

120

学校编码: 10384

密级_____

学号: 22420091151142

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

绿鲍的引种及与皱纹盘鲍的种间杂交研究

Studies on Introduction of *Haliotis fulgens* and Interspecific

Hybridization with *Haliotis discus hannai*

范 飞 龙

指导教师姓名: 柯 才 焕 教 授

专 业 名 称: 海 洋 生 物 学

论文提交日期: 2012 年 05 月

论文答辩时间: 2012 年 06 月

2012 年 06 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()
课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费
或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括
号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,
可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目 录

摘要.....	XI
英文摘要.....	XIII
第一章 绪论.....	1
1 杂交育种及杂种优势.....	1
1.1 杂交育种的原理.....	1
1.2 杂种优势的基础.....	1
2 贝类种间杂交的研究进展.....	2
2.1 牡蛎.....	3
2.2 扇贝.....	3
2.3 珠母贝.....	4
2.4 贻贝.....	4
3 鲍科动物种间杂交的研究进展.....	5
3.1 国外鲍科种间杂交研究.....	5
3.2 国内鲍科种间杂交.....	6
4 研究目的和意义.....	7
4.1 我国鲍养殖的概况及主要问题.....	7
4.2 绿鲍研究的意义.....	7
第二章 绿鲍的引种和驯化.....	9
1 材料和方法.....	10
1.1 引种及驯化.....	10
1.2 三种鲍的生长与存活率比较.....	10
1.3 数据测量与分析.....	10
2 实验结果.....	10
2.1 水温记录结果.....	10
2.2 三种鲍的壳长生长比较.....	11

2.3 三种鲍存活率比较	13
3 讨论	13
第三章 绿鲍和皱纹盘鲍杂交受精率的影响因素	15
1 材料和方法	16
1.1 水温对杂交受精率的影响	16
1.2 精子浓度对杂交受精率的影响	17
2 实验结果	18
2.1 水温对杂交受精率的影响	18
2.2 精子浓度对杂交受精率的影响	18
3 讨论	19
第四章 绿鲍与皱纹盘鲍杂交 F₁ 生产性能的初步研究	22
1 材料与方法	25
1.1 绿鲍、皱纹盘鲍及杂交子代的生长比较	23
1.2 绿鲍、皱纹盘鲍及杂交子代的存活率比较	24
1.3 绿鲍、皱纹盘鲍及杂交子代壳长生长速率的变化	24
2 结果与分析	25
2.1 绿鲍、皱纹盘鲍及杂交子代的生长比较	25
2.2 绿鲍、皱纹盘鲍及其杂交子代不同时期的存活率	26
2.3 不同时期的壳长日均生长速率比较	28
3 讨论	29
3.1 杂交 F ₁ 与自繁 F ₁ 生长的比较	29
3.2 杂交 F ₁ 与自繁 F ₁ 存活率的比较	30
3.3 杂交 F ₁ 与自繁 F ₁ 壳长日均生长比较	31
第五章 绿鲍与皱纹盘鲍杂交 F₁ 的形态学分析	32
1 材料与方法	33
1.1 绿鲍与皱纹盘鲍杂交 F ₁ 的形态特征分析	33
1.2 正反交 F ₁ 形态性状的参数和相关性分析	34
1.3 正反交 F ₁ 各形态性状对活体重的影响	34

1.4 多元回归分析	34
2 结果与分析	35
2.1 绿鲍与皱纹盘鲍杂交 F_1 的形态特征分析	35
2.2 正反交 F_1 形态性状的参数及相关性分析	39
2.3 正反交 F_1 各形态性状对活体重的影响	41
2.4 多元回归分析	41
3 讨论	42
第六章 绿鲍和皱纹盘鲍杂交 F_1 代 SSR 分析	44
1 材料和方法	45
1.1 微卫星引物的筛选	45
1.2 遗传多样性分析	46
1.3 遗传距离和系统发育树	47
1.4 绿鲍与皱纹盘鲍杂交 F_1 的 SSR 鉴定	47
2 结果与分析	48
2.1 微卫星引物的筛选	48
2.2 遗传多样性分析	48
2.3 遗传距离和系统发育树	50
2.4 绿鲍与皱纹盘鲍杂交 F_1 的 SSR 鉴定	51
3 讨论	53
结论与展望	55
1 结论	55
2 展望	56
特色与创新	57
参考文献	58
硕士研究生期间发表的论文	65
参与科研项目	65
致 谢	66

