

ICS 65.150
CCS B 52

SC

中华人民共和国水产行业标准

SC/T 1180—2025

鼋

Asian giant softshell turtle

2025-01-09 发布



中华人民共和国农业农村部 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。

本文件由农业农村部渔业渔政管理局提出。

本文件由全国水产标准化技术委员会淡水养殖分技术委员会(SAC/TC 156/SC 1)归口。

本文件起草单位：中国水产科学研究院珠江水产研究所、佛山市高明区万绿源生态种养殖有限公司。

本文件主要起草人：朱新平、陈辰、洪孝友、李伟、郑光明、仇全波、于凌云、刘晓莉、王亚坤、尹怡、刘毅辉、魏成清、陈海港、周锦芬。



鼈

1 范围

本文件确立了鼈 (*Pelochelys cantorii* Gray, 1864)的学名与分类,规定了鼈的主要形态构造特征、生长与繁殖、细胞遗传学和分子遗传学特性,描述了相应的检测方法,给出了判定规则。

本文件适用于鼈的种质检测与鉴定。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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

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 18654.3 养殖鱼类种质检验 第3部分:性状测定

GB/T 18654.12 养殖鱼类种质检验 第12部分:染色体组型分析

SC/T 1108 鳖类性状测定

3 术语和定义

GB/T 18654.3 和 SC/T 1108 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

背部长 carapace length

背部中线前缘至后缘的直线距离。

3.2

背部宽 carapace width

背部最宽处的直线距离。

3.3

吻长 snout length

吻端至眼眶前缘的距离。

[来源:SC/T 1108—2011,3.5]

3.4

吻突长 proboscis length

吻前端突出肉质部分的长度。

[来源:SC/T 1108—2011,3.6,有修改]

3.5

眼径 eye diameter

眼眶内缘的最大直径。

[来源:SC/T 1108—2011,3.7]

3.6

眼间距 interorbital width

左右眼眶上缘之间的最窄距离。

[来源:GB/T 18654.3—2008,3.9,有修改]

3.7

性成熟年龄 sexual maturity age

初次达到性成熟的年龄。

3.8

窝卵量 number of eggs in the clutch

每窝卵的数目。

4 学名与分类

4.1 学名

鼈 (*Pelochelys cantorii* Gray, 1864)。

4.2 分类地位

脊索动物门(Chordata), 脊椎动物亚门(Vertebrate subphylum), 爬行纲(Reptilia), 龟鳖目(Testudinata), 鳖科(Trionychidae), 鳖亚科(Trionychinae), 鼈属(*Pelochelys*)。

