ICS 67.120.30
CCS B 50

DB

辽 宁 省 地 方 标 准

DB XX/ XXXXX—XXXX

中华小长臂虾种质鉴定规范

Species identification of *Palaemonetes sinensis*

报批稿

本稿完成日期：2020 年 12 月

XXXX－XX－XX 发布　　XXXX－XX－XX 实施

辽宁省市场监督管理局　发 布

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。

本文件由辽宁省农业农村厅提出并归口。

本文件起草单位：沈阳农业大学。

本文件主要起草人：李应东、赵莹莹、李晓东、魏华、胡清彪、姜宏波、邢跃楠、包杰、丰程程、于业辉。

本文件发布实施后，任何单位和个人如有问题和意见建议，均可以通过来电和来函等方式进行反馈，我们将及时答复并认真处理，根据实际情况依法进行评估及复审。

归口管理部门通讯地址：辽宁省农业农村厅（沈阳市和平区太北原街2号），联系电话：024-23447862。

文件起草单位通讯地址：沈阳农业大学（沈阳市沈河区东陵路120号），联系电话：024-88487146

中华小长臂虾种质鉴定规范

1 范围

本文件规定了中华小长臂虾（*Palaemonetes sinensis*）的学名与分类、生物学特征、生长与繁殖、遗传学特性、检测方法与检验判定规则。

本文件适用于中华小长臂虾的种质鉴定。

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 18654.1 养殖鱼类种质检验 第1部分： 检验规则
GB/T 18654.2 养殖鱼类种质检验 第2部分： 抽样方法
GB/T 18654.4 养殖鱼类种质检验 第4部分： 年龄与生长的测定
GB/T 18654.6 养殖鱼类种质检验 第6部分： 繁殖性能的测定
GB/T 18654.12 养殖鱼类种质检验 第12部分 染色体组型分析
GB/T 18654.14 养殖鱼类种质检验 第14部分 DNA含量的测定
SC/T 1102-2008 虾类性状测定

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 学名与分类

4.1 学名

中华小长臂虾（*Palaemonetes sinensis*）

4.2 分类地位

属甲壳纲（Crustacea）十足目（Deoapoda）长臂虾科（Palaemonidae） 小长臂虾属（*Palaemonetes*）

5 主要生物学性状

5.1 外部形态

体透明，呈青色略带微黄色。额剑短于头胸甲，平直前伸，上具 5 齿 ～ 6 齿。头胸甲具触角刺、鳃甲刺、无肝刺、鳃甲沟伸至头胸甲中部之前。尾节末端呈尖刺状，两侧各具 1 大 1 小两刺。大颚不具触须。体长 25 ㎜ ～ 50 ㎜。卵大，卵径为 1.18 ㎜ ～ 1.50 ㎜ × 1.00 ㎜ ～ 1.04 ㎜，卵呈棕绿色。自头胸甲两侧至第6腹节均有棕色或棕黑色的条纹，以第3腹节色最浓。雌雄异体，雌性生殖系统包括卵巢、输卵管；雄性生殖系统包括1对精囊、输精管和精荚囊。中华小长臂虾外形见图1。

