

基于图像识别的 5 个不同产地克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*)形态差异分析*

田 灿¹ 李 飞³ 苏胜彦^{1,2} 唐永凯² 刘 波² 俞菊华²
于 凡² 李建林² 李红霞² 宋长友² 王美垚²

(1. 上海海洋大学 水产科学国家级实验教学示范中心 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心 农业农村部淡水渔业与种质资源利用重点实验室 无锡 214081; 3. 农业农村部淡水渔业健康养殖重点实验室 浙江省淡水水产遗传育种重点实验室 浙江省淡水水产研究所 湖州 313001)

摘要 为了解江苏、江西、湖北、上海、河南 5 个地区克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)的形态差异和获取快速、有效的形态鉴别方法,本研究采用传统形态测量法和地标点法来分析各产地形态差异。结果显示:(1)克氏原螯虾雌雄群体相对扭曲主成分分析,前三个主成分累计贡献率分别为 79.96%、67.21%,传统形态测量法前三个主成分累计贡献率分别为 76.77%、82.70%,两种方法均表明其形态差异主要体现在头胸甲及腹部部位;(2)聚类分析将克氏原螯虾 5 群体聚为两支,上海、河南、江西、湖北群体聚为一支,江苏群体单独聚为一支。(3)地标点法雌雄群体综合判别准确率分别为 100%、94%,传统形态测量法综合判别准确率均为 56%。以上研究结果表明不同产地间克氏原螯虾具有一定的形态差异,且地标点法区分不同产地克氏原螯虾群体差异性效果显著,这将有利于克氏原螯虾生产和选育过程中群体的鉴别及外形特征的快速获取。

关键词 克氏原螯虾; 地标点法; 传统形态测量法; 形态差异性; 产地

中图分类号 Q954; S966.1 **doi:** 10.11693/hyhz20200300073

克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)俗称小龙虾,肉质鲜美,营养丰富,是我国重要的养殖经济虾类(柳富荣, 2002)。近年来,克氏原螯虾养殖业发展迅速,由于各地生长环境不同,种质资源来源不同使得行业中小龙虾种质较为混乱,市场上形态和品质参差不齐的克氏原螯虾(Paglianti *et al.*, 2004; Ramalho *et al.*, 2008)严重影响行业的可持续健康发展和渔民的增收,为了对全国范围内的克氏原螯虾种质资源状况有充分的了解,本研究拟对不同产地群体进行有效区分和鉴别,从而有利于展开种质资源的保护和利用等后续研究工作。

关于种群鉴定,基于形态学及遗传多样性的研究

手段是常用的两种方法。形态学研究以传统形态测量法为主(韩晓磊等, 2011a, b; 郑友等, 2014; 张萌等, 2016),遗传多样性研究多采用微卫星分析(彭刚等, 2010; 邢智珺等, 2014; 李喜莲等, 2016),随机扩增多态性 DNA 标记技术(Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD)(张龙岗等, 2014),扩增片段长度多态性分子标记技术(Amplified Fragment Length Polymorphism, AFLP)(宋亮等, 2012; 黄羽, 2012)等。与形态学方法相比,通过遗传多样性来构建进化树从而进行亲子鉴定、种属鉴定具有准确率高、不受年龄限制等优点,但是其需要提取 DNA,进行引物的筛选再聚类复杂步骤,成本较高。与遗传学方法相比,形态

* 农业部淡水渔业健康养殖重点实验室开放课题, ZJK201915 号; 现代农业产业技术体系专项, CARS-48 号; 江苏省农业科技自主创新资金项目资助, CX(17)2007-01 号。田 灿, 硕士研究生, E-mail: 18838256118@163.com; 同等贡献第一作者: 李 飞, 副研究员, E-mail: lifeibest1022@163.com

通信作者: 苏胜彦, 副研究员, E-mail: ouhaicourse@hotmail.com; 唐永凯, 副研究员, E-mail: tangyk@ffrc.cn

收稿日期: 2020-03-14, 收修改稿日期: 2020-05-21

学鉴定成本较低,易操作,不受设备等因素的影响。近年来以人脸识别为标志的形态学鉴别已成功应用于多种场景。本文拟从形态学的角度进行克氏原螯虾不同地理群体的种属鉴定问题,这与克氏原螯虾不同地理群体在形态和品质具有一定的差异的背景相一致(Paglianti *et al.*, 2004; Ramalho *et al.*, 2008)。

传统形态测量法具有线性距离的同源性、具有相同距离数据的不同形态等问题(白明等, 2007)。因此,为了克服传统形态测量法的缺陷,通过选取生物结构中的样点来反映不同标本中结构的变化地标点法被提出(Bookstein, 1986; Rohlf, 1986; Rohlf *et al.*, 1990)。目前地标点法主要应用在中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)(郑朝臣等, 2017)、多种鱼类耳石(Otolith)(侯刚等, 2013, 2014; 姜涛等, 2018)、蛇鲡(*Saurogobio dabryi*)耳石(彭艳等, 2018)、夜蛾昆虫

(Noctuidae)(蔡小娜等, 2019)等的差异性判别研究中,而在克氏原螯虾群体形态差异性的研究报道较少。为得到快速高效的对不同产地克氏原螯虾种群形态鉴定的方法,本研究分别采用传统形态测量法和地标点法对主要养殖和消费地点的上海、江苏、江西、河南、湖北的克氏原螯虾群体的形态进行分析比较,从而确定不同地理群体的结构性特征和形态学鉴定方法,为进一步研究克氏原螯虾的种质特性和遗传选育提供必要的参考资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究选取上海、江苏、江西、河南、湖北 5 个不同群体克氏原螯虾,每个群体选取规格相近雌雄各 10 尾进行形态学研究,群体详细信息见表 1。