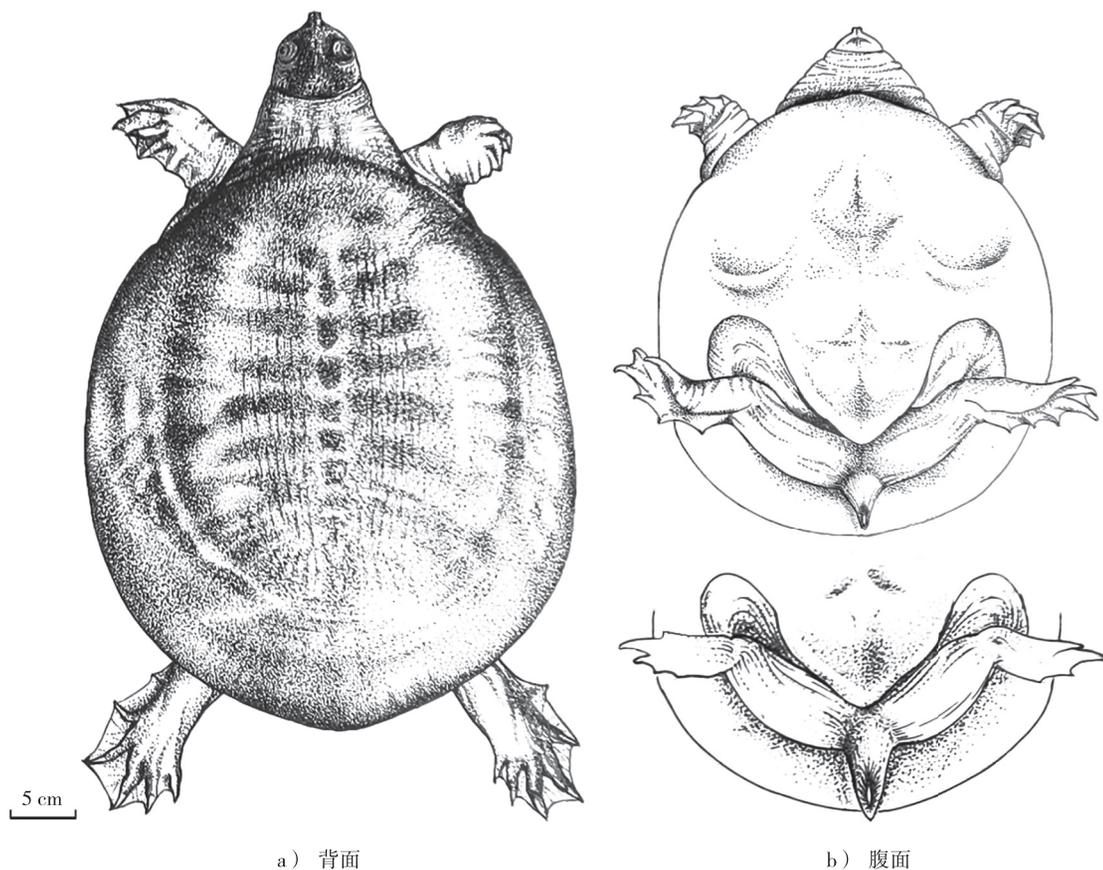
5 主要形态构造特征

5.1 外部形态特征

5.1.1 外形

体形近圆形, 背部稍隆起, 腹部扁平。体表皮肤裸露, 无角质盾片、缘板等覆盖。头部小, 呈棕褐色。头背部宽平且光滑, 背颈部光滑无疣粒。头部常半包裹于颈部前翻的皮褶之内。背部外观呈圆盘状, 成体为棕褐色, 表面有虫蚀样凹纹, 无斑点; 稚鼈为黄褐色, 边缘颜色较浅, 表面分散有圆形深色斑点和碎石状灰白色斑块, 中部可见一条沿体轴方向的低平纵脊, 纵脊随生长逐渐消失。腹部黄白色, 无斑点。四肢扁平, 位于身体侧方, 背面为棕褐色, 腹面为黄白色。尾部较短, 位于身体后端。

鼈外形见图 1。



注: 腹面图上半部所示为雌性, 下半部所示为雄性。

图 1 鼈外形图

5.1.2 头

吻部钝,前端为管状吻突。吻突短,长度约为眼径的一半。口裂大且宽,上下颚无齿,但具细弱角质鞘。口裂上下方均具唇褶,唇褶自口裂前部向后延伸至口裂末端。眼小而靠近吻前端,呈圆形,具眼睑,眼径与眼间距近似相等。

5.1.3 颈

颈部粗壮,呈椎形,喉部具皮褶,前后伸缩有力,但不能向体背后方翻转。

5.1.4 躯干

背甲宽平,自颈部后自然隆起,表面可见 8 对肋痕。背甲边缘为宽厚的肉质裙边,裙边自背甲前端向后方自然延伸。腹部光滑,具 4 处~5 处巨大胼胝体,分别位于腹甲骨板之上。

5.1.5 四肢

四肢扁平,后肢较前肢粗壮。前后肢均为五趾型,趾端有爪,内侧 3 趾有爪外露,外侧 2 趾爪隐于皮下,外侧最后一趾与外侧第二趾距离较远。前、后肢趾间均具全蹼,外侧最后一趾以皮膜与肢体相连,皮膜可延伸至附肢基部。

5.1.6 尾

尾部呈倒锥形,雄性尾部较雌性粗壮,内含交接器。

5.2 可量性状

在人工养殖条件下体重 258 g~1 873 g,背部长 13 cm~25 cm 的鼋,可量性状的实测比值见表 1。

表 1 鼋可量性状的实测比值

背部宽/背部长	吻长/背部长	吻突长/背部长	眼径/背部长	眼间距/背部长
0.855~1.021	0.026~0.047	0.015~0.024	0.030~0.042	0.029~0.046

