

绒螯蟹的分类与中华绒螯蟹种质资源研究进展*

Progress of Research on Mitten Crabs Classification and Germplasm Resources of Chinese Mitten Crabs

张代臻¹, 孙红英², 张华彬¹, 唐伯平¹

ZHANG Dai-zhen¹, SUN Hong-ying², ZHANG Hua-bin¹, TANG Bo-ping¹

(1. 江苏省滩涂生物资源与环境保护重点建设实验室, 盐城师范学院, 江苏盐城 224002; 2. 江苏省生物多样性与生物技术重点实验室, 南京师范大学, 江苏南京 210097)

(1. Jiangsu Provincial Key Laboratory of Coastal Wetland Bioresources and Environmental Protection, Yancheng Teachers College, Yancheng, Jiangsu, 224002, China; 2. Jiangsu Key Laboratory for Biodiversity and Biotechnology, Nanjing Normal University, Nanjing, Jiangsu, 210097, China)

摘要: 绒螯蟹主要有新绒螯蟹属(*Neoeriocheir*)和绒螯蟹属(*Eriocheir*)两个有效属, 新绒螯蟹属仅有狭颚绒螯蟹(*N. leptognatha*)一个有效种, 绒螯蟹属有直额绒螯蟹(*E. recta*)和日本绒螯蟹(*E. japonica*)两个有效种, 日本绒螯蟹有日本绒螯蟹指名亚种, 日本绒螯蟹中华亚种和日本绒螯蟹合浦亚种3个不同的地理亚种。分布在我国大陆的是日本绒螯蟹中华亚种和日本绒螯蟹合浦亚种。中华绒螯蟹在我国大陆被按水系分成南方组与北方组, 组内水系间为同种不同地理种群。利用RAPD等分子生物学技术, 可以鉴别出中华绒螯蟹的中华亚种和合浦亚种, 各种群间的鉴别还有待于进一步研究。

关键词: 绒螯蟹 中华绒螯蟹 种质资源 分子标记

中图分类号: Q959.223 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-7378(2007)02-0129-04

Abstract: Latest research reveals that mitten crabs include two valid genera: *Neoeriocheir* and *Platyriocheir*. *N. leptognatha* is the only valid species of *Neoeriocheir*, and both *E. recta* and *E. japonica* are valid species of genus *Eriocheir*. There are three different geographic subspecies: *E. j. japonica*, *E. j. sinensis* and *E. j. hepuensis* in *E. japonica*. *E. j. sinensis* is divided into south and north group by different rivers across Chinese Mainland, and different rivers among groups represent different geographic population. Molecular marker of RAPD can stably distinguish *E. j. sinensis* and *E. j. hepuensis*. But identification of different geographic populations is needed for further research.

Key words: mitten crabs, Chinese mitten crabs, germplasm resources, molecular marker

绒螯蟹隶属于短尾下目(Brachyura), 方蟹科(Grapsioidea), 弓蟹亚科(Varunidae), 主要分布于我国大陆、台湾和日本等地。长期以来, 人们对绒螯蟹的分类学问题, 一直存在很大的争议。

日本绒螯蟹中华亚种(*Eriocheir japonica sinensis*), 即中华绒螯蟹又名河蟹、大闸蟹, 是我国传统的水产珍品。中华绒螯蟹养殖已经成为我国水产养殖业中一个大的新兴产业。不同水系中华绒螯蟹的蟹苗生产效果及成年蟹的品质存在很大差别。其中, 生活在长江水系的中华绒螯蟹以其品质好、商业价值高而成为我国淡水水产品出口创汇的主力军。中华绒螯蟹是首选的养殖优良种源。目前各水系中华绒螯蟹的盲目放流和养殖, 已造成不同水系中华绒螯蟹间的严重混杂^[1,2]。因此, 必须深入了解不同

