

DOI: 10.12131/20230096

文章编号: 2095-0780-(2023)05-0168-09

• 研究简报 •

## 野生与养殖厚壳贻贝体框特征和线粒体 16S rRNA 基因的比较分析

夏飞宇, 张秀梅, 徐 翩, 徐 颖, 王一航

浙江海洋大学 水产学院, 浙江 舟山 316022

**摘要:** 了解厚壳贻贝 (*Mytilus coruscus*) 的生活环境对其生长的影响, 对贻贝养殖业的高质量发展极为重要。以枸杞岛潮间带野生和浮筏养殖厚壳贻贝为研究对象, 构建以壳长为基准的 13 个体框特征指标 (包括壳宽、壳高等), 比较两种厚壳贻贝的主要形态特征, 并结合线粒体 16S rRNA 基因的序列信息, 分析其遗传关系与形态特征的关联性。结果表明, 野生和养殖贻贝有 10 个体框特征指标存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 野生的贝壳整体更宽厚、质量更大。应用逐步判别法筛选出的壳宽 ( $L_1$ )、壳高 ( $L_2$ )、壳顶至铰合部上端的距离 ( $L_{10}$ )、壳顶至足丝孔的距离 ( $L_{12}$ ) 4 个变量对野生和养殖厚壳贻贝的综合判别准确率达到 94.9%。16S rRNA 基因测序结果显示, 野生厚壳贻贝的核苷酸多样性 ( $\pi$ ) 为 0.089, 单倍型多样性 ( $H_d$ ) 为 0.894; 养殖厚壳贻贝的  $\pi$  为 0.087,  $H_d$  为 0.682。野生与养殖厚壳贻贝的遗传多样性水平均较高, 但系统发育树和单倍型网络图证明二者不存在显著的遗传分化, 推测其形态差异可能主要受栖息环境 (波浪暴露强度、营养条件) 影响。

**关键词:** 厚壳贻贝; 形态差异; 16S rRNA; 体框特征

中图分类号: S 968.3

文献标志码: A

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



## Comparative analysis of shell frame characteristics and mitochondrial 16S rRNA gene between wild and cultured mussels (*Mytilus coruscus*)

XIA Feiyu, ZHANG Xiumei, XU Pian, XU Ying, WANG Yihang

Fishery College, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China

**Abstract:** Understanding the impact of the environment of *Mytilus unguiculatus* on its growth is extremely important for promoting high-quality development of mussel breeding industry. Taking the wild (From Gouqi intertidal area) and cultured (From mussel culture rafts) *M. coruscus* as research objects, we constructed 13 shell frame characteristics indexes based on shell length, including shell width and shell height to compare their main morphological differences, and sequenced their 16S rRNA gene to analyze the genetic and morphological associations between them. The results show that there were significant differences in ten shell frame characteristics between wild and cultured mussels ( $P < 0.05$ ), and the shells of wild mussels were generally wider, thicker and heavier. Four variables were selected by stepwise discrimination method:  $L_1$  (Shell width),  $L_2$  (Shell height),  $L_{10}$  (Distance from the top of shell to the upper end of hinge),  $L_{12}$  (Distance from the top of shell to the byssus orifice). The comprehensive discrimination accuracy of wild and cultured mussels was 94.9%. The 16S rRNA gene sequencing shows that the wild mussels nucleotide diversity ( $\pi$ ) was 0.089, and haplotype diversity ( $H_d$ ) was 0.894; cultured mussels'  $\pi$  was 0.087 and  $H_d$  was 0.682. The genetic diversity level of wild and cultured mussels were relatively high, but the phylogenetic tree and haplotype network prove that there was no significant genetic differentiation between them. It is speculated that their morphological differences

收稿日期: 2023-05-04; 修回日期: 2023-06-08

基金项目: 浙江省重点研发计划 (2021C022047); 浙江省基础公益计划 (LQ22C190004)

作者简介: 夏飞宇 (1999—), 男, 硕士研究生, 研究方向为贝类生理学。E-mail: 490941256@qq.com

通信作者: 王一航 (1990—), 男, 讲师, 博士, 研究方向为贝类资源增殖学和毒理学。E-mail: wangyh@zjou.edu.cn

might be mainly influenced by their habitat environments (Wave exposure, growth density, etc.).

**Keywords:** *Mytilus coruscus*; Morphological differences; 16S rRNA; Shell frame characteristics

厚壳贻贝 (*Mytilus coruscus*) 是广泛分布于黄海和东海沿海岸域的重要经济贝类。浙江省嵊泗县是我国厚壳贻贝的原产地和主要养殖区域<sup>[1]</sup>, 20世纪70年代前, 嵊泗列岛产出的贻贝一直为野生厚壳贻贝<sup>[2]</sup>, 它们通常生活在低潮带至水深20 m处, 附着于海浪击打的岩礁上和沟缝中。随着厚壳贻贝人工育苗技术研究的开展和推广<sup>[1,3]</sup>, 其养殖业在嵊泗县逐渐发展起来, 使用筏或延绳的悬浮养殖技术迅速普及。较其他养殖方式(如木桩养殖和底播养殖), 悬浮养殖下的贻贝生长速度更快, 软组织饱满程度更高<sup>[4]</sup>。

潮间带是陆地与海洋的过渡地带, 嵊泗县周边潮间带以岩相为主, 与养殖海域相比, 这是种截然不同的生境。对岩相潮间带的大量研究表明, 海浪拍击、岩缝挤压、空气暴露时长以及生长密度会对软体动物的外壳产生深远影响<sup>[5-6]</sup>; 这些复杂的因素使得无法直接预测其形态变异。因此, 了解厚壳贻贝的生活环境是如何影响其生长的, 对贻贝养殖业的高质量发展极为重要。

