

# 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:生化遗传差异分析

赵金良 李思发

(农业部水产增殖生态、生理重点开放实验室, 上海水产大学, 200090)

**摘 要** 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳分析比较了分布于我国大陆沿海 6 个主要水系的两种绒螯蟹(中华绒螯蟹、日本绒螯蟹)群体间的生化遗传差异。结果发现, (1) 辽河、黄河、长江和瓯江中华绒螯蟹群体间的生化遗传差异不显著, 四个群体间的遗传距离  $D=0.000\ 6\sim 0.005\ 3$ , 属种内群体间差异。(2) 珠江和南流江日本绒螯蟹群体间的生化遗传差异也不显著, 两个群体间遗传距离  $D=0.000\ 7$ , 尚未达到亚种分化水平。(3) 辽河、黄河、长江和瓯江中华绒螯蟹与珠江和南流江日本绒螯蟹在 SOD 同工酶表型上有明显差异, SOD-2 位点仅在辽河、黄河、长江和瓯江中华绒螯蟹中表达, 而 SOD-4 位点仅在珠江和南流江日本绒螯蟹中表达, 这些可作为中华绒螯蟹与日本绒螯蟹群体区分的生化遗传标志。辽河、黄河、长江和瓯江中华绒螯蟹群体同珠江和南流江日本绒螯蟹群体间的遗传距离较大,  $D=0.072\ 1\sim 0.074\ 7$ 。(4) 聚类分析表明, 在我国大陆沿海水系分布的绒螯蟹可分为两大类群, 辽河、黄河、长江和瓯江水系的绒螯蟹属北方类群, 即中华绒螯蟹; 珠江和南流江的绒螯蟹属南方类群, 即日本绒螯蟹。

**关键词** 中华绒螯蟹, 日本绒螯蟹, 群体, 亲缘关系, 生化遗传差异

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)和日本绒螯蟹(*Eriocheir japonicus*)同属甲壳纲, 方蟹科, 绒螯蟹属, 是经济价值较高的蟹类[戴爱云 1986]。中华绒螯蟹在我国分布范围很广, 北起辽河(北纬  $42^{\circ}$ ), 南至闽江(北纬  $27^{\circ}$ ), 在渤海、黄海与东海沿岸诸省均有分布[赵乃刚等 1988]。日本绒螯蟹在我国分布于福建南部、台湾、广东等沿海各省份, 而分布于广西省北部湾河口地区的绒螯蟹是日本绒螯蟹的合浦亚种(*Eriocheir japonicus hepuensis* sub. nov)[戴爱云 1991]。

20 世纪 70 年代起, 全国开展中华绒螯蟹的人工放流, 增殖效果显著。80 年代, 由于经济效益明显, 又兴起了中华绒螯蟹的人工养殖。近年来, 广西合浦绒螯蟹也得到了开发利用。河蟹养殖现已成为我国水产养殖中一大新兴产业。

随着我国河蟹养殖业的蓬勃发展, 养殖中也出现了许多急待解决的问题。一方面, 不同水系绒螯蟹蟹苗和蟹种的生产效果差别很大, 成蟹的品质也不同[徐兴川 1991, 徐兴川等 1992], 另一方面, 由于各水系绒螯蟹间的盲目移植放流和养殖, 已造成绒螯蟹的遗传混杂和性状衰退。因而, 深入了解不同水系绒螯蟹的遗传特征和种质差异已成为河蟹养殖业持续发展当务之急。

本文选择了辽河、黄河、长江、瓯江、珠江、南流江六个代表性的绒螯蟹群体, 比较研究它

们在生化遗传上的差异, 以期为了解不同水系绒螯蟹的亲缘关系和种质鉴别提供依据。闽江水系绒螯蟹的天然资源极其贫乏, 未能采集到样本。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

样本于 1998 年 9~10 月分别取自辽河(辽宁盘锦)、黄河(山东东平)、长江(江苏镇江)、瓯江(浙江温州)、珠江(广东顺德)、南流江(广西合浦)。所有样本皆为成蟹, 随机采集, 各群体的平均体重分别为 98.2g, 75.0g, 139.2g, 107.2g, 38.1g, 50.1g。除黄河水系绒螯蟹为人工繁殖群体外, 其他绒螯蟹样本皆为天然群体。活体解剖, 取肝脏、步足肌肉, 分别编号放入小塑料袋中, 低温冰箱(-20℃)保存备用。

