

研究简报

长牡蛎四种壳色选育系壳色性状的量化分析*

宋俊霖, 李琪**, 孔令锋

(海水养殖教育部重点实验室(中国海洋大学), 山东 青岛 266003)

摘要: 壳色是长牡蛎(*Ostrea edulis*)重要的可遗传经济性状,对壳色进行量化分析可为长牡蛎壳色判定提供有效方法。本研究运用国际照明委员会(CIE)颜色模型评估了黑壳、紫壳、白壳和金壳 4 个长牡蛎选育群体以及 1 个普通养殖群体的贝壳颜色参数(L*, a*, b*)。对比壳色参数,结果显示,L*, a*, b* 值的方差均小于普通养殖群体,表明经过继代选育,纯化的壳色已经得到较稳定的遗传。通过主成分分析,从 3 个参数中提取了 2 个主成分(PC1 和 PC2),分别解释了 53.09% 和 38.89% 变异,PC1 解释大部分变异且 PC1 中参数, a* 负荷值最大,表明影响壳色不同的主要因素是参数, a*。通过逐步判别法分析黑壳、紫壳、白壳和金壳长牡蛎群体,建立了 4 个判别方程,4 种壳色综合判别准确率为 96.05%,说明该判别方程在实际应用时参考价值较大。

关键词: 长牡蛎;壳色;量化分析;判别分析

中图分类号: S968.3

文献标志码: A

文章编号: 1672-5174(2018)01-025-06

DOI: 10.16441/j.cnki.hdx.20170053

引用格式: 宋俊霖, 李琪, 孔令锋. 长牡蛎四种壳色选育系壳色性状的量化分析[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2018, 48(1): 25-30.

SONG Jun-Lin, LI Qi, KONG Ling-Feng. A quantitative analysis of four shell color strains of Pacific oyster (*Ostrea edulis*) [J]. Periodical of Ocean University of China, 2018, 48(1): 25-30.

海洋贝类中普遍存在壳色多态性。丰富多彩的壳色品种在受到消费者青睐的同时也提高了商品的经济价值,颜色已成为一种重要的经济性状。大量研究表明,壳色主要由遗传因素决定^[1-2],并且与生长、存活等性状有密切关联^[3-6]。因此,壳色作为一种可稳定遗传的性状,已经成为贝类遗传育种的一个研究热点。目前,以壳色为目标性状进行纯色系的定向选育,在多种经济贝类中已取得了重要进展,例如:在马氏珠母贝(*Pinctada mazatlanica*)培育出红色、红褐色、黄色和白色 4 种壳色选育系^[7],在文蛤(*Mercastris senhousii*)培育出青灰色、淡黄色、灰白色等壳色群体^[8],在海湾扇贝(*Argopecten irradians*)有灰色、棕色、黄色、橙色、紫色等壳色群体^[9]。

长牡蛎(*Ostrea edulis*)又称太平洋牡蛎,具有适应性强、生长快、肉质细腻且营养丰富等优点,是世界上养殖范围最广、产量最高的经济贝类。2015 年中国牡蛎年产量高达 457 万 t,占全国贝类产量的 33.7%^[10],牡蛎养殖在我国海产贝类养殖业中占有重要地位。目前长牡

蛎养殖中存在性状退化、品质下降等问题,而培育高产抗逆长牡蛎新品种是解决这一问题的有效途径。因此,利用壳色作为遗传标记开展种质改良,为长牡蛎的遗传育种提供了新方向。经过继代选育,已培育出壳色稳定遗传的金色、黑色、白色和紫色长牡蛎群体(见图 1),并开展了壳色性状遗传参数评估及与生长性状的关联分析,比较了不同壳色家系子代的表型性^[11-12],而对壳色性状量化评价的研究报道较少。

图 1 金壳色、白壳色、黑壳色、紫壳色及普通养殖长牡蛎

Fig. 1 The *Ostrea edulis* with golden, white, black, purple and ordinary shell colors

