

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20190515003

http://www.yykxjz.cn/

鲍虞园, 叶国玲, 颀晓勇. 中国鲎人工繁育及 1 龄稚鲎形态性状对体质量的影响. 渔业科学进展, 2020, 41(4): 77-84
Bao YY, Ye GL, Xie XY. Effects of morphological characters on body weight of artificially bred the first instars of horseshoe crabs (*Tachypleus tridentatus*). Progress in Fishery Sciences, 2020, 41(4): 77-84

中国鲎人工繁育及 1 龄稚鲎形态性状 对体质量的影响*

鲍虞园^{1,2} 叶国玲^{1,3} 颀晓勇^{1①}

- (1. 中国水产科学研究院南海水产研究所 农业农村部南海渔业资源开发利用重点实验室 广州 510300;
2. 上海海洋大学 水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室 水产科学国家级实验教学示范中心
上海水产养殖工程技术研究中心 上海 201306; 3. 天津农学院水产学院 天津 300384)

摘要 2018 年 5~9 月, 在广东湛江对中国鲎(*Tachypleus tridentatus*)进行人工繁育技术初步研究。在水温为 28℃~32℃、盐度为 26~30、pH 为 7.4~7.8 条件下, 9 对中国鲎共产卵 8.713×10^4 粒, 受精率为 56%~68%; 受精卵历时约 45 d 后, 胚胎发育孵化成 1 龄稚鲎, 孵化率达 92%, 共获得 1 龄稚鲎 4.827 万尾。随机取样人工繁育 1 龄中国鲎 500 尾, 测量头胸甲长(X_1)、头胸甲宽(X_2)、头胸甲高(X_3)、腹部长(X_4)和体质量(Y) 5 个形态性状, 应用相关分析、多元回归、通径分析、决定系数分析等方法, 分别计算得出各个形态性状对体质量的相关系数、通径系数和决定系数, 进一步分析形态性状对体质量的直接和间接作用。结果显示, 所有形态性状与体质量的相关系数均达到极显著水平($P < 0.01$)。各形态性状对体质量的通径系数均达到极显著水平($P < 0.01$), 其中, 通径系数最大的是头胸甲宽, 说明头胸甲宽对体质量的直接作用最大。决定系数分析结果与通径分析结果一致, 各表型性状对体质量的总决定系数 $\Sigma d = 0.863$, 表明所选形态性状是影响体质量的主要性状。通过逐步回归分析方法, 经偏回归系数显著性检验, 建立了以体质量为因变量, 以头胸甲长、头胸甲宽、头胸甲高和腹部长为自变量的多元回归方程: $Y = -0.228 + 0.248X_1 + 0.073X_2 + 0.333X_3 + 0.073X_4$ 。本研究表明, 1 龄中国鲎的头胸甲宽对体质量的影响最大, 种质评价和放流苗种筛选应以头胸甲宽度为首选依据。

关键词 中国鲎; 人工繁育; 形态性状; 相关分析; 通径分析

中图分类号 S917.4 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2020)04-0077-08

中国鲎(*Tachypleus tridentatus*)属于节肢动物门(Arthropoda)、肢口纲(Merostomata)、剑尾目(Xiphosura)、鲎科(Limulidae)、东方鲎属(*Tachypleus*), 因头胸部具发达的马蹄形背甲, 又被称为马蹄蟹。鲎是古老的海洋生物化石之一(Rudkin *et al.*, 2009), 其起源可追溯到 4.5 亿年前。中国鲎在地球上的分布区域

狭窄, 其主要分布于中国东南沿海, 日本濑户内海和九州岛北岸(廖永岩等, 2006)以及东南亚(Botton, 2001)等地。鲎的血液因含有铜离子呈蓝色, 血淋巴及其内含物具有抗菌、抗肿瘤、抗病毒等生物活性, 是生产鲎试剂的原料(李裕红等, 2018)。近 30 年来, 因大肆捕杀等原因造成中国鲎数量急剧下降, 环境污染

* 中国水产科学研究院南海水产研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2019TS21)资助 [This work was supported by Special Fund for Basic Scientific Research of Central Public Research Institutes of South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery (2019TS21)]. 鲍虞园, E-mail: answerbyy@sina.com

① 通讯作者: 颀晓勇, 副研究员, E-mail: xyxie@scsfri.ac.cn

收稿日期: 2019-05-15, 收修改稿日期: 2019-06-04

使其繁殖生态环境遭到严重破坏,中国鲎濒临灭绝。人工育苗和增殖放流是恢复鲎资源种群数量行之有效的措施之一(Hsieh *et al.*, 2015)。

与水产养殖中苗种选育类似,对于放流增殖群体也需要进行种质筛选。表型形态性状作为生物分类依据,既是生物种群长期进化形成的固有属性,也是种群内个体间表露显性差异的重要载体(张嘉丽等, 2014)。形态性状和体质量具有直观性和可度量性,是遗传育种中进行选择和定向培育的重要指标。

