

ICS 65.150
B 51
备案号: 32910-2012

DB44

广东省地方标准

DB44/T 955—2011

花尾胡椒鲷

Grunt

2011-12-06 发布

2012-03-15 实施

广东省质量技术监督局 发布

前 言

本标准由广东省海洋与渔业局提出。

本标准由中国水产科学研究院南海水产研究所质量与标准化技术研究中心归口。

本标准起草单位：中国水产科学研究院南海水产研究所、肇庆市水产科学研究所。

本标准主要起草人：张汉华、朱长波、苏天凤、杨贤庆、李来好、谢俊刚、林伟强。

花尾胡椒鲷

1 范围

本标准给出了花尾胡椒鲷 (*Plectorhynchus cinctus*) 的主要生物学特性、生长与繁殖、遗传学特性及检测方法。

本标准适用于花尾胡椒鲷的种质检测与鉴定。

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，仅所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 18654.1 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

3 名称与分类

3.1 学名

花尾胡椒鲷 *Plectorhynchus cinctus* (Temminck et Schlegel)。

3.2 俗名

加吉、胶钱、柏铁。

3.3 分类地位

鲈形目(Perciformes)，鲈亚目(Percoidei)，鲈总科(Percoidea)，石鲈科(Pomadasyidae) 胡椒鲷属 (*Plectorhynchus*) 。

4 主要生物学特性

4.1 外部形态特征

4.1.1 外形

体长椭圆形，侧扁。头肩部隆起，腹部较平。吻尖，唇厚，口端位，上颌与下颌等长，颌齿多行，为不规则的细小尖锥齿。颌部具六孔，无纵沟与须。体被细栉鳞，侧线完全。

背鳍单个，鳍棘与鳍条的缺刻不明显；腹鳍腹位；臀鳍基部短；尾鳍为截状或微凸。

体侧具三条明显条纹，第一条由头部横过眼眼睛伸向口角；第二条出现在背棘部前方，斜向伸至臀鳍的基部；第三条纹及其上方背部、背鳍条间膜散布有块状的黑色斑块(见图1)。

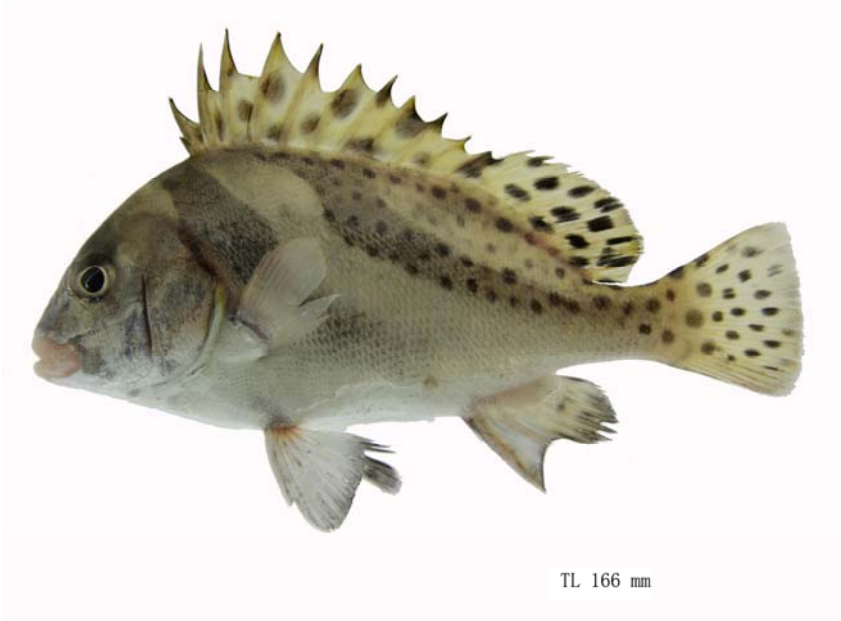


图1 花尾胡椒鲷外形图

4.1.2 可数性状

4.1.2.1 背鳍鳍式：D. XII—15.

4.1.2.2 臀鳍鳍式：A. III—7。

4.1.2.3 胸鳍鳍式：P. 16~17。

4.1.2.4 腹鳍鳍式：V. I —5.

