文章编号:1674 - 7054(2010)04 - 0331 - 06

基于数量分类学的海南产芋螺多样性研究

邴　晖,于海鹏,胡远艳,朱晓鹏,长孙东亭, 罗素兰
(热带生物资源教育部重点实验室(海南大学),海南 海口 570228)

摘　要:利用 NTsys-pc 2.10e 软件对 20 种海南产芋螺的 27 个性状特征分别进行了 Q 型聚类分析、R 型聚类分析和主成分分析,据此对芋螺的多样性进行了研究。结果表明,利用 Q 型聚类分析可将 20 种海南产芋螺分为二大组 3 个亚组;利用 R 型聚类分析可将 27 种性状特征分为 2 个大组;主成分分析反映出芋螺分类的重要特征是贝壳大小、内唇和壳口特征;基于芋螺前 3 位主成分基础上的三维图与聚类分析结果图一致。聚类分析树状图较好地反映了 20 种芋螺之间的亲缘关系,R 型聚类分析与主成分分析相结合有助于选择关键而重要的芋螺分类特征。

关键词:芋螺属;聚类分析;主成分分析;分类
中图分类号:N 37　　**文献标志码**:A

芋螺(又称鸡心螺)是一类生活在热带海洋中的古老生物,在分类学上属于软体动物门(Molluse)腹足纲(Gastropoda)前鳃亚纲(Prosobranchia) 新腹足目(Neogastropoda)芋螺科(Conidae)。芋螺科动物种类繁多,全世界约有 500 多种,中国近海约有 70 余种,主要分布在中国的西沙群岛、海南岛和台湾岛等热带海区[1-2]。芋螺具有食肉习性,以鱼、贝、虫等为食物。芋螺分泌的芋螺毒素遗传多样性非常丰富,芋螺毒素具有调节各种离子通道的特性,芋螺毒素生物活性强,对特定靶位的选择性高,在药理学和神经科学等方面具有重要的研究价值和药物开发潜力,因而受到了世界各国研究人员的广泛关注,并对其进行了大量研究,且进展迅猛[3-11]。随着科学研究的深入,越来越多芋螺物种所具有的奥秘将被挖掘出来,但对芋螺的分类学研究远跟不上这种步伐。为确保所研究物种的真实性,有必要深入开展芋螺分类学基础研究,揭示芋螺的多样性特征。

数量分类学作为分类系统学方法的重要组成成分,在近年来的研究中得到了广泛的应用。数量分类学以形态学性状为基础,利用数学方法和 SAS,Spass,NTsys-pc,DPS,Matlab 等计算软件来实现,使分类结果更加精密、准确,从而为生物分类研究提供了客观依据,是一类值得信赖的分类工具[12-16]。目前,尚未见有关对芋螺进行数量分类研究的报道,笔者在本实验室对海南沿海各地采集的 20 种芋螺标本进行形态特征描述的基础上,利用 NTsys-pc 2.10e 软件对其进行数量分类学研究,揭示其种间亲缘关系,旨在为芋螺的科学分类及芋螺毒素药物的开发等奠定基础[17]。

1　材料与方法

以 20 种海南产芋螺属物种为分类单元(OTU),见表 1。分类所依据的性状分为数量性状和定性性状 2 部分,数量性状通过测量尺等工具测量完成,并计算出相关比例。将定性性状分为二态和多态,采用二元编码和多元编码将性状编码和数量性状数据一起构成原始数据矩阵,性状特征及编码见表 2。

收稿日期:2010 - 09 - 17
基金项目:国家自然科学基金(30860368);重大新药创制国家科技重大专项课题(2009ZX09103 - 644);国家 863 计划(2007AA02Z114)
作者简介:邴晖(1985 -),女,湖北武汉人,海南大学材料与化工学院 2008 级生物化工专业硕士研究生.
通信作者:罗素兰(1969 -),女,海南大学海洋学院教授,博士,硕士生导师. E-mail: luosulan2003@163.com