### 1.2 电泳

聚丙烯酰胺凝胶 LKB 电泳仪电泳。除酯酶(EST)使用浓度 7.5% 凝胶外, 其余酶均使用浓度 5% 凝胶。共测定分析了 17 种同工酶: 天冬氨酸转氨酶(AAT)、酸性磷酸酶(ACP)、醇脱氢酶(ADH)、碱性磷酸酶(ALP)、酯酶(EST)、谷氨酸脱氢酶(GDH)、甘油-3-磷酸脱氢酶(G-3-PDH)、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6-PDH)、磷酸葡萄糖异构酶(GPI)、异柠檬酸脱氢酶(IDH)、乳酸脱氢酶(LDH)、苹果酸脱氢酶(MDH)、苹果酸酶(ME)、6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶(6PGDH)、磷酸葡萄糖变位酶(PGM)、山梨醇脱氢酶(SDH)、超氧化物歧化酶(SOD)。电泳条件及染色方法参照李思发[1998]。群体间的遗传相似度(I)、遗传距离(D)及聚类分析法参照王家玉[1975]。

## 2 结果

### 2.1 6 个绒螯蟹群体的生化遗传特征

对辽河、黄河、长江、瓯江、珠江和南流江 6 个绒螯蟹群体的 17 种同工酶进行了电泳分析。其中, ACP、ADH、GDH、G6PDH、GPI、ME、6PGDH、PGM 和 SDH 电泳未显带或显带不清。在显带清晰的 8 种同工酶中, 发现同工酶 SOD 的表型在不同绒螯蟹群体肝脏中有明显差异(图 1)。该酶在肝脏中由 4 个位点编码, 在这 6 个群体中有两种表型: 辽河、黄河、长江、瓯江绒螯蟹群体中表型相同, 表现有 SOD-1、SOD-2 和 SOD-3 三条酶带; 珠江、南流江绒螯蟹群体表型一致, 表现有 SOD-1、SOD-3 和 SOD-4 三条酶带。其中, SOD-2 为辽河、黄河、长江和瓯江绒螯蟹群体所特有, 而 SOD-4 为珠江和南流江绒螯蟹群体特有, 可作为这些绒螯蟹群体区分的生化遗传标志。

8 种同工酶中共检测到 17 个基因位点, 其中 Alp、Est-1、Est-2、Est-3 和 Est-4 位点表现有多态性。不同绒螯蟹群体的基因位点及其等位基因频率见表 1。

6 个水系绒螯蟹群体多态位点比例均为 31.25%, 而平均杂合度分别为辽河 0.104 1、黄河 0.099 7、长江 0.101 5、瓯江 0.099 9、珠江 0.091 0 及南流江 0.091 2。