线粒体DNA(mtDNA)由于具有突变率高、母系遗传几乎不发生重组等特点, 是研究物种遗传多样性和分子进化的有效工具。对于双壳贝类形态学的研究, 国内外已有较多报道, 多与遗传多样性结合(通过微卫星标记和DNA条形码)<sup>[7-9]</sup>。如Yuan等<sup>[10]</sup>利用形态学、微卫星和mtDNA标记对日本野生和中国养殖群体栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)进行研究, 发现它们之间无显著的形态差异, 但日本野生扇贝可分为南北两个种群且和中国养殖群体存在遗传差异; He等<sup>[11]</sup>通过全基因组测序和壳形分析证实太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)的外壳形状会在环境应激反应中发生变化; 徐义平等<sup>[12]</sup>结合形态学、SRAP标记两种手段, 探究了中国沿海4个省份的11个缢蛭(*Sinonovacula constricta*)群体, 指出浙江乐清湾野生群体间具有较高的形态和遗传相似性。目前关于野生和养殖厚壳贻贝形态差异的研究尚未见报道, 尚不清楚这种差异是否由遗传造成。基于此, 本研究采集了嵊泗县嵊山、枸杞岛岩相潮间带(简称野生)和筏架养殖区(简称养殖)不同生境下的厚壳贻贝样本, 测量分析其壳长、壳质量, 构建体框特征并进行形态特征分析, 同时对比其线粒体16S rRNA基因序列, 以期为厚壳贻贝的种质资源保护及其养殖产业发展提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 调查区域及样品采集

厚壳贻贝于2021年8月至2022年4月采自浙江省嵊泗县嵊山镇周边海域(122.73°E—122.79°E, 30.69°N—

30.75°N)。其中养殖贻贝取自枸杞岛干斜村金盟厚壳贻贝筏架养殖区; 野生样品为枸杞岛岩相潮间带自然生长的贻贝。根据壳长确定厚壳贻贝年龄<sup>[13]</sup>: 1龄壳长介于24.0~56.0 mm, 2龄壳长介于56.0~75.0 mm, 3龄壳长介于75.0~85.0 mm, 4龄壳长介于85.0~100.0 mm, 5龄壳长介于100.0~110.0 mm。为避免异速生长带来的影响, 体框特征分析选取的样品为2+龄。

### 1.2 样品处理

采集贝体完整无损的厚壳贻贝, 刮干净壳表面附着的生物及足丝, 带回实验室解剖。烘干后用电子天平称取壳干质量(精度0.01 g)。从中随机挑选157只厚壳贻贝(养殖78只, 野生79只), 参考白晓倩等<sup>[14]</sup>的方法并略做改进, 构建体框特征模型。体框特征点如图1所示, 包括壳宽(W)、壳高(H)、壳长顶(A)、壳背顶(B)、铰合部上端(C)、壳顶(D)、宽顶(O)、足丝孔(E)及壳顶至腹缘的垂足(F)。通过电子数显游标卡尺(精度0.01 mm)测量它们的长度和距离, 以此获得W(L<sub>1</sub>)、H(L<sub>2</sub>)、AB(L<sub>3</sub>)、BC(L<sub>4</sub>)、CD(L<sub>5</sub>)、DE(L<sub>6</sub>)、AE(L<sub>7</sub>)、OA(L<sub>8</sub>)、OB(L<sub>9</sub>)、OC(L<sub>10</sub>)、OD(L<sub>11</sub>)、OE(L<sub>12</sub>)、OF(L<sub>13</sub>)13个贝体框特征指标。

### 1.3 线粒体DNA提取、PCR扩增及测序

随机额外选择野生和养殖厚壳贻贝各20只, 解剖并提

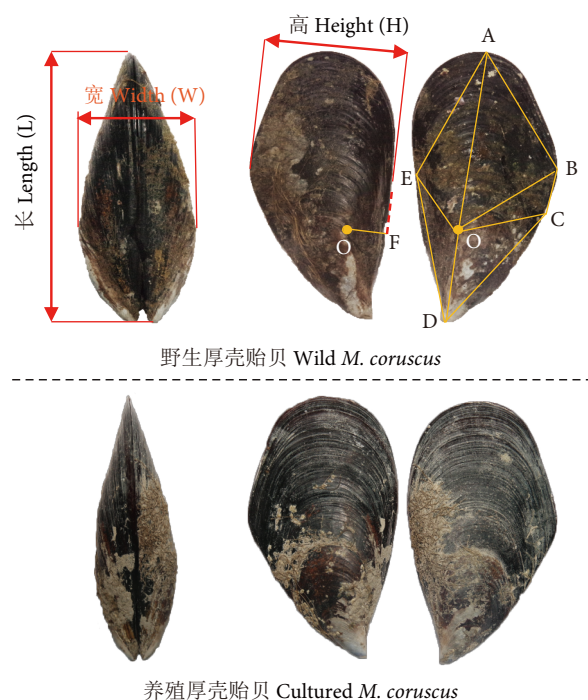


图1 体框特征测量点

Fig. 1 Measurement points of shell frame characteristics

取其闭壳肌 mtDNA。步骤如下：取约 100 mg 闭壳肌组织，采用标准的酚-氯仿法提取基因组 DNA，将乙醇沉淀后的基因组 DNA 加入 100  $\mu$ L 胰蛋白酶/EDTA (TE) 缓冲液溶解。扩增 16S rRNA 基因片段的引物序列如下：16S ar: 5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3'; 16S br: 5'-CCG-GTCTGAACTCAGATCACGT-3'。扩增产物纯化及测序 (Sanger) 由上海生工生物公司完成。

## 1.4 数据处理与分析

### 1.4.1 形态差异分析

使用 SPSS 26.0 软件分别计算野生和养殖厚壳贻贝的体框特征指标平均值、标准差以及变异系数，不同生长区域的贻贝通过独立样本  $t$  检验判断显著性 ( $P < 0.05$  表示差异显著)。结果由 GraphPad Prism 9.0 软件绘图。此外，使用 R-4.1.3 软件对 13 个体框特征参数进行 Pearson 相关性分析；通过主成分分析 (Principal component analysis, PCA) 对数据进行降维，保留特征根大于 1 的主成分 (Principal component, PC) 用于后续分析；运用逐步判别法，构建野生和养殖厚壳贻贝的判别函数并计算判别准确率，计算公式参照李思发等<sup>[15]</sup>。

