

学校编码: 10384
学号: 31120090153248

分类号__密级__
UDC__

廈門大學

博 士 学 位 论 文

三种鲍种间杂交的细胞遗传学研究

**Cytogenetic Characterization of Interspecies Hybrids in
Three Species of Abalone**

王海山

指导教师姓名: 柯才焕教授

专 业 名 称: 海洋生物技术

论文提交日期: 2014. 12. 21

论文答辩时间: 2014. 12. 6

学位授予日期:

2014年12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

摘要	I
Abstract	I
第一章 绪论	1
第一节 鲍类的养殖概况	1
1.1 鲍的分类研究.....	2
1.2 我国鲍类的养殖历史与模式.....	4
第二节 鲍类杂交育种的研究	6
2.1 野生鲍类的自然杂交.....	6
2.2 鲍类的种间杂交实验.....	6
2.3 我国鲍类育种的研究进展.....	7
第三节 细胞遗传学的研究方法	9
3.1 染色体核型分析.....	9
3.2 染色体的带型分析.....	10
3.3 荧光原位杂交技术.....	12
3.4 染色体分选技术.....	14
第四节 贝类的细胞遗传学研究	15
4.1 贝类染色体核型及带型的研究.....	15
4.2 FISH 技术在贝类中的研究.....	18
4.3 细胞遗传学在贝类杂交中的研究.....	18
第五节 本文的立题依据、研究内容和意义	20
第二章 鲍种间杂交受精过程及染色体核型研究	21
第一节 皱纹盘鲍与西氏鲍杂交受精过程观察	21
1 材料与方法.....	21
2 结果.....	22
3 讨论.....	27
第二节 皱纹盘鲍与西氏鲍及子代 Ag-NOR 带型分析	30
1 材料与方法.....	30
2 结果.....	32

3 讨论.....	36
第三节 皱纹盘鲍与绿鲍及子代核型分析	39
1 材料与方法.....	39
2 结果.....	40
3 讨论.....	42
第三章 FISH 技术在鲍染色体上的应用.....	44
第一节 18S 基因在两种鲍上的定位	44
1 材料与方法.....	45
2 结果.....	47
3 讨论.....	48
第二节 端粒序列在两种鲍上的定位	51
1 材料与方法.....	51
2 结果.....	52
3 讨论.....	54
第三节 皱纹盘鲍养殖群体染色体的多态性	55
1 材料与方法.....	55
2 结果.....	55
3 讨论.....	58
第四章 鲍种间杂交的染色体组成	61
第一节 皱纹盘鲍与西氏鲍染色体涂染	62
1 材料与方法.....	62
2 结果.....	64
3 讨论.....	65
第二节 鲍种间杂交 F1 代染色体组成.....	66
1 材料与方法.....	66
2 结果.....	67
3 讨论.....	68
第三节 不同亲本的遗传物质在细胞核上的分布	71
1 材料与方法.....	71

2 结果.....	72
3 讨论.....	73
第四节 杂交鲍回交子代的染色体组成	75
1 材料与方法.....	75
2 结果.....	76
3 讨论.....	77
第五章 鲍种间杂交核仁的数量变化	80
第一节 核仁在细胞分裂间期的形态	80
1 材料与方法.....	80
2 结果.....	81
3 讨论.....	82
第二节 杂交 F1 代核仁数量的变化.....	84
1 材料与方法.....	84
2 结果.....	85
3 讨论.....	86
第三节 回交子代中核仁的数量及形态	89
1 材料与方法.....	89
2 结果.....	89
3 讨论.....	91
第四节 沉底幼体与正常幼体核仁形态和数量比较	94
1 材料与方法.....	94
2 结果.....	94
3 讨论.....	96
第六章 结论与展望	98
参考文献	100
在学期间发表的论文及参加的学术活动	117
致谢.....	118

