

栉孔扇贝(种质)标准

编制说明

栉孔扇贝种质标准编制组

一.工作简况（包括任务来源、主要工作经过和协作单位、主要起草人及所做工作）

1、标准制定的背景及任务来源

栉孔扇贝是我国重要的养殖贝类品种，自上世纪 80 年代人工育苗技术获得突破后，栉孔扇贝人工养殖迅速发展，目前养殖苗种基本来自人工繁殖。随着栉孔扇贝养殖业的开展，大量的人工培育苗种进入自然海区，必然会对其自然种群的遗传结构产生影响，迫切需要对栉孔扇贝种质资源情况进行监测。2008 年国标委发布了《栉孔扇贝》（GB/T 21442-2008）种质标准，该标准自发布以来，为栉孔扇贝种质检测提供了依据，但是，随着分子生物学技术的发展，该标准采用的同工酶技术由于其特异性差、对样本要求高、检测费用高等问题已经逐步被特异性高、检测速度快、稳定性好的 DNA 序列片段所代替，标准的技术内容已经落后于目前检测技术的发展，亟需修订。

2022 年国标委下达了《栉孔扇贝》（GB/T 21442-2008）标准修订计划，项目编号：20220246-T-326。

本标准依据《水产原良种场生产管理规范》、《水生生物增殖放流管理规定》及《关于创新体制机制推进农业绿色发展的意见》等文件对种质资源保存、鉴定和育种的有关要求提出。

2、主要工作过程

为了更好的完成标准的修订工作，标准起草小组从以下几个方面开展了工作

(1)、标准立项前，项目组已进行了相关技术资料的收集，成立了专门的标准起草小组，制定工作计划，落实了实施方案。

(2)、学习有关政策法规，广泛收集有关标准和研究成果，包括 GB/T 1.1-2009《标准化工作导则》、GB 11607《渔业水质标准》、GB/T18407.4《农产品安全质量 无公害水产品产地环境要求》、NY 5052《无公害食品 海水养殖用水水质》、NY 5071《无公害食品 渔用药物使用标准》等标准以及国家和农业部有关质量管理规定、产业政策等素材。

(3)、标准编制组收集了国内外相关资料，向扇贝育苗场、养殖场的技术人员进行了调查，并充分征求了科研、管理等相关人员部门的意见，在总结各方面意见的基础上确定了标准的技术内容，形成了标准的征求意见稿和编制说明。

(4)、2022 年国标委下达了《栉孔扇贝》（GB/T 21442-2008）标准修订计划，项目编号：20220246-T-326。标准立项后，标准编制组查阅了相关文献，对标准草案的各项技术指标进行了核实和验证，补充完善了编制说明，形成了标准和编制说明的征求意见稿。

(5) 2022 年 9 月，标准编制组向包括教学、科研、管理、生产的 25 位专家/单位征求了意见。

2、主要起草人及其所做的工作

主要起草人及任务分工：

张岩：第一起草人，负责调查研究、标准内容设计、标准草案起草和修改等全部工作；

鲁晓萍：主要起草人之一，参与样品的检测分析和标准草案的起草、修改等工作

汪文俊：主要起草人之一，参与样品的检测分析和标准草案的起草、修改等工作；

马爽：主要起草人之一，参与样品的检测分析和标准草案的起草、修改等工作；

二、标准修订原则、确定标准主要内容的依据和新旧标准的对比

（一）、标准编制原则

本标准按照 GB/T 1.1-2020 标准化工作导则的要求编写。共分 10 章，即：（1）范围；（2）规范性引用文件；（3）术语和定义；（4）学名与分类；（5）主要形态构造特征；（6）生长与繁殖特性；（7）细胞遗传学特征；（8）分子遗传学特性；（9）检测方法；（10）判定规则。标准制定的原则如下：

1) 遵循国家和农业部有关方针、政策、法规和规章，严格执行强制性国家标准和行业标准为前提，格式上按照 GB/T1.1—2009《标准化工作导则》的技术要求进行编制起草。编制说明按国家技术监督局“国家标准管理办法”和《农业部国家（行业）标准的计划编制、制定和审查管理办法》的要求编写。

