

中华鳖“鄱湖 1 号”线粒体基因组全序列 组装及分析

张浩¹ 李佳倩¹ 陈凯欣¹ 陈春福¹ 曾小英¹ 洪一江^{1,2} 彭扣^{1,2*}

¹ 南昌大学生命科学学院 南昌 330031; ² 水产种质创新与利用江西省重点实验室 南昌 330031

摘要: 中华鳖 (*Pelodiscus sinensis*) “鄱湖 1 号”选育品系源自鄱阳湖野生种群,经连续 5 代选育获得。本研究旨在揭示该优良新品系线粒体基因组的基本特征及其在系统发育中的位置。通过 PCR 扩增与测序技术,成功获得上述继代选育的 F5 代中华鳖“鄱湖 1 号”线粒体全基因组完整序列 (GenBank 登录号: PV472338)。分析表明,其线粒体基因组全长 17 190 bp,碱基组成呈现显著偏向性,A 含量最高 (35.47%),T 次之 (27.34%),C 占 25.51%,G 最低 (仅 11.68%),整体 AT 含量高达 62.81%。其线粒体 DNA 的 D-loop 区长达 1 666 bp,内含四个串联重复单元,其中包括一个 50 bp 的基序,重复 6 次。与中华鳖其他种群或品系相比,线粒体基因组长度差异主要集中在 D-loop 区域,以中华鳖“鄱湖 1 号”的 D-loop 区长度为基准,其他种群或品系该区域的长度变化范围介于-151 bp 至+164 bp。“鄱湖 1 号”线粒体基因组共注释出 2 个 rRNA 基因、22 个 tRNA 基因(包括 2 个 *tRNA-Ser* 和 2 个 *tRNA-Leu* 的重复)、13 个蛋白质编码基因(PCGs)。基因链分布上,8 个 tRNA 基因(*tRNA-Gln*、*tRNA-Ala*、*tRNA-Asn*、*tRNA-Cys*、*tRNA-Tyr*、*tRNA-Ser*、*tRNA-Glu*、*tRNA-Pro*)和一个蛋白编码基因 *ND6* 由轻链(L 链)编码,其余基因均由重链(H 链)编码。中华鳖该品系线粒体基因组的基因排列顺序与已报道中华鳖其他群体及多数脊椎动物一致,且在该品系线粒体 *ND3* 基因第 169 位检出额外 T 碱基插入。进一步利用 MEGA 11.0 软件基于中华鳖“鄱湖 1 号”线粒体基因组全序列中重链上 12 个蛋白质编码基因的串联序列以及细胞色素 *b* (*Cyt b*) 基因序列分别构建系统发育树。结果清晰表明,中华鳖“鄱湖 1 号”与中华鳖日本品系构成一个紧密分支,再与中华鳖韩国品系形成相邻分支;而其余五个中华鳖群体(安徽芜湖品系、安徽墨鳖品系、江西品系、“清溪乌鳖”及“清溪花鳖”)则形成另一个独立分支。这表明在系统发育关系上,中华鳖“鄱湖 1 号”的线粒体基因组与中华鳖日本品系亲缘关系最近,可能共享最近共同祖先,二者与韩国品系的亲缘关系较近,而与上述另外 5 个群体的亲缘关系相对较远。

关键词: 中华鳖“鄱湖 1 号”;线粒体基因组;序列比较;聚类分析

中图分类号: Q953 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2026) 03-397-15

基金项目 国家重点研发计划子任务课题 (No. 2023YFD2401804),江西省水产育种联合攻关项目 (No. jxsczy202601),江西省现代农业 (名特优水产品) 产业技术体系建设专项资金项目 (No. JXARS-15-龟鳖健康养殖岗),江西省现代种业 (渔业) 发展项目 (No. 2024yyzygg-03),江西省现代农业 (特种水产) 产业技术体系建设专项资金项目 (No. JXARS-10-育种与龟鳖养殖岗),江西省农业 (南丰县龟鳖) 科技综合体建设项目 (丰府字〔2024〕49 号);

* 通信作者, E-mail: pengkou@126.com;

第一作者介绍 张浩,男,硕士研究生;研究方向:水产动物育种及健康养殖;E-mail: zhanghao_w@qq.com。

收稿日期: 2025-05-07, 修回日期: 2025-09-11 DOI: 10.13859/j.cjz.202625085 CSTR: 32109.14.cjz.202625085

Assembly and analysis of the complete mitochondrial genome sequence of the Chinese Soft-shelled Turtle (*Pelodiscus sinensis*) “Poyang Lake No. 1”

ZHANG Hao¹ LI Jia-Qian¹ CHEN Kai-Xin¹ CHEN Chun-Fu¹ ZENG Xiao-Ying¹
HONG Yi-Jiang^{1,2} PENG Kou^{1,2*}

¹ School of Life Sciences, Nanchang University, Nanchang 330031; ² Key Laboratory of Aquatic Animal Resources and Utilization of Jiangxi, Nanchang University, Nanchang 330031, China

Abstract: [Objectives] In China, the genetic resources of Chinese Soft-shelled Turtle (*Pelodiscus sinensis*) are diverse, encompassing various geographical populations, aquaculture stocks, and distinct breeding lines. Differences are evident not only between wild specimens caught from different regions but also among artificially selected strains, particularly in terms of productivity, body morphology (including marginal flap size), and other traits. Consequently, distinguishing specific genetic lineages by a single species is challenging. Currently, efforts to conserve the genetic resources of *P. sinensis* and breed new varieties (strains) are advancing in an orderly manner. *P. sinensis* “Poyang Lake No. 1” (provisionally named) is a new strain bred by our team, originating from the Poyang Lake region of China. It was developed through five consecutive generations of mass selection, with growth rate and marginal flap width as the target traits. The strain now exhibits markedly improved performance, including accelerated growth, broad marginal flaps, and elevated egg production. This study aimed to: 1) characterize the complete mitochondrial genome of this elite strain to elucidate its unique molecular features; 2) determine its precise phylogenetic position among various *P. sinensis* populations/strains; and 3) identify potential mitochondrial DNA markers for accurate germplasm identification of this strain. **[Methods]** The complete mitochondrial genome sequence of the F5 generation of “Poyang Lake No. 1” was obtained by PCR amplification with 17 specifically designed primer pairs (Table 1) covering the entire genome and Sanger sequencing. Bioinformatics tools (GeSeq, tRNAscan-SE, Tandem Repeats Finder, SnapGene, Editseq7.1, GB2Sequin, and OGDRAW) were used for structural annotation, compositional analysis, and repeat identification of the assembled sequence (GenBank accession number: PV472338). Phylogenetic relationships were reconstructed in MEGA 11.0 based on two datasets: 1) concatenated nucleotide sequences of 12 heavy-strand protein-coding genes (PCGs-H); and 2) the cytochrome *b* (Cyt *b*) gene sequence. The analysis included “Poyang Lake No. 1” and eight other reference strains/populations, with *Palea steindachneri* as the outgroup. Trees were constructed via the Neighbor-Joining (NJ) method. **[Results]** The complete mitochondrial genome of “Poyang Lake No.1” was 17 190 bp in length (Fig. 2). It exhibited a significant AT bias, with nucleotide composition on the heavy strand (H-strand) as follows: 35.47% adenine (A), 27.34% thymine (T), 25.51% cytosine (C), and 11.68% guanine (G), and based on this composition, the AT content of the H-strand reached 62.81%. A total of 37 genes were annotated: 13 protein-coding genes (PCGs), 22 tRNA genes (including two copies of *tRNA-Ser* and *tRNA-Leu*), and 2 rRNA genes. With the exception of 8 tRNA genes (*tRNA-Gln*, *tRNA-Ala*, *tRNA-Asn*, *tRNA-Cys*, *tRNA-Tyr*, *tRNA-Ser*, *tRNA-Glu*, and *tRNA-Pro*) and the *ND6* gene located on the light strand (L-strand), all the other genes were encoded by the H-strand (Table 3). The gene order was identical to that of

