

## 研究报告

## Research Report

# 中华鳖 5 个群体遗传多样性的微卫星分析

刘阳<sup>1,2</sup> 史燕<sup>1</sup> 朱新平<sup>1,2\*</sup> 赵建<sup>1</sup> 周贵谭<sup>3</sup> 洪孝友<sup>1</sup>

1 中国水产科学研究院珠江水产研究所,农业部热带亚热带水产种质资源利用与养殖重点实验室,广州,510380; 2 上海海洋大学水产与生命学院,上海,201306; 3 广东绿卡实业有限公司,东莞,523912

\* 通讯作者, zhuxinping\_1964@yahoo.com.cn

**摘要** 利用微卫星分子标记技术对洞庭(DT)、黄河(HH)、黄沙(HS)、日本(RB)以及洞庭(DT)与黄河(HH)的杂交子代(DT ♀ × HH ♂)绿卡(LK) 5 个中华鳖群体的 150 个个体进行遗传多样性分析。11 对微卫星引物扩增出的等位基因数为 3~6 个,平均等位基因数为 4.181 8。5 个种群相比,绿卡(LK)的平均有效等位基因数、平均期望杂合度、平均观测杂合度和平均多态信息含量最高,分别是 2.396 9、0.527 4、0.554 5 和 0.466 0。对种群间的遗传分化分析表明,黄河(HH)和洞庭(DT)之间的遗传分化最小,为 0.023 3,而洞庭(DT)和日本(RB)之间的遗传分化最大,为 0.096 9。基于 Nei's 遗传距离构建的 UPGMA 系统进化树显示黄河(HH)和洞庭(DT)及其子代绿卡(LK)亲缘关系较近,而与黄沙(HS)和日本(RB)的亲缘关系较远,最远的为日本(RB)群体。

**关键词** 中华鳖, 微卫星, 遗传多样性, 种群分化

## Genetic Diversity in Five Populations of *Trionyx sinensis* Revealed by Microsatellite Markers

Liu Yang<sup>1,2</sup> Shi Yan<sup>1</sup> Zhu Xinping<sup>1,2\*</sup> Zhao Jian<sup>1</sup> Zhou Guitan<sup>3</sup> Hong Xiaoyou<sup>1</sup>

1 Key Laboratory of Tropical & Subtropical Fishery Resource Application & Cultivation of Ministry of Agriculture, Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou, 510380; 2 College of Life Science and Fisheries, Shanghai Ocean University, Shanghai, 201306; 3 Guangdong LuKa Enterprise CO., LTD., Dongguan, 523912

\* Corresponding author, zhuxinping\_1964@yahoo.com.cn

DOI: 10.3969/gab.031.000141

**Abstract** In this paper, microsatellite markers were used to analyze the genetic diversity of 150 individuals from five *Trionyx sinensis* populations: Dongting (DT), Yellow River (HH), Huangsha (HS), Japan (RB), and Luka (LK) which is the filial generation of Dongting (DT) and Yellow River (HH). The number of alleles amplified from 11 pairs of microsatellite primers is 3 to 6, and the mean allele number is 4.181 8. The mean effective number of alleles ( $N_e$ ), mean expected heterozygosity ( $H_e$ ), mean observed heterozygosity ( $H_o$ ) and mean polymorphism information content in LK population are all the highest among these five populations, and there are 2.396 9, 0.554 5, 0.527 4, and 0.466 0 respectively.  $F_{ST}$  index between every two populations at all loci indicates that the genetic differentiation between HH and DT is the smallest, 0.023 3; while the genetic differentiation between DT and RB is the largest, 0.096 9. The UPGMA dendrogram based on Nei's genetic distance shows that DT, HH and LK are grouped in one cluster, which is then clustered with HS. The RB population is grouped in a separate cluster.