2) 广泛听取和征求扇贝生产企业的意见，了解生产企业对扇贝种质的技术要求，进行必要的验证工作。

3) 在保证标准适合我国国情的前提下，力求反映本行业的先进技术和特色做法，挖掘和发挥其优势，充分反映我国扇贝人工繁育研究成果和生产实践的经验，尽量使标准的科技进步性和现实可行性统一。

4) 标准的文字表达准确、简明、易懂，结构合理、层次分明、逻辑严谨，具有可操作性，便于贯彻实施。标准中的术语、符号统一，与相关标准相协调。

5) 标准有利于栉孔扇贝种质资源的优化和保存，保证扇贝亲贝、苗种的质量，确保扇贝种质资源的可持续利用和养殖业的可持续发展

（二）、确定标准主要内容的依据

栉孔扇贝(*Chlamys Farreri* Jones & Preston)主要分布于我国北方沿海。栉孔扇贝为暖温性贝类，喜栖息于沙泥底质或多岩礁的浅海。栉孔扇贝生长适宜水温 10—32℃，最适水温 15—25℃；扇贝一般属狭盐性贝类，适宜盐度 28—32。栉孔扇贝要求在水质清澈的砂泥、砂粒或礁石底质海区生存。栉孔扇贝为滤食性贝类，主要滤食海水中微小的浮游植物、浮游动物、细菌以及有机碎屑等；适应性强、食性广，适于集约化养殖；贝柱肉质坚实，口味甚佳，易于保管和贮存，肉味鲜美，含脂量高，且离水后较长时间不会死亡，是活体出口的优良品种，颇受消费者的欢迎。由于有如此良好的生态和经济特性，因此具有很大的养殖潜力。

本标准主要包括四个层次的内容，一是形态特征，包括形态典型描述、可数形状、可量性状，实际上就是传统的形态分类依据和标准；二是生长繁殖特征；三是细胞遗传学特征，包括染色体数和核型；四是分子遗传学特征，标准内容主要依据标准编制组人员对栉孔扇贝原种样品的检测分析结果，同时也研究吸收了其他学者对栉孔扇贝细胞遗传学特征和分子遗传学特征的研究成果。

本文件代替 GB/T 21442-2008《栉孔扇贝》，与 GB/T 21442-2008 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 删除了核型的内容（见 2008 版 5.2）
- b) 删除了第 6 章生化遗传学特征的内容（见 2008 版第 6 章）；
- c) 删除了同工酶分析方法（见 2008 版 7.2）；
- d) 增加了分子遗传学特征的内容及相应的检测方法；
- e) 对判定规则进行了修改；
- f) 删除了附录 A 同工酶染色液配方。

1、术语和定义

由于本标准中使用了 GB/T 22213 水产养殖术语中的一些名词术语，因此在本次修改中增加了名词术语的章节，并引用了 GB/T 22213。

2、学名及分类地位

栉孔扇贝【*Chlamys farreri* (Jones & Presten, 1904)】主要分布于我国的北部沿海，极少数个体向南可到东海，日本北海道及朝鲜沿海均有分布，我国主要在辽宁、河北及山东沿海，浙江及福建也有少量分布；栉孔扇贝的学名与原标准相同，补充了命名时间，分类地位也与原标准相同，只是将原标准中的中文属名根据拉丁文根据齐钟彦（1989）由扇贝属改为栉孔扇贝属。

3、形态特征

外部形态特征、外形图、可数形状和可量形状保留了原标准的内容。委托山东省海洋资源与环境研究所种质检测中心的验证报告也与这一结果一致。

4、生长和繁殖特性

生长：栉孔扇贝生长和繁殖特性保留了原标准的内容。

性成熟年龄：保留了原标准的内容，即在自然海区栉孔扇贝性成熟年龄为1龄，这一内容与栉孔扇贝育苗生产中观察到的结果一致。

将繁殖季节从4.2.3产卵量中独立出来，并进行了细化。贺先钦等（1981，水产科学）的研究表明，大连沿海栉孔扇贝的繁殖期是5月末-10月末，盛期在6月中至7月初和9月初至10月初；廖承义等（1983，水产学报7（1））的研究表明，青岛沿海栉孔扇贝的繁殖期为5月-10月，盛期在5月下旬和9月底-10月初，繁殖适宜水温为16-20℃。齐钟彦等（1989）认为栉孔扇贝的繁殖季节为5-9月，一般水温16℃左右开始产卵；齐钟彦（1998）认为栉孔扇贝的繁殖季节为5-9月，盛期在5月。由于栉孔扇贝在我国主要分布在辽宁、河北及山东省沿岸，浙江及福建省仅有少量分布（齐钟彦1998），综合以上研究成果，本标准确定栉孔扇贝的繁殖季节为5月-10月，盛期在5月下旬和9月底-10月初，繁殖适宜水温为16-20℃。