收稿日期: 2006-11-09

修回日期: 2007-01-29

作者简介: 张代臻(1979-), 男, 理学硕士, 主要从事蟹类分子系统学研究。

* 国家自然科学基金(No. 30570218 和 No. 30271023), 盐城师范学院高层次人才引进启动基金项目资助。

水系中华绒螯蟹的遗传特征和种质差异,为中华绒螯蟹养殖业提供优良种源。另外,寻求一种快速区分不同水系中华绒螯蟹的辨别方法是当务之急。

本文将近几年来有关绒螯蟹系统学与中华绒螯蟹种质资源方面的研究报道进行简要概述,旨在为绒螯蟹分类及中华绒螯蟹种质资源保护方面积累基本资料。

1 绒螯蟹的分类研究

Sakai^[3]根据形态学特征及生活习性的特点,将狭颚绒螯蟹(*Neoeriocheir leptognatha*)从绒螯蟹属(*Eriocheir*)中独立出来,建立新绒螯蟹属(*Neoeriocheir*)。新绒螯蟹属得到线粒体COI基因序列、16S rDNA基因序列和核ITS序列等分子系统学研究的支撑^[4~6]。但是,也有研究对新绒螯蟹属的有效性持否定态度,认为狭颚绒螯蟹是绒螯蟹属中最原始的类群,应归属于绒螯蟹属^[7]。

直额绒螯蟹(*Eriocheir rectus*)是由Stimpson^[8]根据采于澳门的模式标本定名,后来被更改为*Eriocheir recta*^[9],将其隶属于绒螯蟹属的一个有效种;而Chan等^[10]则认为直额绒螯蟹是日本绒螯蟹(*E. japonica*)的同物异名^[10]。有学者将分布于台湾的一种绒螯蟹定名为台湾绒螯蟹(*E. formosa*),以台湾绒螯蟹为模式种建立平绒螯蟹属^[11]。近几年的研究^[5,6,12]表明,台湾绒螯蟹实际上是直额绒螯蟹的同物异名。台湾绒螯蟹所在的平绒螯蟹属的有效性受到质疑,而且后来的线粒体COI基因序列和16S rDNA基因序列及核ITS序列等分子系统学研究也都不支持平绒螯蟹属的有效性。

根据线粒体COI基因序列、Cyt b基因全序列及核ITS序列的分子系统学研究,绒螯蟹属的日本绒螯蟹(*E. japonica*)、中华绒螯蟹和合浦绒螯蟹(*E. hepuensis*)同属于一个种即日本绒螯蟹,而中华绒螯蟹和合浦绒螯蟹分别为其不同的地理亚种。因此日本绒螯蟹包括日本绒螯蟹指名亚种(*E. j. japonica*)、日本绒螯蟹中华亚种和日本绒螯蟹合浦亚种(*E. j. hepuensis*)三个地理亚种^[5,6,13]。

综上所述,绒螯蟹可以有新绒螯蟹属和绒螯蟹属两个有效属。其中新绒螯蟹属只有一个有效种即狭颚绒螯蟹,而绒螯蟹属包含有直额绒螯蟹和日本绒螯蟹两个有效种,日本绒螯蟹存有3个不同的地理亚种即日本绒螯蟹指名亚种、日本绒螯蟹中华亚种和日本绒螯蟹合浦亚种。

2 中华绒螯蟹种质资源研究

分布在我国大陆的绒螯蟹主要是日本绒螯蟹的两个地理亚种,即日本绒螯蟹中华亚种和日本绒螯蟹合浦亚种。中华亚种主要分布于北纬26°以北,合浦亚种主要分布于北纬26°以南^[5,14]。

孙红英等^[13,14]通过mtDNA标记已检测到产于长江不同江段的中华绒螯蟹中混杂有多个合浦绒螯蟹。有学者提出为了保护中华绒螯蟹的野生种质资源,国家应该在长江流域建立中华绒螯蟹原种场和基因库^[2]。近几年来,有关中华绒螯蟹种质资源研究在形态学、生化、分子生物学(RAPD技术、ISSR技术、12S rDNA基因、16S rDNA基因、Cyt b基因及微卫星等)方面均有报道。

