

国家标准  
修订《三疣梭子蟹》标准  
编制说明

《三疣梭子蟹》标准修订小组  
二〇二四年三月

# GB/T 20556—2006《三疣梭子蟹》标准修订编制说明

《三疣梭子蟹》标准修订组

(一) 工作简况，包括任务来源、制定背景、起草过程等；

## 1、标准任务来源

2023年12月28日，国家标准化管理委员会发布“国家标准化管理委员会关于下达2023年国家标准化项目计划的通知”【国标委发(2023)64号】，下达《三疣梭子蟹》修订任务，项目计划号：20233077-T-326，项目周期16个月。项目技术归口单位是全国水产标准化技术委员会(SAC/TC156)。

## 2、标准修定背景

三疣梭子蟹 *Portunus trituberculatus* (Miers,1876)，英文名 Swimming crab，又名枪蟹，隶属于甲壳纲(Crustacea)、十足目(Decapoda)、梭子蟹科(Portunidae)、梭子蟹属(*Portunus*)。三疣梭子蟹广泛分布于中国山东半岛、浙江沿海岸、广西、广东、福建、南海以及日本、朝鲜、马来西亚群岛、红海等水域(谢忠明等,2002)。三疣梭子蟹食用价值高，蟹肉质鲜美、营养丰富，是深受大众喜爱的经济种类。梭子蟹在我国辽宁、河北、山东、江苏、浙江、福建、广东、海南等省都有规模化养殖(2023年渔业统计年鉴)。

梭子蟹以前资源十分丰富，但由于过度捕捞以及环境污染等问题，20世纪70年代开始，我国梭子蟹资源日趋下降，引起我国对其增殖放流和养殖的重视，并先后开展了苗种生产和增养殖的研究。1986年开始中国水产科学研究院营口增殖实验站对三疣梭子蟹的人工育苗和放流进行了较为系统的研究，为梭子蟹增养殖奠定了良好的基础(王克行,1997)，至2022年梭子蟹全国养殖面积2.28公顷，较2021年增加6.87%，2022年养殖产量10.9万吨，同比增加3.55%(2023年渔业统计年鉴)，已发展成我国海水养殖主导种类之一。我国常见的梭子蟹有红星梭子蟹、远海梭子蟹和三疣梭子蟹，其中三疣梭子蟹数量最多，产量最大，约占梭子蟹总产量的90%左右，为了防止三疣梭子蟹自然种群种质混杂、性状衰退及遗传多样性降低等问题，进行其种质标准的修定任务提上了日程。GB/T 20556—2006《三疣梭子蟹》发布至今已18年，该标准主要给出了三疣梭子蟹的名称与分类、分布与生态习性、主要形态构造特征、生长与繁殖、生化遗传学特

征和检测方法，为三疣梭子蟹的种质资源保护与开发利用及养殖业的可持续发展发挥了积极作用。但该标准中“形态特征”及“细胞遗传学特性”后续没有给出相应的检测方法，另外随着国内近年来对三疣梭子蟹的分子生物学深入研究发展，以及其在生物种质鉴定方面的应用，GB/T 20556—2006 中同工酶特性的检测步骤繁琐且结果不够稳定，对样品质量的要求较高，目前已经被分子生物学技术所代替。除上述原因，标准整体结构不符合 GB/T1.1—2020 的要求，因此该标准亟需修订，以保持三疣梭子蟹种质标准的先进性。三疣梭子蟹种质标准的修定和实施，可以保障三疣梭子蟹种质质量，有利于对三疣梭子蟹群体遗传结构的监测，有利于保证三疣梭子蟹增养殖业的健康、持续发展，对其资源保护和可持续利用有着重要而深远的意义。

### 3、标准承担单位

《三疣梭子蟹》修订工作承担单位是中国水产科学研究院黄海水产研究所。中国水产科学研究院黄海水产研究所系农业农村部所属综合性海洋渔业科研机构，始建于 1947 年，为我国最早海洋渔业科研机构。拥有世界动物卫生组织参考实验室 2 个，国际间联合开放实验室 3 个，国家级公共资源服务（共享）平台 1 个，国家海洋渔业生物种质资源库 1 个，国家级检测中心 1 个；省、部级重点实验室 6 个，省部级检测（实验）中心 3 个，省部级工程研究（研发）中心 5 个，科研实验基地 3 处；拥有海洋渔业资源科学调查船“北斗”号、近岸渔业资源与环境调查船“黄海星”号、3000 吨级海洋渔业综合科学调查船“蓝海 101”号。作为青岛海洋科学与技术试点国家实验室五家常务理事单位之一，以黄海水产研究所为依托单位建设海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室。挂靠在黄海水产研究所的标委会秘书处有 3 个，包括“全国水产标准化技术委员会海水养殖分技术委员会秘书处”、“全国水产标准化技术委员会水产品加工分技术委员会秘书处”、“全国食品工业标准化技术委员会水产品加工分技术委员会秘书处”。以标委会秘书处为依托，黄海水产研究所积极参与国家和行业标准化管理工作，组织制订国家及行业标准 100 多项，为全面提高我国水产行业的标准化水平，规范我国水产品的养殖和加工发挥了巨大的作用。

