

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2012.00084

长江水系 3 个湖泊中华绒螯蟹形态及元素“指纹”特征

杨文斌^{1,2}, 苏彦平², 刘洪波², 杨健^{1,2}, 徐跑²

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 内陆渔业环境与资源重点开放实验室; 中国水产科学研究院 淡水渔业研究中心,
江苏 无锡 214081

摘要: 以江苏省长江水系 3 个不同湖泊(太湖、石臼湖和固城湖)产中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)群体为研究对象, 分别对其进行形态学和元素“指纹”特征的比较研究。基于 16 个组形态数据的框架测量及相应的逐步判别分析结果表明, 虽然太湖、石臼湖和固城湖产中华绒螯蟹 3 群体之间在形态学上存在一定的差异, 且判别准确率分别为 70%、90%和 80%, 但其差异程度尚未达到能够有效区分 3 个群体的水平。统一使用中华绒螯蟹第三步足作为标准试样, 应用电感耦合等离子质谱仪测定了其中 21 种元素的含量和分布特征, 其中 Cr、Co、As、Se、Cd、Pb、Tl、Ag、Mo、Ni 未检出。与形态判别结果不同的是, 3 湖泊产中华绒螯蟹第三步足元素含量和分布的总体差异极为显著, 太湖、石臼湖和固城湖产中华绒螯蟹的判别准确率分别高达 100%、80%和 100%。这表明本研究所尝试的中华绒螯蟹第三步足元素“指纹”分析判别方法具有有效区别不同产地中华绒螯蟹的潜力。

关键词: 中华绒螯蟹; 形态; 元素“指纹”; 原产地; 判别分析

中图分类号: S912

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2012)01-0084-10

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*), 俗称河蟹、大闸蟹, 属于甲壳动物十足目(Decapoda)、方蟹科(Grapsidae)、绒螯蟹属(*Eriocheir*)。自 20 世纪 70 年代末突破人工育苗技术难关以来, 中华绒螯蟹增养殖进入了快速发展期。2009 年全国中华绒螯蟹养殖面积达 66.7 万 hm^2 , 产量 53 万 t, 产值 280 亿元, 已成为淡水渔业单品种产值最大的产业^[1]。然而, 由于经济利益的驱动, 将非原产河蟹假冒原产地名优蟹销售的现象多有发生。这不仅严重损害了消费者的利益, 也破坏了中华绒螯蟹养殖产业的健康发展^[2]。因此, 加强相关的基础研究并探索建立一种能够准确判别不同产地中华绒螯蟹的方法就显得非常重要。

水产生物的不同群体如果长期生活于不同的生态环境中, 其形态特征上可能会存在一定的差

异。部分学者应用形态学手段, 对中华绒螯蟹外观形状和体色等特征进行过比较分析, 进而尝试对不同水系的中华绒螯蟹进行区分^[3-5]。然而, 由于受到形态指标体系量化不足、主观性较明显等限制, 要准确地反映不同产地或品牌中华绒螯蟹的特征并有效区别其产地难度尚很大。迄今, 已有一些针对辽河、黄河、长江和瓯江等不同水系中华绒螯蟹形态特征的研究^[6-9], 而对同一水系不同产地或品牌的中华绒螯蟹方面尚未见报道。

值得注意的是, 近年来应用元素(或其同位素)“指纹”分析技术对农产品进行原产地判定的探索越来越受到国内外的关注。根据生物对元素富集作用的原理, 生物体内元素含量和分布应该与产地环境特征相关, 即有可能代表某一特定的产地^[10]。应用相关技术判别农产品的产地已取得一

收稿日期: 2011-09-01; 修订日期: 2011-10-31.

基金项目: 农业部公益性行业科研专项(nyhyzx07-045); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2011JBFA14).

作者简介: 杨文斌(1986-), 男, 硕士研究生, 主要从事渔业生态环境监测与环境保护. Tel:18951567874; E-mail: wbyang86@163.com

通信作者: 杨健, 研究员, 博士生导师, 从事渔业生态环境评价与保护研究. E-mail: jianyang@ffrc.cn

定成效,如葡萄酒^[11-12]、果汁^[13]、蔬菜^[14-15]、橄榄油^[16]、咖啡^[17]、蜂蜜^[18]、奶酪^[19]、白酒^[20]等。然而,迄今利用元素“指纹”对水产品原产地判别的研究尚很少。杨健等^[21]利用大银鱼(*Protosalanx hyalocranius*)的元素“指纹”成功鉴别了太湖产和非太湖产大银鱼。Ye 等^[22]对太湖不同水域的 4 个大银鱼群体进行了产地区分。Costas 等^[23]对西班牙加利西亚地区 5 个不同湖泊的贻贝进行了产地判别。

鉴于上述研究进展,本研究拟通过对长江水系 3 个不同湖泊(太湖、石臼湖、固城湖)产中华绒螯蟹(参考 GB 19957-2005^[24],本研究中原产蟹定义为:至少从扣蟹养到成蟹保持同一湖泊产的蟹)的形态及元素“指纹”比较研究,进一步探讨应用形态分析和元素“指纹”分析两种方法对中华绒螯蟹样本进行产地判别的可行性,以期在今后有效开发不同湖泊(特别是阳澄湖)产中华绒螯蟹的判别方法提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 实验材料