表 1 采样信息表
Tab.1 The information of sampling

产地	尾数	采样地坐标	采样方法	采样时间(年.月)
江苏	雌	32°19'N, 118°48'E	野生捕获	2019.06
	雄			
江西	雌	29°46'N, 116°20'E	野生捕获	2019.06
	雄			
河南	雌	34°36'N, 113°28'E	野生捕获	2019.06
	雄			
上海	雌	31°43'N, 121°13'E	野生捕获	2019.06
	雄			
湖北	雌	30°13'N, 112°07'E	野生捕获	2019.06
	雄			

1.2 样品处理及图像获取

将所采集到的克氏原螯虾进行形态固定,利用相机获取其图像。样本与相机应保持垂直平行,样本方向,相机方位等均应保持垂直一致(白明等, 2007)。

1.3 实验方法

1.3.1 传统形态测量法 运用 tpsDig32 软件测量每尾虾的全长(total length)、体长(body length)、头胸甲长(carapace length)、腹部长(length of abdomen)、头胸甲宽(carapace width)、腹部宽(segment height)、尾扇长(length of tail-fan)(图 1),测量标准参考邹节新等(2014)记载的克氏原螯虾分类学研究方法,精确至 0.01mm。为避免虾体大小对参数的影响,将各形态指标与体长的比或取 2 个形态指标的比值进行数据分析。本研究共选取了 10 项形态比例参数(表 2)。

求出 10 项形态比例参数的平均值,采用欧式距离系统聚类法对这些平均值进行聚类分析;将数据进行校正,对 5 个不同产地克氏原螯虾群体形态比例参数进行主成分分析,将第 1、2 主成分绘制主成分散点图,以便对不同群体进行形态归类;运用逐步判别分析法进行判别分析,从判别分析中筛选出贡献较大的参数建立判别函数,判别准确率的计算参照李思发等(1998)的方法。数据处理采用 Excel 和 SPSS23 软件。

1.3.2 地标点法 地标点选取标准、TPS 系列软件使用方法同郑朝臣等(2017)。根据地标点的同源性,运用 TPS 系列软件从克氏原螯虾背面选取了 36 个地标点,确定每个地标点的 x、y 坐标值(2D),建立数据文件。其中 I 型地标点:2—5、11、17、23—26; II 型

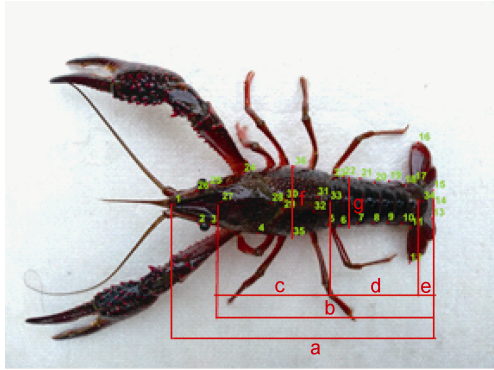


图 1 克氏原螯虾形态测量指标与地标点位置图

Fig.1 Morphological measurement index and the landmark points of *P. clarkii*

注: a. 全长, b. 体长, c. 头胸甲长, d. 腹部长, e. 尾扇长, f. 头胸甲宽, g. 腹宽

地标点: 6—10、13、15、18—22、27—36; III型地标点: 1、12、14、16(图 2)。

运用 TPS 系列软件检验所有地标点的有效性, 计算平均形(mean shape)和相对扭曲主成分得分(relative warps scores), 描绘出克氏原螯虾背面和腹面的网格图, 比较其与平均形的形态差异, 实现克氏

原螯虾群体间的形态差异可视化。根据克氏原螯虾各样本的相对扭曲主成分得分, 采用欧式系统聚类法对相对扭曲主成分得分平均值进行聚类分析, 建立 Bayes 判别函数, 用逐步判别法进行判别分析, 运用 SPSS 23 软件, 进行统计分析。

2 结果

2.1 地标点法分析不同来源克氏原螯虾群体的表型差异

本文测定了克氏原螯虾雌雄群体切空间距离(distance in tangent space, y 轴)和普氏距离(procrustes distance, x 轴)的回归分析系数均为 0.996, 说明所选取的地标点符合地标点分析要求。克氏原螯虾雌雄群体平均形及所有地标点重叠后的效果如图 2。群体间形态差异分析结果见图 3, 雌雄群体相对网格平均形而言, 形态差异主要体现在头胸甲及腹部部位的 II 型地标点, 具体为地标点 4—6、22—24、28—32、35、36 变形最大。从以上分析可以得出克氏原螯虾头胸甲和腹部部位的各地标点是其形态差异的主要来源。

表 2 10 项克氏原螯虾形态特征比例参数
Tab.2 The 10 morphometric indices of *P. clarkii*

X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀
a/b	c/b	d/b	e/b	f/b	g/b	f/c	f/d	f/g	g/d

