

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2019.19074

基于地标点几何形态测量法区分不同水系野生中华绒螯蟹

姜晓东^{1, 4, 5}, 成永旭^{1, 4, 5}, 潘建林², 李晓东³, 吴旭干^{1, 4, 5}

1. 上海海洋大学, 农业农村部淡水种质资源重点实验室, 上海 201306;
2. 江苏省淡水水产研究所, 江苏 南京 210017;
3. 盘锦光合蟹业有限公司, 辽宁 盘锦 124200;
4. 上海海洋大学, 水产动物遗传育种上海市协同创新中心, 上海 201306;
5. 上海海洋大学, 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306

摘要: 为鉴别不同地理种群野生中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*), 运用基于地标点法的几何形态测量学方法研究长江、黄河、辽河、瓯江、闽江及图们江中野生中华绒螯蟹头胸甲的形态特征。主要步骤为先通过地标点法提取中华绒螯蟹头胸甲上特征点的坐标值, 然后进行相对扭曲主成分分析和判别分析来区分 6 种群中华绒螯蟹头胸甲, 最后利用薄板样条分析和网格变形将头胸甲形态变异矢量可视化。结果表明: (1)主成分散点图显示各群体之间虽有部分重叠, 但大体可以形成较为集中的区域; (2)网格变形图显示各群体头胸甲的形态差异主要为额刺和侧刺长度; (3)逐步判别分析中各群体的判别准确率为 80%~96%, 存在一定的错判风险; (4)聚类分析将 6 群体中华绒螯蟹聚为两支, 其中长江、黄河、瓯江和闽江个体被聚为一支, 辽河和图们江个体被聚为另外一支。综上, 以头胸甲为研究对象的地标点几何形态测量法是区分不同水系野生中华绒螯蟹的有效手段, 但仍需要结合传统形态学测量及遗传结构分析加以辅助证实。

关键词: 中华绒螯蟹; 地理种群; 几何形态学; 地标点法; 群体识别

中图分类号: S96

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2019)06-1116-10

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)是中国重要的经济蟹类, 具有重要的养殖价值和食用价值^[1]。中华绒螯蟹在中国的分布范围较广, 长江、黄河、辽河、瓯江、闽江和图们江等流域均有分布, 其中长江流域中华绒螯蟹在池塘养殖条件下具有生长快、成蟹规格大和品质高等优点, 为我国最主要的养殖群体^[1-2]。然而在多年人工繁殖和养殖过程中, 由于采用小规格亲本近亲繁殖以及不同水系间的盲目引种和杂交, 长江水系池塘养殖群体种质退化严重, 表现为一龄早熟率升高、商品蟹规格较小和抗病力下降等现象^[4-5]。刘青等^[6]对不同

水系中华绒螯蟹野生和养殖群体进行微卫星分析, 发现各水系野生群体的遗传多样性整体高于养殖群体, 并认为与野生群体长期地理隔离而养殖群体近亲繁殖且盲目引种有关。因此, 系统研究现有中华绒螯蟹野生群体的形态特征, 对于其种群鉴别及种质资源的保护和开发利用具有重要的现实意义。

关于野生中华绒螯蟹的种群鉴别, 前人在分子生物学^[6-7]、生理生化^[8-10]和形态学^[11-12]等方面均进行了有益研究, 其中形态学以简便、直观、低成本以及非破坏性采样的优势而广泛应用于中华绒螯蟹的种群鉴定中。中华绒螯蟹形态学研究

收稿日期: 2019-03-19; 修订日期: 2019-04-13.

基金项目: 国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”重点专项(c2018YFD0900103; 2018YFD0900603); 农业农村部现代农业产业技术体系专项资金项目(CARS-48); 上海市高水平地方高校建设科研项目(A1-2801-18-1003); 深圳市澳华农牧有限公司项目(D-8006-16-0088).

作者简介: 姜晓东(1991-), 男, 博士研究生, 主要从事河蟹养殖技术和良种培育研究. E-mail: 310410555@qq.com

通信作者: 吴旭干, 教授. E-mail: xgwu@shou.edu.cn

初期主要通过外观形状、体色、额齿和侧齿的形态、背部的疣突、颚足形状和生殖孔位置等描述性特征以及腿长等少数数量性状进行形态特征比较,但未能全面反映不同地理种群中华绒螯蟹的外形差异且无法进行定量分析,难以为中华绒螯蟹种群鉴别提供充分依据^[13-14]。随着形态测量学的发展,形态特征比较开始从定性描述逐渐向定量分析过渡,主成分分析、逐步判别分析、聚类分析和单因素方差分析等多元统计方法被相继应用于鉴别不同地理种群中华绒螯蟹,但这些线性数值并不能准确表达出生物的形态特征,缺乏对生物整体形态的研究^[12, 15]。近年来,随着计算机图像处理技术和统计学的发展,几何形态测量学在水生动物种类鉴别和种群划分中得到了越来越多的应用^[16]。几何形态测量学是关于形态定量比较的科学计算工具,是用数学方法描述或分析图像形状结构的方法,根据研究方式的不同分为轮廓法以及地标点法^[17-18]。在之前比较长江水系不同水体中华绒螯蟹形态特征差异的研究中,杨文斌等^[19]和杨健等^[20]通过传统形态测量法很难将不同湖泊的中华绒螯蟹个体区分开,而郑朝臣等^[21]所采用的地标点法区分效果明显,由此推断,基于地标点法的几何形态测量法对于不同地理种群中华绒螯蟹的鉴别效果可能更好。