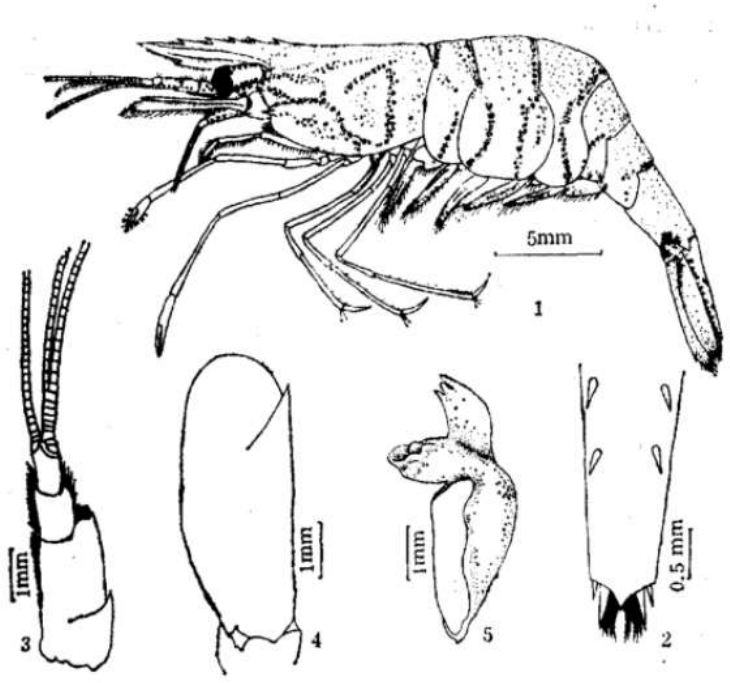

图1　中华小长臂虾外形

（1.全形，侧面；2.尾节末端，背面；3.第一触角；4.第二触角鳞片；5.大颚）

5.2　可数性状

额剑齿式：上额角齿数/下额角齿数为5～6/1～2。

5.3　可量性状

全长比体长的范围：1.759 ～ 2.538。腹部长比体长的范围：0.666 ～ 0.772。全额剑长比头胸甲长的范围：0.612 ～ 0.972。

6　繁殖

6.1　性成熟

中华小长臂虾雌雄异体，可当年性成熟。

6.2　怀卵量

怀卵量与个体大小相关，一般怀卵量在40粒～230粒不等，雌虾抱于腹肢上，体外授精。

6.3　产卵类型

产卵期为4月中旬至7月中旬，沉性兼粘性卵。

7　遗传学特性

7.1　细胞遗传学特性检测

7.1.1　染色体数

体细胞染色体二倍数，2n=88。

7.1.2 核型

染色体核型公式为 2 n = 88 = 66 m + 10 sm + 4 st + 8 t。中部着丝粒染色体（m 组） 33 对；亚中部着丝粒染色体（sm 组）5 对；亚端部着丝粒染色体（st 组）2 对；端部着丝粒染色体（t 组） 4 对；染色体臂数（NF） 164，见图 2。