注: a. 全长, b. 体长, c. 头胸甲长, d. 腹部长, e. 尾扇长, f. 头胸甲宽, g. 腹宽

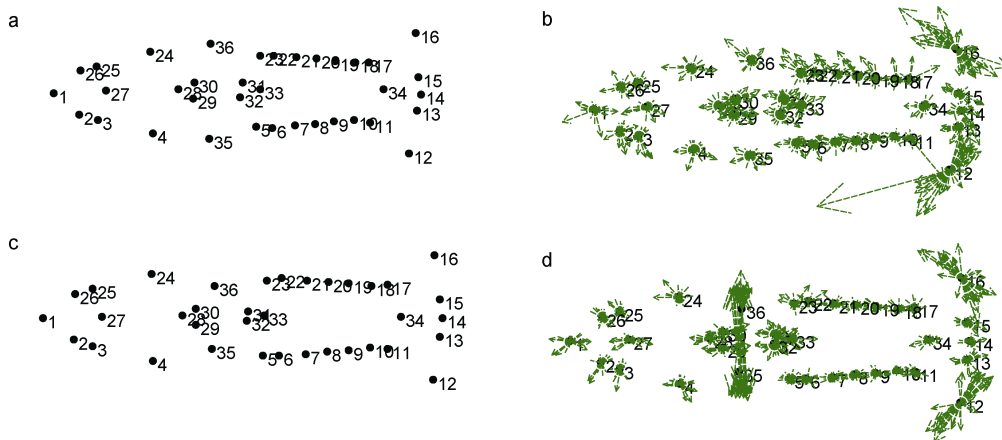


图 2 5 个产地克氏原螯虾平均形及所有地标点矢量化的重叠效果

Fig.2 The average shape and all superimposed landmarks vectorization on the dorsal and ventral surfaces of the five *P. clarkii* populations

注: a. 克氏原螯虾平均形(♂); b. 所有地标点矢量化的重叠效果(♂); c. 克氏原螯虾平均形(♀); d. 所有地标点矢量化的重叠效果(♀)

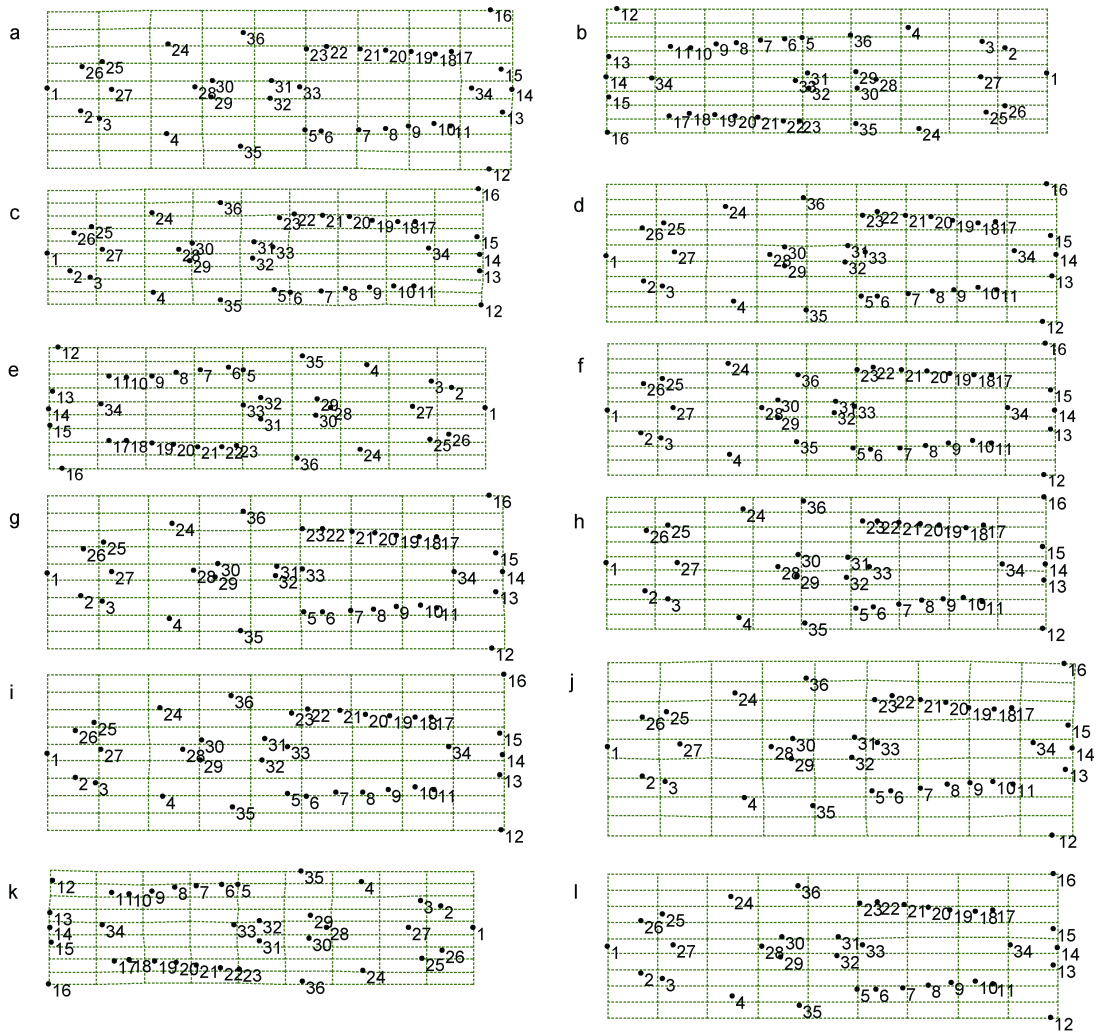


图 3 5 个克氏原螯虾群体的网格变形图(变异扩大 10 倍)

Fig.3 Grid deformation of five *P. clarkii* populations (the variation are enlarged by 10 times)

注: 雌体: a. 上海; b. 江苏; c. 江西; d. 河南; e. 湖北; f. 平均形; 雄体: g. 上海; h. 江苏; i. 江西; j. 河南; k. 湖北; l. 平均形