### 1.4.2 遗传多样性分析

将测序结果用 MEGA 7.0 剪切、比对并辅以人工校对分析核苷酸变异，以 Kimura 双参数法 (Kimura-2-parameter) 为替代模型并基于邻接距离法 (Neighbor-Joining) 构建野生和养殖厚壳贻贝的系统发育树<sup>[16]</sup> (重抽样 3 000 次)。使用 DNASP 5.10 计算单倍型数量 ( $N$ )、单倍型多样性 ( $H_d$ ) 和核苷酸多样性 ( $\pi$ ) 来估计野生和养殖种群的遗传多样性。由 POPART 绘制 median joining network (MJN)，构建养殖和野生厚壳贻贝的单倍型网络图。

## 2 结果

### 2.1 野生与养殖厚壳贻贝壳长与壳质量的关系

对已收集到的所有厚壳贻贝壳长 ( $L$ )、壳干质量 ( $G$ ) 数据 (养殖 316 只、野生 393 只) 进行回归分析，得到两条回归关系式： $G_{\text{野}} = 0.0003L^{2.5937}$  ( $R^2 = 0.930$ )， $G_{\text{养}} = 0.0002L^{2.5537}$  ( $R^2 = 0.877$ )。从回归式和回归曲线 (图 2) 可以看出，厚壳贻贝的壳长-壳质量关系式基本符合幂函数增长规律。野生贻贝壳质量与壳长的幂指数  $b$  (2.593 7) 要略大于养殖贻贝 ( $b = 2.5537$ )，意味着在相同体长下野生群体的壳质量更大，且这种趋势随着贻贝个体的增长更为明显。

### 2.2 野生与养殖厚壳贻贝体框特征参数比较

不同生长区域厚壳贻贝的贝壳体框特征参数见表 1。从图 3 可以看出，除  $L_4$ 、 $L_{11}$  和  $L_{13}$  外，野生群体和养殖群体的各项体框特征差异显著 ( $P < 0.01$ )。与自然生长在潮间

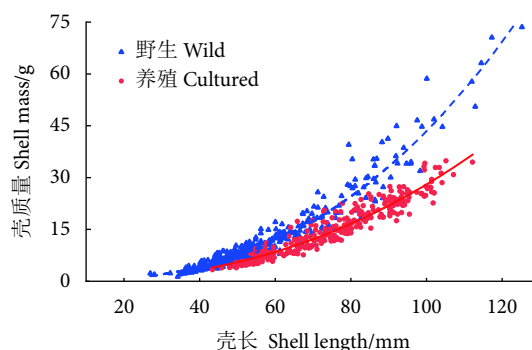


图 2 野生与养殖厚壳贻贝壳长和壳质量的关系

Fig. 2 Relationship between shell length and shell mass of wild and cultured *M. coruscus*

带的野生贻贝相比，养殖群体各项体框特征长度均相对较短，仅  $L_7$  大于野生群体。统计结果显示，野生群体  $L_4$  的变异系数最大 (21.22%)，远高于养殖群体及其他特征指标，说明野生群体贝壳在  $L_4$  这一指标上的选择潜力很大。13 个体框指标中，野生群体有 9 项指标 ( $L_1$ 、 $L_3$ 、 $L_4$ 、 $L_5$ 、 $L_6$ 、 $L_7$ 、 $L_9$ 、 $L_{11}$ 、 $L_{13}$ ) 的变异系数大于养殖群体，说明野生群体的贝壳在生长过程中的可塑性要略高于养殖群体。上述结果表明，不同生长区域的厚壳贻贝外观上的区分度较大。

### 2.3 体框特征之间的相关性分析和主成分分析

由图 4 可知，野生与养殖贻贝各体框特征间存在相关性 ( $P < 0.05$ )，但所有体框特征间的相关系数绝对值均未大于 0.7。 $L_1$  和  $L_2$  作为衡量厚壳贻贝外部形态的重要指标，与其他变量的正相关最多。而  $L_7$  与其他变量均为负相关，且与  $L_6$  的负相关系数最大 (-0.65)。各体框特征中， $L_{11}$  与其他特征的相关程度最低，仅与  $L_8$ 、 $L_9$  显著相关。 $L_9$  与  $L_2$ 、 $L_8$  存在最高的正相关性 (相关系数均为 0.63)。

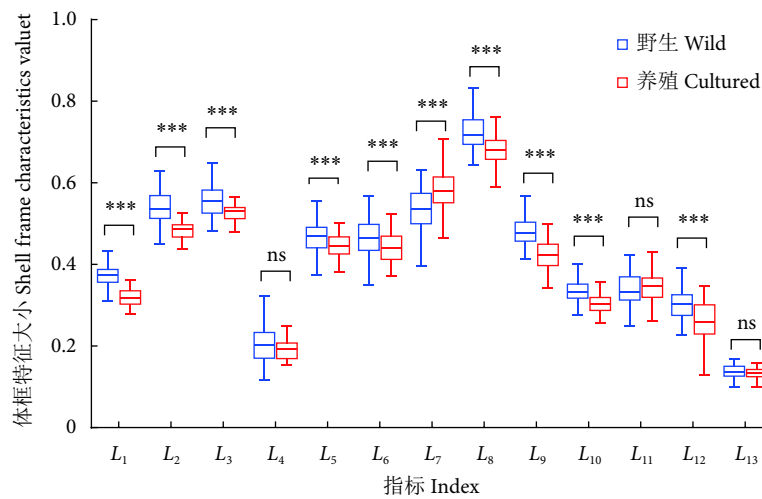
通过对体框特征进行 KMO 适合度和 Bartlett 球形检验，发现各特征值的相关系数矩阵和零矩阵存在显著性差异 (Bartlett 球形检验  $P < 0.01$ )，且主成分分析的适合度为适中 (KMO=0.742 > 0.7)，因此对 13 个体框特征进一步做主成分分析。提取的 4 个特征根大于 1 的主成分中，PC1 解释的方差贡献率为 32.44% (表 2)，远高于另外 3 个主成分 (分别为 14.02%、11.33% 和 9.70%)。PC1 由  $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ 、 $L_6$ 、 $L_7$ 、 $L_8$ 、 $L_9$ 、 $L_{10}$ 、 $L_{12}$  决定 (载荷绝对值大于 0.5)，第二个主成分主要由  $L_5$  (载荷绝对值等于 0.633) 决定 (表 2)。 $L_{11}$  主要与 PC3 相关，而 PC4 主要受  $L_4$  影响。由 PC1 和 PC2 的得分图 (图 5) 可见，养殖群体的数据点较为集中，说明其形态一致性较高；而野生群体的数据点分散，说明其形态更为多样。

