

不同地位的克氏原螯虾各自在镜面环境中的反应

郭 禹¹, 徐 雯², 田 捷¹, 黄 成¹

(1. 南京大学生命科学学院, 江苏 南京 210093)

(2. 南通大学神经再生重点实验室, 江苏 南通 226000)

[摘要] 为研究镜面反射环境下克氏原螯虾主导者与从属者的行为差异以及镜面对胜负效应的调节. 本实验根据预实验将已经区分出社会等级序列的每一对螯虾分开静养 1 d 后, 再投入镜面形成反射环境, 观察主导虾与从属虾各自在此环境下 30 min 的行为反应. 实验结果显示, 主导虾与从属虾均选择回避反射环境 ($P < 0.05$), 表明螯虾对镜像有识别能力并能做出显著的行为反应, 且均偏好没有镜像的非反射环境; 但从属虾镜角动作显著大于主导虾 ($P < 0.05$), 表明从属虾在自己领域独自面对“外来者”时可能比主导虾更加敏感. 在此研究结果基础上, 还比较了主导虾与从属虾各自在镜面环境中生活 7 d 后的优势度指数 (DI) 差值变化, 探讨了镜面环境对它们胜负效应的调节作用, 结果初步表明, 镜子有降低主导个体的胜利者效应和从属个体的失败者效应的作用, 从而缩小了两者社会地位的差距.

[关键词] 克氏原螯虾, 镜面反应, 行为, 等级序列

[中图分类号] Q958.12; Q958.8 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2016)01-0073-06

Behavioral Response of Crayfish of Different Status to a Reflective Environment Respectively

Guo Yu¹, Xu Wen², Tian Jie¹, Huang Cheng¹

(1. School of Life sciences, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

(2. Nantong University Key Laboratory of Nerve Regeneration, Nantong 226000, China)

Abstract: For the study of crayfish dominant and subordinate's behavior differences in the mirror reflection environment and the influence of mirror for the winner-effect and loser-effect. This study separate every pair of crayfish (dominate and subordinate according to the pre-experiment) and rest for 1 d, then insert mirror in their own tank, observe their behavioral responses for 30 min. The results show that the dominant and subordinate all choose to avoid reflection environment ($P < 0.05$), suggesting that the crayfish have the ability to recognize the mirror-image and make significant behavioral responses, and both prefer non-reflective environment; but subordinate behave more action than the dominant in the reflective corner ($P < 0.05$), indicating that subordinate maybe more sensitive than dominate when facing a "intruder" alone in their own field. Based on the results, this study also compares the change of the dominance index (DI) of the dominant and subordinate crayfish which have respectively lived on the mirror environment for 7 d, discuss whether the mirror environment regulate winner and loser effect. The result shows that the mirror has an effect to lower the winner effect of the dominant and the failure effect of the subordinate, meaning that narrow the gap of social status.

Key words: *Procambarus clarkii*, mirror reflection, behavior, hierarchy

镜子在动物行为学研究中应用普遍, 在格斗行为的研究中, 使用镜子产生的镜像可以排除格斗对手的格斗行为对研究对象产生的影响^[1]. 在动物个性研究方面也有重要应用, 如美国松鼠 (*Tamiasciurus hudsonicus*) 的个性与风险承担关系^[2], 绿色剑尾鱼 (*Xiphophorus helleri*) 的个性对种内竞争的影响^[3].

动物对自身镜像的反应是一种非常有意义的行为. 一些高等动物甚至可以识别出自己的镜像, 例如: 黑猩猩 (*Chimpanzees*)^[4], 亚洲象 (*Elephas maximus*)^[5], 宽吻海豚 (*Bottlenose dolphin*)^[6]. 其他多数物种则会将镜像识别为自己的同种其他个体而非自己.

甲壳动物中的 hermit crabs 已经被证实可以将镜像识别为同种其他个体^[7]. 关于克氏原螯 (*Procambarus*

收稿日期: 2015-01-15.