2.2 主成分分析

将不同产地克氏原螯虾 10 个形态比例参数进行主成分分析, 雌雄群体前 2 个主成分累计贡献率均超过 50%(表 3), 解释了主要形态差异。在雌性群体中, 第 1 主成分 X_5 、 X_8 、 X_9 、 X_{10} 贡献率较高; 第 2 主成分 X_3 、 X_6 、 X_7 贡献率较高; 雄性群体中, 第 1 主成分 X_1 、 X_2 、 X_5 、 X_6 、 X_8 、 X_{10} 贡献率较高; 第 2 主成分 X_3 、 X_7 贡献率较高说明 5 个群体形态特征差异主要体现在头胸甲长、头胸甲宽、腹部长、腹部宽。

地标点法相对扭曲主成分分析, 雌雄群体前两个主成分累计贡献率分别为 73.04%、54.75%(表 4), 超过了 50%, 代表其形态差异的主要部分。克氏原螯

虾雌雄群体 型地标点累计贡献率分别为 16.69%、20.10%; 型地标点累计贡献率分别为 78.39%、72.70%; 型地标点累计贡献率分别为 4.93%、7.20%(表 5), 表明 型地标点是克氏原螯虾形态差异的主要来源, 型地标点代表克氏原螯虾头胸甲及腹部的形态特征, 此结果与传统形态测量法结果相同。

图 4 为两种方法雌雄群体第 1、2 主成分散点图。从图 4a、b 中可看出各产地雌雄群体形态比例参数主成分重叠程度较大, 不易区分。相对扭曲主成分散点图(图 4c、4d)显示雌雄群体散布趋势相似, 上海、江西、河南、湖北重叠程度较大, 江苏群体与其他群体重叠较少。

表 3 克氏原螯虾雌雄群体形态特征因子负荷矩阵及主成分贡献率

Tab.3 Component matrix and contributive proportions of principal components on morphometric indices of female and male *P. clarkii*

形状参数	雌性主成分			雄性主成分		
	1	2	3	1	2	3
X ₁	.31	.49	-.33	.64	.48	-.00
X ₂	.47	-.48	-.73	.58	-.74	.18
X ₃	-.72	.53	-.20	-.66	.55	.12
X ₄	.12	-.09	.51	.03	.45	-.43
X ₅	.81	.38	.01	.87	.34	.29
X ₆	.34	.85	-.32	.62	.26	-.58
X ₇	.16	.61	.71	.41	.88	.13
X ₈	.98	-.14	.13	.96	-.16	.08
X ₉	.51	-.51	.35	.38	.11	.88
X ₁₀	.89	.19	-.08	.85	-.26	-.43
贡献率%	36.62	23.18	16.97	43.05	23.39	16.26
累计贡献率%		76.77			82.70	

注: 加粗字体表示负荷值大于 0.50, 并作为主因子

表 4 相对扭曲得分前 3 个主成分贡献率

Tab.4 The first 3 principal component contribution rates of the relative warps scores

主成分	雌体		雄体	
	贡献率	累计贡献率	贡献率	累计贡献率
1	54.80%	54.80%	35.58%	35.58%
2	18.24%	73.04%	19.17%	54.75%
3	6.92%	79.96%	12.46%	67.21%

表 5 不同地标点相对扭曲分析贡献率

Tab.5 Relative contribution of each landmark to relative warps

地标点类型	地标点	累计贡献率(%)	
		雌体	雄体
I 型地标点	2—5、11、17、23—26	16.69	20.10
II 型地标点	6—10、13、15、18-22、27—36	78.39	72.70
III 型地标点	1、12、14、16	4.93	7.20

2.3 聚类分析

本文分别对克氏原螯虾群体形态比例参数平均值、相对扭曲主成分得分平均值作聚类分析, 结果如图 5。形态比例参数平均值聚类分析将群体分为两支, 雌性群体中江苏、河南群体欧氏距离最短, 首先聚为一支, 之后与江苏、湖北群体聚为一支, 江西群体单独聚为一支(图 5a)。雄性群体与雌性群体聚类结果相似, 上海、河南群体欧氏距离最短, 首先聚为一支, 之后与江苏、湖北群体聚为一支, 江西群体单独聚为一支(图 5b)。相对扭曲主成分得分平均值聚类分析,

雌性群体与雄性群体结果相似(图 5c, 5d), 均为江苏群体单独聚为一支, 此聚类结果与相对扭曲第 1、2 主成分散点图结果相同。

2.4 判别分析

克氏原螯虾 5 个地理群体判别分析中, F 检验判别效果均较好($P < 0.01$)。雌雄群体相对扭曲主成分得分综合判别准确率分别为 100%、94%(表 6)。而形态比例参数主成分得分综合判别准确率较低均为 56%(表 7)。利用基于地标点法的几何形态学测量可以有效判别不同产地克氏原螯虾, 判别效果较传统形态测量法好。