### 2.4 体框特征之间的判别分析

采用逐步判别分析法，从 13 个体框特征中选择对判别结果有显著影响的。 $F$  检验结果显示  $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_{10}$ 、 $L_{12}$  这

表1 野生与养殖厚壳贻贝体框特征参数  
Table 1 Shell frame characteristics parameters of wild and cultured *M. coruscus*

体框架特征 Characteristics	代号 Code	野生群体 Wild population		养殖群体 Cultured population	
		Mean±SD	CV/%	Mean±SD	CV/%
W/L	L <sub>1</sub>	0.323±0.021	6.52	0.374±0.025	6.76
H/L	L <sub>2</sub>	0.490±0.035	7.10	0.535±0.034	6.36
AB/L	L <sub>3</sub>	0.531±0.025	4.79	0.553±0.037	6.63
BC/L	L <sub>4</sub>	0.198±0.034	16.95	0.199±0.042	21.22
CD/L	L <sub>5</sub>	0.446±0.027	6.08	0.473±0.039	8.27
DE/L	L <sub>6</sub>	0.447±0.047	10.49	0.460±0.049	10.64
AE/L	L <sub>7</sub>	0.577±0.057	9.94	0.539±0.051	9.42
OA/L	L <sub>8</sub>	0.683±0.039	5.67	0.729±0.046	6.37
OB/L	L <sub>9</sub>	0.428±0.041	9.60	0.482±0.034	7.04
OC/L	L <sub>10</sub>	0.306±0.023	7.67	0.337±0.028	8.37
OD/L	L <sub>11</sub>	0.341±0.036	10.46	0.339±0.039	11.65
OE/L	L <sub>12</sub>	0.266±0.044	16.55	0.299±0.037	12.55
OF/L	L <sub>13</sub>	0.134±0.013	10.07	0.138±0.014	10.52



\*\*\*. 有显著性差异 ( $P<0.05$ ); ns. 无显著性差异 ( $P>0.05$ ).  
\*\*\*. Significant differences ( $P<0.05$ ); ns. No significant differences ( $P>0.05$ ).

图3 野生与养殖厚壳贻贝体框特征差异

Fig. 3 Differences in shell frame characteristics between wild and cultured *M. coruscus*

4 个体框特征对判别结果有显著性影响 ( $P<0.01$ )。以此得到一个典型判别函数  $LD_1=30.60L_1+15.12L_2+14.34L_{10}+6.99L_{12}-285.02$ ，典型判别函数相关性为 0.848，Wilks'lambda 检验显著性  $<0.01$ ，说明该判别函数具有显著性。

使用 Fisher's 判别法，得到各生长区域厚壳贻贝的分类函数如下：

养殖群体： $y_{养}=573.15L_1+448.99L_2+437.26L_{10}+132.74L_{12}-285.02$

厚壳群体： $y_{野}=670.28L_1+497.00L_2+482.79L_{10}+154.93L_{12}-364.06$

依靠判别函数，对养殖贻贝的判别准确率达到了 98.7%，而对潮间带野生贻贝的判别准确率也有 91.1%，综合判别准确率为 94.9%。可见判别公式能有效区分养殖和野生群体。

### 2.5 野生与养殖群体 16S rRNA 基因差异

对扩增和测序成功的 24 只厚壳贻贝序列进行比对后，获得 507 bp 的 16S rRNA 基因片段。样品的平均核苷酸组成为 A=30.8%，C=15.9%，G=23.3%，T=30.0%，G+C 平均含量 39.2%。共检测出 12 个单倍型，其中养殖群体独有单倍型 4 个，野生群体独有单倍型 6 个，两群体共享单倍

