ICS 65.150
CCS B 51

DB

地　方　标　准

DB ××/T ××××—××××

四角蛤蜊 种质

Mactra veneriformis

点击此处添加与国际标准一致性程度的标识

（征求意见稿）

（本稿完成日期：2024 年 5 月）

××××－××－××发布　　××××－××－××实施

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某些专利。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：XX

本文件主要起草人：XX

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（沈阳市和平区太原北街2号），联系电话：024-23447862。

文件起草单位通讯地址：辽宁省海洋水产科学研究院（大连市沙河口区黑石礁街50号），联系电话：0411-84691609。

四角蛤蜊 种质

1 范围

本标准规定了四角蛤蜊（*Mactra veneriformis*）的定义，名称与分类、主要形态特征、繁殖生物学、细胞遗传学特性、分子遗传学特性、检测方法和判定规则。

本标准适用于四角蛤蜊的种质检测与鉴定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 18654.2-2008养殖鱼类种质检测 第二部分：抽样方法。

3 术语和定义

下列术语和定义适合于本文件。

3.1 壳高 shell height

壳顶至壳腹缘的最大距离。

3.2 壳长 shell length

壳背面垂直于壳高的最大距离。

4 名称与分类

4.1 学名

四角蛤蜊[*Mactra veneriformis* (Reeve,1853)]。

4.2 分类地位

隶属于软体动物门（Mollusca）、双壳纲（Bivalvia）、帘蛤目（Veneroida）、蛤蜊科（Mactridae）、蛤蜊属（*Mactra*）。

5 主要形态特征

5.1 外部形态特征

贝壳坚厚，略成四角形。两壳极膨胀。壳顶突出，位于背缘中央略靠前方，尖端向前弯。贝壳具外皮，顶部白色，幼小个体呈淡紫色，近腹缘为黄褐色，腹面边缘常有 1 条很窄的边缘。生长线明显粗大，形成凹凸不平的同心环纹。四角蛤蜊的外部形态见图 1。

图 1　四角蛤蜊外部形态

5.2　内部构造

由左右外膜附着壳内面包围整个肉体形成外套腔，套膜分边缘、中央两部分；边缘部分肌肉发达较肥厚、中央部分薄而透明。外套膜在后端腹侧着，形成两个水管，水管短而粗，两个水管紧靠，出水管较入水管细而短，位于入水管背面；两水管的末端具有触手。体中部稍后方左右两侧有两个鳃瓣，鳃前方左右各有两片唇瓣、唇瓣之间为口。外套腔偏前方有一略呈扁形的内脏块，其腹面为呈斧刀状的足。心脏位于壳顶下方，内脏块背侧偏后，呈梭形带透明状。