Contens

Chinese Abstract	IX
English Abstract.....	XI
Chapter 1 General Introduction.....	1
1. Hybridization and heterosis	1
1.1 Principle of hybridization.....	1
1.2 Genetic analysis of heterosis	1
2 Introduction of hybridization in shellfish.....	2
2.1 Oyster	3
2.2 Scallop	3
2.3 Pearl Oyster	4
2.4 Mussel.....	4
3 Introduction of hybridization in abalone.....	5
3.1 Introduction of foreign studies in abalone.....	5
3.2 Introduction of China studies in abalne	6
4. Technical proposal, aims and significance for the study.....	7
4.1 Problem.....	7
4.2 Significance.....	7
Chapter 2 Introduction of <i>Haliotis fulgens</i>	9
1 Materials and methods	10
1.1 Introduction of <i>Haliotis fulgens</i>.....	10
1.2 Compare the shell length and survival of three abalone.....	10
1.3 Data measurement	10
2 Results	10
2.1 Seawater temperature	10
2.2 Compare the shell length of three abalone	11
2.3 Compare the survival of three abalone.....	13
3 Discussion.....	13

Chapter 3 Factors affecting fertilization success of hybridization between <i>Haliothis fulgens</i> and <i>H. discus hannai</i>.....	15
1 Materials and methods	16
1.1 Effect of temperature on fertilization rates on four crosses	16
1.2 Effect of sperm concentration on fertilization rates of four crosses.....	17
2 Results	18
2.1 Effect of temperature on fertilization rates on four crosses	18
2.2 Effect of sperm concentration on fertilization rates of four crosses.....	18
3 Discussion.....	19
 Chapter 4 Preliminary study of quantitative genetics of hybrids between <i>H. fulgens</i> and <i>H. discus hannai</i>	 22
1 Materials and methods	23
1.1 Comparative study of the growth of hybrids between <i>H. fulgens</i> and <i>H. discus hannai</i> at different stages	23
1.2 Comparative study of the survival of hybrids between <i>H. fulgens</i> and <i>H. discus hannai</i> at different stages.....	24
1.3 Comparative study of the growth rate of hybrids between <i>H. fulgens</i> and <i>H. discus hannai</i> at different stages	24
2 Results	25
2.1 Comparative study of the growth of hybrids between <i>H. fulgens</i> and <i>H. discus hannai</i> at different stages	25
2.2 Comparative study of the survival of hybrids between <i>H. fulgens</i> and <i>H. discus hannai</i> at different stages.	26
2.3 Comparative study of the growth rate of hybrids between <i>H. fulgens</i> and <i>H. discus hannai</i> at different stages	28
3 Discussion.....	29
3.1 Comparative study of the growth of hybrids between <i>H. fulgens</i> and <i>H. discus hannai</i> at different stages	29

3.2 Comparative study of the survival of hybrids between <i>H. fulgens</i> and <i>H. discus hannai</i> at different stages.	30
3.3 Comparative study of the growth rate of hybrids between <i>H. fulgens</i> and <i>H. discus hannai</i> at different stages	31
Chapter 5 Morphological analysis of hybrids between <i>Haliotis fulgens</i> and <i>H. discus hannai</i>.....	32
1 Materials and methods	33
1.1 Morphological characteristic analysis of hybrids between <i>H. fulgens</i> and <i>H. discus hannai</i>	33
1.2 The phenotype correlation coefficient.....	34
1.3 Effects of shell morphological traits of hybrids between <i>H. fulgens</i> and <i>H. discus hannai</i> on body weight	34
1.4 Multiple regression analysis.....	34
2 Results	35
2.1 Morphological characteristic analysis of hybrids between <i>H. fulgens</i> and <i>H. discus hannai</i>	35
2.2 The phenotype correlation coefficient.....	39
2.3 Effects of shell morphological traits of hybrids between <i>H. fulgens</i> and <i>H. discus hannai</i> on body weight	41
2.4 Multiple regression analysis.....	41
3 Discussion.....	42
Chapter 6 SSR analysis of hybrids between <i>Haliotis fulgens</i> and <i>H. discus hannai</i>.....	44
1 Materials and methods	45
1.1 Screen SSR primer.....	45
1.2 SSR analysis of genetic diversity	46
1.3 Genetic distance and phylogenetic tree.....	47
1.4 Identify hybrids between <i>H. fulgens</i> and <i>H. discus hannai</i>	47