* 基金项目:国家自然科学基金项目(31372524);泰山学者种业计划专家项目;山东省科技发展计划项目(2016ZDJS06A06)资助
Supported by the grants from National Natural Science Foundation of China (31372524); Taishan scholars seed project; The Project of science and technology development program, Shandong Province (2016ZDJS06A06)

收稿日期:2017-02-10; 修订日期:2017-05-21

作者简介:宋俊霖(1988-),女,博士生。E-mail: 495717198@qq.com

** 通讯作者:E-mail: qili66@ouc.edu.cn

本研究以长牡蛎金色、黑色、白色和紫色 4 种壳色群体为材料,利用国际照明委员会(CIE) $L^*、a^*、b^*$ 颜色模型对 4 种壳色性状进行量化分析,并与普通养殖群体进行比较,旨在为长牡蛎壳色性状判定提供一种有效的方法,为长牡蛎壳色群体选育以及壳色性状分子基础研究提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用的金色、白色、紫色、黑色 4 种壳色长牡蛎样品的亲本是自 2010 年开始,经 3 代连续选育的壳色性状纯化个体。2013 年 7 月,建立 4 种壳色群体,同时以普通养殖长牡蛎为亲本建立对照组群体。2014 年 7 月,随机选取 4 种壳色以及普通壳色各 38 个,将左壳用清水清洗干净后干燥备测,由于右壳面积小,波状层纹密集,颜色不明显,所以右壳颜色未测。

1.2 数据处理及分析

壳色的测量参照王雪磊等^[11]的方法,计算机视觉系统(Computer Vision System, CVS),该系统由 CCD 摄像头或照相机、扫描仪、图像采集卡、实验箱、稳压电源、光源以及相应的图像处理软件等组成。相机拍摄时,佳能相机(Canon EOS 60D)左右两侧各设置 2 个 20 W 的白炽灯,以黑色塑胶为背景采集图像。光圈值 f/5.6,曝光时间 1/160 s,焦距 92 mm。图像采集完成后,使用 Photoshop CS6(Adobe System Incorporated)图像处理软件对采集的牡蛎整个左壳图像进行处理。将每个贝壳颜色参数 $L^*、a^*、b^*$ 值进行记录。 $L^*、a^*、b^*$ 依据 Chakraborty^[12]提出的方法换算,公式如下:

$$L^* = \frac{100}{255} \times 100;$$

$$a^* = \frac{240}{255} - 120;$$

$$b^* = \frac{240}{255} - 120.$$

式中: L^* 表示明度,为正值, L^* 越大越接近于白色,达到 100 视为全白,完全黑则视为 0; a^* 为红绿轴色品指数,大于 0, a^* 值越大颜色越偏向红,小于 0 时, a^* 值越小越偏向绿; b^* 为黄蓝轴色品指数,大于 0 时, b^* 值越大越偏向黄色,小于 0 时, b^* 值越小越偏向蓝色^[13-14]。

采用 16.0SPSS 统计软件对数据进行统计分析,将黑、紫、金、白 4 种壳色群体的 $L^*、a^*、b^*$ 值分别与普通壳色的颜色参数进行对比及显著性检验,并进行主成分分析。运用逐步判别法对 4 种壳色进行判别分析,建立 4 个判别方程,将 $L^*、a^*、b^*$ 值带入 4 个公式,可分别计算出 C,观测个体颜色覆盖最多的颜色为 C 值最大的判别函数所对应的群体颜色。对 4 种壳色群体所有个体进行逐个验证,判别准确率的计算公式如

