



中华人民共和国国家标准

GB/T 19783—2005

中华绒螯蟹

Chinese mitten-handed crab

2005-06-02 发布

2005-10-01 实施



中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准的附录 A、附录 B 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国水产标准化技术委员会淡水养殖分技术委员会归口。

本标准起草单位：上海水产大学。

本标准主要起草人：李思发、赵金良、邹曙明、蔡完其、王成辉。

中 华 绒 螯 蟹

1 范围

本标准规定了中华绒螯蟹的主要外部形态特征、生长与繁殖、遗传学特性以及检测方法。

本标准适用于中华绒螯蟹的种质检测与鉴定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB 17716—1999 青鱼

GB/T 18654.12 养殖鱼类种质检验 第12部分：染色体组型分析

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

头胸甲长 carapace length

头胸甲背面前缘内额齿间的凹窝至头胸甲后缘端部的长度。

3.2

额宽 frontal width

头胸甲前缘左、右外额齿间的宽度。

3.3

体高 body height

头胸甲背面至腹部腹面的垂直距离。

3.4

第一侧齿宽 first orbital margin width

头胸甲前侧缘左、右第一侧齿间的宽度。

3.5

背甲后半长 postcarapace length

头胸甲背面颈沟至头胸甲后缘端部的长度。

3.6

第3步足长节长 meropodit length of the third peraeopod

第3步足长节的长度。

3.7

第3步足前节长 propodit length of the third peraeopod

第3步足前节的长度。

3.8

第4步足指节长 dactylopodit length of the fourth peraeopod

第4步足指节的长度。

4 名称和分类

4.1 学名

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis* H. Milne-Edwards)。

4.2 分类位置

甲壳纲(Crustacea),十足目(Decapoda),爬行亚目(Raptantia),方蟹科(Grapsidae),绒螯蟹属(*Eriocheir*)。

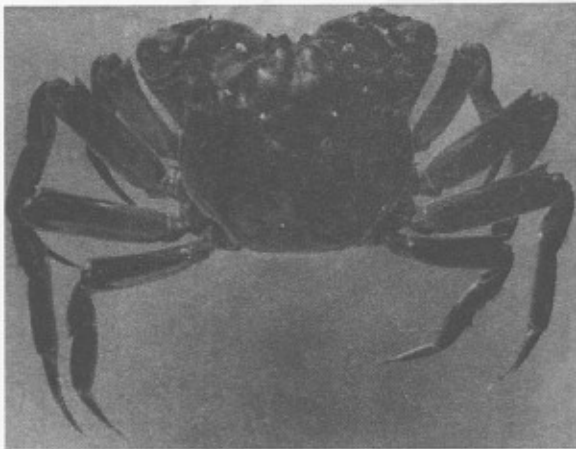
5 主要外部形态特征

5.1 外形特征

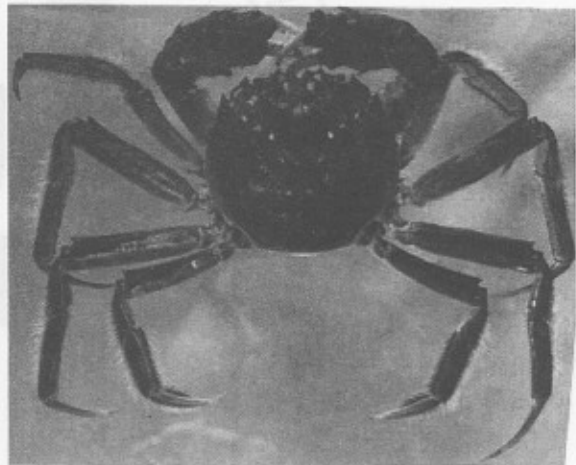
头胸甲明显隆起。额缘有4个尖齿,齿间缺刻较深,居中一个特别深,呈“V”或“U”形。第四侧齿明显。螯足钳掌与钳趾基部内外均有绒毛。第4对步足前节狭长,趾节呈尖爪状。雌蟹腹脐圆形,雄蟹腹脐为三角形。