基金项目: 国家公益性行业科研专项 (201003070)、国家自然科学基金委项目 (NSFCJ1103512).

通讯联系人: 黄成, 副教授, 研究方向: 动物学. E-mail: huangcheng@nju.edu.cn

clakii) 在镜面环境下的行为, 迄今为止只有加拿大布鲁克大学 A. Joffre Mercier 课题组进行过相关研究. 研究首先发现克氏原螯虾对镜面反射环境的反应敏感度与社会化有关, 社会化螯虾更加偏好于反射环境, 而独居者无偏好性^[8]. 其次将等级秩序作为社会化的一个因素进行研究发现克氏原螯虾在镜面反射环境的行为表现受社会等级秩序影响, 主导虾偏好于反射环境, 而从属虾没有体现出对反射环境的偏好性^[9]. 此外, 研究还发现主导虾与从属虾在镜面反射环境中的行为差异性需在配对 3 d 后才体现出来^[10].

基于 A. Joffre Mercier 课题组主导者与从属者即时分离后在镜面反射环境下的行为反应的研究^[9], 为探究不同等级秩序的克氏原螯虾在自己领域内对陌生螯虾的反应, 本实验以模式动物克氏原螯虾为研究对象, 把分出胜负的螯虾分开, 静养 1 d 后, 在其生活的饲养盒内加入镜子, 观察其对镜像的行为反应.

鉴于克氏原螯虾中存在胜利者效应与失败者效应^[11]. 为探索镜面环境对主导虾的胜利者效应和从属虾的失败者效应是否具有调节作用, 根据文献克氏原螯虾对等级秩序的记忆时间大于一周^[12], 比较了主导虾与从属虾各自在镜面环境中生活 7 d 后再次格斗优势度指数(DI)^[13]差值的变化, 本实验希望进一步丰富克氏原螯虾在镜面反射环境下的行为研究内容, 从而了解低等生物对镜像视觉信息的接收程度. 并且以镜子作为一种行为调节工具, 为胜负效应影响因子(时间、视觉刺激、气息刺激、触觉刺激)研究提供新思路.

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验动物: 一批选自于江苏省水产研究所的成年无损伤的克氏原螯虾, 在实验室里经过一个星期的适应驯化, 取健康未蜕皮的 60 只螯虾备用(雌雄各半, 平均体重为 8.0 g).

材料及仪器: 饲养盒和观测盒为 22 cm×14 cm×8 cm 的用黑色塑料包裹的矩形塑料盒, 在塑料盒底部画一条对角线以示区分镜区 M-Mirror 和墙区 O-Opaque(见图 1). 录像设备: R-3431P 瑞德普、视频采集卡 R-808NP 瑞德普影像分析系统解决方案及主机录像设备, 平面镜为 25 cm×8 cm 和 14 cm×8 cm; 胜负效应调节镜面为镜面三棱柱与镜背三棱柱 6 cm×6 cm×6 cm(见图 1).

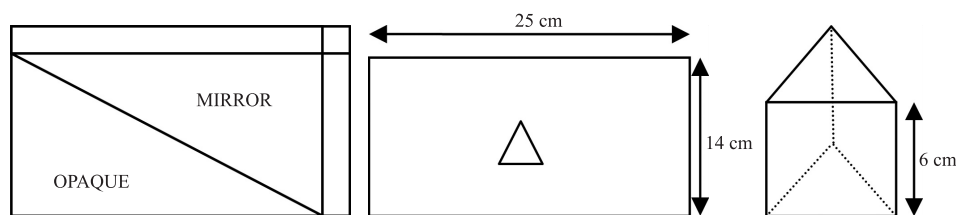


图1 实验装置示意图

Fig.1 Illustration of the experimental facility

1.2 实验设计

参数设定: 本实验参考 Mercier^[8-10, 14] 组的行为谱确定了动作(Action)、呆望(Look)、后退(Back)、前行(Walk)行为参数. 呆望(Look)是将 Mercier 所用的面壁(End facing)、冻结(Freezing)两个行为合并而来, 动作(Action)、后退(Back)、前行(Walk)为本实验自行补充的行为参数. 并将动作(Action)细化为镜角动作(NMA)、墙角动作(NO A)、镜前动作(MA)和墙前动作(OA), 将 Look(呆望)细化为镜角呆望(NML)、墙角呆望(NOL)、镜前呆望(ML)和墙前呆望(OL).

