

# 利用贝壳颜色标记分析皱纹盘鲍苗种繁育中的无意识选择

李加琦<sup>1,2</sup>, 刘晓<sup>1</sup>

(1. 中国科学院 海洋研究所, 山东青岛 266071; 2. 中国科学院 研究生院, 北京 100039)

**摘要:** 利用皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)贝壳颜色与摄食饵料相关且贝壳生成后色调不再改变等特点, 以幼鲍贝壳顶部摄食底栖硅藻期间形成的褐红色部位的壳长指示它剥离时的壳长, 将贝壳颜色用作形态标记, 首次在皱纹盘鲍苗种繁育中观察到无意识选择。在投喂人工配合饵料后的第3天与第30天, 分别从遗传背景不同的8组样本中取样测量每个幼鲍的褐红色部位壳长, 分析每组幼鲍摄食配合饵料后不同时间所测褐红色部位壳长的平均值差异及相关统计学参数。结果表明, 其中的7组在第30天时所测剥离时壳长平均值显著或极显著大于同组幼鲍在第3天时的数值; 同时, 6组样本在30d时的剥离壳长方差、极差小于3d时同组样本的数值, 所有组合30d剥离时壳长变异系数等于或小于3d时同组样本的数值。上述结果提示, 在投喂人工配合饵料后的第3天至第30天期间, 剥离规格小的幼鲍淘汰率高于剥离规格大者, 表明现行皱纹盘鲍育苗工艺对幼鲍在剥离前食用硅藻期间的生长速度进行了一次较高强度的选择, 这是苗种管理中无意识选择行为导致的结果。

**关键词:** 皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*); 育种; 无意识选择; 贝壳颜色

中图分类号: Q173; Q33

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2011)10-0022-05

选择育种是按既定目标、有意识地针对特定性状开展的人工育种过程。然而, 除方向明确、有意识进行的选择操作外, 实际生产和研究中也可能存在无意识的选择行为。无意识选择(unintentional selection)主要指生产和研究的日常管理、操作过程中存在的计划外、无意识的筛选或淘汰行为<sup>[1-2]</sup>, 这种无意识的筛选可能影响研究结果的可信度。在长寿果蝇的选择<sup>[3]</sup>、放流鱼类的野外生存能力<sup>[4]</sup>等研究中已证明确实存在无意识选择。

皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)的贝壳颜色受遗传控制<sup>[5-6]</sup>, 同时也受食物影响<sup>[6]</sup>。野生型皱纹盘鲍摄食底栖硅藻和红藻期间形成的贝壳呈褐红色, 摄食褐藻、绿藻及添加有褐藻藻粉的配合饵料期间形成的贝壳呈绿色<sup>[6-7]</sup>。

皱纹盘鲍贝壳某个区域的颜色取决于该区域贝壳生成期间的食物类型, 且贝壳生成之后色调不再改变。因此, 在每个皱纹盘鲍的贝壳上记录了该个体成长中的一些经历: 贝壳的颜色体现了它在某个阶段所摄取的食物类型, 生长纹记录了当时的食物供应、水温、盐度等环境情况。由于皱纹盘鲍的贝壳颜色可反映它摄食饵料的类型、且幼鲍对饵料转换反应快速, 据此, 在本研究中我们将贝壳颜色作为形态标记, 通过对投喂人工配合饵料后第3天与第30天这2个时间点幼鲍贝壳顶部褐红色

部位的壳长平均值进行比较, 分析幼鲍在剥离后的第一次食物转换期间是否受到无意识选择。

## 1 材料与方法

### 1.1 繁育用亲本

本实验共使用3个选育群体(Pa、Pb、Pc)和1个杂交子一代(CJ-F<sub>1</sub>)作繁殖亲本。其中, 选育群体 Pa 和 Pc 从大连市水产研究所 1997 年生产的苗种中向不同方向选育得到, Pb 从该所 1998 年繁育的苗种中开始选育; 杂交子代(CJ-F<sub>1</sub>)是山东寻山渔业集团总公司以中国土著皱纹盘鲍为母本、日本皱纹盘鲍为父本繁殖的杂交 F<sub>1</sub>。

### 1.2 交配方式

将亲本 Pa 与 Pc、Pb 与 Pc 分别进行双列杂交, 共制备 AA、BB、CC 等群体内交配的 3 个群体及 AC、CA、BC、CB 等群体间杂交的 4 个组合, 加上以 CJ-F<sub>1</sub> 母本, Pc 群体为父本的三元杂交子代, 如上共繁育了 8 个群体。