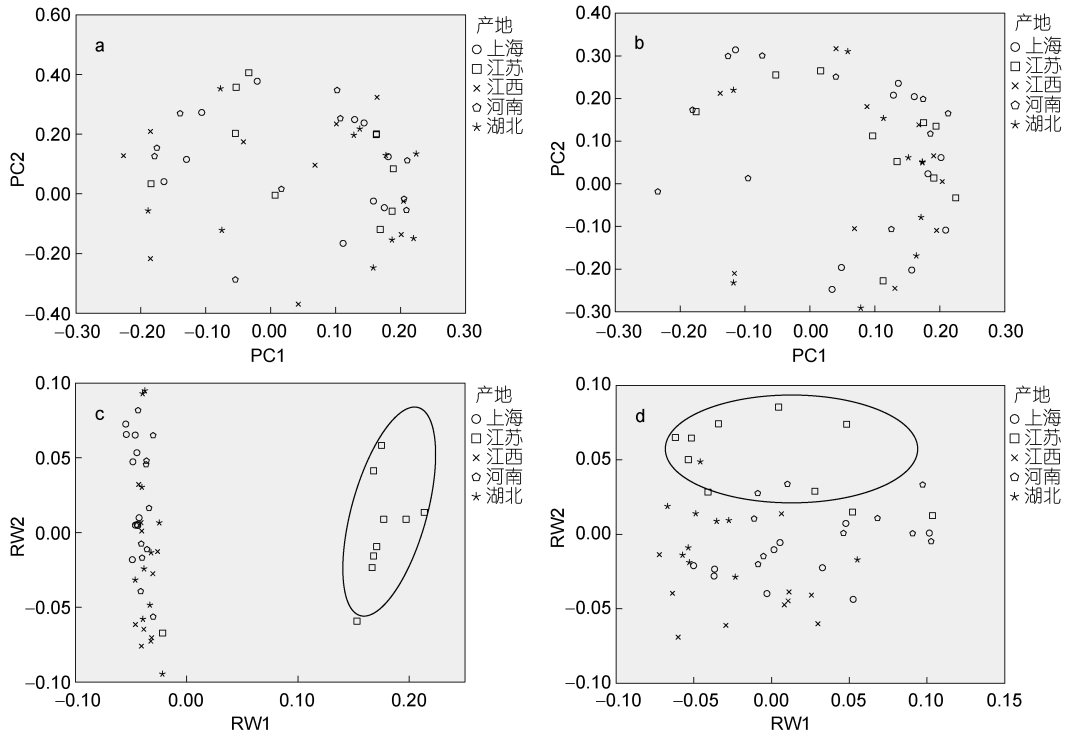


图4 第1、第2主成分散点图

Fig.4 Scatter diagram of 1st and 2nd principal components

注: a. 形态比例参数主成分(♀), b. 形态比例参数主成分(♂), c. 相对扭曲分数主成分(♀), d. 相对扭曲分数主成分(♂)

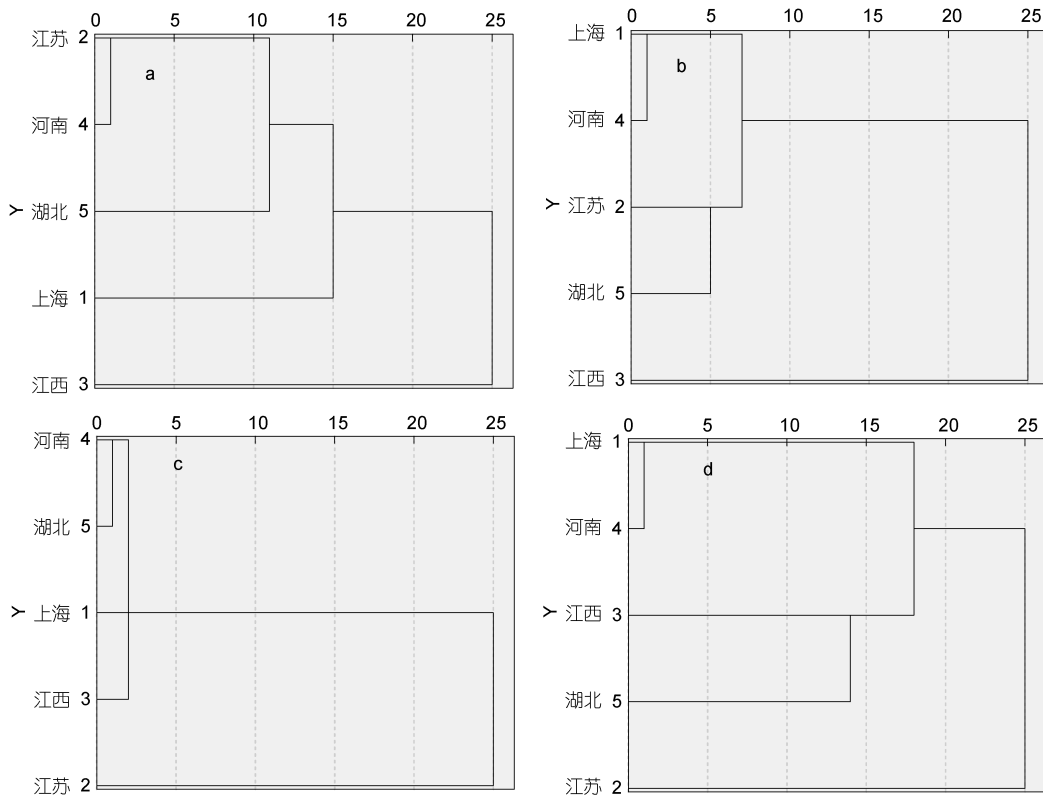


图5 5个不同产地克氏原螯虾群体聚类分析

Fig.5 Cluster analysis of *P. clarkii* populations from five different production areas

注: a. 形态比例参数主成分(♀), b. 形态比例参数主成分(♂), c. 相对扭曲分数主成分(♀), d. 相对扭曲分数主成分(♂)

表 6 地标点法克氏原螯虾群体产地判别结果
Tab.6 Discrimination results of the landmark methods for the population of *P. clarkii*

群体	上海	江苏	江西	河南	湖北	总计
雌性群体						
上海	10(100%)	0	0	0	0	10(100%)
江苏	0	10(100%)	0	0	0	10(100%)
江西	0	0	10(100%)	0	0	10(100%)
河南	0	0	0	10(100%)	0	10(100%)
湖北	0	0	0	0	10(100%)	10(100%)
雄性群体						
上海	9(90%)	0	10(100%)	0	0	10(100%)
江苏	0	10(100%)	0	0	0	10(100%)
江西	1(10%)	0	8(80%)	10(100%)	0	10(100%)
河南		0	0	100(10%)	0	10(100%)
湖北	0	0	0	0	10(100%)	10(100%)

