

ICS 67.120.30

B 52

备案号:

DB11

北京市地方标准

DB 11/ XXXXX—XXXX

## 鳄龟养殖技术规范

Specifications for Chelydra serpentina Aquaculture

点击此处添加与国际标准一致性程度的标识

(征求意见稿)

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

北京市市场监督管理局

发布

# 目 次

目次.....	I
前言.....	I
鳄鱼养殖技术规范.....	1
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 名称与分类.....	1
4 主要生物学特征.....	1
5 肌肉营养成分.....	4
6 细胞遗传学特征.....	5
7 生化遗传学特性.....	6
8 分子遗传学特性.....	6
9 检测方法.....	7
10 检测规则.....	8
A . 1 酯酶染色液配方.....	9
A . 2 乳酸脱氢酶染色液配方.....	9

## 前 言

本标准按照GB/T 1.1给出的规则起草。

本标准代替了DB11/T 371—2006《鳄龟》，与 DB11/T 371-2006相比，除编辑性修改外，主要技术变化如下：

- 删除了GB 17718-1999（见2006版），替换为GB/T 21044；
- 更新GB/T 5009.3-2003、GB/T 5009.4-2003、GB/T 5009.5-2003、GB/T 5009.6-2003、GB/T 18654.12-2002为GB 5009.3、GB 5009.4、GB 5009.5、GB 5009.6、GB/T 18654.12；
- 新增 GB 5009.124；
- 修改了标题中的外文名称。
- 修改了鳄龟分类地位中的中文属名和拉丁文属名（见2006版的3.2）；
- 与2006版相比，根据鳄龟优良品系选育数据，更新4.1.3和4.3的表格为柱形图以标示取值范围和中位数，4.1.3增加了鳄龟体高数据；

本标准由北京市农业农村局提出。

本标准由北京市农业农村局组织实施。

本标准起草单位：北京市水产技术推广站。

本标准起草人：

本标准历次版本发布情况为：

- DB11/T 371—2006

# 鳄龟养殖技术规范

## 1 范围

本标准规定了鳄龟 (*Chelydra serpentina*) 的主要生物学特性、内部构造特征、生长与繁殖, 肌肉营养成分、遗传学特征及其检测方法。

本标准适用于鳄龟的种质鉴定。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件, 其随后所有的修改单 (不包括勘误的内容) 或修订版均不适用于本标准, 然而, 鼓励根据标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版。凡是不注日期的引用文件, 其最新版适用于本标准。

GB 5009.3 食品安全国家标准 食品中水分的测定

GB 5009.4 食品安全国家标准 食品中灰分的测定

GB 5009.5 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定

GB 5009.6 食品安全国家标准 食品中脂肪的测定

GB 5009.124 食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定

GB/T 18654.2 养殖鱼类种质检验 第2部分: 抽样方法

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 21044 中华鳖

## 3 名称与分类

### 学名

鳄龟 (*Chelydra serpentina*)

### 3.1 分类地位

鳄龟科 (Chelydridae), 拟鳄龟属 (*Chelydra*), 鳄龟 (*Chelydra serpentina*)。

## 4 主要生物学特征

### 4.1 外部形态特征

#### 4.1.1 外形

a) 背甲黑色或棕色, 3条脊棱呈锯齿状突起, 由13~15枚盾片组成, 尾盾呈齿状。b) 腹甲呈淡黄色或浅褐色, 显著小, 呈十字状, 有多枚大而小的下缘盾。c) 头颈部皮肤粗糙, 具有明显的疣刺, 头不能缩入壳内, 上下颌略尖, 具有角质喙且上喙略钩曲。d) 四肢肌肉发达, 具有大量疣刺, 趾间具蹼。e) 尾长而尖, 尾两侧有大量疣刺, 尾背面正中具有一列强壮的角质棘棱。