other reported *Pelodiscus sinensis* strains and most vertebrates. The control region (D-loop) was notably long (1 666 bp) and contained four tandem repeat units, including a 50-bp motif repeated 6 times. Sequence length variations among different *P. sinensis* strains were primarily concentrated in the D-loop region, ranging from -151 bp to +164 compared with that of *P. sinensis* “Poyang Lake No. 1” (Table 2). An extra T base insertion was identified at position 169 of the mitochondrial *ND3* gene in “Poyang Lake No. 1”. Phylogenetic analyses based on both PCGs-H concatenated sequences and the *Cyt b* gene yielded congruent topologies (Fig. 3). The results clearly demonstrated that *P. sinensis* “Poyang Lake No.1” and the *P. sinensis* “Japanese” strain formed a closely related clade, which then constituted a sister branch with the *P. sinensis* “Korean” strain. Five other Chinese strains/populations (“Anhui Wuhu”, “Anhui Inked”, “Jiangxi”, “Qingxi Black”, and “Qingxi Variegated”) clustered together in a separate, well-defined clade. **[Conclusion]** This study provides the first complete mitochondrial genome sequence of the selectively bred *P. sinensis* strain “Poyang Lake No. 1”. Key characteristics include its distinct D-loop length and repeat structure, specific nucleotide composition, and the unique *ND3* insertion. Phylogenetic analysis robustly demonstrates that “Poyang Lake No. 1” shares its most recent common ancestor with the “Japanese” strain, forms a sister group with the “Korean” strain, and is genetically distinct from major strains found in the Yangtze River basin. The identified features, particularly the D-loop structure, PCGs-H haplotypes, and *Cyt b* sequence variations, serve as highly effective molecular markers for the precise identification and traceability of the “Poyang Lake No. 1” germplasm, supporting its conservation and breeding management.

Key words: *Pelodiscus sinensis* “Poyang Lake No. 1”; Mitochondrial genome; Sequence comparison; Cluster analysis

中华鳖 (*Pelodiscus sinensis*) 俗称甲鱼、团鱼、王八等, 隶属爬行纲 (Reptilia) 龟鳖亚纲 (Testudinata) 龟鳖目 (Testudoformes) 鳖科 (Trionychidae) 鳖属 (杨萍等 2011), 是我国重要的特种水产养殖动物, 该物种广泛分布于我国除西藏、青海及新疆以外的各省、自治区、直辖市 (杨振才等 1999)。我国存在丰富的中华鳖种质资源, 但由于一些不当引种、倒种及管理不善, 中华鳖种质退化与混杂问题日渐突出。目前, 中华鳖种质保护与新品种 (系) 选育正在有序推进。中华鳖“鄱湖 1 号”(暂命名) 由南昌大学水产遗传育种与健康养殖团队主持选育, 是以鄱阳湖中华鳖野生群体为亲本来源, 以生长速度和裙边宽度为目标性状, 采用群体选育技术, 经连续 5 代继代选育而成 (李佳倩等 2025), 目前选育效果明显, 新品系具有速生、裙边宽大和产蛋率高等优良性状, 有望育成并申报国家级中华鳖新品种, 具有较好的市

场前景。

线粒体 DNA 具有较快的进化速度, 被广泛用于群体的遗传多样性、系统发育和适应性进化等分析 (Galtier et al. 2009, Zhang et al. 2015, 周传江等 2019), 已成为中华鳖种质鉴定与遗传关系研究的有效手段。陈合格等 (2005, 2006) 利用线粒体 DNA 的 12S rRNA 和细胞色素 *b* 基因对中华鳖、砂鳖 (*P. axenaria*) 和山瑞鳖 (*Palea steindachneri*) 进行种属分析。许晓军等 (2012) 基于线粒体 12S rRNA 基因部分序列, 对中华鳖日本品系 (Japanese strain) 和清溪乌鳖 (Qingxi Black strain) 进行比较, 并采用邻接法 (neighbor-joining method, NJ), 将 GenBank 中中华鳖安徽品系 (Anhui strain) 与韩国品系 (Korean strain) 的同源序列一并聚类, 结果显示, 日本品系与韩国品系先聚为一支, 清溪乌鳖则与安徽品系形成另一支。李思发等 (1997) 对华东地区中华鳖群体的细胞色

素 *b* (Cyt *b*) 基因多态性进行比较分析, 发现该基因的多态性可作为遗传标记, 可有效区分浙江绍兴 (Zhejiang Shaoxing population)、江苏南京 (Jiangsu Nanjing population) 和山东青岛 (Shandong Qingdao population) 的中华鳖群体。黄丽英 (2006) 进一步利用 Cyt *b* 基因序列比较分析了中华鳖太湖种群 (Taihu population)、日本种群 (Japanese population)、乌鳖种群 (Black population) 和台湾种群 (Taiwan population) 4 个不同地理种群的遗传结构, 证实其序列差异可作为种群鉴别的分子标记。张海琪等 (2006) 也通过对中华鳖太湖 (Taihu population) 养殖种群和中华鳖日本引进种群 (Japanese population) Cyt *b* 基因片段序列的比较分析, 得出了类似的结论。张永正等 (2008) 研究发现, 线粒体 Cyt *b* 序列的差异可作为分子标记, 用于区分中华鳖江西群体 (Jiangxi population)、太湖群体 (Taihu population)、乌鳖群体 (Black population)、日本群体 (Japanese population) 和台湾群体 (Taiwan population) 5 个不同地理种群。黄雪贞等 (2012) 则通过分析中华鳖 3 个地理群体线粒体 DNA D-loop 区部分序列的变异及遗传多样性, 发现中华鳖黄沙群体 (Huangsha population) 与日本品系 (Japanese strain) 以及黄河群体 (Huanghe population) 的遗传距离较远。李璐等 (2020) 基于线粒体 D-loop 区序列差异, 进一步区分出太湖花鳖群体 (Taihu Variegated population)、太湖群体 (Taihu population) 和洪泽湖群体 (Hongzehu population)。韩晓磊等 (2017) 结合线粒体 DNA 12S rRNA、16S rRNA、Cyt *b* 和 D-loop 区的多重比较分析, 揭示了太湖流域中华鳖不同群体的亲缘关系, 认为太湖花鳖群体 (Taihu Variegated population) 和太湖群体 (Taihu population) 亲缘关系较近, 但尚未达到种间差异, 仅处于亚种分化水平。张超等 (2014) 则采用高分辨率熔解曲线法 (high-resolution melting curve analysis, HRM) 对中华鳖不同品

系线粒体单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 进行分型与鉴定, 成功区分了太湖品系 (Taihu strain)、台湾品系 (Taiwan strain)、日本品系 (Japanese strain) 和黄河品系 (Huanghe strain) 四个中华鳖养殖品系。在全基因组水平上, 彭巧玲等 (2005) 报道了安徽芜湖中华鳖 (Anhui Wuhu strain) 的线粒体全基因组序列, 并基于 6 种龟鳖类动物线粒体基因组 13 个蛋白编码基因的氨基酸序列构建系统进化树, 其结果与传统系统分类基本一致。此后, Jung 等 (2006) 报道了中华鳖韩国品系 (Korean strain) 的线粒体 DNA 全基因组序列。Zhang 等 (2019) 测序了安徽墨鳖 (Anhui Inked strain) 这一地理突变品系的线粒体 DNA 基因组全序列。Chen 等 (2023) 则进一步报道了中华鳖日本品系 (Japanese strain)、清溪花鳖 (Qingxi Variegated strain)、江西品系 (Jiangxi strain) 和清溪乌鳖 (Qingxi Black strain) 四个品系的完整线粒体基因组序列, 并分析了一些潜在的品系鉴定标记。

综上所述, 线粒体 DNA 在中华鳖的遗传研究中发挥了重要作用, 不仅揭示了其复杂的种群分化和遗传多样性格局, 还为种质鉴定提供了丰富的分子标记。然而, 尽管已有诸多研究, 中华鳖的遗传分化机制及其与环境适应性的关联仍需进一步深入探讨。本研究根据已报道的中华鳖线粒体基因组序列保守区设计特异引物, 利用 PCR 扩增技术, 获得了经连续继代选育的 F5 代中华鳖“鄱湖 1 号”的线粒体基因组全序列, 进一步分析了其与不同鳖群体的序列差异及亲缘关系, 为中华鳖“鄱湖 1 号”种质鉴定及种质资源保护与利用提供基础支撑。