下^[15]:

$$\text{判别准确率}_{+1}(\%) = \frac{\text{判别正确的个数}}{\text{实测数}} \times 100\%;$$

$$\text{判别准确率}_{+2}(\%) = \frac{\text{判别正确的个数}}{\text{判别数}} \times 100\%;$$

$$\text{判别准确率}_{+!} = \frac{\sum_{\#1}^D ?_{\#}}{\sum_{\#1}^D E_{\#}}.$$

2 结果

2.1 长牡蛎 4 种壳色群体及对照群体壳色参数统计量

长牡蛎各壳色参数:其中, L^* 值最高的为白壳群体,平均值为 89.04,最低的为黑壳群体,平均值为 11.43; a^* 值最高的为紫壳群体,平均值为 2.89,最低的为白壳群体,平均值为 -1.11; b^* 值最高的为金壳群体,最低的为黑壳群体,平均值分别为 18.4 和 -3.42。 $L^*、a^*、b^*$ 在 4 种壳色群体中的值与普通对照群体均有显著性差异($P < 0.05$)。在黑壳、紫壳、白壳、金壳和对照群体中,方差最大的均为 L^* ,分别为 1.58、4.56、3.91、2.02 和 15.01。

表 1 长牡蛎 4 种壳色及对照群体各颜色参数统计量
Table 1 Statistics of the shell color parameters in the black, purple, golden and white shell strains, and control population of ~~03/83~~

群体 ^①	参数 ^②	最小值 ^③	最大值 ^④	平均值 ^⑤	方差 ^⑥
黑壳 ^⑦	L^*	8.59	14.47	11.43	1.58
	a^*	-0.22	1.09	0.09	0.2
	b^*	-5.19	-2.11	-3.42	0.64
紫壳 ^⑧	L^*	9.16	31.87	15.87	4.56
	a^*	0.9	6.92	2.89	1.61
	b^*	-4.78	6.45	-0.46	2.3
金壳 ^⑨	L^*	49.27	63.41	57.63	3.91
	a^*	1.06	7.19	2.53	1.07
	b^*	12.24	25.73	18.4	3.4
白壳 ^⑩	L^*	85.2	95	89.04	2.02
	a^*	-1.43	-0.75	-1.11	0.18
	b^*	-5.56	0.02	-3.32	1.34
对照 ^⑪	L^*	31.15	85.95	60.63	15.01
	a^*	-5.44	6.13	0.29	1.69
	b^*	-10.69	10.46	-0.93	5.5

Note: ① Strain; ② Parameter; ③ Minimum; ④ Maximum; ⑤ Mean; ⑥ Variance; ⑦ Black shell; ⑧ Purple shell; ⑨ Golden shell; ⑩ White shell; ⑪ Control

2.2 长牡蛎 4 种壳色群体及对照群体壳色参数主成分分析

利用长牡蛎 4 种壳色群体和普通对照群体的 L^* 、 a^* 、 b^* 值进行主成分分析, 提取了 2 个主成分, 2 个主成分累计贡献率达到 91.9% (见表 2), 表明这 2 个主成分可以解释 5 个群体间的主要颜色变异。第一主成分解释总变异的 53.09%, 其中, L^* 在 PC1 中负荷值最大, 为 0.94。第二主成分解释了总变异的 38.89%, a^* 值在 PC2 中负荷最大 (见表 2)。

表 2 长牡蛎 4 种壳色群体及对照群体 L^* 、 a^* 和 b^* 参数的负荷及贡献率

Table 2 Factor loadings of principal components extracted from three color parameters of the four shell color strains and control population of *Crassostrea gigas* and their contribution ratio

参数 Parameter	PC1	PC2
L^*	-0.44	0.87
a^*	0.94	-0.083
b^*	0.72	0.64
贡献率 Contribution ratio/%	53.09	38.89

基于 PC1 和 PC2 两个主成分的散点图显示了 4 种壳色群体的散点分布与对照群体明显不同。金壳、黑壳、白壳与紫壳群体散点分布均较为集中, 对照群体散点分布分散; 紫壳与金壳群体散点较黑壳与白壳群体分散 (见图 2)。