实验过程: 将同性别螯虾同重量随机配对 3 d 通过 shelter 的占有区分主导者 Dominate(简称 D)与从属者 Subordinate(简称 S). 将 D 与 S 分开分别静养 1 d, 然后在各自的塑料盒中插入镜子进行录像 30 min.

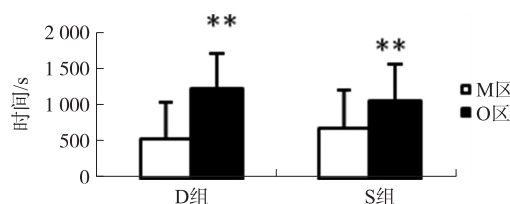
镜面对胜负效应的调节实验: 在上述试验的基础上将螯虾单独饲养 7 d 以消除原来等级的影响, 进行同性别同重量配对, 饲养 3 d 建立稳固的等级秩序, 录像 30 min, 计算 DI 差值. 然后将试验螯虾分为 3 组: 一组在优势者的饲养环境中加入镜面三棱柱而从属者加入镜背三棱柱(D+M S+O), 一组将从属者的饲养环境中加入镜面三棱柱而优势者加入镜背三棱柱(S+M D+O), 一组饲养环境中都加入镜背三棱柱(D+O S+O); 饲养 7 d 后将 D、S 分离放入塑料盒中录像 30 min, 计算 DI 差值. $DI = (2 \times \text{攻击次数} + \text{接近次数}) / (2 \times \text{攻击次数} + \text{接近次数} + (\text{撤退次数} + 2 \times \text{弹尾次数}))$ DI 差值 = 配对螯虾中第一只螯虾 DI 值 - 另一只螯虾 DI 值.

1.3 实验数据统计

利用 SPSS18.0 统计软件分析, 利用独立样本 *T* 检验以及二项分布检验各项参数的差异显著性, 取 $P < 0.05$ 作为显著性标准, $P < 0.01$ 为极显著标准.

2 结果与分析

2.1 对镜区与非镜区的选择

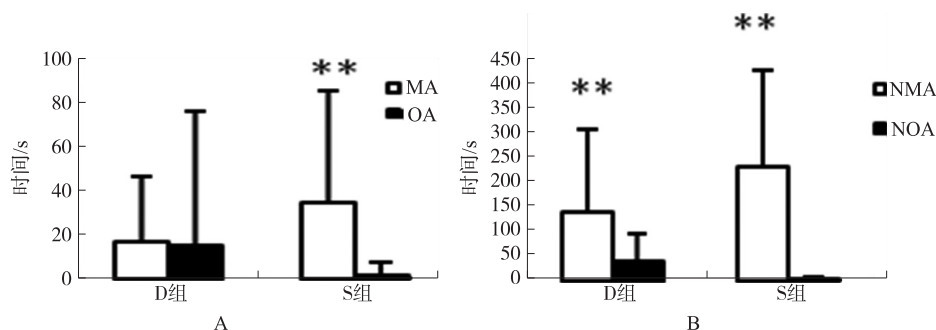


D在M区的时间($556.76 \pm 508.59, n=30$)极显著小于在O区的时间($1243.24 \pm 508.59, n=30$) $P=0.0000$, S在M区的时间($707.58 \pm 530.53, n=29$)极显著小于在O区的时间($1092.42 \pm 530.53, n=29$) $P=0.0078$

图2 30 min内各组克氏原螯虾在镜区和非镜区的时间(M区为镜区,O区为非镜区,D为主导虾,S为从属虾)