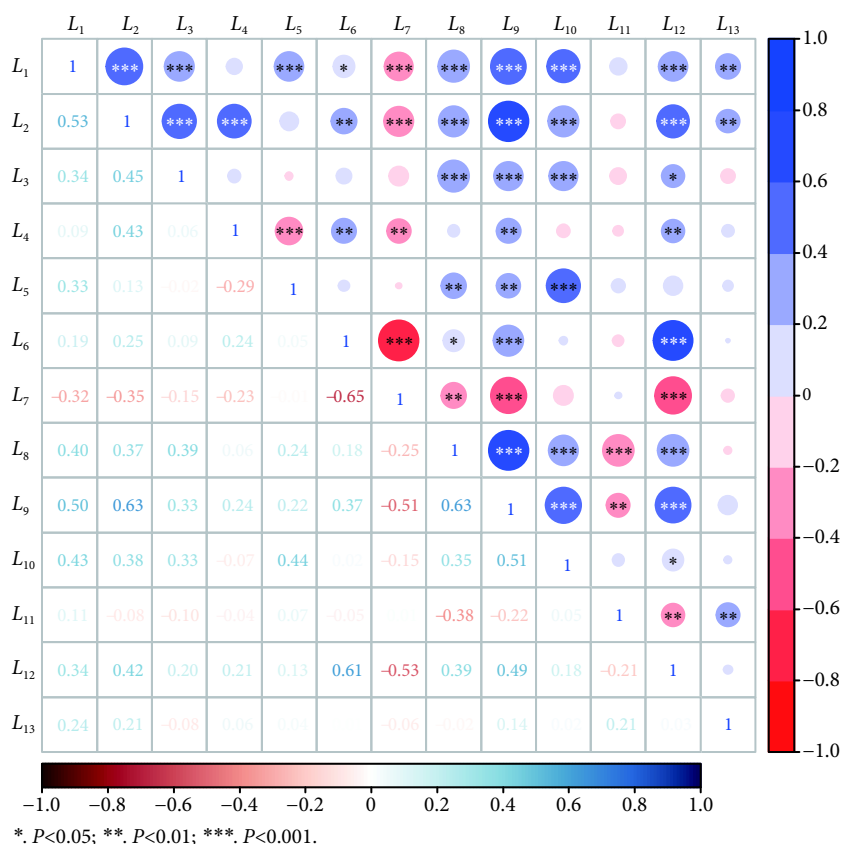


图4 体框特征间的相关性系数

Fig. 4 Correlation coefficient between shell frame characteristics

型 2 个。构建的单倍型网络图 (图 6) 显示, 厚壳贻贝的单倍型明显分为了两簇 (分别以 Hap-1 和 Hap-2 为中心), 各簇之内的单倍型碱基变异步数均较低, 但两簇之间的碱基变异步数达到了 101。本次样品未检测到 Hap-7 和 Hap-8 间的连接节点单倍型。由系统发育树 (图 7) 可知, 每个分支均包含来自野生和养殖的厚壳贻贝, 表明野生和养殖厚壳贻贝基本无分子水平上的遗传分化。

由 DNASP 分析可见, 养殖贻贝的  $H_d$  为 0.682, 明显低于野生贻贝 (0.894)。在两个群体中一共检测到 112 个多态位点, 其中简约信息位点在野生和养殖群体中的数量均达到 105。两个群体的  $\pi$  较为接近 (养殖群体为 0.087, 野生群体 0.089), 展现出较高的遗传多样性。

### 3 讨论

#### 3.1 野生和养殖厚壳贻贝的形态结构比较

壳形既是双壳贝类选育的重要指标, 也是实际销售过程中消费者推断其经济价值的重要判断依据。本研究中,  $L_1$ 、 $L_2$  代表的变量分别是壳宽、壳高, 其大小直接影响壳的整体外形。相同体长下野生厚壳贻贝的壳更宽、更厚 ( $P < 0.01$ ), 意味着野生群体形态可能更圆润, 而养殖群体相对更扁平。这与 Grefsrud 和 Oivind<sup>[17]</sup> 对巨海扇蛤 (*Pecten*

*maximus*) 的研究一致, 他们发现与同龄野生巨海扇蛤相比, 养殖海扇蛤的壳更脆、更小、更轻, 在应对潮汐和海浪时, 较大的壳质量及尺寸可以起到更有效的保护作用。 $L_{10}$ 、 $L_{12}$  是通过逐步判别筛选出的另两个重要变量, 分别表示壳背顶距离足丝孔和铰合部上端的距离。结合  $L_1$ 、 $L_7$ 、 $L_8$  与  $L_{11}$  的值, 可以看出野生厚壳贻贝壳宽顶 O 的位置更靠近前端, 它将壳面分为上 (四边形 AEOB)、下 (四边形 EOCD) 两部分, 养殖群体有宽大扁平的上部外壳, 而野生群体则有较为膨胀的下部外壳。通常来说, 扁平的壳形能减小水流阻力, 而厚重圆润的壳形使野生厚壳贻贝更能抵抗海浪的拍击。顾志峰等<sup>[18]</sup> 在对马氏珠母贝 (*Pinctada martensi*) 的研究中也发现大亚湾野生种群的贝体外形较凸, 而印度养殖种群的贝体外形显得扁平。 $L_4$  的大小代表了贻贝背角弯曲的程度,  $L_4$  越大, 贻贝的背角越不明显, 背缘呈弧形三角形。 $L_4$  与其他指标的相关性相对较低且有着极高的变异系数, 说明在后天的生长发育过程中, 背角可能更易受外界环境干扰。已有研究也报道了厚壳贻贝幼年个体背角很明显, 但随着生长会产生不同的变化<sup>[19]</sup>。

#### 3.2 野生和养殖厚壳贻贝的遗传多样分析

测序结果表明厚壳贻贝出现明显的碱基 A/T 倾向性 (A/T 占比达到 60%), 这与软体动物线粒体基因碱基组成特

表2 野生与养殖厚壳贻贝体框特征之间的主成分分析

Table 2 Principal component analysis of shell frame characteristics between wild and cultured *M. coruscus*

方差解释及载荷 Variance explanation and loading	主成分 Principal component			
	PC1	PC2	PC3	PC4
总方差解释 Total variance explanation				
特征根 Eigenvalue	4.217	1.823	1.473	1.262
差异解释率 Proportion of variance/%	32.441	14.022	11.328	9.707
累积解释率 Cumulative proportion of variance/%	32.441	46.463	57.791	67.498
因子载荷 Loading				
$L_1$	0.680	0.322	0.281	0.083
$L_2$	0.763	0.001	0.142	0.404
$L_3$	0.502	0.167	-0.255	0.416
$L_4$	0.308	-0.548	0.165	0.497
$L_5$	0.292	0.633	0.078	-0.482
$L_6$	0.544	-0.533	0.130	-0.453
$L_7$	-0.640	0.417	-0.180	0.314
$L_8$	0.675	0.186	-0.438	0.025
$L_9$	0.858	0.055	-0.066	0.042
$L_{10}$	0.545	0.585	0.004	-0.017
$L_{11}$	-0.184	0.188	0.776	-0.037
$L_{12}$	0.702	-0.329	-0.043	-0.309
$L_{13}$	0.142	0.092	0.652	0.192

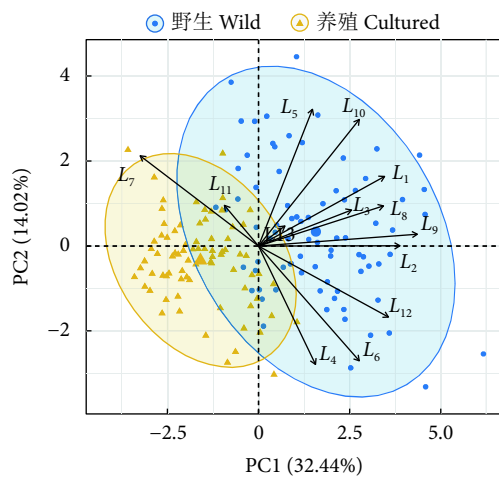


图5 野生与养殖厚壳贻贝主成分分析得分图

Fig. 5 Principal component scores of wild and cultured *M. coruscus*

点相一致<sup>[20-21]</sup>。遗传多样性是生物多样性的重要组成部分,其高低决定了物种的生存进化能力。本研究中野生与养殖厚壳贻贝呈现出高核苷酸多样性和单倍型多样性,其16S rRNA 核苷酸多样性均高于 0.08,大于四角蛤蜊 (*Mac-tra veneriformis*)、西施蛤 (*Coelomactra antiquate*)<sup>[22]</sup>、菲律宾

蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*)<sup>[23]</sup>,说明嵎泗厚壳贻贝种质资源保护较好,且野生群体的遗传多样性要高于养殖群体。系统发育结果显示所有厚壳贻贝形成了两个分支,但野生和养殖厚壳贻贝在每个分支均有出现,可能是因为它们之间存在基因流,说明单从遗传差异无法完全解释野生和养殖厚壳贻贝的形态差异。管成林等<sup>[8]</sup>、Shen 等<sup>[24]</sup>在对线粒体 *COI* 基因的研究中同样发现野生和养殖厚壳贻贝无明显的遗传分化。嵎泗养殖海域厚壳贻贝苗种部分引自福建,叶莹莹等<sup>[25]</sup>对福州、舟山、温州、宁德 4 个地理群体厚壳贻贝的 16S rRNA 序列分析发现,福州群体与其他群体间遗传距离较大,这可能是造成本研究中单倍型两簇间出现较大碱基差异的原因。

### 3.3 野生与养殖厚壳贻贝形态差异的解析

双壳贝类的壳表现出一种极强的表型可塑性<sup>[26]</sup>,这种可塑性可能是种内遗传变异所致<sup>[27-28]</sup>,也可以归因于某些环境因素,这是对栖息环境长期适应的结果<sup>[29-31]</sup>。本研究中,即使是距潮间带仅几百米的养殖厚壳贻贝,壳的形态也与野生群体有显著性差异,这可能是由波浪暴露影响所致。固着生物在生命周期会产生位移风险,这种风险随着

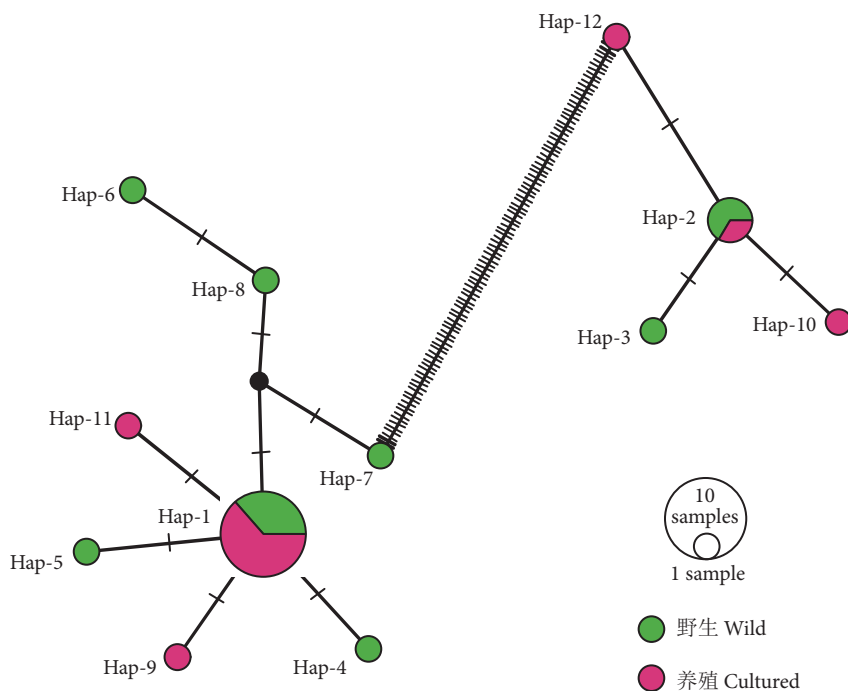


图6 野生与养殖厚壳贻贝 16S rRNA 基因的单倍型网络图

Fig. 6 Haploid network diagram of 16S rRNA gene in wild and cultured *M. coruscus*

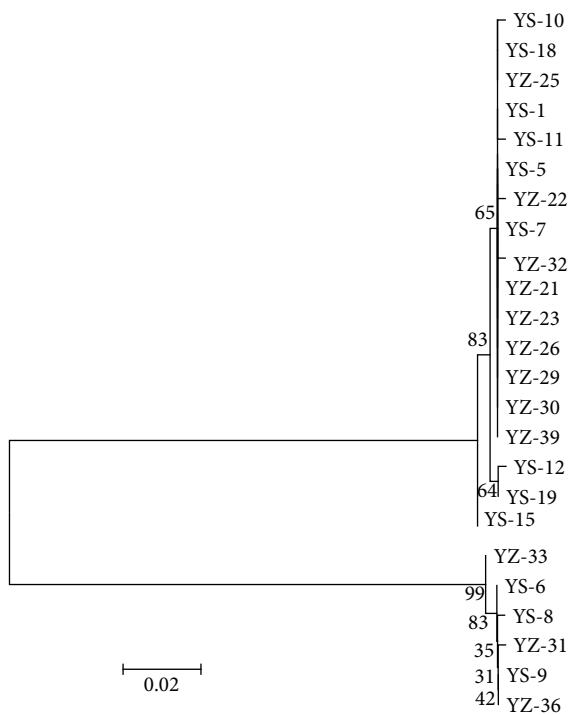


图7 邻接距离法构建的厚壳贻贝 16S rRNA 系统发育树

注：YS 代表野生厚壳贻贝，YZ 代表养殖厚壳贻贝。

Fig. 7 Neighbour-joining tree based on 16S rRNA gene of *M. coruscus*

Note: YS represents wild *M. coruscus*, and YZ represents cultured *M. coruscus*.