中国水产科学研究院黄海水产研究所蟹类种质资源与育种团队从 2005 年开始进行良种选育研究，在国家“863 计划”、国家重点研发计划、现代农业产业技

术体系等项目资助下,培育三疣梭子蟹国审新品种“黄选 1 号”(GS-01-002-2012)、“黄选 2 号”(GS-01-006-2018)等 2 个新品种,生长速度、养殖成活率提高 20%以上,在山东、河北、江苏、浙江等我国梭子蟹主养区累计推广 40 余万亩,平均单产提高 30%以上,有力推动了产业良种化进程,极大促进了产业发展。

#### 4、主要工作过程

##### (1) 标准立项前的准备工作

第一,成立标准修订小组,在项目立项前,标准修订小组查阅文献,收集整理了大量三疣梭子蟹种质资源方面的资料,开展基础资料收集和外部形态特征、生长与繁殖以及遗传学等方面的研究。

第二,标准修订小组人员除具备丰富的标准制修订经验外,还一直从事海洋生物种质资源的研究工作,熟练掌握海洋生物种质研究的方法,了解并熟悉各参数试验及验证工作,实验设备齐全。部分小组成员长期从事三疣梭子蟹生态学、种群遗传学、分子生物学等方面的研究,积累了丰富的研究经验和大量关于三疣梭子蟹形态特征、生长与繁殖等方面的数据、资料,具备该种质标准修订的基础。标准修订时,起草组成员对三疣梭子蟹各技术指标进行了验证。

第三,起草组学习有关政策法规,广泛收集有关标准和研究成果,包括 GB/T 1.1—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》以及国家和农业农村部有关质量管理规定、产业政策等内容。

##### (2) 标准编制的主要工作过程

第一,标准起草阶段。标准修订小组进行了任务分工,制定了工作计划,落实了实施方案。通过实地调研及收集国内外相关资料,在归类、统计、分析以及必要的实验验证等工作基础上,对标准草案中的术语与对应的概念,逐条进行了推敲与核实,在调查研究及总结各方面意见的基础上确定了标准的技术参数及内容,于 2024 年 4 月 15 日形成了标准的征求意见稿和编制说明。

第二,征求意见阶段。于 2024 年 9 月,将《三疣梭子蟹》修订文本征求意见稿连同《编制说明》上传国家标准制修订管理平台,面向全国范围内广泛、公开征求意见。同时以电子邮件等形式向国内从事甲壳类教学、科研、生产、检测、推广及管理领域的专家广泛征求意见。

第三,预审阶段。……。

第四,审查阶段。……。

## 5、标准主要起草人及所做的工作

鲁晓萍：第一起草人，负责标准整体策划、调查研究、标准内容设计、标准修订草案起草和修改等；

高保全：主要起草人之一，负责标准调查研究、意见征集及样品的采集、分子遗传学数据测定工作；

汪文俊：主要起草人之一，负责标准意见征集和修改工作；

张 岩：主要起草人之一，参加调查研究、试验和标准修订起草工作；

陈四清：负责标准意见分析和修改工作；

梁洲瑞：主要起草人之一，负责形态学和数据分析和修改工作；

袁艳敏：主要起草人之一，参加试验和标准修改工作；

徐 慧：主要起草人之一，参加试验和标准修改工作。

**(二) 国家标准编制原则、主要内容及其确定依据，修订国家标准时，还包括修订前后技术内容的对比；**

### 1、标准的修订原则

本文件是以国内外多年来对三疣梭子蟹的分类、进化、生长、群体遗传学和生产实践中所获得经验为依据，在充分查阅相关资料文献的基础上，结合国内外相关研究与养殖生产情况而制定。遵循国家和农业农村部有关方针、政策、法规，严格执行国家标准制修订要求，文本格式上按照 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》的技术要求进行修订起草。编制说明按国家市场监督管理总局令（第59号）“国家标准管理办法”第二章第二十七条的基本要求编写。在编写过程中广泛听取和征求生产、推广、管理、科研、教学、质检及标准化等各方面专家的意见，参考了国内已发布的同类标准的样本。

标准修订小组在保证文件适合我国国情的前提下，一方面使文件能够切实反映我国关于三疣梭子蟹种质资源科学研究的成果和养殖生产的实践经验，尽量使标准的科技进步性和现实可行性统一。另一方面确保文件的文字表达准确、简明易懂，结构合理、层次分明、逻辑严谨、操作性强、利于实施，有关检测部门能够应用标准及时对三疣梭子蟹种质资源进行检测和鉴定，以便对三疣梭子蟹种质资源进行优化和保存，促进三疣梭子蟹增养殖业的可持续发展。

### 2.标准修订的主要内容和依据

文件内容主要依据标准修订小组对三疣梭子蟹原种样品的检测分析结果，同时也参照了其他学者对三疣梭子蟹的形态特征、细胞遗传学特征和生化遗传学特征的研究成果。包括 10 章内容：（1）范围；（2）规范性引用文件；（3）术语和定义；（4）学名与分类；（5）主要形态结构特征；（6）生长与繁殖特性；（7）细胞遗传学特性；（8）分子遗传学特性；（9）检测方法；（10）判定规则。