鳄龟 (♂) 正面图见图1, 腹面图见图2。

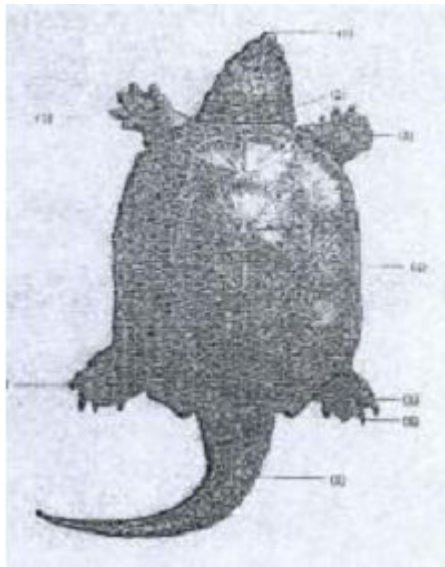


图1 鳄龟背面图

(1) 吻 (2) 颈 (3) 前肢 (4) 背甲 (5) 后肢 (6) 爪 (7) 尾

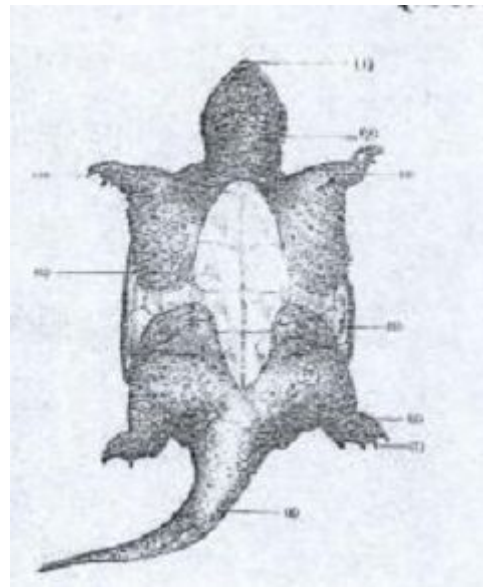


图2 鳄龟腹面图

(1) 吻 (2) 下颌 (3) 颈 (4) 前肢 (5) 缘盾 (6) 后肢 (7) 爪 (8) 尾 (9) 腹甲

#### 4.1.2 可数性状

椎盾: 5, 颈盾: 2, 肋盾: 8-10, 缘盾: 22, 臀盾: 2, 喉盾: 2, 肱盾: 2, 胸盾: 2, 腹盾: 2, 股盾: 2, 甲桥: 6, 腋盾: 2, 胯盾: 2, 肛盾: 1-2。