1 材料与方法

1.1 实验材料及总 DNA 提取

实验材料为本团队主持选育的 F5 代中华鳖“鄱湖 1 号”1 龄个体, 平均体重 (162 ± 14.2) g ($n = 5$)。实验过程中, 分别解剖 5

只个体，取其肝组织并混合后，使用 DNA 提取试剂盒[天根生化科技（北京）有限公司，DP304]提取 DNA。用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳进行 DNA 的完整性检测，检测合格后，将 DNA 样品保存于 -20 °C 条件下备用。实验过程中操作人员严格遵守实验动物相关伦理规范（张建军 2025），遵循“3R”原则（减少、替代、优化）（瞿叶清等 2010），并符合《实验动物管理条例》（张建军 2025）及《实验动物福利伦理审查指南》（GB/T 35892-2018）相关要求（张建军 2025）。

1.2 线粒体基因全序列的引物设计、PCR 扩增及测序

根据 NCBI GenBank 上已提交的中华鳖不同群体线粒体基因组序列（登录号：OQ236107.1、OQ236106.1、OQ236105.1、OQ236104.1、MG431983.1、AY962573.1、AY687385.1、NC_068236.1、OM236541.1），比对并在保守区域设计覆盖线粒体基因全序列的 17 对引物（表 1），每相邻两对引物之间重叠区域大于 100 bp。PCR 反应体系为 50 μ l，即总 DNA 模板约 200 ng，2 $\times$ 预混缓冲液 25 μ l [PrimeSTAR Max Premix(2X)，宝生物工程（大连）有限公司 R045A]，引物各 0.4 μ mol/L，ddH₂O 补足 50 μ l。反应条件为 94 °C 预变性 2 min；94 °C 变性 30 s，53 °C 退火 30 s，72 °C 延伸 1 min，35 个循环；72 °C 终延伸 5 min。PCR 产物经 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳检测，选取条带在 800 ~ 1 600 bp 目的片段，使用 DNA 凝胶回收试剂盒纯化目的片段，“加 A”反应后，连接至 pMT19-T 载体，转入大肠杆菌（*Escherichia coli*）DH5 α 感受态细胞，挑单克隆扩增培养后送北京擎科生物技术有限公司测序，测序引物为 M13-47 和 M13-48（M13-47：5'-CGC CAG GGT TTT CCC AGT CAC GAC-3'；M13-48：5'-AGC GGA TAA CAA TTT CAC ACA GGA-3'）。

1.3 全序列的拼接与分析

测序结果经 BLAST 检索确定与 GenBank

上其他不同群体中华鳖线粒体基因组相应区段有较高同源性后，用 Clustal X 软件进行编辑和排序比对，并用 SEAVIEW 人工手动排检，使用 SnapGene 对所得全部序列进行拼接，得到中华鳖“鄱湖 1 号”线粒体基因组全序列。采用 Editseq 7.1 统计序列总长、碱基组成、AT 含量及氨基酸密码子偏好性。利用在线软件 GeSeq（<https://chlorobox.mpimp-golm.mpg.de/geseq.html>）对全序列进行预测，并经人工辅助校正，使用 Tandem Repeats Finder（https://tandem.bu.edu/trf/basic_submit）进行串联重复序列分析，使用 tRNAscan-SE 1.2.1 预测 tRNA 基因；使用 GB2Sequin（<https://chlorobox.mpimp-golm.mpg.de/GenBank2Sequin.html>）进行线粒体全基因组注释；使用 OGDRAW（<https://chlorobox.mpimp-golm.mpg.de/OGDraw.html>）绘制线粒体基因组结构图，最后注释序列提交至 NCBI GenBank。

1.4 分子系统树的构建

为探究中华鳖“鄱湖 1 号”与其他中华鳖群体（品系）的亲缘关系，本研究参照文献方法（Kumazawa and Nishida 1999, Elmerot et al. 2002, 宋娇莲 2007, 王晗栋 2021），首先从 NCBI GenBank 数据库中选取已报道的 8 种鳖类的线粒体基因组重链（H 链）序列，提取并串联其上的 12 个蛋白编码基因，构建得到 PCGs-H 核苷酸序列数据集；同时，选取相关文献（陈合格等 2006, 张海琪等 2006, 张永正等 2008）中用于亲缘关系分析的细胞色素 *b*（Cyt *b*）基因序列，以山瑞鳖线粒体基因组（OL405264.1）H 链上 12 个蛋白编码基因的核苷酸序列串联集（PCGs-H）及 Cyt *b* 基因序列为外群，选取中华鳖安徽芜湖品系（NC_006132.1）（彭巧玲等 2005）、安徽墨鳖品系（MG431983.1）（Zhang et al. 2019）、江西品系（OQ236106.1）（Chen et al. 2023）、清溪乌鳖（OQ236105.1）（Chen et al. 2023）、清溪花鳖（OQ236107.1）（Chen et al. 2023）、日本品系（OQ236104.1）（Chen et al. 2023）、韩国

表 1 中华鳖“鄱湖 1 号”线粒体基因全序列扩增所用引物

Table 1 Primers used in the amplification of the complete mitochondrial genome of *Pelodiscus sinensis* “Poyang Lake No. 1”

片段 Fragment	引物名称 Primer name	引物序列 (5'-3') Primer sequence (5'-3')	位置 Position	扩增片段长度 (bp) Amplified fragment length
MT-1	PsMT-1F	CATAAAGCATGGCACTGAAGAACG	16 ~ 38	1 385
	PsMT-1R	TGAGTAGCTCATTAGTTGGGGG	1 377 ~ 1 400	
MT-2	PsMT-2F	CCAACCCAGGGTTATTTGAGC	1 101 ~ 1 122	1 353
	PsMT-2R	TAAGGACTCTGTGACGGGATTGC	2 431 ~ 2 453	
MT-3	PsMT-3F	TGATGCATACTTTTGGTTGGGGC	2 278 ~ 2 300	1 210
	PsMT-3R	AATAATAATGCCAATGGACCTGCG	3 455 ~ 3 488	
MT-4	PsMT-4F	TGCGGGGACTTCAACATACAAC	3 286 ~ 3 308	1 245
	PsMT-4R	GCTATGATTTTGGTAGTTGGGTTTGG	4 504 ~ 4 530	
MT-5	PsMT-5F	ACCTGACAAAACATACCCCACT	4 355 ~ 4 407	1 474
	PsMT-5R	GTAAATGTCATGATGGCCAC	5 836 ~ 5 858	
MT-6	PsMT-6F	GGCATTGAAACAGGAGCAGGAAC	5 770 ~ 5 792	1 551
	PsMT-6R	AGGACAATAGCTGGGAGGATAGT	7 298 ~ 7 320	
MT-7	PsMT-7F	AGGATTCAAAGACCAATATCACC	7 123 ~ 7 146	1 397
	PsMT-7R	GCTGTTAGGTTGGCTGTAGTGC	8 497 ~ 8 519	
MT-8	PsMT-8F	CAACACCAACTACACACTCTCAAT	8 286 ~ 8 321	1 095
	PsMT-8R	GGCAGTGTGAAAGTGGATTGATT	9 368 ~ 9 392	
MT-9	PsMT-9F	TATGAGGCACCATTCAACATGGC	9 346 ~ 9 288	1 206
	PsMT-9R	TTTGGTCTGCTGCTGATATAT	10 430 ~ 10 451	
MT-10	PsMT-10F	ATCATACACACACACAAAA	10 217 ~ 10 451	1 286
	PsMT-10R	AACATATGTAAGGTAATAGGTGGCGGT	11 477 ~ 11 502	
MT-11	PsMT-11F	GGCCTACACCTTATAATGCCCT	11 204 ~ 11 225	1 425
	PsMT-11R	TTGGGTGGGTGGGATAAGTAGG	12 606 ~ 12 682	
MT-12	PsMT-12F	ATCTTCTCCACACTGACCAATC	12 433 ~ 12 456	1 219
	PsMT-12R	TTGGGGGACTATTGGTTCTATTAGGTA	13 626 ~ 13 651	
MT-13	PsMT-13F	TCCACCGTTTCACTTACCTCCTT	13 424 ~ 13 446	1 312
	PsMT-13R	ACGGAGAAACCCACCTCATACTC	14 713 ~ 14 735	
MT-14	PsMT-14F	CATTCTGGTCAATGCCCCACAT	14 411 ~ 14 433	1 016
	PsMT-14R	TGGGAGGCCTTCATCTTTGGTT	15 404 ~ 15 426	
MT-15	PsMT-15F	ACGAACACTAACATTCCGCCCTTA	15 162 ~ 15 164	9 150
	PsMT-15R	AGGGTTGCTTATTCTGGGGAGT	16 054 ~ 16 076	
MT-16	PsMT-16F5	CCCTATGTATTATTGTGCATTGGT	15 832 ~ 15 871	1 021
	PsMT-16R5	TCGGATTTTGGGTTTGACGAAGG	16 830 ~ 16 852	
MT-17	PsMT-17F1	CTGGACTTAGGTTCAAATTGCTTAC	16 340 ~ 16 364	1 014
	PsMT-17R1	GGTGTGGACTTTTAGGGCATTTC	139 ~ 163	