## 2.1 规范性引用文件

原标准中无规范性引用文件章节。本文件使用了“水产养殖术语（GB/T 22213）”中的一些名词术语，细胞遗传学特性检测方法引用了“养殖鱼类种质检验 第12部分：染色体组型分析（GB/T 18654.12）”文件，因此在本次修订中增加了规范性引用文件章节，并引用了GB/T 22213和GB/T 18654.12标准。

## 2.2 术语和定义

本标准修订小组查阅了三疣梭子蟹全甲宽、甲宽的定义，发现目前大多数国内外正式发表的相关学术专著、论文中说法略有不同。在刘卓等同志翻译的《日本三疣梭子蟹的育苗、养殖技术和放流研究》一书中描述：全甲宽定义为成体型三疣梭子蟹头胸甲两侧棘尖端间的直线距离；甲宽定义成体型三疣梭子蟹头胸甲两侧棘基部前缘间的直线距离（刘卓等，1986）。这部分的描述没有明确的指出两侧棘是最末两侧棘。有的学者以图的形式画出被甲宽（carapace width）和内被甲宽（internal carapace width）的距离，被甲宽指最末两侧棘之间的距离，内被甲宽指最末两侧棘基部间的距离（董志国，2012）。结合上述文献内容及生产中习惯叫法，本文件术语和定义章节保留了原标准内容。

## 2.3 三疣梭子蟹学名与分类

本次修订按照统一的水产种质标准编制要求，原文件章节“名称与分类”，修改为“学名与分类”。经查阅三疣梭子蟹的学名拉丁文和分类发现原标准三疣梭子蟹的学名“*Portunus trituberculatus* Miers”编写不规范，搜索百度百科和维基百科关于动物命名相内容，完整的学名后面还要有命名的时间，与作者用逗号分隔。因此本文件将学名修改为“*Portunus trituberculatus* Miers, 1876”。

## 2.4 形态结构特征

### 2.4.1 形态特征描述：

结合了《中国动物志、无脊椎动物（第四十九卷）、甲壳动物亚门、十足目、梭子蟹科》（杨思谅，2012）中有关内容描述及采用肉眼观察相结合的方法，对三疣梭子蟹外部形态特征描述如下：头胸甲呈梭形，背面大为茶绿色，后缘和后侧缘呈紫色，并有灰白色斑点分布，腹面均为灰白色；螯足发达，长节呈棱柱形，内缘具钝齿，螯足背面紫色，具灰白色斑点；前3对步足蓝色，指节紫色。第4对步足掌节和指节扁平、宽薄；背面除指节外具灰白色斑点；腹部扁平，雄蟹腹部呈三角形，雌蟹呈圆形。该部分保留原标准的内容。

为更直观的理解三疣梭子蟹种质相关的部位，在原标准的基础上，本文件对三疣梭子蟹外部形态墨线图进行了标示，并做了标引说明（图1）。

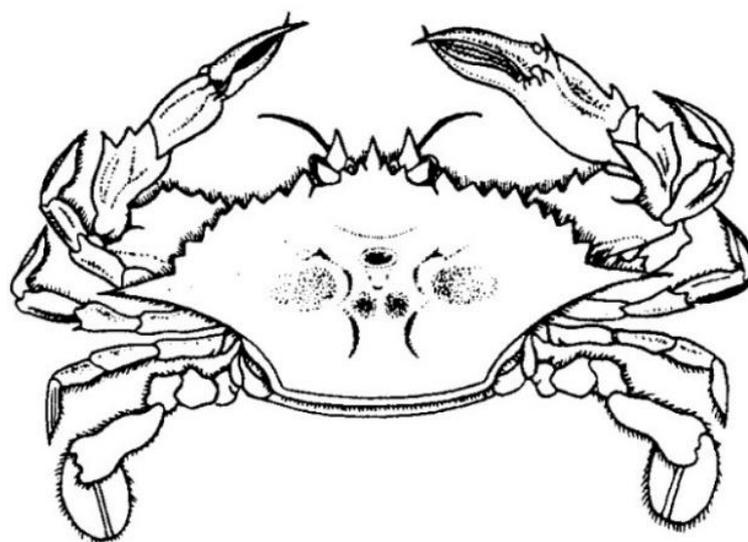


图1 三疣梭子蟹外部形态图

#### 2.4.2 可数性状：

项目组整理并查阅参考了《中国水产生物种质资源与利用》《我国的虾蟹》《渤海三疣梭子蟹的生物学》《虾蟹类增养殖学》等有关蟹类学书籍同时随机选取不同地理群体、不同季节的三疣梭子蟹各60只样本进行观察和统计，分别统计头胸甲疣状突起、头胸甲两侧缘锯齿、额缘小齿、带柄复眼数据。数据统计结果：头胸甲表面有3个显著的疣状隆起，1个在胃区，2个在心区。头胸甲两前侧缘各具9个锯状齿，第9齿特别长大。额缘具2枚~6枚小齿，一般4枚；前侧缘斜拱形，长于后侧缘。额部两侧有1对能转动的带柄复眼。螯足1对，步

