用多元分析法研究泥蚶 (*Tegillarca granosa*) 氨基酸地区差异*

潘沙芳 李太武[1] 苏秀榕
(宁波大学生命科学与生物工程学院 宁波 315211)

提要 采用贝克曼 System 6300氨基酸分析仪检测了 7 个地区泥蚶群体的氨基酸种类及含量, 并利用多元分析法对这些群体的氨基酸含量差异进行了比较研究。聚类分析结果表明, 7 个泥蚶群体中, 乐清和韩国群体间的氨基酸含量差异最小, 汕头群体与其他 6 个群体间的氨基酸差异程度最大。通过软件分析, 构建 3 个能反映氨基酸信息的综合性指标——主成分 1、主成分 2和主成分 3, 三者的贡献率分别为 50.138%、23.332% 和 15.619%, 累计贡献率高达 89.089%。

关键词 泥蚶, 聚类分析, 主成分分析
中图分类号 Q346

泥蚶 (*Tegillarca granosa* Linnaeus) 隶属于软体动物门 (Mollusca)、瓣鳃纲 (Lamellibranchia), 是一种栖息于沿海滩涂的广温性双壳贝类, 主要分布于西太平洋、印度洋和大西洋海域的中国、韩国、泰国、菲律宾以及马来西亚等国家, 在我国主要分布于山东半岛以南沿海。目前国内外泥蚶的研究主要包括生物学特性和生态习性 (Son *et al*, 1998; Yusof *et al*, 2004)、育苗和苗种培育技术、细胞学 (Suwanjarat, 1999)、组织学、同工酶基因研究 (苏秀榕等, 2005) 以及泥蚶营养成分分析 (张永普等, 2002) 等几个方面, 而对于不同地区泥蚶氨基酸差异分析的研究还未见深入报道。本文中作者以聚类分析和主成分分析两种多元分析方法为主, 对 7个不同地理泥蚶群体的氨基酸的种类及含量进行了综合分析, 找出了各群体间氨基酸的差异, 并构建了 3个能反映所有泥蚶氨基酸数据信息的综合性指标, 以期查清氨基酸种类和含量与肉质的关系并为泥蚶种质资源的保护与利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

2000年 2—3月, 分别从韩国, 中国浙江的乐清、奉化, 广东的湛江、汕头, 山东的荣成, 以及福建等 7个不同地区取二龄泥蚶 (*Tegillarca granosa*), 其性状见表 1。

1.2 方法

1.2.1 性状测量 采用游标卡尺、分规、直尺等测量工具, 精确到 mm。7个不同地区泥蚶群体的测量参数包括壳长、壳高、肋数等性状, 共测得 816个形态学数据。

1.2.2 氨基酸检测 先将不同地区泥蚶肉质和组织液置于 65℃烘箱内烘干, 用研钵将样品研磨至粉末状, 称重为 1g。氨基酸 (除色氨酸外) 分析条件: 色谱柱: 贝克曼 System 6300专用的钠离子交换色谱柱分析不同地区泥蚶样品的氨基酸种类及含量。利用 LC-4A [岛津] 型 HPLC分析色氨酸的含量。HPLC分析条件: 色谱柱: ZorbaxODS (4.6mm × 25cm); 柱温: 50℃; 移动相: 5mmol/L高氯酸和甲醇的混合物 (29∶8); 流量: 1.0ml/min; 检测器: 荧光检测器, 荧光激发波长为 285nm, 荧光发射波长为 348nm。7个不同地理群体泥蚶的氨基酸种类和含量见表 2。

* 国家自然科学基金资助项目, 30371095号。潘沙芳, 硕士研究生, E-mail: panshafang@163.com
1)通讯作者: 李太武, 教授, E-mail: litaiwu@nbu.edu.cn
收稿日期: 2005-06-17, 收修改稿日期: 2005-09-12

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1　各地泥蚶取样地点、数目以及主要性状

Tab. 1　Sample collection date, site and number of *T. granosa*

地理群体	乐清	奉化	韩国	湛江	汕头	福建	荣成
样本数目	39	38	37	41	38	41	38
壳长均值(cm)	2.315	2.503	3.081	3.053	3.516	2.502	2.840
壳长变幅(cm)	2.1—2.5	2.2—3.0	2.8—3.4	2.6—3.5	3.1—3.8	2.2—2.8	2.6—3.2
壳高均值(cm)	1.833	1.971	2.297	2.282	2.566	1.920	2.109
壳高变幅(cm)	1.7—2.0	1.7—2.3	2.1—2.6	1.9—2.6	2.1—2.8	1.7—2.1	1.9—2.2
肋数均值(条)	18.31	18.05	18.49	18.07	20.00	17.27	17.53
肋数变幅(条)	17—19	17—19	17—20	16—20	19—21	16—19	17—18