**Keywords** *Trionyx sinensis*, Microsatellite, Genetic diversity, Population differentiation

中华鳖(*Trionyx sinensis*),分类学上隶属爬行纲 和新疆外,其它地区均有分布,以长江流域和华南地区为多见(王培潮,2000,中国的龟鳖,pp.50-56);国外 鳖属(*Trionyx*)。俗名鳖、团鱼和王八等。除西藏、青海 主要分布于朝鲜、日本和越南(杨渡远等,1997,中国

基金项目 本研究由国家农业科技成果转化资金项目(2011GB23260021)、中国水产科学研究院院级基本科研业务费专项(2012A0403)和广州市珠江科技新星专项(2012089)共同资助

龟鳖类原色图谱, pp.48)。近年来,由于食用和药用等的大量需求,中华鳖的养殖业发展迅猛,其养殖方式主要有鱼鳖混养、池塘单养和工厂化温室养殖等,其年产量突破了 20 万 t (中华人民共和国农业部渔业局, 2010, 中国渔业统计年鉴, pp.27)。伴随着养殖业的发展,中华鳖种群混杂导致种群间的分化和变异逐渐被人为湮灭,其种群的遗传多样性受到了很大的影响。刘至治等(2004)应用 RAPD 分析了中华鳖五群体的遗传变异,认为遗传多样性较丰富;肖亚梅等(2005)研究得出中华鳖群体内的遗传变异率 0.227,为遗传共享度较高的群体;张志允等(2011)对中华鳖黄河群体选育世代  $F_1$ 、 $F_2$  及  $F_3$  遗传变异进行了微卫星分析,结果表明群体内存在丰富可供选育用的遗传多样性基础,随着选育代数的增加而明显降低,证明以生长、体色和体型等表型指标为直观选育指标的群体选育,对遗传型指标产生了可检测到的影响。

遗传多样性大小是物种长期进化的产物,是其生存适应和发展进化的前提。一个居群或物种遗传多样性越高或遗传变异越丰富,对环境变化的适应能力就越强。了解物种的遗传变异,有利于对其种质资源的管理保护和开发利用。因此,本研究利用微卫星标记对 5 个养殖种群中华鳖的遗传多样性及种群间的分化进行分析,以期对中华鳖的种质资源保护以及改良育种工作提供理论依据。

## 1 结果与分析

### 1.1 微卫星扩增结果

试验所用 11 对微卫星引物均能在所有 DNA 样品中稳定地扩增出相应条带(图 1)。各微卫星引物在 5 个群体 150 个个体中的等位基因数为 3~6 个,平均等位基因数为 4.181 8,平均有效等位基因数为 2.229 3,扩增片段大小在 108~246 之间。洞庭(DT)、黄河(HH)、黄沙(HS)、日本(RB)以及绿卡(LK)在各个位点的等位基因数及有效等位基因数见表 1。各个群体的平均有效等位基因数、平均等位基因数、平均观测杂合度、平均期望杂合度以及平均多态信息含量如表 2 所示。

### 1.2 遗传多样性分析

11 个位点中 P-05、P-06、P-12、P-11、P-12 和 PS-04 位点的多态信息含量(PIC)小于 0.5,为中度或者低度多态,其余位点均为高度多态,说明微卫星引物多态性较好,可以用于遗传多样性分析。根据每个位点的等位基因频率,计算反映群体遗传多样性的有效等位基因数、观测杂合度、期望杂合度以及多态

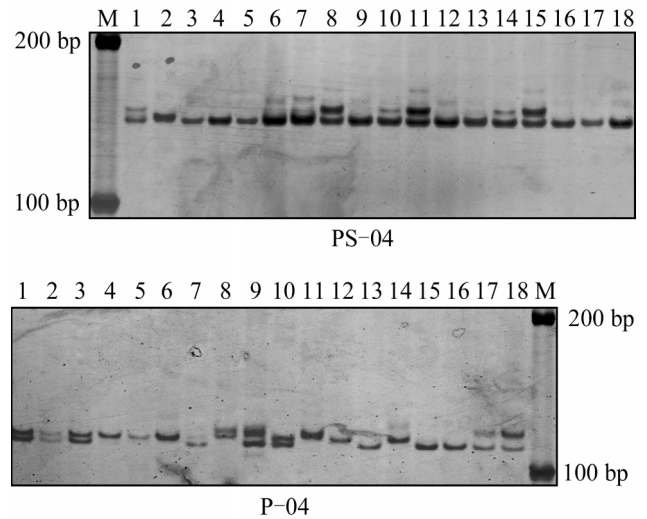


图 1 引物 P-04 和 PS-04 在中华鳖五个群体部分个体中的扩增带谱

Figure 1 The example of band pattern amplified by primers of P-04 and PS-04 in *Trionyx sinensis*