品系 (AY962573.1) (Jung et al. 2006) 和本研究克隆的中华鳖“鄱湖 1 号”(PV472338) 线

粒体基因组 DNA 上 PCGs-H 及 Cyt *b* 对应序列, 使用 MEGA 11.0 软件, 采用邻接法 (neighbor-

joining, NJ) 构建系统发育树。

2 结果

2.1 PCR 扩增产物

利用表 1 设计的 17 对引物和 1.2 所述的反应条件进行扩增，得到 17 个 PCR 扩增产物（图 1），各产物长度与引物设计对应的预期产物长度一致，将目的条带分别亚克隆并筛选阳性克隆送测序。

2.2 中华鳖“鄱湖 1 号”线粒体基因组全长与核苷酸组成

测序后及序列拼接获得 F5 代中华鳖“鄱湖 1 号”品系线粒体基因组全长 17 190 bp（GenBank 登录号：PV472338），与已报道中华鳖其他品系（群体）线粒体基因组总长相近，比中华鳖韩国品系（AY962573.1）长 148 bp，比中华鳖安徽芜湖品系（NC_006132.1）短 174 bp。以中华鳖“鄱湖 1 号”线粒体 DNA 控制区（D-loop 区）长度为基准，将其他品系（群体）的对应序列与之进行比较。结果显示，各品系 D-loop 区的长度差异介于-151 bp（较“鄱湖 1 号”短 151 bp）至+164 bp（较“鄱湖 1 号”长 164 bp）之间；而在 D-loop 区之外，长度差异仅为-5 bp 至+10 bp，表明不同中华鳖品系（群体）线粒体基因组总长的差异主要体现在

D-loop 区（表 2）。进一步分析发现，中华鳖“鄱湖 1 号”线粒体 D-loop 区长 1 666 bp，内含 4 个串联重复序列，存在最长重复拷贝序列 5'-TTT TAC ACT TTT TTT CTT CTC CCG CAC CCA AGA GAC ATT TTA CCC CTC TT-3'（50 bp，重复 6 次），比中华鳖韩国品系最长重复序列 5'-TTT TAC ACT TTT TTT CTT CTC CCG CAC CCA AGA GAC ATT TTA CCC CTC CT-3'（50 bp，重复 5 次）重复次数要多，比中华鳖江西品系最长重复序列 5'-TTT ACA CTT TTT TTC TTC TCC CGT GCC CAA GAG ACA TTT AGC CCC TCT AT-3'（50 bp，重复 7 次）和安徽芜湖品系较长重复序列 5'-TTA CAC TTT TTT TCT TCT CCC GGG CCC AAA AGA CAT TTA ACC CCT CTA TA-3'（50 bp，重复 8 次）重复次数要少；中华鳖“鄱湖 1 号”最短重复序列为 6 bp（5'-CAC ATA-3'），重复 50 次。此外，中华鳖“鄱湖 1 号”线粒体基因组的核苷酸组成呈现显著的 AT 偏向性，其重链（H 链）的核苷酸组成中，腺嘌呤（A）占比 35.47%，胸腺嘧啶（T）占比 27.34%，胞嘧啶（C）占比 25.51%，鸟嘌呤（G）占比 11.68%，AT 含量占 62.81%，远高于 GC 含量（37.19%），与报道的 7 个中华鳖类群 AT 含量占比在 62% ~ 63%之间的结果一致。

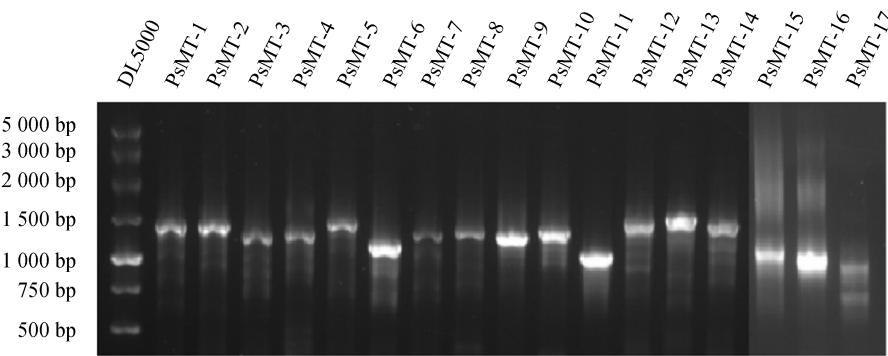


图 1 中华鳖“鄱湖 1 号”线粒体基因组 PCR 扩增

Fig. 1 PCR products covering the complete mitochondrial genome of *Pelodiscus sinensis* “Poyang Lake No. 1”

DL5000 表示 DNA 分子量标准。PsMT-1 ~ PsMT-17 表示表 1 中 17 对引物的 PCR 扩增产物。

DL5000 indicates DNA marker. PsMT-1 to PsMT-17 represent PCR amplification products of 17 pairs of primers from Table 1.

表 2 不同品系（群体）中华鳖线粒体基因组各区段相对于“鄱湖 1 号”的长度差异
Table 2 Length differences of mitochondrial genome segments among different strains (populations) of *Pelodiscus sinensis* in comparison with *P. sinensis* “Poyang Lake No. 1”

品系（群体） Strain (population)	线粒体基因组全长（bp） Total length of mitochondrial genome	线粒体基因组全长差值（bp） Difference in total length of mitochondrial genomes	控制区（D-loop） 长度（bp） Length of the control region (D-loop)	D-loop 长度差值（bp） Difference in length of the D-loop	D-loop 以外区域 长度（bp） Length of the region excluding the D-loop	D-loop 以外区域长度 差值（bp） Difference in length of the region excluding the D-loop
中华鳖鄱湖 1 号 <i>Pelodiscus sinensis</i> “Poyang Lake No. 1” (GenBank accession number: PV472338)	17 190		1 666		15 524	
安徽芜湖品系“Anhui Wuhu” strain (NC_006132.1)	17 364	174	1 830	164	15 534	10
安徽墨鳖品系“Anhui Inked” strain (MG431983.1)	17 145	-45	1 625	-41	15 520	-4
清溪花鳖“Qingxi Variegated” strain (OQ236105.1)	17 116	-74	1 597	-69	15 519	-5
清溪乌鳖“Qingxi Black” strain (OQ236107.1)	17 219	29	1 699	33	15 520	-4
江西品系“Jiangxi” strain (OQ236106.1)	17 182	-8	1 660	-6	15 522	-2
日本品系“Japanese” strain (OQ236104.1)	17 235	45	1 711	45	15 524	0
韩国品系“Korean” strain (AY962573.1)	17 042	-148	1 515	-151	15 527	3

差值为中华鳖各品系（群体）线粒体基因组各区段与“鄱湖 1 号”对应序列的长度差。
Values of differences indicate the size difference (in bp) of each mitochondrial segment in the indicated *P. sinensis* strain (population) in comparison with the corresponding region of *P. sinensis* “Poyang Lake No. 1”.