Table of Contents

Chinese Abstract	I
English Abstract	I
Chapter 1 Introduction	1
Part 1 Situation of abalone culture.....	1
1 Study on classification of abalone	2
2 The breeding history and mode of abalone in China	4
Part 2 Breeding of abalone.....	6
1 Natural hybridization	6
2 Interspecific hybridization experiment of abalone	6
3 Research of abalone breeding in China	7
Part 3 Method of cytogenetics.....	9
1 Karyotype analysis.....	9
2 Chromosome banding analysisi	10
3 Florescence in situ hybridization	12
4 Chromosome sorting.....	14
Part 4 Cytogenetic study of shellfish	15
1 Chromosome karyotype and banding of shellfish	15
2 FISH research of shellfish.....	18
3 Cytogenetics research on shellfish hybridization	18
Part 5 Technical proposal, aims and significance for the study.....	20
Chapter 2 Fertilization and karyotype analysis of interspecies hybridization abalone	21
Part 1 The cytological observation of fertilization in hybridization	21
1 Materials and methods	21
2 Results.....	22
3 Discussion.....	27
Part 2 Ag-NOR banding of hybrid between <i>H. discus hannai</i> and <i>H. gigantea</i>	30
1 Materials and methods	30
2 Results.....	32
3 Discussion.....	36

Part 3 Karyotype analysis of interspecific hybrids between <i>H. discus hannai</i> and <i>H. fulgens</i>	39
1 Materials and methods	39
2 Results.....	40
3 Discussion.....	42
Chapter 3 FISH on chromosome of abalone	44
Part 1 18S-FISH on <i>H. discus hannai</i> and <i>H. fulgens</i>	44
1 Materials and methods	45
2 Results.....	47
3 Discussion.....	48
Part 2 Location of telomere of <i>H. discus hannai</i> and <i>H. fulgens</i>	51
Materials and methods	51
2 Results.....	52
3 Discussio.....	54
Part 3 Chromosome polymorphism of breeding population of <i>H. discus hannai</i>.....	55
1 Materials and methods	55
2 Results.....	55
3 Discussion.....	58
Chapter 4 GISH of interspecies hybridization of <i>Haliotis</i>	61
Part 1 Chromosome painting between <i>H. discus hannai</i> and <i>H. gignatea</i>	62
1 Materials and methods	62
2 Results.....	64
3 Discussion.....	65
Part 2 GISH on F1 hybrids of <i>Haliotis</i> interspecies hybridization.....	66
1 Materials and methods	66
2 Results.....	67
3 Discussion.....	68
Part 3 Gonomery of hybrid between <i>H. discus hannai</i> and <i>H. gignatea</i>	71
1 Materials and methods	71
2 Results.....	72

3 Discussion	73
Part 4 GISH on back cross hybrid	75
1 Materials and methods	75
2 Results.....	76
3 Discussion	77
Chapter 5 Inheritance analysis of nucleolus in the interspecies hybrid abalone.....	80
Part 1 Morphology of nucleolus in interphase cells.....	80
1 Materials and methods	80
2 Results.....	81
3 Discussion	82
Part 2 Number of nucleolus variation in hybrid F1.....	84
1 Materials and methods	84
2 Results.....	85
3 Discussion	86
Part 3 Number and morphology of nucleolus in backcross generation	89
1 Materials and methods	89
2 Results.....	89
3 Discussion	91
Part 4 Nucleolar morphology and number compared between normal and sinkin larvae	94
1 Materials and methods	94
2 Results.....	94
3 Discussion	96
Chapter 6 Conclusion and prospect	98
Reference	100
Achievements obtained in doctoral degree study	117
Acknowledgements	118

摘要

细胞遗传学是在细胞水平上,通过研究染色体的结构和行为从而找出遗传机制和遗传规律的学科。此外该学科还包括细胞质及其他细胞器遗传作用的研究。细胞遗传学是遗传学中最先发展起来的学科,也是最基本的学科,但是贝类的细胞遗传学研究基础薄弱,整体研究水平相对落后。而鲍类的细胞遗传学研究更是鲜见报道。本研究以皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai*)、西氏鲍 (*H. gigantea*) 和绿鲍 (*H. fulgens*) 以及它们杂交子代为材料,开展鲍类种间杂交的细胞遗传学基础研究,采用核型分析、银染带型分析、荧光原位杂交 (fluorescence *in situ* hybridization, FISH)、基因组原位杂交 (Genome *in situ* hybridization, GISH) 等技术对三种鲍类及其杂交子代进行研究,从而丰富了鲍类的染色体基础信息,同时对杂交鲍的染色体的组成及遗传规律有了初步的认识,并确认了核仁在皱纹盘鲍和西氏鲍及其杂交 F_1 、回交 BC_1 、 BC_2 代中的分布规律。主要研究结果如下:

1. 皱纹盘鲍与西氏鲍的受精过程及杂交子代染色体核型组成

(1) 西氏鲍的精子可正常激活皱纹盘鲍的卵子,精子进入卵子之后受精卵开始两次减数分裂,释放出第一极体和第二极体。通过 FITC 标记的 anti- α -tubulin 蛋白免疫荧光观察,发现精子在入卵时会在卵膜表面,形成一个类似于受精孔的结构。

(2) Ag-NOR 带型分析发现,皱纹盘鲍与西氏鲍及其杂交子代具有一致的核型 $2n=20m+16sm$, NOR 定位于皱纹盘鲍的第 14、17 对染色体的长臂端部,西氏鲍的第 3、9、14 对染色体的长臂端部。NOR 位点在杂交子代中以亲本的 NOR 类型自由组合形式出现。无论亲本还是子代的 NOR 位点和数量均存在较高多态性。

(3) 对皱纹盘鲍与绿鲍杂交子代的核型分析显示,皱纹盘鲍核型为 $2n=20m+16sm$, 绿鲍核型 $2n=16m+16m+4st$, 杂交子代的核型为 $2n=18m+16sm+2st$, 证实该杂交为染色体水平上的真实杂交。

2. 18S 基因和端粒序列在皱纹盘鲍和西氏鲍中 FISH 结果

(1) 18S 基因定位于皱纹盘鲍第 13 和第 17 对染色体的长臂端部,西氏鲍的 18S 基因定位于第 9、12、13 对染色体的长臂端部。皱纹盘鲍的 18S 基因位点和数目均存在着多态性。

(2) 脊椎动物的端粒序列 (TTAGGG) $_n$ 在皱纹盘鲍与西氏鲍中均可以定位在全染色体端粒位置, 证明两种鲍的端粒序列与脊椎动物一致。

(3) 以福建地区一个养殖群体皱纹盘鲍为材料, 通过 Ag-NOR、18S 基因探针、端粒序列探针的 FISH 结果研究发现, 养殖群体的皱纹盘鲍核型分为三种类型 $2n=36=20m+16sm$ (82%)、 $2n=36=22m+14sm$ (14%) 和 $2n=36=20m+14sm+2st$ (4%), 并且在长期的养殖过程中染色体可能存在断裂再融合的现象。

3. 鲍种间杂交的染色体组成

(1) 皱纹盘鲍与西氏鲍的染色体涂染结果显示, 二者基因组具有较高的同源性, 皱纹盘鲍约有 $16.9\pm 1.1\%$ 的基因与西氏鲍一致, 西氏鲍约有 $12.1\pm 1.9\%$ 的基因与皱纹盘鲍相同, 推测西氏鲍可能为皱纹盘鲍的一个后生种。

(2) 皱纹盘鲍和西氏鲍的杂交子代分别继承一套单倍数的亲本染色体, 皱纹盘鲍与绿鲍的杂交子代染色体分别由亲本的一套单倍染色体组成。证明两种杂交均为染色体水平上的实质性杂交。

(3) 通过对杂交子代受精卵的 GISH 结果观察, 发现来自不同亲本的遗传物质胚胎发育早期在空间上可能独立分布。

(4) 皱纹盘鲍 \times 西氏鲍的 BC_1 、 BC_2 中西氏鲍的染色体数目逐渐减少、推测可能部分染色体出现了交换的现象。

4. 杂交鲍及其子代中的核仁形态学参数的统计

(1) 银染的方法观察到皱纹盘鲍分裂间期的细胞核, 存在着类似于核仁前体的特殊结构, 推测皱纹盘鲍的核仁形成是由主要的 rDNA 簇独自或者一些相邻染色体上的次要的 rDNA 簇聚集在一起形成。