信息含量,其平均数值范围分别为 2.018 9~2.396 9、0.433 3~0.554 5、0.427 8~0.527 4 和 0.402 0~0.466 0。平均有效等位基因数、平均观测杂合度、平均期望杂合度以及平均多态信息含量均为杂交种群绿卡(LK)的最高,分别为 2.396 9、0.554 5、0.527 4 和 0.466 0,而以日本(RB)种群的最低,分别为 2.019 8、0.433 3、0.427 8 和 0.402 0。这些指标的分析结果表明绿卡(LK)的遗传多样性最高,洞庭、黄河和黄沙次之,日本(RB)的遗传多样性最低。

### 1.3 群体间遗传结构分析

通过对 5 个群体中华鳖进行 F- 检验(表 3),结果显示洞庭(DT)和日本(RB)的遗传分化指数最大( $F_{ST}=0.096 9$ ),而洞庭(DT)和黄河(HH)的分化指数最小( $F_{ST}=0.023 3$ )。遗传相似率和遗传距离如表 4 所示。

根据亲本与子代间的遗传距离,采用 UPGMA 法构建子代与亲本的系统进化树(图 2),由图可知,黄河(HH)和洞庭(DT)先聚为一支,然后与其子代绿卡(LK)聚合,再与黄沙(HS)聚合,最后才与日本(RB)聚合。

## 2 讨论

### 2.1 中华鳖 5 个群体的遗传多样性

多态信息含量(PIC)是群体内遗传变异的量度,可以用来描述微卫星位点的变异程度。依 Botstein 等的划分标准:当  $PIC>0.5$  时,该位点为高度多态位点;当  $0.25<PIC<0.5$  时,为中度多态性位点;当  $PIC<0.25$  时,为低度多态位点。本研究的结果显示,中华鳖 5 个

表1 中华鳖5个群体11个微卫星位点的遗传多样性参数

Table 1 The parameters of genetic diversity of five populations of *Trionyx sinensis* at 11 microsatellite loci

位点 Loci	洞庭 DT			黄河 HH			黄沙 HS			日本 RB			绿卡 LK		
	$N_a$	$N_e$	PIC	$N_a$	$N_e$	PIC	$N_a$	$N_e$	PIC	$N_a$	$N_e$	PIC	$N_a$	$N_e$	PIC
	P-01	3	2.898 6	0.581 2	3	2.955 7	0.587 6	4	1.709 4	0.389 4	4	3.030 3	0.612 5	4	2.698 7
P-04	3	2.435 7	0.505 2	3	2.197 8	0.441 5	3	2.936 4	0.585 1	3	1.834 9	0.365 6	3	1.941 7	0.382 5
P-05	3	1.183 4	0.147 0	3	1.144 3	0.121 3	3	2.095 5	0.416 6	3	2.538 8	0.538 0	3	1.356 4	0.241 5
P-06	3	1.867 2	0.383 2	3	1.873 0	0.372 0	2	1.923 1	0.364 8	2	1.557 1	0.293 8	3	1.823 7	0.375 4
P-09	5	3.696 1	0.681 3	5	3.146 9	0.621 7	5	3.734 4	0.693 6	3	2.486 2	0.516 9	5	4.119 0	0.714 7
P-10	3	1.896 7	0.398 8	3	2.475 9	0.509 5	3	2.980 1	0.590 4	3	1.794 6	0.358 5	3	2.261 3	0.477 8
P-11	3	1.971 5	0.386 7	3	1.620 2	0.321 2	2	1.980 2	0.372 5	3	1.264 9	0.193 5	3	1.941 7	0.406 4
P-12	4	1.409 6	0.269 7	3	1.307 2	0.214 2	3	1.226 2	0.175 4	2	1.033 9	0.032 3	4	1.745 9	0.389 2
PS-04	4	1.572 1	0.336 2	5	1.534 5	0.333 3	3	1.268 5	0.199 0	1	1.000 0	0.000 0	4	1.414 0	0.275 0
PS-11	5	2.760 7	0.590 8	5	2.538 8	0.567 8	6	1.425 2	0.288 3	6	3.474 9	0.668 7	6	2.301 8	0.538 1
HLJZHB076	6	4.295 9	0.734 0	4	2.686 6	0.567 4	5	3.290 7	0.650 2	4	2.192 4	0.442 4	6	4.761 9	0.761 2