中华绒螯蟹太湖样本 2010 年 11 月采于太湖吴江湖,石臼湖样本于 2009 年 10 月采自南京溧水县石臼湖,固城湖样本 2010 年 10 月采自南京高淳县固城湖。样本采集后立刻运回实验室,保存于-20℃冰箱中待用;之后,选择 3 个湖泊大小相近的中华绒螯蟹样本各 10 只(表 1)进行本研究。

1.2 形态测量

将样品解冻后,擦干其体表水分,称重(用电子天平称量,精确到 0.01 g)。参考文献[6-7],优化确定头胸甲宽(*A*)、头胸甲长(*B*)、内头胸甲长(*C*)、第一侧齿间长(*D*)、第二侧齿间长(*E*)、第三

侧齿间长(*F*)、中鳃区两孔间长(*G*)、眼眶宽(*H*)、额中央至 H 状沟中心长(*I*)、H 状沟至后缘长(*J*)、第四步足指节宽度(*K*)、第四步足掌节长度(*L*)、第四步足掌节宽度(*M*)、第三颚足长节宽度(*N*)、第三颚足长节长度(*O*)、第三颚足座节长度(*P*)、第三颚足座节宽度(*Q*)等 17 个形态特征参数(图 1),用电子游标卡尺进行测量,精确度为 0.01 mm。在进一步的分析中,将每只蟹除头胸甲宽(*A*)外的所有测量指标分别除以其头胸甲宽,以校正样本规格差异对这些指标的影响。

1.3 元素测量

中华绒螯蟹个体由外骨骼(外壳)、肌肉和脏器等构成。为了规范取样和结果具有可比性,本研究确定统一使用整体第三步足作为元素测量的试样(图 2)。具体为先将蟹解冻,取其单只第三步足,用超纯水(电阻率 18.2MΩ·cm/25℃,美国 Millipore 公司)清洗 6 遍,再用烘箱干燥 24 h 至恒重,先测定其含水率,然后碾磨成粉末状干样,置于干燥器中保存待用。本研究中第三步足样本含水率分别为:太湖样本(58.47±0.59)%;石臼湖样本(62.55±3.51)%;固城湖样本(60.20±1.78)%,平均含水率为(60.41±2.79)%。

用电子天平称取(0.1±0.005) g 干样置于消解管中,加入 10 mL 硝酸(优级纯,德国 Merck 公司),再用 Milestone ETHOS A T260 型(意大利)微波消解仪进行微波消解,然后定容至 200 mL 待测。用安捷伦 7500ce 型电感耦合等离子质谱仪(美国)测定 21 种元素的含量,包括 Na、K、Ca、Fe、Mg、Sr、Ag、Al、As、Ba、Cd、Co、Cr、Cu、Mn、Mo、Ni、Pb、Se、Tl 和 Zn。利用元素标准添加回收法确定上述各种元素的回收率均在 92.9%到 107.9%之间。

表 1 中华绒螯蟹的样本信息
Tab.1 Sample details of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* in this study

产地 geographical origin	样本数 <i>N</i>	体长/mm body length	体宽/mm body width	湿体质量/g wet body weight
太湖 Taihu Lake	10	56.08±3.42	61.24±3.79	95.37±19.19
石臼湖 Shijiu Lake	10	59.01±1.92	64.16±2.07	105.68±12.96
固城湖 Gucheng Lake	10	57.82±3.18	62.84±3.15	100.81±20.06

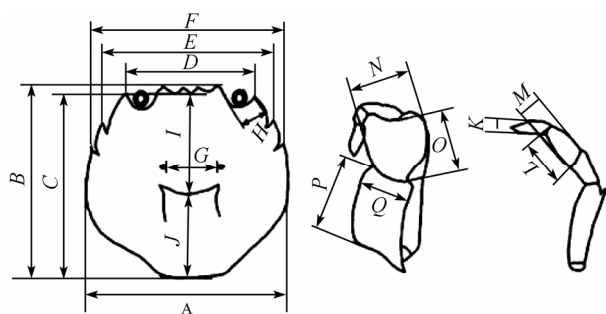


图 1 样本形态测量框架

A: 头胸甲宽; B: 头胸甲长; C: 内头胸甲长; D: 第一侧齿间长; E: 第二侧齿间长; F: 第三侧齿间长; G: 中鳃区两孔间长; H: 眼眶宽; I: 额中央至 H 状沟中心长; J: H 状沟至后缘长; K: 第四步足指节宽度; L: 第四步足掌节长度; M: 第四步足掌节宽度; N: 第三颚足长节宽度; O: 第三颚足长节长度; P: 第三颚足座节长度; Q: 第三颚足座节宽度。

Fig.1 Truss networks for morphological measurements

A: carapace width; B: distance between the anterior edge of the carapace and the posterior margin of the carapace; C: distance between the centre notch of the frontal and the posterior margin of the carapace; D: distance between the first lateral carapace spines; E: distance between the second lateral carapace spines; F: distance between the third lateral carapace spines; G: distance between the two apertures of the mesobranchial; H: orbita width; I: distance between the centre notch of the frontal and the H-shaped set of grooves; J: distance between the H-shaped set of grooves and the posterior margin of the carapace; K: the forth pereopod Dactylus width; L: the forth Propodus length; M: the forth pereopod Propodus width; N: the third maxilliped merus width; O: the third maxilliped merus length; P: the third maxilliped ischium length; Q: the third maxilliped ischium width.