6 生长与繁殖

6.1 生长

人工养殖条件下,鼋不同年龄组实测平均体重、背部长和背部宽见表 2。

表 2 鼋不同年龄组实测平均体重、背部长和背部宽

年龄 龄	体重 g	背部长 cm	背部宽 cm
1 ⁺	258.9~445.0	13.57~16.73	12.62~16.05
2 ⁺	502.2~882.8	17.22~22.16	16.35~21.09
3 ⁺	924.6~1 873.3	19.54~25.32	19.47~23.73

6.2 繁殖

6.2.1 性成熟年龄

10 龄以上。

6.2.2 繁殖期

4 月—8 月。

6.2.3 繁殖类型

卵生型,多次分批产卵。雌鼋每年可产卵 3 窝~6 窝,窝卵量为 29 枚~52 枚,相邻两批产卵间隔时间为 12 d~20 d。

6.2.4 卵

卵呈圆球形,壳白色、钙质化,卵径 2.97 cm~3.35 cm。

7 遗传学特性

7.1 细胞遗传学特性

鼋体细胞染色体数： $2n = 66$ 。核型公式： $12m + 12sm + 14st + 28mc$ 。染色体臂数(NF):90。鼋染色体组型见图 2。

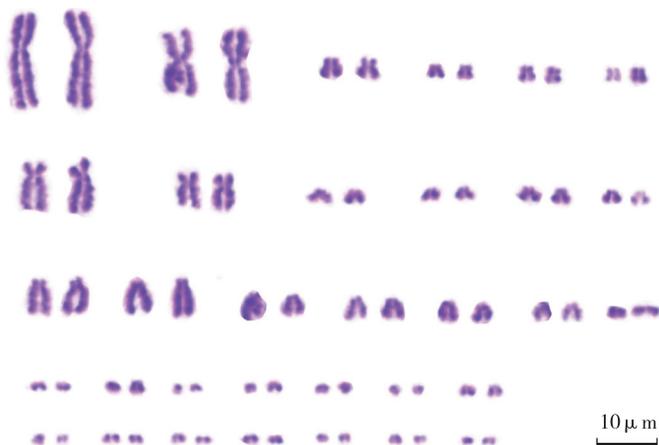


图 2 鼋染色体组型图

7.2 分子遗传学特性

线粒体基因组 D-Loop 区特异性引物 D1-F(ATTAATTCATGCTTGTAGGAC)和 D1-R(CG GGG-TAGGGGGTTTAG)扩增片段为 2 条,大小分别为 107 bp 和 370 bp,PCR 扩增产物琼脂糖电泳图谱见图 3。

