

文章编号:1674-7054(2010)01-0072-06

我国南海4个真曲巴非蛤自然种群的 形态差异分析

刘建勇, 孙成波, 李文, 吴继兴

(广东海洋大学水产学院, 广东湛江 524088)

摘要:采用3种多元分析方法,对我国南海区4个真曲巴非蛤种群的8个形态性状进行比较研究。聚类分析和主成分分析结果表明,广东湛江、海南海口和广东阳江种群的形态最接近,广西北海种群的趋异程度最大。主成分分析构建了2个主成分,贡献率:第1主成分为32.840%,第2主成分为26.106%,累积贡献率为58.945%。判别分析结果表明,4个种群间形态差异显著($P < 0.01$)。建立了4个种群的真曲巴非蛤的判别函数,判别准确率 P_1 为46.7%~100%, P_2 为40.5%~96.7%,而综合判别率为64.7%。Mantel检验结果表明,欧氏距离与地理直线距离无明显相关性($r = 0.0974$, $P = 0.5770$)。

关键词:真曲巴非蛤;自然种群;形态差异;多元分析

中图分类号: S 968.31

文献标志码: A

贝类物种数量仅次于节肢动物,为动物界第二大门^[1]。真曲巴非蛤(*Paphia euglypta*)是一种浅海经济贝类,在我国近海最北分布在浙江南部、南麂列岛、福建(平潭、围头湾外、章浦、东山湾)、广东(南澳、汕尾、海门、闸门)和南沙群岛^[2]。真曲巴非蛤肉味鲜美可口、营养丰富,因其具有生产成本低、周期短、经济效益大和管理容易等优点,故而为浅海增养殖的主要品种^[3-6]。近年来,随着外贸出口需求量的增加,加大了对*P. euglypta*的采捕压力,从而使渔区资源遭受严重破坏。目前,真曲巴非蛤的相关文献报道还比较少,国内学者对软体动物的形态差异分析的研究比较多^[7-9],但利用形态差异对真曲巴非蛤分类的研究尚未见报道。传统上通常采用形态描述法对贝类进行分类和鉴定,如通过测定壳长、壳高和壳宽等少数几个形态数量、性状和一些属性特征如贝壳颜色、纹理和形状等来进行简单的归类,而在一些形态相似的种类和种群鉴别上却往往显得无能为力^[10]。采用聚类分析等多元分析方法,操作简单,可以在较短时间内获得遗传多样性的基本信息,在此基础上结合分子生物学和传统遗传育种方法,不仅可以有效地降低研究周期,而且还可以节约大量的人力和财力,是极为有效的分析手段之一。笔者通过对广西北海、海南海口、广东湛江和广东阳江4个不同自然种群的真曲巴非蛤的8个形态性状差异进行比较研究,分别运用多变量形态度量学分析方法、多元统计(聚类分析、主成分分析、判别分析)方法、Mantel检验,探讨真曲巴非蛤种内形态差异特点与地理分化规律、地理直线距离与欧氏距离的关系,并建立判别函数,为真曲巴非蛤地理种群的识别、种质资源的保护和利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料 2007年8月,随机采集南海海区4个地方的样本,即广西北海(BH)、海南海口(HK)、广东湛江(ZJ)和广东阳江(YJ)。4个采集点各采30个样本,所有真曲巴非蛤均采用 $\varphi = 5\%$ 的福尔马林暂时保存带回实验室直接测量。样本采集地点分布见图1所示。

收稿日期: 2009-09-17

基金项目: 广东省科技计划项目(2007A0204500001)