注:  $N_a$ : 等位基因数;  $N_e$ : 有效等位基因数; PIC: 多态信息含量Note:  $N_a$ : Number of alleles;  $N_e$ : Effective number of alleles; PIC: Polymorphism information content

表2 中华鳖5个群体的平均遗传多样性参数

Table 2 The average value of genetic diversity parameters of five populations of *Trionyx sinensis*

群体 Population	平均有效等位基因 $N_e$	平均等位基因数 $N_a$	平均观测杂合度 $H_o$	平均期望杂合度 $H_e$	平均多态信息含量 CPI
洞庭 DT	2.362 5	3.818 2	0.493 9	0.519 4	0.456 0
黄河 HH	2.134 6	3.636 4	0.524 2	0.512 1	0.423 0
黄沙 HS	2.233 6	3.545 5	0.533 3	0.495 5	0.430 0
日本 RB	2.018 9	3.090 9	0.433 3	0.427 8	0.402 0
绿卡 LK	2.396 9	4.000 0	0.554 5	0.527 4	0.466 0

表3 中华鳖5个种群的F-统计量(FST)

Table 3 Pairwise F-statistics estimates among five populations of *Trionyx sinensis*

	洞庭 DT	黄河 HH	黄沙 HS	日本 RB	绿卡 LK
洞庭 DT					
黄河 HH	0.023 3				
黄沙 HS	0.055 8	0.046 3			
日本 RB	0.096 9	0.071 3	0.069 1		
绿卡 LK	0.025 6	0.027 6	0.048 7	0.092 5	

表 4 中华鳖 5 个种群遗传相似系数与遗传距离

Table 4 Genetic similarity and genetic distance of five populations of *Trionyx sinensis*

	洞庭 DT	黄河 HH	黄沙 HS	日本 RB	绿卡 LK
洞庭 DT		0.953 7	0.882 5	0.815 8	0.944 3
黄河 HH	0.047 4		0.909 1	0.875 5	0.944 2
黄沙 HS	0.125 1	0.095 3		0.878 2	0.896 8
日本 RB	0.203 6	0.132 9	0.129 9		0.823 0
绿卡 LK	0.057 4	0.057 4	0.108 9	0.194 9	

注: 表中对角线上面的数字为种群间的相似性系数; 对角线下面的数字为种群间的相对遗传距离

Note: The data above and below diagonal representing genetic distance and genetic similarity, respectively

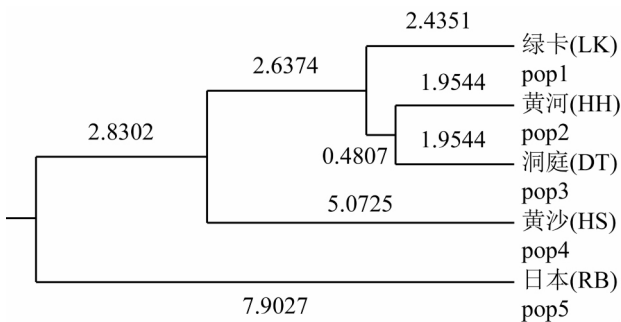


图 2 中华鳖 5 个种群 UPGMA 聚类分析图

Figure 2 Dendrogram of five populations of *Trionyx sinensis* based on genetic distance using UPGMA method