收稿日期: 2011-05-16; 修回日期: 2011-06-20

基金项目: 国家 863 计划(2006AA10A407)、江苏省科技支撑计划(BE2010320)

作者简介: 李加琦(1982-), 男, 山东济南人, 博士研究生, 主要从事贝类研究; 刘晓, 通信作者, 研究员, E-mail: liuxiao@qdio.ac.cn

### 1.3 繁殖

按常规流程进行: 将雌、雄亲鲍分别放入催产槽中, 使用预热至 23℃ 的紫外线过滤海水刺激种鲍排放配子, 分别收集精子和卵子, 按表 1 的组配策略分别进行人工授精。受精卵按常规工艺孵化, 约 12 h 后选出担轮幼虫, 培育 60 h 后将后期面盘幼体投放到 1m×9 m 的水泥池中, 用预先培育底栖硅藻的透明波纹板采苗。

表 1 群体来源和编号

Tab. 1 The genetic origin of the experimental populations

母本	父本		
	子代群体		
	Pa	Pb	Pc
Pa	AA	-	AC
Pb	-	BB	BC
Pc	CA	CB	CC
CJ-F <sub>1</sub>	-	-	F <sub>1</sub> -C

采苗后约 60 d, 使用大蒜汁稀释液刺激幼鲍将其从透明波纹板剥离下来, 转移到池底, 以 20 cm×35 cm 的瓦片作附着基继续培育, 从剥离次日开始投喂含海带粉的人工配合饵料。

### 1.4 数据的采集及统计分析

幼鲍取食底栖硅藻时形成的贝壳颜色呈褐红色, 但摄食含海带或裙带菜粉的人工配合饵料时形成的贝壳呈绿色。从附着有硅藻的波纹板剥离下来、转为投喂人工配合饵料 3 d 后, 大部分幼鲍的前端可见有新生长的、呈鲜艳绿色的贝壳。

投喂配合饵料后第 3 天, 从每个群体随机取约 100 个个体, 测量每个幼鲍贝壳顶部褐红色部位的壳长值, 统计分析每组样本剥离时的壳长平均值及方差、变异系数等。

投喂人工配合饵料后 30 d, 再次从每个群体中随机取约 100 个幼鲍, 测量它们的剥离时壳长。

分别计算每组幼鲍在 3 d 和 30 d 时的平均剥离壳长。采用 SAS 9.0 的单因素方差分析(One-way ANOVA)检验每组样本在这 2 次测得的剥离壳长平均值之间是否存在显著性差异。

## 2 结果

### 2.1 幼鲍剥离后不同培育时间的贝壳形态和颜色

图 1 示幼鲍剥离后摄食配合饵料不同时间的贝

壳形态与颜色。图 1-A 示幼鲍剥离时的贝壳颜色, 幼鲍在摄食硅藻期间生成的贝壳呈褐红色; 图 1-B 为投喂配合饵料后第 7 天的幼鲍, 贝壳顶部呈褐红色, 是剥离前摄食硅藻期间生成的, 贝壳前端边缘呈绿色的部分是摄食配合饵料后新生长形成的, 新生成的贝壳前缘绿色部分与该个体贝壳顶部原摄食底栖硅藻期间形成的褐红色部分差异显著且界限清晰; 图 1-C 为投喂配合饵料后 30 d 的幼鲍, 贝壳的绿色部分较 7 d 时显著增大且贝壳的厚度增加、颜色加深, 但贝壳顶部剥离前摄食硅藻期间生成的褐红色部分仍保持生成当时的形态和颜色; 图 1-D 是 7 月龄的幼鲍, 在它剥离后, 曾数次投喂过添加红藻粉的配合饵料, 取食红藻粉时在壳面上形成褐红色环纹。由图 1-D 可见在摄食配合饵料的 5 个月期间, 个体生长迅速, 绿色部分占据了贝壳的大部分区域, 但贝壳顶部的褐红色部分仍然清晰可见。