表 2　不同地区泥蚶群体的氨基酸含量

Tab. 2　Amino acids composition in *T. granosa* from seven different populations

种　群	乐清	奉化	韩国	湛江	汕头	福建	荣成
天冬氨酸 Asp	4.80	5.21	5.07	5.23	4.96	5.32	4.72
苏氨酸 Thr	2.19	2.10	1.90	1.97	1.84	2.04	2.00
丝氨酸 Ser	2.01	1.95	1.87	1.92	1.74	1.90	1.86
谷氨酸 Glu	7.29	7.82	7.40	8.32	7.36	7.41	6.97
脯氨酸 Pro	1.73	1.81	1.00	1.09	1.00	1.11	1.00
甘氨酸 Gly	2.53	2.48	2.23	2.52	2.34	2.18	2.39
丙氨酸 Ala	3.02	2.89	2.71	3.01	2.81	3.22	2.63
胱氨酸 Cys	0.50	0.51	0.50	0.58	0.50	0.48	0.46
缬氨酸 Val	2.68	2.62	2.63	2.70	2.48	2.65	2.45
甲硫氨酸 Met	1.25	1.20	1.13	1.08	0.94	1.33	1.02
异亮氨酸 Ile	2.77	2.68	2.61	2.81	2.31	2.32	2.24
亮氨酸 Leu	4.02	3.96	3.90	4.13	3.39	4.34	3.37
酪氨酸 Tyr	3.08	4.23	3.14	3.49	5.83	2.40	3.45
苯丙氨酸 Phe	2.35	2.28	2.25	2.68	2.05	1.27	1.99
组氨酸 His	1.31	1.31	1.25	1.44	1.24	1.30	1.17
赖氨酸 Lys	3.74	3.63	3.47	3.78	3.25	3.32	3.18
精氨酸 Arg	4.41	4.45	4.28	4.72	4.03	4.00	3.90
色氨酸 Trp	0.192	0.234	0.107	0.116	0.115	0.193	0.108
呈味氨基酸	21.38	22.16	20.28	22.09	20.21	21.14	18.57
必需氨基酸	19.079	18.603	18.021	19.522	16.572	17.259	16.411
氨基酸总量	49.699	51.153	47.351	51.482	48.082	46.609	44.811

注: 表中的含量单位,色氨酸为 mg/g 其余为%

1.3　数据处理

利用 SPSS 软件,对 7 个不同地区泥蚶群体氨基酸种类及含量进行聚类分析和主成分分析,研究群体间氨基酸差异。

1.3.1　聚类分析　首先,根据贝克曼 System 6300 氨基酸分析仪获得各地区泥蚶样品所含的

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

氨基酸种类及其百分含量,构建 SPSS数据文件。参照 Betal等(2004)、钱荣华等(2003)的方法,利用软件分析所得欧几里德距离(Euclidean Distance)和相似系数(Coefficients)进行样品聚类,用树形图显示群体间的亲疏程度。欧几里德距离公式为:

$$d_{ij} = \left\{ \sum_{k=1}^{m} (X_{ik} - X_{jk})^2 \right\}^{\frac{1}{2}}$$

1.3.2 主成分分析 参照 Moralev(2001)、苏金明等(2002)的方法,通过软件分析,从所有参数指标中得出 3个综合性指标,即 3个主成分;计算机软件分析将输出主成分 1、主成分 2和主成分 3的贡献率以及三者累计贡献率,显示各主成分的负荷因子及贡献率。

2 结果

2.1 聚类分析

由图 1可见: 7个不同地区泥蚶群体间,乐清和韩国群体的氨基酸差异最小,其欧几里德距离仅为 1.0左右,其次是奉化和湛江群体,接着是荣成群体,欧几里德距离出现不断增加趋势。各地区泥蚶群体间的氨基酸差异也不断加大,福建和汕头群体较为接近,但与其他 5个群体的氨基酸差异程度较大,尤其是汕头群体,与其他 6个群体的氨基酸差异程度最大。

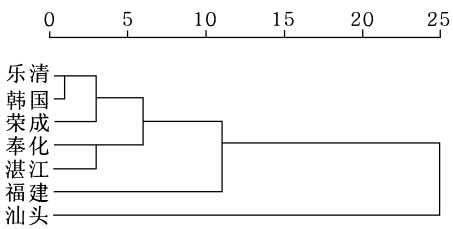

图 1 不同地区泥蚶群体的聚类分析树形图

Fig. 1 Hierarchical cluster analysis dendrogram of different populations of *T. granosa*

