

学校编码: 10384

分类号

密级

学 号: B200427011

UDC

厦门大学
博士 学位 论文
**六种石斑鱼核型特征比较
和染色体进化研究**

**Comparative karyotype characterization and chromosomal
evolution of six groupers**

王世锋

指导教师姓名: 苏永全 教授

专业名称: 海洋生物学

论文提交日期: 2007 年 7 月

论文答辩时间: 2007 年 8 月

学位授予日期: 2007 年 月

答辩委员会主席: 郑微云 教授
评 阅 人: 王清印 研究员
王桂堂 研究员
张士璀 教授
陈奕欣 教授
王义权 教授
张玉生 研究员
杨 丰 研究员

2007 年 8 月

厦门大学学位论文原创性声明

兹呈交的学位论文，是本人在导师的指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作过程中参考其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文而产生的权利和责任。

声明人（签名）

2007 年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1. 保密（），在年解密后适用本授权书。
2. 不保密（）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名： 日期： 年 月 日

导师签名： 日期： 年 月 日

目 录

摘要	I
ABSTRACT	IV
第一章 绪论	1
一 鱼类染色体研究进展.....	2
1. 鱼类染色体核型研究进展.....	2
2. 鱼类染色体显带研究进展.....	6
2.1 Ag-NORs	6
2.2 C—带	8
2.3 荧光带	10
2.4 其它显带技术	10
3. 荧光原位杂交技术.....	11
3. 1 荧光原位杂交的原理	11
3. 2 染色体荧光原位杂交的技术方法	12
4. 荧光原位杂交技术在鱼类染色体研究中的应用概况.....	16
4. 1 rDNA 在鱼类染色体上的分布模式	16
4. 2 端粒序列在鱼类染色体进化研究中的应用	22
4. 3 其它基因在鱼类染色体上的定位	23
4. 4 鱼类特异重复序列研究概况	24
4. 5 我国利用荧光原位杂交技术研究鱼类染色体概况	24
二 石斑鱼类研究进展.....	25
1. 石斑鱼类的经济价值.....	25
2. 石斑鱼的研究现状.....	25
2. 1 石斑鱼养殖相关研究	25
2. 2 功能基因与分子标记	26
2. 3 石斑鱼染色体核型研究	27
三 本文研究的意义	29
第二章 六种石斑鱼类传统染色体核型比较研究.....	29
一 材料和方法	29
1. 材料和试剂	29
2. 主要仪器	29
3. 试剂的配制	30

4. 实验方法	31
4.1 染色体标本制备	31
4.2 核型分析	31
4.3 Ag-NORs	32
4.4 C一带	32
二 实验结果	33
1. 核型	33
1.1 染色体数目	33
1.2 染色体组组成	33
2. C—显带	42
3. Ag-NORs	44
三 讨论	49
1. 核型	49
1.1 石斑鱼的原始核型	49
1.2 海水和淡水鱼类染色体二倍体数	49
1.3 石斑鱼染色体多态现象	51
1.4 六种石斑鱼的核型比较	53
1.5 石斑鱼属的特征性染色体	54
1.6 拟青石斑鱼的异形染色体对	54
2. 异染色质	55
2.1 拟青石斑鱼和赤点石斑鱼的异染色质短臂	55
2.2 拟青石斑鱼的异形染色体对	56
2.3 斜带石斑鱼与点带石斑鱼	57
3. 核仁组织区	58
3.1 石斑鱼属 NORs 的基本特征	58
3.2 石斑鱼属鱼类原始 NORs 状态的判定	58
3.3 关于石斑鱼属鱼类的 NORs 演化	60
3.4 石斑鱼属鱼类 NORs 的多态性	60
4. 小结	62
第三章 六种石斑鱼类的荧光原位杂交比较研究.....	64
第一节 探针的制备.....	65
一 材料和方法.....	65
1. 材料和试剂	65
2. 主要仪器	65
3. 试剂的配制	65
4. 实验方法	66
二 实验结果.....	68