通径分析可通过对自变量与因变量之间表面直接相关性的分解,来研究自变量对因变量的直接重要性和间接重要性,从而为统计决策提供可靠的依据。目前,通径分析在水生动物研究中被广泛应用,研究对象包括鱼类(Ahmed *et al.*, 2000; Myers *et al.*, 2001; 陈红林等, 2019; 刘阳等, 2019; 李莉等, 2019)、虾类(李洋等, 2012; 蒋湘等, 2017; 孙海峰等, 2018)、蟹类(刘磊等, 2009; 平洪领等, 2013)和贝类(Huo *et al.*, 2010; 刘文广等, 2012)等。但是,迄今尚未见有关中国鲎形态性状与体质量的相关研究报道。因此,本研究在中国鲎人工繁育基础上,对1龄中国鲎形态性状与体质量进行相关分析、通径分析及多元回归分析,得出影响1龄中国鲎体质量的主要形态性状及其对体质量的直接和间接影响程度,建立主要形态性状和体质量的多元线性回归方程,旨在为中国鲎种质评价和苗种筛选提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验地点与时间

本研究于2018年5~9月在广东省湛江市的中国水产科学研究院南海水产研究所中国鲎研究基地进行。

1.2 中国鲎人工繁育

1.2.1 亲本选择与培育管理 亲鲎购于广东湛江,于室内暂养20 d后,挑选体形完好、活动能力强、自然抱对的成熟雌雄个体。雌性亲本9尾,头胸甲宽为29.315~38.628 cm,平均头胸甲宽为(33.734±3.455) cm;体质量为(2.572~5.084) kg,平均体质量为(4.033±0.864) kg;雄性亲本14尾,头胸甲宽为25.716~30.508 cm,平均头胸甲宽为(27.633±1.658) cm;体质量为1.604~2.015 kg,平均体质量为(1.686±0.138) kg。亲本培育在室内水泥池(2个,底面为7 m×2.5 m,水深为0.8 m)进行,具有独立的进排水系统,每天换水和排污1~2次,日换水量为80%,每15 d清池1次。池底平坦,铺沙,沙径为0.5~2 mm,沙层厚度为

20~40 cm,以利于亲鲎挖窝产卵。养殖用水为经过滤消毒的自然海水,水温为28℃~32℃,盐度为26~30, pH为7.4~7.8,养殖全程不间断增氧,保证养殖池水溶解氧含量≥4.0 mg/L。亲本培育期间,每天18:00投喂破碎处理的新鲜牡蛎,投喂量为体质量的3%。

1.2.2 受精卵采集、筛选与孵化 每天换水时检查沙面是否有卵,确定大致产卵时间,亲鲎产卵后约12 h,排干池水,将亲鲎移出,用纱网将受精卵从沙中捞出,淘洗干净。洗净后的受精卵放入网篮继续孵化。孵化池除不需要在池底铺沙外,其他与产卵池相同,每天换水1次,换水时挑出坏死卵。

1.2.3 苗种培育 孵化的中国鲎幼苗放入室内水泥池培育,池底铺沙(沙层厚度为1~2 cm),水深为0.5 m,投苗密度为1000尾/m²。1龄幼鲎不需要投喂饵料,其养分来自胚胎期剩余卵黄。经过约70 d发育,1龄幼鲎会蜕壳。对蜕壳进入2龄的中国鲎,投喂丰年虫(*Chirocephalus nankeenensis*)幼体作为饵料。

1.3 1龄中国鲎外部形态性状对体重的影响分析

随机采集人工繁育所得1龄中国鲎500尾。选取的基本形态指标包括头胸甲长(X_1)、头胸甲宽(X_2)、头胸甲高(X_3)和腹部长(X_4),用游标卡尺进行测量,精确到0.002 cm;体质量为滤纸吸干鲎体表面水分后的质量,用电子天平进行称量,精确到0.001 g。

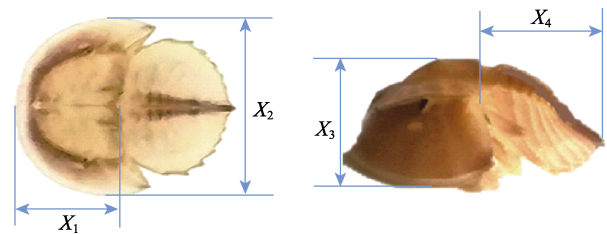


图1 1龄中国鲎形态指标测量示意图

Fig.1 Diagrammatic sketch of body parts measured for morphological analysis of the first instars of *T. tridentatus*

X_1 : 头胸甲前后缘的距离; X_2 : 头胸甲左右最大宽度;
 X_3 : 头胸部厚度; X_4 : 头胸甲后缘到尾部距离
 X_1 : Length of the cephalothorax; X_2 : Width of the cephalothorax; X_3 : Height of the cephalothorax;
 X_4 : Length of the opisthosoma

1.4 数据处理

利用SPSS 23.0统计软件对实验数据进行分析,对所测定5个性状进行表型描述分析,再进行表型相关分析,计算表型相关系数及显著性检验,采用通径分析方法得到各性状对体质量的直接影响和间接影响,计算相关指数与决定系数。最后,通过逐步回归

法建立偏回归系数显著性状对体质量的多元线性回归方程。相关系数用 r_{xy} 表示, 通径系数用 P_i 表示, 决定系数用 d_i 表示, 双性状共同决定系数用 d_{ij} 表示, 其中, $d_i=P_i^2$, $d_{ij}=2r_{ij} \times P_i \times P_j$ 。