产卵量和卵子特性保留了原标准的内容。卵子特性与张玺等（1956）的结果一致。

5、细胞遗传学特性

保留了原标准中染色体数目的内容（ $2n=38$ ），由于原标准给出的栉孔扇贝的核型公式为： $6m+10sm+22st$ ， $NF=76$ ，染色体核型在检测过程中容易随试验条件而变化，不够稳定，对检测中心的调研中也发现了此类情况的存在，因此在本次修订中只保留了染色体数目，删除了染色体核型的内容。栉孔扇贝的染色体数

目与王梅林等（1990）、毕克（2004）、周丽青等（2005）徐俊等（2011）的结果一致。委托山东省海洋资源与环境研究所种质检测中心的验证报告也与这一结果一致。

6、生化遗传学特性

原标准的第6章生化遗传特征中给出了栉孔扇贝异柠檬酸脱氢酶（IDH）、6-磷酸葡萄糖异构酶（GPI）和6-磷酸葡萄糖脱氢酶（PGD）三种同工酶的电泳图谱，和群体遗传变异范围，随着分子生物学技术的发展，同工酶技术由于其特异性差、检测成本高、对样品要求高等原因，已经逐渐被特异性强、检测成本低、稳定性好的分子生物学特征所代替，因此本次修订删除了这部分内容，由分子遗传学特征代替。

7、分子遗传学特性

DNA条形码技术是指利用一段简短的DNA片段作为物种快速、准确的鉴定标记，建立物种与DNA片段之间一一对应的关系。其原理是选择高度保守且在种进化水平变异细微的DNA编码区或非编码区片段用以鉴定物种。目前该技术已广泛应用于动物和植物种水平上的鉴定。目前广泛运用的条形码有线粒体细胞色素c氧化酶I（COI）、核糖体RNA的12S、16S、18S、28S和ITS基因，目前在动物类群的线粒体基因中，常选用COI、16SrDNA或12SrDNA。有研究表明，COI基因能够对95%以上的物种进行种水平的鉴定，在基因扩增方面比16SrDNA和12SrDNA更具优势，已成为DNA条形码的首选序列。通过DNA序列对栉孔扇贝遗传结构进行分析，目前研究比较多的是16SrDNA片段序列和COI片段序列。从目前已经发布的标准看，海湾扇贝（GB/T 21443-2008）采用了16SrDNA片段序列，金乌贼（SC/T 2084-2018）、曼氏无针乌贼（SC/T 2101-2020）和紫贻贝（SC/T 2028-2016）采用了线粒体COI片段序列。

冯艳微（2012）采用COI和16SrDNA两个基因对包括栉孔扇贝在内的珍珠贝亚目的75个样品进行了分析，结果表明COI基因种内个体的遗传距离在0.000到0.020之间，平均为0.0048，种间个体的遗传距离在0.133到0.344之间，平均为0.284；16S基因种内个体的遗传距离在0.000到0.008之间，平均为0.001，种间个体的遗传距离在0.053到0.309之间，平均为0.231。无论是COI基因还是16S基因，种内个体的遗传距离都没有大于种间个体的遗传距离，存在条形码间隙，都可以作为区分扇贝科物种的分子标记，但是该文献中Folmer等（1994）给出的通用引物，不能顺利扩增出相应的COI序列，而采用了Matsumoto（2003）的引物，16S的通用引物（Palumbi，1996）在8个物种中均获得了成功，因此本标准的分子生物学特性选用了引物通用性更好的16SrDNA序列。

对于16SrDNA序列，Hebert等（Hebert et al. 2004）提出一个标准阈值：10 × 平均种内差异。根据冯艳微（2012）的结果：16S基因种内个体的遗传距离在0.000到0.008之间，平均种内差异0.1%，因此本标准规定种内遗传距离小于2%能够保证标准的适用性。