2.3 中华鳖“鄱湖 1 号”线粒体基因组基因定位

中华鳖“鄱湖 1 号”线粒体基因组总共编码 2 个 rRNA 基因、22 个 tRNA 基因（包含两个 *tRNA-Leu* 和两个 *tRNA-Ser*）以及 13 个蛋白质编码基因（protein-coding genes, PCGs）。其中，8 个 tRNA 基因（*tRNA-Gln*、*tRNA-Ala*、*tRNA-Asn*、*tRNA-Cys*、*tRNA-Tyr*、*tRNA-Ser*、*tRNA-Glu* 和 *tRNA-Pro*）以及一个蛋白编码基因 *ND6* 在轻链（L 链）编码，其余基因均由重链

（H 链）编码（图 2，表 3）。线粒体基因组中仅 *COX1* 基因使用 GTG 为起始密码子，其他所有蛋白编码基因均使用 ATG 为起始密码子（表 3）。终止密码子共发现 5 种（表 3），其中 *ND1* 和 *ND2* 基因的终止密码子为 TAG，*COX2*、*ATP6*、*ATP8*、*ND4*、*ND4L*、*ND5* 和 *Cyt b* 的为 TAA，而 *COX1* 的为 AGA，*ND6* 的为 AGG，*COX3* 和 *ND3* 的终止密码子则为单碱基 T。另外，中华鳖“鄱湖 1 号”的 *ND3* 序列在第 169 位出现了一个额外的 T 碱基插入。

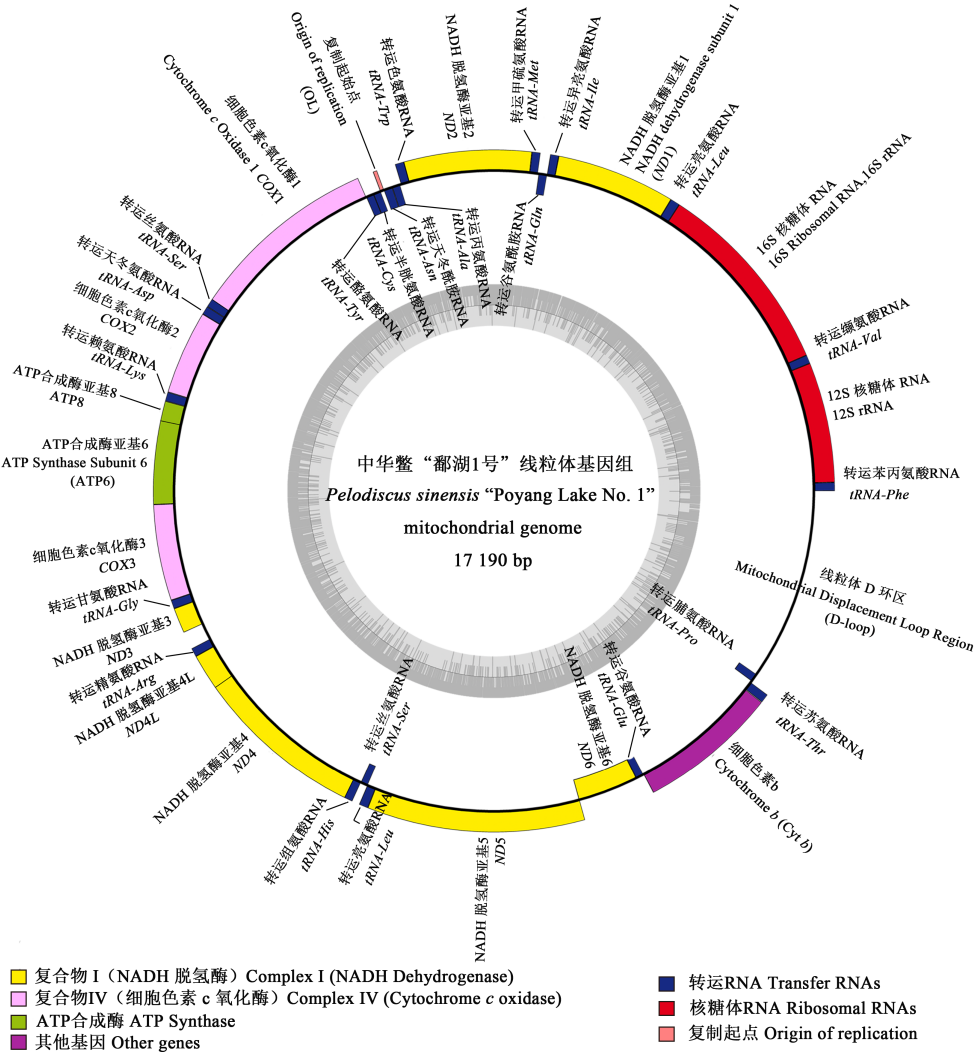


图 2 中华鳖“鄱湖 1 号”线粒体基因组全序列组成图谱

Fig. 2 Mitochondrial genome map of *Pelodiscus sinensis* “Poyang Lake No. 1”

外圈代表重链（H 链），内圈代表轻链（L 链）。
The outer circle represents the heavy chain (H-chain), and the inner circle represents the light chain (L-chain).

表 3 中华鳖“鄱湖 1 号”线粒体基因组注释结果

Table 3 Annotation of the complete mitochondrial genome of *Pelodiscus sinensis* “Poyang Lake No. 1”

基因 Gene	长度 (bp) Length	定位 Position		间隔区 (bp) Spacer region length	密码子 Codon		编码链 Coding strand
		起始位点 Start site	终止位点 End site		起始密码子 Start codon	终止密码子 Stop codon	
<i>tRNA-Phe</i>	70	1	70	0			H (重链 Heavy strand)
12S rRNA	980	71	1 050	0			H
<i>tRNA-Val</i>	70	1 051	1 120	0			H
16S rRNA	1 605	1 121	2 725	0			H
<i>tRNA-Leu</i>	77	2 726	2 802	0			H
<i>ND1</i>	972	2 803	3 774	0	ATG	TAG	H
<i>tRNA-Ile</i>	69	3 774	3 842	-1			H
<i>tRNA-Gln</i>	71	3 843	3 913	0			L (轻链 Light strand)
<i>tRNA-Met</i>	69	3 923	3 991	10			H
<i>ND2</i>	1 041	3 992	5 032	0	ATG	TAG	H
<i>tRNA-Trp</i>	73	5 031	5 103	-2			H
<i>tRNA-Ala</i>	69	5 115	5 183	11			L
<i>tRNA-Asn</i>	74	5 185	5 258	1			L
OL	34	5 258	5 291	-2			-
<i>tRNA-Cys</i>	65	5 290	5 354	31			L
<i>tRNA-Tyr</i>	66	5 355	5 420	0			L
<i>COX1</i>	1 545	5 422	6 966	1	GTG	AGA	H
<i>tRNA-Ser</i>	71	6 962	7 032	-5			H
<i>tRNA-Asp</i>	69	7 034	7 102	1			H
<i>COX2</i>	687	7 103	7 789	0	ATG	TAA	H
<i>tRNA-Lys</i>	73	7 791	7 863	1			H
<i>ATP8</i>	165	7 865	8 029	1	ATG	TAA	H
<i>ATP6</i>	684	8 020	8 703	0	ATG	TAA	H
<i>COX3</i>	784	8 703	9 486	-1	ATG	T	H
<i>tRNA-Gly</i>	70	9 487	9 556	0			H
<i>ND3</i>	350	9 557	9 906	0	ATG	T	H
<i>tRNA-Arg</i>	71	9 907	9 977	143			H
<i>ND4L</i>	321	9 978	10 127	0	ATG	TAA	H
<i>ND4</i>	1 386	10 268	11 653	0	ATG	TAA	H
<i>tRNA-His</i>	70	11 649	11 718	-5			H
<i>tRNA-Ser</i>	62	11 719	11 780	0			L
<i>tRNA-Leu</i>	74	11 780	11 853	-1			H
<i>ND5</i>	1 779	11 854	13 632	0	ATG	TAA	H
<i>ND6</i>	525	13 682	14 152	49	ATG	AGG	L
<i>tRNA-Glu</i>	525	14 153	14 220	0			L
Cyt <i>b</i>	1 182	14 224	15 363	3	ATG	TAA	H
<i>tRNA-Thr</i>	74	15 367	15 440	3			H
<i>tRNA-Pro</i>	71	15 454	15 524	13			L

间隔区负值代表相邻元素的重叠区长度。
Negative values in the spacer region represent the length of the overlapping region between adjacent elements.