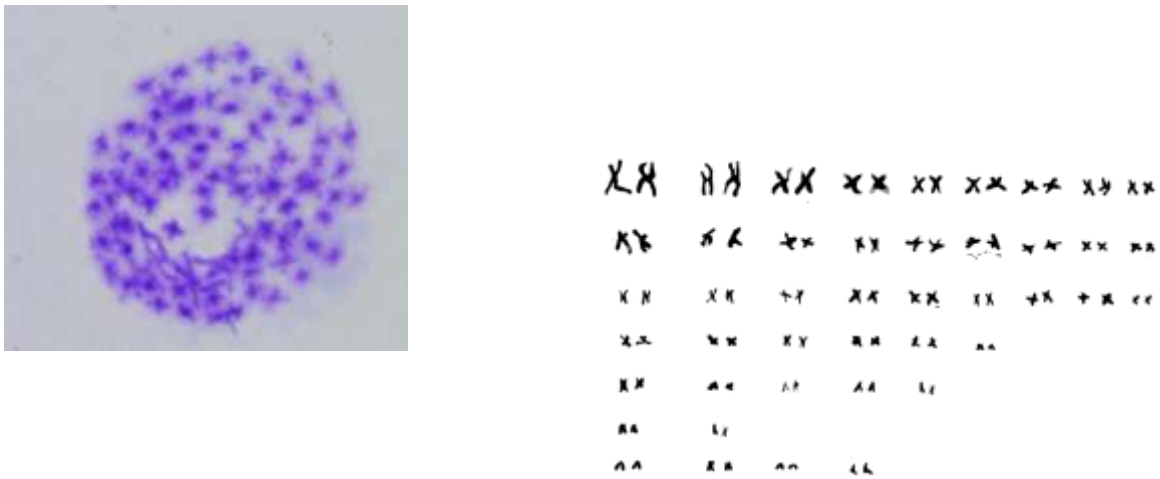

图2 中华小长臂虾染色体分裂相及核型

7.2 分子遗传学特性

7.2.1 中华小长臂虾线粒体 *16s rRNA* 基因标记

对线粒体 *16s rRNA* 基因片段进行扩增和测序，PCR 引物序列为 L16S：CGCCTGTTTATCAAAAACAT，H16S：CCGGTCTGAACTCAGATCACGT，获得长度为 523bp，群体内个体间遗传距离小于 2%，序列如下：

5′-tatgagctattaatataaagtctagcctgcccactgagtaattaaagggctgcagtaatttgactgtgcaa
aggtagcataatcagtagtcttttaattgaaggcttgaatgaatggctggatgagggagaaactgtctttttggtaa
attaaaatttgacttttaagtgaaaaggcttaaatttattaaggggacgataagaccctataaaacttaatatttat
ttatattttgtttttaaattttaaataaactttacaaagtttagtatatattttgttggggagacattgacataatt
aataactgtctaatttaaatgtttatagctattgttattatatgatccttctttgaaggataaaaagagcaagttac
tttagggataacagcgtaattttttctgagagttcttatcgaagaaaatagttgcgacctcgatgttgaattaaaat
ttctgttaggtgtagccgtttaacaagtaggtctgttcgaccttttaaattttacatgatttgagttcaaaccggt-
3′

7.2.2 中华小长臂虾线粒体 *COI* 基因标记

对线粒体 *COI* 基因片段进行扩增和测序，PCR 引物序列为 LCO：GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG，HCO：TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA，获得长度为 674bp，群体内个体间遗传距离小于 2%，序列如下：

5′-atattggcccactatactttgtatttggagcttgagcaggaatagtaggaacttctttaagactactaatt
cgagctgaacttggacaaccaggcaccttaatcggaaatgatcaaatttacaatgtggttgtaacggcacacgcttt
cgttataatcttctttgtagtaataccaattataattggtggatttggaaattgacttgtacccctaatgctaggag
ctcctgatatagcattcccacgtataaataacataagattttgactcctcccccttctttaacactcattctttct
agaggtatagtagaaagaggagtcggaactggttgaacggtttaccctcccctagcgagagggttaggccacgctgg
agcttcggtagacctgggtattttctctttacatttagcaggagtgtcttctattttgggtgctgtaaatttcatta
caactgtaattaatatacgagctccgggaataactatggaccgaactccactttttgtatgagcagtttttttaact

gctattttattactactttctctacctattttagcaggggctattactatgcttttaacagaccgaaatctaaatac
ttctttctttgaccctgctggagggggggatcctattctttatcaacatttattttgatttttt-3′

8 检测方法

8.1 抽样方法

按 GB/T 18654.2 执行。

8.2 性状检测

按 SC/T 1102-2008 执行。

8.3 年龄与生长测定

按 GB/T 18654.4 执行。

8.4 繁殖性能测定

按 GB/T 18654.6 执行。

8.5 染色体检测

按 GB/T 18654.12 的规定执行。

8.6 DNA 含量测定

按 GB/T 18654.14 执行。

8.7 分子遗传学标记方法

8.7.1 DNA 的提取

取尾部肌肉，剪碎组织，加200μL裂解液（EDTA(pH8.0)：200mmol/L；SDS：1％；Proteinase K：200μg/mL）50℃温育3h～4h；加入等体积饱和苯酚、氯仿、异戊醇混合液（体积比25：24：1）400μL抽提，8000r/min，离心20min后，取上清液，再重复抽提2次；在上清液中加入2倍体积的无水乙醇沉淀，－20℃静置； 12500r/min，离心20min，用70％乙醇洗沉淀2次，晾干，加入50μL的1×TE（pH 8.0）溶解。使用DNA定量仪测定样品DNA的纯度和浓度。-20℃保存备用。