栉孔扇贝16S rRNA 片段长度为592bp，序列如下：

| | | | | | |
|------------|------------|-------------|------------|------------|-----|
| GGCTTTCTGA | AGAACATGGG | GGGTCGTGCC | TTCCCAGTGG | GCATACGAGC | 50 |
| CTAAACGGAC | GCGGTAAATC | GTGCTAAGGT | AGCTAAATTA | TGGCCTATTA | 100 |
| ATTGTAGGTC | CTGTGAATGG | TTTGACGAGT | CCTCGACTGT | CTCGAGGTTG | 150 |
| TTTTGGTGAA | CTTGAATTGA | ATGTGCAAAAT | GCTTTCATGG | GAAAGAAAGA | 200 |
| CGAGAAGACC | CCGTGAAGTT | AGAAATTCCT | ATTACAGCGT | TAATCCGCTT | 250 |
| TGATGTTTGT | AGATCAGGCG | TTTTAGAACT | TTAATTTTCC | AATACGGCTA | 300 |

| | | | | | |
|------------|------------|------------|------------|------------|-----|
| GAGTTAGGGG | TATTGGATGT | TTATAGTTTT | TAAGTAGGGG | AGTGTGGTTT | 350 |
| TGATGAGTTT | TGGCTGGGGC | AGCAAAGAGG | CAAAACTAGA | CCTCTTTAGA | 400 |
| CACACAACGG | GTGCGTTACG | ACCCACAAAA | ATGAATTGTG | TGATTAGCAG | 450 |
| AATGAGTTAC | TCCGGGGATA | ACAGCGTAAT | CTTCCTTGAT | AGTTCTTATA | 500 |
| GATGGGCGGG | TTTGCGACCT | CGATGTTGGC | TCTGGGTATC | CTGAGGCTTG | 550 |
| CAGGCGGTCT | CAAGGGTTGG | TTCGTTCCGC | CATTAAAACC | TG | 592 |

引物序列采用了通用引物(Palumbi, 1996): 16Sar CGC CTG TTT ATC AAA AAC AT, 16Sbr CCG GTC TGA ACT CAG ATC ACG T; 种内K2P遗传距离小于2%。

(三) 新旧标准的对比

与GB/T21442-2008相比, 本次修订主要做了以下的修改:

- 1、分类地位中扇贝属改为栉孔扇贝属
- 2、繁殖特性中将繁殖季节单独作为一条;
- 3、细胞遗传学特征中删除了染色体核型公式的内容
- 4、删除了第6章生化遗传学特征及相应的检测方法
- 5、增加了分子遗传学特征(16SrDNA)及相应的检测方法
- 6、对检测方法和判定规则进行了补充完善。

三、主要实验(或验证)的分析、综合报告, 技术经济论证, 预期的效益

1、主要试验(或验证)的分析

标准编制组收集了国内外相关资料, 向栉孔扇贝原良种场、育苗场、养殖场以及水产种质检测中心的技术人员进行了调研, 并充分征求了科研、管理等相关人员部门的意见, 在总结各方面意见的基础上确定了标准的技术内容。

在标准草案的编写过程中, 起草组查阅了大量的相关文献和专业书籍, 充分考虑了不同地区的技术特点和差异, 标准的技术内容是对栉孔扇贝种质检测成果的总结, 具有较好的代表性。

项目下达后, 项目组将对标准草案进行进一步的完善, 并向包括教学、科研、管理、种质检测的各单位进行广泛的意见征求。

2、综述报告

本标准制定任务下达后, 项目承担单位将按照流程要求开展了标准制定工作, 首先成立起草小组, 化解任务分工, 分头开展资料收集、实验分析等工作, 将经汇总和多次讨论形成了标准征求意见稿, 可靠性严谨性较强。

征求意见稿完成后, 标准起草组将向包括教学、科研、管理、种质检测的专家/单位进行广泛的意见征求, 标准起草组将根据意见对标准的征求意见稿进行修改, 在此基础上修改完善形成了标准的预审稿提交对口技术委员会审核。