综合图 1 中 4 个阶段幼鲍的贝壳形态与颜色,

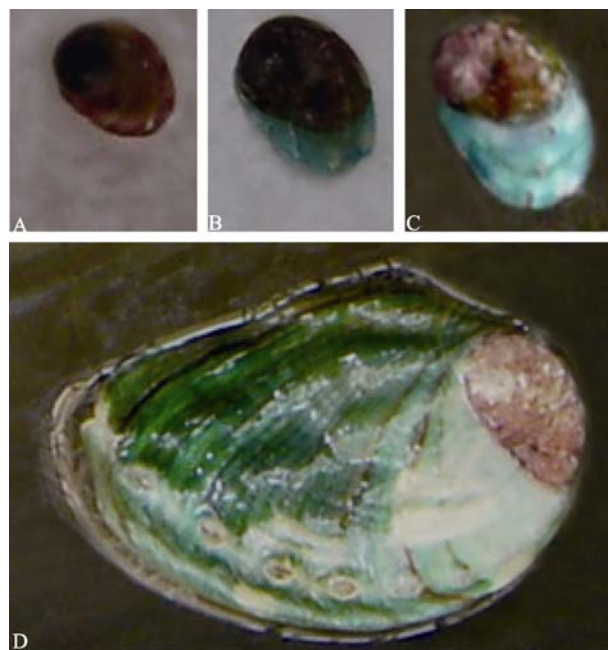


图 1 不同培育时间幼鲍的贝壳形态和颜色

Fig. 1 The morphology and shell color variations in Pacific abalone seeds

1-A. 刚剥离时的幼鲍, 摄食硅藻形成的贝壳呈褐红色; 1-B. 幼鲍摄食含海带粉的配合饵料 7 d 后, 贝壳前缘新生成的部位呈绿色; 1-C. 用含海带粉的配合饵料喂养 30 d 的幼鲍; 1-D. 7 月龄幼鲍, 摄食配合饵料 5 个月后, 贝壳顶部摄食硅藻期间形成的褐红色区域依然清晰可见

1-A. juvenile abalones, they produce brown shells while feed on benthic diatom; 1-B. juvenile abalones after taking artificial diet contains kelp for seven days; 1-C. juvenile abalones fed with artificial diets for 30 days; 1-D. seven months old abalone seeds

可见: (1)皱纹盘鲍的贝壳呈右旋生长, 生长区域主要在贝壳的前端; (2)幼鲍贝壳的颜色可快速反映所摄取食物类型的变化; (3)摄食不同饵料生成的贝壳色调不同, 但贝壳在形成之后, 色调将终身不变。

## 2.2 剥离后 3 d 和 30 d 幼鲍褐红色部位壳长的统计分析

8 组供试样本在摄食配合饵料 3 d 与 30 d 所测的幼鲍剥离时壳长及其统计数据如表 2 示。由表 2 可见所有组合在投喂配合饵料后 30 d 时测得的褐红色部位壳长平均值均大于换饵后 3 d 时的测定值。统计分析表明, BB、CC、AC、BC、CB、F<sub>1</sub>-C 组在换饵后 2 个时间的初始壳长平均值差异达到极显著水平

( $P < 0.001$ ), AA 组换饵后不同时间初始壳长平均值差异显著( $P < 0.05$ ), 仅 CA 组的 2 次测量间差异未达显著水平( $P > 0.05$ )。除 BB 和 CA 组外, 其他 6 组在转换饵料后 30 d 的极差都低于换饵后 3 d; 除 BB 组外, 其余组在转换饵料后 30 d 时的变异系数均低于换饵后 3 d, 表明至剥离后 30 d 时, 存活幼鲍的贝壳褐红色部位壳长更趋于一致。

剥离后 30 d 存活幼鲍的褐红色部位壳长平均值大于同组 3 d 时的平均值, 且剥离后 30 d 时存活幼鲍的贝壳褐红色部位壳长离差变小。综合前述 2 项结果可推知: 在剥离后的第 3 天至第 30 天期间, 剥离规格小的幼鲍被淘汰的比例高于剥离规格大的。这可能是皱纹盘鲍人工繁育工艺该阶段日常管理操作中“无意识选择”的结果。

表 2 摄食人工配合饵料不同时间幼鲍壳顶褐红色部位壳长及其方差、极差及变异系数

Tab. 2 The variance, range and coefficient of variation of the brownish shell length after feeding the artificial diets for 3 and 30 days