2 结果

2.1 亲鲎生殖类型及繁育结果

中国鲎卵呈淡黄色球形, 卵径为 2.8~3.3 mm。本研究中的亲鲎在 5 月 25 日~8 月 20 日分 5 批次产卵, 持续约 3 个月, 共计产卵 8.713×10^4 粒, 不同批次的受精率为 56%~68%; 经历约 45 d 胚胎发育孵化成 1 龄稚鲎, 孵化率达到 92%, 共获得中国鲎幼体 48268 尾。

2.2 1 龄中国鲎各性状的表型参数估计值

所测形态性状和体质量数据经初步整理, 获得表型统计量列于表 1, 其中, 体质量变异系数较大, 为 11.538%。

表 1 1 龄中国鲎各形态性状的描述性统计
Tab.1 Descriptive statistics of morphological traits of the first instars of *T. tridentatus*

项目 Items	性状 Trait				
	X_1	X_2	X_3	X_4	Y
平均数 Mean	0.428	0.579	0.249	0.309	0.026
标准差 Standard deviation	0.004	0.018	0.002	0.003	0.003
变异系数 Coefficient of variation (%)	0.935	3.109	0.803	0.971	11.538

2.3 性状间相关系数

1 龄中国鲎各形态性状及体质量间表型相关系数见表 2。由表 2 可知, 所列性状间相关系数均达极显著水平 ($P < 0.01$), 其中, 头胸甲宽与体质量之间的相关系数最大, 头胸甲高与腹部长之间的相关系数最

小。从相关性来看, 体质量与其他性状间均为正相关, 且相关系数大小依次为头胸甲宽 > 头胸甲长 > 头胸甲高 > 腹部长。

表 2 1 龄中国鲎各形态性状及体质量间的表型相关系数
Tab.2 The phenotype correlation coefficient among the traits of the first instars of *T. tridentatus*

性状 Trait	X_1	X_2	X_3	X_4	Y
X_1	1.000	0.760**	0.699**	0.754**	0.846**
X_2		1.000	0.695**	0.654**	0.870**
X_3			1.000	0.602**	0.780**
X_4				1.000	0.723**
Y					1.000

注: **表示差异极显著 ($P < 0.01$), *表示差异显著 ($P < 0.05$), 下表同

Notes: ** indicates highly significant difference ($P < 0.01$), * indicates significant difference ($P < 0.05$), the same as the following

2.4 形态性状对体质量影响的通径分析

根据通径分析得到 1 龄中国鲎形态性状对体质量的通径系数。各通径系数反映了该性状对中国鲎体质量的直接影响。由表 3 可知, 各形态性状对体质量的影响均达到极显著水平 ($P < 0.01$)。结果分别为头胸甲长 $P_1=0.302$ 、头胸甲宽 $P_2=0.437$ 、头胸甲高 $P_3=0.218$ 、腹部长 $P_4=0.079$, 进而得到相关指数 $R^2=0.863$ 。

根据相关系数的组成效应, 可将各形态性状与体重的相关系数剖分为各性状的直接作用和各性状通过其他性状的间接作用。由表 3 可知, 除头胸甲宽外, 1 龄中国鲎各形态性状对体质量的直接作用均小于间接作用。1 龄中国鲎头胸甲宽对体质量的直接作用最大 (0.437), 约为 4 个表型性状的 50%; 腹部长对体质量的直接作用系数最小, 但腹部长通过头胸甲长、头胸甲宽和头胸甲高产生的间接作用 (0.228、0.286 和 0.131) 影响很大。同时, 其他各性状也相互作为间接因素对体质量产生较大的影响, 头胸甲各性状对体质量的间接作用较大 (0.434~0.544)。

表 3 1 龄中国鲎各形态性状对体质量影响的通径分析
Tab.3 Path analysis of the effects of morphometric traits on body weight of the first instars of *T. tridentatus*

性状 Trait	相关系数 Correlation coefficient	直接作用 Direct effect	间接影响 Indirect effect				
			Σ	X_1	X_2	X_3	X_4
X_1	0.846**	0.302**	0.544		0.332	0.152	0.060
X_2	0.870**	0.437**	0.434	0.230		0.152	0.052
X_3	0.780**	0.218**	0.563	0.211	0.304		0.048
X_4	0.723**	0.079**	0.645	0.228	0.286	0.131	

2.5 形态性状对体质量的决定程度分析

根据公式计算得出单个性状对体质量的决定系数 d_i 及 2 个性状对体质量的共同决定系数 d_{ij} 。1 龄中国鲎主要形态性状对体质量的决定系数见表 4, 对角线上的数据表示每个形态性状单独对体质量的决定系数, 对角线以上的数据表示两两性状对体质量的共同决定系数。由表 4 可知, 4 个单独的决定系数和 6 个两两共同决定系数总和为 $\Sigma d=0.863$, 与相关指数 R^2 的数值相等, 且 >0.85 , 表明头胸甲长、头胸甲宽、头胸甲高和腹部长是影响体质量的主要形态性状, 而其他未选择性状对体质量的影响相对较小。