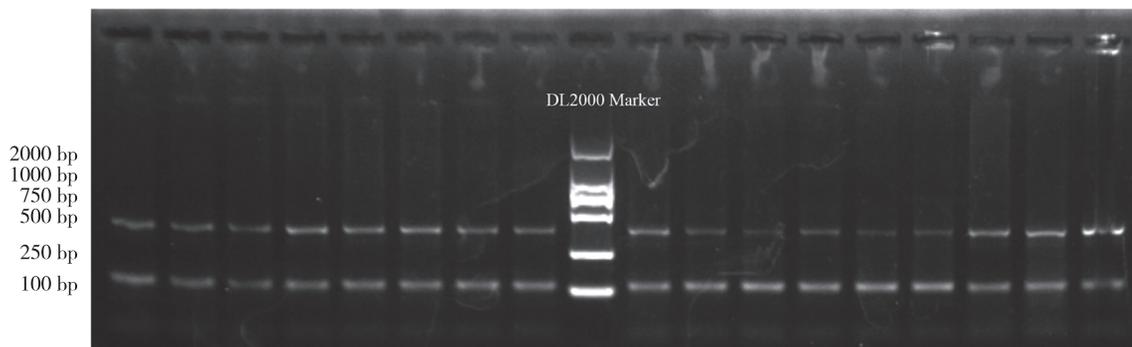


图 3 鼋线粒体基因组 PCR 扩增产物琼脂糖电泳图谱

8 检测方法

8.1 抽样

按照 GB/T 18654.2 的规定执行。

8.2 主要形态构造特征测定

8.2.1 外形

在自然光下用肉眼观察。

8.2.2 可量性状

可量性状按附录 A 进行测量。

8.3 生长与繁殖检测

8.3.1 生长

体重按 GB/T 18654.3 的方法测定,背部长和背部宽按附录 A 进行测量。

8.3.2 繁殖

性成熟年龄查阅养殖记录。产卵 24 h 后,对窝卵量进行计数。使用游标卡尺测量卵径。

8.4 细胞遗传学特性

8.4.1 染色体标本制备

按照附录 B 的方法,在 25 ℃下培养外周血细胞 72 h 以上。向培养基中加入秋水仙素,使其终浓度为 0.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$,继续培养 3 h~4 h。收集细胞,加入 0.075 mol/L 的氯化钾溶液 10 mL,低渗处理 40 min~50 min,1 000 r/min~1 500 r/min 离心 5 min。固定、滴片、染色和染色体计数按照 GB/T 18654.12 的方法进行。

8.4.2 染色体核型

按照 GB/T 18654.12 的方法测定。

8.5 分子遗传学特性

采集鳃背部静脉血,按照附录 C 的方法进行。

9 结果判定

按照 GB/T 18654.1 的规定执行。

10 判定规则

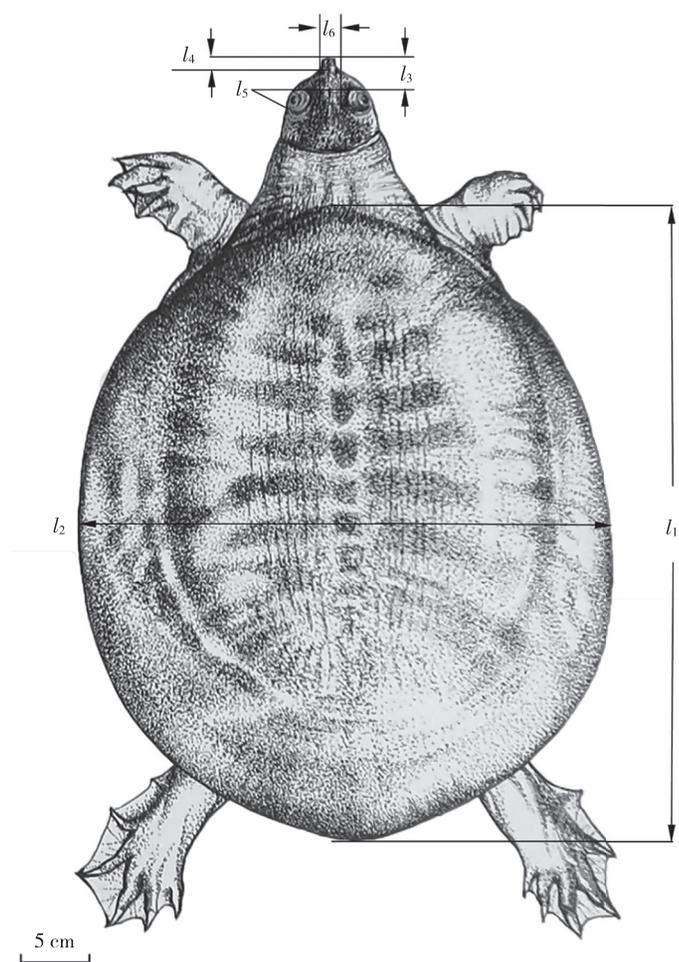
10.1 当检测结果符合第 5 章要求时,可判定为该物种。当可数性状符合本文件规定,而形态性状、可量性状不符合本文件规定或与本文件规定有明显差异时,则应结合其他指标综合判定。

10.2 当出现下列情况时,需增加检测其他章节要求内容,依据检测结果对物种进行综合判定:

