

## 不同产地中华绒螯蟹形态差异的地标点法分析

郑朝臣<sup>1</sup>, 姜涛<sup>2</sup>, 骆仁军<sup>1</sup>, 陈修报<sup>2</sup>, 刘洪波<sup>2</sup>, 杨健<sup>1,2\*</sup>

(1. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081;

2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 中国水产科学研究院长江中下游  
渔业生态环境评价与资源养护重点实验室, 江苏 无锡 214081)

**摘要:** 为了解长江水系的太湖、洪泽湖、高宝湖、长荡湖、阳澄湖以及巴城、兴化“泓膏”养殖水域和长江口崇明自然水域等知名产区产中华绒螯蟹形态上的差异, 首次运用地标点法研究其形态的产地差异性。背甲以及腹甲的形态使用地标点法进行分析, 经图像处理提取地标点坐标, 进行相对扭曲主成分分析以及判别分析, 利用薄板样条分析和网格变形将其形态变异矢量可视化。结果显示, 在相对扭曲主成分分析中, 提取了许多Ⅱ型地标点, 其贡献率为82.637%~97.698%, 作用较大, 解释了主要形态变异。特别是相对扭曲主成分的判别分析对雄性以及雌性蟹背甲的判别准确率均为100%。研究表明, 不同产地养殖环境可以导致中华绒螯蟹的形态出现差异; 而以背甲为对象的形态地标点法分析应该可以作为判别不同产地中华绒螯蟹的有效方法。

**关键词:** 中华绒螯蟹; 形态; 地标点法; 产地; 差异性

**中图分类号:** Q 346; S 966.1

**文献标志码:** A

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*), 俗称河蟹、大闸蟹, 是我国(特别是江苏省)主产、高值水产品之一。随着人工育苗技术的成功, 中华绒螯蟹的产量快速上升<sup>[1]</sup>。我国中华绒螯蟹的养殖区分布较广泛, 南至福建、广东, 北至辽宁、山东<sup>[2]</sup>。如此众多产地不同、品质不一的中华绒螯蟹在市场销售, 为相应的监管工作以及消费者按质选购带来困难。不同产地的中华绒螯蟹水产品认知度不同, 价格相差很大, 一般认为以长江水系的最佳<sup>[3-4]</sup>。中华绒螯蟹不仅味道鲜美, 其营养价值较高, 富含蛋白质、脂肪、碳水化合物和维生素A等营养成分, 还具有一定的药用价值<sup>[5-7]</sup>, 广受消费者的欢迎。这其中以阳澄湖产中华绒螯蟹为代表的一批优质蟹有很高的知名度, 其价格远高于其他产地的蟹。正是由于不同产地间蟹非常显著的价格差<sup>[8]</sup>, 不法分子会通过假冒品牌蟹(如“洗澡蟹”)等手段进行销

售, 严重影响了中华绒螯蟹产业的正常秩序和生产者以及消费者的正当权益<sup>[7, 9-10]</sup>。对此, 探索快速、有效鉴别不同产地中华绒螯蟹的方法意义重大, 但难度也非常大。

当水生生物群体长期适应于特定的环境, 其会逐渐与其他群体产生一系列可遗传的差异<sup>[11]</sup>。形态特征便是由遗传因子与环境因子共同作用的结果, 而地理屏障使一个种群与同种的另一种群由于某种程度的地理隔离, 导致在形态、生理甚至遗传上形成一定的差异<sup>[12]</sup>, 进而形成了瓯江、辽河和长江等不同水系的中华绒螯蟹群体<sup>[13]</sup>。为了探寻这些不同水系群体间的差异, 前人在分子生物学指标<sup>[14-17]</sup>、生理生化指标<sup>[18-25]</sup>、形态学<sup>[3-4, 10]</sup>等方面都进行了有益的尝试。刘青等<sup>[15]</sup>对长江、黄河和辽河水系中华绒螯蟹野生和养殖群体进行微卫星分析, 结果表明3水系野生和养殖群体均具有较高的遗传多样性, 长江和黄

收稿日期: 2017-02-19 修回日期: 2017-04-19

资助项目: 国家科技支撑计划(2015BAD17B05)

通信作者: 杨健, Email: jiany@ffrc.cn

河野生群体的遗传多样性高于养殖群体。在产地判别方面, 本实验室通过消解测定蟹第3步足组织地理元素“指纹”的方式对相同水系不同湖泊的中华绒螯蟹进行判别, 显示出较高的准确性(判别准确率80%~100%)<sup>[23-25]</sup>, 但无法避免蟹体破坏性采样。与之相比在形态学研究方面, 康伟等<sup>[26]</sup>对图们江、黄河、辽河水系以及日本绒螯蟹(*E. japonica*)的32个外部形态性状分析中, 图们江群体的判别准确率仅为83.3%; 本实验室基于传统的形态学框架测量的结果也显示相较于元素“指纹”的判别结果, 传统的形态学测量结果准确率明显较低(70%~90%)<sup>[24-25]</sup>。由此可见, 形态学判别方法虽然较其他方法更为简便、直观、低成本, 且具有非破坏性/致死性采样的优势, 但是目前的判别精度尚不理想; 因此, 引入一些新的研究方法, 通过优化来进一步验证中华绒螯蟹产地的形态学判别方法的可行性并突破“瓶颈”显得尤为重要。

值得注意的是, 近年来在形态学判别方面, 地标点法越来越受关注。该法是选取一些容易辨别的点为标准来重构形态特征, 再通过地标点进一步呈现出特征点之间的差异。迄今, 地标点法已应用在多种鱼类的耳石、身体形态[如白姑鱼属(*Pennahia*)<sup>[27]</sup>、短吻鲷(*Leiognathus brevisrostris*)<sup>[28]</sup>、美鲶(*Callichthys callichthys*)<sup>[29]</sup>、三刺鱼(*Gasterosteus aculeatus*)<sup>[30]</sup>、鲮鱼(*Mugil cephalus*)<sup>[31]</sup>等]的差异性判别中; 然而, 有关虾蟹类产地差异性的研究尚未见报道。

本研究运用地标点法, 从新角度对来自相同长江水系的江苏省泓膏中华绒螯蟹池塘、巴城池塘、高邮湖、洪泽湖、阳澄湖、太湖东山、长荡湖养殖水域和长江口东滩产中华绒螯蟹进行形态差异性研究, 以期在比较和归纳不同产地蟹形态差异的基础上, 为开发更客观、快速、低成本、非破坏性/致死性地鉴别不同产地的中华绒螯蟹形态学方法进行有针对性地尝试。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

中华绒螯蟹的东山样本(东山, Dongshan)于2016年1月采于苏州太湖东山围网水域(扣蟹购自崇明陈家镇); 洪泽湖(洪泽, Hongze)样本于2015年12月采自淮安洪泽湖土围放养水域(扣蟹