作者简介: 刘建勇(1970-),男,河北唐山人,广东海洋大学水产学院副教授,博士。

通信作者: 孙成波(1970-),男,广东海洋大学水产学院副教授,博士。

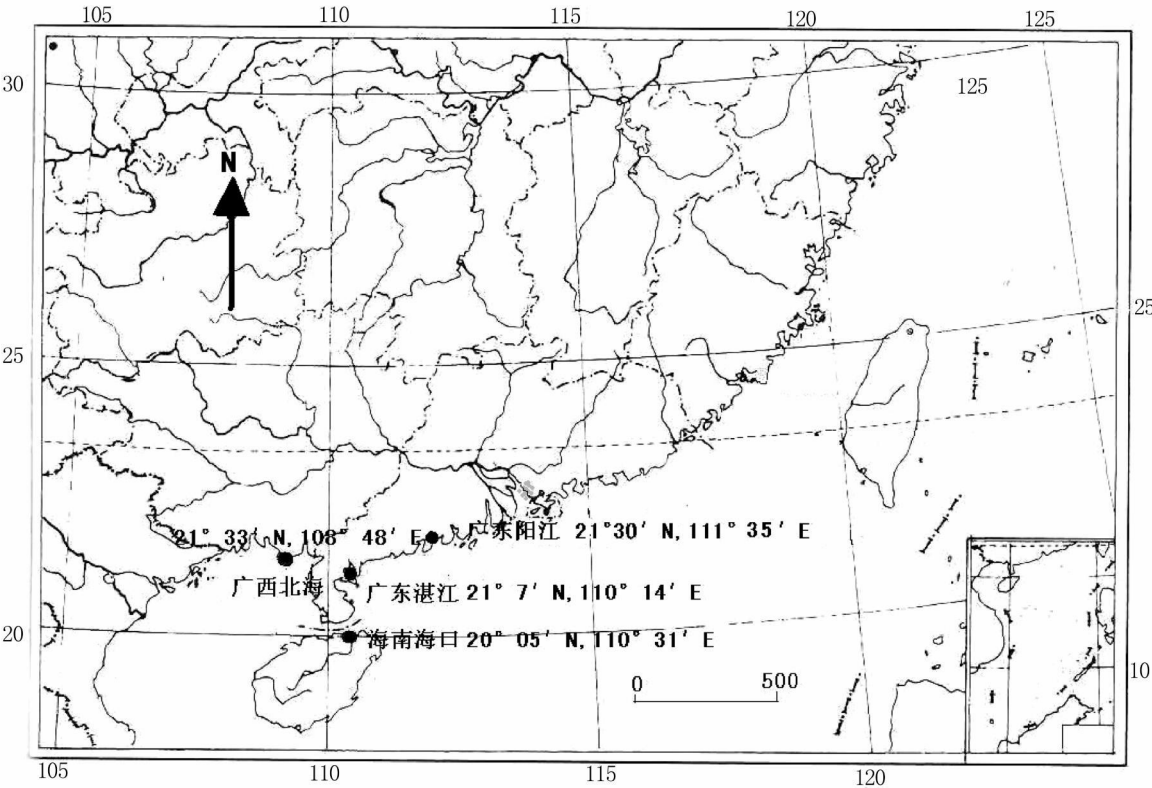


图 1 采集地点地理分布图

表 1 各采集点的真曲巴非蛤形态测量数据统计

种群形态性状	采集地点			
	广西北海	海南海口	广东湛江	广东阳江
壳长	45.95 ± 0.738	58.76 ± 0.829	60.49 ± 0.336	59.43 ± 0.595
壳高	30.48 ± 0.245	38.21 ± 0.162	39.49 ± 0.137	38.75 ± 0.161
壳宽	18.49 ± 0.109	23.95 ± 0.117	24.80 ± 0.115	24.30 ± 0.101
韧带长	14.15 ± 0.104	19.57 ± 0.173	19.52 ± 0.156	19.27 ± 0.152
小月面长	12.91 ± 0.102	15.37 ± 0.197	15.88 ± 0.081	15.43 ± 0.199
前端到腹缘	25.18 ± 0.621	28.94 ± 0.175	29.43 ± 0.190	28.98 ± 0.213
后端到腹缘	29.18 ± 0.302	37.86 ± 0.393	39.16 ± 0.208	38.22 ± 0.254
壳质量/g	11.21 ± 3.929	19.31 ± 3.076	21.76 ± 8.998	20.43 ± 7.437