表 1 海南产 20 种芋螺的中文名、拉丁学名及其分布范围

代码	中文名	拉丁学名	分布范围
1	花冠芋螺	*Conus coronatus* Gmelin	印度 – 太平洋海域等浅海
2	线纹芋螺	*C. striatus* Linnaeus	热带浅海
3	橡木芋螺	*C. quercinus* Lightfoot	热带沿岸浅海
4	假玉女芋螺	*C. emaciatus* Reeve	热带浅海
5	疣缟芋螺	*C. lividus* Hwass	热带浅海
6	桶形芋螺	*C. betulinus* Linnaeus	热带及日本低潮线以下
7	大尉芋螺	*C. capitaneus* Linnaeus	热带浅海
8	帝王芋螺	*C. imperialis* Linnaeus	热带浅海
9	黑芋螺	*C. marmoreus* Linnaeus	热带浅海
10	将军芋螺	*C. generalis* Linnaeus	热带浅海
11	玉女芋螺	*C. virgo* Linnaeus	热带浅海
12	加勒底芋螺	*C. chaldaeus* Roding	热带浅海
13	信号芋螺	*C. litteratus* Linnaeus	热带浅海
14	菖蒲芋螺	*C. vexillum* Gmelin	热带浅海
15	独特芋螺	*C. caricteristicus* Fischer	热带浅海
16	斑疹芋螺	*C. pulicarius* Hwass	热带、美洲浅海
17	豹芋螺	*C. leopardus* Roding	热带浅海
18	勇士芋螺	*C. miles* Linnaeus	热带浅海
19	烧焦芋螺	*C. consors* Sowerby	热带浅海
20	织锦芋螺	*C. textile* Linnaeus	热带浅海

聚类方法步骤是将所得数据矩阵用 NTsys-pc Version 2.10e 进行处理。首先将原始数据用 Standardization 子程序进行标准化，标准化后的矩阵用 Similarity 子程序中的 Interval Data 求得距离矩阵，用 Clustering 程序中的 SAHN 子程序下的 UPGMA（Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean）和 Complete 方法对其进行 Q 型分析聚类，即得分类运算单位的聚类图，同时重复上述步骤对性状进行聚类，得到 R 型分析聚类图。

表 2 海南产 20 种芋螺的特征及其编码

性状代码	性状特征	性状编码
1	贝壳个体大小	较小(0)、中等(1)、较大(2)
2	贝壳形状	圆锥形(0)、卵圆形或筒状(1)、纺锤形(2)
3	壳质	薄(0)、较厚(1)
4	壳质	轻(0)、重，坚实(1)
5	壳高	具体数值
6	壳宽	具体数值
7	壳高/壳宽	具体数值
8	螺旋部高度	具体数值
9	螺旋部缝合线	具体缝合线条数数目，如不明显(0)
10	体螺层螺纹	无螺纹或不明显(0)、螺纹较稠密(1)
11	体螺层高度	具体数值
12	体螺层高度/螺旋部高度	具体数值
13	体螺层脊或螺肋	不明显(0)、较明显(1)
14	肩部突起	不明显(0)、较明显(1)、很明显(2)
15	体螺层肩部	窄(0)、宽(1)
16	壳面颜色	白色(0)、米黄色/灰色(1)、红褐色(2)
17	壳面斑纹饰颜色	白色(0)、紫灰色(1)、红褐色(2)、无(3)无斑纹(3)
18	螺旋部斑纹颜色	白色(0)、灰色(1)、紫红褐色(2)无颜色(3)
19	壳口宽窄情况	较窄、狭长(0)、宽(1)
20	内唇扭曲与否	扭曲(0)、不扭曲(1)
21	壳口内面颜色	白色(0)、黄色(1)、红紫褐色(2)
22	所含毒素毒性大小	较弱(0)、中等(1)、最强(2)
23	分布范围	只分布热带(0)、亚热带、温带分布(1)
24	缝合线深浅程度	浅(0)、深(1)
25	螺旋部与体螺层关系	低矮于体螺层(0)、高出体螺层(1)
26	壳外被茸毛与否	无茸毛(0)、有茸毛(1)
27	壳外被壳皮与否	无壳皮(0)、有壳皮(1)

主成分分析方法步骤是将原始数据用 Standardization 子程序将变量进行标准化，标准化后的矩阵用 Similarity 子程序 Qualitative data 求变量间的相关系数，再用 Ordination 中的 Eigen 子程序求 Eigenvectior 和 Eigenvalue，得到基于芋螺分类性状的主成分分析三维图。

2　结果与分析

2.1　20 种芋螺 Q 型聚类分析的结果　经过对几种不同的距离系数（Distance，Varcov，Euclid，Distsq）和聚类方法（UPGMA，Complete）进行比较后，发现以 Varcov 系数，UPGMA 聚类方法聚类结果比较理想，其聚类图如图 1 所示。