2 Results	48
2.1 Screen SSR primer.....	48
2.2 SSR analysis of genetic diversity	48
2.3 Genetic distance and phylogenetic tree.....	50
2.4 Identify hybrids between <i>H. fulgens</i> and <i>H. discus hannai</i>	51
3 Discussion.....	53
Conclusions and prospects.....	55
1 Conclusions.....	55
2 prospects	56
Characteristics and innovation	57
References.....	68
Publications during study	65
Research grants	65
Acknowledgements.....	66

摘要

杂交育种是最为经典的育种方法之一,已经广泛应用于农作物以及畜牧业养殖的良种培育,并成为优良新品种培育的主要途径。不同基因型的亲本杂交,可以获得基因重新组合及类型丰富的杂交后代,从而拓宽了育种的遗传资源,培育优良新品种。绿鲍产于美洲太平洋亚热带沿岸,属于大型鲍,经济价值高,最适水温为18~24℃左右。本研究利用绿鲍和和皱纹盘鲍作为材料,开展了两者之间的种间杂交,研究影响绿鲍和皱纹盘鲍杂交受精率的主要因素,从形态学的水平分析杂交种的各性状之间的相关性以及对活体重的影响,并借助微卫星分子标记研究绿鲍和皱纹盘鲍亲本以及杂交子代的遗传多样性,同时还研究了杂交F₁在不同的生长时期的杂种优势表现。主要结果如下:

1. 对绿鲍 (*Haliotis fulgens*)、皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai*)、杂色鲍 (*Haliotis diversicolor*)三种鲍的存活率和生长速率进行了分析比较,结果表明,在驯化至16个月后绿鲍的存活率为89.58%,显著高于皱纹盘鲍和杂色鲍的存活率(分别为75%和76%),同时,绿鲍的壳长也显著大于皱纹盘鲍壳长 ($p < 0.05$)。

2. 影响绿鲍和皱纹盘鲍杂交受精率的主要因素有水温和授精精子浓度,两种间杂交的最佳水温和授精精子浓度分别为20~22℃和 $3.39 \times 10^5 \sim 6.31 \times 10^6$ 个·mL⁻¹。

3. 通过研究不同时期绿鲍与皱纹盘鲍自繁F₁和杂交F₁的壳长和存活率,比较杂交F₁的杂交优势,研究结果发现:

(1) 在2011年6月至2012年3月份期间,正交F₁的壳长要大于其他三个组合的壳长,差异显著 ($p > 0.05$),正交F₁壳长的超亲杂种优势率和中亲优势率在10月份达到最高值;反交F₁壳长的中亲优势率在6月份开始出现正值,且呈不断上升的趋势,而反交F₁壳长的超亲优势率均为负值,但也呈不断上升的趋势。

(2) 正交F₁存活率的中亲杂种优势率和超亲优势率随着个体的生长不断上升。中亲杂种优势率在2011年11月份达到最高值,超亲杂种优势率在2011年12月份达到最高值。反交F₁存活率的中亲杂种优势率和超亲优势率均呈现正值,在7月份达到最高值。

3) 在海水温度为21~25℃时, 正反交F₁的壳长日均生长速率最高, 在2011年5月份, 正交和反交F₁的日均壳长生长速率分别为0.15mm/d和0.15mm/d, 在2011年10月份, 正交F₁的日均壳长生长速率为0.15mm/d, 显著高于反交F₁和绿鲍和皱纹盘鲍自繁F₁的日均壳长生长速率 ($p < 0.05$)。

4. 绿鲍、皱纹盘鲍及正反交F₁四个组合在外部形态特征上存在较显著差异, 其中参数方差分析、聚类分析和主成分分析结果表明, 正反交F₁的形态特征介于两亲本之间。正交DF组合在SW/SL、DO/SL和D1/SW上与反交FD组合存在显著差异 ($p < 0.05$), 这三个参数可作为区分正反交F₁的形态学指标。