背面黄褐色或青褐色,腹部灰白或银白色。螯足绒毛棕褐色,步足刚毛呈金黄色。

中华绒螯蟹的外部形态见图1和图2。

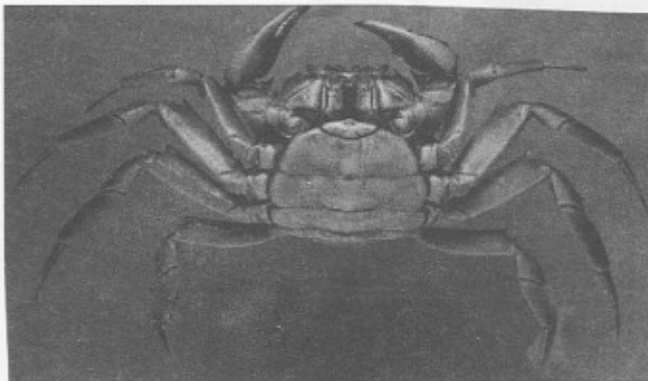


a) 雌性

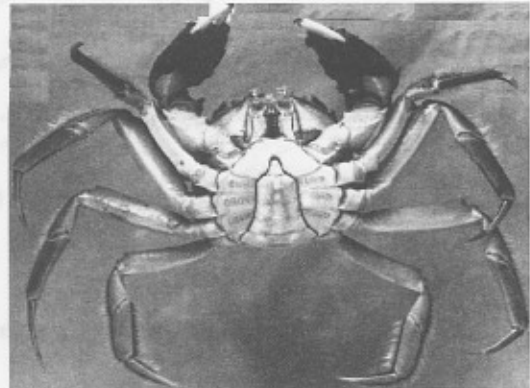


b) 雄性

图1 中华绒螯蟹外形(背面)



a) 雌性



b) 雄性

图2 中华绒螯蟹外形(腹面)

5.2 可量性状

中华绒螯蟹成蟹的主要形态性状比值见表1。

表1 中华绒螯蟹主要形态性状比值

项 目	平均值±标准差
额宽/头胸甲长	0.239±0.010
第一侧齿宽/头胸甲长	0.624±0.017
背甲后半长/头胸甲长	0.531±0.011
体高/头胸甲长	0.522±0.012
第3步足长节长/头胸甲长	0.761±0.045
第3步足前节长/头胸甲长	0.509±0.028
第4步足指节长/头胸甲长	0.437±0.025

6 生长与繁殖

6.1 生长

中华绒螯蟹体长与体重关系式参见附录A。

6.2 繁殖

6.2.1 中华绒螯蟹生殖洄游一般在9月份~10月份。

6.2.2 性成熟雌蟹可进行一次交配,多次产卵。

6.2.3 不同体重中华绒螯蟹的抱卵量见表2。

表2 中华绒螯蟹抱卵量

体重/g	抱卵量/粒
<100	<350 000
100~150	300 000~550 000
150~200	500 000~750 000
>200	>700 000