注:样品数目均为 30 只。

1.2 测量方法 采用游标卡尺、直尺等,精确到 0.02 mm,测量壳长(KC)、壳宽(KK)、壳高(KG)、韧带长(RC)、小月面长(YC)、前端到腹缘(QF)、后端到腹缘(HF),使用千分天平称壳质量(KZ),共测得 960 个形态学数据,统计数据见表 1,测量部位见图 2,图中各字母组合代表的意义见表 2 所示。

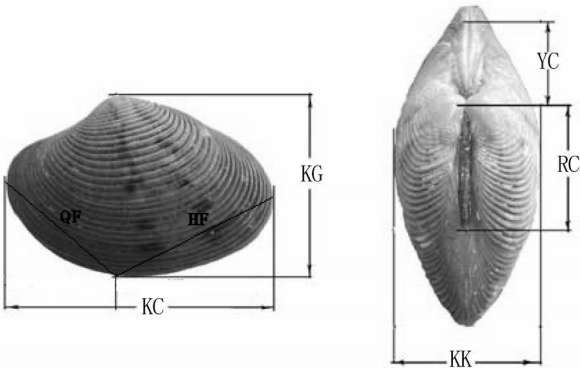


图 2 真曲巴非蛤的形态测量

表 2 真曲巴非蛤形态性状的文字描述

种群形态形状	性状描述
壳长(KC)	贝壳前端到后端的之间最长距离
壳高(KG)	穿过顶点与壳长垂直到腹缘之间的距离
壳宽(KK)	两贝壳凸起面高点之间的距离
韧带长(RC)	壳顶部韧带的全长
小月面长(YC)	小月面最长的两点之间的距离
前端到腹缘(QF)	前端到腹缘之间的距离
后端到腹缘(HF)	后端到腹缘之间的距离
壳质量(KZ)	去除软体部分,吸干表面水分后的壳湿质量

1.3 数据处理 使用 SPSS For win 11.0 软件进行数据处理,采用聚类分析、主成分分析和判别分析 3 种多元分析方法对 4 个种群进行形态差异分析。

1.3.1 聚类分析 为消除壳体规格大小对参数值的影响,先将每只真曲巴非蛤的所有参数分别除以壳长予以校正,得出 7 个形态学比例性状,再分别求出各组样本每个参数校正值的平均值,用平均值进行聚类分析。所采用的聚类方法为欧式距离的最长系统聚类法。

1.3.2 主成分分析 为将多个指标作为小数指标的统计方法,所有数值处理用聚类分析方法进行校正,通过计算机程序从 7 个比例性状中得出 2 个综合性指标,即互不关联的 2 个主成分。主成分贡献率和累计贡献率的计算参照文献[11]的方法。

1.3.3 判别分析 对所有参数进行校正的方法参照文献[12]的方法,对所有的样本进行逐个判别。判别准确率的计算公式为:

$$\text{判别准确率 } P_1 = \text{判别正确的巴非蛤数} / \text{实测巴非蛤数} \times 100\%$$

$$\text{判别准确率 } P_2 = \text{判别正确的巴非蛤数} / \text{判别巴非蛤数} \times 100\%$$

$$\text{综合判别率} = \sum_{i=1}^k A_i / \sum_{i=1}^k B_i,$$

式中, A_i 为第 i 个种群判别正确的真曲巴非蛤数, B_i 为第 i 个种群实际判别的真曲巴非蛤数, k 为种群数。

1.3.4 相关分析 为了消除真曲巴非蛤规格大小对参数值的影响,先将每个真曲巴非蛤的所有参数分别除以壳长来校正,得出 7 个形态学性状比例,再分别求出各组样本的每个参数校正值的平均值,通过 SPSS. 10.0 进行相关分析中的距离分析,得出欧氏距离,并结合每个采样地点的地理距离,通过 TFPGA 软件对欧氏距离和地理距离进行两数值的相关分析。