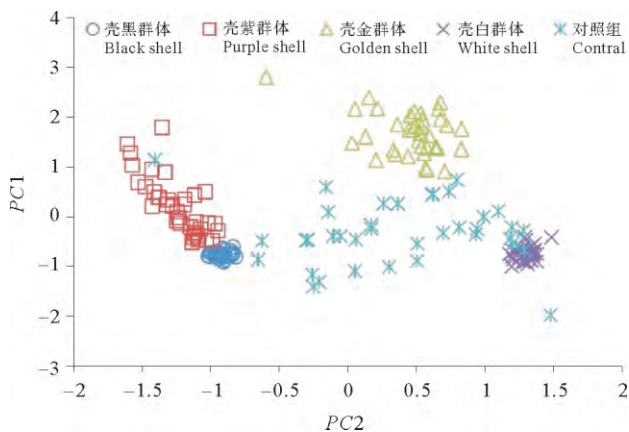


图 2 长牡蛎 4 种壳色群体及对照群体壳色参数主成分分析散点分布

Fig. 2 Scatter plot of the first and the second principal components of the color parameters of the four shell color strains and control population of *Crassostrea gigas*

2.3 长牡蛎 4 种壳色群体判别分析

运用黑壳、紫壳、金壳和白壳群体的颜色参数, 采用逐步判别分析法对 4 个壳色群体进行判别分析, 基

于 Fisher's 法分别建立了 4 个壳色选育群体的判别公式, 判别参数如表 3。

表 3 长牡蛎黑壳、紫壳、金壳及白壳群体判别参数
Table 3 The coefficients and constants of classification functions of the black, purple, golden and white shell strains of *Crassostrea gigas*

	黑壳群体 ^①	紫壳群体 ^②	金壳群体 ^③	白壳群体 ^④
L^*	1.37	1.68	5.11	9.52
a^*	1.49	4.70	-3.77	-0.79
b^*	-1.78	-2.14	2.33	-5.18
常量 ^⑤	-12.35	-21.98	-165.28	-434.31

Note: ①Black shell strain; ②Purple shell strain; ③Golden shell strain; ④White shell strain; ⑤Constant

4 个选育群体的判别公式如下:

$$C_1 = 1.37L_1 + 1.49a_1 - 1.78b_1 - 12.35$$

$$C_2 = 1.68L_2 + 4.70a_2 - 2.14b_2 - 21.98$$

$$C_3 = 5.11L_3 - 3.77a_3 + 2.33b_3 - 165.28$$

$$C_4 = 9.52L_4 - 0.79a_4 - 5.18b_4 - 434.31$$

式中: L_1, L_2, L_3 分别代表 L^*, a^*, b^* , 对 4 个壳色群体按上述判别函数进行预测分类, 验证判别公式的实用性 (见表 4)。黑壳群体的判别准确率 +1 为 100%, +2 为 86.36%; 紫壳群体的判别准确率 +1 为 84.21%, +2 为 100%; 白壳群体与金壳群体判别准确率为 100%, 综合判别率为 96.05%。

3 讨论

长牡蛎壳色一般由色系深浅程度不一的黄、白、紫、黑等多种壳色构成, 色泽分布一致的个体较少。传统的颜色判定主要是借助于肉眼的识别进行颜色等级标准的制定, 其结果因人而异, 容易造成对壳色的判定结果的不准确。本研究采用 CIE 的 L^*, a^*, b^* 色度系统是分析颜色的国际标准, 利用颜色分析系统研究分析壳色, 能使对壳色模糊的描述信息认识变成数据化的客观指标, 具有科学性和可比性。目前色度系统主要应用于合浦珠母贝 (*Chorax litorea*)、三角帆蚌 (*Hydrobia ulit*)、马氏珠母贝等产珠贝类的珍珠质颜色的测量^[16-18]。

本研究结果表明, 白色壳色 L^* 值最大, 均值达 89.04 金色; 黑色壳色的 L^* 值最小, 平均为 11.42。珍珠颜色通过 L^*, a^*, b^* 评估表明, 白色珍珠 L^* 值一般大于 90, 黑色珍珠 L^* 值一般小于 55^[18]。这与我们的实验测量结果相似。本研究中: L^* 值