7 遗传学特性

7.1 细胞遗传学特性

体细胞染色体数 $2n = 146$ 。

7.2 生化遗传学特性

7.2.1 中华绒螯蟹肌肉中乳酸脱氢酶(LDH)的电泳图谱见图3,表现为1条谱带。

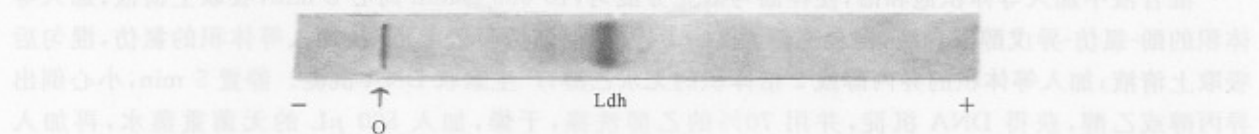
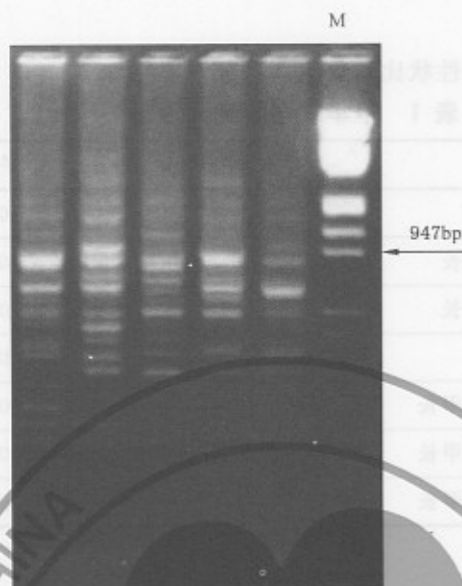


图3 中华绒螯蟹肌肉中LDH同工酶电泳图谱

7.2.2 根据对各水系中华绒螯蟹8种同工酶17个座位的测定,中华绒螯蟹群体的多态座位比例为31.25%,平均杂合度为0.099 9~0.104 1。

7.3 分子遗传学特性

中华绒螯蟹随机引物Opp17(TGACCCGCCT)的扩增产物电泳图谱见图4。扩增的947bp片段为中华绒螯蟹所特有,但在其不同地理群体中表现有不同的出现频率参见附录B。



M——分子量标记(λ /EcoRI + Hind III)。

图4 中华绒螯蟹随机引物 Opp17 的扩增产物电泳图谱

8 检测方法

8.1 繁殖力测定

在繁殖季节,将附着在抱卵雌蟹腹部刚毛上的受精卵全部刮下,称量。用电子天平称1.0 g卵,3个样品,在解剖镜下分别计数,计算平均每克卵的平均卵粒数和抱卵量。

8.2 染色体测定

按 GB/T 18654.12 的规定执行。

8.3 同工酶测定

按 GB 17716—1999 中第 6 章的规定执行。

8.4 随机扩增多态 DNA(RAPD) 测定

8.4.1 样品的采集与保存

取 0.1 g~0.3 g 肌肉、肝脏、血液或尾鳍的新鲜样品,于液氮、干冰及 -30°C 以下低温保存,或于 95%乙醇保存。

8.4.2 基因组 DNA 的提取

取 0.1 g~0.3 g 样品,剪碎,放入 1.5 mL 离心管内,加入 400 μL STE 缓冲液[配制方法为:30 mmol/L Tris-HCl(pH8.0),200 mmol/L EDTA,50mmol/L NaCl]。再加入终浓度分别为 1%的 SDS 和 100 $\mu\text{g/mL}$ ~300 $\mu\text{g/mL}$ 的蛋白酶 K,混匀后于 56°C 作用过夜(约 12 h)。

混合液中加入等体积饱和酚,使样品与酚充分混匀,10 000 r/min 离心 8 min,吸取上清液;加入等体积的酚-氯仿-异戊醇混合液,混合比例为 24:24:1,混匀后吸取上清液;加入等体积的氯仿,混匀后吸取上清液;加入等体积的异丙醇或 2 倍体积的无水乙醇,产生絮状 DNA 沉淀。静置 5 min,小心倒出异丙醇或乙醇,获得 DNA 沉淀,并用 70%的乙醇洗涤,干燥,加入 500 μL 的无菌重蒸水,再加入 25 mg/mL 的 RNA 酶 A 溶液(无 DNA 酶活性)2 μL ,于 37°C 温育 1 h 后,置于 4°C 冰箱保存备用。