- a) 必要时,检测第 7 章的内容;
- b) 第三方提出要求检测第 6 章全部或部分内容时;
- c) 全项检测时。

附录 A
(规范性)
鼈可量性状测量示意图

A.1 规定了鼈可量性状测量。



标引序号说明：

l_1 ——背部长；

l_2 ——背部宽；

l_3 ——吻长；

l_4 ——吻突长；

l_5 ——眼径；

l_6 ——眼间距。

图 A.1 鼈可量性状测量示意图

附录 B
(规范性)
体外周血细胞培养方法

B.1 试剂和材料**B.1.1 试剂**

除非另有说明,在试验中仅使用细胞培养级的试剂。

B.1.1.1 水:水为符合 GB/T 6682 规定的二级及以上水。

B.1.1.2 肝素钠($C_{12}H_{17}NO_2OS_3$)。

B.1.1.3 4-羟乙基哌嗪乙磺酸($C_8H_{18}N_2O_4S$)。

B.1.1.4 亚硒酸钠(Na_2SeO_3)。

B.1.1.5 丙酮酸钠($C_3H_3NaO_3$)。

B.1.1.6 β -巯基乙醇(C_2H_6OS)。

B.1.1.7 L-谷氨酰胺($C_5H_{10}N_2O_3$)。

B.1.1.8 重组人碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)。

B.1.1.9 氯化钠(NaCl):分析纯。

B.1.1.10 植物血球凝集素(PHA-P)。

B.1.2 溶液

B.1.2.1 Eagle 最低基础培养基(MEM):市售。

B.1.2.2 胎牛血清:市售。

B.1.2.3 非必需氨基酸:市售,100 \times 。

B.1.2.4 青霉素-链霉素双抗:市售,100 \times 。

B.1.2.5 肝素钠溶液(0.1%):称取 0.1 g 肝素钠(B.1.1.2),用水(B.1.1.1)溶解,定容至 100 mL。

B.1.2.6 培养液:以 Eagle 培养基(B.1.2.1)为基础,每毫升培养液加入 0.15 mL 胎牛血清(B.1.2.2),20 mmol 4-羟乙基哌嗪乙磺酸(B.1.1.3),2 nmol 亚硒酸钠(B.1.1.4),1 mmol 丙酮酸钠(B.1.1.5),55 μ mol β -巯基乙醇(B.1.1.6),1 mmol L-谷氨酰胺(B.1.1.7),5 ng 重组人碱性成纤维细胞生长因子(B.1.1.8),10 μ L 非必需氨基酸(B.1.2.3),10 μ L 青霉素-链霉素双抗(B.1.2.4)。

B.1.2.7 生理盐水(0.75%):称取 0.75 g 氯化钠(B.1.1.9),加水(B.1.1.1)溶解,定容至 100 mL,121 $^{\circ}$ C 高压灭菌 15 min。

B.1.2.8 植物血球凝集素溶液(1 mg/mL):称取植物血球凝集素(B.1.1.10)1 mg,用 1 mL 生理盐水(B.1.2.7)溶解。

B.1.3 材料

B.1.3.1 真空采血管:无菌。

B.1.3.2 细胞培养瓶:25 mL,弯颈,聚苯乙烯材质。

B.1.3.2 离心管:10 mL。

B.2 仪器和设备

B.2.1 电子天平:感量分别为 0.000 1 g 和 0.01 g。

B.2.2 超纯水机:电导率(25 °C)≤0.1 mS/m。

B.2.3 恒温培养箱。

B.2.4 高压灭菌锅。

B.2.5 低速离心机:最高转速≥1 000 r/min。

B.2.6 容量瓶:100 mL。

B.2.7 移液器:量程可调,2 μL~20 μL、20 μL~200 μL、1 mL~5 mL。

B.3 样品制备

使用真空采血管(B.1.3.1)从鼯背颈部抽取静脉血 1 mL。加入肝素钠溶液(B.1.2.5),轻微振荡,混合均匀。4 °C 冰箱中静置 2 h 待血液分层,弃掉上层清液,保留下层血细胞。

B.4 培养步骤

B.4.1 细胞接种

使用移液器移取 3 mL~5 mL 培养液(B.1.2.6)和 5 μL 的 PHA-P 溶液(B.1.2.8)于细胞培养瓶(B.1.3.2)中,然后加入 200 μL 血细胞,轻轻摇动培养瓶,混合均匀。将培养瓶平放于恒温培养箱中,25 °C 培养 3 d~5 d,每天需将培养瓶轻轻摇动 1 次~2 次。

B.4.2 细胞收集

培养瓶中加入 5 mL 的生理盐水(B.1.2.7),轻轻振荡培养瓶 30 s,将全部液体转移到离心管(B.1.3.3)中。1 000 r/min 离心 2 min。吸除上清液后,重新加入 1 mL 的生理盐水(B.1.2.7)吹打均匀。

附录 C

(规范性)

電线粒体基因组特异性引物 PCR 扩增方法

C.1 试剂和耗材

C.1.1 试剂

除非另有说明,仅使用分析纯及以上试剂和去离子水或相当纯度的水。

C.1.1.1 蛋白酶 K: ≥ 30 U/mg。

C.1.1.2 尿素(NH_2CONH_2)。

C.1.1.3 三(羟甲基)氨基甲烷($\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$, Tris)。