种群的多态信息含量都处于中度水平, 只有洞庭(DT)和黄河(HH)的杂交种绿卡(LK)的最高, 为 0.466 0, 接近 0.5 属于中度水平。吉磊等(2011)对卵形鲳鲙 3 个养殖群体的微卫星多态性进行分析发现养殖群体的多态信息含量都处于 0.5 左右, 属于中度接近高度多态水平, 蔡磊等(2012)对大口黑鲈北方亚种和佛罗里达亚种及其杂交子代进行遗传分析, 其北方亚种和佛罗里达亚种的多态信息含量(PIC)分别为 0.450 6 和 0.465 2, 同样低于 0.5。分析原因有二: 一是采样问题, 因为本实验的采样都是采于良种场, 都是经过了有意图定向选育的后代, 多态含量肯定会有所下降, 这跟张海琪等(2011)运用 RAPD 对培育的中华鳖新品种日本品系和清溪乌鳖的遗传多样性分析结果类似; 二是微卫星引物的选取也会影响到 PIC 值的大小, 因为有几对引物扩增的结果显示此位点的等位基因数极少且稳定, 为保守位点, 可能是中华鳖进化过程中最原始最保守的一部分等位基因, 对于维持中华鳖

物种的稳定有着重要的意义。

## 2.2 中华鳖 5 个群体的遗传分化

遗传相似系数是衡量群体间遗传变异程度的可靠参数, 群体间亲缘关系越近, 则遗传变异性越低, 相似系数值越大(Plotsky et al., 1993)。本研究基于微卫星分析结果建立的系统进化树显示黄河(HH)和洞庭(DT)的亲缘关系最近, 绿卡(LK)为二者的杂交种, 亲缘关系与二者也很近, 而黄沙(HS)和日本(RB)的相对比较远, 最远的为日本(RB)群体。洞庭(DT)与黄河(HH)先聚类然后才与其杂交子代绿卡(LK)聚合, 理论上应该是绿卡(LK)先和其父母本中一个种群聚合, 然后才与另外一个聚合。分析原因可能是选用的微卫星引物不够多或者采样不均匀造成的, 也可能子代在双亲的基因融合过程中产生了新的变异。另外, 遗传固定指数( $F_{ST}$ )值是衡量群体间遗传分化程度的重要参数。从 5 个群体间来看, 群体间  $F_{ST}$  介于 0.023 3~0.096 9 之间, 属于低等程度的遗传分化, 表明这 5 个群体并未产生明显的遗传分化。这种低等程度的分化也许与上世纪 90 年代中华鳖养殖业蓬勃发展、全国大范围互相引种导致群体间的混杂有关。

## 2.3 杂种优势现象

杂种优势是指两个或几个遗传不同的亲本杂交所产生的杂种在生长势、抗逆性和品质等方面优于其亲本的现象。绿卡中华鳖为广东绿卡实业有限公司国家级中华鳖良种场培育出来的优质品系, 其苗种生长均一、规格整齐、成活率高、养成商品个体大, 发病少。绿卡(LK)为以洞庭(DT)为母本, 黄河(HH)为父本的

杂交 F<sub>1</sub> 代, 从本研究结果可以看出, 与其它 4 个群体比, 其平均有效等位基因数、平均期望杂合度、平均观测杂合度和平均多态信息含量均为最高。一般来说, 种内亲本间的遗传距离越大, 其子代基因型的杂合度越高, 杂种优势越强。陈国华等(2006)对红鳍笛鲷 ♀ × 千年笛鲷 ♂ 杂交种观察发现, 其生长速度和抗逆性等方面表现出较好的杂种优势, 且其多态信息含量和杂合度等数据均高于两亲本; 李学军等(2008)对萨罗罗非鱼与尼罗罗非鱼正反杂交子代进行微卫星分析, 其正交子代尼罗罗非鱼的多样性也表现为大于两亲本。这些都与本实验的结果相类似。

### 3 材料与方法

#### 3.1 实验材料

本实验所需要的洞庭(DT)、黄河(HH)、绿卡(LK)和日本(RB)鳖都是由广东绿卡实业有限公司提供, 各 30 只, 都为稚鳖, 体重约为 4~5 g; 而黄沙(HS)鳖采集于广西桂平金田镇, 体重为 8~15 g, 30 只。对 150 只稚鳖进行解剖取其肝脏, 编号置于酒精中于 -20℃

保存备用。

#### 3.2 基因组 DNA 的提取

参照北京天根动物基因组 DNA 抽提试剂盒说明书的方法提取样品基因组 DNA。并用 8 mg/mL (0.8%) 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量, 用紫外分光光度计测定 OD<sub>260</sub> 和 OD<sub>280</sub>, 取出部分 DNA 样品将浓度调至 50 ng/μL, 保存于 -20℃ 备用。