Fig.2 Amount of time for each group of crayfish spent on mirror and opaque of the aquarium during 30 min of recording (M means Mirror environment, O means Opaque environment, D means Dominate, S means Subordinate)

2.2 动作行为的比较



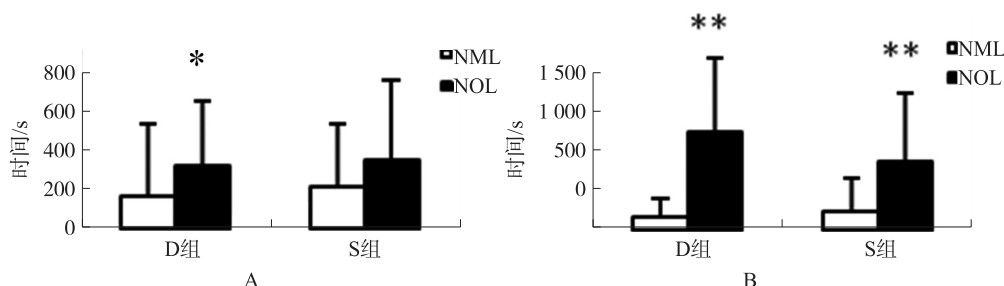
S: MA时间($37.13 \pm 55.09, n=29$)极显著大于OA($1.42 \pm 6.94, n=29$), $P=0.0022$, D: MA时间($18 \pm 32.32, n=30$)与OA($16.48 \pm 65.84, n=30$)无显著性差异, $P=0.4590$, S: NMA时间($219.46 \pm 183.84, n=29$)极显著大于NOA($2.00 \pm 5.78, n=29$), $P=0.0000$, D: NMA时间($131.16 \pm 161.05, n=30$)极显著大于NOA($35.92 \pm 55.23, n=30$), 组间比较S: NMA时间显著大于D, $P=0.0399$

图3 30 min内各组螯虾动作行为的时间,A为镜前动作与墙前动作的时间,B为镜角动作与墙角动作的时间

(MA为镜前动作,OA为墙前动作,NMA为镜角动作,NOA为墙角动作,D为主导者,S为从属者)

Fig.3 Amount of time for each group of crayfish activating behavior during 30 min of recording, A means the time activating in front of the mirror or the wall, B means the time activating in the corner of the mirror or the wall (MA means active in front of the mirror, OA means active in front of the wall, NMA means active in the corner of the mirror, NOA means active in the corner of the wall, D means Dominate, S means Subordinate)

2.3 呆望行为的比较



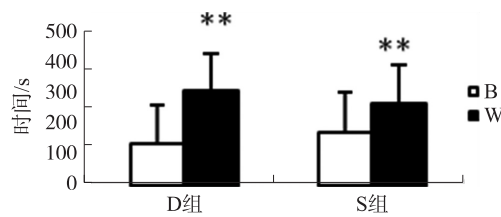
D: ML时间($114.68 \pm 317.23, n=30$)显著小于OL($277 \pm 288.21, n=30$), $P=0.0322$, S: ML时间($182.17 \pm 280.77, n=29$)与OL($304.13 \pm 354.08, n=29$)无显著性差异, D: NML时间($102.48 \pm 150.22, n=30$)极显著小于NOL($774.64 \pm 594.31, n=30$), $P=0.0000$, S: NML时间($151.58 \pm 255.43, n=29$)极显著小于NOL($545.25 \pm 547.90, n=29$), $P=0.0016$

图4 30 min内各组螯虾呆望行为的时间,A为镜前呆望与墙前呆望的时间,B为镜角呆望与墙角呆望的时间(ML为镜前呆望,

OL为墙前呆望,NML为镜角呆望,NOL为墙角呆望,D为主导者,S为从属者)

Fig.4 Amount of time for each group of crayfish looking behavior during 30 min of recording, A means the time looking in front of the mirror or the wall, B means the time looking in the corner of the mirror or of the wall (MA means look in front of the mirror, OA means look in front of the wall, NMA means look in the corner of the mirror, NOA means look in the corner of the wall, D means Dominate, S means Subordinate)