绿鲍、皱纹盘鲍以及杂交F₁的4个形态学参数相关性分析表明, 正交F₁和反交F₁的壳长和活体重的相关系数最大, 分别达到0.921和0.896。

对正交F₁的各性状采用多元回归方法, 得到估计体重的多元回归方程为 $Y = -18.026 + 0.368X_1 + 1.078X_2 + 0.136X_3$, 反交F₁的各性状采用多元回归方法, 得到估计体重的多元回归方程为 $Y = -21.413 + 0.521X_1 + 1.872X_2 + 0.301X_3$ 。其中X₁为壳长, X₂为壳高, X₃为壳宽。

5. 从已经发布的皱纹盘鲍和绿鲍的微卫星引物中筛选出14对微卫星引物, 对绿鲍和皱纹盘鲍正反交F₁进行遗传多样性分析, 结果表明, 皱纹盘鲍F₁的H_o值最小, 为0.4317, 正交F₁的H_o值最大, 为0.7852, 而且皱纹盘鲍和绿鲍群体间的遗传距离最大(0.642), 遗传相似性系数最低(0.511), 正交DF组合与皱纹盘鲍自繁DD组合聚类在一起, 反交FD组合与绿鲍自繁FF组合聚类在一起。

关键词: 绿鲍; 皱纹盘鲍; 种间杂交; 遗传分析; 杂种优势; 遗传相关

Abstract

Hybridization is one of the most classical breeding methods, which has been widely used in crops and livestock. Hybridization between different genotypes can show significant heterosis and produce new varieties. Hybridization between *Haliotis fulgens* and *H. discus hannai* was studied in this thesis. The present study is to deal with the feasibility and early development of hybridization between these two species. Analysis of the correlation of different traits in F₁ generation and the influence on live weight in the morphological level were also conducted. We also studied the genetic diversity of the hybrids and the parents using microsatellite markers. Meanwhile, the heterosis of hybrids in different stages was investigated. The major results and conclusions were as follows:

1. The introduction of *H. fulgens*

Haliotis fulgens was introduced from California to China in 2009. Comparative studies for the survival rate and shell length was conducted in this research. The survival rate for *H. fulgens* is 89.58% which is significantly higher than the survival rate of *H. discus hannai* and *H. diversicolor*. Meanwhile, the shell length of *H. fulgens* is significantly larger ($p < 0.05$).

2. Factors affecting fertilization success of hybridization between *H. fulgens* and *H. discus hannai*

To overcome the gametic incompatibility of interspecific hybridization between *H. fulgens* and *H. discus hannai*, the effects of temperature and sperm concentration were investigated. The results showed that temperature, sperm concentration and gametic age were major factors which affecting fertilization success. The favorite fertilization conditions were with sperm concentration at a concentration between 3.39×10^5 sperm \cdot mL⁻¹ ~ 6.31×10^6 sperm \cdot mL⁻¹ in 20 ~ 22°C.

3 Preliminary study of quantitative genetics traits of hybrids between *Haliotis fulgens* and *H. discus hannai*

The shell length and survival rate of reciprocal hybrids at different stage were studied. The results showed as follows:

1) During June to March, the shell length of DF was significantly larger than the other three groups. In October, the shell length of DF showed the highest heterosis. The shell length of FD increased as the growths of age.

2) The survival rate of DF showed an increasing heterosis with growth. In July, the heterosis of survival rate of FD reached to the highest.

3) When the temperature of seawater between 21~25°C, the growth rate of shell length reached to the highest.

4 Comparative studies on morphological traits among reciprocal hybrids between *H. fulgens* and *H. discus hannai*.

Four morphological traits of *Haliotis fulgens*, *H. discus hannai* and their reciprocal hybrids were measured and analyzed in this research. The maximum correlation coefficient of reciprocal hybrids is between the shell length and live weight. Due to the result of high correlation index, it was clear that the path coefficient analysis could reveal the relationship between independent variables and dependent variables. The multiple regression equations for estimating body weight in DF and FD crosses were as follows :

$$\text{DF: } Y = -18.026 + 0.368 X_1 + 1.078 X_2 + 0.136 X_3$$

$$\text{FD: } Y = -21.413 + 0.521 X_1 + 1.872 X_2 + 0.301 X_3$$

5 Genetic analysis of *H. fulgens*, *H. discus hannai* and their reciprocal hybrids

The 14 microsatellite primers were screened from published 47 microsatellite primers of *H. discus hannai* and 8 microsatellite primers of *H. fulgens*, and then were used in this research. One SSR marker can showed clear amplification bands to identify hybrids and their parents. Genetic diversity for the four groups were also analyzed in this research, while the lowest of PIC is *H. discus hannai* (0.4371) and the highest of PIC is DF(0.7183).