#### 3.3 微卫星引物

11 对引物(表 5)皆来自文献(张志允等, 2011; 魏振邦等, 2008), 所有引物均由上海英潍捷基有限公司合成。

#### 3.4 PCR 扩增及产物检测

PCR 反应的总体系为 20 μL, 50 ng 的基因组 DNA, 10×Buffer 2 μL, MgCl<sub>2</sub> (25 mmol/L) 1.8 μL, dNTP (10 μmol/L) 0.5 μL, 上、下游引物(20 pmol/L)各 0.5 μL, *Taq* 酶 1 U。PCR 反应程序为: 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 30 s, 退火(退火温度依引物而定) 30 s,

表 5 引物序列及扩增温度

Table 5 Primer sequences and annealing temperatures

微卫星引物 SSR primer	引物序列(5'-3') Primer sequences (5'-3')	退火温度(℃) Annealing temperature (°C)
P-01	F: AGGCCAGAAGGGACCATTTA R: TGGTCGATCATTTTGCTGTG	64
P-04	F: CATGGTCTAGGCAGTGCTGA R: GAGAGAACAGCCTCGCTGA	60
P-05	F: GCCACGTACTCGTGGTTCAT R: GGAGGCTGTTTTACGACTG	62
P-06	F: GCACCAGGAAAGAGTCAAGAA R: CAGCCCAGAACATCAGAAT	62
P-09	F: CAACCCAACTCTGCAGACAC R: GAATTGCATGGAAGGCAGAT	64
P-10	F: AAAGCAGGGGAGAGAACAGC R: CATGGTCTAGGCAGTGCTGA	64
P-11	F: GCACCAGGAAAGAGTCAAGAA R: CAGCCCAGAACATCAGAAT	62
P-12	F: ACGCAGGACCAAGAGTGAGG R: TGTGCCACTCCCCGTATTGT	62
PS-04	F: AGTGAACCTTGCACATCCCAG R: TCCAGTGAAGGTTCCAGACA	65
PS-11	F: ACCAGTCAGGAAAGTTGACAC R: GCCAGTTTACCAAGAGATGGA	65
HLJZHB076	F: CACCGATTTTCAGCACTAGCA R: GGAGAAAGCTGGTGCCTATG	65

72℃ 30 s ,30 个循环 ;72℃ 延伸 10 min。PCR 产物在 10%的非变性聚丙烯酰胺凝胶中分离 ,硝酸银染色。

### 3.5 数据统计分析

利用 Popgene32 (Version 1.31)软件统计分析微卫星基因座的等位基因数( $N_a$ )、有效等位基因数( $N_e$ )、观测杂合度( $H_o$ )、期望杂合度( $H_e$ )、 $\chi^2$  检验 Hardy-Weinberg 平衡、遗传分化指数 F- 统计量(F-statistics,  $F_{ST}$ )及 Nei's 标准遗传距离( $D_s$ ) (Nei, 1978)。根据 Botstein 等(1980)的方法计算每个微卫星位点的多态信息含量(PIC)。应用软件 MEGA 4.0 采用 UPGMA 法进行聚类分析 ,以分析亲缘关系。

### 作者贡献

本论文第一作者刘阳对研究进行实施、数据整理以及论文撰写 ;通讯作者朱新平对研究进行设计、指导和论文审核修改 ;史燕、赵建和洪孝友参与本研究的采样、数据分析等具体工作 ;周贵谭为本实验提供了宝贵的样品。

### 参考文献

Botstein D., White R.L., Skolnick M., and Davis R.W., 1980, Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms, *American Journal of Human Genetics*, 32(3): 314-331

Cai L., Bai J.J., Li S.J., Chen K.C., Fan J.J., and Ma D.M., 2012, Genetic analysis of northern largemouth bass, florida largemouth bass and their reciprocal hybrids, *Zhongguo Shuichan Kexue (Journal of Fishery Sciences of China)*, 19 (1): 70-76 (蔡磊, 白俊杰, 李胜杰, 陈昆慈, 樊佳佳, 马冬梅, 2012, 大口黑鲈北方亚种和佛罗里达亚种及其杂交子代的遗传分析, *中国水产科学*, 19(1): 70-76)