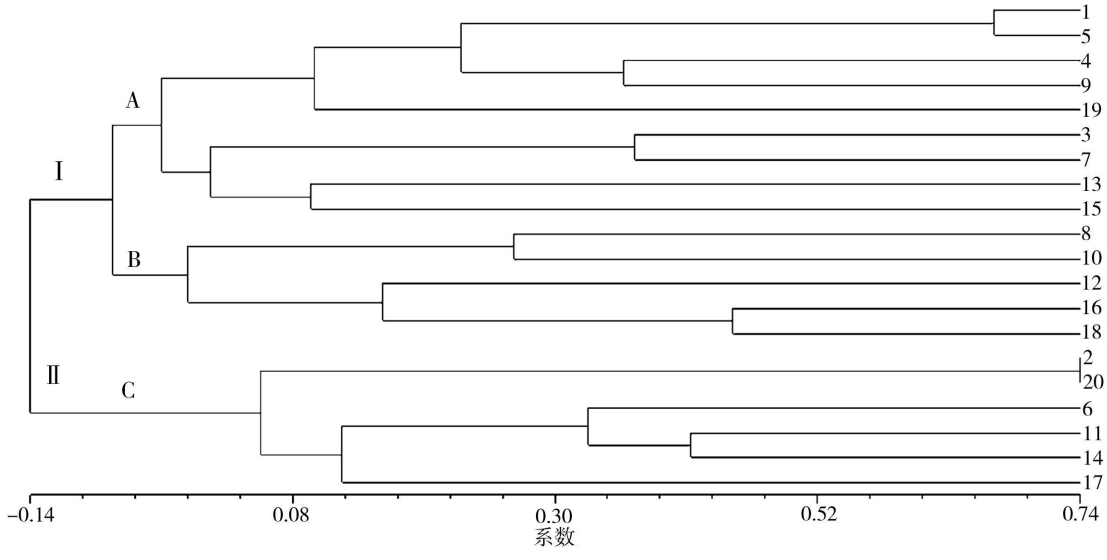

图 1　20 种芋螺的 Q 型分析聚类图（图中代码所示物种见表 1）

根据 20 种海南产芋螺的 Q 型聚类分析结果，可以将 20 种芋螺分为二大组 3 个亚组（图 1），第一大组Ⅰ组，根据距离系数分为 A 和 B 亚组，A 亚组有 5 种，分别为帝王芋螺 *C. imperialis*，将军芋螺 *C. generalis*，加勒底芋螺 *C. chaldaeus*，斑疹芋螺 *C. pulicarius* 和勇士芋螺 *C. miles*；B 亚组 9 种，分别为花冠芋螺 *C. coronatus*，疣缟芋螺 *C. lividus*，假玉女芋螺 *C. emaciatus*，黑芋螺 *C. marmoreus*，烧焦芋螺 *C. consors*，橡木芋螺 *C. quercinus*，大尉芋螺 *C. capitaneus*，信号芋螺 *C. litteratus*，独特芋螺 *C. caricteristicus*。第二大组Ⅱ组，仅有 C 亚组，共有 6 种，分别为线纹芋螺 *C. striatus*，织锦芋螺 *C. textile*，桶形芋螺 *C. betulinus*，玉女芋螺 *C. virgo*，菖蒲芋螺 *C. vexillum*，豹芋螺 *C. leopardus*。

在 C 亚组中，毒性最强的线纹芋螺 *C. striatus*，织锦芋螺 *C. textile* 聚为一类，另外，桶形芋螺 *C. betulinus*，玉女芋螺 *C. virgo*，菖蒲芋螺 *C. vexillum*，豹芋螺 *C. leopardus* 与这 2 种关系较为密切。各亚组与其毒液的毒性大小之间的关系有待进一步通过实验来检验。

2.2　各种芋螺 27 种性状的 R 型聚类分析结果　通过对 27 种芋螺性状进行 R 型聚类分析，以 Varcov 距离系数，UPGMA 方法聚类，其结果见图 2。

根据芋螺 27 种性状 R 型聚类分析结果，可将 27 种性状分为二大类，其中壳宽、螺旋部缝合线、体螺层高度/螺旋部高度的比值聚为一类，其余 24 种性状特征聚为一类。在这 24 种性状特征中，其距离系数差异较小，亲缘关系较近。

2.3　主成分分析　对 20 种芋螺的 27 个性状特征进行主成分分析后，其前 3 位主成分特征向量如表 3 所示。芋螺性状特征前 9 位主成分的特征值、贡献率及累计贡献率见表 4。基于芋螺性状特征的主成分分析获得了三维图（图 3）。