8.7.2 PCR 扩增反应

8.7.2.1 扩增反应总体积为15μL，其中包括摸板 DNA 50 ng、10×buffer 1.5 μL，Mg^{2+} (25mmol•L-1) 1.5μL、dNTPS（10mmol•L^{-1}） 各 0.25μL、Taq 酶 1U、上下游引物(10μmol•L^{-1}) 各 0.15μL（1*6S rRNA*，*COI* 和微卫星 DNA 法分别使用各自的引物）。

8.7.2.2 线粒体 16S *rRNA* 基因法反应程序为 95℃预变性 5 min；94℃变性 30 s、52℃退火 30 s、72℃延伸 30 s，35 个循环，72℃延伸 10 min。

8.7.2.3 线粒体 *COI* 基因法反应程序为 95℃预变性 5 min；94℃变性 30s、55℃退火 30 s、72℃延伸 30s，35 个循环；72℃延伸 5 min。

8.7.2.4 扩增反应结束后，取 5 μL 产物与 1 μL 上样缓冲液混合点样， 1%琼脂糖凝胶中电泳 20 min，电压 120 v，紫外灯下观察结果并拍照记录。PCR 产物纯化后双向测序。

8.7.3 结果分析

8.7.3.1　线粒体*16SrRNA*基因法：测序后进行序列比对，群体内个体间遗传距离小于2%。

8.7.3.2　线粒体*COI*基因法：测序后进行序列比对，群体内个体间遗传距离小于2%。

9　检验与判定规则

检验规则按GB/T 18654.1执行， 检测结果符合本文件4、5、6、7及8.7.3条规定，判定为中华小长臂虾。

附 录 A

（资料性）

中华小长臂虾可量性状比例

表A.1所示了不同组别中华小长臂虾可量性状比例。

表 A.1 不同组别中华小长臂虾可量性状比例

项目	I 组	IIII 组	III 组	IV 组
全长 / 体长	2.031±0.272	2.143±0.182	2.366±0.172	2.109±0.200
头胸甲长 / 体长	0.279±0.017	0.278±0.016	0.283±0.017	0.291±0.033
头胸甲宽 / 体长	0.172±0.015	0.165±0.011	0.151±0.013	0.166±0.015
头胸甲高 / 体长	0.199±0.015	0.194±0.012	0.179±0.014	0.202±0.017
腹部长 / 体长	0.715±0.049	0.708±0.028	0.716±0.056	0.692±0.037
腹部宽 / 体长	0.146±0.011	0.140±0.018	0.134±0.011	0.141±0.015
腹部高 / 体长	0.167±0.017	0.161±0.013	0.164±0.014	0.162±0.017
尾扇长 / 体长	0.204±0.016	0.205±0.015	0.203±0.022	0.189±0.021
尾节高 / 体长	0.074±0.007	0.075±0.007	0.071±0.007	0.077±0.011
额剑长 / 头胸甲长	0.753±0.072	0.728±0.074	0.896±0.076	0.708±0.096
头胸甲宽 / 头胸甲长	0.618±0.050	0.594±0.044	0.533±0.045	0.575±0.069
头胸甲高 / 头胸甲长	0.714±0.050	0.701±0.044	0.634±0.052	0.698±0.073
腹节宽 / 头胸甲宽	0.855±0.079	0.855±0.112	0.894±0.090	0.856±0.105
眼窝距 / 头胸甲宽	0.327±0.062	0.345±0.037	0.032±0.004	0.054±0.012
腹节高 / 头胸甲高	0.844±0.082	0.831±0.072	0.918±0.095	0.810±0.099
尾节高 / 头胸甲高	0.375±0.039	0.388±0.039	0.399±0.050	0.385±0.057
腹部宽 / 腹部长	0.205±0.013	0.199±0.025	0.188±0.019	0.204±0.022
腹部高 / 腹部长	0.234±0.020	0.228±0.017	0.230±0.025	0.235±0.024