2.1 分组研究

中华绒螯蟹在不同水系中的个体形态特征有差异^[15~18]。李晨虹等^[17,18]根据形态特征将辽河、黄河、长江和瓯江水系的中华绒螯蟹归为北方组,把珠江和南流江水系的中华绒螯蟹归为南方组。根据Mayr^[19]提出的75%规则,认定北方组与南方组之间属亚种关系,而两组内部水系间则为地理种群关系。张列士等^[20]通过形态学认定辽河、长江、瓯江、闽江、南流江水系的中华绒螯蟹为同种不同地理种群。生化技术水平上也把中国大陆的中华绒螯蟹分成北方组和南方组^[18,21]。北方组的辽河种群和长江种群在同工酶水平上存在一定差异^[22]。

2.2 种群鉴别研究

在分子生物学水平上,起初研究最多的是运用RAPD技术及人源小卫星探针分析中华绒螯蟹种群间的亲缘关系以找到稳定的分子鉴别标记^[18,23~27],其中周开亚等^[26]用RAPD技术找到了可以稳定的从辽河、长江和瓯江种群中鉴别长江种群的特异性条带,并用于鉴别标记一些人工养殖的中华绒螯蟹,结果发现有些中华绒螯蟹种苗场的蟹苗已经严重混杂。

随着DNA测序技术的发展,利用线粒体或核DNA序列分析中华绒螯蟹的种群遗传结构及分子鉴别已经成为可能。张凤英等^[28]基于12S rDNA和16S rDNA基因研究了长江、辽河和瓯江水系的中华绒螯蟹种群遗传变异,提出辽河和瓯江两种群的中华绒螯蟹资源遭到了破坏,只有长江水系的种质资源可能得到了较好的保护。胡鹏飞等^[29]通过长江水系61只中华绒螯蟹的COI基因的RFLP分析得出,长江水系中华绒螯蟹具有一定的群体内遗传多

样性。孙红英等^[13,14]利用线粒体 16S rDNA 序列变异对中国大陆 6 个水系 110 只中华绒螯蟹进行 PCR-RFLP 研究和线粒体 Cyt b 基因全序列分析,结果显示,日本绒螯蟹合浦亚种和日本绒螯蟹中华亚种之间在 16S rDNA 序列中存在 3~4 个固定的碱基替代,日本绒螯蟹合浦亚种所有个体均表现为一种单元型(C 型),而日本绒螯蟹中华亚种表现为 A、B 两种单元型;两亚种的 16S rDNA 经限制性内切酶 Dra I 酶切片存在的差异,为两亚种的鉴定提供了一种准确、简便的 PCR-RFLP 分子标记。用 16S rDNA 的 PCR-RFLP 技术对长江、辽河和瓯江等水系绒螯蟹进行分子鉴定的结果^[14]显示,3 个水系均以中华亚种为主,但是已经混有合浦亚种的绒螯蟹。随后通过对线粒体 Cyt b 基因全序列分析提出了北方水系中存在有合浦亚种绒螯蟹三种可能性解释^[13]。

尽管现有的长江绒螯蟹种群中已混入合浦绒螯蟹的支系,长江水系仍是中华绒螯蟹的天然种质资源库,为了保护中华绒螯蟹的遗传多样性,应重点加强对长江水系中华绒螯蟹的资源保护。

3 结束语

到目前为止,日本绒螯蟹中华亚种和合浦亚种之间的鉴别问题已基本得以解决,而对于中华绒螯蟹各种群间鉴别问题尚需进一步研究。另外,有关种群的遗传结构、进化历史,以及系统地理格局方面的研究尚未见报道。

近年来,越来越多的分子遗传学研究显示,微卫星 DNA 标记(Microsatellite DNA Marker)在种内的遗传分析方面具有较 mtDNA 和其它现有的核 DNA 标记更为优越的特性^[30]。尽管利用线粒体 DNA 研究蟹类种群遗传结构时,能够提供更多的遗传变异信息,所需要的样本量也很低(仅相当于核 DNA 研究所需样本量的 1/4),但是因为线粒体是母系遗传,线粒体 DNA 标记揭示的仅是母系种群的遗传结构,无法检测出由于父系原因导致的种群遗传信息。微卫星是共显性的单位点遗传标记,每个位点都有很多等位基因,同时也具备很高的杂合度,易于自然选择^[30]。这些特点说明微卫星很适合于种群遗传变异的研究。合并微卫星多态性数据与线粒体 DNA 序列将能更加准确地揭示中华绒螯蟹类的种群多样性和种群进化历史。目前初步确定(CGA)5 和(GACA)4 作为微卫星单引物可用于中华绒螯蟹种群遗传分析^[31]。Hänfling 等^[32]报道了 12 个中