地标点法,顾名思义就是先选取具有明显特

征且容易辨识的点并采集信息,然后使用软件分析组间差异,具有同源性、易于采集数据和易于分析等优点^[17]。近些年来,地标点法在水生动物形态的研究中得到应用,其中以甲壳类和软体动物为代表的无脊椎动和以鱼类为代表的脊椎动物的研究最为广泛^[22]。然而,目前地标点法应用于中华绒螯蟹种群鉴别的研究较少,仅见于区分长江水系不同产地的池塘养殖中华绒螯蟹,而对于不同地理种群野生中华绒螯蟹的鉴别效果尚未见报道^[21]。鉴于此,本研究以中华绒螯蟹头胸甲作为研究对象,探讨地标点法对不同地理种群野生中华绒螯蟹的鉴别效果,以期为野生中华绒螯蟹形态鉴别提供可借鉴的新方法。

1 材料与方法

1.1 材料来源

2017 年 9—12 月于江苏镇江、山东东营、辽宁盘锦、浙江温州、福建福州和吉林珲春等地的天然水域中采集长江、黄河、辽河、瓯江、闽江和图们江野生中华绒螯蟹,每一地理种群随机采集性成熟且四肢健全的雌雄样本各 25 只。为避免时间不同造成的操作误差,野生中华绒螯蟹运输回实验室后均暂保存于-40℃冰箱,待所有样本采集齐全后统一处理。各水系中华绒螯蟹的采集时间、采集地点以及平均体重等信息见表 1。

表 1 各水系野生中华绒螯蟹样品采集信息
Tab. 1 Sampling information of wild *Eriocheir sinensis* collected from different basins

水系 basin	采样时间 sampling date	采样地点 sampling area	体重 body weight	
			雄体 female	雌体 male
图们江 TR	2017-09	吉林珲春(130.62°E, 43.17°N)	120.46±17.40	107.69±9.38
辽河 LR	2017-10	辽宁盘锦(122.70°E, 40.70°N)	155.66±8.20	97.26±5.67
黄河 HR	2017-10	山东东营(118.52°E, 37.61°N)	142.40±6.76	96.15±5.55
长江 YR	2017-11	江苏镇江(119.27°E, 32.11°N)	147.11±12.29	113.26±8.39
瓯江 OR	2017-12	浙江温州(120.34°E, 28.06°N)	97.25±12.91	68.80±8.03
闽江 MR	2017-10	福建福州(119.08°E, 26.08°N)	129.17±30.40	78.33±15.28

1.2 几何形态测量分析

1.2.1 地标点的建立与提取 本研究以中华绒螯蟹头胸甲作为数据采集对象,采用单反相机(Nikon D300)在相同目镜物镜倍数下拍摄取得中华绒螯蟹头胸甲形态的二维影像。相机固定于翻

拍架防止抖动,并在相机和翻拍架上放置水平仪,以保证镜头和拍摄面完全垂直。拍摄时镜头与样品间的距离保持在 30 cm 左右,头胸甲放置于成像区域的正中位置,使得镜头同样与头胸甲垂直。利用 tpsDig2 软件在拍摄好的头胸甲图片上建立地

标点(图 1), 获取相应地标点的 x 、 y 坐标值并建立数据文件。由于雌雄中华绒螯蟹的形态特征存在一定的差异, 本研究中雌雄个体分开采点分析^[23]。

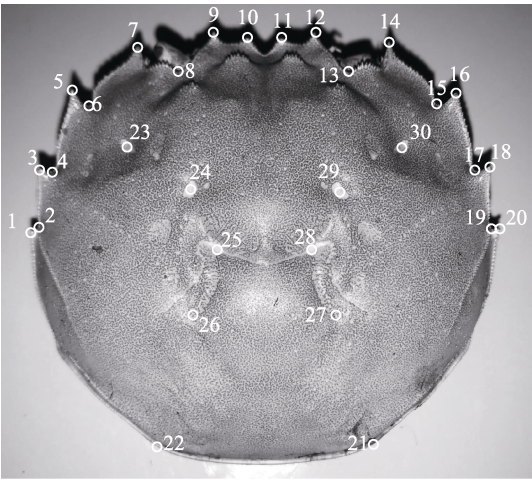


图 1 中华绒螯蟹头胸甲的地标点位置图
地标点的选取无先后次序, 图中数字仅为地标点编号。
Fig. 1 Landmark points on the carapace of *Eriocheir sinensis*
Information collection of landmark points are unordered, figures in the picture are landmark numbers only.

1.2.2 平均形与薄板样条分析 用 tpsRelw 软件经普氏叠加得出地标点的分布情况, 对每个样本的地标点进行平移置中、旋转和缩放等处理去除非形状差异并得到标准化数据, 据此进行局部扭曲和相对扭曲(relative warp, RW)主成分分析, 并保存软件生成的相对扭曲得分矩阵和分析报告用于后续分析。利用 tpsRegr 软件进行薄板样条分析, 绘出各水系中华绒螯蟹的网格变形图, 比较形态差异。

1.2.3 判别分析与聚类分析 利用各样本的相对扭曲得分, 采用欧氏距离的未加权组内平均法进

行系统聚类分析, 采用 Bayes 方法进行逐步判别分析, 分析软件为 SPSS 24.0。

2 结果与分析

2.1 主成分分析

相对扭曲主成分分析提取了 12 个主成分, 其中雌雄个体第一主成分(PC1)和第二主成分(PC2)的累积贡献率均超过 50.00%(表 2), 说明第一和第二主成分可以概括不同水系之间主要的形态特征差异。根据第一和第二主成分绘制的散点图如图 2 所示, 无论雌体还是雄体, 各群体散点之间虽有部分重叠但大体可以形成较为集中的区域, 其中长江、黄河、瓯江和闽江 4 群体与辽河和图们江 2 群体基本分离, 仅个别散点相互重叠。