2.4 前行、后退行为的比较



D:W 时间($270.88\pm187.94,n=30$)极显著大于 B($58.76\pm60.32,n=30$),S:W 时间($293.42\pm169.28,n=29$)极显著大于 B($54.04\pm33.17,n=29$), $P=0.000\ 0$

图 5 30 min 内各组螯虾前行、后退的时间(B 为后退,W 为前行,D 为主导者,S 为从属者)

Fig.5 Amount of time for each group of crayfish walking behavior and backing behavior during 30 min of recording
(B means backing, W means walking, D means Dominate, S means Subordinate)

2.5 优势指数(DI)差值的二项分布检验

由表 1 得:对照组(S+O M+O)14 对螯虾中,DI 差值变大的有 4 对,逆转和变小的有 10 对.经二项分布检验 $P>0.050$ 并未达显著水平.主导虾加镜子组(D+M S+O)15 对螯虾中,DI 差值变大的仅有 1 对,逆转和变小的有 14 对, $P<0.01$,达到极显著水平.从属虾加镜子组(S+M D+O)14 对螯虾中,DI 差值变大的有 1 对,逆转和变小的有 13 对, $P<0.01$,达到极显著水平.

表 1 DI 差值变化二项分布检验

Table 1 The binominal distribution test of DI difference change

组别	变大	变小	P 值
S+O D+O	4/14	10/14	0.18
S+M D+O	14/15	1/15	0.001
S+O D+M	13/14	1/14	0.002

3 讨论

3.1 不同等级秩序螯虾对镜区和墙区的选择

D 与 S 在 M 区的时间均显著小于 O 区,表明在自己领域内加入新的镜面环境时,主导虾与从属虾均偏好于非反射环境,选择回避反射环境.而 Mecier 等的研究表明主导虾偏好于反射环境,而从属虾没有选择偏好性,至于这两者差异性的原因文中并未做出讨论或解释,但 Mecier 提出了螯虾可以识别镜像为同类其他个体的观点^[9].可以理解为 Mecier 的实验中,即时分开的螯虾是以“入侵者(Intruder)”身份进入新的有镜面环境,主导虾有较强的占领欲望.而本实验是在两者分离后,经过一天静养,在自己领域内加入镜面环境,罗洛锈斑螯虾(*Orconectes rusticus*)熟悉环境 4 h 就会有自己的领域意识^[15],并以主人(Resident)的身份面对“入侵者”,所以有较强的护域意识,都倾向于非反射环境.但本实验进一步验证了螯虾对镜像有知识识别能力并能做出显著反应,因此本文也认同 Mecier“螯虾可以识别镜像为同类其他个体”的观点.

3.2 对镜像与非镜像动作行为的分析

动作(Action)的行为谱包括触角摆动(Flicker)、鞭打(Whip)、大螯的高举(Lift)、外推(Push)、击打(Strike)等一系列对镜像的可视化动作,可认为是对镜像的探究、挑衅、格斗.观察中发现很多动作比较模糊难以明确界定究竟是哪一种,因此本实验的 Action(动作)包括所有的这些行为.镜前与墙前组内比较结果为从属虾 MA 显著大于 OA,主导虾则无差异性,表明从属虾对镜像的关注度更高,初步推测可能经过一天的静养后,在自己的领域内,从属虾更倾向于与镜像接触甚至挑战.镜角与墙角组内比较结果为主导虾与从属虾镜角动作(NMA)均显著大于墙角动作(NOA),由于在镜角,会有很多反射出的“螯虾”对他们形成刺激,表明不同等级秩序的螯虾对镜角“螯虾群”都比较敏感.而组间比较表明从属虾镜角动作(NMA)显著大于主导虾,进一步说明,在各自的领域内,从属虾对陌生对手的关注或挑战的动机强于主导虾.这一现象在别的甲壳类中也有描述:美国龙虾(*Homarus americanus*)从属虾经过一天隔离后,配对陌生的优势虾,从属虾积极应战,并且获胜^[16].