1. 5S rDNA 探针	68
2. 18S rDNA 探针	69
3. 端粒探针	69
三 讨论	69
第二节 荧光原位杂交	71
一 材料和方法	71
1. 材料	71
2. 试剂	71
3. 仪器	71
4. 试剂的配制	71
5. 实验方法	74
二 实验结果	75
1. DAPI 复染结果	75
2. 18S rDNA 探针的检测结果	75
3. 5S rDNA 探针的检测结果	76
4. 端粒探针的检测结果	76
三 讨论	81
1. DAPI 荧光带	81
2. 5S rDNA	82
3. 18S rDNA	83
4. 端粒探针	84
5. 石斑鱼的原始核型特征	85
6. 六种石斑鱼的系统进化	85
7. 石斑鱼属鱼类的染色体进化	92
8. 小结	93
参考文献	97
在学期间已发表的论文	112
致谢	113

CONTENTS

Chinese abstract..... 错误！未定义书签。

English abstract..... 错误！未定义书签。

chapter 1 introduction..... 错误！未定义书签。

I Advances in study of fish chromosome	错误！未定义书签。
1. Progress of fish karyotype studies	错误！未定义书签。
2. Progress of chromosome banding in fish	6
2.1 Ag-NORs	错误！未定义书签。
2.2 C-banding	错误！未定义书签。
2.3 Fluorescent banding	10
2.4 Others banding techniques	错误！未定义书签。
3. Fluorescence <i>in situ</i> hybridization (FISH)	错误！未定义书签。
3.1 The principle of FISH	错误！未定义书签。
3.2 The method of FISH	12
4. Current applications of FISH techniques in fish karyotype study	错误！未定义书签。
4.1 Distribution patterns of ribosomal DNA on fish chromosomes	错误！未定义书签。
4.2 Application of telomeric (TTAGGG) _n repetitive sequence in fish chromosomal evolution study	22
4.3 Mapping of other genes on fish chromosomes	23
4.4 Progress in specific repetitive DNA studies in fish	错误！未定义书签。
4.5 A summary of fish chromosome studies using FISH techniques in China	24
II Research progress in fish genus <i>epinephelus</i>	错误！未定义书签。
1. The economical value of species in <i>Epinephelus</i> ..	错误！未定义书签。
2. Advances in <i>Epinephelus</i> studies	25
2.1 <i>Epinephelus</i> culturing researches	25
2.2 Functional gene and molecular marker researches	26
2.3 Karyotype researches	26
III The research significance of this paper	29

Chaper 2 A comparative study of karyotype characterization in six species of *Epinephelus* using classical techniques..... 29

I Material and methods	29
1. Samples and reagents	29

2. Equipment	29
3. Preparation of Reagents	30
4. Methods	31
4.1 Preparation of metaphase chromosomes	31
4.2 Karyotype analysis	31
4.3 Ag—NORs	32
4.4 C—banding	32
II Results	33
1. Karyotype	33
1.1 Diploid number	33
1.2 Chromosome complement	33
2. C—banding	42
3. Ag—NORs	44
III Discussion	49
1. Karyotype	49
1.1 Basal karyotype of <i>Epinephelus</i>	49
1.2 The number of 2n in freshwater and marine fishes	49
1.3 Polymorphism of chromosomes in <i>Epinephelus</i>	51
1.4 Karyotype comparison of six species of <i>Epinephelus</i>	53
1.5 Characteristic chromosomes in <i>Epinephelus</i>	54
1.6 Heteromorphic chromosome pairs in <i>E. fasciatomaculosus</i>	54
2. Heterochromatin	55
2.1 Heterochromatin-bearing short arms of chromosomes in <i>E. fasciatomaculosus</i> and <i>E. akaara</i>	55
2.2 Heteromorphic chromosome pairs in <i>E. fasciatomaculosus</i>	56
2.3 <i>E. coioides</i> and <i>E. malabaricus</i>	57
3. Nucleolar organizing region	58
3.1 Basic characteristics of NORs in <i>Epinephelus</i>	58
3.2 Determination of the primitive pattern of NORs in <i>Epinephelus</i>	58
3.3 NORs evolution in <i>Epinephelus</i>	60
3.4 NORs polymorphism in <i>Epinephelus</i>	60
4. Summary	62
Chapter 3 A comparative study of karyotype characterization in six species of of <i>Epinephelus</i> using FISH technique.....	64
Section one Preparation of probes	65
I Material and methods	65