购自南通启东); 高邮湖样本(高邮, Gaoyou)于2015年12月采自高宝湖围网水域(大眼幼体购自射阳); 长荡湖样本(长荡, Changdang)于2015年12月采自常州金坛和溧阳的长荡湖围网水域(扣蟹购自南通如东); 东滩样本(东滩, Dongtan)于2015年12月采自长江口崇明团结沙水域(野生个体); 巴城样本(巴城, Bacheng)于2015年11月采自昆山巴城镇联名村畅顺水产专业合作联社养殖基地池塘(扣蟹购自南通启东); 泓膏样本(泓膏, Honggao)于2015年12月采自江苏兴化泓膏大闸蟹有限公司的养殖基地池塘(扣蟹购自南通如东); 阳澄湖样本(阳澄, Yangcheng)于2015年10月采自西阳澄湖区放养水域(扣蟹购自南通如东)。除东滩蟹为长江的野生个体外, 其余所有养殖蟹的扣蟹来自崇明或南通、大眼幼体来自射阳的中华绒螯蟹人工繁育种苗场。本研究所有蟹均符合国标GB/T19957-2005<sup>[32]</sup>所定义的原产蟹(即至少从扣蟹养到成蟹保持同一水域)。样本采集后运回实验室, 以封口袋单只收纳后统一放置于鱼苗袋内, 选取规格相近的中华绒螯蟹(♀、♂各10只)进行研究。

### 1.2 实验方法

**地标点的建立与提取** 地标点是具有明显特征且容易辨别的点。目前, 在生物学中应用的地标点法主要有3类: (1) I型地标点, 指不同组织间的交点; (2) II型地标点, 指结构中的凹陷或突出点; (3) III型地标点, 指结构中的极值点<sup>[33]</sup>。根据地标点的同源性, 本研究在以背甲和腹甲作为研究对象时, 通过设定的高度进行拍摄。利用tpsdig2软件对拍摄好并经过处理的背甲和腹甲图片建立坐标点(图1), 获取地标点的x、y坐标值(2D), 建立坐标点数据文件。

**平均形与薄板样条分析** 利用tipsmall软件进行最小平方和法则(least-squares criterion)回归分析, 检验地标点的有效性。用tpsRelw经普氏叠加得出地标点, 对每个样本的地标点进行平移置中、旋转和缩放, 计算出质心距离, 求出平均型(mean shape), 利用tpsRegr进行薄板样条分析, 描绘出各产地背甲以及腹甲的网格图, 比较与平均形的形态差异。

**判别分析** 利用各样本的相对扭曲得分(relative warps scores)进行判别分析, 判别方法采用Bayes方法, 用SPSS 20.0进行统计分析。

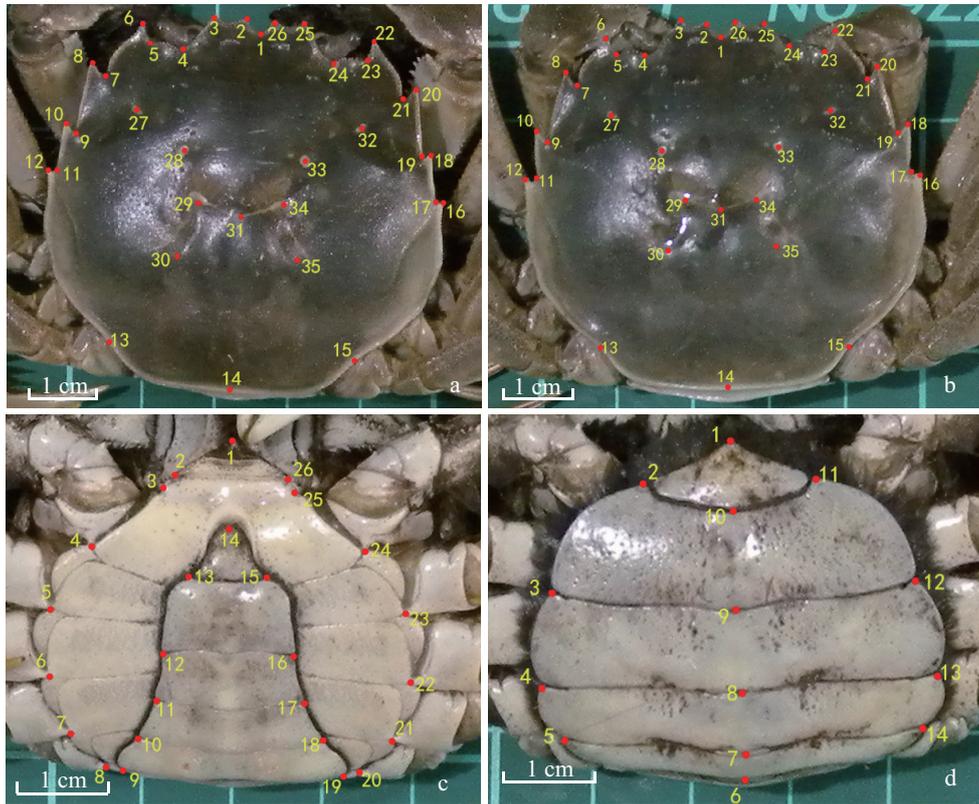


图1 中华绒螯蟹地标点位置图

a.背甲地标点位置(♂); b.背甲地标点位置(♀); c.腹甲地标点位置(♂); d.腹甲地标点位置(♀)

Fig. 1 Landmark points for morphological measurements of *E. sinensis*

a. landmark points on the carapace (♂); b. landmark points on the carapace (♀); c. landmark points on the breastplate (♂); d. landmark points on the breastplate (♀)

## 2 结果

### 2.1 最小平方回归分析

雄性背甲、腹甲以及雌性背甲、腹甲的切空间距离(distance in tangent space, y轴)和普氏距离(procrustes distance, x轴)的回归系数分别为0.999 843、0.999 823、0.999 813和0.999 818, 接近1, 表明选取的地标点是有用的, 消除了选取地标点时发生的位置、取向和比例的变化。通过相对扭曲主成分分析并根据特征根大于1作为纳入标准, 背甲(♂)66次扭曲提取了61个主成分, 主成分累积贡献了95.031%, 说明各扭曲之间无法通过线性组合来达到有效地降维, 各扭曲之间线性相关性较弱; 腹甲(♂)从48次扭曲中提取了46个主成分, 主成分累积贡献了97.698%, 说明各扭曲之间线性相关性较弱; 背甲(♀)从66次扭曲中提取了52个主成分, 主成分累积贡献了82.637%, 说明各扭曲之间线性相关性较弱; 腹甲(♀)从24次扭曲中提取了19个主成分, 主成