表 4 1 龄中国鲎形态性状对体质量的决定系数
Tab.4 The determinant coefficients of morphometric traits to body weight of the first instars of *T. tridentatus*

性状 Trait	X_1	X_2	X_3	X_4
X_1	0.091	0.201	0.092	0.036
X_2		0.191	0.132	0.045
X_3			0.048	0.021
X_4				0.006

单独的决定系数中, 头胸甲长、头胸甲宽、头胸甲高和腹部的相对决定程度分别为 9.1%、19.1%、4.8%和 0.6%, 头胸甲宽单个决定程度最大, 其次分别为头胸甲长、头胸甲高和腹部长。两两性状共同对体质量的决定系数中, 头胸甲长和头胸甲宽对体质量的共同决定系数最大(20.1%), 头胸甲高与腹部的共同决定系数最小(2.1%)。所有性状的单个决定系数总和为 0.336, 所有共同决定系数总和为 0.527, 说明两两性状的共同决定程度要大于单个性状的决定程度。

2.6 多元回归方程的建立

对回归方程和各形态性状的偏回归系数进行显著性检验, 结果见表 5 和表 6。方差分析结果(表 5)显示, 回归系数均达到极显著水平($F=775.722$, $P<0.01$)。经各偏回归系数的显著性检验(表 6), 头胸甲长(X_1)、头胸甲宽(X_2)、头胸甲高(X_3)、腹部长(X_4)的偏回归系数均达到极显著水平($P<0.01$)。据此建立 1 龄中国鲎体质量与表型性状参数的多元回归方程:

$$Y=-0.228+0.248X_1+0.073X_2+0.333X_3+0.073X_4$$

经回归预测, 估计值和实测值间无显著差异($P>0.05$), 表明该方程能精准反映 1 龄中国鲎形态性状与体质量间的相互关系。

表 5 多元回归方程的方差分析
Tab.5 Analysis of variance of multiple regression equation

指标 Index	自由度 df	总平方和 SS	均方 MS	F 检验值 F value	显著性 Sig.
回归 Regression	4	0.004	0.001	775.722	0.000
残差 Residual	495	0.001	0.000		
总计 Total	499	0.005			

表 6 偏回归系数和回归常数的显著性检验
Tab.6 Significance test of partial regression coefficient and regression constant

变量 Variate	偏回归系数 Unstandardized coefficients	标准误 SE	t 统计量 t value	显著性 Sig.
回归常量 Regression constant	-0.228	0.009	-25.613	0.000
X_1	0.248	0.026	9.664	0.000
X_2	0.073	0.005	15.770	0.000
X_3	0.333	0.038	8.689	0.000
X_4	0.073	0.024	3.044	0.002

3 讨论

3.1 亲本选育与产卵、孵化

中国鲎自幼体时期开始蜕壳, 一生要蜕壳 15~16 次, 大概经过约 14 年达到性成熟(Sekiguchi, 1988)。不同地区中国鲎产卵时间有差异, 厦门海域中国鲎的产卵期为 4 月下旬~8 月下旬, 其中, 立夏至处暑大量亲鲎性腺成熟, 进入产卵最盛期(蔡心一等, 1984); 在湛江海域, 5~9 月为中国鲎产卵期(廖永岩等, 2001); 在我国台湾海域, 每年夏季端午至秋季白露(6~9 月)为主要产卵期(叶欣宜, 2011)。谢叶(2012)研究了中国鲎产卵量与雌亲鲎体重关系, 结果表明, 2.5~4.0 kg 的雌鲎重量与产卵量之间呈线性关系, 而超过 4.0 kg 的雌鲎的重量与产卵量之间线性关系不明显, 可能与超过 4.0 kg 的雌鲎年龄较大, 属于老年鲎, 影响产卵量有关。本研究选取平均体质量为 (4.033 ± 0.864) kg 的 9 尾成熟雌性中国鲎, 于 2018 年 5~9 月在广东湛江进行中国鲎人工繁育, 分 5 批次产卵, 共产卵 8.713×10^4 粒, 不同批次受精率为 56%~68%, 比 Sekiguchi (1988) 报道的 100% 和廖永岩等(1997)报道的 95% 低, 原因是他们采用人工授精方法, 需要解剖亲本取精卵。本研究认为, 解剖法对亲鲎造成伤害, 而本研究中的自然产卵受精更适宜规模化生产应用。

王军等(2001)研究发现,在水温为24℃~30℃、盐度为23~33的条件下,中国鲎卵从受精到孵出三叶幼体历时55 d。程文(2007)对中国鲎人工授精的研究显示,在水温为23℃~25℃、盐度为35、pH为8.0的条件下,受精卵需49~54 d才能孵化。谢叶(2012)报道,人工育苗实验在水温为27.5℃~31℃、盐度为32~35、pH为7.8~8.0的条件下,30 d左右开始脱膜孵化。本研究在湛江开展中国鲎人工繁育实验,在水温为28℃~32℃、盐度为26~30、pH为7.4~7.8条件下,历时45 d,胚胎发育孵化出了1龄稚鲎,造成孵化时间差异的原因可能是孵化温度和海水盐度的不同。