表4 长牡蛎4个壳色群体的判别分析

Table 4 The discriminant analysis of the four shell color strains of *Crassostrea gigas*

群体 ^①	数量 ^②	判别准确率 ^③		预测分辨率 ^④			
		+1/%	+2/%	黑壳群体 ^⑤	紫壳群体 ^⑥	金壳群体 ^⑦	白壳群体 ^⑧
黑壳 ^⑤	38	100	86.36	38	0	0	0
紫色 ^⑥	38	84.21	100	6	32	0	0
金色 ^⑦	38	100	100	0	0	38	0
白色 ^⑧	38	100	100	0	0	0	38
合计 ^⑨	152	96.05		44	32	38	38

Note: ①Strain; ②Numbers; ③Accuracy rate of discrimination; ④Classification of predication; ⑤Black shell strain; ⑥Purple shell strain; ⑦Golden shell strain; ⑧White shell strain; ⑨In total

体最小,紫壳群体次之,与 $>^*$ 值越低颜色越深的判断标准一致。与普通对照群体相比,4种壳色群体的 $>^*$ 、 $>^{**}$ 、 $>^{***}$ 值的方差均小于对照组,这表明4种壳色群体的 $>^*$ 、 $>^{**}$ 、 $>^{***}$ 值较对照群体波动小,且 $>^*$ 、 $>^{**}$ 、 $>^{***}$ 值较对照组均有显著性变化($P < 0.05$),表明壳色性状经过连续多代选育,已经得到了比较稳定的遗传。对马氏珠母贝及三角帆蚌的壳色研究也表明通过选育可以获得壳色的稳定遗传^[17,19]。在对长牡蛎金壳性状颜色参数进行遗传评估中发现,参数 $>^*$ 遗传力低, O^2 为0.13,而 $>^{**}$ 、 $>^{***}$ 均有中高水平遗传力^[11]。本研究中发现, $>^*$ 值在每种壳色中的方差比, $>^{**}$ 、 $>^{***}$ 的方差高,表明每种壳色中 $>^*$ 较, $>^{**}$ 和 $>^{***}$ 波动大,这可能与 $>^*$ 的低遗传力有关。

主成分分析散点分布显示,4种壳色选育系的壳色均较为一致,这也进一步证实长牡蛎壳色性状经过连续多代选育,已经得到了高程度的纯化。而紫壳与金壳群体的散点分布范围较白壳与黑壳群体分散,说明金壳与紫壳群体的壳色性状有进一步纯化的空间。此外,主成分分析显示壳色间差异主要是由参数, $>^*$ 造成的。通过 $>^*$ 、 $>^{**}$ 、 $>^{***}$ 值对3种不同壳色三角帆蚌的颜色进行量化分析,结果也显示参数, $>^*$ 是引起颜色变化的主要原因^[20]。

判别分析是在分类确定的条件下,根据某一研究对象的各种特征值判别其类型归属的统计分析方法。该方法在鱼类的形态差异分析中通常有较多的应用,例如梁前进等^[21]对野生鲫(*Carassius auratus*, 7, 173)和5个金鱼(*C. auratus*, 7, 173)品种进行判别分析,各品种正确率达85%以上;唐瞻杨等^[22]采用判别分析的方法对不同月龄性状的尼罗罗非鱼(*Lates niloticus*, #3) #4 #73)进行研究,综合判别正确率达到99.25%;窦亚琪等^[23]对翘嘴鲌(*Moxostoma valenciennesi*, 1 #6, 107, 13#)不同月龄性状进行判别分析,判别正确率达到98.87%。在贝类壳色分析中,判别分析已经应用于三角帆蚌壳色的分析中,研究运用判别分