组合	培育时间(d)	剥离时壳长(mm)					样本量(个)
		均值 <sup>a</sup>	方差	极差	变异系数		
AA	3	5.76 <sup>a</sup>	1.10	5.67	0.18	91	
	30	6.20 <sup>b</sup>	0.93	5.15	0.16	94	
BB	3	6.09 <sup>a</sup>	0.72	5.19	0.14	92	
	30	6.93 <sup>b</sup>	0.95	5.57	0.14	100	
CC	3	5.41 <sup>a</sup>	1.82	5.93	0.25	105	
	30	6.80 <sup>b</sup>	1.28	5.79	0.17	100	
AC	3	5.58 <sup>a</sup>	0.91	4.46	0.17	96	
	30	6.51 <sup>b</sup>	0.84	3.67	0.14	100	
CA	3	6.49 <sup>a</sup>	1.58	7.57	0.19	83	
	30	6.66 <sup>a</sup>	1.06	7.90	0.15	95	
BC	3	5.56 <sup>a</sup>	0.95	5.06	0.18	100	
	30	6.67 <sup>b</sup>	0.88	4.78	0.14	100	
CB	3	5.45 <sup>a</sup>	0.74	4.38	0.16	96	
	30	6.43 <sup>b</sup>	0.78	3.95	0.12	101	
F <sub>1</sub> -C	3	5.99 <sup>a</sup>	1.05	5.75	0.17	95	
	30	6.94 <sup>b</sup>	0.92	5.09	0.14	100	

注: \*右上角不同字母表示相同组在转换饵料后 3 d 与 30 d 的剥离时壳长平均值具显著差异

## 3 讨论

按我国北方现行的皱纹盘鲍苗种培育工艺, 催产、授精、孵化等培育环节在相对小、便于移动的容器中进行。受精后第 3 天, 发育到匍匐幼体阶段后被投放到水泥池中, 用预先培育有底栖硅藻的透明波纹板采苗。受精后约 1 周, 完成变态成为围口壳幼体, 并开始摄食。完成变态的幼体摄食舟形藻、卵形

藻等底栖单细胞硅藻。6~10 周后, 壳长 3~6 mm 的幼鲍从透明波纹板转移下来, 这个过程称剥离, 生产上用“剥离规格”描述剥离时幼鲍的壳长。剥离后的幼鲍转而投喂人工配合饵料, 配合饵料中含海带、裙带菜等褐藻、或江蓠等红藻的藻粉<sup>[8]</sup>。因此, 幼鲍的饵料在剥离后发生了改变, 从硅藻改换成配合饵料。而摄食配合饵料 3 d 后, 幼鲍的贝壳就呈现褐红色与绿色 2 种颜色: 褐红色的在壳顶部位, 是剥离前

摄食硅藻时生成的；绿色的在贝壳的前缘部位，是摄食配合饵料后新生成的。

投喂配合饵料后 2~3 d 幼鲍的贝壳前缘即已形成肉眼可见的绿色，表明幼鲍在摄食配合饵料后很快停止分泌褐红色相关物质到贝壳中，因此，每个个体贝壳顶部褐红色部位的壳长可反映该个体剥离时的壳长。而如图 1-B、1-C、1-D 所示，幼鲍贝壳上褐红色与绿色区域界限分明，这给我们测量贝壳顶部的褐红色区域壳长提供了便利；且在我们的研究中已证明贝壳形成后，已生成的贝壳表面积不再扩展<sup>[9]</sup>，比如每个个体剥离前摄食底栖硅藻期间形成的褐红色部位的范围在幼鲍、成鲍等阶段都不再改变，这使通过测量贝壳顶部褐红色区域的壳长来追踪幼鲍剥离时的规格成为可能。

在以往的生产中已观察到剥离时间是影响幼鲍存活率的一个关键因素。为此，在 10 多年前，生产中已普遍采用转板等工艺延长幼鲍摄食底栖硅藻的时间，推迟剥离<sup>[10]</sup>。该项工艺改革大幅提高了幼鲍的生长速度和存活率，但以往的数据无法确定该工艺提高幼鲍存活率的主要原因是由于剥离时幼鲍的日龄增长还是剥离时幼鲍的规格增大，或者这两者各占多少比重。本研究的结果明确了其中的一个问题，即相同日龄的幼鲍，剥离时规格大则存活率高。

本研究的初步实验表明，在皱纹盘鲍的人工繁育中存在无意识选择：剥离后的一个月，同批次繁育的苗种中剥离规格小的幼鲍的淘汰率高于剥离规格大的苗种；而在实际生产中，在剥离后这个阶段，任何育苗厂家都没有淘汰某些特定苗种的意图，也没有任何操作流程去有意实施该项选择。因此，这不是一个有目的、有意识的选择，而是实施现阶段育苗工艺的自然结果——按该工艺操作时，无意间对幼鲍在食用硅藻期间的生长速度进行了一次较强的选择，这种无意识选择行为使早期生长速度快的幼鲍有更多的存活机会。对于以生长速度快为目标的选择育种而言，这种无意识选择对研究结果不会产生显著的不良影响；但对于一些基础研究而言，繁育工艺中的这种无意识选择将导致研究结果偏离真实数值，因此在相关研究中应引起重视、设法避免。