Chen G.H., Yin S.W., Lei C.G., Liao J.Q., Lin H.C., and Liu Y. X., 2006, Artificial reproduction and rearing of snapper hybrids (*Lutjanus erythropterus* × *L. sebae*), *Shuichan Kexue (Fisheries Science)*, 25(1): 1-4 (陈国华, 尹绍武, 雷从改, 廖经球, 林海城, 刘扬溪, 2006, 杂交笛鲷人工繁育技术的初步研究, *水产科学*, 25(1): 1-4)

Ji L., Qu Y.J., and Li J.E., 2011, Genetic polymorphism of three cultured populations of golden pompano *Trachinotus ovatus* as revealed by microsatellite, *Redai Haiyang Xuebao (Journal of Tropical oceanography)*, 30(3): 62-68 (吉磊, 区又君, 李加儿, 2011, 卵形鲳鲹 3 个养殖群体的微卫星多

态性分析, *热带海洋学报*, 30(3): 62-68)

Li X.J., Li A.J., Wang Y.W., and Gao L.X., 2008, Difference of molecular genetic characters among *Sarotherodon melanotheron*, *Oreochromis niloticus* and their reciprocal hybrids, *Sichuan Dongwu (Sichuan Journal of Zoology)*, 27 (5): 777-780 (李学军, 李爱景, 王阅文, 高丽霞, 2008, 萨罗罗非鱼与尼罗罗非鱼正反杂交子代间的分子遗传学差异, *四川动物*, 27(5): 777-780)

Liu Z.Z., Cai W.Q., and Li S.F., 2004, Analysis of genetic variations of five populations in *Trionyx sinensis* by RAPD, *Shuichan Xuebao (Journal of Fisheries of China)*, 28 (2): 119-126 (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)

Nei M., 1978, Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals, *Genetics*, 89: 583-590

Plotsky Y., Cahaner A., Haberfeld A., Lavi U., Lamont S.J., and Hillel J., 1993, DNA Fingerprint bands pplied to linkage analysis with quantitative trait loci in chickens, *Animal Genetics*, 24(2): 105-110

Wei Z.B., Sun X., Sun X.Y., and Lu C.Y., 2008, Isolation and characterization of microsatellite DNA markers from soft-shell turtle *Trionyx sinensis*, *Dalian Shuichan Xueyuan Xuebao (Journal of Dalian Fisheries University)*, 23 (4): 304-308 (魏振邦, 孙新, 孙效文, 鲁翠云, 2008, 大连水产学院学报, 23(4): 304-308)

Xiao Y.M., Chen L.L., Chen H.G., and Zhao R.R., 2005, RAPD analysis of genomic DNA in the *Pelodiscus sinensis*, *Hunan Shifan Daxue Ziran Kexue Xuebao (Journal of Natural Science of Hunan Normal University)*, 28(3): 72-75 (肖亚梅, 陈丽莉, 陈合格, 赵如榕, 2005, 中华鳖种群 RAPD 分析, *湖南师范大学自然科学学报*, 28(3): 72-75)

Zhang H.Q., He Z.Y., and Shao J.Z., 2011, Analysis and comparison of genetic diversity in the new cultured varieties of *Pelodiscus sinensis*, *Jingji Dongwu Xuebao (Journal of Economic Animal)*, 15(1): 39-46 (张海琪, 何中央, 邵建忠, 2011, 中华鳖培育新品种群体遗传多样性的比较研究, *经济动物学报*, 15(1): 39-46)

Zhang Z.Y., Li S.F., Cai W.Q., Xie Z.F., and Yin L.M., 2011, Microsatellite analysis of genetic variation in F1, F2 and F3 selected generations of Yellow River populations of Chinese soft-shelled turtle, *Trionyx sinensis*, *Shanghai Haiyang Daxue Xuebao (Journal of Shanghai Ocean University)*, 20 (2): 161-166 (张志允, 李思发, 蔡完其, 谢中富, 殷黎明, 2011, 中华鳖黄河群体选育世代 F1, F2 及 F3 遗传变异微卫星分析, *上海海洋大学学报*, 20(2): 161-166)