8.4.3 基因组 DNA 的 PCR 扩增

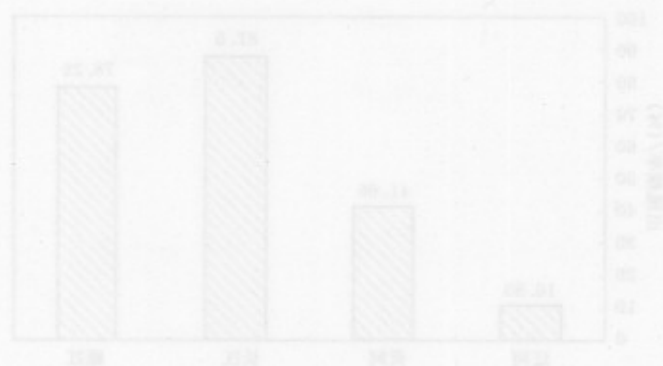
在 0.5 mL 薄壁管中加入总体积为 25 μL PCR 反应混合液:2.0 μL ~3.0 μL PCR 扩增缓冲液[配制方法为:100 mmol/L Tris-HCl(pH9.0),500 mmol/L KCl,30.0 mmol/L MgCl_2 ,0.001%明胶],1 μL 2.5 mmol/L dNTP 混合液,1 μL ~2 μL 5 $\mu\text{mol/L}$ 引物,约 25 ng~150 ng 基因组 DNA,0.6 U~2 U Taq 酶。于 PCR 扩增仪上反应,循环程序为:第一个程序为 93°C ~ 94°C 变性 5 min;第二个程序为

93℃~94℃ 45 s, 36℃ 45 s, 72℃ 90 s; 第二个程序进行 40 个~45 个循环后, 72℃ 延伸 5 min~10 min。

扩增反应结束后, 直接电泳或 4℃ 暂时保存至电泳分析。

8.4.4 PCR 扩增产物的电泳分离与观察

于 1.5% 琼脂糖凝胶上进行电泳, 取 10 μ L PCR 扩增产物, 用移液器将样品加入样品孔中。DNA 分子量标记同时点在旁边的孔中。在 1 V/cm~10 V/cm 凝胶的电压下进行电泳。当溴酚蓝指示剂迁移至足够分离 DNA 片段的距离时, 停止电泳。用 0.5 μ g/mL 的溴化乙锭染色 10 min~30 min 后在紫外透射系统上观察、照相(已加入终浓度为 0.5 μ g/mL 溴化乙锭染色液的凝胶可以直接在紫外透射仪上观察、照相)。



附录 A

(资料性附录)

中华绒螯蟹体长与体重关系式

雌性、雄性中华绒螯蟹的体长与体重关系式分别以式(A.1)和式(A.2)表示。

$$W = 6.0078 \times 10^{-4} L^{2.9724} \dots\dots\dots (A.1)$$

$$W = 1.3990 \times 10^{-3} L^{2.7530} \dots\dots\dots (A.2)$$

式中:

W ——体重,单位为克(g);

L ——头胸甲长,单位为厘米(cm)。

附录 B

(资料性附录)

特异性分子标记在中华绒螯蟹不同地理群体中的出现频率

随机引物 Opp17 扩增的 947bp 片段在中华绒螯蟹不同地理群体中的出现频率分别为:长江水系群体为 87.50%、瓯江水系群体为 78.26%、黄河水系群体为 41.66%、辽河水系群体为 10.83%(见图 B.1)。

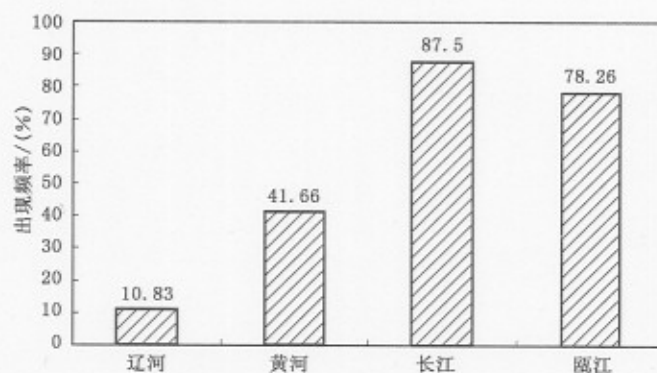


图 B.1 随机引物 Opp17 扩增的 947bp 片段在中华绒螯蟹不同地理群体中的出现频率