分累积贡献了82.755%, 说明各扭曲之间线性相关性较弱。

### 2.2 形态差异可视化

为了将不同产地中华绒螯蟹的差异可视化, 利用tpsRegr软件, 进行平均形后, 通过绝对对扭曲、回归分析和置换检验进行网格化和差异矢量化。

从中华绒螯蟹(♂)背甲(图2)分析: 巴城蟹、东山蟹和东滩蟹的第一侧齿(第5、6地标点)与平均形相比, 向右向上伸展, 第一侧齿表现的更加细长。花纹M型的右上顶点较平均形向右伸展, 花纹更宽。背甲底部3个特征点(第13、14和15地标点)较平均形向内侧凹陷, 更加平缓。各产地伸展/凹陷程度不同, 由强到弱依次为巴城蟹>东山蟹>东滩蟹。高邮蟹和泓膏蟹的第一侧齿与平均形相比, 没有显著变化。长荡蟹、阳澄蟹和洪泽蟹的第一侧齿与平均形相比, 伸展/凹陷情况与巴城蟹、东山蟹和东滩蟹的情况相

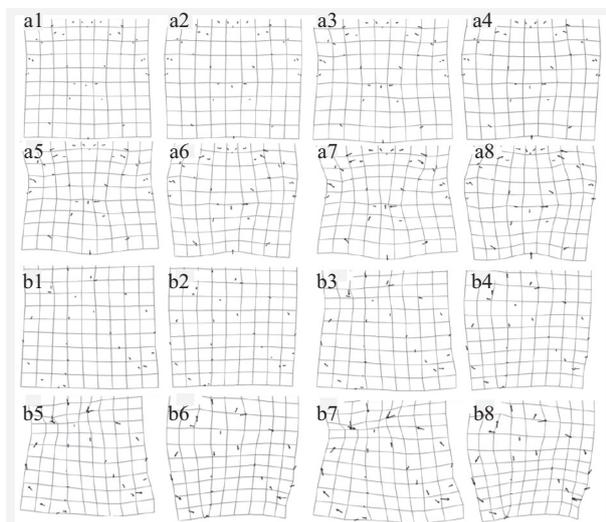


图 2 中华绒螯蟹背甲及腹甲(♂)网格变形图与变异可视化(变异扩大10倍)

a. 背甲; b. 腹甲; 1. 泓膏; 2. 高邮; 3. 洪泽; 4. 东滩; 5. 阳澄; 6. 东山; 7. 长荡; 8. 巴城; 下同

Fig. 2 Grid deformation and variation visualization of the carapace and breastplate for *E. sinensis* (♂) (variation enlarged 10 times)

a. the carapace; b. the breastplate; 1. Honggao; 2. Gaoyou; 3. Hongze; 4. Dongtan; 5. Yangcheng; 6. Dongshan; 7. Changdang; 8. Bacheng; the same below

反, 其程度由强到弱依次为长荡蟹>阳澄蟹>洪泽蟹。

从中华绒螯蟹(♂)腹甲(图2)分析: 巴城蟹、东山蟹和东滩蟹的顶端第1、2和3地标点与平均形相比, 顶点向上突起, 与第一步足的交点向两侧伸展, 表现为顶端较宽, 底部的第8、20地标点向花纹M型凹陷, 底部较小; 各产地伸展/凹陷程度不同, 由强到弱依次为巴城蟹>东山蟹>东滩蟹。高邮蟹和泓膏蟹的第一侧齿与平均形相比没有显著变化。长荡蟹、阳澄蟹和洪泽蟹的第一侧齿与平均形相比伸展/凹陷情况与巴城蟹、东山蟹和东滩蟹的情况相反, 其程度由强到弱依次为长荡蟹>阳澄蟹>洪泽蟹。

从中华绒螯蟹(♀)背甲(图3)分析: 巴城蟹、东山蟹和东滩蟹的第一侧齿(第5、6地标点)与平均形相比, 向右向上伸展, 第一侧齿表现的更加细长。第1、2和3地标点向下凹陷, 凹槽更深。花纹M型除了右下顶点向左偏移, 其余顶点都向右偏移, M型更窄。背甲底部3个特征点(第13、14和15地标点)与♂变化情况相同。

从中华绒螯蟹(♀)腹甲(图3)分析: 巴城蟹、

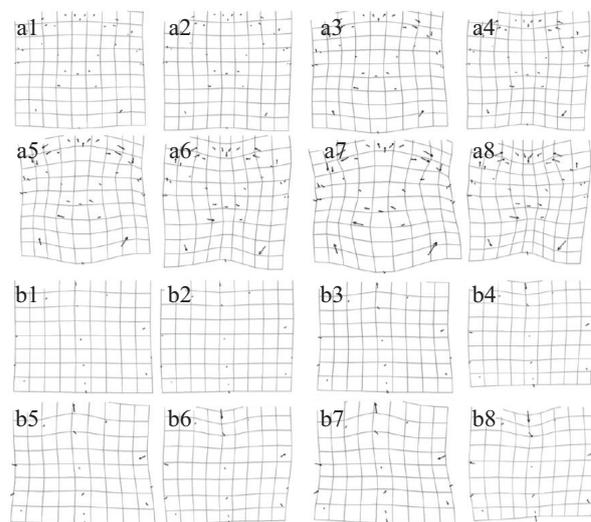


图 3 中华绒螯蟹背甲及腹甲(♀)网格变形图与变异可视化(变异扩大10倍)

Fig. 3 Grid deformation and variation visualization of the carapace and breastplate for *E. sinensis* (♀) (variation enlarged 10 times)

东山蟹和东滩蟹腹甲的顶点(第1地标点)向下凹陷, 底部(第6地标点)向身体内侧凹陷, 腹面比较狭窄; 第12地标点向外伸展, 上边缘较宽, 第14地标点向身体内侧凹陷, 下边缘较窄; 各产地伸展/凹陷程度不同, 由强到弱依次为巴城蟹>东山蟹>东滩蟹。高邮蟹和泓膏蟹与平均形相比没有显著变化。长荡蟹、阳澄蟹和洪泽蟹变化情况与平均形相比, 伸展/凹陷情况与巴城蟹、东山蟹和东滩蟹的情况相反, 其程度由强到弱依次为长荡蟹>阳澄蟹>洪泽蟹。

### 2.3 判别分析

通过对雄性中华绒螯蟹的背甲进行产地判别, 准确率为100%; 通过对雄性中华绒螯蟹的腹甲进行产地判别, 对泓膏蟹、洪泽蟹、东滩蟹、阳澄蟹、东山蟹、长荡蟹和巴城蟹的准确率为100%, 对高邮蟹的准确率为90%, 判别准确率高; 通过对雌性中华绒螯蟹的背甲进行产地判别, 准确率为100%; 通过对雌性中华绒螯蟹的腹甲进行产地判别, 对泓膏蟹、高邮蟹、洪泽蟹、东滩蟹、阳澄蟹、东山蟹、长荡蟹和巴城蟹的判别准确率分别为90%、80%、90%、70%、60%、90%、90%和100%, 其中对高邮蟹、东滩蟹和阳澄蟹的判别准确率相对较低, 对其他产地的判别准确率相对较高(图4, 表1)。