图 2 中华绒螯蟹的第三步足

Fig.2 The third pereopod of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*

1.4 数据统计与分析

采用 SPSS18.0 统计分析软件(美国 Statistical Product and Service Solutions 公司), 对外部形态参数及 3 个湖泊中华绒螯蟹样本的第三步足元素含量数据进行分析, 采用单因素方差分析(one-way ANOVA)和最小显著差异法(Least- Significant

Difference, LSD)多重比较分析 3 个湖泊产中华绒螯蟹样本间的差异, 并对 3 个湖泊样本进行判别分析。本研究中除特别标注外, 所有的元素含量数据均以干重的形式表示。

2 结果与分析

2.1 不同湖泊产中华绒螯蟹形态的比较

太湖、石臼湖、固城湖产中华绒螯蟹样本形态测量数据如表 2 所示。运用单因素方差分析对 3 湖泊样本的形态参数进行分析, Q/A 存在极显著差异($P<0.01$), K/A 存在显著差异($P<0.05$), 除此之外, 绝大多数形态参数, 如 B/A 、 C/A 、 D/A 、 E/A 、 F/A 、 G/A 、 H/A 、 I/A 、 J/A 、 M/A 、 N/A 、 O/A 等, 在 3 湖泊样本间均无显著差异($P>0.05$)。最小显著差异法两两比较(LSD)结果表明, 太湖与石臼湖样本间 Q/A 存在极显著差异($P<0.01$), P/A 存在显著差异($P<0.05$); 太湖与固城湖样本间 K/A 存在极显著差异($P<0.01$); 石臼湖与固城湖样本间 K/A 、 L/A 、 Q/A 存在极显著差异($P<0.01$)(表 3)。

对 3 湖泊中华绒螯蟹群体 16 个形态参数进行判别分析, 建立 3 湖泊中华绒螯蟹群体 Fisher 式判别公式:

太湖:

$$F1=14253B/A-1366C/A-1128D/A+663E/A+2339F/A-8268G/A-8010H/A+4410I/A-791J/A+2220K/A-2481L/A-5086M/A-400N/A+27460O/A-7223P/A+3056Q/A-8326$$

石臼湖:

$$F2=14425B/A-1525C/A-1164D/A+665E/A+2192F/A-8043G/A-7744H/A+4339I/A-768J/A+2216K/A-2436L/A-5270M/A-355N/A+27120O/A-6638P/A+3112Q/A-8384$$

固城湖:

$$F3=14156B/A-1316C/A-1095D/A+705E/A+2150F/A-7946G/A-7613H/A+4176I/A-781J/A+2125K/A-2388L/A-5058M/A-347N/A+26905O/A-6615P/A+2965Q/A-8155$$

将所有测量样本的 16 个形态参数分别代入上述判别函数中, 以函数值最大的判别函数所对

应的产地名作为判别结果。太湖样本、石臼湖样本、固城湖样本的判别准确率分别为 90.0%、80.0%、90.0%，综合判别率为 86.7%。采用交互验证法对建立的判别函数进行回判^[25]，太湖样本、石臼湖样本、固城湖样本的判别准确率分别仅为 40.0%、40.0%、60.0%，综合判别率仅为 46.7%。判别分析的 F 检验结果表明，所建立的判别函数的判别效果不好($P>0.05$)。

在此基础上，为了降低方差贡献率较小的因子的影响，对 3 湖泊产中华绒螯蟹群体形态参数开展了进一步的逐步判别分析。参考文献[26]，从 16 个形态参数中筛选出对区分 3 类总体有显著贡献的 3 个变量 K/A 、 P/A 和 Q/A ，建立 3 湖泊中华绒螯蟹 Fisher 式判别公式：

太湖：

$$F1=4804K/A+6680P/A+15851Q/A-1244$$

石臼湖：

$$F2=4821K/A+6937P/A+16591Q/A-1341$$

固城湖：

$$F3=4436K/A+6937P/A+15510Q/A-1221$$

将所有测量样本的 3 个形态参数代入判别函数进行预测分类，以函数值最大的判别函数所对应的产地名作为判别结果，分别计算判别准确率。太湖样本、石臼湖样本、固城湖样本的判别准确率分别为 80.0%、90.0%、80.0%，综合判别率为 83.3%。采用交互验证法对建立的判别函数进行回判，太湖样本、石臼湖样本、固城湖样本的判别准确率分别为 70.0%、90.0%、80.0%，综合判别率为 80.0%(表 4)。对逐步判别分析的 F 检验显示，所建立的判别函数的判别效果较好($P<0.01$)。这显示出仅用 3 个变量 K/A 、 P/A 和 Q/A 所建立的判别函数的判别效果最佳。然而,对两个典型判别函数作判别分析散点图(图 3)，结果显示，图中 3 个湖泊产中华绒螯蟹的个体分布混杂重叠，群体之间的距离较为接近，难以清晰区别。

2.2 不同湖泊产中华绒螯蟹第三步足中元素积累的比较

元素含量测定结果(表 5)显示，3 个湖泊中华绒螯蟹样本第三步足元素含量有相似的递减趋势：

太湖样本为 $Ca>Mg>Na>K>Fe>Sr>Ba>Zn>Mn>Al>Cu$ ，石臼湖样本为 $Ca>Na>Mg>K>Fe>Sr>Ba>Zn>Mn>Cu>Al$ ，固城湖样本为 $Ca>Na>Mg>K>Fe>Sr>Ba>Mn>Zn>Al>Cu$ 。