2 结 果

2.1 聚类分析 4 个种群的真曲巴非蛤聚类分析如图 3 所示。

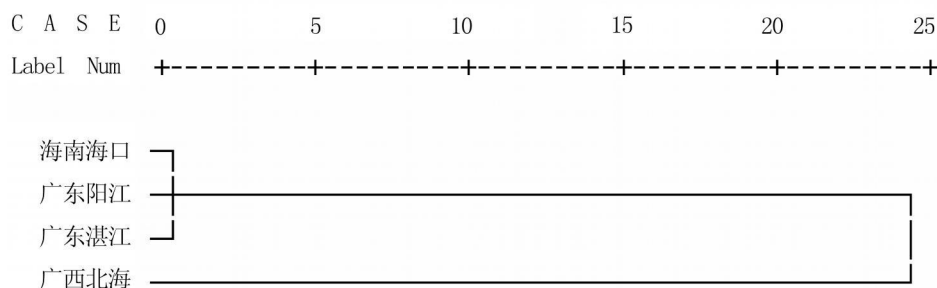


图 3 4 个种群的真曲巴非蛤聚类分析

由图 3 可见,广东湛江、广东阳江和海南海口的种群的距离较短,形态都比较接近,而广西北海的种群与前三者相比,其种群的趋异程度最大。

2.2 主成分分析 真曲巴非蛤形态特征的主成分的负荷值和贡献率由表 3 可见,贡献率:第一主成分为 32.840%,第二主成分为 26.106%,累积贡献率为 58.945%。2 个主成分可以解释不同种群之间的形态差异的 58.945%。在第一主成分中, KG/KC 的影响最大,其贡献率为 85.5%, KK/KC 与 HF/KC 的贡献率也分别达到 72.4% 和 70.2%;第二主成分中 KZ/KC 的影响最大,贡献率达 77.4%;但按照累计贡献率大于或等于 85% 的要求,第二主成分的累计贡献率仅达到 58.945%,说明真曲巴非蛤不宜用几个相互独立的因子来概括不同种群间的形态差异。第一和第二主成分的散布图见图 4 所示。

2.3 判别分析 对 4 个种群的 7 个性状比例进行逐步判别分析,结果表明,判别效果较好,说明不同种群之间形态差异显著 ($P < 0.01$)。判别分析结果见表 4。判别准确率 P_1 为 46.7% ~ 100%。判别分析准确率 P_2 为 40.5% ~ 96.7%,4 个种群的综合判别率为 64.7%。

表 3 真曲巴非蛤形态特征的主成分的负荷值和贡献率		
变 量	负 荷 值	
	第一主成分	第二主成分
KG/KC	0.855	-7.450E-02
KK/KC	0.724	0.416
RC/KC	0.354	0.298
YC/KC	0.473	-0.564
QF/KC	0.449	-0.731
HF/KC	0.702	0.329
KZ/KC	2.809E-02	0.774
主成分值	2.299	1.827
贡献率	0.328 40	0.261 06
累计贡献率	0.328 40	0.589 45

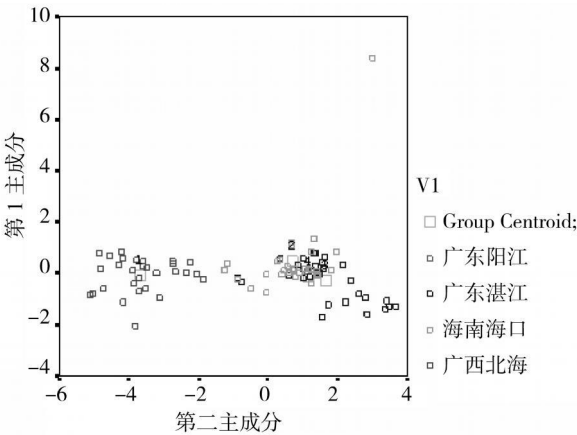


图 3 4 个种群的真曲巴非蛤主成分分布散点

通过逐步判别分析,筛选出 7 个性状的特征值并建立了 4 个种群的真曲巴非蛤的判别函数。为了避免个体大小对形态度量指标的影响,用度量指标除以壳长作为判别的特征值,式中的 X_1, X_2, X_3 分别代表韧带长/壳长、前腹/壳长、壳质量/壳长等 3 个性状。表 4 为判别函数的各项系数及常数项。4 个种群的判别公式如下:

$$Y_{BH} = 168.971 \quad X_1 + 853.173 \quad X_2 + 249.201 \quad X_3 - 258.272$$
$$Y_{HK} = 208.168 \quad X_1 + 705.959 \quad X_2 + 10.180 \quad X_3 - 227.976$$
$$Y_{ZJ} = 194.326 \quad X_1 + 681.465 \quad X_2 + 13.467 \quad X_3 - 222.660$$
$$Y_{YJ} = 194.692 \quad X_1 + 692.080 \quad X_2 + 11.813 \quad X_3 - 222.144$$

表 4 4 个种群的真曲巴非蛤形态差异判别函数的各项系数及常数项

变 量	广西北海	海南海口	广东湛江	广东阳江
X_1	168.971	208.168	194.326	194.692
X_2	853.173	705.959	681.465	692.080
X_3	-1.523	10.180	13.467	11.813
常数	-258.272	-227.976	-222.660	-222.144

4 个种群的真曲巴非蛤判别分析结果如表 5 所示。

表 5 4 个种群的真曲巴非蛤判别分析结果

种群采集点	样本数目/个	判别准确率/%		预测分类			
		P_1	P_2	BH	HK	ZJ	YJ
广西北海	30	100	96.7	29	0	0	0
海南海口	30	63.3	52.8	0	19	2	9
广东湛江	30	46.7	53.8	0	7	14	9
广东阳江	30	50	40.5	0	8	7	15
合 计	120		64.7	29	34	23	33

2.4 相关分析 使用 Google Earth 软件测量不同自然种群间的地理距离,使用 SPSS For Win 11.0 计算得出不同自然种群间的欧氏距离,计算结果见表 6。

表 6 真曲巴非蛤自然种群间的直线距离与欧式距离矩阵

种群采集点	广西北海	海南海口	广东湛江	广东阳江
广西北海		205.50	136.63	301.00
海南海口	0.864		127.54	264.77
广东湛江	1.165	0.302		182.03
广东阳江	1.010	0.146	0.156	

为了检测种群间的欧氏距离与地理距离的相关性,运用 TFPGA 程序进行了 Mantel 检验^[13],结果表明,各种群间的地理距离与欧氏距离之间没有显著相关性($r = 0.097\ 4$, $P = 0.577\ 0$)。

3 讨 论

贝类壳色、花纹等作为可遗传的性状,与贝类的生活环境、生长状态等因素密切相关,在某些类群中可以作为形态辨别的辅助依据,但笔者观察的 4 个不同自然种群的真曲巴非蛤贝壳表面均没有明显的花纹,并不能从壳色、花纹中明显地区分。而且壳色是否可以作为真曲巴非蛤自然种群的鉴别依据之一,还有待更大量的观察统计才能获得进一步的结论。

本实验通过对广西北海、海南海口、广东湛江和广东阳江 4 个不同地理的种群的 8 个形态差异进行比较研究,分别运用形态学分析方法和聚类分析、主成分分析、判别分析 3 种多元分析方法,探讨 *P. euglypta* 种内形态差异特点与地理分化规律,并建立判别函数,为真曲巴非蛤地理种群的识别、种质资源的保护和利用,以及生产实践提供科学依据。

从判别分析结果来看,判别准确率 P_1 为 46.7% ~ 100%, P_2 为 40.5 ~ 96.7%,而综合判别率为 64.7%,判别率偏低的原因,一方面是由于这种形态判别为种内判别,都属于真曲巴非蛤这个种内。