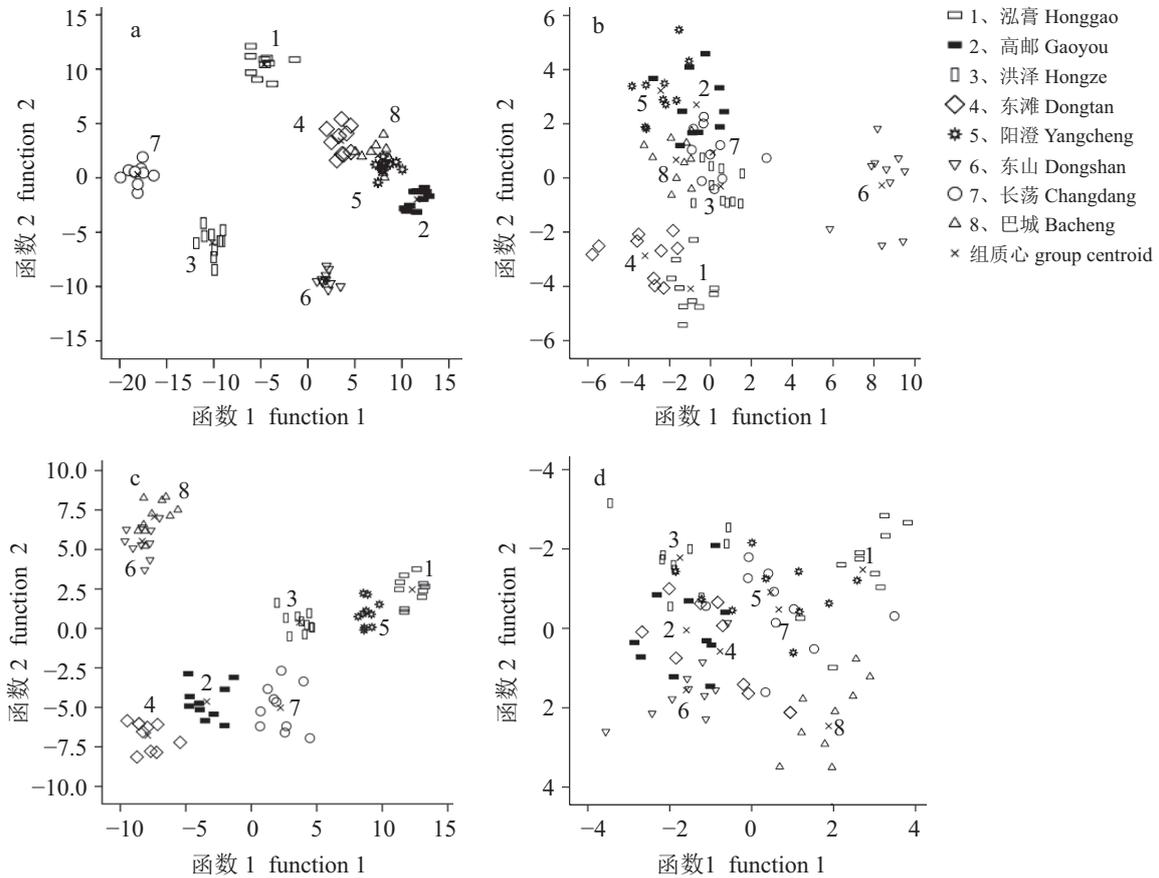


图4 中华绒螯蟹的判别分析散点图

a. 背甲(♂)判别分析散点图; b. 腹甲(♂)判别分析散点图; c. 背甲(♀)判别分析散点图; d. 表示腹甲(♀)判别分析散点图

Fig. 4 The discriminate analysis plots of *E. sinensis*

a. discriminate analysis plot of carapace (♂); b. discriminate analysis plot of breastplate (♂); c. discriminate analysis plot of carapace (♀); d. discriminate analysis plot of breastplate (♀)

### 3 讨论

#### 3.1 地标点法的可行性

随着图像处理和形态结构数值化技术的迅速发展与应用,几何形态测量法也取得了迅速发展。作为几何形态测量方法中的地标点法,在水生生物方面应用较为广泛<sup>[33]</sup>。Fang等<sup>[34]</sup>利用地标点法对东、西部西北太平洋柔鱼(*Ommastrephes bartramii*)群体上、下角质颚进行了判别分析,同时探究了上、下颚之间在判别结果上的差异;逐步判别分析结果表明上颚的平均判别准确率为84.15%,下颚平均判别准确率为95.75%。侯刚等<sup>[35]</sup>利用红棘金线鱼(*Nemipterus nemurus*)、金线鱼(*N. virgatus*)、深水金线鱼(*N. bathybius*)和日本文线鱼(*N. japonicus*)性成熟个体的矢耳石样本,运用地标点法研究了这4种鱼类

矢耳石形态识别的可行性。4种鱼交互验证结果的平均判别准确率达89.8%,而相对扭曲主成分逐步判别分析的平均判别准确率达91.3%。由于螃蟹的背甲和腹甲为硬组织,结构稳定,故本研究选取背甲、腹甲作为对象来进行产地判别分析的尝试。结果表明,对不同产地的雄蟹和雌蟹,背甲的判别准确率均可达100%,对腹甲的判别准确率亦分别可达98.75%、83.75%。这说明基于腹甲,特别是背甲形态的地标点法对不同产地中华绒螯蟹的判别准确率总体较高。引入该几何形态测量法来寻找快速、有效地鉴别不同产地中华绒螯蟹的途径应该是可行的。

根据地标点的定义<sup>[33]</sup>,本研究选取的地标点主要是Ⅱ型地标点。相对扭曲主成分分析结果显示,各成分间相关性较弱,无法有效地进行降维,反映了本研究所提取的地标点包含了

表 1 基于背甲和腹甲的不同产地中华绒螯蟹判别分析结果

Tab. 1 Discriminate analysis for different geographical origins of *E. sinensis* in this study