#### 4.1.3 可量性状

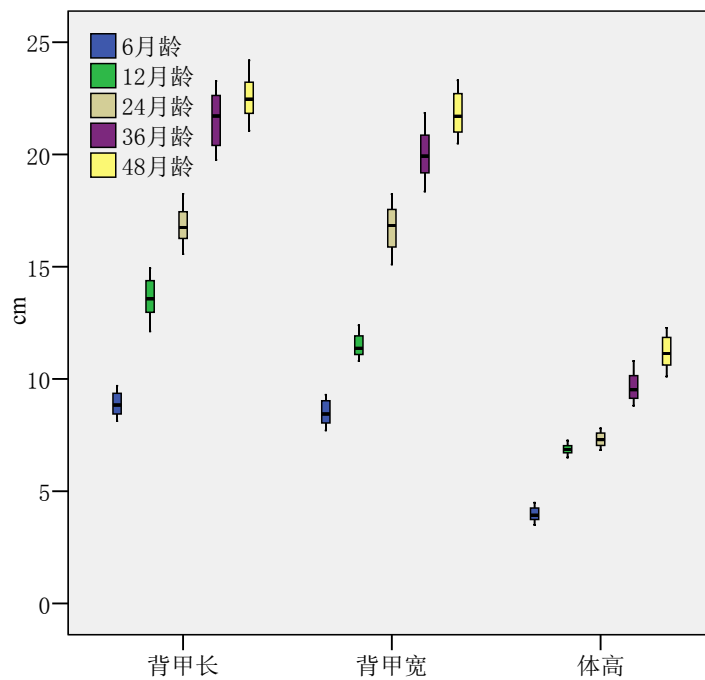


图3 不同月龄组鳄龟背甲和体高参考值

## 4.2 解剖结构特征

### 4.2.1 脊柱

颈椎8枚，胸椎10枚，荐椎2枚，尾椎20枚。

### 4.2.2 消化道

全口无齿，口裂有角质化硬鞘。食道细而长，胃较宽大，小肠盘曲位于十二指肠后。

### 4.2.3 消化腺

由肝、胰和胆等组成。肝深褐色且较大，分左右两叶，胆囊在肝叶中，胰腺乳黄色紧靠十二指肠。

### 4.2.4 肺

扁平长圆囊状，2叶。

鳄龟（♀）的解剖结构图见图4。

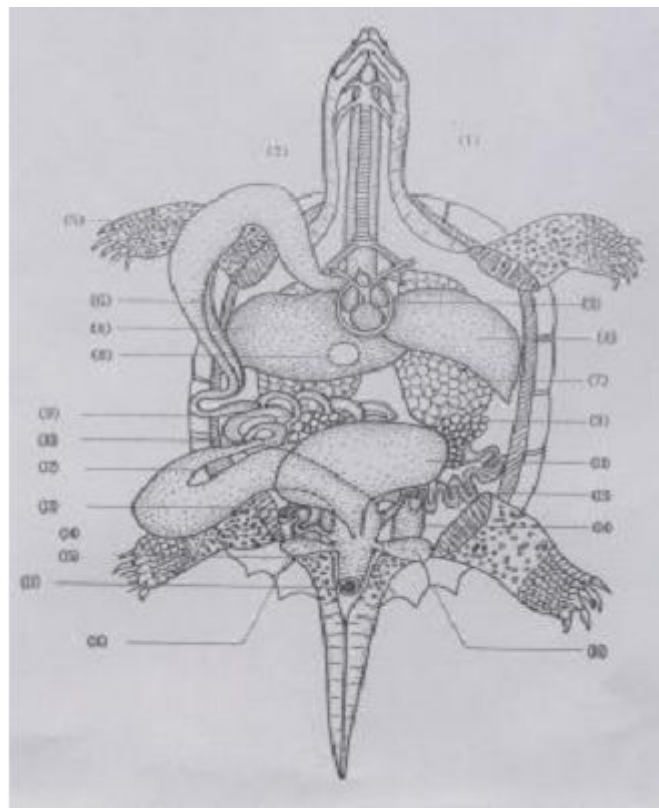


图4 鳄龟（♀）解剖结构图

(1) 气管 (2) 食道 (3) 心脏 (4) 肝脏 (5) 胃 (6) 胰脏 (7) 肺 (8) 胆囊 (9) 卵巢 (10) 小肠 (11) 膀胱 (12) 脾 (13) 输卵管 (14) 肾 (15) 泄殖腔 (16) 副膀胱 (17) 泄殖孔