注: 括号外的数字表示判别后的样本尾数, 括号内数字表示判别准确率

表 7 传统形态测量法克氏原螯虾群体产地判别结果
Tab.7 Discrimination results of the traditional morphometry method for the population of *P. clarkii*

群体	上海	江苏	江西	河南	湖北	总计
雌性群体						
上海	7(70%)	1(10%)	2(20%)	0	0	10(100%)
江苏	4(40%)	3(30%)	0	0	3(30%)	10(100%)
江西	0	0	10(100%)	0	0	10(100%)
河南	4(40%)	1(10%)	0	3(30%)	2(20%)	10(100%)
湖北	0	2(20%)	0	3(30%)	5(50%)	10(100%)
雄性群体						
上海	5(50%)	2(20%)	2(20%)	1(10%)	0	10(100%)
江苏	2(20%)	4(40%)	1(10%)	3(30%)	0	10(100%)
江西	2(20%)	0	8(80%)	0	0	10(100%)
河南	2(20%)	4(40%)	0	4(40%)	0	10(100%)
湖北	2(20%)	0	1(10%)	0	7(70%)	10(100%)

注: 括号外的数字表示判别后的样本尾数, 括号内数字表示判别准确率

3 讨论

3.1 基于形态学特征的群体判别

通过形态学及遗传多样性两种方法来对不同地理群体间进行种质鉴定已在多个物种中应用。尹浩等(2020)、宋垚萱等(2018)分别在青岛和舟山的星康吉鳗(*Conger myriaster*)群体、角木叶鲈(*Pleuronichthys cornutus*)群体进行形态学及遗传学研究中, 群体间形态差异显著, 但遗传多样性差异不显著, 这可能是由于种群遗传分化所需时间跨度要长于形态学上表现出差异所需的时间。武小斌(2017)采用形态标记和微卫星标记等对日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)

野生群体进行形态差异分析及群体遗传多样性的研究中, 遗传多样性水平较高, 其中微山湖群体相对于其他三个野生群体表现出较高的遗传多样性水平; 通过遗传多样性来构建进化树从而进行亲子鉴定、种属鉴定具有准确率高、不受年龄限制等优点, 但是其需要提取 DNA, 进行引物的筛选再聚类等复杂步骤, 成本也较高。相比较而言, 形态学鉴定成本低, 易操作, 不受设备等因素的影响, 而且在人脸识别中应用优势明显, 故本文拟从形态学的角度进行克氏原螯虾不同地理群体的种属鉴定问题。

3.2 形态差异的原因

由于地理隔离的原因, 使得同一亲本在不同地

理环境下其形态、生理甚至遗传结构会出现一定的差异(Gould *et al.*, 1978)。张龙等(2018)研究发现 10 个不同水域克氏原螯虾群体产生了一定程度的形态差异。蔡晓鹏等(2010)利用多元分析方法,对 5 个地理群体间的中国沿海日本囊对虾(*Penaeus japonicus*)进行形态差异比较分析;孙悦娜(2007)对我国五大湖日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)群体进行了比较研究,发现群体间形态差异显著。本文从 5 个主养地区收集小龙虾种质资源,分别采用传统形态测量法和地标点法对其进行分析,从表型角度看它们之间的差异。

两种方法均显示 5 个群体形态特征差异体现在克氏原螯虾头胸甲及腹部部位。传统形态测量法中,雌雄群体前两个主成分贡献率较高的分别是 X_3 、 X_5 、 X_7 、 X_8 、 X_{10} , 则其群体形态特征差异主要体现在头胸甲长、头胸甲宽、腹部长、腹部宽。地标点法相对扭曲主成分分析,雌雄群体 II 型地标点贡献率均较高,II 型地标点主要代表虾头胸甲及腹部部位。张萌等(2016)对国内长江水系、珠江水系、淮河水系、东南沿海水系等 14 个自然水系克氏原螯虾的形态差异进行分析,结果显示雌雄群体前四个主成分累计贡献率分别为 79.49%、79.81%,其形态特征差异主要体现在头胸甲长、头胸甲宽、腹部长、腹部宽等。郑友等(2014)同样证明克氏原螯虾头胸甲高、头胸甲宽、腹部宽和腹部长等是不同群体的形态差异的主要来源。克氏原螯虾头胸甲部位主要是摄食和感觉中心,对食物、外界环境变化较为敏感;腹部是运动中心,克氏原螯虾觅食、打斗、挖穴、防御等行为中腹部是基本的支撑点,各个地区由于地理位置、养殖方式、养殖密度、天气等原因造成养殖环境不尽相同而造成头胸甲部位和腹部出现不同程度的差异(Bergman *et al.*, 2003; 罗福广等, 2010),因此可以利用克氏原螯虾头胸甲部位及腹部某些部位进行各产地形态差异研究。

3.3 两种方法进行判别分析的比较

冯波等(2011)、苏杭(2016)研究发现,相较于传统形态测量法,地标点法更适合区分群体形态差异。本研究采用地标点法和传统形态测量法均能从形态上对 5 个克氏原螯虾地理群体进行区分。主成分分析时,两种方法均显示 5 个群体形态特征差异体现在克氏原螯虾头胸甲及腹部部位,而地标点法将形态差异可视化,更直观精确的显示群体形态差异部位。雌雄群体形态比例参数第 1、2 主成分散点图显示各群体重叠程度较大不易区分与其聚类分析结果不符。而相