足 4 对。可数性状以上结果同原标准一致，本次修订仅将腹足 5 对改成了螯足 1 对，步足 4 对的描述，其余内容保留原标准内容。

### 2.4.3 可量性状：

项目组对采自丹东的 30 只三疣梭子蟹样本（80 日龄-120 日龄）进行测定。采用传统形态学测量方法，用直尺直接测量样品全甲宽、甲宽、甲长、体高、用电子天平测量样品体重体质量。项目组实测获得的三疣梭子蟹样本可量性状实测值见表 1，全甲宽同甲宽的关系见关系式。

表 1 三疣梭子蟹样本可量性状测定值

编号	全甲宽 (mm)	甲宽 (mm)	甲长 (mm)	体高 (mm)	体重 (g)
1	181.94	81.69	76.44	44.43	303
2	172.51	80.98	77.76	43.13	282
3	190.61	89.17	85.6	49.58	379
4	193	89.47	90.04	49.55	435
5	177.59	82.01	81.12	45.12	300
6	202.95	98.46	94.21	50.8	490
7	175.32	79.57	76.03	44.98	266
8	210	94.14	92.73	52.92	470
9	184.25	88.55	83.26	47.67	367
10	195.77	86.74	84.55	46.96	380
11	199.41	92.4	88.47	48.39	410
12	185.54	89.57	85.76	47.36	369
13	199.67	93.09	89.43	48.6	426
14	183.11	82.52	79.38	48.46	307
15	168.8	77.55	74.35	42.88	256
16	186.67	93.26	88.97	50.77	406
17	199.02	91.89	88.74	51.47	413
18	170.98	77.09	75.56	42.19	248
19	189.64	85.79	84.45	47.36	372
20	171.35	80.43	74.15	44.2	256
21	174.41	78.93	44.41	80.14	294
22	175.44	80.85	76.41	43.49	270
23	161.67	79.32	72.47	41.81	241
24	166.04	77.67	74.67	42.63	259
25	172.87	79.98	75.54	41.13	261
26	180.16	84.66	81.39	47.21	334
27	167.62	77.35	74.18	41.56	246
28	180.68	83.15	79.1	45.06	317
29	173.61	81.57	78.57	44.92	291
30	169.76	76.99	77.54	44.5	278

根据实际测量值得到成体型三疣梭子蟹的甲宽与全甲宽的关系如下：

$$\text{雄蟹： } W = 0.0801 \times L^{-0.120} \quad (R^2=0.998)$$

$$\text{雌蟹： } W = 0.0793 \times L^{-0.029} \quad (R^2=0.997)$$

式中：

L—全甲宽 (mm)；

W—甲宽 (mm)。

## 2.5 生长与繁殖

### 2.5.1 甲宽与体重关系

研究表明，三疣梭子蟹脱壳生长，从幼到老（寿命一般 1-3 年）要多次脱壳，大约经过 13 次脱壳。每次脱壳体长，体重就增大一些，一般每次蜕皮后，体积达到原体积的 150%。其甲长与体重增长的速度与脱壳的次数有关，仔幼蟹的脱壳周期较短，生长十分迅速，成蟹阶段，由于脱壳周期延长，甲长增长缓慢，但因性腺不断发育，体重大幅增加，雌蟹较雄蟹更加显著（邓景耀, 1986；沈嘉瑞, 1965；戴爱云, 1977）。脱壳周期变化取决于个体大小和水温，脱壳间隔的时间随个体增大不断延长，甲长与甲宽的比接近 1:2（邓景耀, 1986），体重与甲长和甲宽有一定的相关性，体重  $W$  (g) 与甲长  $L$  (mm) 的关系为  $W = 3.96 \times 10^{-4} L^{3.068}$ （邓景耀, 1986），体重  $W$  (g) 与甲宽  $I$  (mm) 的关系为  $W = 4.89 \times 10^{-5} I^{3.025}$  ( $n=43, R^2=0.9988$ )（孙颖民, 1982）。项目组同时整理并查阅参考了其他有关蟹类学书籍，主要参考了《东海经济虾蟹类》，结合 50 只样品实测分别得到甲宽和体重的数据。得出甲宽与体重关系式为：

$$W = 0.0588L^3 \dots \dots \dots (3)$$

式中：

L—全甲宽 (cm)；

W—体重(湿重) (g)。

### 2.5.2 性成熟年龄

孙颖民（1982）研究表明三疣梭子蟹雌雄异体。一般寿命为2年，很少超过3年。产卵繁殖的群体主要由1年生的亲蟹组成。宋海棠（1989）研究表明在浙江，7-11月为性成熟三疣梭子蟹交配期，9-10月为性成熟三疣梭子蟹交配的盛期。孙颖民（1982）研究表明三疣梭子蟹发育经历搔状幼体，大眼幼体，幼蟹，成蟹四