2.2 差异可视化分析

利用 tpsRelw 软件根据地标点数据文件计算的平均形和重叠后的效果如图 3 所示, 通过 tpsRegr 软件进行扭曲、回归分析和置换检验后的网格图如图 4 所示。通过比较平均形与各群体网格图可以发现, 各群体头胸甲的形态特征差异主要为额刺和侧刺的长度。

2.3 判别分析

利用 SPSS 进行逐步判别分析时, 分别从雌雄个体的相对扭曲得分中筛选出对判别贡献率较大的 5 个变量建立判别方程, 用于各水系中华绒螯蟹的初步判别, 判别方程系数见表 3。

逐步判别分析的结果如表 4 所示, 长江、黄河、辽河、瓯江、闽江和图们江的各 50 只中华绒螯蟹样本中, 雌蟹的判别准确率分别为 88%、84%、92%、88%、92%和 92%, 综合判别率为

表 2 相对扭曲得分主成分的特征值与贡献率
Tab. 2 Eigenvalues and contributions of the first five principal components of relative warps scores

主成分 principal component	雄体 male			雌体 female		
	特征值 eigenvalue	贡献率 variance	累计贡献率 cumulative variance	特征值 eigenvalue	贡献率 variance	累计贡献率 cumulative variance
1	7.53	34.21	34.21	6.85	31.13	31.13
2	3.55	16.15	50.35	3.85	17.52	50.64
3	3.05	13.87	64.23	3.17	14.4	63.05
4	1.85	8.39	72.62	1.98	8.98	72.03
5	1.44	6.54	79.16	1.31	5.96	77.99

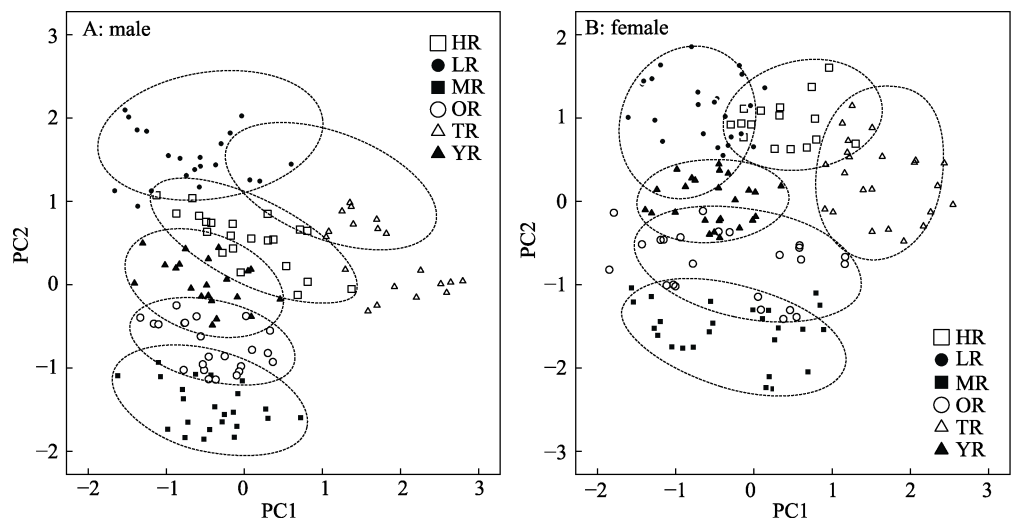


图 2 六水系野生中华绒螯蟹形态特征的第一和第二主成分散点图
A: 雄体, B: 雌体; HR: 黄河, LR: 辽河, MR: 闽江, OR: 瓯江, TR: 图们江, YR: 长江.
Fig. 2 Scatter plots of PC1 and PC2 of wild *Eriocheir sinensis* from different basins
A: male, B: female; HR: Huang River, LR: Liao River, MR: Min River, OR: Ou River, TR: Tumen River, YR: Yangtze River.

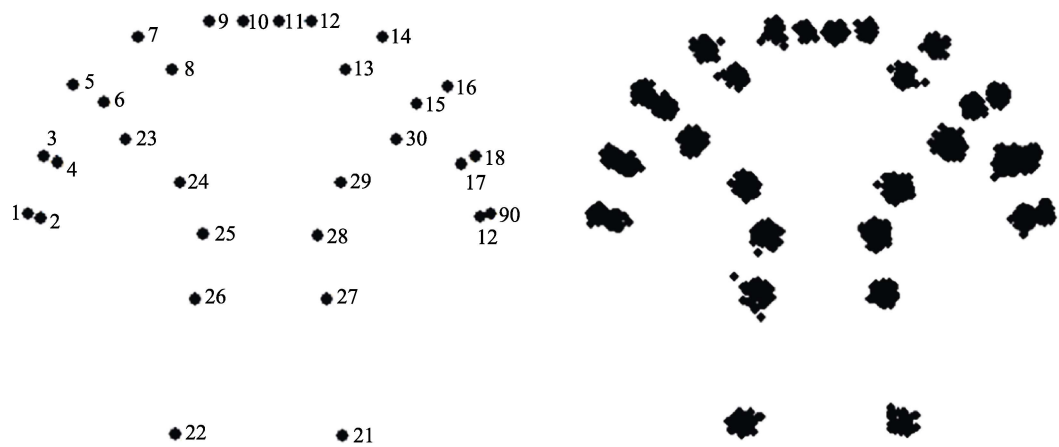


图 3 六水系中华绒螯蟹头胸甲的平均形和叠加图
Fig. 3 Mean shape and vectorization of landmarks on carapace of wild *Eriocheir sinensis* from different basins