对扭曲第 1、2 主成分散点图,雌雄群体均显示江苏群体与其他群体重叠较少,与聚类分析结果相同。冯波等(2011)采用传统形态测量法与地标点法区分短吻鲮(*Leiognathus brevirostris*)群体间差异性,结果表明传统形态测量法主成分散点图区分效果强于地标点法,可能是由于作者地标点选取较少,不能代表短吻鲮的形态特征。苏杭(2016)基于地标点法分析鉴别两种头足类(*Cephalopoda*)上下颚的研究中发现,相对于传统形态测量法,地标点法对不同种类间的头足类上下颚具有良好的判别效果。本研究中克氏原螯虾雌雄群体相对扭曲主成分得分综合判别准确率分别为 100%、94%,高于传统形态测量法判别效果。综合以上结果显示,地标点法在区分 5 个克氏原螯虾群体形态差异时效果更好。

3.4 地标点法在地理种群判别中的优势

郑朝臣等(2017)利用地标点法对长江水系的八个自然水域的中华绒螯蟹形态上的差异进行分析,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%。且所提取的地标点中 II 型地标点贡献率较高作用较大。姜涛等(2018)利用地标点法对珠江口与九江口的凤鲚(*Coilia mystus*)与七丝鲚(*C. grayii*)的耳石特征进行研究,判别分析正确率均为 100%,其中主凹槽上的地标点相对扭曲贡献率达 76.10%,远高于轮廓上地标点所贡献,证明主凹槽上的地标点位置在耳石种群形态区分中作用较大。侯刚等(2013)利用地标点法对北部湾 4 种白姑鱼矢耳形态进行分析,II 型地标点贡献率较大,解释了主要形态变异。本研究采用地标点法对不同地区克氏原螯虾的形态进行分析,雌性群体 I、II 型地标点累计贡献率分别为 16.69%、78.39%。雄性群体 I、II 型地标点累计贡献率分别为 20.10%、72.70%,II 型地标点相较于轮廓上的 I 型地标点累计贡献率更高。克氏原螯虾背面存在很多突出点、凹陷点及各组织间的交点,形成许多 I、II 型地标点,因此,相较于其他的形态测量法,地标点法对克氏原螯虾的形态分析及产地判别效果更好。

4 结论

本研究分别采用地标点法和传统形态测量法对我国五个不同产地克氏原螯虾群体间形态特征进行分析,结果表明两种方法均将各群体进行了有效的区分,且地标点法更高效。在后续研究中,我们还需通过增加样本量及更多地理群体,筛选最适地标点