1. Samples and reagents	65
2. Equipment	65
3. Preparation of reagents	65
4. Methods	66
II Results	68
1. 5S rDNA as probe	68
2. 8S rDNA as probe	69
3. Telomeric (TTAGGG) _n sequences as probe	69
III Discussion	69
Section two Fluorescence <i>in situ</i> hybridazation	71
I Material and methods	71
1. Samples	71
2. Reagents	71
3. Equipment	71
4. Preparation of reagents	71
5. Methods	74
II Results	75
1. DAPI staining	75
2. Localization of 18S rDNA sequences	75
3. Localization of 5S rDNA sequences	76
4. Localization of telomeric (TTAGGG) _n sequences	76
III Discussion	81
1. AT-rich regions	81
2. 5S rDNA	82
3. 18S rDNA	83
4. Telomeric (TTAGGG) _n sequences	84
5. Primitive karyotype characteristics of <i>Epinephelus</i>	85
6. Phylogenetic analysis of six species in <i>Epinephelus</i>	85
7. Chromosome evolution of groupers	92
8. Summary	93
References.....	97
Publications.....	112
Acknowledgements.....	113

摘要

利用常规核型分析、C—带、Ag-NORs、DAPI 荧光染料染色以及几种重复序列（5S rDNA、18S rDNA 和 $(TTAGGG)_n$ ）的荧光原位杂交技术对斜带石斑鱼 *E. coioides*、青石斑鱼 *E. awara*、拟青石斑鱼 *E. fasciatomaculosus*、赤点石斑鱼 *E. akaara*、褐石斑鱼 *E. bruneus* 和镶点石斑鱼 *E. amblycephalus* 的核型特征进行描述比较和研究，结果如下：

1、6 种石斑鱼二倍体染色体数目均为 48，但其染色体组组成具有一定的差异，核型公式分别为：斜带石斑鱼 $2n=48$, $2sm+46t$, $NF=50$; 青石斑鱼 $2n=48$, $48t$, $NF=48$; 拟青石斑鱼 $2n=48$, $1st+47t$, $NF=48$; 赤点石斑鱼 $2n=48$, $2sm+8st+38t$, $NF=50$; 褐石斑鱼 $2n=48$, $2m+4sm+42t$, $NF=54$; 镶点石斑鱼 $2n=48$, $2m+46t$, $NF=50$ 。

2、分析了 C—带和 DAPI 荧光带在 6 种石斑鱼染色体上的分布，6 种石斑鱼染色体 C—带和 DAPI 荧光带的分布模式均不同。

根据染色体组中是否绝大多数染色体的着丝粒区域为 C—带异染色质这一特征，可将 6 种石斑鱼分为 2 种类型：(1) 染色体组中绝大多数染色体具有着丝粒带，此类型中包括斜带石斑鱼和褐石斑鱼；(2) 染色体组中绝大多数染色体不具有着丝粒带，此类型又可根据是否具有恒定的异染色质带细分为：a、绝大多数染色体无着丝粒带，仅双臂染色体的整条短臂为恒定的异染色质带，如拟青石斑鱼和赤点石斑鱼，b、绝大多数染色体无着丝粒带，仅在部分染色体的着丝点位置具有变动带，此类型包括青石斑鱼和镶点石斑鱼。

DAPI 荧光带的研究结果表明，除斜带石斑鱼外，其它 5 种石斑鱼均具有 DAPI 荧光亮带，具体模式如下：斜带石斑鱼各条染色体被均匀染色，无明显 DAPI 荧光带；青石斑鱼与褐石斑鱼在其着丝点位置具有荧光亮带，但青石斑鱼的荧光带信号非常微弱而褐石斑鱼则较强；拟青石斑鱼和赤点石斑鱼染色体组中双臂染色体的整个短臂被 DAPI 染成明亮的荧光带；镶点石斑鱼在一些染色体的着丝点位置和第 24 对染色体上靠近端粒位置显示为荧光亮带。