聚类分析结果中,广东阳江、广东湛江和海南海口的种群形态最相近,而广西北海的种群与前三者相比,其种群的趋异程度最大。真曲巴非蛤迁移能力较差,对生态环境的依赖性较强,因而由地理差异所致的真曲巴非蛤的栖息环境条件的不同可能对真曲巴非蛤的形态造成一定的影响。这种差异可能是由地理差异所致栖息环境条件不同而造成的,也可能是由于地理条件和生态环境上的较大差异而导致了地理隔离和生殖隔离。

在主成分散布图中可以看到广西北海种群的趋异程度最大的结果。从 4 个种群的主成分散布图还可以看出,广东阳江、广东湛江及海南海口的种群存在较大的重叠区域,这表明 3 个种群形态基本相似,而非重叠区域则表明其差异程度。因形态特征是由遗传因子与环境因子共同作用的结果,而地理屏障可使一个种群与同种的另一种群存在某种程度的地理分隔,从而在形态、生理甚至遗传上形成一定的差异。种群间的遗传相似性是由基因交流、选择和进化习惯造成的,遗传多样性是每种生物所固有的特性,它是长期适应环境与进化的产物,遗传多样性越高则意味着适应生存能力越强,蕴含着比较丰富的育种和遗传改良能力^[14]。4 个地理种群的聚类分析和主成分分析的结果基本一致,表明它们在形态上既相似,又有一定程度的差异。聚类分析结果和主成分分析结果均表明广西北海的种群与其他自然的种群距离较远,可能已经形成了一个地理种群。尤仲杰等在中国沿海西施舌 5 个自然种群形态差异和 RAPD 分析中,指出由于广西北海地理环境特殊,西施舌可能已经形成一个地理种群^[15]。

广东湛江与海南海口之间有琼州海峡以及北海有雷州半岛的间隔,理论上三地间真曲巴非蛤基因交流的频率较低,而聚类分析的结果表明,广东湛江、广东阳江与海南海口的种群之间的差异远比与广西的北海小,造成这一结果可能另有原因。事实上,湛江和海南作为海水养殖发达地区,与我国各地海区存在大量的水产品引种、贸易以及增养放流等活动,不仅可能使各地养殖种群间基因交流的机会增多,还可能由于养殖品种向自然环境的释放而增加了种群间基因交流的概率。另一方面也说明了用形态参数进行聚类分析存在着误差,仅采用贝类的形态指标还不能完全反映其地理分布特性^[16],本实验采集的海区及样品也比较少,如果结合其他生物学证据,如遗传学数据更能反映种群间的遗传关系,其结果会更加准确。因此,要完全分析清楚各海区真曲巴非蛤的种群的形态、遗传等关系,还要结合分子生物学等手段。