## 4.3 生长

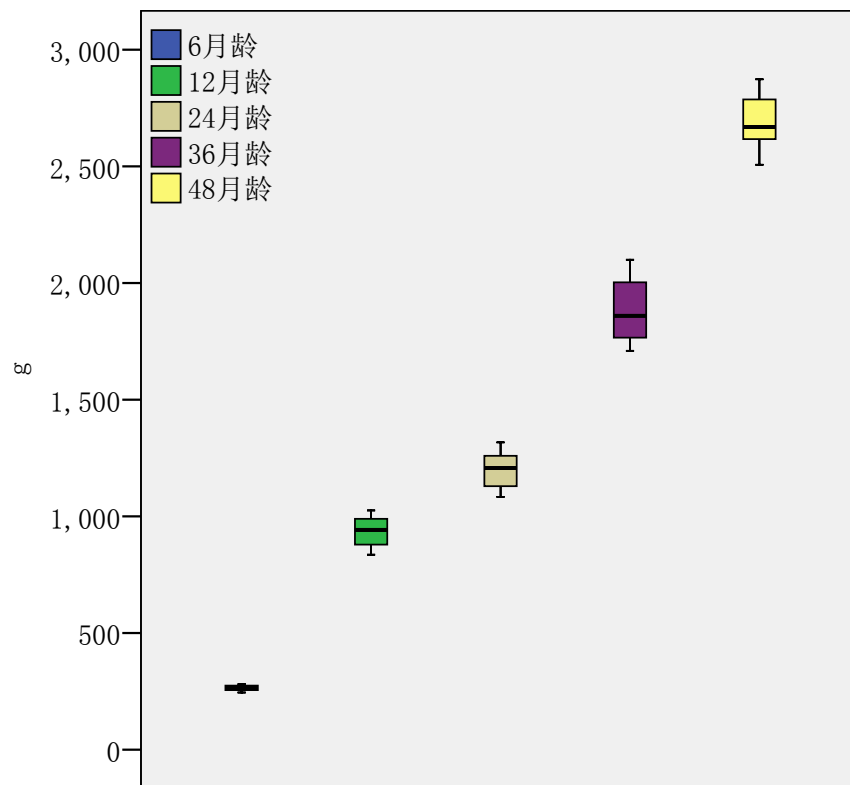


图5 不同年龄组鳄龟的体重参考值

#### 4.4 繁殖特征

##### 4.4.1 性成熟年龄

雌、雄鳄龟性成熟年龄为3~4龄。

##### 4.4.2 繁殖期

每年4~6月份产卵，4~5月份为产卵高峰期。

##### 4.4.3 繁殖类型

雌性性腺每年成熟一次，每年产卵次数>1次。

##### 4.4.4 年产卵量

每年产0次~3次，一般1次~2次，每次20枚~80枚，平均30枚/次。

#### 5 肌肉营养成分

##### 5.1 主要营养成分

鳄龟肌肉粗蛋白、粗脂肪、灰分、水分等营养含量指标见表3。

表3 肌肉（后肢基部）主要营养成分

检测项目	含量%
粗蛋白	19.32~19.60
粗脂肪	0.20~0.40
灰分	0.8~0.88
水分	71.4~77.9

## 5.2 氨基酸

表4 肌肉（后肢基部）氨基酸含量

检测项目	含量%	
氨基酸（以鲜基计）总量≥ 17.68%	天门冬氨酸	≥1.65
	苏氨酸	≥0.86
	丝氨酸	≥0.83
	谷氨酸	≥2.95
	丙氨酸	≥1.00
	胱氨酸	≥1.10
	缬氨酸	≥0.88
	蛋氨酸	≥0.52
	异亮氨酸	≥0.85
	亮氨酸	≥1.45
	酪氨酸	≥0.68
	苯丙氨酸	≥0.71
	赖氨酸	≥1.52
	组氨酸	≥0.60
	精氨酸	≥1.10
脯氨酸	≥0.78	