华绒螯蟹多态性微卫星座位。Gopurenko 等^[33]报道锯缘青蟹(*Scylla serrata*)的 5 对多态性微卫星引物。这些研究为利用微卫星标记分析中华绒螯蟹的种群遗传结构作了铺垫。

ISSR (Inter-simple Sequence Repeat) 标记方法是近年来在微卫星技术上发展起来的一种新型分子标记技术^[34]。ISSR 技术不仅可以快速、高效和灵敏地检测出基因组 DNA 的多态性,而且操作简单、成本较低,具有很好的重复性,适合大样本的检测^[35]。ISSR 标记方法在种群遗传学、种质资源、分类学与种系发生学等方面得到迅速应用^[35~38]。所有这些工作都为用微卫星和 ISSR 标记研究我国中华绒螯蟹的种群遗传结构奠定了基础。

参考文献:

- [1] 赵乃刚. 长江河蟹种质资源混杂对养蟹业影响[J]. 内陆水产, 1998(5): 2-4.
- [2] 谷孝鸿, 赵福顺. 长江中华绒螯蟹的资源与养殖现状及其种质保护[J]. 湖泊科学, 2001, 13(3): 267-271.
- [3] SAKAI T. Description of new genera and species of Japanese crabs, together with systematically and biogeographically interesting species[J]. Researches on Crustacea, 1983(12): 1-44.
- [4] GUO J Y, Ng N K, DAI A, et al. The taxonomy of three commercially important species of mitten crabs of the genus *Eriocheir* de Hann, 1835 (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Grapsidae) [J]. The Raffles Bulletin of Zoology, 1997, 45(2): 445-476.
- [5] TANG B P, K Y ZHOU, D X SONG, et al. Molecular systematics of the Asian mitten crabs, genus *Eriocheir* (Crustacea: Brachyura) [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2003, 29(2): 309-316.
- [6] 孙红英, 周开亚, 杨小军. 从线粒体 16S rDNA 序列探讨绒螯蟹类的系统发生关系[J]. 动物学报, 2003, 49(5): 592-599.
- [7] 戴爱云. 绒螯蟹属支序分类学的初步分析[J]. 动物分类学报, 1988, 13(1): 22-26.
- [8] SUZUKI H, OKANO T. A new freshwater crab of the genus *Geothelphusa* Stimpson, 1858 (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Potamidea) from Yakushima Island, southern Kyushu, Japan[J]. Biological Society of Washington, 2000(113): 30-38.
- [9] 唐伯平, 周开亚, 宋大祥. 关于三种绒螯蟹种名的厘正[J]. 动物分类学报, 2002, 27(4): 876-875.
- [10] CHAN T Y, HUNG M S, YU H P. Identity of *Eriocheir recta* (Stimpson, 1858) (Decapoda, Brachyura) with description of a new crab from Taiwan[J]. J Crust Biol, 1995, 15(2): 301-308.
- [11] NG N K, GUO J, P K L NG. Generic affinities of