3.2 形态性状与体质量的数量关系

本研究结果显示,1龄中国鲎各形态性状与体质量的表型相关系数均达到极显著水平,但相关系数是两变量间关系的综合体现,它既包括变量间的直接关系,又包括通过其他变量影响的间接关系。单纯采用性状间的相关系数不能正确表述两性状间的真实关系,结果有一定片面性(鄢朝等,2012;张成松等,2013)。通径分析不仅能正确表述变量间的真实关系,而且能把性状间的相关性剖分成直接作用和间接影响(刘博等,2011)。相关分析结果显示,各形态性状均与1龄中国鲎体质量显著相关($P < 0.01$),在此基础上进行通径分析,确定性状与体质量间的关系,并进一步量化各形态性状对体质量的直接和间接影响。其中,腹部长对体质量的直接影响最小,但它通过头胸甲长、头胸甲宽和头胸甲高对体质量产生较大的间接作用,而头胸甲宽对体质量的直接作用最大,但它通过头胸甲长、头胸甲高和腹部长对体质量产生的间接作用却较小。可见,通过各性状间表型相关系数并不能正确判断各形态性状对体质量的影响大小,而通径分析可在表型相关分析的基础上,进一步找出影响体质量的主要形态性状。头胸甲长、头胸甲宽、头胸甲高、腹部长等4个形态性状对体质量的直接影响有极显著性差异,这一结果与相关分析结果类似,而且相关系数大小关系和通径系数大小关系也一致:头胸甲宽>头胸甲长>头胸甲高>腹部长。

本研究的总决定系数和为0.863 (> 0.85)。一般认为进行通径系数分析和决定系数分析时,只有当相关指数 R^2 或各自变量对因变量的单独决定系数及两两共同决定系数的总和 Σd (在数值上 $R^2 = \Sigma d \geq 0.85$)时,表明影响因变量的主要自变量已经找到(黄有辉等,2016;黄建盛等,2017)。因此,可以认为头胸甲长、头胸甲宽和头胸甲高和腹部长是影响1龄中国鲎体质量

的主要性状。数量性状的生长指标通常包括以体形度量和以重量度量2类生长指标(Rhodes *et al.*, 1984)。本研究利用中国鲎形态性状和重量性状来共同探讨数量性状间的关系,以形态性状作为自变量,其对重量性状的回归相关性极为显著。因此,以形态性状来评价和预测重量性状是可行的。中国鲎种质评价和放流苗种筛选过程中头胸甲长、头胸甲宽、头胸甲高和腹部长可以作为测度指标,其中,首选头胸甲宽作为测度指标。

3.3 影响常见经济型虾、蟹体质量的形态性状

表型形态分析在水产养殖对象种质筛选与评价中应用广泛(杨慧赞等,2011)。黄忠等(2011)和孙苗苗等(2013)研究发现,体长是影响斑节对虾(*Penaeus monodon*)体质量的最主要因素。平洪领等(2013)研究发现,甲长是影响天津厚蟹(*Helice tientsinensis*)体质量的最主要因素。李洋等(2012)研究发现,体长是影响脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)体质量的最主要因素。本研究结果显示,1龄稚鲎头胸甲宽与体质量的相关系数为0.870、直接作用 P 为0.437、决定系数为0.191,均显著高于头胸甲长、头胸甲高和腹部长对体质量的影响。所以,认为1龄中国鲎的头胸甲宽对体质量的影响最大,种质评价和苗种筛选应以头胸甲宽度为首选依据。

吴立峰等(2010)研究发现,3个凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)家系形态参数对体质量的影响并不一致,推测与不同家系生长速度存在较大差异有关。徐海龙等(2014)研究渤海湾4种蟹类外部形态性状与体重的关系发现,隆线强蟹(*Eucrate crenata*)和日本蟳(*Charybdis japonica*)头胸甲宽直接作用最大,日本关公蟹(*Dorippe japonica*)和三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)为头胸甲长的直接作用最大。边力等(2013)和蒋湘等(2017)研究发现,体长对人工养殖日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)体质量的直接作用最大;而孙成波等(2008)发现,野生日本囊对虾头胸甲宽与体质量的直接影响和决定系数均最大。胡本龙等(2011)对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)2个幼蟹群体研究表明,幼蟹人工苗以壳长与体重的相关关系最大,而天然苗以壳宽与体重的相关关系最大,其差异可能是由于种群长期处于不同的生态环境,影响了形态性状对体重增加的决定程度。这些研究表明,不同品种或不同来源甲壳类动物群体的形态性状对体重的影响存在较大差异。因此,在后续开展中国鲎种质资源筛选、家系建立与评价中,应继续进行更为深入的表型形态特征研究。