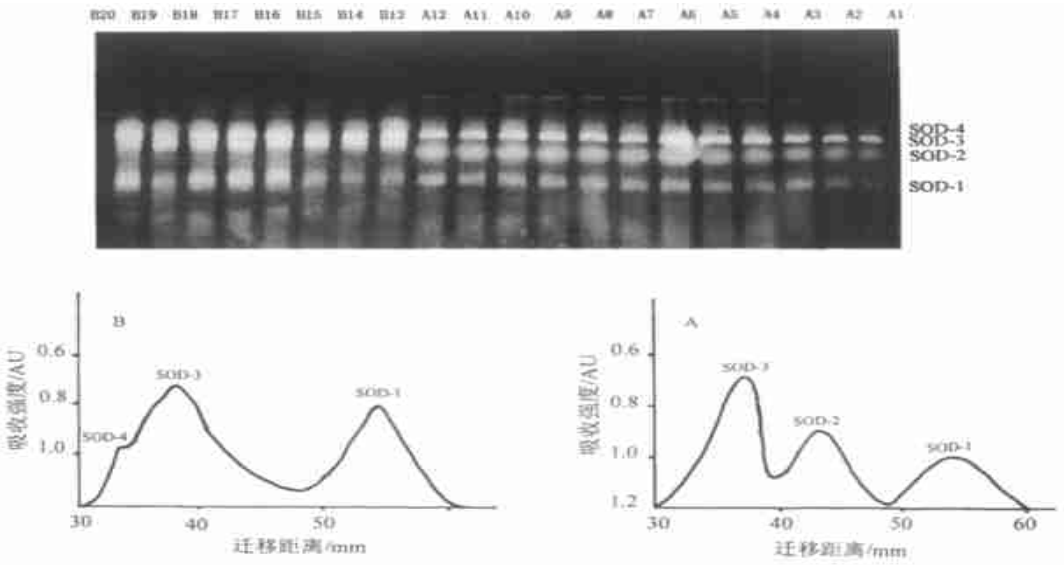


图 1 6 水系统螯蟹肝脏中 SOD 同工酶的电泳及扫描图

Fig. 1 Electrophoretogram and scanning of SOD in the liver of mitten crab populations from six river systems

A1- 3: 辽河; A4- 6: 黄河; A7- 9: 长江; A10- 12: 瓯江; B13- 15: 珠江; B16- 18: 南流江

表 1 6 水系统螯蟹群体所测基因位点及其等位基因频率

Tab. 1 Loci and allelic frequencies of enzymes observed in mitten crab populations from six river systems

| 基因位点    | 等位基因 | 辽河(n= 33) | 黄河(n= 33) | 长江(n= 28) | 瓯江(n= 32) | 珠江(n= 30) | 南流江(n= 30) |
|---------|------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| sAat    | 100  | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0    |
| mAat    | 100  | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0    |
| Alp     | 100  | 0.696 9   | 0.500 0   | 0.500 0   | 0.515 6   | 0.680 0   | 0.714 3    |
|         | 94   | 0.303 1   | 0.500 0   | 0.500 0   | 0.484 4   | 0.320 0   | 0.285 7    |
| Est- 1  | 100  | 0.924 2   | 0.954 5   | 0.977 2   | 0.953 1   | 0.961 5   | 0.982 1    |
|         | 105  | 0.075 8   | 0.045 5   | 0.022 8   | 0.046 9   | 0.038 5   | 0.017 9    |
| Est- 2  | 100  | 0.969 6   | 0.969 6   | 0.977 2   | 0.984 4   | 0.942 3   | 0.946 4    |
|         | 95   | 0.030 4   | 0.030 4   | 0.022 8   | 0.015 6   | 0.057 7   | 0.053 6    |
| Est- 3  | 106  | 0.058 8   | 0.062 5   | 0.125 0   | 0.140 6   | 0.071 4   | 0.107 1    |
|         | 100  | 0.691 2   | 0.796 9   | 0.645 8   | 0.718 8   | 0.803 6   | 0.785 7    |
|         | 93   | 0.250 0   | 0.140 6   | 0.229 2   | 0.140 6   | 0.125 0   | 0.107 2    |
| Est- 4  | 115  | 0.363 7   | 0.257 5   | 0.166 7   | 0.234 4   | 0.142 9   | 0.125 0    |
|         | 100  | 0.515 1   | 0.530 3   | 0.645 8   | 0.578 1   | 0.660 7   | 0.589 3    |
|         | 86   | 0.121 2   | 0.212 2   | 0.187 5   | 0.187 5   | 0.196 4   | 0.285 7    |
| G3pdh   | 100  | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0    |
| Idh     | 100  | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0    |
| Ldh     | 100  | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0    |
| sMdh    | 100  | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0    |
| mMdh- 1 | 100  | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0    |
| mMdh- 2 | 100  | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0    |
| Sod- 1  | 100  | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0    |
| Sod- 2  | 100  | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 0.000 0   | 0.000 0    |
| Sod- 3  | 100  | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0    |
| Sod- 4  | 100  | 0.000 0   | 0.000 0   | 0.000 0   | 0.000 0   | 1.000 0   | 1.000 0    |

注: n 为样本数。

### 2.2 6 水系绒螯蟹群体间的遗传距离

表 2 列出 6 水系绒螯蟹群体的遗传相似度和遗传距离值。其中, 辽河、黄河、长江和瓯江四个绒螯蟹群体间遗传距离  $D = 0.0006 \sim 0.0053$ , 珠江和南流江两个绒螯蟹群体间的遗传距离  $D = 0.0007$ 。而辽河、黄河、长江和瓯江 4 个绒螯蟹群体与珠江和南流江绒螯蟹群体间的遗传距离均较大,  $D = 0.0721 \sim 0.0747$ 。