在生态条件上,广东阳江海域属于亚热带海域,广东湛江、广西北海和海南海口属于热带海域,刘必谦和戴继勋用 RAPD 对大连湾牡蛎的研究,认为温度是造成遗传多样性的主要原因^[17]; Sarver 和 Bushek 等研究发现贻贝种群的分布与温度和盐度有密切的关系^[18]。在底质性质上,海南海口沿岸属于粉砂淤泥质,广东湛江、广西北海沿岸属于红树林砂质或淤泥质,广东阳江沿岸属于基岩砂质或淤泥质,不同海域所造成的生长温度和栖息的底质等不同,以及它们生活的不同海区的盐度和饵料等存在着一定差异从而导致了形态的差异。广西北海由于受卡斯特地貌的影响,入海河流的淡水中富含多种矿物质,这是其他几个海区所不具有的天然条件,是否因此而造成该区域的真曲巴非蛤在形态上的趋异程度加大尚有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 蔡英亚, 张英, 魏若飞. 贝类学概论[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1979:1-9.
- [2] 庄启谦. 中国动物志[M]. 北京:科学出版社, 2001:187-189.
- [3] 徐凤山. 中国海双壳类软体动物[M]. 北京:科学出版社, 1997:218.
- [4] 王万东. 浅议巴非蛤属性和管养增殖技术[J]. 渔业致富指南, 2005(19):30.
- [5] 迟淑艳, 周歧存, 周健斌, 等. 华南沿海5种养殖贝类营养成分的比较分析[J]. 水产科学, 2007, 26(2):79-83.
- [6] 叶鹏, 蔡厚才, 庄定根, 等. 南麂海区野生贝类增殖种类初步筛选[J]. 渔业现代化, 2006(4):26-28.
- [7] 钱荣华, 李家乐, 董志国, 等. 中国五大湖三角帆蚌形态差异分析[J]. 海洋与湖沼, 2003, 34(3):436-443.
- [8] 张永普, 林志华, 应雪萍, 等. 不同地理种群泥蚶的形态差异与判别分析[J]. 水产学报, 2004, 28(3):339-342.
- [9] 冯建彬, 李家乐, 王美珍, 等. 我国四海区不同群体文蛤形态差异与判别分析[J]. 浙江海洋学院学报, 2005, 24(4):318-323.
- [10] 李思发, 李晨虹, 李家乐. 尼罗罗非鱼品系间形态差异分析[J]. 动物学报, 1998, 44(4):450-457.
- [11] 张尧庭, 方开泰. 多元分析统计引论[M]. 北京:科学出版社, 1982:393-404.
- [12] BRZESKI V J, A DOYLE R W. A morphometric criterion for sex discrimination in tilapia[C]//The Second International Symposium on tilapia in Aquaculture: ICLARM Conference Proceeding. Department of Fisheries, Bangkok, Thailand and International Center of Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines, 1988:439-444.
- [13] MILLER M P. Tools for Population Genetic Analysis (TFPGA) version 1.3. Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, Flagstaff. 1997.
- [14] 汪桂玲, 袁一鸣, 李家乐. 中国五大湖三角帆蚌群体遗传多样性及亲缘关系的 SRS 分析[J]. 水产学报, 2007, 31(2):152-158.
- [15] 尤仲杰, 包永波, 张爱菊. 中国沿海西施舌5个自然群体形态差异和 RAPD 分析[J]. 海洋学报, 2007, 29(3):88-104.
- [16] 么宗利, 周凯, 来琦芳, 等. 我国5个青蛤地理群体形态差异分析[J]. 海洋水产研究, 2007, 28(2):63-70.
- [17] 刘必谦, 戴继勋. 巨蜆属牡蛎遗传多样性研究[J]. 水产学报, 1998, 22(3):193-197.
- [18] SARVER S K, BUSHEK D. Genetics aspects of disease complex of bule mussel[M]. Mar Biol. 1993, 117:105-112.

Morphological Variations Analysis of Different Populations of *Paphia euglypta* Along South China Sea

LIU Jian-yong, SUN Cheng-bo, LI Wen, WU Ji-xing

(Fisheries College of Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: Three multivariation analysis methods (cluster analysis, principal component analysis and discriminate analysis) were used to compare the morphological characters of four populations of *Paphia euglypta* in Yangjiang, Zhanjiang, Haikou and Beihai. The results of clusters analysis and principal component analysis indicated that the morphological characters were similar among the populations in Yangjiang, Zhanjiang and Haikou, but quite different from that of Beihai. In the principal component analysis, two principal components were constructed, the contributory ratio of the first principal component was 32.840%, that of the second principal component was 26.106%, and the cumulative contributory ratio was 58.945%. The results of discriminant analysis revealed that there were significant differences among the four populations ($P < 0.01$). The identification accuracy was 46.7% ~ 100% (P_1) and 40.5% ~ 96.7% (P_2). The total discriminant accuracy was 64.7%. The Mantel test results showed that Euclidean distance was positively correlated with geographical distance ($r = 0.0974$, $P = 0.5770$).

Key words: *Paphia euglypta*; population; morphological variation; multivariation analysis