5.3　可数性状

5.3.1　贝壳 2 片，左右对称。

5.3.2　外套膜 2 片，左右两叶。

5.3.3　鳃瓣左右各 2 片。

5.3.4　左壳具主齿 1 枚，右壳具主齿 2 枚。

6　繁殖生物学

6.1　性成熟年龄与性腺特征

雌雄异体，雌雄外观上无区别，生殖腺1个。

性成熟年龄为一周年，成熟季节，雌性生殖腺为乳白色，雄性为桔红色。

6.2　性比

性比1:1.08左右，雄性多于雌性。

6.3　繁殖期

2次繁殖期，分别为4月～6月及10月上旬。

6.4　产卵量

3龄～4龄四角蛤蜊第一次产卵量约为13×10^5粒～18×10^5万粒。

6.5　精卵特征

沉性卵，卵径为70 μm～80 μm。精子分为头部、中段和尾部三部分。

7 细胞遗传学特性

体细胞染色体数目2n=38。

8 分子遗传学特性

8.1 四角蛤蜊线粒体DNA COⅠ基因片段（625bp,GenBank序列号：GQ864238.1）

1 CTTTTAGTTCTATTATTCGTTTAGAATTGGCTGTTCCTGGTGAAAGATTGCTTGATGGTC

61 AGCTCTATAATTTGGTTGTAACAGCACATGCTTTAGTTATAATTTTTTTTTAGTAATAC

121 CTATAATGATGGGAGGTTTTGGAAACTGGTTAGTTCCTTTAATACTAAAAGTTCCTGATA

181 TGAGTTTTCCTCGTATAAACAATATTAGTTTTTGACTTCTTCCTGTGTCTATGTTACTGT

241 TATTCGCTTCAGCTTATGTTGAAAGAGGGGCAGGAACTGGGTGAACTATTTATCCTCCTT

301 TATCTAGCCATATAGGTCATCCTGGGCCTGCTATGGATTATGTTATTTTTTCTCTTCATG

361 TTGGTGGTCTCTCTTCAATTTTAGCTTCTATTAATTTTTTTACTACTTTCTTGAGAATGC

421 GTTTGAAGGTGATGTCTTTATATCGTGTTCCATTATTCGTATGGTGTATTGCTGTTACTA

481 GGTTTTTATTAGTAGTAGCTATGCCTGTTTTAGCTGGTGCTCTTACGATATTACTTACTG

541 ATCGTAATTTTAATACTTCTTTTTTTGACCCAAATGGAATGGGTGACACTATTTTATTTG

601 TTCATTTGTTTTGATTTTTTGGTCA

8.2 四角蛤蜊全基因组

N50序列长度为7977.84Kb，长度为939.32Mb。全基因组图谱见图2。

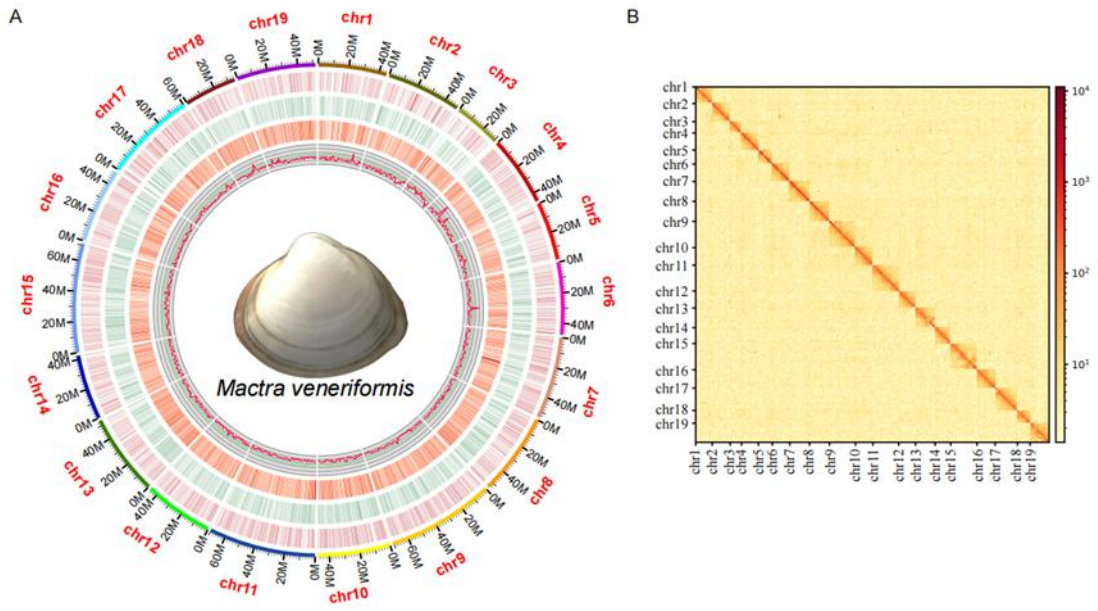

图 2　四角蛤蜊全基因组图谱

[a] （A）四角蛤蜊（Mactra veneriformis）的全基因组图谱。从最外层到最内层：以 Mb 为尺度的包含 M. veneriformis 基因组的 19 条染色体，红色表示正链上的基因，绿色表示负链上的基因；每 Mb 计算的基因密度；以及 GC 含量。（B）四角蛤蜊的 Hi-C 相互作用热图。

9　检测方法

9.1　抽样

应按照GB/T 18654的第2部分（抽样方法）的规定执行。

9.2　主要形态构造检测

9.2.1　外部形态

光线充足时，肉眼观察外部形态进行检测。

9.2.2　可量性状

壳高和壳长按照定义描述用游标卡尺进行测量检测。

9.2.3　内部构造

四角蛤蜊撬开后，光线充足时，肉眼观察检测。

9.3　细胞遗传学检测

按附录A执行

9.4　分子遗传学检测

按附录B执行

10 判定规则

10.1 当检测结果符合第 5 章和第 7 章要求，可判定物种时，按第 5 章和第 7 章的要求判定。

10.2 当出现下来情况之一时,增加检测第6章和第8章的要求内容依据检测结果对物种进行辅助鉴定：

a) 第 5 章和第 7 章的项目无法进行检测或者判定时；
b) 第三方提出要求时。

附　录　A
（资料性附录）
染色体检测

A.1　染色体标本的制备

——将鳃组织用 0.04%秋水仙素（海水配制）处理 20　min～30　min。
——0.075　M 氯化钾低渗 40　min～60　min。
——用新配置冰冷卡诺氏固定液（4　℃）固定三次，每次固定不少于 15　min。
——50％冰醋酸解离数分钟,轻轻吹打。
——低温滴片，自然干燥。
——干燥后 10％Giemsa 染液（pH6.8）染色 15　min～20　min。
——自来水冲洗，自然干燥后镜检。

A.2　核型分析

观察100个分散良好的中期分裂相，记数确定二倍体数。应从中挑选10个分散良好、形态清晰的中期分裂相进行显微摄像、放大、测量，染色体分类应按照GB/T 18654的第12部分（染色体组型分析）的规定执行。

附　录　B
（资料性附录）
四角蛤蜊COI基因序列分析

B.1　总DNA提取

取四角蛤蜊斧足，蛋白酶K消化后，用试剂盒进行总DNA的抽提。

B.2　引物序列

COI-F：5’-ACACTTTATTTGATTTTTGG-3’，COI-R：5’-CCCATTGAAAGAACGTAGTGAAAGTG-3’

B.3　PCR扩增反应

反应体系为50　μL，每反应体系包括1.25单位的Tap DNA聚合酶；各种反应组分的终浓度为200　nmol/L的正反向引物；200　nmol/L的每种dNTP,10×PCR缓冲液[200 mmol/L Tris-HCl,pH 8.4；200mmol/L KCl；100 mmol/L(NH4)2SO4；15　mmol/L MgCl2]5　μl,加Milli-Q H2O至50　μl。基因组DNA20　ng。PCR参数包括94　℃预变性4　min，94　℃变形40　s，45　℃退火45　s，72　℃延伸1 min，循环35次后,72　℃延伸7　min。所有PCR均在热循环仪上完成。每组PCR均设阴性对照来检测是否污染。

B.4　测序

扩增产物送生工生物工程股份有限公司直接测序，为了保证序列的准确性，对所有样品应进行双向测序。