产地 geographical origin		判别准确率/% discriminant accuracy							
		泓膏 Honggao	高邮 Gaoyou	洪泽 Hongze	东滩 Dongtan	阳澄 Yangcheng	东山 Dongshan	长荡 Changdang	巴城 Bacheng
背甲(♂) carapace (♂)	泓膏 Honggao	100	0	0	0	0	0	0	0
	高邮 Gaoyou	0	100	0	0	0	0	0	0
	洪泽 Hongze	0	0	100	0	0	0	0	0
	东滩 Dongtan	0	0	0	100	0	0	0	0
	阳澄 Yangcheng	0	0	0	0	100	0	0	0
	东山 Dongshan	0	0	0	0	0	100	0	0
	长荡 Changdang	0	0	0	0	0	0	100	0
	巴城 Bacheng	0	0	0	0	0	0	0	100
腹甲(♂) breastplate (♂)	泓膏 Honggao	100	0	0	0	0	0	0	0
	高邮 Gaoyou	0	90	0	0	0	0	10	0
	洪泽 Hongze	0	0	100	0	0	0	0	0
	东滩 Dongtan	0	0	0	100	0	0	0	0
	阳澄 Yangcheng	0	0	0	0	100	0	0	0
	东山 Dongshan	0	0	0	0	0	100	0	0
	长荡 Changdang	0	0	0	0	0	0	100	0
	巴城 Bacheng	0	0	0	0	0	0	0	100
背甲(♀) carapace (♀)	泓膏 Honggao	100	0	0	0	0	0	0	0
	高邮 Gaoyou	0	100	0	0	0	0	0	0
	洪泽 Hongze	0	0	100	0	0	0	0	0
	东滩 Dongtan	0	0	0	100	0	0	0	0
	阳澄 Yangcheng	0	0	0	0	100	0	0	0
	东山 Dongshan	0	0	0	0	0	100	0	0
	长荡 Changdang	0	0	0	0	0	0	100	0
	巴城 Bacheng	0	0	0	0	0	0	0	100
腹甲(♀) breastplate (♀)	泓膏 Honggao	90	0	0	0	0	0	0	10
	高邮 Gaoyou	0	80	0	10	0	10	0	0
	洪泽 Hongze	0	10	90	0	0	0	0	0
	东滩 Dongtan	0	10	0	70	0	20	0	0
	阳澄 Yangcheng	10	0	10	10	60	0	10	0
	东山 Dongshan	0	0	0	0	10	90	0	0
	长荡 Changdang	0	10	0	0	0	0	90	0
	巴城 Bacheng	0	0	0	0	0	0	0	100

较多的中华绒螯蟹背甲和腹甲部分的形态学信息。侯刚等<sup>[27]</sup>运用地标点法对截尾白姑鱼(*Pen-*

*nahia anea*)、大头白姑鱼(*P. macrocephalus*)、斑鳍白姑鱼(*P. pawak*)和白姑鱼(*P. argentata*)的矢耳

石形态进行相对扭曲主成分分析,并且在截尾白姑鱼、大头白姑鱼和斑鳍白姑鱼中取得了明显的区分效果。这其中以Ⅰ和Ⅱ型地标点贡献率为主。但冯波等<sup>[28]</sup>利用地标点法对广东阳江和湛江不同地方种群短吻鲷形态特征进行的分析却显示,区分效果并不如传统方法,其原因可能在于相对扭曲主成分分析时地标点中贡献率较大的多属于Ⅲ型地标点。由此可见,在地标点法分析中相较于Ⅲ型地标点,Ⅰ和Ⅱ型地标点的差异性区分效果应该更好。中华绒螯蟹背甲和腹甲部分存在很多不同组织间的交点以及与生理功能相关结构中的凹陷或突出点,特别是其背甲部分拥有许多诸如额齿、侧齿等结构的凸起。这些形态特征形成了较多Ⅰ和Ⅱ型的地标点,而这种基于上述地标点相对位置信息来比较的方法,较其他的形态测量法更适用于中华绒螯蟹的形态分析和产地判别。

### 3.2 基于形态学地标点法进行产地判别的特征和优势

前文显示,本研究采用基于蟹腹甲,特别是背甲形态地标点的几何形态测量法判别8个不同产地中华绒螯蟹的总体效果良好。这说明与不同产地相关的某些特征可以导致养殖或栖息地中华绒螯蟹的形态出现显著的地区性差异。然而,目前要解释该现象形成的机理尚很困难,除了各产地自身的生物/非生物环境外,先天的亲蟹/苗种的种质遗传和后天的养殖/管理生产方式及生境/养殖环境差异都是可探讨的原因。值得注意的是,虽然本研究涉及的产地较多,但蟹苗种的来源却较集中。除了长江口东滩蟹野生群体起源复杂(可能起源于自然、养殖逃逸或人工增殖放流亲本蟹),而高宝湖的养殖高邮蟹大眼幼体来自射阳的蟹苗种场(可能起源于当地河蟹或“长江1号”的亲本蟹)外,其余各产地的养殖蟹苗种均来自南通的启东或如东(洪泽蟹、长荡湖蟹、巴城蟹、泓膏蟹、阳澄蟹)或者上海崇明岛(东山蟹)的蟹苗种场。其亲本均来源于长江水系中华绒螯蟹或利用长江水系蟹所选育的新品种,遗传上的差异应该不大。熊良伟等<sup>[17]</sup>利用微卫星DNA分子标记分析发现,长江水系天然群体与江苏兴化养殖群体遗传距离小,后者的亲本来源于前者。此外,虽然本研究中蟹分别来自围网养殖、土围放养、湖区放养、

池塘养殖以及自然野生等多种生产方式,但即使是来自相同围网养殖方式的东山蟹、高邮蟹、长荡蟹或相同池塘养殖方式的巴城蟹、泓膏蟹(其种苗来源也相同),养至成蟹后其背甲和腹甲的形态差异同样变得非常明显。这显现出不同的养殖/管理生产模式可能并不是本研究中各产地蟹出现差异的决定性因素。因此,为有效确认和阐明本研究所发现的蟹甲壳形态存在产地差异性事实的机理,在下一步的探索中,需要有针对性地(特别是围绕各产地特有的生物/非生物环境)开展更系统(如不同产地用同一品种养成的蟹、同一产地不同养殖户相同品种的蟹、相同/不同产地不同批次蟹、相同/不同种苗来源蟹、相同/不同养殖模式以及不同养殖环境水质、敌害、饵料条件等)的比较研究。

对于中华绒螯蟹的产地判别,王武等<sup>[10]</sup>选取合浦水系和绥芬河水系的日本绒螯蟹与长江水系和辽河水系的中华绒螯蟹4个绒螯蟹种群,以辽河水系绒螯蟹(♂)与绥芬河水系绒螯蟹(♀)杂交后代为辅助研究对象,对它们的17个外部形态特征分别进行聚类分析和判别分析,判别分析亦可将长江蟹与合浦蟹、辽河蟹、绥芬蟹和杂交蟹分开,雌蟹整体判别准确率为74.2%;雄蟹整体判别准确率为75.4%。康伟等<sup>[26]</sup>以图们江水系绒螯蟹为研究材料,将我国黄河和辽河水系的中华绒螯蟹以及日本产的日本绒螯蟹作为参照对象,应用3种形态多元分析方法与STRUCTURE聚类分析方法,对它们的32个外部形态性状进行分析,判别分析显示判别准确率为83.3%~100%。李晨虹等<sup>[36]</sup>通过测量辽河、黄河、长江、瓯江、珠江及南流江6个水系绒螯蟹群体的32个外部形态特征,进行聚类分析和判别分析,判别结果显示对北方4水系蟹的平均判别准确率为86%,其中长江最低,为73%,黄河最高,为97%;对南方2水系蟹的判别准确率为95%,南流江为96%,珠江为94%。以上研究均利用到了相似形态性状,而后二者则较前者更为全面地分析了背甲上的形态性状信息,其测量所选取的形态性状特征与本研究所选择的地标点十分接近,而这也可能是为何后二者有着较高准确率的主要原因。前人在中华绒螯蟹形态分析研究上的有益尝试,一方面说明形态学分析方法可以用来区分不同产地群体,另一方面也反映出在研究过程中利用更多的形态学