一些无意识的定向选择可能在确定亲本和培育过程中即已发生，比如在果蝇的培养中发现，性早熟果蝇相对于晚熟果蝇所产的卵更可能被收集、保留并进入下一轮繁殖，这在不经意间给了性成熟时间早的亲本更多的繁衍机会，无意间对果蝇的产卵

时间这一性状进行了定向选择，该并非出自本意的操作可能影响果蝇产卵期相关研究的结果<sup>[3]</sup>。而在鲍繁育过程中，也存在类似现象，比如我们在实际生产中观察到规格大、鲍龄高则生殖腺发育成熟所需的有效积温相对更高，同时催产过程中配子排放所需的时间也相对更长。因此，如果不特别注意防范，则生产中体型大、鲍龄高的亲本反倒不如体型小、相对年轻的亲本贡献的配子多，甚至前者可能没有机会参与繁殖，若如此，则这些生长速度快、寿命长的亲本将在无意间被淘汰。我们虽已注意到这些现象，但相关的实验性研究尚很欠缺，希望本文的尝试性研究工作能引起对海洋动物生产和研究中无意识选择行为的关注。

致谢：本研究繁育相关工作在荣成海洋珍品有限公司和荣成亿祥水产养殖有限公司进行，特表谢忱。

参考文献：

- [1] Taris N, Batista F M, Boudry P. Evidence of response to unintentional selection for faster development and inbreeding depression in *Crassostrea gigas* larvae[J]. Aquaculture, 2007, 272: S69-S79.
- [2] Artamonova V S, Makhrov A A. Unintentional genetic processes in artificially maintained populations: Proving the leading role of selection in evolution[J]. Russ J Genet, 2006, 42: 234-246.
- [3] Partridge L, Prowse N, Pignatelli P. Another set of responses and correlated responses to selection on age at reproduction in *Drosophila melanogaster*[J]. P Roy Soc Lond B Bio, 1999, 266: 255-261.
- [4] Hutchings J A, Fraser D J. The nature of fisheries- and farming-induced evolution[J]. Mol Ecol, 2008, 17: 294-313.
- [5] Kobayashi T, Kawahara I, Hasekura O, et al. Genetic control of bluish shell color variation in the Pacific abalone, *Haliotis discus hannai*[J]. J Shellfish Res, 2004, 23: 1153-1156.
- [6] Liu X, Wu F C, Zhao H E, et al. A novel shell color variant of the Pacific abalone *Haliotis discus hannai* Ino subject to genetic control and dietary influence[J]. J Shellfish Res, 2009, 28: 419-424.

- [7] 陈木, 卢豪魁, 陈世杰, 等. 皱纹盘鲍人工育苗的初步研究[J]. 动物学报, 1977, 23: 35-46.
- [8] 聂宗庆, 王素平, 燕敬平, 等. 鲍科学养殖百问百答 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2011: 1-149.
- [9] 李加琦. 皱纹盘鲍配套杂交系统的建立、评价及应用 [D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2011.
- [10] 赵洪恩, 张金世. RHD 鲍育苗新技术的研究[J]. 中国水产, 2000, 10: 42-45.

## Unintentional selection during seed culture in the Pacific abalone, *Haliotis discus hannai* Ino

LI Jia-qi<sup>1, 2</sup>, LIU Xiao<sup>1</sup>

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

**Received:** May, 16, 2011

**Key words:** *Haliotis discus hannai*; breeding; unintentional selection; shell color; morphological marker

**Abstract:** Selective breeding is one kind of artificial selection which is carried out intentionally. There also exists unintentional process during intentional selective breeding. The aim of this study was to determine if there existed unintentional selection on Original Shell Length (OSL, as indicated by brown shell color) during subsequent seed culture in the Pacific abalone (*Haliotis discus hannai* Ino). As the Pacific abalone juveniles produce brown shells during their early stage when they feed on benthic diatom right after metamorphosis but their shell color changes to green when fed with artificial diets during subsequent seed culture stage, we compared the average OSL on the 3<sup>rd</sup> (the beginning shell length, BSL) and 30<sup>th</sup> (the final shell length, FSL) day after feeding with the artificial diets. In 7 out of 8 groups of Pacific abalone with identical genetic origin, the average FSL was significantly larger than average BSL. Meanwhile, the standard deviation and range of the FSL were smaller than those of the corresponding BSL in six groups. The coefficients of variation of all the eight groups of FSL were smaller than those of BSL. Obviously, more juveniles with small OSL were unintentionally lost during the seed culture stage.

(本文编辑: 张培新)