C.1.1.4 氯化钠(NaCl)。

C.1.1.5 十二烷基磺酸钠($\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_3\text{S}$, SDS)。

C.1.1.6 二水合乙二胺四乙酸二钠($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, EDTA- $\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)。

C.1.1.7 浓盐酸(HCl):质量分数 $\geq 37\%$ 。

C.1.1.8 三氯甲烷(CHCl_3)。

C.1.1.9 异戊醇($\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}$)。

C.1.1.10 三水合乙酸钠($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)。

C.1.1.11 冰乙酸(CH_3COOH):17.5 mol/L。

C.1.1.12 无水乙醇($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$)。

C.1.1.13 氢氧化钠(NaOH)。

C.1.1.14 硼酸(H_3BO_3)。

C.1.1.15 琼脂糖。

C.1.1.16 溴化乙锭($\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{BrN}_3$, EB)。

C.1.1.17 溴酚蓝($\text{C}_{19}\text{H}_{10}\text{Br}_4\text{O}_5\text{S}$)。

C.1.1.18 二甲苯青($\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{NaO}_6\text{S}_2$)。

C.1.1.19 丙三醇($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$)。

C.1.1.20 DNA marker:DL2000。

C.1.2 溶液

C.1.2.1 Tris-饱和酚:市售, $\text{pH} \geq 8.0$ 。

C.1.2.2 PCR buffer:市售, $10\times$ 。

C.1.2.3 dNTP mix:市售,每种脱氧核酸物质的量浓度为 2.5 mmol/L。

C.1.2.4 氯化镁溶液(MgCl_2):市售, 25 mmol/L。

C.1.2.5 *rTaq* DNA 聚合酶:市售, 5 U/ μL 。

C.1.2.6 蛋白酶 K 溶液(10 mg/mL):称取蛋白酶 K(C.1.1.1)固体粉末 10 mg,用 1 mL 水溶解。

C.1.2.7 DNA 裂解液:称取尿素(C.1.1.2)180.18 g,三(羟甲基)氨基甲烷(C.1.1.3)0.606 g,氯化钠(C.1.1.4)3.653 g,十二烷基磺酸钠(C.1.1.5)5 g,EDTA- $\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (C.1.1.6) 1.861 g 溶解于 600 mL 水中,使用浓盐酸(C.1.1.7)调整 pH 至 8.0 后,继续加水定容至 1 L。

C.1.2.8 Tris-饱和酚 : 三氯甲烷 : 异戊醇混合液:量取 Tris-饱和酚(C.1.2.1)25 mL,三氯甲烷

(C.1.1.8)24 mL,异戊醇(C.1.1.9)1 mL。棕色瓶中避光,4℃保存。

C.1.2.9 三氯甲烷:异戊醇混合液:量取三氯甲烷(C.1.1.8)24 mL,异戊醇(C.1.1.9)1 mL。

C.1.2.10 乙酸钠溶液(3 mol/L):在80 mL水中溶解40.83 g三水合乙酸钠(C.1.1.10),用冰乙酸(C.1.1.11)调节pH值至5.2,继续加水定容至100 mL。

C.1.2.11 70%乙醇:量取无水乙醇(C.1.1.12)70 mL,加水定容至100 mL。

C.1.2.12 TE缓冲液(1×)。称取Tris(C.1.1.3)0.121 g,EDTA- $\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (C.1.1.6)0.037 g,溶解于80 mL水中,用浓盐酸(C.1.1.7)调pH至8.0,继续加水定容至100 mL。

C.1.2.13 EDTA溶液(0.5 mol/L,pH 8.0):称取EDTA- $\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (C.1.1.6)186.12 g,溶解于800 mL水中,用氢氧化钠(C.1.1.13)调pH至8.0,加水定容至1 L。

C.1.2.14 TBE缓冲液(0.5×):称取Tris(C.1.1.3)5.4 g,硼酸(C.1.1.14)2.75 g,量取20 mL EDTA溶液(C.1.2.13),加水定容至1 L。