89.33%; 雄体的判别准确率分别为 80%、84%、84%、84%、96%和 88%, 综合判别率为 86%。因此, 利用基于地标点法的几何形态学测量可以有效判别不同水系野生中华绒螯蟹, 且判别效果较好。

2.4 聚类分析

图 5 为采用欧式距离系数、最短距离法构建的聚类图。无论雌体还是雄体, 该聚类分析将实验样本分为两大组, 其中长江、瓯江、闽江以及黄河水系个体先聚为一类, 而辽河和图们江中华绒螯蟹趋异程度较高, 被聚为独立的一支。

3 讨论

3.1 地标点法的识别效果

本研究采用基于地标点的几何形态测量法区分不同地理种群野生中华绒螯蟹, 并取得了较好的识别效果。判别分析中各群体中华绒螯蟹的平均判别准确率为 87.67%, 说明地标点形态测量法可以将这六水系野生中华绒螯蟹有效区分。在之前比较长江、黄河、辽河和瓯江水系野生中华绒螯蟹形态特征的研究中, 基于传统形态测量法的平均判别准确率为 85.00%^[15], 此外, 在南流江、

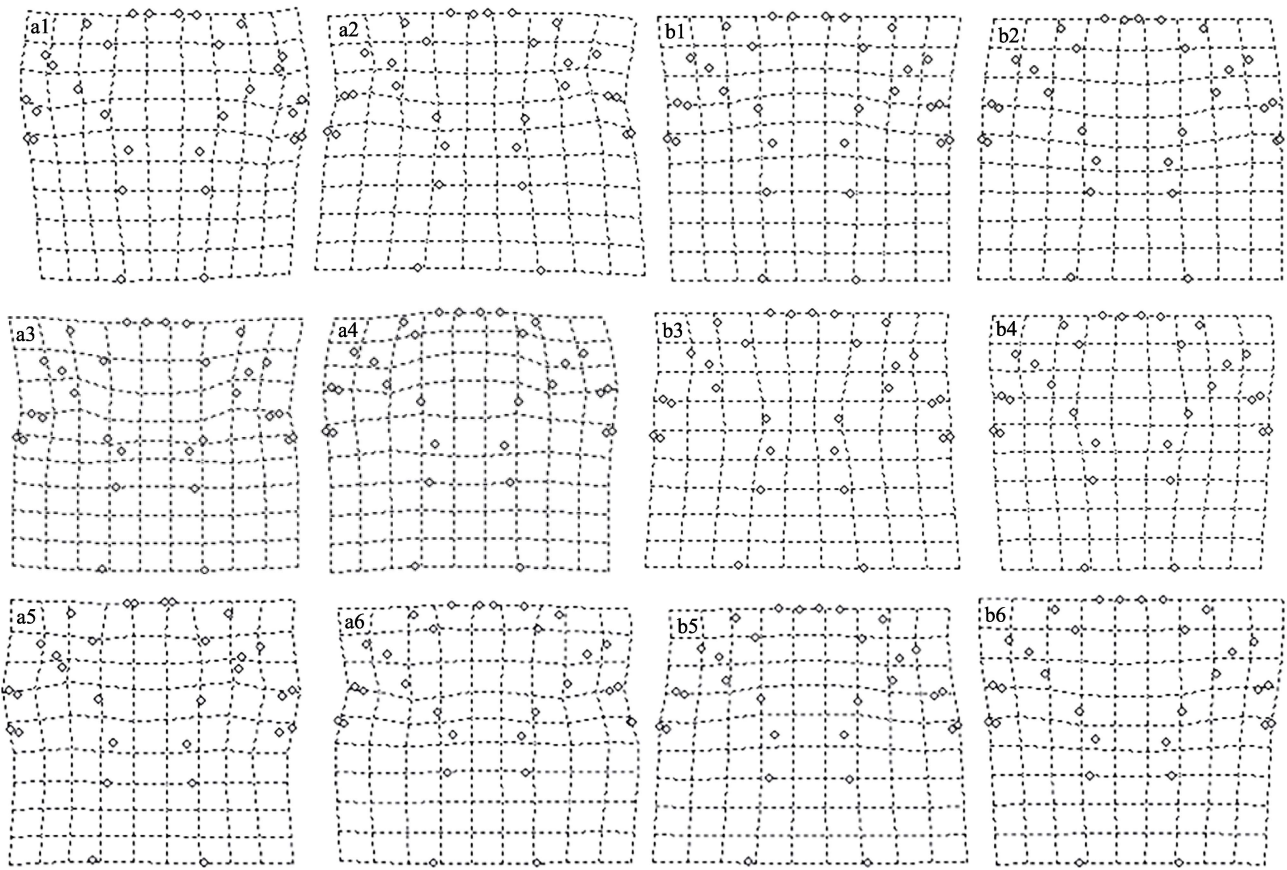


图 4 不同水系野生中华绒螯蟹头胸甲的网格变形图与变异可视化(变异扩大 3 倍)

a. 雄体; b. 雌体. 1. 长江; 2. 黄河; 3. 辽河; 4. 瓯江; 5. 闽江; 6. 图们江.