Keywords: *Haliotis fulgens*; *Haliotis discus hannai*; hybridization; genetic analysis; heterosis; genetic correlation

第一章 绪论

1. 杂交育种及杂种优势

1.1 杂交育种的原理

通过杂交培育出优良的品种或者利用其杂种优势育种的方法称为杂交育种。杂交育种的遗传学原理是通过双亲基因的重新组合,使杂种后代获得双亲的优良性状,通过来自双亲不同的显性基因相互作用的结果,从而产生不同于双亲的优良性状。杂交不会产生新的基因,而是充分利用现在的生物资源和性状重新组合。所以从根本上来讲,杂交育种是通过运用遗传分离规律和自由组合规律以及连锁互换规律来重建生物的遗传性,从而培育出优良品种^[1,2](楼允东,1999;吴仲庆,2000)。

1.2 杂种优势的基础

杂种优势的现象在自然界是非常普遍的,在动植物的生长中进行种、品种或者品系之间杂交,以获得杂种优势的实践已经很久^[3-5]。杂交能够丰富物种的遗传结构,通过杂交,可以将两个以上的遗传基础不同的品种的基因自由组合,可能迅速提高杂种的生活力,获得杂种优势。杂种优势一词最早由Shull(1908)提出,指的是杂种活力相对高于其亲本的现象^[6]。

杂种优势的表现程度取决于来自亲本间性状的差异。一般而言,双亲的亲缘关系、性状差异、地理距离和生态类型差异较大的,或某些性状可以互补的,这种杂交子代的杂种优势会表现比较强^[7]。近百年以来,国内外许多的学者探讨了杂种优势的基础,有关杂种优势机理,存在很多假说,目前主要有显性假说、超显性假说和上位假说^[8]。

1.2.1 显性假说

显性假说(Dominance hypothesis)最先由Davenport(1908)提出^[9],Bruce等^[10](1910)进一步充实和发展了这一假说。该假说认为等位基因中,有利的显性基因对有害的隐性基因具有抑制作用和对有缺陷基因具有补偿作用;而等位

基因中有利的显性基因之间存在共显性作用；非等位显性基因之间存在包括互补或者上位的互作效应；而且显性基因之间存在加性效应。显性假说强调显性作用的基因对杂种优势的贡献，同时也得到了实验的支持。Sprange等^[11]（1962）研究结果说明，玉米籽粒产量受显性基因的影响。

1.2.2 超显性假说

该假说最早由Shull^[6]（1908）和East^[12]（1908）提出，后来East^[13]（1936）用基因理论将该假说具体化。该假说的主要观点：杂合等位基因的互作大于纯合等位基因的互作，所以杂合子（Aa）在强度上可以超过两个纯合子（AA和aa），在一定的范围内，等位基因差异越大，杂种优势越大。该假说认为，杂种优势产生的原因可能是杂合等位基因之间的互补作用、杂合体具备生物合成的多种途径、杂合体可以合成重要的生理活性物质，具备合成新物质的能力以及杂合体增加了基因之间的多种互作效应。

1.2.3 上位假说

Hayman&Mather^[14]（1955）提出了上位假说，认为杂种优势主要是位点间的基因的相互作用的效应，有时为显性上位，有时为隐性上位。Yu等^[15]（1997）利用分子连锁图谱对水稻优良杂交种进行分析，结果表明，加性基因之间、加性与显性基因之间和显性基因之间的作用广泛存在于基因组中，而且许多基因共同作用的结果影响产量性状的表现，因此认为基因之间的上位效应是杂种优势形成的重要的遗传基础，上位效应在杂种优势形成中起决定作用。

2 贝类种间杂交的研究进展

由于贝类亲缘关系较远，贝类的种间杂交往往杂交不亲和，受精率和孵化率偏低，幼体不能成活，杂交子一代不育，杂交的后代育性差等现象。这些问题限制了种间杂交的应用，但种间杂交遗传变异性较大，能够为常规育种培育中间材料，以便更进一步育成可供生产利用的新品种^[16]。目前贝类杂交育种工作主要在鲍、牡蛎、扇贝和珠母贝等具有较高经济价值的养殖种类中开展较多。

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库