C.1.2.15 溴化乙锭溶液(10 mg/mL)。称取溴化乙锭(C.1.1.16)1 g,加入100 mL水,搅拌数小时至完全溶解。

C.1.2.16 DNA加样缓冲液:称取溴酚蓝(C.1.1.17)0.25 g,二甲苯青(C.1.1.18)0.25 g,量取丙三醇(C.1.1.19)50 mL,加水定容至100 mL。

C.1.3 材料

C.1.3.1 真空采血管:无菌。

C.1.3.2 离心管:1.5 mL。

C.1.3.3 PCR管:200 μL 。

C.1.4 引物

按照7.2合成D1-F和D1-R两对引物。

C.2 仪器和设备

C.2.1.1 电子天平:感量分别为0.000 1 g和0.01 g。

C.2.1.2 酸度计。

C.2.1.3 高压灭菌锅。

C.2.1.4 离心机:最高转速 $\geq 12\ 000$ r/min。

C.2.1.5 基因扩增仪。

C.2.1.6 电泳仪。

C.2.1.7 凝胶成像系统或紫外灯。

C.2.1.8 一般实验室常用量具、器皿和设备。

C.3 样品制备

C.3.1 组织样品的采集及处理

使用灭菌剪刀剪取约100 mg 裙边组织或用真空采血管(C.1.3.1)抽取200 μL 外周血,并使用无水乙醇(C.1.1.12)固定。

C.3.2 DNA的提取

采用以下方法提取DNA,或使用等效的商品化DNA提取试剂盒,按照操作说明进行核酸提取。将固定处理好的组织样品中取出置于离心管(C.1.3.2)中,加入400 μL DNA裂解液(C.1.2.7)和20 μL 蛋白酶K溶液(C.1.2.6),55℃恒温消化4 h以上。加入等体积的Tris-饱和酚:三氯甲烷:异戊醇(C.1.2.8)旋转混合20 min,5 000 r/min室温离心15 min。吸取上清液,加入等体积的三氯甲烷:异戊醇(C.1.2.9)旋转混合20 min,5 000 r/min室温离心15 min。吸取上清液,用灭菌枪头滴入乙酸钠溶液(C.1.2.10)2滴~3滴,加入2.5倍体积的无水乙醇(C.1.1.12),旋转混合3 min~5 min,12 000 r/min

4℃离心5 min。移除上清,加入1 mL -20℃预冷的70%乙醇(C.1.2.11),12 000 r/min离心1 min。移除上清液,加入1 mL无水乙醇(C.1.1.12),12 000 r/min离心1 min。移除上清液,底部白色沉淀室温下干燥1 h。加入适量1×TE缓冲液(C.1.2.12)溶解,并调整浓度至100 ng/mL。-20℃保存备用。

C.4 测定步骤

C.4.1 PCR反应

C.4.1.1 PCR反应体系

按照以下方法,在PCR管(C.1.3.3)中配制扩增反应体系,依次加入1 μL 10×PCR buffer(C.1.2.2),0.8 μL dNTP mix(C.1.2.3),0.6 μL MgCl₂(C.1.2.4),D1-F和D1-R引物工作液(C.1.4)各1 μL,0.05 μL rTaq DNA聚合酶(C.1.2.5),1 μL DNA样品(C.3.2),4.55 μL水。

C.4.1.2 PCR反应程序

在DNA扩增仪上,按照以下方法进行反应。94℃预变性3 min;94℃变性30 s,58℃退火1 min,72℃延伸1 min,扩增30个循环;72℃延伸10 min。

C.4.1.3 琼脂糖电泳检测

0.9 g 琼脂糖(C.1.1.15)加入60 mL 0.5×TBE缓冲液(C.1.2.14),加热至完全融化。向琼脂糖中加入1 μL 溴化乙锭溶液(C.1.2.15),搅匀后倒入模具内,冷却至完全凝固。吸取2 μL PCR扩增反应后的溶液(C.4.1.2),与2 μL DNA加样缓冲液(C.1.2.16)充分混合,加入胶孔,并在旁边胶孔加入4 μL DNA marker(C.1.1.20)。使用0.5×TBE作为电泳缓冲液(C.1.2.14),150 V恒定电压电泳20 min。在凝胶成像系统或紫外灯下观察,记录结果并拍照保存。

C.4.2 结果判断

DNA样品的PCR产物为2条扩增片段,片段大小分别为107 bp和370 bp。