3.3 呆望行为及其他行为的分析

呆望(Look)的行为谱包括面壁(End facing)、冻结(Freezing).由于技术受限,本实验不能明确分辨螯虾眼柄是否静止或旋转.呆望行为可能是一种休息行为,也可能是一种观察行为,还可能是一种表面静止但其内部动机处于矛盾状态的折衷行为(ambivalent behavior).组内比较结果从属虾与主导虾镜角呆望

(NML)均显著小于墙角呆望(NOL),而组间比较无差异。由于墙角在一定意义上相当于一个 shelter^[17],不管是等级秩序高还是等级秩序低的螯虾,都更倾向于在较安全的墙角休息或关注它的墙角有无受到闯入者的侵占。关于镜前与墙前呆望行为,组间比较无显著性差异,组内比较仅主导虾镜前呆望显著小于墙前呆望,表明主导虾对平面虾影有显著回避倾向,从属虾则无此倾向。前行(Walk)和后退(Back)组间比较无显著性差异,组内比较结果主导虾与从属虾前行(Walk)均显著大于后退(Back),表明在各自的领域内,螯虾很少会表现出恐惧性退却行为。

3.4 镜面对胜利者效应的调节

三棱柱实验中对照组 DI 差值的变化并无显著差异,而在主导虾加镜子组(D+M S+0)和从属虾加镜子组(S+M D+0)中,DI 差值极显著地变小,表明实验组配对螯虾的优势度显著地接近了,即镜子可以显著缩小配对螯虾的社会地位之差距。有研究表明,两只螯虾打斗结束后,胜利的一方在接下来的打斗中更容易取得胜利,失败的一方更容易失败,这就是所谓的胜利者效应与失败者效应^[11,18]。D 组在镜面环境中生存 7 d 后胜利者降级为不完全胜利者。S 组则可能因为在攻击镜像时可以处于不被打败的地位,而使得自身由完全失败者升级为不完全失败者,虽然未必是胜利者。有研究表明羟色胺(Serotonin)可以加强胜利者效应,真鞘胺(Octopamine)可以加强失败者效应^[19],因此推测也有可能是由于镜像的刺激减少了胜利者羟色胺和失败者真鞘胺的分泌,但此推测有待于实验证实。

3.5 视觉刺激对克氏原螯虾的影响

有研究表明,克氏原螯虾可以接受视觉刺激和化学刺激并对其作出反应,如视觉信号与化学信号只要有一种出现就足以吸引雌性进行交配^[20]。在罗洛斯锈斑螯虾中,钳螯(lunge)行为以及追击行为(follow)受视觉刺激(光照强度)的调节^[21]。由于等级秩序建立后,螯虾在环境变化中会接触别的同类,例如同不熟悉对手接触,影响其原有的等级秩序^[21-22]。对于镜面反射环境中的镜像,A. Joffre Mercier 认为克氏原螯虾将其识别为同类,从属虾对视觉刺激的激发能级高于优势者^[9,14]。本试验表明在自己领域内从属虾对视觉刺激的激发能级低于主导虾。综合实验结果表明,主导者与从属者在自己的领域中独自面对镜面环境时两者的反应差缩小,甚至从属者在一些方面有了更强的探索性。镜子有降低主导者的胜利者效应和从属者的失败者效应的作用,从而缩小了两者社会地位的差距,起到了一定的调节作用。

[参考文献]