2.2 主成分分析

不同地区泥蚶氨基酸的主成分分析结果见表 3和图 2。主成分 1、主成分 2和主成分 3的贡献率分别为 50.138%、23.332% 和 15.619%,三者的累计贡献率为 89.089%。主成分 1主要包含 Ser、Val、Ile、Leu、His、Lys、Arg、Glu等负荷因子,其中 Val和 Lys的影响最大,其贡献率分别为 92.6% 和 93.9%;主成分 2主要包含 Phe、Met、Cys、Tyr等负荷因子;主成分 3主要包含 Asp、Thr、Pro、Gly等负荷因子。

表 3 主成分负荷因子及其贡献率

Tab. 3 The loadings of three principal components in the amino acids from deferent populations of *T. granosa*

氨基酸	主成分 1	主成分 2	主成分 3
Asp	0.495	-0.163	-0.746
Thr	0.603	-0.494	0.599
Ser	0.812	-0.317	0.415
Glu	0.732	0.458	-0.415
Pro	0.623	-0.200	0.636
Gly	0.515	0.503	0.601
Ala	0.633	-0.482	-0.359
Cys	0.681	0.639	-0.339
Val	0.926	-0.140	-0.219
Met	0.602	-0.789	-0.014
Ile	0.884	0.341	0.163
Leu	0.809	-0.438	-0.376
Tyr	-0.386	0.609	0.084
Phe	0.432	0.821	0.313
His	0.877	0.252	-0.345
Lys	0.939	0.270	0.154
Arg	0.874	0.472	0.001
Trp	0.545	-0.575	0.280
贡献率	50.138	23.332	15.619

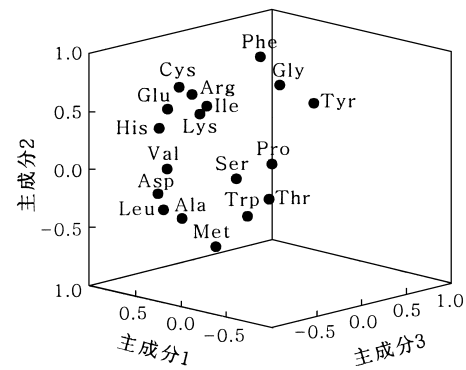

图 2 主成分因子负荷散点图

Fig. 2 Scatter diagram of principal component loadings

3 讨论

3.1 氨基酸成分分析

氨基酸成分是鉴定泥蚶群体口味和营养价

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

值的重要指标。泥蚶的氨基酸种类齐全, 含量丰富。由表 2可见, 7个不同地区泥蚶群体的氨基酸含量大小依次为: 湛江 > 奉化 > 乐清 > 汕头 > 韩国 > 福建 > 荣成, 氨基酸含量占泥蚶干重的 44.811% —51.482%。其中谷氨酸、精氨酸有抗衰老、提高身体抵抗力、促进免疫机制的功能, 可达到提高生命质量、延长老年人寿命的功效。7个不同地区泥蚶种群都含有赖氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、苏氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸这 8种人体必需氨基酸, 具有维持人体正常发育的保健营养作用, 其含量大小依次为: 湛江 > 乐清 > 奉化 > 韩国 > 福建 > 汕头 > 荣成。7个不同地区泥蚶群体所含的 6种呈味氨基酸 (张永普等, 2002)——天冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、脯氨酸和丝氨酸的总含量大小依次为: 奉化 > 湛江 > 乐清 > 福建 > 韩国 > 汕头 > 荣成。由此可见, 泥蚶是很好的保健食品。

3.2 多元分析方法探讨氨基酸差异

聚类分析结果揭示了不同地区泥蚶群体的氨基酸差异状况: 乐清、韩国、荣成群体聚成一类, 奉化、湛江群体聚为一类, 另外是汕头、福建群体。不同地区泥蚶群体之间氨基酸成分、含量的差异是乐清和韩国泥蚶群体的氨基酸差异最小, 其次是奉化和湛江群体, 接着是荣成和福建群体, 各地区群体间的氨基酸差异逐渐增加。汕头泥蚶群体与其他 6个群体氨基酸的差异程度最大, 这种多元分析结果一定程度上与直接氨基酸成分分析结果相近。从氨基酸影响泥蚶口感和营养价值角度来讲, 乐清和韩国泥蚶的口感最相近, 汕头泥蚶种群的味感与其他地区相比差异最大。各地泥蚶的氨基酸差异往往是由各地区的地理环境差异以及气候差异引起的。目前认为造成泥蚶氨基酸含量分化的主要原因可能有: 养殖条件下的经济性状选择压力, 不同的地域分布造成的生殖隔离, 不同海域独特的自然环境, 包括气候、盐度、饵料等 (李太武等, 2003; 李成华等, 2003)。