2.4 中华鳖“鄱湖 1 号”线粒体基因组聚类分析

PCGs-H 聚类结果见图 3a, 中华鳖“鄱湖 1 号”先与日本品系聚为一小支, 再与韩国品系聚为相邻支, 而安徽芜湖品系、安徽墨鳖品系、江西品系、清溪乌鳖和清溪花鳖先后汇聚形成另一大支。Cyt *b* 聚类结果见图 3b, 中华鳖“鄱湖 1 号”也是先与日本品系聚为一小支, 再与韩国品系聚为一大支, 而清溪乌鳖、清溪花鳖、安徽墨鳖品系、江西品系和安徽芜湖品系聚为另一大支。

3 讨论

3.1 中华鳖“鄱湖 1 号”线粒体基因组全序列特征及其鉴别意义

我国的中华鳖种质资源丰富, 存在不同的地理群体、养殖群体以及人工选育后的养殖品系(种)。不同产地或不同水系以及育成新品系(种)的中华鳖在生产性状、体表颜色、裙边大小等方面都存在一定的差异, 因此, 用一个中华鳖名称很难将其区分开来(黄丽英等 2005)。由于线粒体基因组具有母系遗传、重组率低、进化速率快等特点, 其全序列变异信息可有效区分品系间细微的遗传差异(Galtier et al. 2009)。因此, 研究线粒体全基因组数据, 可为中华鳖不同品系的遗传分化分析、系统演化关系探讨及种质鉴定提供高分辨率分子证据, 具有重要研究价值。本研究成功解析了继代选育的 F5 代中华鳖“鄱湖 1 号”选育品系的完整线粒体基因组序列(17 190 bp)。其基因排列、转录方向均与已报道的鳖类及大多数脊椎动物高度一致(Kumazawa and Nishida 1999, 彭巧玲等 2005, Jung et al. 2006, 宋娇莲 2007, 张莉和聂刘旺 2007, Kundu et al. 2018, Zhang et al. 2019, Chen et al. 2023), 充分印证了线粒体基因组结构在鳖科内的保守性。碱基组成分析显示其具有典型的 AT 使用偏向性(AT 含量 62.81%)和 GC 贫乏性(G 含量 11.68%), 与已知的 7 个中华鳖类群(AT 含量 62%~63%)特征相符(彭巧玲等 2005, 张莉和聂刘旺

2007, Jung et al. 2009, Kundu et al. 2018, Zhang et al. 2019, Chen et al. 2023)。然而, 最显著的特征差异体现在其 D-loop 区(1 666 bp), 与中华鳖“鄱湖 1 号”的对应区段相比, 其他品系(群体)的线粒体基因组 D-loop 区长度差异范围为-164 bp 至+151 bp, 这一显著的长度变异使其成为区分不同品系(群体)最直观的指标。其密码子使用模式(COX1 以 GTG 起始、ND6 以 AGG 终止、COX3/ND3 以单碱基 T 终止)符合大部分鳖类普遍规律(Jung et al. 2009, Zhang et al. 2019, Chen et al. 2023)。与之相比, 印度墨鳖(*Nilssonina nigricans*)的线粒体基因密码子使用显著偏离, 其 COX1 以 ATT 为起始、以单碱基 A 终止, ND6 以 T 终止, ND3 则以 AGA 终止(Kundu et al. 2018)。值得注意的是, 中华鳖“鄱湖 1 号”在 ND3 基因第 169 位出现单碱基 T 插入。额外碱基插入事件在龟鳖目及鸟类中均有报道(Mindell et al. 1998, Andreu-Sánchez et al. 2021), 但插入位点存在谱系差异, 多数龟及鸟类的 ND3 序列于第 174 位插入 A(Mindell et al. 1998, Russell and Beckenbach 2008), 而中国平胸龟(*Platysternon megacephalum*)在 174 位插入 C(张莉和聂刘旺 2007); 黄喉拟水龟(*Mauremys mutica*)、地龟(*Geoemyda spengleri*)与四眼斑水龟(*Sacalia quadriocellata*)则分别在 172 位插入 C、205 位插入 G, 或无额外插入(王晗栋 2021)。比较分析表明, 在 169 位 T 插入亦见于清溪花鳖、清溪乌鳖、江西品系和日本品系(Chen et al. 2023), 提示该位点变异可能起源于中华鳖属的共同祖先。尽管插入位点因物种而异, 现有研究推测此类插入不破坏 ND3 功能, 可能通过“翻译跳读”、RNA 编辑或异常转录本降解等机制规避移码突变(Mindell et al. 1998, Russell and Beckenbach 2008, D'Souza and Minczuk 2018, 王晗栋 2021)。中华鳖“鄱湖 1 号”线粒体基因组在保持基本保守结构的同时, 展现出独特的 D-loop 长度变异, 且其 PCGs-H 与 Cyt *b* 序列也与其他中华鳖品系(群

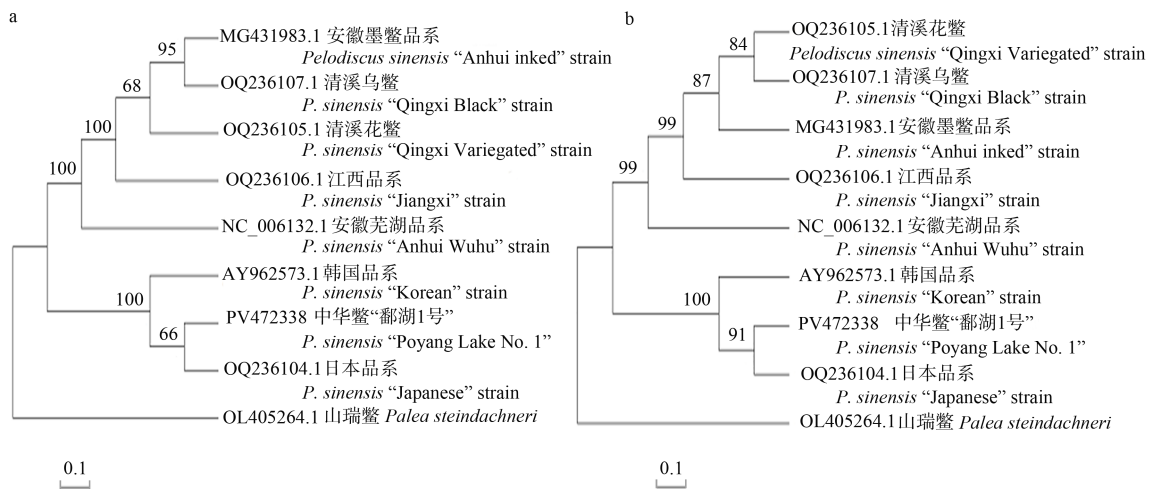


图3 中华鳖“鄱湖1号”线粒体基因组 PCGs-H 核苷酸序列串联集 (a) 和 Cyt *b* (b) 邻接法系统发育树
Fig. 3 Neighbor-joining phylogenetic trees of different *Pelodiscus sinensis* strains based on (a) PCGs-H and (b) Cyt *b* nucleotide sequences

节点上的数字代表各分支 1 000 次重复抽样的置信度百分比。标尺长度代表序列间平均每 100 个核苷酸位点发生了 10 次替代。
The degree of confidence for each branch point was determined by bootstrap analysis (1 000 repetitions). The scale bar shows 10 substitutions per 100 nucleotide sites.

体) 存在差异, 这一差异可通过系统发育树进一步印证, 在该树中, “鄱湖 1 号”线粒体 PCGs-H、Cyt *b* 分支与亲缘关系最近的日本品系的置信度分别为 66%和 91%, 体现出其与其他品系对应序列有差异。上述 D-loop 长度变异及 PCGs-H 与 Cyt *b* 的序列差异, 为中华鳖“鄱湖 1 号”构建了可用于种质鉴别的分子身份证。

3.2 中华鳖“鄱湖 1 号”的系统发育地位及其谱系启示

基于 12 个 H 链蛋白编码基因 (PCGs-H) 及 Cyt *b* 基因序列的系统发育分析得出一致且明确的结论: 中华鳖“鄱湖 1 号”首先与中华鳖日本品系聚为一支 (邻接法支持率分别为 66%和 91%), 随后二者共同与韩国品系形成姊妹支 (邻接法支持率均为 100%), 而明显区别于安徽芜湖品系、安徽墨鳖品系、江西品系、清溪乌鳖和清溪花鳖等构成的长江流域支系。中华鳖日本品系与韩国品系形成分支的紧密聚类亦被前人报道 (许晓军等 2012, Chen et al. 2023), 本研究进一步确认其稳定性。本研究的