流速的增加而上升，随着贻贝韧性或附着强度的增加而降低<sup>[32]</sup>。很多学者就海洋波浪作用对贻贝壳形态的影响做了研究，发现波浪暴露区域的贻贝有着和非波浪暴露区贻贝

不同的壳分泌模式（形状和厚度）。例如 Steffani 和 Branch<sup>[33]</sup>发现紫贻贝 (*M. galloprovincialis*) 在受到波浪中度暴露时的生长速度及壳厚度，大于无暴露和高强度波浪暴露时。Akester和 Martel<sup>[34]</sup>发现暴露在潮间带中的贻贝 (*M. trossulus*) 的壳高/宽比较低，还有更坚固的铰合齿和更厚的韧带。因此，波浪暴露可能是影响贻贝壳形态的重要环境因素。

造成野生与养殖贻贝形态差异的另一个原因可能是生长密度导致的营养条件差异。虽然已有研究表明过高的生长密度不会使贻贝受到物理上的直接挤压、磨损<sup>[35]</sup>，但大面积的养殖活动直接影响了海区的水动力结构<sup>[36]</sup>。温英<sup>[37]</sup>通过对流场的模拟证实了枸杞岛贻贝养殖区的水层流速会受到贻贝串阻力的衰减作用。由于贻贝是滤食性生物，水流交换强度会直接影响其栖息地的饵料质量和数量。相较于流速平缓的养殖区，潮间带的营养物质扩散更快，沿岸的波浪可以快速弥补贻贝附着地的颗粒有机物消耗<sup>[38]</sup>。这种营养条件差异会影响贝类的外壳形态，如 Watanabe 和 Katayama<sup>[39]</sup>发现栖息于营养条件较好环境中的菲律宾蛤仔个体比生长于贫营养环境中的个体壳宽更小，壳形椭圆化程度更高。由于双壳贝类的壳形与其出肉率关系密切<sup>[40-41]</sup>，在波浪作用频繁的潮间带，食物供应的增加可能使厚壳贻贝生长更快，进而可以分配更多的能量用于软组织发育。但与此同时，海水动力也可能增加厚壳贻贝对足丝附着强度和贝壳厚度的需求，且贻贝的摄食率在食物浓度达到一定阈值时会保持相对稳定，新陈代谢加

快, 消耗的能量也越来越多<sup>[42]</sup>。因此推测在一定阈值内, 波浪暴露和营养条件会对贻贝生长产生积极影响, 但过度的波浪作用和过快的水流速度则可能产生负面影响。

#### 4 结论

综上所述, 枸杞岛海域厚壳贻贝种质资源保护较好, 但不同的生长环境使浮筏养殖厚壳贻贝较同龄野生群体的贝壳更为轻薄, 16S rRNA 基因测序结果证明了这种形态差异不是由遗传造成。本研究所选取的 13 个体框特征指标中有 11 个存在显著性差异, 关键判别变量为  $L_1$  (壳宽)、 $L_2$  (壳高)、 $L_{10}$  (壳顶至铰合部上端距离) 和  $L_{12}$  (壳顶至足丝孔距离), 这 4 个体框特征可作为评价厚壳贻贝整体形状、生长潜力和营养状况的重要指标。生长密度和水动力差异可能是造成厚壳贻贝野生和养殖群体形态差异的主要原因, 今后可从这两个角度出发, 合理规划枸杞岛贻贝筏架区的布局。