个阶段，搔状幼体分为五期（渤海地区分四期）。当水温在20-31℃范围内，第I期幼蟹至性成熟需要3个月，雄蟹蜕壳8-10次，体重达55.5g-176.4g，雌蟹蜕壳9-10次，体重达83.0-176.9g。本部分保留原标准内容。

### 2.5.3 生物学最小型

王玉堂（2009）研究表明雌蟹初次性成熟蜕皮后，最小型的雌蟹如是天然个体，其全甲宽区13cm，如是人工养成的个体，其全甲宽约为12cm。因此本标准定义野生三疣梭子蟹雌、雄蟹的生物学最小型均为全甲宽13 cm。本部分保留原标准内容。

### 2.5.4 性腺发育周期（补充文献）

雄蟹在当年秋季性腺发育成熟，并与雌蟹交尾，雌蟹性腺从当年的秋季开始发育，到第二年的春季发育成熟产卵。三疣梭子蟹进行多次产卵，一般产卵两次，大型雌蟹可连续产卵3次~4次，个别可达5次。春季孵化出的幼蟹生长速度很快，当年体重长到150g左右即可达到性成熟，成为补充群体。冬眠后的雌蟹来年产卵后，可继续蜕壳生长，第3年还可产卵繁殖。雄蟹在第2年越冬洄游前大量死亡。本部分保留原标准内容。

### 2.5.5 产卵量

宋海棠（1988）研究表明一个产卵期内，三疣梭子蟹可排卵1-3次，属多次排卵类型。王玉堂（2009）研究表明雌蟹产卵的数量与亲蟹的大小成正比关系，大约在80万-450万粒。但同一雌蟹的抱卵数，第二次为第1次的平均值的86%，第3次为第2次的79%左右。每1g湿卵的粒数大约在2.4万-4.0万粒。孙颖民（1982）研究表明抱卵量与个体大小有关，渤海三疣梭子蟹抱卵量在13万-220万粒间，宋海棠（1988）研究表明浙江沿岸三疣梭子蟹抱卵量在3.53万-266.3万粒间。王浦东（1995）不同时期，三疣梭子蟹抱卵量也有差异。研究表明排卵量与甲宽、体重关系密切，一般随甲宽、体重的增加而增加。排卵量与体重大致呈线性关系（王浦东，1995；邓景耀，1986）。三疣梭子蟹一次产卵的数量，同亲蟹的大小大体成正比，为 $80 \times 10^4$ 粒~ $450 \times 10^4$ 粒，同一雌蟹的抱卵数，第二批和第三批均小于第一批次，例如，全甲宽为20 cm的雌蟹，至产出第三批次的年产卵量，约为 $600 \times 10^4$ 粒~ $660 \times 10^4$ 粒。因此本部分保留原标准内容。

### 2.5.6 繁殖水温

在渤海，7月是越年蟹交配的盛期，春夏之交是梭子蟹的繁殖季节，三疣梭子蟹的产卵活动集中分布于沿海河口附近。4月下旬底层水温升至 $14^{\circ}\text{C}\sim 26^{\circ}\text{C}$ 时开始产卵，在我国沿海产卵期由南向北向后推移。

## 2.6 细胞遗传学特性

朱冬发（2005），以成熟卵、精巢、胚胎及溞状幼体为材料进行三疣梭子蟹染色体数目和核型的研究。染色体制片采用组织切片法和气干法，用Olympus显微镜进行观测，摄影，依据Levan等的染色体分类标准进行核型分析。最终研究表明，精巢最适宜进行三疣梭子蟹染色体计数，卵内溞状幼体最适宜做核型分析。三疣梭子蟹染色体的数目是 $2n=106$ ， $n=53$ （图三）。核型分析显示，三疣梭子蟹有20对（第1-20号）中部着丝粒染色体（m）、3对（第21-23号）亚中部着丝粒染色体（sm）和30对（第24-53号）端部着丝粒染色体（t）。因此，三疣梭子蟹核型为 $2n=106=40m+6sm+60t$ （图四），染色体臂数 $NF=152$ ，没有检查出异形性染色体的存在。另外请山东省海洋资源与环境研究院农业部渔业产品质量监督检测中心（烟台）对三疣梭子蟹染色体核型进行验证，验证结果相吻合。