- [1] VALENTINA B, MICHAEL T. Mirror, mirror on the wall: the predictive value of mirror tests for measuring aggression in fish[J]. Behav Ecol Sociobiol, 2014, 68(5): 871-878.
- [2] BOON A K, REALE D, BOUTIN S. Personality, habitat use, and their consequences for survival in North American red squirrels *Tamiasciurus hudsonicus* [J]. Oikos, 2008, 117(9): 1 321-1 328.
- [3] WILSON A J, de BOER M, ARNOTT G, et al. Integrating personality research and animal contest theory: aggressiveness in the green sword tail *Xiphophorus helleri* [J]. PLoS one, 2011(6): e28024.
- [4] GALLUP G G. Chimpanzees: self-recognition [J]. Science, 1970, 167(3 914): 86-87.
- [5] PLOTNIK J M, de WAAL F B M, REISS D. Self-recognition in an asian elephant [J]. Proc Natl Acad Sci, 2006, 103(45): 17 053-17 057.
- [6] REISS D, MARINO L. Mirror self-recognition in the bottlenose dolphin: a case of cognitive convergence [J]. Proc Natl Acad Sci, 2001, 98(10): 5 937-5 942.
- [7] DUNHAM D W, TIERNEY A J, FRANKS P. Response to mirrors by a cryptic hermit crab, *Pagurus marshi* [J]. Biotropica, 1986, 18(3): 270-271.
- [8] DROZDZ J K, VISCER. Behavioral responses of crayfish to a reflective environment [J]. Crustac Biol, 2006, 26(4): 463-473.
- [9] HOLLY Y A, JOFFRE M. Responses of crayfish to a reflective environment depend on dominance status [J]. Can J Zool, 2006, 84(8): 1 104-1 111.
- [10] HOLLY Y A, JOFFRE M. Duration of socialization influences responses to a mirror: responses of dominant and subordinate crayfish diverge with time of pairing [J]. Exp Biol, 2007, 210(24): 4428-4436.
- [11] HSU Y Y, WOLF L L. The winner and loser effect: integrating multiple experiences [J]. Anim Behav Behav, 1999, 57(4): 903-910.

- [12] HEMSWORTH R, VILLAREAL W, PATULLO B W. Crustacean social behavioral changes in response to isolation[J]. Biol Bull, 2007, 213(2): 187–195.
- [13] SONG C K, HERBERHOLZ J, EDWARDS D H. The effects of social experience on the behavioral response to unexpected touch in crayfish[J]. Journal of experimental biology, 2006, 209(7): 1 355–1 363.
- [14] JOFFRE M A, HOLLY Y. Recording behavioral responses to reflection in crayfish[J]. JoVE, 2010(39): 1–6.
- [15] NATHAN M K. Shelter availability, occupancy, and residency in size-asymmetric contests between Rusty crayfish, *Orconectes Rusticus*[D]. Lexington Kentucky: College of Arts & Sciences of Kentucky University, 2010.
- [16] CHRISTA K, JELLE A. Individual recognition and memory in lobster dominance[J]. Animal behaviour, 1998, 56(6): 1 553–1 560.
- [17] MICHAEL H F, HOLLY M. Shelter competition in juvenile red swamp crayfish-*Procambarus clarkii*: the influences of sex differences, relative size, and prior residence[J]. Aquaculture, 1999, 178(1): 63–75.
- [18] HOLLIS K L, DUMAS M J, SINGH P. Pavlovian conditioning of aggressive behavior in blue gourami fish (*Trichogastertrichopterus*)-winners become winners and losers stay losers[J]. Comp Psychol, 1995, 109(2): 123–133.
- [19] ELENA T, FRANCESCA G. Biogenic amines influence agressiveness in crayfish but not their force or hierarchical rank[J]. Animal behaviour, 2007, 74(6): 1 715–1 724.
- [20] DUNHAN D W, OH J W. Sex discrimination by female *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) (Decapoda, Cambaridae): use of chemical and visual stimuli[J]. Crustaceana, 1996, 69(4): 534–542.
- [21] BRUSKI C A, DUNHAM D W. The importance of vision in agonistic communication of the crayfish *Orconectes virilus* I: an analysis of bout dynamics[J]. Behaviour, 1987, 103(1): 83–107.
- [22] DAVIS K M, HUBER R. Activity patterns, behavioural repertoires, and agonistic interactions of crayfish: a non-manipulative field study[J]. Behaviour, 2007, 144(2): 229–247.

[责任编辑:黄 敏]