参 考 文 献

- Ahmed M, Abbas G. Growth parameters of the finfish and shellfish juveniles in the tidal waters of Bhanbhore, Korangi Creek and Miani Hor Lagoon. *Pakistan Journal of Zoology*, 2000, 32(1): 21–26
- Bian L, Zhong SP, Liu HT, *et al.* Path analysis of the effects of morphometric traits on body weight for 2-month-old *Marsupenaues japonicas*. *Journal of Xiamen University (Natural Science)*, 2013, 52(3): 427–432 [边力, 钟声平, 刘洪涛, 等. 两月龄日本囊对虾形态性状对体质量的通径分析. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2013, 52(3): 427–432]
- Botton ML. The conversation of horseshoe crabs: What can we learn from the Japanese experience? In: Tanacredi JT(ed). *Limulus in the limelight—a species 350 million years in the marking and in peril*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publisher, 2001
- Cai XY, Lin QW, Huang JY. Reproductive habit and embryonic development of *Tachypleus tridentatus*. *Acta Oceanologica Sinica*, 1984, 6(5): 105–113 [蔡心一, 林琼武, 黄健裕. 中国鲎的生殖习性和早期胚胎发育. *海洋学报*, 1984, 6(5): 105–113]
- Chen HL, Si ZX, Du JX, *et al.* Correlation and path coefficient analysis on morphometric traits and body weight for the four color patterns of Oujiang color common carp. *Progress in Fishery Sciences*, 2019, 40(5): 110–116 [陈红林, 司周旋, 杜金星, 等. 四种体色瓯江彩鲤形态性状与体质量的相关性与通径分析. *渔业科学进展*, 2019, 40(5): 110–116]
- Cheng W. Embryonic development and the effects of temperature and salinity on the metabolism of the first instars of *Tachypleus tridentatus*. Master's Thesis of Huazhong Agricultural University, 2007 [程文. 中国鲎的胚胎发育及温度和盐度对一期幼体代谢的影响. 华中农业大学硕士研究生学位论文, 2007]
- Hsieh HL, Chen CP. Current status of *Tachypleus tridentatus* in Taiwan for red list assessment: Changing global perspectives on horseshoe crab biology. *Conservation and Management*, 2015
- Hu BL, Lin H, Zhao XP, *et al.* Relationship between morphometric attributes and body weight of two stocks of juvenile crab, *Eriocheir sinensis*. *Journal of Hydroecology*, 2011, 32(5): 74–77 [胡本龙, 林海, 赵小平, 等. 中华绒螯蟹 2 个幼蟹群体形态性状与体重的关系. *水生态学杂志*, 2011, 32(5): 74–77]
- Huang JS, Chen G, Zhang JD, *et al.* Principal component and path analysis of morphological traits of *Epinephelus fuscoguttatus* at different month ages. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41(7): 1105–1115 [黄建盛, 陈刚, 张健东, 等. 褐点石斑鱼不同月龄形态性状的主成分及通径分析. *水产学报*, 2017, 41(7): 1105–1115]
- Huang YH, Fan B, Li YM, *et al.* Path analysis for the correlations between morphological traits and body weight in five *Macrobrachium nipponense* populations. *Journal of Fisheries of China*, 2016, 40(8): 1173–1185 [黄有辉, 范斌, 李一鸣, 等. 日本沼虾五群体形态性状对体质量的通径分析. *水产学报*, 2016, 40(8): 1173–1185]
- Huang Z, Lin HZ, Huang JH, *et al.* Relationship between body length and weight of five *Penaeus monodon* families. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2011, 38(4): 116–119 [黄忠, 林黑着, 黄建华, 等. 5 个斑节对虾家系体长和体重的关系. *广东农业科学*, 2011, 38(4): 116–119]
- Huo Z, Yan X, Zhao L, *et al.* Effects of shell morphological traits on the weight traits of Manila clam (*Ruditapes philippinarum*). *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(5): 251–256
- Jiang X, Wen ZM, Zeng FX, *et al.* Relations of morphometric attributes and body weight for *Marsupenaues japonicus*. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2017, 45(19): 235–238 [蒋湘, 文赵明, 曾凤仙, 等. 日本囊对虾选育群体形态性状与体质量的关系. *江苏农业科学*, 2017, 45(19): 235–238]
- Li L, Wang X, Jian YX, *et al.* Correlation and path analysis between morphological traits and body mass of *Hexagrammos otakii* at different months of age. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2019, 28(1): 58–66 [李莉, 王雪, 菅玉霞, 等. 不同月龄大泷六线鱼形态性状与体质量的相关性及通径分析. *上海海洋大学学报*, 2019, 28(1): 58–66]
- Li Y, Liu P, Li J, *et al.* Correlation and path analysis of morphometric traits on body weight for *Exopalamon carinicauda*. *Progress in Fishery Sciences*, 2012, 33(6): 59–65 [李洋, 刘萍, 李健, 等. 脊尾白虾形态性状对体重的相关性通径分析. *渔业科学进展*, 2012, 33(6): 59–65]
- Li YH, Xie XY, Guan JY. Endangered status and declaration on conservation of the “Living Fossil” *Tachypleus tridentatus*. *Wetland Science*, 2018, 16(5): 690–692 [李裕红, 颜晓勇, 关杰耀. 活化石中国鲎濒危现状及抢救性保护宣言. *湿地科学*, 2018, 16(5): 690–692]
- Liao YY, Hong SG. Artificial insemination and artificial incubation of *Tachypleus tridentatus*. *Journal of Zhanjiang Ocean University*, 1997, 17(2): 23–26 [廖永岩, 洪水根. 中国鲎(*Tachypleus tridentatus*)人工授精育苗的初步研究. *湛江海洋大学学报*, 1997, 17(2): 23–26]
- Liao YY, Hong SG, Li XM. A survey on the horseshoe crabs in the north of South China Sea. *Acta Zoologica Sinica*, 2001, 47(1): 108–111 [廖永岩, 洪水根, 李晓梅. 中国南方海域鲎的种类和分布. *动物学报*, 2001, 47(1): 108–111]
- Liao YY, Liu JX. Species and distribution of horseshoe crab in Asia sea area. *Journal of Tropical Oceanography*, 2006, 25(6): 85–90 [廖永岩, 刘金霞. 亚洲海域鲎的种类和分布. *热带海洋学报*, 2006, 25(6): 85–90]
- Liu B, Teng SS, Shao YQ, *et al.* Mathematical analysis of the correlations between the morphometric attributes and body weight *Meretrix lyrata*. *Marine Sciences*, 2011, 35(10): 91–95 [刘博, 滕爽爽, 邵艳卿, 等. 琴文蛤形态性状对体量的影响效果分析. *海洋科学*, 2011, 35(10): 91–95]
- Liu L, Li J, Gao BQ, *et al.* Correlation of growth traits of *Portunus trituberculatus* at the different ages and its impact on body weight. *Journal of Fisheries of China*, 2009, 33(6):