图3 三疣梭子蟹卵内溞状幼体细胞有丝分裂中期相

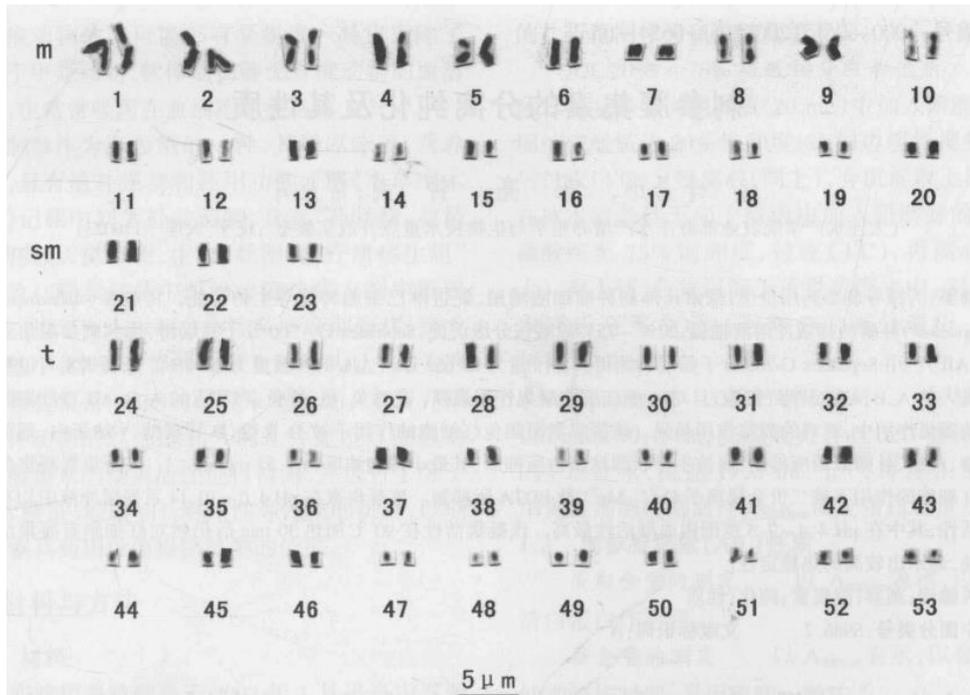


图 4 三疣梭子蟹染色体组型图

## 2.7 分子遗传学特性

随着分子生物学技术的不断发展以及 DNA 序列的大量积累，DNA 条形码技术（DNA Barcoding）成为近年来发展起来的一种基于分子生物学技术进行物种鉴定的新方法。2003 年，加拿大圭尔夫大学（University of Guelph）的生物学家 Paul Hebert 等人对动物界，包括脊椎动物和无脊椎动物共 11 门 13320 个物种的线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I（Cytochrome C oxidase I, COI）基因序列的特定区段比较分析，除刺胞亚门（Cnidaria）的腔肠动物外，98% 的物种遗传距离差异在种内 0%~2%，种间平均可达到 11.3%，据此提出可以用单一的小片段基因作为物种的条形编码，其变异为不同动物门类中关系密切的物种类群提供一种快速、准确和自动化的识别方法，从而构建物种鉴别体系。大量的研究表明，运用 COI 基因可以对超过 95% 的物种进行准确鉴定，并通过研究 DNA 条形码确定了基于 COI 进行物种鉴定的 K2P 遗传距离临界值，该 K2P 遗传距离被界定为 2%，不超过这一临界值皆被判定为相同物种（Hebert et al., 2003）。

对采集的 50 个三疣梭子蟹样品通过基因组 DNA 提取及序列扩增。首先将三疣梭子蟹肌肉组织用蛋白酶 K 消化后，用 DNA 提取试剂盒或常规酚方法提取基因组 DNA。DNA 模板溶解于 100 μL TE 缓冲液中作为母液备用。将母液稀释为工作液后进行序列扩增。扩增引物根据 Ward et al (2005) 等的研究订购。PCR 反

应体系为：25 μL 反应液中 2.0mM MgCl<sub>2</sub>，0.2 mM 每种 dNTP，0.2uM 每种引物，1ul DNA 模板，1UTaq 酶及 1×缓冲液。总 DNA 约为 20 ng。PCR 反应程序为：94℃预变性 2min，94℃ 45 s，50℃ 1min，72℃ 1min，循环 35 次，然后 72℃延伸 5min。PCR 反应在热循环仪上完成。纯化后的 PCR 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测后双向测序。PCR 产物经过检测、纯化后送生物公司双向测序（ABI Prism 3730），测序引物与扩增引物相同（Ward et al., 2005）。

将获得的 COI 基因片段在 NCBI 数据库中采用 BLAST 手段进行同源序列比对，结果发现与已发布三疣梭子蟹序列相似度高达 100%，进一步使用 MEGA 软件将所得 COI 序列片段与数据库中已知三疣梭子蟹 COI 序列计算种内 K2P 遗传距离（Kimura, 1980），发现群体内部的 K2P 遗传距离在 0%-1%之间，均小于 1%。本实验获得的三疣梭子蟹线粒体 658bp 的 DNA COI 片段碱基序列如下：