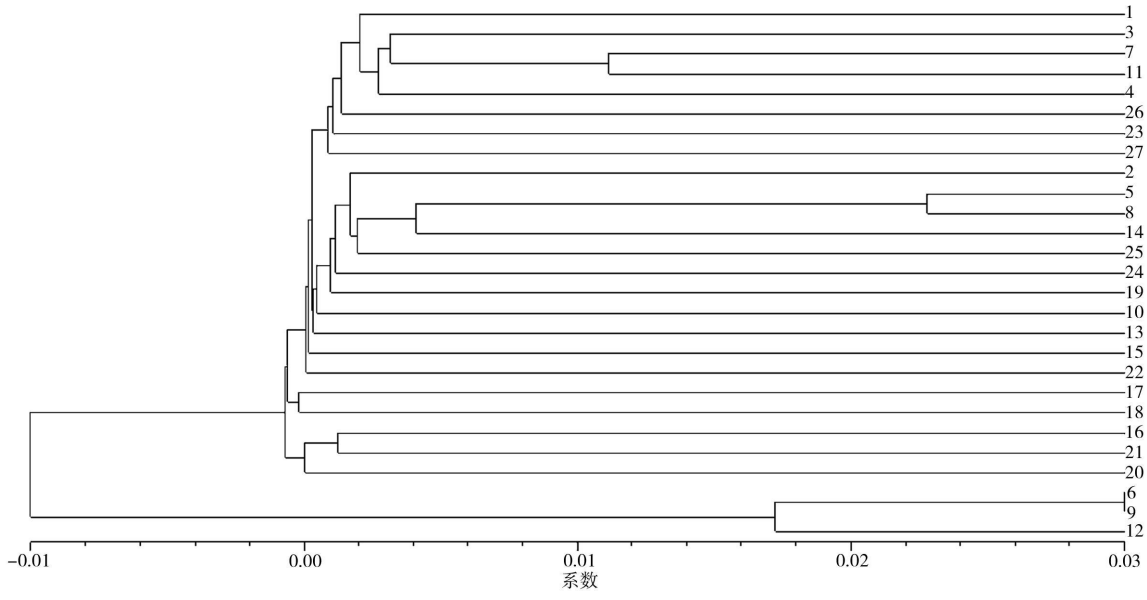

图 2 各种芋螺 27 种性状的 R 型分析聚类图(图中代码所代表性状见表 2)

表 3 芋螺性状特征前 3 位主成分特征向量

性状特征	第一主成分特征向量	第二主成分特征向量	第三主成分特征向量
贝壳个体大小	8.15	4.03	
贝壳形状	5.20	-3.50	-1.58
壳质薄厚	4.55	7.05	4.85
壳质轻重	4.55	7.05	4.85
壳高	8.76	2.27	1.39
壳宽	5.48	4.44	-5.45
壳高/壳宽	3.63	1.77	6.89
螺旋部高度	7.35	-4.24	3.33
螺旋部缝合线	3.44	2.20	-3.45
体螺层螺纹	1.30	-4.62	-2.93
体螺层高度	8.38	2.97	1.43
体螺层高度/螺旋部高	-6.55	3.80	-1.91
体螺层脊或螺肋	-3.61	-6.88	2.65
肩部突起	-4.69	-1.33	3.94
体螺层肩部	1.22	6.11	3.50
壳面颜色	-4.52	3	-2.25
壳面斑纹饰颜色	3.57	-3.84	-3.19
螺旋部斑纹颜色	3.95	-1.59	-1.12
壳口宽窄情况	2.81	-1.47	3.75
内唇扭曲与否	-6.36	2.04	-1.92
壳口内面颜色	-5.47	6.95	3.29
所含毒素毒性大小	4.39	-1.61	-3.53
分布范围	1.32	-3.55	6.47
缝合线深浅程度	4.93	-4.9	-2.27
螺旋部与体螺层关系	4.82	-4.99	3.68
壳外被茸毛与否	-2.08	-1.83	-2.33
壳外被壳皮与否	1.46	6.03	5.73

表 4　芋螺性状特征前 9 位主成分的特征值、贡献率及累计贡献率

主成分	1	2	3	4	5	6	7	8	9
特征值	6.19	3.54	2.92	2.76	2.37	2.11	1.82	1.10	1.04
贡献率/ %	22.92	13.12	10.82	10.22	8.78	7.81	6.75	4.09	3.83
累计贡献率/ %	22.92	36.04	46.86	57.08	65.86	73.67	80.43	84.52	88.35