上述发现具有双重启示, 首先, 从母系遗传 (线粒体) 角度, 强有力地支持了中华鳖“鄱湖 1 号”选育品系与中华鳖日本品系存在极近的亲缘关系。这可能源于两方面: 一是“鄱湖 1 号”与中华鳖日本品系可能源自同一共同祖先, 即历史上日本品系与“鄱湖 1 号”选育所用的亲本来源群体 (鄱阳湖野生中华鳖) 之间可能存在过基因交流。该推断与梁宏伟等 (2021) 的报道大体相符, 其研究指出, 中华鳖日本品系起源于 20 世纪 60 年代初从中国引入日本的中华鳖群体, 经当地选育与提纯复壮后形成特色品系, 之后又被引回中国, 成为适应国内养殖环境的优良品系。不过, 目前尚无文献明确报道, 当年引入日本的这部分中华鳖群体原产地是否为鄱阳湖流域。二是“鄱湖 1 号”与中华鳖日本品系可能均是以鄱阳湖中华鳖野生群体作为选育亲本来源 (李佳倩等 2025), 已有研究证实, 鄱阳湖中华鳖野生群体的种质资源具备丰富的遗传多样性 (刘至治等 2004), 这一遗传基础, 使得“鄱湖 1 号”与日本品系即便

地理分布距离较远，其遗传关系却比长江流域中华鳖支系（如本文中的安徽芜湖品系、安徽墨鳖品系、江西品系、清溪乌鳖和清溪花鳖）的遗传关系更近。其次，系统发育框架明确将“鄱湖 1 号”定位在“鄱湖 1 号-日本品系-韩国品系”这一分支，显著区别于国内其他养殖品系所组成的“长江流域”分支。提示中华鳖鄱阳湖野生群体历史上曾向日本及韩国人工扩散，可能形成分化时间较短、尚未充分记录的共享祖先谱系。

3.3 线粒体全序列对中华鳖品系评价与种质管理的应用价值

本研究获得的中华鳖“鄱湖 1 号”完整线粒体基因组序列及其分析结果，为其品系评价和种质资源管理提供了强有力的分子工具，具有多方面的重要意义：

（1）品系精准鉴定。D-loop 区独特的长度（1 666 bp）、PCGs-H 串联序列的单倍型以及 Cyt *b* 基因序列差异，共同构成了“三位一体”的分子标签。通过综合分析这些标记（如多重 PCR 结合片段分析或测序），可高效、准确地将“鄱湖 1 号”与安徽、江西及清溪系列等国内其他养殖品系区分开来，有效解决传统形态鉴定中“同种异名”的难题，确保种质资源的准确识别和市场规范。

（2）遗传纯度评估。以中华鳖“鄱湖 1 号”线粒体基因组为基准，进行全序列比对，可灵敏检测中华鳖“鄱湖 1 号”保种群体中是否存在非预期母系基因渗入（如回交或混杂）。这种基于线粒体母系遗传特性的检测方法，可为建立封闭核心群、实施科学保种策略提供直接依据，确保“鄱湖 1 号”优良性状的遗传纯度和稳定传递。

（3）选育策略优化。鉴定出的特异性分子标记（如 D-loop 区、PCGs 和 Cyt *b* 等）可作为潜在的遗传标记。未来可结合“鄱湖 1 号”的生长速度、裙边宽度、产蛋率等关键经济性状数据，开展标记-性状关联分析。若发现特定标记与优良性状显著关联，即可应用于早期选

育（如苗种阶段筛选），显著提高选择效率和准确性，加速新品种（系）的培育进程。

（4）资源保护与可持续利用。本研究补充并丰富了中华鳖线粒体基因组数据库。基于此，可推动建立更完善的国家级中华鳖种质分子鉴定标准体系，明确各品系的遗传“指纹”；构建基于线粒体标记的原产地溯源技术，打击非法引种和种苗假冒行为；为科学规划保种方案、合理利用种质资源、促进中华鳖产业良种化、标准化和可持续发展奠定坚实的遗传学基础。

综上，本研究通过对中华鳖“鄱湖 1 号”线粒体基因组全序列组装及分析，不仅揭示了其独特的遗传特征和清晰的系统发育地位（与日本品系亲缘最近），更在种质精准鉴定、遗传资源保护、分子育种辅助、品系溯源、纯度检测及产业规范管理等方面展现出相应的应用价值，对推动中华鳖良种化、标准化和可持续利用具有重要意义。

参 考 文 献

- Andreu-Sánchez S, Chen W J, Stiller J, et al. 2021. Multiple origins of a frameshift insertion in a mitochondrial gene in birds and turtles. *GigaScience*, 10(1): g1aa161.
- Chen J, Jiao J B, Yuan X M, et al. 2023. Complete mitochondrial genomes of four *Pelodiscus sinensis* strains and comparison with other Trionychidae species. *Biology*, 12(3): 406.
- D'Souza A R, Minczuk M. 2018. Mitochondrial transcription and translation: overview. *Essays in Biochemistry*, 62(3): 309–320.
- Elmerot C, Arnason U, Gojobori T, et al. 2002. The mitochondrial genome of the pufferfish, *Fugu rubripes*, and ordinal teleostean relationships. *Gene*, 295(2): 163–172.
- Galtier N, Nabholz B, Glémin S, et al. 2009. Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Molecular Ecology*, 18(22): 4541–4550.
- Jung S O, Lee Y M, Kartavtsev Y, et al. 2006. The complete mitochondrial genome of the Korean soft-shelled turtle *Pelodiscus sinensis* (Testudines, Trionychidae). *DNA Sequence*, 17(6): 471–483.
- Kumazawa Y, Nishida M. 1999. Complete mitochondrial DNA

- sequences of the green turtle and blue-tailed mole skink: statistical evidence for archosaurian affinity of turtles. *Molecular Biology and Evolution*, 16(6): 784–792.
- Kundu S, Kumar V, Tyagi K, et al. 2018. Complete mitochondrial genome of Black Soft-shell Turtle (*Nilssonina nigricans*) and comparative analysis with other Trionychidae. *Scientific Reports*, 8(1): 17378.
- Mindell D P, Sorenson M D, Dimcheff D E. 1998. An extra nucleotide is not translated in mitochondrial ND3 of some birds and turtles. *Molecular Biology and Evolution*, 15(11): 1568–1571.
- Russell R D, Beckenbach A T. 2008. Recoding of translation in turtle mitochondrial genomes: programmed frameshift mutations and evidence of a modified genetic code. *Journal of Molecular Evolution*, 67(6): 682–695.
- Zhang C, Xu X J, Zhang H Q, et al. 2015. PCR-RFLP identification of four Chinese soft-shelled turtle *Pelodiscus sinensis* strains using mitochondrial genes. *Mitochondrial DNA*, 26(4): 538–543.
- Zhang J, Zhou Q Y, Yang X L, et al. 2019. Characterization of the complete mitochondrial genome and phylogenetic analysis of *Pelodiscus sinensis*, a mutant Chinese soft-shell turtle. *Conservation Genetics Resources*, 11(3): 279–282.
- 陈合格, 刘文彬, 李建中, 等. 2006. 三种鳖线粒体 DNA 细胞色素 *b* 基因序列的比较分析. *水生生物学报*, 30(4): 380–385. [Chen H G, Liu W B, Li J Z, et al. 2006. Comparative analysis of mitochondrial DNA Cyt *b* gene and their molecular identification markers in three species of soft-turtles. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 30(4): 380–385.]
- 陈合格, 刘文彬, 张轩杰. 2005. 中华鳖与砂鳖线粒体 DNA 12S rRNA 基因序列的比较分析和分子鉴定标记. *水产学报*, 29(3): 318–322. [Chen H G, Liu W B, Zhang X J. 2005. Comparative analysis of mitochondrial DNA 12S rRNA region between *Pelodiscus sinensis* and *Pelodiscus axenaria* and their molecular marker for identification. *Journal of Fisheries of China*, 29(3): 318–322.]
- 韩晓磊, 顾益, 徐棉棉, 等. 2017. 太湖流域中华鳖不同群体线粒体基因序列比较分析. *常熟理工学院学报*, 31(4): 91–94. [Han X L, Gu Y, Xu M M, et al. 2017. A comparative analysis of mitochondrial genome sequence from different populations of *Pelodiscus sinensis* in Taihu Basin. *Journal of Changshu Institute of Technology*, 31(4): 91–94.]
- 黄丽英. 2006. 中华鳖 4 个不同种群的遗传结构和分子遗传标记研究. 重庆: 西南大学硕士学位论文, 21–28. [Huang L Y. 2006. Genetic structure and molecular genetic markers of four populations from *Pelodiscus sinensis*. Chongqing: Southwest University, Master's dissertation, 21–28.]
- 黄丽英, 何中央, 丁诗华, 等. 2005. 中华鳖种质资源的研究现状及保护、利用对策. *宁波大学学报: 理工版*, 18(2): 183–186. [Huang L Y, He Z Y, Ding S H, et al. 2005. Current status and countermeasures for protecting and utilizing on soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*) germplasm resources in China. *Journal of Ningbo University: Natural Science and Engineering Edition*, 18(2): 183–186.]
- 黄雪贞, 钱国英, 李彩燕. 2012. 中华鳖 3 个地理群体线粒体基因 D-loop 区遗传多样性分析. *水产学报*, 36(1): 17–24. [Huang X Z, Qian G Y, Li C Y. 2012. The genetic diversity of mitochondrial DNA D-loop region of three geographical populations in *Trionyx sinensis*. *Journal of Fisheries of China*, 36(1): 17–24.]
- 李佳倩, 张浩, 陈凯欣, 等. 2025. 中华鳖“鄱湖 1 号”不同组织的 LDH 和 EST 同工酶的表达差异. *江西水产科技*, (2): 1–6. [Li J Q, Zhang H, Chen K X, et al. 2025. Expression differences of LDH and EST isozymes in different tissues of ‘Pohu No. 1’ Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*). *Jiangxi Fishery Science and Technology*, (2): 1–6.]
- 李璐, 谭舜, 王彪, 等. 2020. 基于线粒体 D-loop 区序列的中华鳖不同群体遗传差异分析. *水产学杂志*, 33(5): 7–11. [Li L, Tan S, Wang B, et al. 2020. Genetic diversity of three different populations of soft shelled turtle *Trionyx sinensis* using mitochondrial D-loop gene. *Chinese Journal of Fisheries*, 33(5): 7–11.]
- 李思发, 吕国庆, 李晨虹, 等. 1997. 华东地区中华鳖地方群体 mtDNA 多态分析. *中国水产科学*, 4(3): 2–7. [Li S F, Lü G Q, Li C H, et al. 1997. mtDNA polymorphism analysis of local populations of soft-shelled turtle from East China. *Journal of Fishery Sciences of China*, 4(3): 2–7.]
- 梁宏伟, 曹力欢, 罗相忠, 等. 2021. 基于线粒体 *COI* 基因的中华鳖 3 个品系遗传多样性分析. *基因组学与应用生物学*, 40(9):