特征信息将明显提高产地判别的准确率。不过需要注意的是,虽然以上的研究分析方法已经包含了大量的中华绒螯蟹背甲上的形态特征信息,其分析所用的诸多形态特征与本研究十分相近(如额齿、侧齿等);但受限于传统形态学测量法太过关注形态特征长度测量,上述研究尚很难提取和充分利用这些形态特征之间的相对位置等“地标点”信息来更为灵敏地显现差异。这就导致了传统的形态学测量法存在着一定的技术“瓶颈”,较难达到100%的判别准确率。

本研究采用地标点法对中华绒螯蟹的背甲、腹甲进行分析,结果表明基于雌、雄蟹背甲形态的产地判别准确率均达100%,完全达到了以往通过地理元素“指纹”方式所能达到的判别准确率<sup>[23, 25]</sup>,且更兼具客观、快速、低成本、非破坏性/致死性的优势。即使对雄蟹和雌蟹腹甲的判别准确率亦分别达98.75%、83.75%。需要注意的是,在以往的中华绒螯蟹形态分析研究中,背甲一直作为重要的分析和研究对象<sup>[10, 26, 36-37]</sup>。这说明选取背甲作为研究对象应该具有较高的可行性和实用性。在背甲上,形态的地标点差异主要表现为第一侧齿、花纹M型以及背甲底部的变化,其中第一侧齿以及背甲底部的变化使得中华绒螯蟹的背甲前后拉伸或紧缩。与之相比,第二、三、四侧齿在相应形态差异网格化分析中并无显著变化,背甲的两侧也无明显变化。Davis等<sup>[38]</sup>在比较野外和养殖青蟹形态特征时,发现侧齿和疣突的发育程度与其所受到的被捕食压力有一定关系。通常野外的个体较养殖个体发达,而养殖个体在放流到野外后其侧齿和疣突也会有增长的趋势。本研究中野生群体东滩蟹第一侧齿较为细长的情况与之相对应。然而,本研究中养殖的巴城蟹和东山蟹同样具有较为发达的第一侧齿。这是否受到了产地环境、养殖密度、采捕强度等的综合影响尚待进一步研究。

中华绒螯蟹是我国传统高值水产品之一。因蟹的价格高低与产地认知度的关系极为密切,寻找有效地鉴别不同产地中华绒螯蟹的方法对其食品产业的发展意义重大。本研究通过引入地标点法对中华绒螯蟹的背甲以及腹甲进行产地差异性研究。最小平方回归分析长江水系8个不同水域产的中华绒螯蟹之间雄性背甲、腹甲以及雌性背甲、腹甲的切空间距离和

普氏距离的回归系数接近1,表明选取的地标点具有可靠性;形态差异可视化优选分析的结果显示,背甲上的形态差异主要表现为第一侧齿、花纹M型以及背甲底部的变化;雌、雄蟹背甲判别准确率均达100%。这说明以背甲形态学地标点法利用形态差异性来鉴别不同产地的中华绒螯蟹应该可行。本研究突破了前人在中华绒螯蟹形态学测量中判别准确率很难达到100%的“瓶颈”,从新的角度优选出了基于背甲形态学特征的不同产地中华绒螯蟹鉴别方法,为今后进一步开发更客观地鉴别不同水域的中华绒螯蟹产地的方法和技术进行了有针对性地尝试。由于该法具有客观、快速、低成本、非破坏性/致死性的优势,对名特优蟹的原产地判别和保护领域应该具有很强的应用潜力,值得深入研究和高度关注,对于其他名优水产品的产地判别亦具有重要的借鉴意义。另外,在今后的研究中有必要开展不同品种亲本蟹及不同产地、批次、养殖模式、养殖水环境条件等的交互比较研究,以期掌握不同产地中华绒螯蟹甲壳形态的差异性的机理,并在验证建立蟹产地判别有效性的基础上,尝试建立所研究不同产地蟹检测、比对和追溯的数据库。同时,还需将上述基于背甲的地标点法应用到全国其他产区的名特优新中华绒螯蟹的产地判别研究中,以期进一步确定该方法的广泛实用性,并有效开发较为标准化的相关技术体系。

感谢江苏省高宝邵伯湖渔管会、洪泽湖湖管会、长荡湖湖管会、江苏省兴化市泓膏大闸蟹有限公司、苏州西湖水产生态养殖专业合作社、江苏省昆山市水产技术推广站及太湖东山、上海崇明渔民等机构和人员在中华绒螯蟹样本采集中;江苏省淡水水产研究所周刚研究员、上海海洋大学水产与生命学院成永旭教授在论文修改过程中提供的帮助!

#### 参考文献:

- [1] 徐秉权,刘克夫,牟乃海,等.中华绒螯蟹海水工厂化育苗试验[J].海洋湖沼通报,1988,4:50-57.  
Xu B Q, Liu K F, Mu N H, et al. Experiment on the industrial seedling rearing of the freshwater crab (*Eriocheir sinensis* H. Milne-Edwards) with seawater[J].