根据 27 种性状指标的主成分分析结果得知(表 3 和表 4),前 8 个主成分累计贡献率为 84.52%,第一主成分贡献率为 22.92%,特征向量绝对值较大的性状是贝壳个体大小、贝壳形状、壳高、壳宽、螺旋部高度、体螺层高度、体螺层高度/螺旋部高度、内唇扭曲与否、壳口内面颜色,它们的特征向量绝对值在 5.2 以上,主要反映的是贝壳大小、内唇和壳口特征。第二主成分贡献率为 13.12%,特征向量绝对值较大的性状是壳质薄厚、壳质轻重、体螺层脊或螺肋是否明显、体螺层肩部宽窄、壳外是否被有壳皮,它们的特征向量绝对值在 6.0 以上,主要反映的是贝壳质地及脊或螺肋情况。第三主成分贡献率为 10.82%,特征向量绝对值较大的性状是壳高/壳宽、世界分布范围等,它们的特征向量绝对值在 6.4 以上,主要反映的是有关比例及分布情况等。从基于芋螺性状的前 3 位主成分基础上的三维图可将 20 种芋螺分为 2 组,即线纹芋螺、织锦芋螺、桶形芋螺、玉女芋螺、菖蒲芋螺、豹芋螺为一组,其余的 14 种芋螺为另一组;虽然前 3 位主成分的累计贡献率只有 46.86%,但其主成分分析基于芋螺特征的三维图分组结果与聚类分析树状图分组结果基本相符。

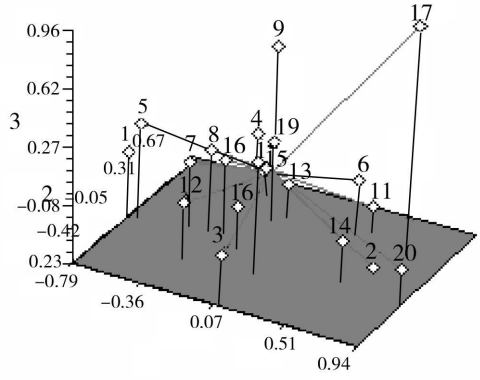

图 3　基于芋螺性状特征的主成分分析三维图
(图中代码所示物种见表 1)

3　讨　论

主成分分析是一种有效的多元分析方法,在很多生物种质资源多样性研究中得到应用。与聚类分析相比,主成分分析有很大不同,其以严格的数学理论为依据。本文以前 3 位主成分分析的结果与芋螺传统外观形态分类所依据的特征进行比较,其结果大致相符,如第一主成分所反映的贝壳个体大小、贝壳形状、壳高、壳宽、螺旋部高度、体螺层高度、体螺层高度/螺旋部高度、内唇扭曲与否、壳口内面颜色等特征是芋螺种所特有,那么,在个体之间变化很小,则是芋螺传统分类所利用的重要特征。然而,花纹、缝合线等芋螺分类所依赖的特征没有反映在其中,说明它们在芋螺种类的区分上处于较为次要的地位。另外,芋螺几大主成分直到前 8 位累计贡献率才达到 84.52%,且数量变化较规律,因此在分类时,为了更加客观地反映各种芋螺的亲缘关系,需要综合利用各种特征进行分析。

本试验通过海南产 20 种芋螺的聚类分析,构建出了它们的亲缘关系图谱,并利用芋螺的外观性状特征将 20 种芋螺分为二大组 3 个亚组,其结果能够良好地说明 20 种芋螺物种之间的亲缘关系。在 27 种芋螺 R 型性状聚类分析中,壳宽、螺旋部缝合线、体螺层高度与螺旋部高度的比值聚为一类,而这些特征在主成分分析中没有体现出来。因此,Q 型聚类分析与 R 型聚类分析都有其必要性。在前 3 位主成分累计贡献率相对较低的情况下,将 R 型聚类分析与主成分分析相结合,有助于重要分类特征的选择。

现代分类学进展十分迅速,已从传统的外部形态分类向化学分类学、细胞分类学、分子系统学等方向转变。作为分类学,常需结合各种方法及其结果加以综合考虑,才能使结果更加符合客观规律,芋螺的分类研究也不例外。芋螺作为一类古老的热带药用海洋生物,通过对其分类学的基础研究,揭示芋螺的多样性特征等具有非常重要的意义,再结合分子生物学等方面的分子分类,将更加完善芋螺的分类系统。

参考文献:

[1] 秦士德,陈铁杰,张明良. 我国南海伤人海洋动物的调查简介[J]. 中国海洋药物杂志,1991(4):16.