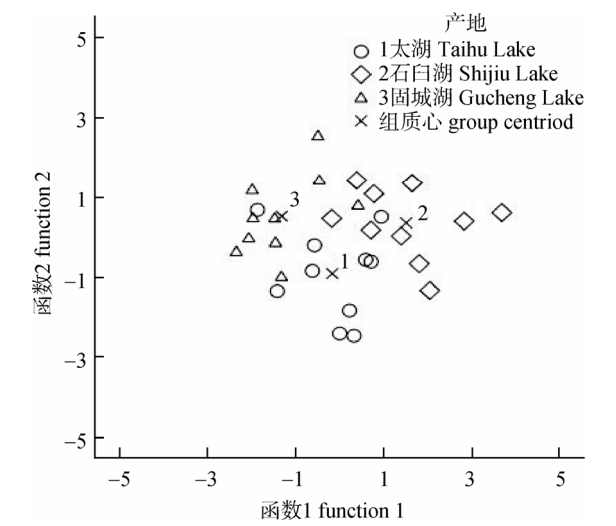


图 3 3 个湖泊产中华绒螯蟹样本形态判别分析散点图
Fig. 3 Canonical plot scores from discriminant analysis on morphological measurements of *Eriocheir sinensis* from three different lakes

表 2 3 个湖泊产中华绒螯蟹样本形态特征参数
Tab. 2 Morphological trait paremeters of *Eriocheir sinensis* from three different lakes

形态参数 paremeter	太湖 Taihu Lake	石臼湖 Shijiu Lake	固城湖 Gucheng Lake
B/A	0.92±0.01	0.92±0.01	0.92±0.01
C/A	0.88±0.01	0.89±0.01	0.89±0.01
D/A	0.55±0.01	0.55±0.02	0.55±0.01
E/A	0.79±0.01	0.79±0.02	0.79±0.01
F/A	0.92±0.01	0.91±0.03	0.91±0.02
G/A	0.27±0.01	0.28±0.01	0.28±0.01
H/A	0.12±0.01	0.12±0.01	0.12±0.01
I/A	0.49±0.01	0.49±0.01	0.49±0.01
J/A	0.46±0.01	0.47±0.01	0.47±0.01
K/A	0.071±0.001	0.07±0.001	0.065±0.001
L/A	0.46±0.02	0.47±0.02	0.48±0.03
M/A	0.12±0.01	0.12±0.01	0.12±0.01
N/A	0.098±0.001	0.099±0.002	0.099±0.001
O/A	0.11±0.01	0.11±0.01	0.11±0.01
P/A	0.12±0.01	0.12±0.01	0.12±0.01
Q/A	0.085±0.002	0.09±0.001	0.084±0.001

注：形态特征参数如图 1 所示。
Note: Morphological trait paremeters are shown in fig.1.

表 3 3 个湖泊产中华绒螯蟹样本间形态差异分析结果
(最小显著差法)

Tab. 3 Difference of morphological parameters between *Eriocheir sinensis* from three different lakes(The least significant difference testing)

形态参数 morphological paremeter	太湖/石臼湖 Taihu Lake/ Shijiu Lake	太湖/固城湖 Taihu Lake/ Gucheng Lake	石臼湖/固城湖 Shijiu Lake/ Gucheng Lake
B/A	0.381	0.373	0.987
C/A	0.517	0.199	0.515
D/A	0.440	0.620	0.779
E/A	0.959	0.383	0.411
F/A	0.482	0.538	0.929
G/A	0.159	0.214	0.862
H/A	0.802	0.575	0.419
I/A	0.695	0.446	0.709
J/A	0.770	0.291	0.441
K/A	0.599	0.007**	0.024*
L/A	0.209	0.032*	0.337
M/A	0.102	0.865	0.139
N/A	0.607	0.615	0.991
O/A	0.404	0.131	0.483
P/A	0.031*	0.089	0.612
Q/A	0.001**	0.328	0.001**

注：形态特征参数如图 1 所示。*表示差异显著($P<0.05$)；**表示差异显著($P<0.01$)。
Note: Morphological trait paremeters are shown in fig.1. * donates significant difference($P<0.05$)；* donates extremely significant difference($P<0.01$).

对 3 个湖泊中华绒螯蟹样本第三步足元素含量进行单因素方差分析, 3 个湖泊中华绒螯蟹样本间 Na、Mg、Ca、Mn、Cu 和 Sr 含量存在极显著差异($P<0.01$)；Al 含量存在显著差异($P<0.05$)；K、Fe、Zn、Ba 含量在 3 湖泊样本间无显著差异($P>0.05$)。最小显著差法两两比较(LSD)结果表明,

太湖与石臼湖样本之间 Na、Mg、Ca、Cu 含量差异极显著($P<0.01$)，Al、Mn、Sr 含量差异达到显著水平($P<0.05$)；太湖与固城湖样品之间 Al、Ca、Mn、Sr 含量差异极显著($P<0.01$)，Cu 含量差异达到显著水平($P<0.05$)；石臼湖与固城湖样品之间 Na、Mg、Mn 含量差异极显著($P<0.01$)(表 6)。

对 3 湖泊中华绒螯蟹样本第三步足元素含量直接进行逐步判别分析, 从 11 个元素中筛选出对区分 3 个群体有显著贡献的 6 个变量 Na、Mg、K、Mn 和 Cu, 建立 3 湖泊中华绒螯蟹群体 Fisher 式判别公式:

太湖: $F1=0.020C_{Na}+0.021C_{Mg}+0.056C_K+0.117C_{Mn}+1.582C_{Cu}+0.615C_{Sr}-581.924$;

石臼湖: $F2=0.024C_{Na}+0.020C_{Mg}+0.056C_K+0.080C_{Mn}+1.885C_{Cu}+0.686C_{Sr}-677.298$;

固城湖: $F3=0.023C_{Na}+0.023C_{Mg}+0.062C_K+0.160C_{Mn}+1.879C_{Cu}+0.702C_{Sr}-740.867$ 。

将所有测量样本的 6 个元素含量分别代入上述判别函数中, 以函数值最大的判别函数所对应的产地名作为判别结果。太湖样本、石臼湖样本、固城湖样本的判别准确率分别为 100%、100%、100%, 综合判别率为 100%。采用交互验证法对建立的判别函数进行回判, 太湖样本、石臼湖样本、固城湖样本的判别准确率分别为 100%、80%、100%, 平均判别准确率为 93.3%(表 7)。逐步判别分析的 F 检验结果表明, 所建立的判别函数的判别效果较好, 表明 3 湖泊中华绒螯蟹群体第三步足元素含量差异极显著($P<0.01$)。相应的散点图(图 4)显示, 太湖样本主要集中在函数 1、2 的负

表 4 3 个湖泊中华绒螯蟹形态参数的逐步判别分析

Tab. 4 Discriminant results for morphological trait measurements of *Eriocheir sinensis* from three different lakes

验证方式 method	产地 geographical origin	预测分类 predicted group			判别准确率/% accuracy rate
		太湖 Taihu Lake	石臼湖 Shijiu Lake	固城湖 Gucheng Lake	
自身验证 original verification	太湖 Taihu Lake	8	1	1	80
	石臼湖 Shijiu Lake	0	9	1	90
	固城湖 Gucheng Lake	1	1	8	80
交互验证 cross verification	太湖 Taihu Lake	7	2	1	70
	石臼湖 Shijiu Lake	0	9	1	90
	固城湖 Gucheng Lake	1	1	8	80

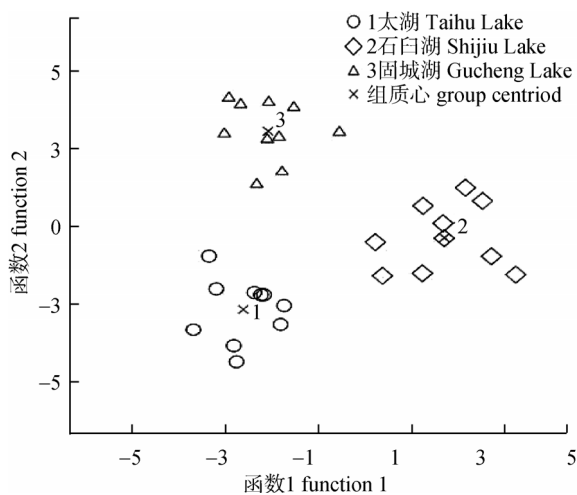


图 4 3 个湖泊产中华绒螯蟹样本第三步足元素含量判别分析散点图

Fig. 4 Canonical plot scores from discriminant analysis on the element content in the third pereopod of *Eriocheir sinensis* from three different lakes

值区域, 石臼湖样本主要集中在函数 1 的正值区域, 固城湖样本主要集中在函数 1 的负值、函数 2 的正值区域, 3 湖泊样本没有重叠现象。

表 5 3 个湖泊产中华绒螯蟹样本第三步足元素的含量
Tab. 5 The element concentrations in the third pereopod of *Eriocheir sinensis* from three different lakes
 $n=10$; $\bar{x} \pm SD$; $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

元素 element	太湖 Taihu Lake	石臼湖 Shijiu Lake	固城湖 Gucheng Lake
Na	6766±693.7	9038±1484	7421±448.4
Mg	7206±871.8	5613±1353	7389±632.6
Al	25.76±8.82	40.84±16.13	41.40±8.05
K	5115±187.3	4742±1041	5296±342.9
Ca	165361±5890	180588±12805	179815±6953
Mn	103.5±29.22	65.15±35.80	160.84±42.26
Fe	3887±1229	4229±1390	4495±1220
Cu	14.14±6.66	40.92±23.16	30.15±8.82
Zn	116.3±67.40	117.4±63.46	113.2±61.48
Sr	896.6±20.88	982.4±96.89	1039±63.97
Ba	667.4±42.20	692.6±119.4	672.5±42.17

注: 元素 Cr、Co、As、Se、Cd、Pb、Tl、Ag、Mo、Ni 在所有样本中均未检出。
Note: The elements Cr, Co, As, Se, Cd, Pb, Tl, Ag, Mo and Ni were not detected in any sample.

表 6 3 个湖泊产中华绒螯蟹样本第三步足元素含量差异(最小显著差法)

Tab.6 Difference of element content in the third pereopod between *Eriocheir sinensis* from three different lakes (The least significant difference testing)

产地 geographical origin	Na	Mg	Al	K	Ca	Mn	Fe	Cu	Zn	Sr	Ba
太湖/石臼湖 Taihu Lake vs Shijiu Lake	0.001**	0.002**	0.010*	0.229	0.001**	0.032*	0.576	0.001**	0.971	0.013*	0.495
太湖/固城湖 Taihu Lake vs Gucheng Lake	0.168	0.699	0.008**	0.555	0.002**	0.002**	0.324	0.030*	0.920	0.001**	0.889
石臼湖/固城湖 Shijiu Lake vs Gucheng Lake	0.002**	0.001**	0.919	0.079	0.858	0.001**	0.664	0.134	0.891	0.085	0.586

注: *表示差异显著($P<0.05$); **表示差异极显著($P<0.01$).
Note: * donates significant difference($P<0.05$); * donates extremely significant difference($P<0.01$).