- Transactions of Oceanology and Limnology, 1988, 4: 50-57(in Chinese).
- [ 2 ] 杨维龙, 张关海. 河蟹生产现状与可持续发展的思考[J]. 淡水渔业, 2005, 35(2): 62-64.
- Yang W L, Zhang G H. Consideration on present situation and sustainable development about the production of Chinese mitten crab[J]. Freshwater Fisheries, 2005, 35(2): 62-64(in Chinese).
- [ 3 ] 李应森, 李思发, 徐广友, 等. 长江水系和辽河水系网围养殖中华绒螯蟹生长性能的比较[J]. 上海水产大学学报, 2000, 9(3): 189-193.
- Li Y S, Li S F, Xu G Y, *et al.* Comparison of growth performance of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) in pen culture from the Yangtze and Liaohe River systems[J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2000, 9(3): 189-193(in Chinese).
- [ 4 ] 周刚, 朱清顺, 胡本龙. 不同水系中华绒螯蟹生长比较的初步研究[J]. 水产养殖, 2003, 24(6): 34-37.
- Zhou G, Zhu Q S, Hu B L. A preliminary comparison study on growth of *Eriocheir sinensis* from different water systems[J]. Journal of Aquaculture, 2003, 24(6): 34-37(in Chinese).
- [ 5 ] 李伟中. 阳澄湖大闸蟹的经济与文化价值探析[J]. 扬州大学烹饪学报, 2006, 23(3): 6-10.
- Li W Z. A probe into the economic and cultural value of Yangchenghu Lake crabs[J]. Culinary Science Journal of Yangzhou University, 2006, 23(3): 6-10(in Chinese).
- [ 6 ] 马为民, 魏兰珍, 王全喜. 阳澄湖中华绒螯蟹及当前它所面临的问题[J]. 自然杂志, 2002, 24(5): 294-296.
- Ma W M, Wei L Z, Wang Q X. *Eriocheir sinensis* in Yangcheng Lake and its problems metted currently[J]. Chinese Journal of Nature, 2002, 24(5): 294-296(in Chinese).
- [ 7 ] 谭春兰, 张涵. 苏州阳澄湖大闸蟹水产品品牌发展策略研究[J]. 中国渔业经济, 2013, 31(4): 131-137.
- Tan C L, Zhang H. The research on aquatic products brand development strategy of Suzhou Yangcheng Lake crabs[J]. Chinese Fisheries Economics, 2013, 31(4): 131-137(in Chinese).
- [ 8 ] 吴昊. 基于信号博弈的阳澄湖大闸蟹绿色标签市场应用分析[J]. 黑龙江农业科学, 2011(6): 108-111.
- Wu H. Market application analysis of Chinese mitten crab green label based on signaling game theory[J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2011(6): 108-111(in Chinese).
- [ 9 ] 刘翠. 特色农产品原产地养殖现状与发展研究-以阳澄湖大闸蟹为例[J]. 中国农机化学报, 2014, 35(5): 183-186.
- Liu H. Study on the status quo and development of original Yangcheng Lake crabs cultivation[J]. Journal of Chinese Agricultural Mechanization, 2014, 35(5): 183-186(in Chinese).
- [10] 王武, 徐灿, 张文博, 等. 四个地方种群绒螯蟹形态差异的比较研究[J]. 中国农学通报, 2007, 23(6): 648-653.
- Wang W, Xu C, Zhang W B, *et al.* Comparative studies on morphological differences among four local populations of mitten crab[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2007, 23(6): 648-653(in Chinese).
- [11] Maclean J A, Evans D O. The stock concept, discreteness of fish stocks, and fisheries management[J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1981, 38(12): 1889-1898.
- [12] Robinson B W, Wilson D S. Genetic variation and phenotypic plasticity in a trophically polymorphic population of pumpkinseed sunfish (*Lepomis gibbosus*)[J]. Evolutionary Ecology, 1996, 10(6): 631-652.
- [13] 王茜, 李晓东, 戴伟, 等. 不同水系绒螯蟹群体外部形态的判别分析[J]. 水产科学, 2006, 25(3): 125-128.
- Wang Q, Li X D, Dai W, *et al.* The morphological discrimination of populations of mitten crab in different river systems[J]. Fisheries Science, 2006, 25(3): 125-128(in Chinese).
- [14] 毛瑞鑫, 鲁翠云, 刘福军, 等. 中华绒螯蟹部分基因组文库构建和微卫星位点的筛选[J]. 上海海洋大学学报, 2009, 18(2): 129-135.
- Mao R X, Lu C Y, Liu F J, *et al.* Fractional genomic libraries constructing and microsatellites DNA screening of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2009, 18(2): 129-135(in Chinese).
- [15] 刘青, 刘皓, 吴旭干, 等. 长江、黄河和辽河水系中华绒螯蟹野生和养殖群体遗传变异的微卫星分析[J]. 海洋与湖沼, 2015, 46(4): 958-968.
- Liu Q, Liu H, Wu X G, *et al.* Genetic variation of wild and cultured populations of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* from the Yangtze, Huanghe, and Liaohe River Basins using microsatellite marker[J].

- Oceanologia et Limnologia Sinica, 2015, 46(4): 958-968(in Chinese).
- [16] 潘建林, 牟大凯, 郝莎, 等. 中华绒螯蟹 *Eriocheir sinensis* 两个地理种群的微卫星DNA多态性分析[J]. 南京大学学报(自然科学), 2006, 42(5): 457-462.  
Pan J L, Mu D K, Hao S, et al. Microsatellite DNA polymorphism analysis of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* from two geographic populations[J]. Journal of Nanjing University (Natural Sciences), 2006, 42(5): 457-462(in Chinese).
- [17] 熊良伟, 李真, 马克异, 等. 利用微卫星DNA分子标记分析中华绒螯蟹养殖群体遗传分化[J]. 农业生物技术学报, 2012, 20(12): 1441-1448.  
Xiong L W, Li Z, Ma K Y, et al. Analysis of genetic diversity in cultured populations of the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) by microsatellite markers[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2012, 20(12): 1441-1448(in Chinese).
- [18] 朱清顺, 柏如发. 池塘养殖的中华绒螯蟹与长江野生中华绒螯蟹生物学特性比较[J]. 江苏农业学报, 2007, 23(3): 218-223.  
Zhu Q S, Bai R F. Comparison of biological characteristics between cultured and wild crab (*Eriocheir sinensis*)[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2007, 23(3): 218-223(in Chinese).
- [19] 吴旭干, 龙晓文, 刘乃更, 等. 中华绒螯蟹、日本绒螯蟹及其杂交种性腺发育和生化组成的比较[J]. 淡水渔业, 2015, 45(3): 3-8.  
Wu X G, Long X W, Liu N G, et al. Comparative study on gonadal development and biochemical composition among *Eriocheir sinensis*, *E. japonica* and their hybrids[J]. Freshwater Fisheries, 2015, 45(3): 3-8(in Chinese).
- [20] 何杰, 吴旭干, 龙晓文, 等. 池塘养殖和野生长江水系中华绒螯蟹扣蟹形态学及生化组成的比较研究[J]. 水产学报, 2015, 39(11): 1665-1678.  
He J, Wu X G, Long X W, et al. Comparative studies of morphology and biochemical composition between wild-caught and pond-reared juvenile Chinese mitten crab for Yangtze population[J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39(11): 1665-1678(in Chinese).
- [21] 顾赛麒, 王锡昌, 张晶晶, 等. 电子鼻在中华绒螯蟹产地鉴别及等级评定上的应用[J]. 中国水产科学, 2014, 21(1): 108-117.  
Gu S Q, Wang X C, Zhang J J, et al. Habitat recognition and grade evaluation of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) using electronic nose[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2014, 21(1): 108-117(in Chinese).
- [22] 张晶晶, 顾赛麒, 丁玉庭, 等. 电子舌在中华绒螯蟹产地鉴别及等级评定的应用[J]. 食品科学, 2015, 36(4): 141-146.  
Zhang J J, Gu S Q, Ding Y T, et al. Habitat identification and grade evaluation of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) using electronic tongue[J]. Food Science, 2015, 36(4): 141-146(in Chinese).
- [23] 赵鉴, 苏彦平, 刘洪波, 等. 不同/相同水系中华绒螯蟹元素“指纹”的产地差异性[J]. 核农学报, 2014, 28(7): 1253-1260.  
Zhao J, Su Y P, Liu H B, et al. Geographical origin difference of elemental “fingerprints” in Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* from the same/different water systems[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2014, 28(7): 1253-1260(in Chinese).
- [24] 杨健, 邱楚雯, 苏彦平, 等. 不同水域条件下中华绒螯蟹的形态和元素分布[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(3): 187-191.  
Yang J, Qiu C W, Su Y P, et al. Morphology and elemental distribution of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* under different water conditions[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2013, 41(3): 187-191(in Chinese).
- [25] 杨文斌, 苏彦平, 刘洪波, 等. 长江水系3个湖泊中华绒螯蟹形态及元素“指纹”特征[J]. 中国水产科学, 2012, 19(1): 84-93.  
Yang W B, Su Y P, Liu H B, et al. A comparative study of morphological characteristics and elemental fingerprints of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* from three lakes[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2012, 19(1): 84-93(in Chinese).
- [26] 康伟, 吴廉, 刘金生, 等. 图们江水系绒螯蟹的形态差异与遗传混杂[J]. 中国水产科学, 2016, 23(3): 555-564.  
Kang W, Wu L, Liu J S, et al. Morphological differences and genetic admixture in mitten crabs in the Tumenjiang River[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2016, 23(3): 555-564(in Chinese).
- [27] 侯刚, 刘丹丹, 冯波, 等. 基于地标点几何形态测量法识别北部湾4种白姑鱼矢耳石形态[J]. 中国水产科学, 2013, 20(6): 1293-1302.