Fig. 4 Grid deformation and variation visualization of carapace of wild *Eriocheir sinensis* (variation are enlarged 3 times)
a. male; b. female; 1. Yangtze River; 2. Huang River; 3. Liao River; 4. Ou River; 5. Min River; 6. Tumen River

表 3 六水系中华绒螯蟹头胸甲的判别方程系数
Tab. 3 Discriminant function coefficients of wild *Eriocheir sinensis* from different basins

指标 index	长江 YR	黄河 HR	辽河 LR	瓯江 OR	闽江 MR	图们江 TR
雄体 male						
RW1	-4.66	-6.89	-7.56	-7.88	-6.11	-7.23
RW2	3.88	4.76	4.35	0.29	4.11	3.97
RW3	123.10	124.81	123.40	127.79	123.25	122.63
RW4	79.61	81.39	83.91	83.12	81.76	82.99
RW5	-84.74	-84.95	-97.88	-96.32	-91.31	-94.55
常数 constant	-165.38	-170.62	-168.25	-174.00	-166.66	-166.20
雌体 female						
RW1	9.36	7.53	7.16	7.44	8.56	7.59
RW2	-0.31	0.12	1.55	-2.47	0.73	0.44
RW3	76.88	78.57	78.84	79.34	77.96	77.65
RW4	25.87	24.89	28.04	27.89	26.42	28.20
RW5	-13.48	-12.49	-12.53	-17.33	-12.48	-14.07
常数 constant	-120.37	-123.51	-120.95	-126.28	-121.57	-118.30

表 4 六水系中华绒螯蟹的判别分析结果
Tab. 4 Classification results of wild *Eriocheir sinensis* from different basins

群体 population	长江 YR	黄河 HR	辽河 LR	瓯江 OR	闽江 MR	图们江 TR
雄体 male						
长江 YR	22(88%)	2(8%)	0	1(4%)	0	0
黄河 HR	2(8%)	21(84%)	1(4%)	0	0	1(4%)
辽河 LR	0	0	23(92%)	0	0	2(8%)
瓯江 OR	1(4%)	0	0	22(88%)	2(8%)	0
闽江 MR	0	0	0	2(8%)	23(92%)	0
图们江 TR	0	0	2(8%)	0	0	23(92%)
雌体 female						
长江 YR	20(80%)	3(12%)	0	2(8%)	0	0
黄河 HR	3(12%)	21(84%)	0	0	0	1(4%)
辽河 LR	0	3(12%)	21(84%)	0	0	1(4%)
瓯江 OR	3(12%)	0	0	21(84%)	1(4%)	0
闽江 MR	0	0	0	1(4%)	24(96%)	0
图们江 TR	0	0	3(12%)	0	0	22(88%)

注: 括号中数值为判别准确率。
Note: The data in breaks are accuracy rate.

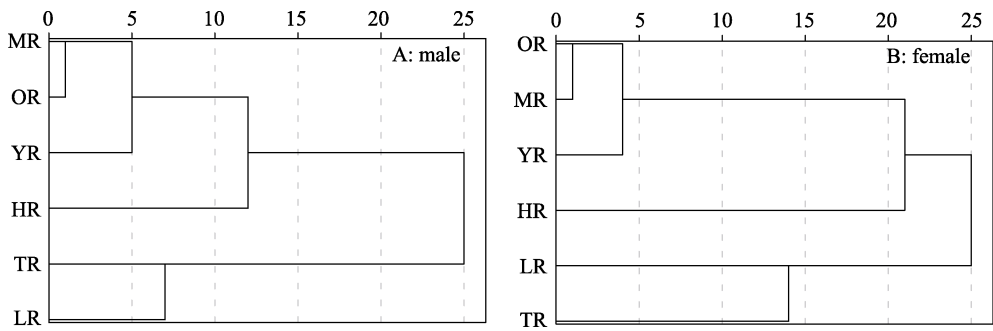


图 5 六水系中华绒螯蟹聚类分析树状图
Fig. 5 Dendrogram of cluster analysis among wild *Eriocheir sinensis* from different basins

绥芬河、长江和辽河水系中华绒螯蟹形态特征的比较研究中, 基于传统形态测量法的判别准确率平均为 79.63%^[24], 均稍低于本研究中基于地标点几何形态测量法的判别准确率。主成分分析结果显示, 各群体之间虽有部分散点相互重叠, 但大体可以形成较为集中的区域, 而康伟等^[25]基于传统形态测量法比较中华绒螯蟹和日本绒螯蟹形态特征的研究中, 图们江、长江和辽河水系野生个体之间存在明显重叠区, 区分效果略差于本研究所使用的地标点法。此外, 本研究通过差异可视化分析有效发现了各群体野生中华绒螯蟹在额刺和侧刺形状上的微小差异, 并根据形态差异将群体中华绒螯蟹聚为不同分支。

地标点法的判别优势主要在于其可以在去除非形状变异的干扰后将研究对象的形状视为一个变量来进行比较, 从而找出传统形态测量中较难发现的形态差异特征^[17]。除此之外, 地标点还能够以图形化的方式直观地再现形态差异, 清晰展现导致形状差异的主要性状以及性状变化的趋势^[26]。地标点法相较于传统形态测量法的识别优势, 在其他水生动物上亦有较好的体现: Ponton^[27]比较了传统测量法、地标点法和椭圆傅里叶方法区分 3 种半棱属(*Encrasicholina*)鱼类和印度小公鱼(*Stolephorus indicus*)耳石的有效性, 其结果表明, 地标点形态测量法比另两种方法更加有效, 且可以更加可视化地表达出耳石随着生长形态变异的

趋向; 苏杭^[28]通过不同形态学测量方法对柔鱼(*Ommastrephes bartramii*)和茎柔鱼(*Dosidicus gigas*)的群体鉴别和差异性进行分析, 研究发现, 相对于传统测量学法和傅立叶分析法, 地标点法对不同头足类具有更好的判别效果。