## 6 细胞遗传学特征

### 6.1 体细胞染色体

$2n=52$

### 6.2 染色体核型

$12m+4sm+6st+2t+28cm$  NF=68

### 6.3 染色体组型

鳄鱼染色体中期分裂相见图6，染色体组型见图7。



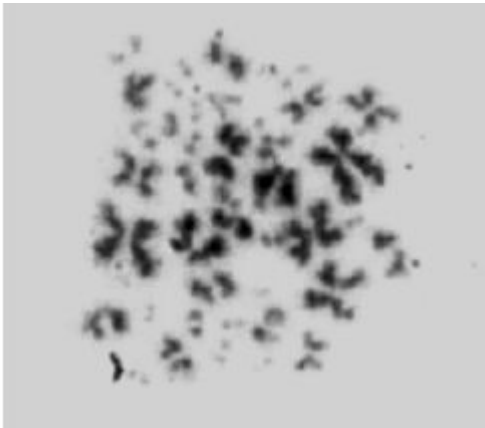


图 6 染色体中期分裂相

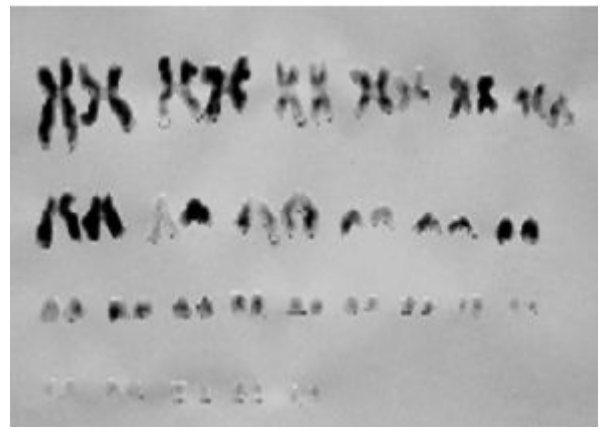


图 7 染色体组型

## 7 生化遗传学特性

肌肉的乳酸脱氢酶（LDH）同工酶有8条谱带；肝脏的酯酶（EST）同工酶有5个基因座位，有5条谱带。

肌肉的乳酸脱氢酶（LDH）同工酶电泳图谱见图8。

肝脏的酯酶（EST）同工酶电泳图谱见图9。



图 8 肌肉的乳酸脱氢酶（LDH）同工酶电泳图谱

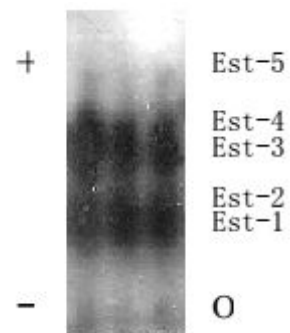


图 9 肝脏的酯酶（EST）同工酶电泳图谱

## 8 分子遗传学特性

用20个RAPD（随机扩增多态性DNA技术，又称任意引物PCR）引物对其基因组DNA进行分析，确认引物S<sub>19</sub>的分析结果能够反应其基因组的多态性特征。引物S<sub>19</sub>序列：TGCCCGTCGT见图10。

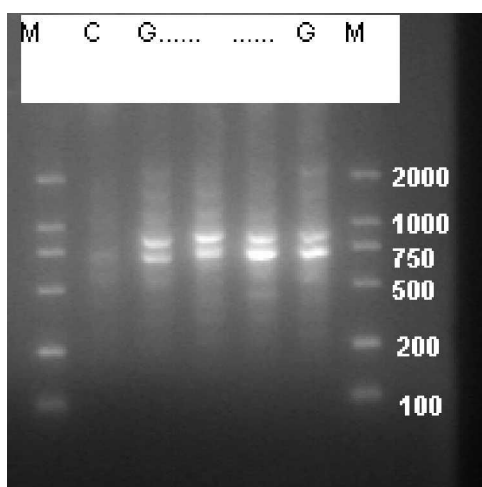


图 10 基因组 DNA RAPD 图谱

M: 分子量标准, C: 对照样品, G: 鳄鱼样品 (4个样品)

## 9 检测方法

### 9.1 生物学性状测定

参照GB/T 21044规定的方法测定。

### 9.2 肌肉营养成分测定

#### 9.2.1 样品制备

取活体后肢基部肌肉，于105℃烘干，粉碎。肌肉各成分测定按照GB 5009.3、GB 5009.4、GB 5009.5、GB 5009.6规定的方法进行。

#### 9.2.2 氨基酸

按GB 5009.124中的规定执行。

#### 9.2.3 细胞遗传学特性检测

按GB/T 18654.12的规定执行。

### 9.3 生化遗传学性状分析

#### 9.3.1 样品制备

样品加3%辅酶I液匀浆，低温离心，至上清液澄清。整个制备过程均在2~8℃低温条件下进行。

#### 9.3.2 电泳分析

使用水平淀粉凝胶电泳仪。淀粉胶浓度为10%，酯酶（EST）电泳缓冲液为三羟甲基氨基甲烷（Tris）-硼酸-乙二胺四乙酸四钠盐，乳酸脱氢酶（LDH）电泳缓冲液为甲基氨基甲烷（Tris）-柠檬酸，pH值7.0。将10%浓度水解淀粉煮好后倒入制胶模内，待凝固后，切一横裂缝，用滤纸片吸取