表 7 3 个湖泊中华绒螯蟹第三步足元素含量的逐步判别分析

Tab. 7 Discriminant results for element content in the third pereopod of *Eriocheir sinensis* from three different lakes

验证方式 method	产地 geographical origin	预测分类 predicted group			判别准确率/% accuracy rate
		太湖 Taihu Lake	石臼湖 Shijiu Lake	固城湖 Gucheng Lake	
自身验证 original verification	太湖 Taihu Lake	10	0	0	100
	石臼湖 Shijiu Lake	0	10	0	100
	固城湖 Gucheng Lake	0	0	10	100
交互验证 cross verification	太湖 Taihu Lake	10	0	0	100
	石臼湖 Shijiu Lake	2	8	0	80
	固城湖 Gucheng Lake	0	0	10	100

3 讨论

3.1 不同湖泊产中华绒螯蟹的形态差异

许加武等^[6]对辽河、长江、瓯江 3 个中华绒螯蟹成蟹种群进行形态判别研究, 平均判别准确率为 90.88%。李晨虹等^[7]根据辽河、黄河、长江、瓯江、珠江及南流江 6 个水系中华绒螯蟹群体的外部形态, 将 6 水系绒螯蟹群体分成南方蟹和北方蟹两大类, 进一步研究得到了判别南方蟹和北方蟹的判别公式。该公式对南方蟹和北方蟹的平均判别正确率分别为 95%、86%。王茜等^[8]运用形态判别, 对长江、辽河、瓯江和海河 4 个水系中华绒螯蟹的判别准确率分别为 100%、91.89%、87.50%和 76.47%, 平均判别准确率为 92.37%。王武等^[9]运用形态判别, 对长江蟹、合浦蟹、绥芬蟹、辽河蟹和杂交蟹的雄蟹群体判别准确率分别为 85.7%、94.1%、73.7%、65.0%和 59.4%, 整体判别率为 75.4%; 雌蟹群体判别准确率分别为 83.9%、90.9%、71.4%、75.0%和 50.0%, 整体判别率为 74.2%。这些研究成果表明, 不同水系的中华绒螯蟹之间应该存在形态差异, 可以通过形态判别将不同水系群体进行区别。中华绒螯蟹是一种洄游性动物, 性成熟的中华绒螯蟹个体沿河流迁至河口浅海处交配繁殖, 孵出的溞状幼体发育成幼蟹后, 幼蟹会进入内陆河流和湖泊中生长发育^[27]。不同水系的河蟹由于生境隔离、生殖隔离等原因, 在长期的选择进化过程中会产生遗传上的差异, 从而导致形态差异的出现^[6]。太湖、石臼湖和固城湖中华绒螯蟹养殖群体同属于长江水系, 但从扣蟹直到成蟹均养殖于不同的湖泊。为了确切掌握它们之间形态的差异程度, 本研究参考了许加武等^[6]和李晨虹等^[7]的形态测量框架, 并在其研究的基础上, 选择最能代表同一水系中华绒螯蟹形态特点的形态指标, 建立了新的形态测量框架。本研究中 3 湖泊中华绒螯蟹群体仅有 K/A 和 Q/A 存在显著差异, 太湖、石臼湖、固城湖中华绒螯蟹群体的综合判别率仅达 80%, 较上述研究结果相比较, 综合判别率较低。这可能与 3 湖泊均属长江水系, 其自然环境极为相近有关。

交互验证方法是从所有样本中依次去掉一个样本, 对余下的样本运用同样方法建立判别函数, 对去掉的样本进行判断, 从而验证所建立的判别函数的稳定性。与 16 个形态参数判别结果比较, 采用 3 个形态参数建立的判别的函数的判别效果较好。采用 3 个形态参数逐步判别结果中, 30 个样本中有 6 个判别错误, 误判率为 20%, 若要运用其对太湖、石臼湖及固城湖产中华绒螯蟹进行有效的产地判别, 则需要进一步提高其判别率以满足实际应用要求。