3.2 地标点的选取对识别效果的影响

虽然本研究中地标点法对不同地理种群中华绒螯蟹的识别效果好于之前的传统测量方法, 但该方法在取点过程中的不确定性和随机性, 很可能会影响识别效果。例如, 冯波等^[16]在运用传统形态测量方法和地标点方法对广东阳江和湛江两个短吻鲷(*Leiognathus brevirostris*)的形态特征进行分析比较的研究中, 由于所选取地标点的位置或数量不当, 传统形态测量方法反而表现出较好的区分效果, 由此可见, 地标点法的应用效果很大程度上取决于取点的准确性。

目前应用于生物学的地标点主要包括 3 种类型: 其中 I 型地标点主要指不同组织间的交点, II 型地标点为结构中的凹陷或突起点, III 型地标点为结构的极值点, 就本研究在中华绒螯蟹头胸甲上所选取的 30 个地标点而言, 1~22 为 III 型地标点, 23~30 为 II 型地标点^[29]。有研究表明, 环境变化主要影响甲壳动物头胸甲上额刺和侧刺的长度以及疣突和凹陷的明显程度, 与本研究形态差异可视化分析中额刺点和侧刺点的位置差异较大、而凹槽点几乎无差异的结果相一致, 这说明地标点法对甲壳动物头胸甲上 III 型地标点的识别效果可能好于 II 型地标点^[30]。此外, 附肢作为中华绒螯蟹直接接触自然环境的部位理当可以充分反映环境差异及长期地理隔离所致的形态特征差异, 但由于地标点法局限于采集硬组织上的形态信息, 中华绒螯蟹附肢等结构稳定性较差的部位无法通过地标点法采集及形态信息, 这可能会影响地标点法的分析效果^[31]。因此, 在选取地标点的过程中既要尽量选取合适的地标点又要剔除无效地标点, 在降低地标点间相关性的同时尽可能涵盖研究对象的形态特征信息。

3.3 形态特征差异分析

长江、黄河、辽河和瓯江流域为我国河蟹蟹苗、蟹种和成蟹的主要产区, 基于传统形态测量

法对主要流域中野生中华绒螯蟹形态特征进行多变量分析的研究已有相关报道。李勇等^[15]通过聚类分析将长江和瓯江个体聚为一类后再与辽河个体相聚, 并且判别分析中辽河个体的判别准确率较高。卢义等^[23]对不同水系野生中华绒螯蟹形态特征的聚类分析中, 将长江和黄河个体划分为同一组而将辽河个体区分为另一组。本文基于地标点法对长江、黄河、辽河和瓯江水系野生中华绒螯蟹的聚类分析结果与之类似, 辽河野生中华绒螯蟹形态特征趋异程度较高并同样被聚为独立的一支。但王茜等^[32]和李晨虹和李思发^[15]在比较中华绒螯蟹和日本绒螯蟹形态差异的研究中, 瓯江与辽河水系野生个体均最先聚为一类, 之后才与长江和黄河水系个体相聚。这些不同聚类结果之间的差异, 可能是由于样品采集时间或者选用的形态指标有所不同, 同时也反映出长江、黄河、辽河和瓯江蟹之间的形态特征差异较小。

图们江发源自中朝边境长白山山脉, 于俄朝边界处注入日本海, 且为中国进入日本海的唯一通道。有关图们江内野生中华绒螯蟹的种类尚存在一定争议: 康伟等^[25]认为图们江水系绒螯蟹为中华绒螯蟹与日本绒螯蟹分布的重叠区与混杂区且其形态偏向日本绒螯蟹, 依据是主成分分析显示图们江群体差异最大的表型性状均位于中华绒螯蟹与日本绒螯蟹之间, 并且传统聚类显示图们江水系绒螯蟹与日本绒螯蟹的形态差异最小; 而闫龙^[33]基于线粒体控制区的遗传学分析表明, 图们江个体与辽河个体的遗传多样性以及群体遗传结构最为接近, 两者应同属于中华绒螯蟹。根据本研究中图们江个体的分析结果, 虽未以日本绒螯蟹作为对照, 但聚类分析将图们江与辽河个体聚为一类, 并且主成分分析中图们江个体与其他水系存在一定的重叠区域, 这些结果均表明本研究所采集的图们江野生绒螯蟹应属于中华绒螯蟹。

福建闽江两岸多山, 缺少有利于河蟹生长育肥的附属湖泊, 并且野生环境中缺乏满足河蟹摄食所需要的生物饵料, 因此闽江水系中华绒螯蟹天然资源较为贫乏, 有关闽江中华绒螯蟹的研究也相对较少^[34]。张列士等^[14]在比较日本绒螯蟹与不同水系中华绒螯蟹形态差异的报到中描述了闽

江中华绒螯蟹的形态特征,但未能根据形态特征差异计算闽江个体与其它水系之间的亲缘关系及遗传距离。Wang 等^[35]通过对中华绒螯蟹线粒体DNA的分析,推断闽江为中华绒螯蟹与合浦绒螯蟹的混杂区域。而本实验所采集闽江蟹未表现出日本(合浦)绒螯蟹的形态特征,且在聚类分析中与长江、黄河和瓯江等中华绒螯蟹聚为一类。这可能是由于在外界环境的影响下,表型性状与分子层面的遗传多样性存在一定程度的差异化。另外,最近几年长江水系扣蟹被大量销往福建地区供成蟹养殖,闽江流域野生个体可能受到了逃逸至自然水体中长江河蟹的基因干扰,其外形特征也逐渐趋同于中华绒螯蟹。