样品的上清液插入裂缝中。电泳电压为250V，电泳8h-10h，电泳恒温4℃，电泳后横切成0.2cm左右的薄片，浸入染色液中保温染色。同工酶染色液配方见附录A。

### 9.3.3 结果判定

将测定结果对照图6、7谱带确定该种同工酶的编码座位数和多态座位的基因数

## 9.4 分子遗传学特性分析

### 9.4.1 基因组 DNA 的提取纯化

取肌肉剪碎用组织裂解液（0.5mol EDTA，PH值8.0；200 μg/mL ProteinaseK；0.5% Sarcosyl）于55℃消化过夜，次日用酚、氯仿、异戊醇（24：24：1）抽提三次，RNaseA消化去除RNA后再抽提一次，然后用2150 mmol/L Tris. HCl (pH 8.0)、10 mmol EDTA (pH 8.0)，透析至OD270<0.05，检测DNA浓度，置4℃保存备用。

### 9.4.2 RAPD 引物及扩增条件

用PE-9600型PCR扩增仪，RAPD扩增引物OPP及OPM组计15个。RAPD反应：10mmol/L Tris.HCl (pH 8.3)，50 mmol/L KCl，2.0 mmol/L MgCl<sub>2</sub>，0.001%明胶；Dapt. dGTP、Dctp，dTTP各为0.1 mmol/L；引物15 μg，基因组DNA 20 μg，1单位Tag聚合酶。于93.5℃变性1min，36℃退火1min，72℃延伸2min，计45个循环，循环结束后延伸5min，扩增产物用1.5%琼脂糖凝胶电泳检测。

### 9.4.3 琼脂糖凝胶电泳

凝胶浓度为1.5%的琼脂糖，胶中含0.5g/mL溴化乙锭。电泳缓冲液为TBE，电泳在室温下进行，电压为15V，电泳时间为16h。电泳毕在紫外灯下观察拍照。

## 10 检测规则

### 10.1 检测分类

检测分为鉴定检测和质量一致性检测。

### 10.2 检测项目

鉴定检测项目包括外部形态特征、可量性状、可数性状。质量一致性检测项目包括细胞遗传学特性、生化遗传学特性、分子遗传学特性。

### 10.3 取样

样品龟的抽样按GB/T 18654.2规定执行。

#### 10.3.1 组批

以同龄期的鳄龟为同一批。

### 10.4 判定规定

各项检验指标在标准范围内则判定为鳄龟。

## 附录A

### (规范性附录) 同工酶染色液配方

#### A.1 酯酶染色液配方

酯酶染色液配方见表 A.1。

表 A.1 酯酶染色液配方

$\alpha$ -乙酸萘酯 (mg)	坚牢蓝B盐 (mg)	三羟甲基氨基甲烷-柠檬酸缓冲液 (1mol, PH 7.0 ) (mL)	蒸馏水 (mL)
40	100	10	10

#### A.2 乳酸脱氢酶染色液配方

乳酸脱氢酶染色液配方见表A.2。

表 A.2 乳酸脱氢酶染色液配方

乳酸钠 (mL)	辅酶 I (mg)	氮蓝四唑 (mg)	吩嗪甲硫酸 (mg)	三羟甲基氨基甲烷-柠檬酸 缓冲液 (1mol, PH 8.6 ) (mL)	蒸馏水 (mL)
0.5	6	2	1	10	10