6 水系绒螯蟹群体间遗传距离值聚类分析结果显示, 它们分为两支, 一支由辽河、黄河、长江和瓯江水系绒螯蟹组成; 另一支由珠江和南流江水系绒螯蟹组成(图 2)。

表 2 6 水系绒螯蟹群体间的遗传相似度和遗传距离

Tab. 2 Genetic similarities and genetic distances of mitten crab populations among six river systems

| 群体  | 辽河      | 黄河      | 长江      | 瓯江      | 珠江      | 南流江     |
|-----|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 辽河  |         | 0.004 3 | 0.005 3 | 0.001 3 | 0.073 0 | 0.073 7 |
| 黄河  | 0.995 8 |         | 0.002 0 | 0.000 6 | 0.072 4 | 0.074 7 |
| 长江  | 0.994 8 | 0.998 0 |         | 0.000 9 | 0.072 9 | 0.074 1 |
| 瓯江  | 0.998 7 | 0.999 4 | 0.999 2 |         | 0.072 1 | 0.073 1 |
| 珠江  | 0.927 0 | 0.927 6 | 0.927 2 | 0.927 9 |         | 0.000 7 |
| 南流江 | 0.926 3 | 0.925 3 | 0.925 9 | 0.926 9 | 0.999 3 |         |

注: 对角线右上方为遗传距离, 左下方为遗传相似度。

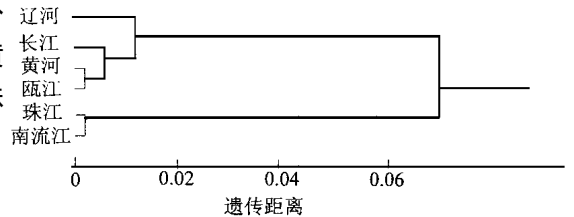


图 2 6 水系绒螯蟹群体的聚类分析

Fig. 2 Dendrogram constructed from the genetic distance values of the mitten crab populations from six river systems

## 3 讨论

### 3.1 北方四水系中华绒螯蟹群体的亲缘关系

本研究结果未见辽河、黄河、长江和瓯江绒螯蟹在生化遗传特征上有何明显差异, 群体间的遗传相似度高( $I = 0.9948 \sim 0.9994$ ), 遗传距离小( $D = 0.0006 \sim 0.0053$ )。王家玉 [1975] 提出种群间遗传距离的范围是  $0 \sim 0.05$ , 亚种间遗传距离是  $0.02 \sim 0.2$ ; Hedgecock 等 [1982] 提出甲壳动物同种不同种群间的遗传距离为  $0.05 \sim 0.11$ 。鉴于辽河、黄河、长江和瓯江四水系绒螯蟹群体间的遗传分异均较低, 我们认为, 它们同属中华绒螯蟹的不同地理种群。这与李思发和邹曙明 [1999] 对这几个水系绒螯蟹群体同批样本的 RAPD 分析结果, 以及邱涛等 [1997]、高志千和周开亚 [1998] 的 RAPD 研究结果相一致。

王丹和于伟君 [1995] 报道了长江水系绒螯蟹与辽河水系绒螯蟹在酯酶 EST 表型上存在差异, 张洁等 [1997] 报道了瓯江水系绒螯蟹与长江水系绒螯蟹在同工酶 MDH 表达上存在差异。他们所报道的差异在本研究中均未能得到验证, 作者认为可能是由于他们的研究样本较小所致。

### 3.2 南方两水系绒螯蟹群体的亲缘关系

本研究发现珠江和南流江绒螯蟹在生化遗传特征上极为相似, 遗传距离仅为  $0.0007$ 。这一差异应属种群水平差异, 未达亚种分化水平。由于南流江绒螯蟹与珠江绒螯蟹之间的遗传分异极低, 我们更倾向于支持堵南山 [1998] 的观点, 即“将日本绒螯蟹的合浦亚种归为日本绒螯蟹的一个地理种群”。而不提升为亚种 [戴爱云 1991] 或独立种 [Guo 等 1995]。