综上所述,地标点法能够较为有效地揭示各水系野生中华绒螯蟹的形态特征差异,并可用于不同各水系中华绒螯蟹的群体识别,具有很好的应用前景。在下一步的研究中,我们需要增大样本量、补充不同地理种群、筛选更合适的特征地标点,以期更全面地了解我国中华绒螯蟹形态特征,并在其他水系中华绒螯蟹种群鉴别的研究上提供重要的基础资料和技术支持。

参考文献:

- [1] Wang W, Wang C H, Ma X Z. Ecological Culture of Chinese Mitten Crab Aquaculture[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2013: 59-84. [王武, 王成辉, 马旭洲. 河蟹生态养殖[M]. 北京: 中国农业出版社, 2013: 59-84.]
- [2] Sui L Y, Zhang F M, Wang X M, et al. Genetic diversity and population structure of the Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* in its native range[J]. Marine Biology, 2009, 156(8): 1573-1583.
- [3] 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. [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.]
- [4] He J, Wu X G, Long X W, et al. Culture performance and gonadal development of the first generation of selectively-bred Chinese mitten crabs from wild and cultured populations[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2015, 46(4): 808-818. [何杰, 吴旭干, 龙晓文, 等. 长江水系中华绒螯蟹野生和养殖群体选育子一代养殖性能和性腺发育的比较[J]. 海洋与湖沼, 2015, 46(4): 808-818.]
- [5] 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. [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.]
- [6] 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. [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.]
- [7] 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. [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.]
- [8] Zhao H L. Comparative studies on morphology, culture performance and biochemical composition among Yangtze, Huang, and Liao River populations of adult *Eriocheir sinensis* reared in ponds[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016: 8-20. [赵恒亮. 池塘养殖条件下中华绒螯蟹长江、黄河和辽河3个地理种群成蟹形态学、养殖性能和营养品质的比较研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016: 8-20.]
- [9] Zhang C, Zu L, Li Q Q, et al. The population inheritance of six mitten crab populations (*Eriocheir sensu stricto*) in coastal china based on phospholipid fatty acids biomarkers[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2019, 50(2): 388-397. [张成, 祖露, 李清清, 等. 基于脂肪酸标记法探讨中国沿海六群体绒螯蟹(*Eriocheir sensu stricto*)的种群遗传[J]. 海洋与湖沼, 2019, 50(2): 388-397.]
- [10] 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. [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.]
- [11] Xu J W, Ren M R, Li S F. Morphological identification of population of *Eriocheir sinensis* from Changjiang, Liaohe and Oujiang rivers[J]. Journal of Fisheries of China, 1997, 21(3): 269-274. [许加武, 任明荣, 李思发. 长江、辽河、瓯江中华绒螯蟹种群的形态判别[J]. 水产学报, 1997, 21(3): 269-274.]
- [12] Li Y, Li S F, Wang C H, et al. Establishment and application of morphological discrimination model for juveniles *Eriocheir sinensis* from Liaohe, Yangtze and Oujiang rivers[J]. Journal of Fisheries of China, 2001, 25(2): 120-126. [李勇, 李思发, 王成辉, 等. 三水系中华绒螯蟹幼蟹形态判别程序的建立和使用[J]. 水产学报, 2001, 25(2): 120-126.]
- [13] Tang B P, Chen L Q, Zhou K Y, et al. On the morphological

- characters of mitten crabs (*Brachyura*, *Varunidae*) antennae and its application in the classification[J]. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 2009, 34(1): 79-86. [唐伯平, 陈立侨, 周开亚, 等. 绒螯蟹触角形态特征及其在分类中的应用[J]. 动物分类学报, 2009, 34(1): 79-86.]
- [14] Zhang L S, Jiang Z Z, Li J. The morphological comparison between *Eriocheir japonica* and *Eriocheir sinensis* in different water systems[J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2002, 11(2): 110-113. [张列士, 姜治忠, 李军. 日本绒螯蟹与不同水系中华绒螯蟹的形态比较[J]. 上海水产大学学报, 2002, 11(2): 110-113.]
- [15] 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. [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.]
- [16] Feng B, Cheng L M. Identifying *Leiognathus brevirostris* stocks by geometric morphometrics[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2011, 20(5): 677-681. [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.]
- [17] Yan B R, Hua B Z. Geometric morphometrics and its application in the systematics and phylogenetics of insects[J]. *Entomotaxonomia*, 2010, 32(4): 313-320. [闫宝荣, 花保祯. 几何形态测量学及其在昆虫分类学和系统发育中的应用[J]. 昆虫分类学报, 2010, 32(4): 313-320.]
- [18] Ge D Y, Xia L, Lv X F, et al. Methods in geometric morphometrics and their applications in ontogenetic and evolutionary biology of animals[J]. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 2012, 37(2): 296-304. [葛德燕, 夏霖, 吕雪霏, 等. 几何形态学方法及其在动物发育与系统进化研究中的应用[J]. 动物分类学报, 2012, 37(2): 296-304.]
- [19] 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. [杨文斌, 苏彦平, 刘洪波, 等. 长江水系 3 个湖泊中华绒蟹形态及元素“指纹”特征[J]. 中国水产科学, 2012, 19(1): 84-93.]
- [20] Yang J, Qiu C W, Su Y P, et al. Analysis on morphological and elemental difference of Chinese mitten crab from different water areas[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2013, 41(3): 187-191. [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.]
- [21] Zheng C C, Jiang T, Luo R J, et al. Landmark-based morphometric identification of different geographical origins for the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41(12): 1896-1907. [郑朝臣, 姜涛, 骆仁军, 等. 不同产地中华绒螯蟹形态差异的地标点法分析[J]. 水产学报, 2017, 41(12): 1896-1907.]
- [22] Jiang T, Yang J, Liu H B, et al. A comparative study of the morphology of sagittal otolith in *Coilia nasus*, *Coilia mystus* and *Coilia nasus taihuensis*[J]. *Marine Sciences*, 2011, 35(3): 23-31. [姜涛, 杨健, 刘洪波, 等. 刀鲚、凤鲚和湖鲚矢耳石的形态学比较研究[J]. 海洋科学, 2011, 35(3): 23-31.]
- [23] Lu Y, Wu X G, He J, et al. Comparative studies of the morphology and biochemical composition of wild juvenile Chinese mitten crabs from the Yangtze River, Yellow River and Liaohe River systems[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2016, 23(2): 382-395. [卢义, 吴旭干, 何杰, 等. 长江、黄河、辽河水系中华绒螯蟹野生扣蟹的形态学及生化组成[J]. 中国水产科学, 2016, 23(2): 382-395.]
- [24] 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. [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.]
- [25] 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. [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.]
- [26] He K, Bai M, Wan T, et al. Shape variation in mandibles of *Parascaptor leucura* (Mammalia, Talpidae) based on geometric morphometrics: implication for geographic diversification[J]. *Acta Theriologica Sinica*, 2013, 33(1): 7-17. [何锴, 白明, 万韬, 等. 白尾鼯(鼯科: 哺乳纲)下颌骨几何形态测量分析及地理分化研究[J]. 兽类学报, 2013, 33(1): 7-17.]
- [27] Ponton D. Is geometric morphometrics efficient for comparing otolith shape of different fish species?[J]. *Journal of Morphology*, 2010, 267(6): 750-757.
- [28] Su H. Identification application of geometric morphometrics in *Ommastrephide* economic zone[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016: 63-69. [苏杭. 几何形态测量学在大洋性头足类种间及种群鉴别中的应用[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016: 63-69.]
- [29] Chen X J, Fang Z, Su H, et al. Review and application of morphometrics in aquatic animals[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(12): 1873-1885. [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.]
- [30] Jiang X D, Wu X G, He J, et al. Effects of selective breeding on the morphological characteristics of wild and cultured juvenile Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2018, 42(8): 1285-1298. [姜晓东, 吴旭干, 何杰, 等. 遗传选育对野生和养殖中华绒螯蟹种形态学特征的影响[J]. 水产学报, 2018, 42(8): 1285-1298.]
- [31] He J, Xu P, Zhu J. Morphological variations and species validity of *Eriocheir sinensis* in the north and south drainage