褐石斑鱼绝大多数染色体着丝粒位置，拟青石斑鱼和赤点石斑鱼所有双臂染色体的整个短臂既表现为 C 带阳性也表现为 DAPI 荧光亮带，说明这些位置染色体的结构和碱基组成相似，可能具有同源性。

3、不论是常规的 Giemsa 染色，还是 C—带以及 DAPI 荧光染色体，拟青石斑鱼染色体组中第 1 对染色体为异形。该对染色体由 1 条端部着丝粒染色体和 1 条亚端部着丝粒染色体组成，C—带和 DAPI 荧光带均表明该对染色体中的亚端部着丝粒染色体，其整个短臂为染色体组中唯一 1 条可以检测到 C 带阳性以及 DAPI 荧光亮带的染色体，而同源染色体中的另外 1 条则既无异染色质带也无 DAPI 荧光带，可见该对同源染色体为 1 对异形染色体。这种同源染色体异形的现象在石斑鱼属中属首次发现。

4、银染结果表明，在 6 种石斑鱼种内和种间，NORs 数目和分布模式具有多态性。青石斑鱼、拟青石斑鱼、赤点石斑鱼和镶点石斑鱼染色体组中仅有 1 对核仁组织区位于第 24 对染色体靠近着丝粒的位置上；斜带石斑鱼仅在第 24 对染色体的短臂上具有 1 对 NORs；褐石斑鱼染色体组中核仁组织区数目 2~5 个，位于双臂染色体，既第 2、9、24 对染色体短臂上。

5、利用荧光原位杂交技术研究 5S rDNA 和 18S rDNA 在 6 种石斑鱼染色体上的分布模式。结果表明 5S rDNA 在 6 种石斑鱼染色体组中，均位于 1 对中等大小端部着丝粒染色体且靠近着丝点的位置上，种间和种内未观察到差异，在染色体上的分布模式基本一致。这表明 5S rDNA 在石斑鱼属鱼类染色体上的分布模式具有较高的保守性；6 种石斑鱼染色体组中，具有 5S rDNA 的染色体具有同源性。

利用 FISH 研究 18S rDNA 在 6 种石斑鱼染色体上的分布模式，结果表明：褐石斑鱼在 3 对（第 2、9 和 24 对）染色体上具有明显杂交信号，并且在一些染色体的末端也有较小和微弱的信号，检测到的 rDNA 位点多于银染检测到的位点数；其它 5 种石斑鱼只能在第 24 对染色体上检测到唯一 1 对杂交信号，与银染结果一致。6 种石斑鱼第 24 对染色体上均具有 NORs 说明第 24 对染色体在 6 种石斑鱼中具有同源性。

6、利用 FISH 技术检测端粒序列在 6 种石斑鱼染色体上的分布，端粒探针杂交信号仅局限在所有染色体的端粒位置，在染色体上的中间部位未检测到杂交信号。但在褐石斑鱼中，发现有 10 对染色体的端粒位置，杂交信号强度明显比其它位点的强度高，信号大小也比其它染色体上的大，说明这些位置上的端粒序列拷贝数明显高于其它位点。

7、为了探索石斑鱼属鱼类进化分歧过程中染色体进化趋势与途径，本文综合了 6 种石斑鱼核型特征信息建立了系统进化树。通过与前人利用分子标记构建的系统进化树进行对比，发现 2 种进化树之间具有较好的一一对应关系。此外，系统进化树还

揭示了石斑鱼属染色体的进化规律：石斑鱼属系统进化树中不同分支中的石斑鱼染色体进化采用不同形式的染色体重组以实现进化分歧。

关键词：石斑鱼；染色体；荧光原位杂交

厦门大学博硕士论文摘要库

ABSTRACT

Using Giemsa-staining, C-band, Ag-NORs, DAPI staining and Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) with repetitive sequencing (5S rDNA, 18S rDNA, and (TTAGGG)_n) techniques, I studied the karyotypic characteristics of *Epinephelus coioides*, *E. awara*, *E. fasciatomaculosus*, *E. akaara*, *E. bruneus* and *E. amblycephalus*. The results are as following:

1. All six species presented uniform diploid numbers ($2n=48$), yet differed in their karyotypic formulae: *E. coioides* is $2n=48$, $2sm+46t$, NF=50; *E. awara* is $2n=48$, $48t$, NF=48; *E. fasciatomaculosus* is $2n=48$, $1st+47t$, NF=48; *E. akaara* is $2n=48$, $2sm+8st+38t$, NF=50; *E. bruneus* is $2n=48$, $2m+4sm+42t$, NF=54; *E. amblycephalus* is $2n=48$, $2m+46t$, NF=50.