TACATTATAT	TTTATTTTTG	GAGCATGATC	AGGAATAGTA	GGAACTTCAC	TTAGTCTAAT	60
TATTCGTGCT	GAATTAGGAC	AACCCGGTAC	TCTTATTGGC	AACGACCAA	TTTACAATGT	120
TGTAGTCACA	GCTCATGCTT	TCGTCATGAT	TTTCTTTATA	GTTATACCAA	TCATAATTGG	180
AGGATTCGGT	AATTGATTAG	TACCCCTAAT	ATTAGGAGCT	CCTGATATAG	CCTTCCCCCG	240
TATAAATAAC	ATAAGATTCT	GACTTCTTCC	TCCTTCATTA	ACTCTTCTTC	TTATAAGAGG	300
TATAGTAGAA	AGAGGTGTAG	GTACTGGATG	AACTGTATAT	CCTCCTCTTT	CTGCCGCAAT	360
TGCCCATGCC	GGTGCATCAG	TAGACTTAGG	AATTTTTTCT	CTTCATTTAG	CAGGAGTTTC	420
ATCTATTTTA	GGTGCAGTAA	ATTTTATAAC	CACTGTTATT	AATATACGAT	CTTTTGGTAT	480
AAGAATAGAC	CAAATACCAC	TATTTGTATG	ATCGGTATTT	ATTACTGCAA	TTCTTCTTCT	540
TTTATCTCTC	CCTGTTCTGG	CAGGAGCTAT	TACTATACTT	CTCACAGATC	GTAATTTAAA	600
TACTTCATTC	TTCGATCCTG	CCGGGGTGG	AGACCCGTT	CTTTACCAAC	ATCTCTTC	658

三疣梭子蟹与同属其他蟹类间的平均遗传距离均大于 2%。因此本文件规定三疣梭子蟹种内 K2P（Kimura 2-parameter,K2P）遗传距离应小于 2%。

### 3、标准修订前后技术内容对比：

本文件与GB/T 20556—2006相比，除结构调整和编辑性修改外，主要技术内容变化如下：

- a) 删除了“分布与生态习性”（见2006年版的第4章）；
- b) 删除了“生化遗传学特征”（见2006年版的第7章）及对应的检测方法（见2006年版的9.2）；
- c) 增加了“细胞遗传学特性”（见第7章）及检测方法（见9.4）；

d) 增加了“分子遗传学特性描述”(见第8章, 2006年版的第8章)及相应的检测方法(见9.5);

e) 增加了形态结构特征和生长与繁殖特性的检测方法(见9.1、9.2);

f) 更改了“判定规则”(见第10章, 2006年版的第10章);

g) 删除了“附录A、附录B”(见2006年版的附录A、附录B)。

**(三) 试验验证的分析、综述报告, 技术经济论证, 预期的经济效益、社会效益和生态效益;**

### **1、主要实验(或验证)的分析、综合报告**

(1) 形态特征: 对50个三疣梭子蟹样本的外部形态特征和内部构造特征进行测量和描述, 结果与相关参考书籍资料以及农业农村部淡水鱼类种质监督检验测试中心验证报告的描述一致。

(2) 可量性状: 对三疣梭子蟹进行各性状的全面测定, 并计算可量性状比例值等, 分析结果与相关参考资料以及农业农村部淡水鱼类种质监督检验测试中心验证报告的结果相符。

(3) 生长与繁殖: 《日本三疣梭子蟹的育苗、养殖技术和放流研究》一书(刘卓等编译, 农牧渔业部水产局, 1983年3月, 内部参考资料), 结论准确、可靠, 与参考文献的结果一致。

(4) 染色体组型分析: 通过参考文献及山东省海洋资源与环境研究院农业部渔业产品质量监督检测中心(烟台)的进一步验证, 油镜下选取分散良好、形态清晰的分裂相, 记数其染色体数目, 记录统计到的细胞染色体数, 并计算其众数, 确定其染色体数目。本实验所得的三疣梭子蟹的染色体与已经报道的染色体研究结果一致。

(5) 分子遗传学特性: 采用PCR扩增获得的16S rRNA基因片段与NCBI数据库中同源序列进行BLAST比对, 发现与已发布的三疣梭子蟹序列相似度高达100%, 进一步使用MEGA软件将所得序列片段与数据库中已知三疣梭子蟹序列计算不同群体内部的K2P遗传距离0-1%间, 均小于2%, 为同种不同个体间差异水平。

综上所述, 本标准中数据与相关参考文献和第三方验证机构获得的数据一致, 在广泛征求意见过程中没有提出重大意见, 标准的数据具有较好的适用性和重现性。

### **2、技术经济论证和预期经济效果**

三疣梭子蟹作为我国重要地海水养殖品种，为保存和保护三疣梭子蟹的优良经济性状和种质纯度，防止苗种生产中种质混杂和性状退化，开展三疣梭子蟹种质标准的制定工作，对促进三疣梭子蟹产业的规范化、科学化和标准化，保证该产业的持续健康发展具有重要的现实意义。

标准技术内容技术上先进且经济上合理。本标准的制定，以三疣梭子蟹种质性状的检测和鉴定为目的，以社会公益性为特色，将实现经济效益、社会效益和生态效益的共赢。本标准的贯彻实施，将有利于国家管理部门和种质检测部门对三疣梭子蟹种质进行监测和鉴定，有利于优化三疣梭子蟹种质资源和优良品种，维护和提高三疣梭子蟹的优良经济性状，提高三疣梭子蟹增养殖的经济、社会和生态效益，保持三疣梭子蟹增养殖业持续发展。此外，还有助于进一步健全和完善我国水产行业标准体系，促进水产品质量安全水平稳步提升，积极发挥农业标准化在推进农业产业化、培育农业名牌产品、发展效益农业、实施科教兴农中的重要作用。