- 2908–2915. [Liang H W, Cao L H, Luo X Z, et al. 2021. Genetic diversity of three *Pelodiscus sinensis* strains based on *COI* gene sequence. *Genomics and Applied Biology*, 40(9): 2908–2915.]
- 刘至治, 蔡完其, 李思发. 2004. 中华鳖五群体遗传变异的 RAPD 分析. *水产学报*, 28(2): 119–126. [Liu Z Z, Cai W Q, Li S F. 2004. Analysis of genetic variations of five populations in *Trionyx sinensis* by RAPD. *Journal of Fisheries of China*, 28(2): 119–126.]
- 彭巧玲, 蒲友光, 王志方, 等. 2005. 中华鳖线粒体基因组序列分析. *中国生物化学与分子生物学报*, 21(5): 591–596. [Peng Q L, Pu Y G, Wang Z F, et al. 2005. Complete mitochondrial genome sequence analysis of Chinese softshell turtle (*Pelodiscus sinensis*). *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 21(5): 591–596.]
- 瞿叶清, 哈惠馨, 郭玉琴, 等. 2010. 3R 原则在医学动物实验工作中的应用. *实验动物科学*, 27(6): 84–85. [Qu Y Q, Ha H X, Guo Y Q, et al. 2010. Application of 3R principle in medical animal experiments. *Laboratory Animal Science*, 27(6): 84–85.]
- 宋娇莲. 2007. 黄喉拟水龟和四眼斑水龟线粒体全序列分析及龟鳖类系统发生关系的探讨. 芜湖: 安徽师范大学硕士学位论文, 14–25. [Song J L. 2007. The complete mitochondrial genome of *Mauremys mutica* and *Sacalia quadriocellata* with implication for phylogenetic relationships among turtles. Wuhu: Anhui Normal University, Master's dissertation, 14–25.]
- 王晗栋. 2021. 地龟线粒体基因组全序列分析及龟鳖类系统发生的探讨. 舟山: 浙江海洋大学硕士学位论文, 1–23. [Wang H D. 2021. Complete mitochondrial genome analysis and phylogeny of turtles. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, Master's dissertation, 1–23.]
- 许晓军, 张海琪, 何中央. 2012. 中华鳖日本品系和清溪乌鳖线粒体 12S rRNA 基因部分序列分析. *经济动物学报*, 16(3): 163–167. [Xu X J, Zhang H Q, He Z Y. 2012. Sequence composition of mitochondrial 12S rRNA genes between two varieties of *Pelodiscus sinensis*. *Journal of Economic Animal*, 16(3): 163–167.]
- 杨萍, 唐业忠, 王跃招. 2011. 中国鳖属的分类历史简述. *四川动物*, 30(1): 156–159. [Yang P, Tang Y Z, Wang Y Z. 2011. Review of the classification History of Chinese soft shelled turtles (Trionychidae: *Pelodiscus*). *Sichuan Journal of Zoology*, 30(1): 156–159.]
- 杨振才, 牛翠娟, 孙儒泳. 1999. 中华鳖生物学研究进展. *动物学杂志*, 34(6): 41–44. [Yang Z C, Niu C J, Sun R Y. 1999. Research progress on the biology of the Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*). *Chinese Journal of Zoology*, 34(6): 41–44.]
- 张超, 张海琪, 许晓军, 等. 2014. 中华鳖 (*Pelodiscus sinensis*) 不同品系线粒体 SNP 的分型与鉴定. *海洋与湖沼*, 45(2): 376–381. [Zhang C, Zhang H Q, Xu X J, et al. 2014. Identification of different strains of *Pelodiscus sinensis* by using high resolution melting (hrm) analysis of SNPs in mitochondrial DNA. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 45(2): 376–381.]
- 张海琪, 黄丽英, 何中央, 等. 2006. 中华鳖太湖养殖种群和日本引进种群线粒体 DNA Cyt b 基因片段序列分析及分子进化初探. *动物分类学报*, 31(2): 264–268. [Zhang H Q, Huang L Y, He Z Y, et al. 2006. Preliminary study on mitochondrial cytochrome b DNA sequences and phylogeny of *Pelodiscus sinensis* from Taihu cultured population and Japan-introduced population. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 31(2): 264–268.]
- 张建军. 2025. 涉及人或实验动物医学论文伦理写作规范. *首都医科大学学报*, 46(1): 154–160. [Zhang J J. 2025. Writing norms for ethics in medical papers involving humans or laboratory animals. *Journal of Capital Medical University*, 46(1): 154–160.]
- 张莉, 聂刘旺. 2007. 龟鳖类线粒体全基因组的比较研究. *生命科学研究*, 11(3): 258–262, 272. [Zhang L, Nie L W. 2007. Comparable study on complete mitochondrial genomes of turtles. *Life Science Research*, 11(3): 258–262, 272.]
- 张永正, 张海琪, 何中央, 等. 2008. 中华鳖 (*Pelodiscus sinensis*) 5 个不同地理种群细胞色素 b 基因序列变异及种群遗传结构分析. *海洋与湖沼*, 39(3): 234–239. [Zhang Y Z, Zhang H Q, He Z Y, et al. 2008. Sequence variation and population genetic structure of five populations in *Pelodiscus sinensis* based on cytochrome b gene. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 39(3): 234–239.]
- 周传江, 马爱喆, 汪曦, 等. 2019. 鱼类线粒体基因组研究进展. *河南师范大学学报: 自然科学版*, 47(2): 74–82. [Zhou C J, Ma A Z, Wang X, et al. 2019. Progress on fish mitochondrial genome. *Journal of Henan Normal University: Natural Science Edition*, 47(2): 74–82.]