氨基酸主成分分析结果揭示了造成不同地区泥蚶群体氨基酸差异的 3个累计贡献率在 85%以上的综合指标的因子负荷。根据主成分分析所得各个负荷因子的相应贡献率所作的散点图显示, Phe、Lys、Arg、Gly、Glu、His、Tyr等负荷因子对各地区泥蚶氨基酸差异分析影响较大, 可以作为类似研究的分析指标。主成分 1、主成分 2和主成分 3的累计贡献率达到了 89.089%, 已能综合反映所有泥蚶氨基酸的数据信息, 主成分分析方法使各地泥蚶氨基酸差异分析更简单。但是, 氨基酸差异与各地区的主要地理环境影响因子以及气候差异的相关程度仍待进一步深入研究。

参 考 文 献

苏秀榕, 吕振明, 李太武等, 2005. 泥蚶个体发育过程中同工酶基因表达与调控的研究. 海洋与湖沼, 36(1): 81—87

苏金明, 傅荣华, 周建斌等, 2002. 统计软件 SPSS系列应用实战篇. 北京: 电子工业出版社, 290—301

李太武, 李成华, 苏秀榕等, 2003. 5个泥蚶群体遗传多样性的 RAPD分析. 生物多样性, 11(2): 118—124

李成华, 李太武, 苏秀榕等, 2003. 福建南北泥蚶种内分化的 RAPD分析. 动物学研究, 24(5): 362—366

张永普, 贾守菊, 应雪萍, 2002. 不同种群泥蚶肉营养成分的比较研究. 海洋湖沼通报, 2: 33—38

钱荣华, 李家乐, 董志国等, 2003. 中国五大湖三角帆蚌形态差异分析. 海洋与湖沼, 34(4): 436—443

Betal S P, Chowdhury R, Kundu S *et al*, 2004. Estimation of genetic variability of *Vigna radiata* cultivars by RAPD analysis. Biologiaplantarum, 48(2): 205—209

Moralev S N, 2001. Cholinesterase active center: statistical analysis of structure variability. Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology, 37(1): 25—34

Suwanjarat J, 1999. Ultrastructure of the spermatogenesis of the cockle *Anadara granosa* L. (Bivalvia: Arcidae). HelgolMarRes, 53: 85—91

Son R, Nasreldin E H, Zaiton H *et al*, 1998. Use of randomly amplified polymorphic DNA analysis to differentiate isolates of *Vibrio parahaemolyticus* from cockles (*Anadara granosa*). World Journal of Microbiology & Biotechnology, 14: 895—901

Yusof A M, Yanta N F, Wood A K H, 2004. The use of bivalves as bio-indicators in the assessment of marine pollution along a coastal area. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 259(1): 119—127

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

STUDY ON VARIATIONS OF AMINO ACIDS COMPONENT AMONG POPULATIONS OF *TEGILLARCA GRANOSA* BY MULTIVARIATION ANALYSIS METHODS

PAN Sha-Fang, LI Tai-Wu, SU Xin-Rong
(Faculty of Life Science and Biotechnology, Ningbo University, Ningbo, 315211)

Abstract With Beckman System 6300, eighteen types of amino acids were determined from seven populations of *Tegillarca granosa*, being glycine, alanine, valine, leucine, isoleucine, phenylalanine, proline, tryptophan, serine, tyrosine, cysteine, methionine, aspartic acid, glutamic acid, threonine, lysine, arginine and histidine. We analyzed the distribution and variations of these amino acids in the seven populations with hierarchical cluster and principal component methods. The results of hierarchical cluster analysis showed that the distribution of the amino acids were similar between the populations of Yueqing and Korea, while that in Shantou population have large variation from other populations. Three principal components were constructed, taking 50.14%, 23.33% and 15.62% respectively, for total of 89.09%. The first component contains serine, valine, isoleucine, leucine, histidine, lysine, arginine, glutamic acid and so on, in which valine and lysine were the strongest ones, contributing 92.6% and 93.9% respectively. The second one contains mainly phenylalanine, methionine, cysteine and tyrosine. The third one includes aspartic acid, threonine, proline and glycine. The distribution pattern of the principal components show that the variations in amino acids composition from the seven populations were affected chiefly by phenylalanine, lysine, arginine, glycine, glutamic acid, histidine and tyrosine. At present, this conclusion was made from three-factor analysis. The first factor reflected the economic impact on the samples; the second one represented the reproductive isolation, and the third one indicated area-specific environmental condition, including climate, diets and salinity, etc.

Key words *Tegillarca granosa*, Hierarchical Cluster Analysis, Principal Components Analysis

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net