等更全面的了解两种方法间的优劣和不同产地克氏原螯虾群体间差异, 为筛选优质种苗, 研究种群间差异提供参考资料。

参 考 文 献

- 尹 洁, 牟秀霞, 张崇良等, 2020. 我国近海星康吉鳗群体的形态学、遗传学比较研究. 水产学报, 44(3): 358—367
- 白 明, 杨星科, 2007. 几何形态测量法在生物形态学研究中的应用. 昆虫知识, 44(1): 143—147
- 冯 波, 程罗妹, 2011. 几何形态学方法区分短吻蝠地方种群的研究. 上海海洋大学学报, 20(5): 677—681
- 邢智琪, 姜虎成, 陆 伟等, 2014. 江苏 8 个克氏原螯虾群体遗传多样性微卫星分析. 上海海洋大学学报, 23(5): 656—662
- 孙悦娜, 2007. 我国五大湖青虾的形态差异、DNA 分子标记及沼虾属系统进化的研究. 上海: 上海水产大学硕士学位论文, 18—24
- 苏 杭, 2016. 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. 上海: 上海海洋大学硕士学位论文, 65—66
- 李思发, 李晨虹, 李家乐, 1998. 尼罗罗非鱼品系间形态差异分析. 动物学报, 44(4): 450—457
- 李喜莲, 李 飞, 朱俊杰等, 2016. 基于 SSR 标记的克氏原螯虾种质资源遗传多样性研究. 华中农业大学学报, 35(2): 63—68
- 邹节新, 汪 雁, 钟永亮等, 2014. 鄱阳湖克氏原螯虾的分布现状及其群体外部形态聚类分析. 长江流域资源与环境, 23(3): 415—421
- 宋 亮, 韩晓磊, 夏 婵等, 2012. 不同地区克氏原螯虾遗传多样性的 AFLP 分析. 江苏农业学报, 28(2): 359—364
- 宋 莹, 高天翔, 杨天燕等, 2018. 角木叶蝶的群体遗传多样性研究和形态学分析. 中国海洋大学学报, 48(2): 49—55
- 张 龙, 石林林, 梁宏伟等, 2018. 长江流域 10 个不同水域克氏原螯虾野生群体形态差异分析. 淡水渔业, 48(3): 33—39
- 张 萌, 白 俊, 金 辉等, 2016. 不同地理群体的克氏原螯虾形态差异多元分析. 南昌大学学报(理科版), 40(2): 188—196
- 张龙岗, 杨 玲, 刘羽清等, 2014. 山东省克氏原螯虾 3 个地理群体遗传差异的 RAPD 分析. 长江大学学报(自然科学版), 11(17): 37—39
- 武小斌, 2017. 日本沼虾 4 个野生群体形态学(体征)分析及遗传多样性研究. 保定: 河北大学硕士学位论文, 28—36
- 罗福广, 李 斌, 罗平秀等, 2010. 中国沿海管角螺 4 个自然群体形态差异的比较. 中国海洋大学学报, 40(3): 65—70
- 郑 友, 胡火根, 唐建清等, 2014. 不同水域克氏原螯虾群体的形态差异分析. 南昌大学学报(理科版), 38(1): 96—102
- 郑朝臣, 姜 涛, 骆仁军等, 2017. 不同产地中华绒螯蟹形态差异的地标点法分析. 水产学报, 41(12): 1896—1907
- 柳富荣, 2002. 克氏螯虾的开发前景及养殖技术. 渔业现代化, (2): 23—25
- 侯 刚, 王学锋, 朱立新等, 2014. 基于几何形态测量学的 4 种金线鱼矢耳石识别研究. 海洋与湖沼, 45(3): 496—503
- 侯 刚, 刘丹丹, 冯 波等, 2013. 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. 中国水产科学, 20(6): 1293—1302
- 姜 涛, 郑朝臣, 黄洪辉等, 2018. 基于地标点法的九龙江口和珠江口凤鲚和七丝鲚耳石形态学特征比较. 南方水产科学, 14(6): 10—16
- 黄 羽, 2012. 鄱阳湖流域克氏原螯虾的资源状况及长江中下游克氏原螯虾遗传多样性研究. 南昌: 南昌大学硕士学位论文, 36—62
- 彭 刚, 刘伟杰, 李娃娃等, 2010. 长江流域 3 个克氏原螯虾野生群体遗传结构的微卫星分析. 江苏农业学报, 26(5): 1115—1117
- 彭 艳, 曾 焯, 张 臣等, 2018. 嘉陵江不同江段蛇鮓耳石形态特征及差异. 水产学报, 42(12): 1896—1905
- 韩晓磊, 马 强, 李小蕊等, 2011a. 不同地区克氏原螯虾群体的形态差异分析. 水生态学杂志, 32(3): 82—87
- 韩晓磊, 马 强, 李小蕊等, 2011b. 中国螯虾科虾类(克氏原螯虾和东北螯虾)形态差异及判别分析. 中国农学通报, 27(11): 61—65
- 蔡小娜, 张若楠, 李 阳等, 2019. 地标点法在夜蛾昆虫数字化分类中的应用研究. 环境昆虫学报, 41(1): 106—112
- 蔡晓鹏, 游欣欣, 曾凡荣等, 2010. 中国沿海日本囊对虾 5 个地理群体间形态差异比较分析. 中国水产科学, 17(3): 478—486
- Bergman D A, Moore P A, 2003. Field observations of intraspecific agonistic behavior of two crayfish species, *Orconectes rusticus* and *Orconectes virilis*, in different habitats. The Biological Bulletin, 205(1): 26—35
- Bookstein F L, 1986. Size and shape spaces for landmark data in two dimensions. Statistical Science, 1(2): 181—222
- Gould S J, Woodruff D S, 1978. Natural history of Cerion VIII: Little Bahama Bank-A revision based on genetics, morphometrics, and geographic distribution. Bulletin of the Museum of Comparative Zoology, 148: 371—415
- Paglianti A, Gherardi F, 2004. Combined effects of temperature and diet on growth and survival of young-of-year crayfish: A comparison between indigenous and invasive species. Journal of Crustacean Biology, 24(1): 140—148
- Ramalho R O, Correia A M, Anastácio P M, 2008. Effects of density on growth and survival of juvenile Red Swamp Crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard), reared under laboratory conditions. Aquaculture Research, 39(6): 577—586
- Rohlf F J, 1986. Relationships among eigenshape analysis, Fourier analysis, and analysis of coordinates. Mathematical Geology, 18(8): 845—854
- Rohlf F J, Slice D, 1990. Extensions of the procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. Systematic Zoology, 39(1): 40—59

IMAGE-BASED MORPHOMETRIC DISCRIMINATION OF CRAWFISH (*PROCAMBARUS CLARKII*) FROM 5 HABITATS

TIAN Can¹, LI Fei³, SU Sheng-Yan^{1,2}, TANG Yong-Kai², LIU Bo², YU Ju-Hua², YU Fan², LI Jian-Lin²,
LI Hong-Xia², SONG Chang-You², WANG Mei-Yao²

(1. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Key Laboratory of Freshwater Fisheries and Germplasm Resources Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China; 3. Key Laboratory of Healthy Freshwater Aquaculture, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Key Laboratory of Freshwater Aquaculture Genetic and Breeding of Zhejiang Province, Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou 313001, China)

Abstract To understand the morphological differences of *Procambarus clarkii* in 5 habitats or populations of Jiangsu, Jiangxi, Hubei, Shanghai, and Henan in China, and to obtain rapid and effective morphological identification methods, traditional morphological measurement methods and landmark method were used to analyze the morphological differences among the five habitats. The results show that first, the relative warps principal component analysis showed that the cumulative contribution rates of the first three principal components for male and female *P. clarkii* were 79.96% and 67.21%, and those of the first three principal components by traditional morphological measurement were 76.77% and 82.70%, respectively. Both methods showed that the morphological differences are mainly reflected in the carapace and abdomen. Secondly, the five populations were clustered into two branches as shown in cluster analysis. The populations of Shanghai, Henan, Jiangxi, and Hubei were grouped into one, and the Jiangsu population were clustered into another one. Thirdly, the comprehensive discrimination accuracy of the landmark method for male and female populations was 100% and 94%, respectively, while that of the traditional method was 56% for all. In addition, there are some morphological differences in *P. clarkii* among different habitats, and the landmark method could better distinguish them. This will be beneficial to the identification of the population and rapid acquisition of shape characteristics for the production and breeding of *P. clarkii*.

Key words *Procambarus clarkii*; landmark method; traditional morphometry; morphological difference; geographical origin