟹种质资源保护、改良，防止品种混杂和基因污染，推动拟穴青蟹养殖业高质量发展技术基础，促进“和乐蟹”餐饮文化产业发展，提振消费，将产生巨大经济效益；二是根据国家水产养殖增殖放流，优先放流本地特色品种的倡议，本文件的实施，将有效提高优质的拟穴青蟹种质资源的放流和增殖，有利于拟穴青蟹的野外种群恢复和建立，具有明显的生态效益。

因此，建议标准发布后，立即实施，应积极开展培训宣贯：一是向水产技术推广部门宣贯培训，促进拟穴青蟹原良种场建设，推进拟穴青蟹种质资源保护；二是拟穴青蟹养殖主体进行宣传，尤其是“和乐蟹”养殖主体，积极开展水产种质鉴定和检验，防止苗种和亲本误认为其他近缘品种，避免产生损失；三是对各级水产种质检测人员进行培训和宣贯，使他们掌握标准文件规定的技术参数及检测技术方法，为拟穴青蟹种质鉴定和检验提供技术支撑。

十、其他应予说明的事项

无

参考文献

- [1] KENT E C, VOLKER H N. The Living Marine Resources of the Western Central Pacific: 卷 2[M].
- [2] ESTAMPADOR E P. Studies on *Scylla* (Crustacea: Portunidae). 1. Revision of the genus.[J]. The Philippine Journal of Science, 1949, 78(1): 95-108.
- [3] SERENE R. Les Espèces du Genre *Scylla* a Nathrang (Vietnam)[C]//Proceedings of the Indo-Pacific Fisheries Council (IPFC): Section 2. Madras, 1952: 133-137.
- [4] STEPHENSON W, CAMPBELL B. The Australian Portunids (Crustacea: Portunidae). V. Recent Collections | Marine & Freshwater Research | ConnectSci. Australian Journal of Marine and Freshwater Research, 1960, 12(1): 92-128.
- [5] KEENAN C P, DAVIE P J F, MANN D L. A revision of the genus *Scylla* de Haan 1833 (Crustacea Decapoda Brachyura portunidae). Raffles Bulletin of Zoology, 1998, 46(1): 217-245.
- [6] IMAI H, CHENG J H, HAMASAKI K, 等. Identification of four mud crab species (genus *Scylla*) using ITS-1 and 16S rDNA markers. Aquatic Living Resources, 2004, 17(1): 31-34.
- [7] 林琪, 李少菁, 黎中宝, 等. 中国东南沿海青蟹属(*Scylla*)的种类组成. 水产学报, 2007, 31(2): 211-219. DOI:10.3321/j.issn:1000-0615.2007.02.013.
- [8] 林琪. 中国青蟹属种类组成和拟穴青蟹群体遗传多样性的研究. 厦门大学, 2008..
- [9] MA H, CUI H, MA C, 等. High genetic diversity and low differentiation in mud crab (*Scylla paramamosain*) along the southeastern coast of China revealed by microsatellite markers[J/OL]. The Journal of Experimental Biology, 2012, 215(Pt 17): 3120-3125. DOI:10.1242/jeb.071654.
- [10] 马凌波, 乔振国. 中国东南沿海青蟹线粒体 COI 基因部分序列分析[J/OL]. 水产学报, 2008, 30(4): 463-468. DOI:10.3724/SP.J.1231.
- [11] FISHERIES AND AQUACULTURE. List of Species for Fishery Statistics Purposes[EB/OL]. [2026-03-15]..
- [12] FAZHAN H, WAIHO K, QUINITIO E, 等. Morphological descriptions and morphometric discriminant function analysis reveal an additional four groups of *Scylla* spp[J/OL]. PeerJ, 2020, 8: e8066. DOI:10.7717/peerj.8066.
- [13] 元磊. 不同地理种群拟穴青蟹形态差异和对盐度的生态适应性[D/OL]. 上海海洋大学, 2011.
- [14] SURYANDARI A, MAHARSARI A P, IRAWAN B, 等. Length-weight relationship, sex ratio and condition factors of mud crab (*Scylla paramamosain* Estampador, 1949) from Brantas Estuary, East Java, Indonesia: 5th International Conference on Biological Science: Inventing Prosperous Future through Biological Research and Tropical Biodiversity Management, ICBS 2017.
- [15] NURFADILLAH N, SILVIA N, OCTAVINA C, 等. Length-weight relationship (LWR) of mud crabs (*Scylla* sp.) in mangrove waters Peukan Bada Aceh Besar as the basic for waters

resources development. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2021, 674(1): 012068.

[16] FAZHAN H, WAIHO K, AL-HAFIZ I, 等. Composition, size distribution, length-weight relationship of sympatric mud crab species (*Scylla*) and the case of presumed hybrids[J/OL]. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 2021, 250: 107154.

[17] 喻国洪, 金中文, 王扬才, 等. 拟穴青蟹 2 种地理群体的形态与养殖比较研究[J]. 江苏农业科学, 2020, 第 48 卷(7): 203-208.

[18] 姚兴南, 卓齐辉, 陆伟强, 等. 不同养殖密度对池塘拟穴青蟹生长的影响[J/OL]. 海南大学学报(自然科学版), 2018, 36(1): 26-31. DOI:10.15886/j.cnki.hdxzbkb.2018.0004.

[19] SHI X, WAIHO K, LI X, 等. Female-specific SNP markers provide insights into a WZ/ZZ sex determination system for mud crabs *Scylla paramamosain*, *S. tranquebarica* and *S. serrata* with a rapid method for genetic sex identification[J/OL]. BMC genomics, 2018, 19(1): 981.

[20] HEBERT P D N, CYWINSKA A, BALL S L, 等. Biological identifications through DNA barcodes[J/OL]. Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 2003, 270(1512): 313-321.