### 3.3 中华绒螯蟹与日本绒螯蟹的遗传差异

过去的细胞遗传学资料表明, 日本绒螯蟹与中华绒螯蟹分属不同物种, 染色体数目不同

(日本绒螯蟹  $2n=148$ ; 中华绒螯蟹  $2n=146$ ) [Niiyama 1937, 堵南山等 1986]。尽管二者染色体数目相差一对, 但据彭武汉[1986]报道, 中华绒螯蟹能与日本绒螯蟹杂交, 并能培育出幼蟹。这表明, 中华绒螯蟹和日本绒螯蟹的核型相容性较高, 亲缘关系较近。

Zhang 和 Lu[1991]对成熟中华绒螯蟹与日本绒螯蟹合浦亚种的同工酶研究中未发现它们有明显差异。Li 等[1993]对南方广东绒螯蟹与长江绒螯蟹的形态及生化遗传变异进行研究, 认为南方的绒螯蟹与长江绒螯蟹之间无明显差异, 并认为日本绒螯蟹与中华绒螯蟹为同一物种, 中华绒螯蟹是日本绒螯蟹的同物异名。项超美等[1998]用 RAPD 法比较中华绒螯蟹与日本绒螯蟹合浦亚种两者之间的关系时, 仅发现个体间的多态性差异, 而无明显的遗传差异。以上研究者从遗传学的不同侧面对绒螯蟹属群体研究的结果均表明它们可能是在遗传上分化程度较低的物种。

本研究发现, 珠江和南流江日本绒螯蟹在同工酶 SOD 表型上与辽河、黄河、长江和瓯江中华绒螯蟹存在明显差异。其中, SOD-2 仅在辽河、黄河、长江和瓯江绒螯蟹中表达, 而 SOD-4 仅在珠江和南流江绒螯蟹中表达。从遗传距离上看, 珠江和南流江绒螯蟹与其他四水系中华绒螯蟹间的遗传距离为 0.072 1~0.074 7, 远大于北方中华绒螯蟹各水系间的差异。参照王家玉[1975]和 Hedgecock 等[1982]提出的遗传分类观点, 珠江和南流江绒螯蟹群体与辽河、黄河、长江和瓯江四个绒螯蟹群体间的遗传分异尚处在亚种以上分化水平。本室对这 6 水系绒螯蟹群体形态判别分析[李晨虹和李思发 1999]的结果也证明了这一点。

李晨虹、邹曙明和李家乐同志参加样本采集工作, 渔业学院水生生物专业九九届黄爱华参加部分实验工作, 渔业学院张敏同志协助拍照, 特此致谢。

## 参 考 文 献

- 王 丹, 于伟君. 1995. 辽河长江两水系中华绒螯蟹酯酶和乳酸脱氢酶的同工酶比较研究. 辽宁大学学报(自然科学版), 22(4): 77~81
- 王家玉(译). 1975. 分子群体遗传学和进化论. 北京: 农业出版社. 121~203
- 李思发. 1998. 中国淡水主要养殖鱼类种质资源研究. 上海: 上海科学技术出版社. 184~193
- 李思发, 邹曙明. 1999. 中国大陆沿海六水系绒螯蟹(中华绒螯蟹和日本绒螯蟹)群体亲缘关系的 RAPD 指纹标记. 水产学报, 23(4): 325~330
- 李晨虹, 李思发. 1999. 中国大陆沿海六水系绒螯蟹(中华绒螯蟹和日本绒螯蟹)群体亲缘关系的形态判别分析. 水产学报, 23(4): 337~342
- 张 洁, 陈立乔, 周忠良等. 1996. 中华绒螯蟹同工酶发育遗传学研究 I. 长江中华绒螯蟹不同组织同工酶的特异性分析. 华东师范大学学报(自然科学版), (动物学专集): 38~42
- 赵乃刚, 堵南山, 包祥生等. 1988. 河蟹的人工繁殖与增养殖. 合肥: 安徽科学技术出版社. 6~9
- 徐兴川. 1991. 关于中华绒螯蟹品质保持问题的探讨. 水产科技情报, 18(1): 17~19
- 徐兴川, 朱振东, 黎志强等. 1992. 长江和瓯江水系蟹种湖泊放养的技术效果. 淡水渔业, (5): 25~29
- 彭武汉. 1986. 中华绒螯蟹种群在珠江流域变异问题的初步探讨. 水产科技情报, (2): 19~22
- 高志千, 周开亚. 1998. 中华绒螯蟹遗传变异的 RAPD 分析. 生物多样性, 6(3): 186~190
- 堵南山, 赖 伟, 薛鲁征. 1986. 中华绒螯蟹染色体的研究. 动物学研究, 7(3): 293~296
- 堵南山. 1998. 中华绒螯蟹的同属种类及其英文名称. 水产科技情报, 25(3): 108~109, 113
- 邱 涛, 陆仁后, 项超美等. 1997. RAPD 方法对中华绒螯蟹长江辽河瓯江三群体的遗传多样性分析. 淡水渔业, 27(5): 3~6
- 项超美, 陆仁后, 谢 浩等. 1998. 四种十足目甲壳动物遗传差异的 RAPD 分析. 水生生物学报, 22(3): 251~256