[2] 廖永岩,徐安龙,卫剑文,等. 中国蛋白、肽类毒素海洋动物名录及其分布[J]. 中国海洋药物杂志,2001(5):47 – 57.

[3] 罗素兰,张本,长孙东亭. 芋螺毒素[J]. 生物学通报,2003,38(4):7 - 8.
[4] 周培根,戚晓玉,王艳. 海洋生物中毒素的研究进展[J]. 上海水产大学学报,2002,11(3):283 - 284.
[5] OLIVERA B M, TEICHERT R W. Diversity of the Neurotoxic Conus Peptides: a model for concerted pharmacological discovery[J]. Molecular Interventions, 2007, 7(5): 251 - 260.
[6] 齐钟彦,马绣同,李凤兰. 中国近海芋螺科的研究Ⅰ. 热带海洋研究(3)[M]. 北京:海洋出版社,1988:61.
[7] OLIVERA B M. Conus Peptides Biodiversity-based Discovery and Exogenomics[J]. J Biol Chem, 2006, 281(42):31173 - 31177.
[8] TERLAU H, OLIVERA B M. Conus Venoms: A Rich Source of Novel Ion Channel-Targeted Peptides[J]. Physiol. Rev., 2004, 84:41 - 68.
[9] ALEXANDER S P H, MATHIE A, PETERS J A. Guide to receptors and channels[M]. London: Br J Pharmacol, 2006:1 - 180.
[10] ELLISON M, HABERLANDT C, GOMEZ-CASATI M E, et al. α-Rg1A: A novel conotoxin that specifically and potently blocks the α9α10 nAChR[J]. Biochemistry, 2006, 45:1511 - 1517.
[11] JIMENEZ E C, OLIVERA B M, TEICHERT R W. αC-Conotoxin PrXA: A New Family of Nicotinic Acetylcholine Receptor Antagonists[J]. Biochemistry, 2007, 46:8717 - 8724.
[12] 徐增莱,余伯阳,徐珞珊. 大戟科植物分类的数值分析[J]. 热带亚热带植物学报, 2004, 12(5):399 - 404.
[13] 彭焱松, 陈丽,李建强. 中国栎属植物的数量分类研究[J]. 武汉植物学研究, 2007, 25(2):149 - 157.
[14] 张祖芸,李华,谭垦. 乌蒙山系东方蜜蜂的形态学及分类地位研究[J]. 云南农业大学学报,2009,24(3):399 - 402.
[15] 李笑,孙光民,邓超. 采用 DSOM 神经网络进行肿瘤基因表达谱数据的聚类分析[J]. 生物医学工程与临床,2006,10(1): 43 - 46.
[16] EISEN M B, SPELLMAN P T, BROWN P O, et al. Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1998, 95(25):14863 - 14868.
[17] 长孙东亭,罗素兰,张本,等. 海南产芋螺的形态特征[J]. 海洋科学,2007,31(8):42 - 47.

Diversity of *Conus* Species Native to Hainan Based on Numerical Taxonomy

BING Hui, YU Hai-peng, HU Yuan-yan, ZHU Xiao-peng, CHANG SUN Dong-ting, LUO Su-lan
(Key Laboratory of Tropical Biological Resources of Ministry of Education, Hainan Univeristy, Haikou 570228, China)

Abstract: Diversity of 20 *Conus* species native to Hainan, each of which involved 27 traits, were investigated with software NTSYS-pc 2.10e based on numerical taxonomy methods including Q cluster analysis, R cluster analysis and principal components analysis (PCA). The results showed that 20 cone snails could be classified into 2 groups and 3 subgroups with Q cluster analysis, and 27 traits could be classified into 2 groups with R cluster analysis; Principal components analysis (PCA) indicated that the shell size, inner lip and mouth characteristics etc. were of significance for *Conus* taxonomy; the 3 dimensions plot of the first 3 principal components analysis of 20 *Conus* species was consistent with that of cluster analysis; the relationship for the 20 species have been analyzed by Q cluster dendrogram, and the combination of R cluster and principal components analysis was helpful for selecting the key characters for genus *Conus* classification.

Key words: *Conus* L.; cluster analysis; principal components analysis(PCA); classification