- systems of China[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2009(3): 79-86. [何杰, 徐跑, 朱健. 南北水系中华绒螯蟹形态差异分析[J]. 海洋湖沼通报, 2009(3): 79-86.]
- [32] 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. [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.]
- [33] Yan L. Study on morphology and genetics of *Eriocheir sinensis*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015: 23-33. [闫龙. 中华绒螯蟹群体的形态学及遗传学研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015: 23-33.]
- [34] Huang L M, Li J, Zhang Y Z, et al. Current fishery resource assessment in the Minjiang River Estuary and its neighboring waters[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2010, 29(5): 142-148. [黄良敏, 李军, 张雅芝, 等. 闽江口及附近海域渔业资源现存量评析[J]. 热带海洋学报, 2010, 29(5): 142-148.]
- [35] Wang C H, Li C H, Li S F. Mitochondrial DNA-inferred population structure and demographic history of the mitten crab (*Eriocheir sensu stricto*) found along the coast of mainland China[J]. Molecular Ecology, 2008, 17(15): 3515-3527.

Landmark-based morphometric identification of wild *Eriocheir sinensis* with geographically different origins

JIANG Xiaodong^{1,4,5}, CHENG Yongxu^{1,4,5}, PAN Jianlin², LI Xiaodong³, WU Xugan^{1,4,5}

1. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. Freshwater Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Nanjing 210017, China;
3. Panjin Guanghe Crab Industry Ltd. Co., Panjin 124200, China;
4. Shanghai Collaborative Innovation Center for Aquatic Animal Genetics and Breeding, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
5. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: With the development of statistical and computational technology, landmark-based morphometric analysis has widely been used for species classification and identification in recent years, but it has never been used to identify wild *Eriocheir sinensis* from geographically different basins. Therefore, this research was resized to identify different geographical populations of wild *E. sinensis* collected from the Tumen River (TR), Liao River (LR), Huang River (HR), Yangtze River (YR), Ou River (OR), and Min River (MR). Landmark-based geometric morphometrics analysis was used to compare the morphological characteristics of their carapaces. The main step was to extract coordinate values of landmark-based points on the carapace, and then perform the relative warp principal component analysis and discriminant analysis to distinguish the 6 wild populations, and finally visualize the morphological variation with thin plate spline analysis and grad distortion. The results showed that: (1) in principal component analysis, wild populations could be divided into 6 relatively independent groups by the first two principal components, though the plots slightly overlapped between different populations; (2) the grad distortion map showed that morphological differences of various populations were mainly manifested in the frontal and lateral spines of the carapace; (3) the discriminative accuracy of various populations in the stepwise discriminant analysis was 80%-96% with a certain risk of misjudgment; (4) cluster analysis showed that YR, HR, OR, and MR individuals clustered independently, whereas TR and LR individuals formed another distinct cluster, whether females or males. In summary, landmark-based morphometrics analysis is an effective means to distinguish wild *E. sinensis* from different basins, but it still needs to be confirmed by traditional morphometrics analysis and genetic analysis.

Key words: *Eriocheir sinensis*; geographical population; geometric morphometrics; landmark-based analysis; population identification

Corresponding author: WU Xugan. E-mail: xgwu@shou.edu.cn