- Hou G, Liu D D, Feng B, *et al.* Using landmark-based geometric morphometrics analysis to identify sagittal otolith of four *Pennahia* fish species[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(6): 1293-1302(in Chinese).
- [28] 冯波, 程罗妹. 几何形态学方法区分短吻鲷地方种群的研究[J]. 上海海洋大学学报, 2011, 20(5): 677-681.
- Feng B, Cheng L M. Identifying *Leiognathus brevirostris* stocks by geometric morphometrics[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2011, 20(5): 677-681(in Chinese).
- [29] Reis R E, Zelditch M L, Fink W L. Ontogenetic allometry of body shape in the Neotropical catfish *Callichthys* (Teleostei: Siluriformes)[J]. Copeia, 1998(1): 177-182.
- [30] Walker J A. Ecological morphology of lacustrine threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus* L. (Gasterosteidae) body shape[J]. Biological Journal of the Linnean Society, 1997, 61(1): 3-50.
- [31] Corti M, Crosetti D. Geographic variation in the grey mullet *Mugil cephalus* (Pices: Mugilidae): a geometric morphometric analysis using partial warp scores[J]. Journal of Fish Biology, 1996, 48(2): 255-269.
- [32] 中华人民共和国质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 地理标志产品阳澄湖大闸蟹 (GB/T19957-2005)[S]. 北京, 2005.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. Product of geographical indication—Yangchen Lake Chinese mitten crab GB/T19957-2005[S]. Beijing, 2005(in Chinese).
- [33] 陈新军, 方舟, 苏杭, 等. 几何形态测量学在水生动物中的应用及其进展[J]. 水产学报, 2013, 37(12): 1873-1885.
- Chen X J, Fang Z, Su H, *et al.* Review and application of geometric morphometrics in aquatic animals[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(12): 1873-1885(in Chinese).
- [34] Fang Z, Chen X J, Su H, *et al.* Evaluation of stock variation and sexual dimorphism of beak shape of neon flying squid, *Ommastrephes bartramii*, based on geometric morphometrics[J]. Hydrobiologia, 2017, 784(1): 367-380.
- [35] 侯刚, 王学锋, 朱立新, 等. 基于几何形态测量学的4种金线鱼矢耳石识别研究[J]. 海洋与湖沼, 2014, 45(3): 496-503.
- Hou G, Wang X F, Zhu L X, *et al.* Geometric morphometrics of sagittal otolith of four *Nemipterus* fish species[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2014, 45(3): 496-503(in Chinese).
- [36] 李晨虹, 李思发. 中国大陆沿海六水系绒螯蟹 (中华绒螯蟹和日本绒螯蟹) 群体亲缘关系: 形态判别分析[J]. 水产学报, 1999, 23(4): 337-342.
- Li C H, Li S F. Phylogenesis of populations of mitten crabs (*Eriocheir sinensis*, *Eriocheir japonicus*) in six river systems of mainland China: morphology discriminant analysis[J]. Journal of Fisheries of China, 1999, 23(4): 337-342(in Chinese).
- [37] 赵沐子, 许志强, 丁淑燕, 等. 长江水系中华绒螯蟹不同来源蟹种周年生长研究[J]. 水产养殖, 2015, 36(4): 1-7.
- Zhao M Z, Xu Z Q, Ding S Y, *et al.* Preliminary observation: growth of various breeding larvae and juveniles groups of *Eriocheir sinensis* from Yangtze River[J]. Journal of Aquaculture, 2015, 36(4): 1-7(in Chinese).
- [38] Davis J L D, Young-Williams A C, Aguilar R, *et al.* Differences between hatchery-raised and wild blue crabs: implications for stock enhancement potential[J]. Transactions of the American Fisheries Society, 2004, 133(1): 1-14.

## Landmark-based morphometric identification of different geographical origins for the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)

ZHENG Chaochen<sup>1</sup>, JIANG Tao<sup>2</sup>, LUO Renjun<sup>1</sup>, CHEN Xiubao<sup>2</sup>, LIU Hongbo<sup>2</sup>, YANG Jian<sup>1,2\*</sup>

(1. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China;

2. Key Laboratory of Fishery Ecological Environment Assessment and Resource Conservation in Middle and Lower Reaches of the Yangtze River, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China)

**Abstract:** Landmark-based morphometric analysis was conducted to identify variations in Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* from different well-known geographical origins around the same Changjiang River system, e.g., the Taihu Lake, Hongze Lake, Gaoyou Lake, Changdang Lake, Yangcheng Lake, Bacheng Aquaculture Water, Xinghua “Honggao” aquaculture area, and Chongming waters. Landmark coordinate values were extracted by image processing after digitalization of the carapace and the breastplate features, thereafter, processed with relative warp principal component methods, discrimination analysis, thin plate spline analysis and grid distortion. Many of the Type II landmarks were extracted by relative warp principal component analysis and they had important contributions (82.637%–97.698%) in explaining the most important variation. The discrimination analysis indicated that the carapace of male and female had exactitude distinguishing ratios of 100% while the breastplate had exactitude distinguishing ratios of 98.75% and 83.75%, respectively. All of these indicated that it was an effective method of habitat recognition of Chinese mitten crab by using landmark-based morphometric analysis, which provides some important reference and scientific basis for developing a more objective method for geographical origin identification of *E. sinensis*.

**Key words:** *Eriocheir sinensis*; morphology; landmark; geographical origin; difference

**Corresponding author:** YANG Jian. E-mail: jiany@ffrc.cn

**Funding projects:** National Key Technology R & D Program of China (2015BAD17B05)