3、技术经济论证

本标准的规范性技术要素为: 分类地位、形态特征、生长与繁殖、细胞生物学特性、分子生物学特性, 涵盖了栉孔扇贝种质检测的主要关键技术, 在技术指标的确定时, 既考虑了最新的技术发展水平, 也考虑了生产上的可行性和经济上的合理性, 符合目前栉孔扇贝种质检测的实际情况, 具有较强的可操作性, 便于生产单位使用。

4、预期的经济效益

标准的贯彻实施将有利于国家管理部门和种质检测部门对栉孔扇贝种质进行监测和鉴定,有利于优化栉孔扇贝种质资源和优良品种,维护和提高栉孔扇贝的优良经济性状,提高栉孔扇贝增养殖的经济、社会和生态效益,为保持栉孔扇贝增养殖业的持续发展发挥积极作用。

四.采用国际标准和国外先进标准情况

目前国内发布的相关标准如下:

GB/T 21442-2008 栉孔扇贝

本标准是对 GB/T 21442-2008 的修订,主要依据我国的科研和生产实际情况。没有检索到栉孔扇贝相关的国外、国际标准。

五.与有关的现行法律、法规和强制性标准的关系

本标准以《中华人民共和国标准化法》为依据,在符合 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》及相关指南和编写规则的基础上制定,与有关的现行法律、法规和强制性标准相协调,没有矛盾。

参考和依据的有关现行法律、法规如下:

- (1) 《中华人民共和国渔业法》
- (2) 《中华人民共和国标准化法》
- (3) 《水产原、良种审定办法》
- (4) 《水产原良种场生产管理规范》
- (5) 《水产养殖质量安全管理规定》
- (6) 《水产苗种管理办法》
- (7) 《水生生物增殖放流管理规定》

六.重大分歧意见的处理经过和依据

本标准将广泛征求来自研究、生产、检测、管理等单位的专家意见,如果出现重大分歧意见,将根据我国实际情况,按照标准化的原则,协商解决。

七.标准作为强制性标准或推荐性标准的建议

由于本标准为水产行业标准,因此建议本标准作为推荐性农业部行业标准发布。

八.贯彻标准的要求和措施建议

栉孔扇贝是我国重要的海洋经济贝类,也是重要的海水养殖品种,本标准发布后,业务主管部门加强对标准的宣传,并组织贯彻实施,以促进栉孔扇贝种质监测向规范化、标准化方向发展,并将该标准作为技术推广、养殖许可证发放和有关评比、认证方面的依据。技术监督部门以该标准作为生产和产品质量监督管理的依据,对栉孔扇贝种质资源进行全面的检测鉴定,优化栉孔扇贝种质资源。组织对相关生产技术人员进行标准培训,让相关从业人员熟悉并掌握标准,按照标准进行实践应用。建议本标准尽快发布实施。

九.废止现行有关标准的建议

GB/T 21442-2008。

十、其他应予说明的问题

无

参考文献

- 1、廖承义等, 1983, 栉孔扇贝的生殖周期, 水产学报7 (1)
- 2、贺先钦、马志诚, 1981, 关于大连沿海栉孔扇贝生长规律及繁殖季节的初步研究, 水产科学, 1981 (2)
- 3、齐钟彦等, 1989, 黄渤海的软体动物, 农业出版社, 1989
- 4、齐钟彦, 1998, 中国经济软体动物, 中国农业出版社, 1998
- 5、张玺等, 1956, 栉孔扇贝的繁殖和生长, 动物学报, 8 (2)
- 6、毕克, 2004, 杂交扇贝(华贵栉孔扇贝 *Chlamys nobilis* ♀ × 栉孔扇贝 *C. farreri* ♂) 的分子细胞遗传学分析
- 7、江颖等, 2016, DNA条形码技术在软体动物分类学中的研究进展, 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 34 (1)
- 8、冯艳微, 2012, 珍珠贝亚目和蚶目DNA条形码与系统发生学研究, 中国海洋大学博士论文
- 9、周丽青等, 2005, 栉孔扇贝 × 虾夷扇贝杂交子一代与双亲染色体核型的分析, 水生生物学报, 29 (1)
- 10、王梅林等, 1990, 栉孔扇贝 *Chlamys farreri* (Jones & Presten, 1904) 染色体核型, 中国海洋大学学报, 20 (1)
- 11、徐俊等, 2011, 栉孔扇贝DAPI带型和PI带型研究, 中国海洋大学学报, 41 (4)