- 戴爱云. 1986. 中国海洋虾蟹. 北京: 海洋出版社. 475~ 477
- 戴爱云. 1991. 绒螯蟹属亚种分化的研究(十足目, 短尾派). 系统进化动物学重点实验室论文集(第一集). 北京: 中国科学技术出版社. 61~ 71
- Hedgecock D, Tracey M L, Nelson K. 1982. Genetics. In L. G. Abele (Editor). The Biology of Crustacea, Vol. 2. New York : Academic Press. 283~ 403
- Li G, Shen Q, Xu Z X. 1993. Morphometric and biochemical genetic variation of the mitten crab, *Eriocheir* in southern China. Aquac. 11:103~ 115
- Guo Y, Ng N K, Dai A Y, et al. 1995. The taxonomy of the three commercially important species of mitten crabs of the genus *Eriocheir* De Haan, 1938. (Crustacea; Decapoda; Brachyura; Grapsidae). Raffle Bull Zool, 45(2):445~ 476
- Niiyama, H. 1937. The problem of male heterogamety in the Decapod Crustacea, with apetal reference to the sex chromosomes in *Plagusia dentipes* (de Haan) and *Eriocheir japonicus* (de Haan). ibid. V: 283~ 295
- Zhang J, Lu R. 1993. A comparison between two kinds of mitten crabs on annual variation of H- EST isozyme. Aquac, 111: 322

## PHYLOGENESIS OF POPULATIONS OF MITTEN CRABS (*ERIOCHEIR SINENSIS*, *E. JAPONICUS*) IN SIX RIVERS OF MAINLAND CHINA: BIOCHEMICAL GENETIC DIFFERENCE ANALYSIS

ZHAO JIN-Liang, LI Si-Fa

(Key Laboratory of Ecology and Physiology in Aquaculture of Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, 200090)

**ABSTRACT** Biochemical genetic differences of two varieties of mitten crabs (*Eriocheir sinensis* and *Eriocheir japonicus*) from Liaohe, Huanghe, Changjiang, Oujiang, Pearl and Nanliujiang rivers in the mainland of China were analysed by acrylamide gel electrophoresis. The results showed: (1) There were no significant differences in biochemical genetic character of the mitten crab among Liaohe, Huanghe, Changjiang and Oujiang rivers, the genetic divergence among these four populations ( $D = 0.0006 \sim 0.0053$ ) were low and they all belong to populations of *E. sinensis*. (2) There was also no significant difference in biochemical genetic character of the mitten crab (*Eriocheir japonicus*) from Pearl and Nanliujiang rivers, the genetic distance was 0.0007, which was lower than the genetic divergence value at subspecies level. (3) There were significant differences in the phenotype of SOD in the liver of the mitten crab between Liaohe, Huanghe, Changjiang, Oujiang rivers and Pearl, Nanliujiang rivers, where SOD - 2 was only found in the mitten crab of Liaohe, Huanghe, Changjiang, Oujiang rivers, while SOD - 4 was only found in the mitten crab of Pearl and Nanliujiang rivers, which could be used as biochemical genetic markers to differentiate these two groups of the mitten crab. The genetic distances between these two groups of the mitten crab were 0.0721~ 0.0747. (4) Dendrogram constructed by the genetic distances among six populations of the mitten crab showed that there were two different clads. The northern clad was composed of the mitten crab (*Eriocheir sinensis*) from Liaohe, Huanghe, Changjiang and Oujiang rivers, the southern clad consisted in the mitten crab (*Eriocheir japonicus*) from Pearl and Nanliujiang rivers.

**KEYWORDS** *Eriocheir sinensis*, *Eriocheir japonicus*, Population, Phylogenesis, Biochemical genetic difference