(2) 在皱纹盘鲍与西氏鲍的杂交子代中核仁数目显著高于亲本, 并且核仁的总面积显著大于亲本, 说明在杂交子代中的蛋白合成活动可能更加活跃。

(3) 在杂交鲍的回交子代中核仁数目, 随着回交代数的增加逐渐恢复到轮回亲本水平, 无论各个杂交组合的核仁数目为多少, 单细胞内总的核仁面积趋于一致。

(4) 在畸形的幼体中核仁数目和核仁总面积显著低于正常发育幼体, 说明由于杂交亲本的个体差异及亲本的核质不亲和而导致幼体发育紊乱, 蛋白合成量达不到正常生长所需要的蛋白合成水平。

关键词: 皱纹盘鲍; 西氏鲍; 绿鲍; 种间杂交; 细胞遗传学; 核仁

Abstract

The main function of cytogenetics is to research the structure and behavior of chromosomes, inheritance and genetic mechanism. In addition, it also includes research genetic effect of organelles and cytoplasm. There was less cytogenetics study on shellfish, the overall research level is laggardly. Only few research has been reported in haliotis. Present study is using cytogenetics method with *Haliotis discus hannai*, *H. gigantea*, *H. fulgens* and their hybrids. Karyotype analysis, silver staining, fluorescence *in situ* hybridization (FISH), genomic *in situ* hybridization (GISH) will apply on three abalone species and their F₁ hybrid, to enrich basic information of chromosomes about those abalone. In addition, chromosomes composition and genetic development of hybridized abalone has preliminary understanding. And also we confirm the nucleolus distribution in *H. discus hannai*, *H. gigantea*, F₁, BC₁ and BC₂. The major results and conclusions were as follows:

1. The fertilization process between *H. discus hannai* and *H. gigantea*, the chromosome composition of hybrid offspring.

1) *H. gigantea* sperm could penetrate *H. discus hannai* eggs, then the egg began to twice meiosis, released the first polar body and the second polar body. The immune fluorescent observation through the FITC labeled anti- α -tubulin probe, we found that a pore structure similar to micropylar on the surface of egg membrane.

2) We observed the karyotype of twin offspring from an interspecies cross between *H. gigantea* and *H. discus hannai* in this study. It showed that there was no difference in karyotype between two species ($2n=36=20m+16sm$), the hybridization offspring had the same karyotype as their parents. The NORs were located terminally on the long arms of 14 and 17 chromosome pairs in *H. discus hannai* and NOR-bearing chromosome pairs in *H. gigantea* were identified as Nos. 3, 9 and 14. It showed that NOR loci in the hybrids was combined with the parents patterns randomly, whether the parents or offspring NOR had high polymorphism.

3) Karyotype of *H. discus hannai* was $2n=36=20m+16sm$, *H. fulgens* was $2n=16m+16m+4st$ and their hybrids was $2n=18m+16sm+2st$.

2. The results of FISH with 18S-rDNA and telomeric sequences probe in *H. gigantea* and *H. discus hannai* were as follows:

1) The 18S-rDNA probe produced strong signals on the telomere of the long arms of submetacentric chromosome pairs 13 and 17 of *H. discus hannai*, and located at telomere of the long arms chromosome pairs 9, 12 and 13 of *H. gigantea*. The 18S rDNA locations were highly polymorphic in *H. discus hannai*.

2) FISH with probe for vertebrate-like telomeric sequences (TTAGGG)₃ displayed positive green FITC signals at telomere regions of all analyzed chromosome types both *H. gigantea* and *H. discus hannai*.

3) We had a research on novel chromosomal characteristics of *H. discus hannai* from a breeding population at Fujian. The karyotypes of *H. discus hannai* we obtained from an abalone farm included a common type $2n = 36 = 10M + 8SM$ (82%) and two rare types $2n = 36 = 11M + 7SM$ (14%) and $2n = 36 = 10M + 7SM + 1ST$ (4%).