#### 参考文献:

- [1] 常抗美, 吴剑锋. 厚壳贻贝人工繁殖技术的研究 [J]. 南方水产, 2007, 3(3): 26-30.
- [2] 张义浩, 赵盛龙. 嵊山列岛贻贝养殖种类生长发育调查 [J]. 浙江海洋学院学报 (自然科学版), 2003, 22(1): 67-73.
- [3] 吴剑锋, 顾庆庭, 常抗美, 等. 厚壳贻贝人工育苗中幼虫合理培养密度的探讨 [J]. 动物学杂志, 1982, 17(1): 19-22.
- [4] SÉBASTIEN L G, HAMILTON D J, BARBEAU M A. Effect of mussel density and size on the morphology of blue mussels (*Mytilus edulis*) grown in suspended culture in Prince Edward Island, Canada[J]. Aquaculture, 2005, 249(1/2/3/4): 265-274.
- [5] HOBDAV A. Body-size variation exhibited by an intertidal limpet: influence of wave exposure, tidal height and migratory behavior[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1995, 189(1/2): 29-45.
- [6] BOULDING E G, HOLST M, PILON V. Changes in selection on gastropod shell size and thickness with wave-exposure on north-eastern pacific shores[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1999, 232(2): 217-239.
- [7] 刘硕博, 唐祖蓉, 申望, 等. 基于 F 型 mtDNA D-Loop 的厚壳贻贝 (*Mytilus coruscus*) 群体遗传多样性研究 [J]. 海洋与湖沼, 2019, 50(2): 355-364.
- [8] 管成林, 李继姬, 郭宝英. 基于线粒体 CO I 基因比较分析野生与养殖厚壳贻贝种群的遗传多样性 [J]. 安徽农业科学, 2012, 40(13): 7660-7662.
- [9] 刘二田, 陈一, 战欣, 等. 企鹅珍珠贝微卫星标记与生长性状的相关性研究 [J]. 水生生物学报, 2023, 47(2): 332-338.
- [10] YUAN Y, KANNO M, KIJIMA A. Genetic diversity of wild populations of *Chlamys farreri* in Japan and their genetic relationship with cultured stocks in China[J]. Aquaculture, 2012, 370: 109-122.
- [11] HE X, WU F C, QI H G, et al. Whole-genome resequencing reveals the single nucleotide polymorphisms associated with shell shape in *Crassostrea gigas*[J]. Aquaculture, 2022, 547: 737502.
- [12] 徐义平, 许会宾, 金凯, 等. 浙江乐清湾缢蛭的形态和遗传多样性 [J]. 上海海洋大学学报, 2017, 26(1): 31-37.
- [13] 程亮, 徐善良, 刘飞, 等. 厚壳贻贝性腺不同发育时期肥满度与生化成分分析 [J]. 海洋学研究, 2013, 31(4): 68-73.
- [14] 白晓倩, 杨阳, 邹李昶, 等. 嵊泗列岛海域三种贻贝体框特征的差异 [J]. 海洋与湖沼, 2014, 45(5): 1078-1084.
- [15] 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(4): 75-82.
- [16] SUDHIR K, GLEN S, KOICHIRO T. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. Mol Biol Evol, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [17] GREFSRUD E S, OIVIND S. Comparison of shell strength in wild and cultured scallops (*Pecten maximus*)[J]. Aquaculture, 2006, 251(2/3/4): 306-313.
- [18] 顾志峰, 王嫣, 石耀华, 等. 马氏珠母贝两个不同地理种群的形态性状和贝壳珍珠质颜色比较分析 [J]. 渔业科学进展, 2009, 30(1): 79-86.
- [19] 张义浩. 浙江沿海贻贝种类形态比较研究 [J]. 渔业经济研究, 2009(2): 14-20.
- [20] FRANK E. ANDERSON. Phylogeny and historical biogeography of the loliginid squids (Mollusca: Cephalopoda) based on mitochondrial DNA sequence data[J]. Mol Phylogenet Evol, 2000, 15(2): 191-214.
- [21] 孙明媛, 朱锐, 孙晓晴, 等. 基于 CO I 和 16S rRNA 的库页岛马珂蛤遗传多样性和分子系统进化研究 [J]. 中国水产科学, 2018, 25(4): 891-901.
- [22] 闫永斌, 葛玉双, 程起群, 等. 基于线粒体 16S rRNA 和 CO I 序列的江苏启东海域 4 种贝类遗传多样性分析 [J]. 海洋渔业, 2022, 44(2): 201-208.
- [23] 谭月, 邱明, 李金龙, 等. 基于线粒体 16S rRNA 基因序列的中日朝菲律宾蛤仔野生群体遗传多样性分析 [J]. 大连海洋大学学报, 2021, 36(1): 127-134.
- [24] SHEN Y B, LI J L, FENG B B. Genetic analysis of cultured and wild populations of *Mytilus coruscus* based on mitochondrial DNA[J]. Zool Res, 2009, 30(3): 240-246.
- [25] 叶莹莹, 徐梅英, 郭宝英, 等. 我国东南沿海厚壳贻贝 (*Mytilus coruscus*) 4 个群体线粒体 16S rRNA 序列及遗传结构分析 [J]. 海洋与湖沼, 2012, 43(2): 376-381.
- [26] MONTAUDOUIN X D, LUCIA M, BINIAS C, et al. Why is Asari (=Manila) clam *Ruditapes philippinarum* fitness poor in Archon Bay: a meta-analysis to answer?[J]. Estuar Coast Shelf Sci, 2016, 179(20): 226-235.
- [27] HAN Z Q, LI Q, LIU S K, et al. Genetic variability of an orange-shell line of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* during artificial selection inferred from microsatellites and mitochondrial CO I sequences[J]. Aquaculture, 2019, 508: 159-166.
- [28] SMKA B, AMSB C. Molecules and morphology reveal 'new' widespread North American freshwater mussel species (Bivalvia:

- Unionidae)[J]. *Mol Phylogenet Evol*, 2019(138): 182-192.
- [29] 祁剑飞, 宁岳, 巫旗生, 等. 菲律宾蛤仔 5 个地理群体形态差异分析 [J]. *应用海洋学学报*, 2020, 39(2): 189-194.
- [30] 董建宇, 胡成业, 杨晓龙, 等. 基于 GLM 模型 Logistic 回归的菲律宾蛤仔地理群体判别 [J]. *海洋与湖沼*, 2018, 49(6): 1318-1324.
- [31] 仇佳文, 唐君玮, 张远帆, 等. 皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai*) 不同群体贝壳形态和相对生长变异研究 [J]. *海洋与湖沼*, 2022, 53(6): 1539-1547.
- [32] MOESER G M, CARRINGTON E. Seasonal variation in mussel byssal thread mechanics[J]. *J Exp Biol*, 2006, 209(10): 1996-2003.
- [33] STEFFANI C N, BRANCH G M. Growth rate, condition, and shell shape of *Mytilus galloprovincialis*: responses to wave exposure[J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 2003, 246(6): 197-209.
- [34] AKESTER R J, MARTEL A L. Shell shape, dysodont tooth morphology, and hinge-ligament thickness in the bay mussel *Mytilus trossulus* correlate with wave exposure[J]. *Can J Zool*, 2000, 78(2): 240-253.
- [35] FRCHETTE M, DESPLAND E. Impaired shell gaping and food depletion as mechanisms of asymmetric competition in mussels [J]. *Ecoscience*, 1999, 6(1): 1-11.
- [36] 杨冠林. 典型贻贝浮筏式养殖海域物理-生态-贝类生长耦合数值模型的构建及应用 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2022: 2-8.
- [37] 温英. 贻贝浮筏养殖设施水流阻力的量化及其生态效应研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2021: 16-20.
- [38] FRÉCHETTE M, BOURGET E. Energy flow between the pelagic and benthic zones: factors controlling particulate organic matter available to an intertidal mussel bed[J]. *Can J Fish Aquat Sci*, 1985, 42(6): 1158-1165.
- [39] WATANABE S, KATAYAMA S. Relationships among shell shape, shell growth rate, and nutritional condition in the Manila clam (*Ruditapes philippinarum*) in Japan[J]. *J Shellfish Res*, 2014, 29(2): 353-359.
- [40] 李杰. 日本镜蛤 (*Dosinorbis japonica*) 数量性状、营养成分及幼体生态学研究 [D]. 大连: 大连海洋大学, 2018: 23-30.
- [41] 张学开, 范超, 霍忠明, 等. 不同群体长牡蛎壳型相关性状的比较分析 [J]. *中国海洋大学学报 (自然科学版)*, 2021, 51(1): 1-9.
- [42] 江勇波. 企鹅珍珠贝摄食生理能量学研究 [D]. 海口: 海南大学, 2014: 12-14.