4.1.2.5 尾鳍鳍式：C. 17。

4.1.2.6 侧线鳞：53 $\frac{15-17}{22-23}$ 58。

4.1.2.7 鳃耙数：6-7+15。

可量性状值见表1。

表1 花尾胡椒鲷可量性状比例

可量性状	比例值
体长 / 体高	2.40±0.25
体长 / 头长	3.20±0.33
头长 / 吻长	3.40±0.42
头长 / 眼径	4.45±0.45
头长 / 眼间距	2.87±0.04
尾柄长/尾柄高	1.60±0.35

4.2 内部构造特征

4.2.1 鳔

鳔一室。

4.2.2 脊椎骨

脊椎骨总数24。

4.2.3 腹膜

腹膜为灰白色。

5 生长与繁殖

5.1 生长

不同年龄组的鱼体长实测值见表2。

表2 不同年龄组的体长和体重实测值

年龄	30日	60日	75日	100日	1龄	2龄	3龄
体长/mm	3.3~3.8	5.1~7.2	6.4~9.8	7.5~12.0	150~170	270~290	300~560
体重/g	0.50~0.79	3.72~6.29	5.18~18.11	8.25~34.04	320~500	1 200~1 800	1 500~10 000

花尾胡椒鲷的生长方程和体长与体重关系式参见附录 A。

5.2 繁殖

5.2.1 性成熟年龄

雌、雄鱼性成熟年龄均为3龄；性成熟体长：300 mm~560 mm，性成熟体重：1 500 g~10 000 g。

5.2.2 繁殖类型

为雌核发育。

5.2.3 产卵习性

性腺每年成熟1次，卵为圆球形、透明、浮性，卵径为820 μm~920 μm，多数为单油球，直径为230 μm~270 μm。

5.2.4 繁殖水温

21.0℃~25.0℃。

5.2.5 怀卵量

绝对怀卵量：100万粒~200万粒；相对怀卵量：70万粒/kg体重。

6 遗传学特性

6.1 细胞遗传学特性

6.1.1 染色体数

二倍染色体数目是48，即 $2n=48$ 。

6.1.2 核型

染色体组型公式为：24t，臂数（NF）=48。

花尾胡椒鲷染色体核型见图2。

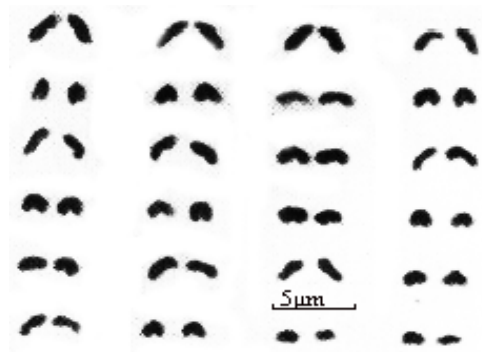


图2 花尾胡椒鲷的染色体核型

6.2 生化遗传学特性

EST同工酶的电泳酶谱见图3。

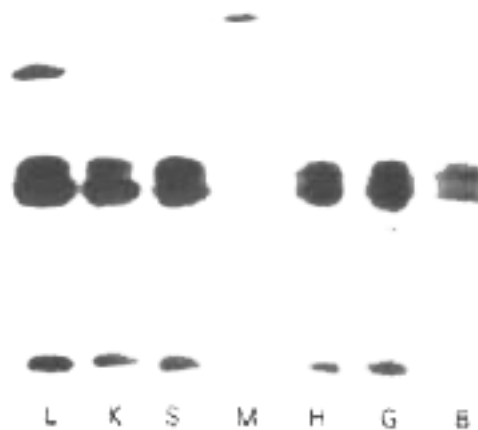


图3 花尾胡椒鲷的 EST 同工酶的电泳酶谱。

L: 肝; K: 肾; S: 脾; M: 肌肉; H: 心脏; G: 性腺; B: 脑

6.3 线粒体 16S rRNA 基因序列

花尾胡椒鲷线粒体16S rRNA基因序列见图4。

```

1 agaggtcccg cctgccctgt gacaaaaagt ttaacggccg cggtatittg accgtgcaa
61 ggtagcgcaa tcacttgtct cttaaatggg gaccctatg aatggcataa cgaggctta
121 actgtctcct ttttcaggtc aatgaaattg atctccccgt gcagaagcgg ggataaacac
181 ataagacgag aagaccctat ggagcttcag acaccaagac agaccatgtc aagcacccca
241 aattaacggg ccaaacaaat gagaccctgt cctaattgtc tcggttgggg cgaccgcggg
301 gaaatacaaa acccccatgt ggaaaggag caccctcct acagccaaga gcttcgctc
361 tattaacag aacctctgac cttaagatcc ggcaaagccg atcaacggac caagttacc
421 tagggataac agcgcaatcc ctttctagag cccatatcga caagggggtt tacgacctc
481 atgttgatc aggacatcct aatggtgcag ccgtattaa ggg

```

图4 花尾胡椒鲷线粒体 16S rRNA 基因序列

7 检测方法

7.1 抽样

按 GB/T 18654.2 的规定执行

7.2 性状测定

按 GB/T 18654.3 的规定执行。

7.3 生化分析方法

参见附录B。

7.4 染色体检测

按 GB/T 18654.12 的规定执行。

7.5 线粒体 16S rRNA 基因序列测定方法

参见附录C。

8 检验规则与结果判定

按 GB/T 18654.1 的规定执行。

附 录 A
(资料性附录)
生长方程和体长与体重关系式

A.1 体长与体重生长方程

$$L=3.6502e^{0.0350d} \dots\dots\dots (1)$$

$$W=0.7603e^{0.0050d} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

L —日龄时鱼体体长, 单位为毫米(mm);