- 964–971 [刘磊, 李健, 高保全, 等. 三疣梭子蟹不同日龄生长性状相关性及其对体重的影响. 水产学报, 2009, 33(6): 964–971]
- Liu WG, Lin JS, He MX. Path analysis of quantitative traits of scallop *Chlamys nobilis* at different ages. South China Fisheries Science, 2012, 8(1): 43–48 [刘文广, 林坚士, 何毛贤. 不同贝龄华贵栉孔扇贝数量性状的通径分析. 南方水产科学, 2012, 8(1): 43–48]
- Liu Y, Han HZ, Wang TT, et al. Phenotypic analysis between the main morphological traits and body weight of black rockfish (*Sebastes schlegelii*). Progress in Fishery Sciences, 2019, 40(5): 117–125 [刘阳, 韩慧宗, 王腾腾, 等. 许氏平鲷体质量与形态性状的表型特征分析. 渔业科学进展, 2019, 40(5): 117–125]
- Myers JM, Hershberger WK, Saxton AM, et al. Estimates of genetic and phenotypic parameters for length and weight of marine net-pen reared coho salmon (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum). Aquaculture Research, 2001, 32(4): 277–285
- Ping HL, Li YQ. Path analysis between morphological traits and body weight on *Helice tientsinensis* by multiple regression. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44(5): 1353–1357 [平洪领, 李玉全. 逐步线性回归法实现天津厚蟹(*Helice tientsinensis*)表型性状与体重的通径分析. 海洋与湖沼, 2013, 44(5): 1353–1357]
- Rhodes CP, Holdich DM. Length-weight relationship, muscle production and proximate composition of the freshwater crayfish *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet). Aquaculture, 1984, 37(2): 107–123
- Rudkin DM, Young GA. Horseshoe crabs—An ancient ancestry revealed. Biology and Conservation of Horseshoe Crabs, 2009
- Sekiguchi K. Biology of horseshoe crabs. Tokyo: Science House Co Ltd, 1988
- Sun CB, Deng XY, Li ZQ, et al. Relations of morphometric attributes and body weight for wild *Marsupenaeus japonicus* from Beibu Gulf. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2008, 39(3): 263–268 [孙成波, 邓先余, 李镇泉, 等. 北部湾野生日本囊对虾(*Marsupenaeus Japonicus*)体重和形态性状的关系. 海洋与湖沼, 2008, 39(3): 263–268]
- Sun HF, Liu GX, Jiang LY. Mathematical analysis of effects of morphometric attributes on body weight for *Macrobrachium rosenbergii*. Journal of Aquaculture, 2018, 39(7): 48–54 [孙海峰, 刘国兴, 蒋连玉. 罗氏沼虾的形态性状对体重的相关性分析. 水产养殖, 2018, 39(7): 48–54]
- Sun MM, Chen BY, Yang QB, et al. Effects of morphological characters on body weight of *Penaeus monodon*. Marine Sciences, 2013, 37(5): 50–54 [孙苗苗, 陈百尧, 杨其彬, 等. 斑节对虾形态性状对体质量影响的分析. 海洋科学, 2013, 37(5): 50–54]
- Wang J, Wang DX, Su YQ, et al. Embryonic development of *Tachypleus tridentatus*. Chinese Journal of Zoology, 2001, 36(4): 9–14 [王军, 王德祥, 苏永全, 等. 中国鲎的胚胎发育. 动物学杂志, 2001, 36(4): 9–14]
- Wu LF, Zhang LP, Shen Q, et al. The effects of morphometric traits on body weight of different families of *Litopenaeus vannamei*. Transactions of Oceanology and Limnology, 2010, 37(2): 37–48 [吴立峰, 张吕平, 沈琪, 等. 凡纳滨对虾不同家系的形态性状对体重的影响. 海洋湖沼通报, 2010, 37(2): 37–48]
- Xie Y. The industrial seed production of *Tachypleus tridentatus* and effect of key ecological factors on it, and research of tetrodotoxin (TTX) on horseshoe crabs in waters of China. Master's Thesis of Guangdong Ocean University, 2012 [谢叶. 中国鲎工厂化育苗及关键生态与鲎河豚毒素研究. 广东海洋大学硕士研究生学位论文, 2012]
- Xu HL, Liu Y, Gu DX, et al. The relationship between morphometric traits and body weight in 4 species crab from Bohai Bay. Fisheries Science, 2014, 33(3): 142–146 [徐海龙, 刘杨, 谷德贤, 等. 渤海湾4种蟹类形态性状关系及对体质量的影响. 水产科学, 2014, 33(3): 142–146]
- Yan C, Gu ZF, Zhang HZ, et al. Correlation and path analysis of major quantitative traits of *Chlamys nobilis* in Sanya. South China Fisheries Science, 2012, 8(3): 34–38 [鄢朝, 顾志峰, 章华忠, 等. 华贵栉孔扇贝数量性状的相关性及通径分析. 南方水产科学, 2012, 8(3): 34–38]
- Yang HZ, Lin Y, Tang ZS, et al. The correlation and path analysis for growth-related traits of GIFT strain tilapia (*Oreochromis niloticus*). Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2011, 26(S1): 264–268 [杨慧赞, 林勇, 唐章生, 等. 吉富罗非鱼生长性状的相关与通径分析. 华北农学报, 2011, 26(S1): 264–268]
- Ye XY. Epic of horseshoe crabs. Pingdong: Taiwan Museum Marine Biology and Aquarium, 2011, 13–28 [叶欣宜. 瞻前顾鲎—从古文看鲎的文化与生物学. 鲎的史诗—台湾三棘鲎保育特展专刊. 屏东: 台湾海洋生物博物馆, 2011, 13–28]
- Zhang CS, Li FH, Xiang JH. Path analysis of effects of morphometric attributes on body weight of *Exopalaemon carinicauda*. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(6): 809–815 [张成松, 李富花, 相建海. 脊尾白虾形态性状对体质量影响的通径分析. 水产学报, 2013, 37(6): 809–815]
- Zhang JL, Wang QH, Deng YW, et al. Effects of morphological traits on the weight of *Meretrix lamarchii*. Progress in Fishery Sciences, 2014, 35(6): 110–113 [张嘉丽, 王庆恒, 邓岳文, 等. 斧文蛤(*Meretrix Lamarchii*)形态性状对体质量的影响效果分析. 渔业科学进展, 2014, 35(6): 110–113]