3. The chromosome constitution of *H. gigantea* and *H. discus hannai* and their offspring.

1) The result of chromosome painting indicated that *H. discus hannai* and *H. gigantea* had a close genetic relationship. *H. discus hannai* had about $16.9 \pm 1.1\%$ of the genome consistent with *H. gigantea*, and the *H. gigantea* was $12.1 \pm 1.9\%$.

2) The GISH technique effectively distinguished all of the chromosomes inherited from *H. discus hannai* and *H. gigantea* in the hybrid genomes. The majority of the hybrids in both crosses contained 36 chromosomes, the sum of the chromosome number of the haploid genomes of *H. discus hannai* ($n=18$) and *H. gigantea* ($n=18$). The GISH result showed that the hybrids chromosomes of *H. discus hannai* and *H. fulgens* composed with two haploid chromosome complement inherited from parental respective.

3) We used GISH on fertilized eggs of *H. discus hannai*♀ × *H. gigantea* ♂ approaches to demonstrate topological separation of parental genomes in hybrid early embryogenesis, and we observed the chromatin spatial separated according to parental origin.

4) With the backcross generation increased, the chromosome number of nonrecurrent parent decreases gradually, and some homologous chromosomes exchanged during the process of backcross.

4. The significance of nucleolus statistical in hybridized abalone and their progeny.

1) A special structure of *H. discus hannai* observed was similar to prenucleolar

bodies (PNBs) by silver staining, we hypothesized that nucleolar assembly in *H. discus hannai* depended not only on the major rDNA cluster but also on minor rDNA clusters from different chromosomes.

2) The nucleoli number in hybrids was significantly higher than their parents, and the total area of nucleolus was significantly greater than the parent, suggested that the protein synthesis in hybrids was more vigorously.

3) With the backcross generation increased the nucleoli number gradually restored to the recurrent parent level, no matter how much the number of nucleoli of each combination, the total nucleolar area tended to be consistent.

4) In the sinkin larva nucleoli number was significantly lower than normal larva, the total nucleolar area was significantly smaller than normal larva, that due to individual differences of parents and parental cytoplasmic incompatibility caused the larva developmental disorder, protein synthesis level was not up to require of normal growth level.

Keywords: *Haliotis discus hannai*; *Haliotis gigantea*; *Haliotis fulgens*; interspecies hybridization; cytogenetics; nucleolar

第一章 绪论

鲍类作为我国传统的名贵食材，被誉为四大海味之首。中国的鲍养殖产量约占世界养殖产量的 85% 左右，长期占据世界第一的位置。2012 年我国养殖鲍产量达到 90694 吨，实现连续十年的快速增长。其中福建省养殖鲍产量达 65247 吨，占全国总量 72%。丰厚的利益驱使下使得鲍类养殖产业规模迅速扩大，但随之带来了一系列问题：为了追求低成本高回报的目的，养殖户对鲍种质没有保护意识，长期的近亲繁育和累代养殖造成了种质明显退化，大规模疾病时有发生；养殖密度过大，养殖成活率下降。2013 年在没有赤潮等自然灾害的情况下，福建海区鲍鱼养殖的成活率普遍在 50% 以下，有的甚至只有 20-30%。针对目前鲍类养殖产业的现实情况，加快对福建海区养殖主导种皱纹盘鲍的种质改良步伐迫在眉睫，而采用杂交、选种等技术培育出成活率高、生长快的优良新品种至为关键。