W —日龄时鱼体体重, 单位为克(g);

e —自然对数的底;

d —鱼的日龄, 天。

A.2 体长与体重关系

$$W=9.4642 \times 10^{-3} L^{3.3566} \dots\dots\dots (3)$$

式中:

W —鱼体体重, 单位为克(g);

L —鱼体体长, 单位为毫米(mm)。

附 录 B
(资料性附录)
生化分析方法

B.1 样品制备

活鱼放血后，取肝、肾、脾、成熟性腺、心脏、肌肉、脑等7种组织，用磷酸盐缓冲液冲洗干净，冰浴匀浆。4℃下15 000 r/min离心40 min，上清液保存于-20℃冷箱备用。

B.2 电泳

采用聚丙烯酰胺垂直平板梯度凝胶电泳。样品与0.4%溴酚蓝混合后点样，每一样品重复3次。4℃时以40 mA恒流进行电泳，待指示剂迁移到距分离胶边缘1 cm处停止电泳。

电泳缓冲液：称取6.0 g三羟甲基氨基甲烷和28.8 g甘氨酸溶解在900 ml去离子水中，再加去离子水定容至1 000 mL，pH值7.0。用时稀释10倍。

聚丙烯酰胺分离胶浓度5.1%，聚丙烯酰胺浓缩胶浓度3.0%。

B.3 染色和固定

电泳结束后取出凝胶，放在EST酶活性染色液下显色，37℃显色约20 min至酶谱清晰为止。弃去染色液，用蒸馏水漂洗，再用7%冰醋酸（v/v）固定。

EST酶染色液的配制：0.20 g固蓝RR盐和0.20 g醋酸-1-萘酯分别用10 mL丙酮溶解后，倒入200 mL0.2 mol/L磷酸缓冲液（pH 6.4）中电泳结束后取出凝胶，放在LDH酶活性染色液，室温下显色约20 min，可看到清晰的蓝紫色区带。弃去染色液，用蒸馏水漂洗，再用7%乙酸（v/v）固定，然后进行摄影。

B.4 摄影、扫描

对凝胶及其谱带照相，或用扫描仪对电泳谱带进行扫描。

附 录 C

(资料性附录)

线粒体 16S rRNA 基因序列测定方法

C.1 基因组DNA提取

C.1.1 取约0.1 g样品组织，视保存方式而采用剪碎、液氮研磨、匀浆器研磨或洗涤除乙醇后剪碎样品，放入1.5 mL的离心管内，加入500 μ L STE缓冲液（10 mmol/L Tris-HCl，1 mmol/L EDTA- Na_2 ，0.1 mmol/L NaCl，以NaOH调节pH至8.0；高压灭菌），再加入10%SDS（十二烷基硫酸钠）120 μ L和20 mg/ml 蛋白酶K 10 μ L，温和混匀，56℃消化至溶液变得澄清透明。

C.1.2 加入等体饱和酚，温和颠倒混匀。12 000 g离心10 min，取上清液。取出加入蛋白酶K 60 μ L，温和混匀。

C.1.3 重复步骤C.1.2一次。

C.1.4 加等体积的酚:氯仿:异戊醇（25:24:1），温和颠倒混匀。12 000 g离心10 min，取上清液。

C.1.5 重复步骤C.1.4，直至无蛋白质中间相。

C.1.6 加入等体积的氯仿异戊醇（24:1），温和颠倒混匀。12 000 g离心10 min，取上清液。

C.1.7 加入2倍体积的无水乙醇，缓慢转动，产生絮状沉淀后，12 000 g离心10 min，沉淀DNA。

C.1.8 沉淀加入70%冰冻乙醇洗涤，-20℃静置0.5 h，12 000 g离心5 min。小心弃乙醇，沉淀下来的DNA在空气中干燥后，加水70 μ L~100 μ L溶解，-20℃保存。

C.2 线粒体 16S rRNA基因片段的扩增及测序

所用引物序列为：16S AR: 5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3'，16S BR: 5'-CCGGTCTGAAGTCTCAGATCACG-3'。在0.2 mL薄壁管中加入下列PCR反应混合液：PCR扩增缓冲液(Mg^{2+} free)5 μ L；2.5 mmol/L dNTPs 2 μ L；5 U/Taq酶0.2 μ L； Mg^{2+} (25 mmol/L)2 μ L；引物(50 pmol)各1 μ L；25 ng~250 ng基因组DNA，补充灭菌双蒸水至50 μ L。

PCR反应条件为：95℃预变性5 min，然后94℃ 1 min，55℃ 1 min，72℃ 1 min30个循环，72℃延伸5 min。

扩增产物回收后测序。