析及 $>^*$ 、 $>^{**}$ 、 $>^{***}$ 值测量建立了2个判别方程,可通过 $>^*$ 、 $>^{**}$ 、 $>^{***}$ 值代入方程,成功将“白贵妃”与“紫皇后”2个品种分开,综合判别正确率达100%^[20]。本研究建立的4种壳色的判别方程中,将四种纯化壳色进行颜色判别分析结果显示,综合验证率为96.05%,判别效果较为理想,说明该判别函数在实际应用时参考价值较大。通过判别分析,可判断未经壳色选育的长牡蛎何种壳色覆盖度最高,有利于长牡蛎的壳色选育。

4 结语

长牡蛎4种壳色群体的 $>^*$ 、 $>^{**}$ 、 $>^{***}$ 值与普通对照群体相比均有显著性差异,表明壳色性状经过连续多代选育,已经得到了比较稳定的遗传;主成分分析进一步证明了该结论,同时也显示壳色间差异主要由参数, $>^*$ 造成的。研究建立了4个壳色的判别方程,壳色判别方程的建立可为长牡蛎壳色的判断提供一种行之有效的方法,为长牡蛎的壳色选育提供基础。

参考文献:

- [1] Kozminsky E V. Inheritance of the background shell color in the snails *Hydrobia ulvae* (Gastropoda, Littorinidae) [J]. Russian Journal of Genetics, 2014, 50(10): 1177-1187.
- [2] Liu X, Wu F, Zhao H, et al. A novel shell color variant of the Pacific abalone *G. demissa* subject to genetic control and dietary influence [J]. Journal of Shellfish Research, 2009, 28: 419-424.
- [3] Newkirk G F. Genetics of shell color in *Littorina littorea* and the association of growth rate with shell color [J]. Journal of Experimental Marine Biology & Ecology, 1980, 47(1): 89-94.
- [4] 张涛, 郑怀平, 孙泽伟, 等. 华贵栉孔扇贝不同壳色后代早期发育阶段性状比较 [J]. 中国农学通报, 2009, 25(23): 478-484. Zhang T, Zheng H P, Sun Z W, et al. Comparison of traits among offspring deriving from different shell colors in Noble Scallop *Argopecten irradians* reeve at early developmental stage [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin. 2009, 25(23): 478-484.
- [5] 吴雷明, 白志毅, 刘晓军, 等. 三角帆蚌 F5 壳色及生长性状选育

效果评价[J]. 中国水产科学, 2016, 23(3): 547-554.

Wu L M, Bai Z Y, Liu X J, et al. Evaluation of shell color and
4 Z,

A Quantitative Analysis of Four Shell Color Strains of Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*)

SONG Jun-Lin, LI Qi, KONG Ling-Feng

(The Key Laboratory of Mariculture (Ocean University of China), Ministry of Education, Qingdao 266003, China)

Abstract: The shell color of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) is one of the important economic traits. The quantitative analysis of shell color is an effective method for color determination of oyster shell. In this study, CIE $L^*a^*b^*$ (CIELAB) system was used to evaluate the effectiveness of the shell color selection of Pacific oyster. The shell color parameters (including L^* , a^* and b^*) of the golden, white, black and purple shell strains, and one commercially cultured control population were characterized. The analysis of four strains color parameters showed that the variances of L^* , a^* and b^* in the four shell color strains were smaller than those in the control, suggesting that pure shell color obtained stably inherited through successive selective breeding. The principal component analysis indicated that the first principal component (PC1) was most affected by color parameter L^* , and the second (PC2) by color parameter a^* . The contribution rates of the two principal components were 53.09% and 38.89%, respectively. The results also showed that the difference among shell color strains was mainly due to color parameter L^* . The discriminant functions for shell color traits were established and the rate of discriminant accuracy (PC1 and PC2) was 96.05% for four shell color strains, which showed a great application value.

Key words: *Crassostrea gigas*; shell color; quantitative analysis; discriminant analysis

责任编辑 朱宝象