第一节 鲍类的养殖概况

鲍(*Haliotis*)在分类学上隶属于软体动物门(Mollusca)、腹足纲(Gastropoda)、前鳃亚纲(Prosobranchia)、原始腹足目(Archaeogastropoda)、鲍科(Haliotidae)。世界上现存的鲍类大概有 56 种^[1]。鲍类在世界上分布广泛，尤其以太平洋沿岸及其部分岛礁周围分布的种类和数量最多，印度洋次之，大西洋最少。现存的部分种类分布可见表 1.1.1。鲍类含有丰富的蛋白质、维生素及其他微量元素，还含有一种叫做鲍灵素的物质，这种物质不但具有提高人体免疫力的功能，还具有较强的抗癌功能^[2]。目前鲍类的养殖产业发展迅速，但是鲍类中大概只有二十几种可以作为养殖对象。人工养殖的主要种类有：美洲地区国家以红鲍(*H. rufescens*)、绿鲍(*H. fulgens*)和粉红鲍(*H. corrugata*)为主；包括中国在内的东亚国家主要养殖皱纹盘鲍(*H. discus hannai*)；中国南方和台湾地区的杂色鲍(*H. diversicolor diversicolor*)；南非的中间鲍(*H. midae*)；大洋洲国家的黑唇鲍(*H. rubra*)和绿唇鲍(*H. laevigata*)；东南亚国家的耳鲍(*H. asinina*)；欧洲国家的疣鲍(*H. tuberculata*)。鲍类的系统分类和种的命名都存在一定的混乱，多

个种的分类地位不明确, 以及部分种类存在同种异名的现象。在讨论鲍类的养殖情况前有必要对鲍类的分类以及进化稍作了解。

1.1 鲍的分类研究

Coleman 等 (2002) 采用 rDNA 的转录间隔区 (ITS) 序列对 19 种鲍重建了系统发育树, 将它们分为三个主要的进化枝: 北太平洋种类、欧洲种类和澳大利亚种类。其中加勒比海地区的一个种类没有与欧洲地区的种类聚类在一起而是与北太平洋的种类聚类在一起; 发现于新西兰的种类 *H. iris* 具有一个特殊的分类地位, 与其他种类都不能聚类在一起^[3]。An 等 (2005) 通过 16S 和 COI 序列对韩国沿海附近的六种鲍的进化分析表明, 六个种类被分为两个群, 其中皱纹盘鲍、盘鲍 (*H. discus discus*)、真高鲍 (*H. madaka*)、和西氏鲍聚为一类, 另一类群则包括九孔鲍 (*H. diversicolor supertexta*) 和杂色鲍^[4]。Metz 等 (1998) 采用线粒体 DNA 和精子 lysin 基因对 12 种鲍的分析发现, 北美地区的五个种类聚集在一起, 粉红鲍和绿鲍却与亚洲的皱纹盘鲍聚类在一起^[5]。采用精子 lysin 基因对鲍类系统发生工作最为详细的是 Lee 和 Vacquier (1995) 的研究, 他们采集了来自加利福尼亚、日本、澳大利亚、新西兰、婆罗洲、马达加斯加、南非、法国、希腊、意大利和亚速尔群岛的 27 种鲍类的 Lysin 基因, 经过比对后认为 *H. coccinea* 是疣鲍的亚种, 皱纹盘鲍和真高鲍的 lysin 基因的序列几乎是一致的, 同样的情况也发现在黑唇鲍和 *H. conicopora*、九孔鲍 和 *H. diversicolor aquatilis*、*H. tuberculata lamellosa* 和 *H. tuberculata tuberculata* 之间。进化分析显示 27 种鲍类聚为三个类群: 所有的加利福尼亚地区种类和三个日本种类 (皱纹盘鲍、西氏鲍和真高鲍) 为第一类群; 日本的 *H. diversicolor aquatilis*、印度-西太平洋地区和欧洲地区种类聚为第二类群; 新西兰的 *H. iris* 独自聚为一类。也由此提出了一个鲍类的进化模型, 即鲍类的祖先起源于古地中海地区, 然后扩散到各地。在经历了白垩纪时期之后大部分鲍类的栖息地消失, 只留下印度-西太平洋地区和加利福尼亚地区的种类, 北太平洋地区的种类是由其他地区的种类扩散并进化而来的^[6]。Streit 等 (2005) 对鲍科 12 个种类的血蓝蛋白部分基因序列进行聚类分析发现疣鲍血蓝蛋白具有两个亚型 (HtH1、HtH2), 其中 HtH2 与一种帽贝 *Megathura crenulata* 的 HtH2 极其相近。以 HtH1 型的血蓝蛋白聚类得到了两个进化分支:

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.

廈門大學博碩士論文摘要庫