- Eriocheir leptognathus and E formosa with description of a new genus (Brachyura; Grapsidae; Varuninae)[J]. J Crust Biol, 1999, 19(1): 154-170.
- [12] 堵南山. 中华绒螯蟹的同属种类及其英文名称[J]. 水产科技情报, 1998, 25(3): 108-113.
- [13] 孙红英, 王光跃, 张代臻, 等. 中华绒螯蟹与合浦绒螯蟹两地理亚种的线粒体 DNA 序列变异[J]. 动物学报, 2005, 51(5): 862-866.
- [14] 孙红英, 周开亚, 陆健健, 等. 中国大陆绒螯蟹 16S rDNA 序列变异与分子鉴定标记[J]. 自然科学进展, 2002(12): 485-489.
- [15] 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.
- [16] 徐兴川. 关于中华绒螯蟹品质保持问题的探讨[J]. 水产科技情报, 1991, 18(1): 17-19.
- [17] 李晨虹, 李思发. 中国大陆沿海六水系统绒螯蟹(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.
- [18] 李思发, 邹曙明. 中国大陆沿海六水系统绒螯蟹(中华绒螯蟹和日本绒螯蟹)群体亲缘关系: RAPD 指纹标记[J]. 水产学报, 1999, 23(4): 325-330.
- [19] MAYR E, LIRLSLEY E G, USINGER R L. Methods and principles of systematic zoology[M]. New York: McGraw-Hill Book Compang, 1953: 23-39; 125-154.
- [20] 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.
- [21] 赵金良, 李思发. 中国大陆沿海六水系统绒螯蟹(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[J]. 水产学报, 1999, 23(4): 331-336.
- [22] 王丹, 于伟君. 辽河长江两水系中华绒螯蟹脂酶和乳酸脱氢酶的同功酶比较研究[J]. 辽宁大学学报: 自然科学版, 1995, 22(4): 79-81.
- [23] 邱涛, 陆仁后, 项超美, 等. 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[J]. 淡水渔业, 1997, 27(5): 3-6.
- [24] 邱涛, 陆仁后, 项超美, 等. 用 RAPD 技术识别中华绒螯蟹性别差异[J]. 水产学报, 1998, 22(2): 175-177.
- [25] 高志千, 周开亚. 中华绒螯蟹遗传变异 RAPD 分析[J]. 生物多样性, 1998, 6(3): 186-190.
- [26] 周开亚, 高志千. RAPD 标记鉴别中华绒螯蟹种群的初步研究[J]. 应用与环境生物学报, 1999, 5(2): 176-180.
- [27] 王进科, 周刚, 曹文明, 等. 用小卫星探针 33. 6 对中华绒螯蟹遗传多态性的 DNA 指纹图谱研究[J]. 大连水产学院学报, 2001, 16(2): 92-98.
- [28] 张凤英, 杨家新. 中华绒螯蟹线粒体 12SrRNA 和 16SrRNA 基因的序列测定及其种质资源的研究[D]. 南京: 南京师范大学, 2003.
- [29] 胡鹏飞, 王茜, 戴伟, 等. 长江水系中华绒螯蟹线粒体 DNA 的遗传多样性[J]. 水产学杂志, 2006, 19(1): 1-5.
- [30] ZHANG D X, HEWITT G M. Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects[J]. Molecular Ecology, 2003(12): 563-584.
- [31] 张菁, 陆仁后, 邱涛. 中华绒螯蟹微卫星单引物扩增产物的初步分析[J]. 中国水产科学, 2002, 9(2): 5-9.
- [32] HaNFLING B, WEETMAN D. Characterization of microsatellite loci for the Chinese mitten crab, Eriocheir sinensis[J]. Molecular Ecology Notes, 2003(3): 15-17.
- [33] GOPURENKO D, HUGHES J M, MA J. Identification of polymorphic microsatellite loci in the mud crab Scylla serrata (Brachyura; Portunidae) [J]. Molecular Ecology Notes, 2002(2): 481-483.
- [34] GUPTA M, CHYI Y S, ROMERO-SEVERSON J, et al. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats[J]. Theor Appl Genet, 1994(89): 998-1006.
- [35] NAGAOKA T, OGIHARA Y. Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers[J]. Theor Appl Genet, 1997(94): 597-602.
- [36] ZIETKIEWICZ E, RAFALSKE A, LABUDA D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification[J]. Genome, 1994(20): 178-183.
- [37] CHARTERS Y M, ROBERTSON A, WILKINSON M J, et al. PCR analysis of oilseed rape cultivars (Brassica napus L. ssp. oleifers) using 5'-anchored simple sequence repeat (SSR) primers[J]. Theor Appl Genet, 1996(92): 442-447.
- [38] NAGAOKA T, OGIHARA Y. Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers[J]. Theor Appl Genet, 1997(94): 597-602.

(责任编辑: 凌汉恩 邓大玉)