2. All six species showed species-specific C-band and DAPI-band patterns.

I could approximately divide these six species' C-band patterns into two groups: (1) the constitutive heterochromatin was observed at the centromeric region on most chromosomes, as in *E. coioides* and *E. bruneus*; 2) heterochromatin was absent at the centromeric region of most chromosomes, as in the other four species. And in the second group, still two sub-types could be observed: a). C-banding heterochromatin constantly occupied the total short arm of the bi-armed chromosomes, as in *E. fasciatomaculosus* and *E. akaara*; b) C-banding heterochromatin was occasionally observed at the centromeric region on some chromosomes, as in *E. awara* and *E. amblycephalus*.

DAPI fluorochrome analyses showed that all six species of *Epinephelus* possess distinct DAPI fluorescent bands except *E. coioides*. Fluorescent band signals were observed at the centromeric regions of chromosomes in *E. awara* and *E. bruneus*, fainter in *E. awara* and stronger in *E. bruneus*; the whole short arms of biarmed chromosomes showed bright DAPI fluorescent bands in *E. fasciatomaculosus* and *E. akaara*; and fluorescent bands were observed at the centromeric regions of some chromosomes and the subtelomeric region of pair No. 24 chromosome in *E. amblycephalus*.

The concurrence of C-positive bands and DAPI fluorescent bands at the pericentromeric regions of most chromosomes in *E. bruneus* and on the whole short arm of bi-armed chromosomes in *E. fasciatomaculosus* and *E. akaara* indicated that at these particular locations, the chromosome structure and bases were similar and therefore could be homeologous.

3. Chromosome pair No. 1 of *E. fasciatomaculosus* was heteromorphic. Not only Giemsa-staining results showed that it is consisted of a subtelocentric chromosome and a telocentric chromosome, C-bands and DAPI fluorescent bands also occurred only on one of the homeologous chromosomes—the subtelocentric chromosome. No C-banding or DAPI fluorescent signals were detected on the telocentric chromosome. In the genus of *Epinephelus*, no such pair of heteromorphic homeologous chromosomes has ever been reported.

4. There are inter-species variations in the number and distribution pattern of NORs in the six species of *Epinephelus*. In *E. awara*、*E. fasciatomaculosus*、*E. akaara* and *E. amblycephalus*, a single pair of NORs was detected at the paracentromeric region of chromosome pair No. 24. In *E. coioides*, a single pair of NORs was also detected on chromosome pair No. 24, but it was located on the telomere of the short arms of chromosome pair N0. 24. In *E. bruneus*, the number of NORs varies from 2 to 6, and they always appeared on the telomere of the short arm of biarmed chromosomes (N0. 2, 9 and 24) .

5. Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) technique was used to study the distribution patterns of 5S rDNA and 18S rDNA on chromosmoes of six species of *Epinephelus*. No inter- or intra- species differences were detected in the distribution pattern of 5S rDNA. In all 6 species, 5S rDNA was located at the paracentromeric region of a pair of middle-sized telocentric chromosome. This indicated that 5S rDNA distribution patterns were conservative and the 5S rDNA bearing chromosomes were homeologous in these 6 species. In five of the six species, a single pair of 18S rDNA hybridization signals could be detected only on chromosome pair No. 24, corresponding to silver staining results. The

exception was *E. bruneus*, in which strong hybridization signals were observed on three pairs of chromosomes (No. 2, 9 and 24) as well as weak signals on some other chromosomes. 18S rDNA distribution patterns revealed that chromosome pair No. 24 were homeologous in these 6 species.