Effects of Morphological Characters on Body Weight of Artificially Bred the First Instars of Horseshoe Crabs (*Tachypleus tridentatus*)

BAO Yuyuan^{1,2}, YE Guoling^{1,3}, XIE Xiaoyong¹^①

(1. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key Laboratory of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangzhou 510300; 2. Shanghai Ocean University; Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education; National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education; Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai 201306; 3. College of Fisheries, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384)

Abstract *Tachypleus tridentatus* is a rare marine living fossil with immense economic and scientific research value. However, recently, over fishing and indiscriminate killing have led to a sharp decline in the number of horseshoe crabs. Artificial release proliferation is not only an important way to recover horseshoe crab populations, but also to protect biodiversity and promote the sustainable development of fishery. We conducted a preliminary study on artificial breeding of horseshoe crabs *T. tridentatus* in Zhanjiang, Guangdong Province from May to September 2018. When the water temperature was 28°C~32°C, salinity was 26~30, and pH was 7.4~7.8, 9 pairs of *T. tridentatus* laid 87130 eggs with a fertilization rate of 56%~68%. After 45 days, the embryos hatched into the first instars of juvenile *T. tridentatus*. The hatching rate was 92%, and 48268 *T. tridentatus* larvae were obtained. To study the correlation between phenotypic traits and body weight, five quantitative traits (carapace length X_1 , carapace width X_2 , carapace height X_3 , abdomen length X_4 , and body weight Y) of the first instars of *T. tridentatus*, 500 individuals were measured, and subjected to correlation analysis, multiple regression analysis, path analysis, and determination coefficient analysis. The results showed that there were considerable correlations ($P<0.01$) among the five measured traits. Path coefficients of various morphological traits for body mass reached a highly significant level ($P<0.01$), and the largest path coefficient was used in analyzing the width of the head and chest armor. This indicated that the width of the head and chest armor had the greatest direct effect on body mass. The trend of determination coefficient analysis was comparable to that of path analysis. The elevated total determination coefficient ($\Sigma d=0.863$) between phenotypic features and body weight indicated that the selected traits were practically useful. The multiple regression equation for estimating body weight was $Y=-0.228+0.248X_1+0.073X_2+0.333X_3+0.073X_4$. It indicates that the carapace width of the first instars of *T. tridentatus* has the greatest influence on body mass. Therefore, the width of cephalothorax should be the first choice in germplasm evaluation and seedling screening.

Key words *Tachypleus tridentatus*; Artificial propagation; Morphological trait; Correlation analysis; Path analysis

① Corresponding author: XIE Xiaoyong, E-mail: xyxie@scsfri.ac.cn