3.2 不同湖泊产中华绒螯蟹样本第三步足元素含量特征

根据第三步足的含水率, 可以换算得到第三步足中元素的湿重含量, 本研究中第三步足元素平均湿重含量为: Na (3096.81 ± 556.78) mg/kg, Mg (2694.55 ± 520.09) mg/kg, Al (14.4 ± 5.56) mg/kg, K (2020.48 ± 277.53) mg/kg, Ca (70101.6 ± 4663.2) mg/kg, Mn (43.94 ± 21.73) mg/kg, Fe (1681.78 ± 531.57) mg/kg, Cu (11.36 ± 7.51) mg/kg, Zn (46.27 ± 26.11) mg/kg, Sr (389.2 ± 36.63) mg/kg, Ba (271.02 ± 31.66) mg/kg。将第三步足元素含量与李庆等^[28]对中华绒螯蟹螯足肌肉中微量元素含量的研究结果进行比较, Zn 和 Cu 含量相近, 本研究中 Fe 和 Na 含量高, 而 K 含量低。与柏如法等^[29]以及张彤晴等^[30]对中华绒螯蟹可食部分微量元素含量的研究结果进行比较, Zn 含量近, 本研究中 Na、Mg、Fe、Mn、Ca 含量高, 而 K 含量低。与文献结果不同的原因是, 第三步足既包括外骨骼, 又包括肌肉等软、硬组织。其元素含量和分布特征应该是这两类组织中元素积累的综合体现。整体第三步足检测到的 11 种元素中, Ca 含量最高(特别是石臼湖样本)。这应该与第三步足外骨骼(为钙化的硬组织)部分密切相关。第三步足中广受关注的重金属污染物 Cd 和 Pb 均未检出。根据中华绒螯蟹对 Cd 和 Pb 的富集与释放特性^[31]可以预测, 本研究 3 湖泊环境中的 Cd 和 Pb 含量应该很低。此外, 其他重点毒性元素 Cr、As 和 Ag 等亦未检出。这些结果表明, 3 湖泊中华绒螯蟹均未受重金属污染。

3.3 基于不同湖泊中华绒螯蟹样本第三步足元素“指纹”的产地判别

元素“指纹”判别是期望通过对生物体中尽量多元素含量的测量和分布特征的分析, 来实现对不同产地农产品(包括水产品)的综合、有效、可量化的原产地判别。对于水产品来说, 其体内各种元素的组成反映了其生活湖泊水中的元素组成情况, 同时与其对元素的生物利用及营养需求有关。不同环境条件下产出的水产品所形成的品质会存在差异。水产品中的元素组成在一定程度上可反映其生长湖泊中的元素组成情况。国家标准“地理标志产品阳澄湖大闸蟹(GB/T19957-2005)”^[24]中要求的养殖期不少于 6 个月, 而从扣蟹养到成蟹至少需要 7 个月, 故本研究将至少从扣蟹养到成蟹保持在同一湖泊的蟹定义为该湖泊的原产蟹, 应该是合理的。中华绒螯蟹可食部分为肌肉、肝脏及性腺 3 类组织, 壳、鳃、胃、心脏以及血淋巴和组织液(解剖时容易流失)为非可食部分^[32]。同一元素在蟹不同部位的分布有较明显的差异^[28]。因此, 要探索和运用元素“指纹”分析技术对中华绒螯蟹进行产地判别, 就必须建立较为规范、简便、客观、快速和有效的试样选择和测定方法。将第三步足作为一个整体来取样和测定具备上述特点, 一方面操作简单(不受不同研究人员经验的影响), 且试样大小合适、样品量适中(第三步足平均干重为 1.45 g); 另一方面, 试样包含软、硬组织, 测定时能够综合体现各类组织中元素积累的特征。

本研究对 3 个不同湖泊产中华绒螯蟹样本第三步足元素含量进行判别分析, 结果表明, 太湖、石臼湖和固城湖中华绒螯蟹样本判别准确率分别高达 100%、80%和 100%, 综合判别率为 93.3%, 判别函数的 F 检验亦表明 3 湖泊中华绒螯蟹群体第三步足元素含量差异极显著($P<0.01$)。显然, 第三步足中元素“指纹”的差异比个体形态差异更加明显, 已达到了可以区别产地的水平。因此, 笔者建议今后可以尝试统一选取第三步足作为标准试样, 运用元素“指纹”分析技术, 建成中华绒螯蟹不同产地判别的规范化方法。中华绒螯蟹的分

布广泛, 南至浙江瓯江, 北至辽宁鸭绿江口的东部沿海河流湖泊, 目前国外也有分布。由于在中国业已出现许多中华绒螯蟹的名、优产地或品牌, 笔者下一步也将对更多不同产地中华绒螯蟹的元素“指纹”图谱进行研究, 并期望建立全国性名优品牌中华绒螯蟹的原产地元素“指纹”判别的信息库。

参考文献:

- [1] 周刚, 周军. 我国河蟹产业现状及可持续发展对策[J]. 中国水产, 2011(2): 11-12.
- [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.
- [3] 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.
- [4] 徐兴川, 朱振东, 黎志强, 等. 长江和瓯江水系蟹种湖泊放养的技术效果[J]. 淡水渔业, 1992, 20(5): 25-26.
- [5] 吕永春. 长江水系和其他水系中华绒螯蟹的区别[J]. 中国水产, 1998(1): 23.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [10] 叶珊珊, 杨健, 刘洪波. 农产品原产地判定的元素“指纹”分析进展[J]. 中国农业科技导报, 2009, 11(4): 34-40.
- [11] Galgano F, Favati F, Caruso M, et al. Analysis of trace elements in southern Italian wines and their classification according to provenance[J]. LWT Food Sci Technol, 2008, 41(10): 1808-1815.
- [12] González A, Llorens A, Cervera M L, et al. Elemental fingerprint of wines from the protected designation of origin Valencia[J]. Food Chem, 2009, 112(1): 26-34.
- [13] Pellerano R G, Mazza S S, Marigliano R A, et al. Multielement analysis of argentinean lemon juice by instrumental neutronic activation analysis and their classification according to geographical origin[J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(13): 5222-5225.