6. I analyzed the localization of the telomeric sequence (TTAGGG)_n on chromosomes of the six species. In all species, the telomeric sequences, detected by FISH, were restricted to telomeres, and no interstitial sites were observed. However, in *E. bruneus*, significant increase of hybridization signal intensity at one end of chromosome was observed in 10 pairs of chromosomes. This suggested that at these specific locations, telomeric sequences were repeated many more times than at the other locations.

7. To explore the evolutionary trend and process of chromosomes in the *Epinephelus* during diversification, this study summarized the karyotypic characteristics of six species of groupers and built a phylogenetic tree based on the Giemsa-staining, C-band, Ag-NORs, DAPI and FISH with repetitive sequencing (5S rDNA, 18S rDNA, and (TTAGGG)_n) experimental results. The groupings of this tree corresponded well with many other former studies in which phylogenetic trees were built based on molecular marker information. Moreover, this karyotypic phylogenetic tree further revealed that species of different clade tend to evolve through different approaches.

Key words: *Epinephelus*; chromosome; FISH (fluorescence *in situ* hybridization)

第一章 绪论

鱼类在脊椎动物门中，是最为低等的脊椎动物类群，同时也是世界上最为丰富的脊椎动物类群。全世界共有鱼类 24,618 种，隶属于 57 个目 482 科 4258 属，占脊椎动物种类总数的一半以上，其中海水鱼类约为 13,000 种^[1]。鱼类在脊椎动物进化中处于承先启后的地位，有着长久的进化历史和繁多的演化分枝。鱼类在进化过程中表现出各种趋同性、趋异性和保守性，变化纷繁，物种进化异常活跃。鱼类不仅具有重大的经济价值，而且还具有多种多样的生物学特性，例如在生殖方式上，有卵生、胎生、卵胎生。鱼类在性别决定中具有多种表现形式，有些鱼类雌雄同体，有些鱼类则具有性逆转现象。在染色体水平鱼类具有多种多样的染色体性别决定系统，许多鱼类没有特定的性染色体，控制性别的基因分散在常染色体上^[2]；一些鱼类具有性染色体，且有多种表现形式，如 XX/XY, ZZ/ZW, X₁X₁X₂X₂/X₁X₂Y, XX/XY₁Y₂ 和 ZZ/ZW₁W₂ 等都有报道^[3]。可见，许多鱼类可为生物学中物种的发生，进化，近缘种的鉴定，性染色体的发生等问题的研究，提供大量多种多样，且具有相应生物学特性的优质研究材料，因此对鱼类进行系统的研究，具有重要的理论意义。

石斑鱼属种类繁多，FAO 记载有 98 种，多数种类是热带和亚热带重要的经济鱼类，不仅是重要的捕捞对象，有些已成为名贵的养殖品种。石斑鱼外部形态及骨骼形态相似，在分类上多以条纹、斑点及体色作为主要依据。然而在不同环境或生理条件下，许多石斑鱼类的体色花纹往往会发生显著变化，某些种类的幼鱼与成鱼之间也有显著差别，常由此引起一些种类鉴定上的失误和系统分类上的争议。因此，石斑鱼的分类一直是鱼类系统分类学的一个难题。尽管在 DNA 水平已对石斑鱼类的系统进化关系做了研究^[4-7]，但是一些近缘种在 DNA 水平上差异很小；而且利用不同 DNA 序列构建的系统进化树，在一些分支内的物种，其进化位置无法确定；另外已做过核型研究的 20 种石斑鱼属鱼类，大多数种类的染色体组组成相同，全部为端部着丝粒染色体，这种核型上的保守性与属内物种的多样性存在矛盾。因此如何更准确的对石斑鱼属鱼类近缘种进行鉴别，如何确定系统进化树上分支中各个物种的进化地位，以及了解石斑鱼属鱼类的进化等问题，需要从新的角度进行研究解决。

染色体是生物遗传物质的主要载体，染色体的数目、形态、减数分裂过程的行为状态以及染色体带型特点都具有种特异性，而且记载了生物进化的历史。遗传物种许多微小变异的积累，就可能引起物种的分化，并影响到与进化有关的许多过程。而染

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