**（四）与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况；**

虽然目前国内外有对三疣梭子蟹的生物学和遗传学研究的相关报道，但在国外未见同类标准发布。本标准在修订时，根据我国的实际情况，对国内外研究成果和生产经验进行了综合分析和研究吸收。

**（五）以国际标准为基础的起草情况，以及是否合规引用或者采用国际国外标准，并说明未采用国际标准的原因；**

本文件不存在以国际标准为基础的起草情况，不存在引用或采用国际国外标准。本文件主要技术内容依据我国的三疣梭子蟹科研和生产实际情况，对 GB/T 20556-2006《三疣梭子蟹》进行修订和提升，本文件的修订仅按国内标准管理要求实施。

**（六）与有关法律、行政法规及相关标准的关系；**

本文件起草小组修订三疣梭子蟹标准，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进行修订；在修订过程中，标准起草

小组依据《水产苗种管理办法》中有关水产种质资源保护的相关规定和三疣梭子蟹的现状确立了对三疣梭子蟹种质标准进行修订；依据《水产原、良种审定办法》、《水产原良种场生产管理规范》和《水产养殖质量安全管理规定》确定三疣梭子蟹样品采集原则；本文件符合《中华人民共和国渔业法》、符合农业农村部《加快推进水产养殖业绿色发展的若干意见》、符合农业农村部《2020 年渔业渔政工作要点》中“加快渔业高质量绿色发展相关标准制修订”等要求，本文件是贯彻 2021 年中央深改委审议通过《种业振兴行动方案》的行动内容之一。本文件依据 GB/T 22213 界定本标准的术语，依据 GB/T 18654.12 完成本文件的染色体组型分析。以上规范性引用文件指导本标准的顺利实施，实用性强。本文件与有关的现行法律、法规和强制性标准相协调，没有矛盾。

**（七）重大分歧意见的处理经过和依据；**

无重大分歧意见。

**（八）涉及专利的有关说明；**

不涉及相关专利。在标准征求意见阶段，已进行专利征集的相关声明（标准文本的封面标明了“在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上”）。目前没有收到有关专利的反馈。

**（九）实施国家标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议等措施建议；**

三疣梭子蟹是我国重要的海水养殖品种。本文件发布后，建议业务主管部门加强对标准的宣传，并组织贯彻实施，以加快三疣梭子蟹向规范化、标准化方向发展，同时将该标准作为技术推广和有关评比、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，对三疣梭子蟹种质资源进行全面的检测鉴定，优化三疣梭子蟹种质资源。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。因此，本标准应尽快发布实施，废止现行标准 GB/T 20556-2006《三疣梭子蟹》，建议过渡期为 6 个月。

**（十）其他应当说明的事项。**

1. 本文件为一项重要的基础性标准，其制定主要用于三疣梭子蟹的种质资源保护，不涉及到农产品质量安全有关的技术内容范畴。
2. 本文件不涉及版权问题，不存在版权风险。

#### 主要参考文献:

- [1]戴爱云, 冯钟琪, 宋玉枝。三疣梭子蟹渔业生物资源的初步调查[J], 动物学杂志, 1977, (2): 30-33。
- [2]邓景耀等, 渤海三疣梭子蟹的生物学。《甲壳动物学论文集》。北京: 科学出版社, 1986, 77-85。
- [3]董志国, 中国沿海三疣梭子蟹群体形态、生化与分子遗传多样性研究[D]。上海海洋大学, 博士学位论文, 2012。
- [4]刘卓等编译, 日本三疣梭子蟹的育苗、养殖技术和放流研究[M]。农牧渔业部水产局, 1986, 1-35。
- [5]宋海棠, 丁跃平, 许源剑浙江北部近海二疣梭子蟹生殖习性研究[J], 浙江水产学院学报, 1988.7 (1): 39-46。
- [6]宋海棠, 丁耀平, 许源剑。浙江近海三疣梭子蟹洄游分布和群体组成特征[J], 海洋通报, 1989.8 (1): 66-74。
- [7]宋海棠, 俞存根, 薛利建等。东海经济虾蟹类[M]。北京: 海洋出版社, 2006.8。
- [8]沈嘉瑞, 刘瑞玉。我国的虾蟹[J], 北京: 科普出版社, 1965。
- [9]孙颖民, 门愚, 孙进杰。三疣梭子蟹幼体发育, 水产学报, 1982.8(3): 219-226。
- [10]王克行等, 虾蟹类增养殖学[M]。北京: 中国农业出版社, 1997, 291-310。
- [11]王浦东, 三疣梭子蟹增养殖技术[J], 海洋科学, 1995.6 (31): 65-69。
- [12] 谢忠明,海水经济蟹类养殖技术. 北京:中国农业出版社,2002.
- [13] 杨思谅,陈惠莲,戴爱云,中国动物志、无脊椎动物(第四十九卷)、甲壳动物亚门、十足目、梭子蟹科.北京:科学出版社,2012.
- [14]朱冬发, 王春琳, 李志强[J], 水产学报, 2005 (29): 649-653。