- [14] Giacomo F D, Signore A D, Giaccio M. Determining the geographic origin of potatoes using mineral and trace element content[J]. J Agric Food Chem, 2007, 55(3): 860–866.
- [15] Ariyama K, Aoyama Y, Mochizuki A, et al. Determination of the geographic origin of onions between three main production areas in Japan and other countries by mineral composition[J]. J Agric Food Chem, 2007, 55(2): 347–354.
- [16] Benincasa C, Lewis J, Perri E, et al. Determination of trace element in Italian virgin olive oils and their characterization according to geographical origin by statistical analysis[J]. Anal Chim Acta, 2007, 585(2): 366–370.
- [17] Anderson K A, Smith B W. Use of chemical profiling to differentiate geographic growing origin of raw pistachios[J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(2): 410–418.
- [18] Terrab A, Hernanz D, Heredia F J. Inductively coupled plasma optical emission spectrometric determination of minerals in thyme honeys and their contribution to geographical discrimination[J]. J Agric Food Chem, 2004, 52(11): 3441–3445.
- [19] Brescia M A, Monfreda M, Buccolieri A, et al. Characterisation of the geographical origin of buffalo milk and mozzarella cheese by means of analytical and spectroscopic determinations[J]. Food Chem, 2005, 89(1): 139–147.
- [20] Yu H, Zhou Y, Fu X, et al. Discrimination between Chinese rice wines of different geographical origins by NIRS and AAS[J]. Eur Food Res Technol, 2007, 225(3): 313–320.
- [21] 杨健, 徐勋, 刘洪波. 太湖和洪泽湖大银鱼(*Protosalanx hyalocranius*)体内元素的积累特征及产地判别[J]. 海洋与湖沼, 2009, 40(2): 201–207.
- [22] Ye S S, Yang J, Liu H B, et al. Use of elemental fingerprint analysis to identify localities of collection for the large ice-fish *Protosalanx chinensis* in Taihu lake, China[J]. J Fac Agric Kyushu Univ, 2011, 56(1): 41–45.
- [23] Costas R M, Lavilla I, Bendicho C. Classification of cultivated mussels from Galicia (Northwest Spain) with European protected designation of origin using trace element fingerprint and chemometric analysis[J]. Anal Chim Acta, 2010, 664(2): 121–128.
- [24] 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. 中华人民共和国国家标准-地理标志产品阳澄湖大闸蟹(GB/T19957-2005)[S]. 北京, 2005.
- [25] 刘楚珠, 严利平, 李圣法, 等. 基于框架法的东黄海日本鲭产卵群体形态差异分析[J]. 中国水产科学, 2011, 18(4): 908–917.
- [26] 李朝霞, 李健, 刘萍, 等. 中国对虾“黄海 1 号”选育群体与野生群体的形态特征比较[J]. 中国水产科学, 2006, 13(3): 384–388.
- [27] 堵南山. 中华绒螯蟹的洄游[J]. 水产科技情报, 2004, 31(2): 56–57.
- [28] 李庆, 蔡友琼, 沈晓盛. 中华绒螯蟹中微量元素的分布及评估[J]. 上海水产大学学报, 2006, 15(2): 207–210.
- [29] 柏如法, 周刚, 李跃华, 等. 中华绒螯蟹种质特性研究——江苏主要产区养殖河蟹可食部分矿物质元素特性的比较研究[J]. 水产养殖, 2006, 27(5): 16–19.
- [30] 张彤晴, 周刚, 朱清顺, 等. 不同增养殖水体中华绒螯蟹一般营养成分比较分析[J]. 水产养殖, 2006, 27(4): 8–10.
- [31] 陈海仟, 张美琴, 吴光红, 等. 中华绒螯蟹对 Pb 和 Cd 的富集与释放特性[J]. 水生生物学报, 2010, 34(4): 826–834.
- [32] 李思发, 蔡完其, 邹曙明, 等. 阳澄湖中华绒螯蟹品质分析[J]. 中国水产科学, 2000, 7(3): 71–74.

A comparative study of morphological characteristics and elemental fingerprints of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* from three lakes

YANG Wenbin^{1,2}, SU Yanping², LIU Hongbo², YANG Jian^{1,2}, XU Pao²

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

2. Key Laboratory of Ecological Environment and Resources of Inland Fisheries, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China

Abstract: Morphological characteristics and elemental fingerprints were compared in Chinese mitten crabs (*Eriocheir sinensis*) from three lakes (Taihu Lake, Shijiu Lake and Gucheng Lake) in Jiangsu Province. Truss network analysis using 16 length measurements suggested that crabs from the three lakes could not be reliably characterized based on morphological characteristics. The accuracy rates yielded by discriminant analysis were 70% for crabs from Taihu Lake, 90% for those from Shijiu Lake, and 80% for those from Gucheng Lake. An Agilent 7500ce ICP-MS was used to measure the concentrations of 21 chemical elements (Na, K, Ca, Fe, Mg, Sr, Ag, Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Tl and Zn) in the third pereopod of the crabs from the three lakes. The concentrations of Cr, Co, As, Se, Cd, Pb, Tl, Ag, Mo, and Ni were below the detection limit. However, in contrast to the morphological analysis, the origin of the crabs from the three lakes could be consistently identified from their elemental fingerprints. The corresponding accuracy rates yielded by discriminant analysis were 100% for crabs from Taihu Lake, 80% for those from Shijiu Lake, and 100% for those from Gucheng Lake. We conclude that the approach of using environmentally determined elemental fingerprints in the third pereopod of the crabs is a potentially valid method for identifying the geographical origin of Chinese mitten crabs.

Key words: *Eriocheir sinensis*; morphological characters; elemental fingerprint; geographical origin; discriminant analysis

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