

引用格式:

陆雨旷, 梁艺馨, 万刚, 王佩, 曾嘉伟, 王晓清, 胡亚洲, 李孝文. 长永鳖的形态特征和生长特性及遗传多样性[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2025, 51(1): 98–106.

LU Y K, LIANG Y X, WAN G, WANG P, ZENG J W, WANG X Q, HU Y Z, LI X W. Morphological, growth and genetic diversity of Changyong population of Chinese soft-shelled turtle(*Pelodiscus sinensis*)[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2025, 51(1): 98–106.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



## 长永鳖的形态特征和生长特性及遗传多样性

陆雨旷<sup>1</sup>, 梁艺馨<sup>1</sup>, 万刚<sup>1</sup>, 王佩<sup>2</sup>, 曾嘉伟<sup>1</sup>, 王晓清<sup>1\*</sup>, 胡亚洲<sup>1</sup>, 李孝文<sup>3</sup>

(1.湖南农业大学水产学院, 湖南 长沙 410128; 2.吉首大学生物资源与环境科学学院, 湖南 吉首 416000; 3.衡阳县鱼苗鱼种场, 湖南 衡阳 421299)

**摘要:** 测量原产于湖南省衡县长永村的长永鳖的体质量、体长、体高、背甲长、背甲宽、腹甲长、腹甲宽、裙边宽8项形态数据, 分析其形态特性; 在相同条件下养殖长永鳖和洞庭鳖, 分析其11~15月龄养殖性能; 通过q-PCR探究长永鳖和洞庭鳖黑色素基因相对表达量差异并记录长永鳖花斑数量, 分析其花斑特性; 利用线粒体*Cytb*、*COI*和*12S rRNA*基因序列构建进化树分析长永鳖亲缘关系, 并以其单倍型多样性( $H_d$ )和核苷酸多样性( $P_i$ )分析长永鳖遗传多样性。结果表明: 1) 长永鳖成鳖腹甲长/背甲长、腹甲宽/背甲长分别为 $0.97\pm 0.02$ 和 $1.01\pm 0.03$ , 显著小于洞庭鳖的, 可见长永鳖腹甲整体小于洞庭鳖腹甲。2) 长永鳖绝对增重率和瞬时增重率最高值分别为1.01和2.39, 且长永鳖成活率为76.03, 均高于洞庭鳖的。3) 长永鳖背部具有块状花斑, 在一定时期内花斑数量和面积会随体形增大而增加, 在14月龄后花斑数量趋于稳定, 推测花斑数量和面积与体型大小有关。4) qPCR结果显示, 长永鳖*Tyr*、*Tyrp1*和*Gpnmb*基因的相对表达量高于洞庭鳖的( $P<0.05$ ), *Ddc*基因相对表达量低于洞庭鳖的( $P<0.05$ ), 二者*Gch1*基因相对表达量的差异不显著, 推测*Tyr*、*Tyrp1*、*Gpnmb*和*Ddc*基因表达对长永鳖背部花斑具有影响。5) 长永鳖线粒体*Cytb*和*COI*的单倍型多样性分别为 $0.817\pm 0.055$ 和 $0.906\pm 0.040$ , 核苷酸多样性分别为 $0.009\ 9\pm 0.001\ 9$ 和 $0.005\ 9\pm 0.002\ 1$ , 两者均处于较高水平, 说明遗传多样性较丰富。6) 基于线粒体*Cytb*、*COI*和*12S rRNA*序列构建的单倍型系统发育树显示, 长永鳖与乌鳖、洞庭鳖和黄沙鳖的亲缘关系较近, 节点支持率为96%以上。

**关键词:** 长永鳖; 形态; 养殖性能; 花斑; 遗传多样性

中图分类号: Q959.6<sup>3</sup>

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2025)01-0098-09

## Morphological, growth and genetic diversity of Changyong population of Chinese soft-shelled turtle(*Pelodiscus sinensis*)

LU Yukuang<sup>1</sup>, LIANG Yixin<sup>1</sup>, WAN Gang<sup>1</sup>, WANG Pei<sup>2</sup>, ZENG Jiawei<sup>1</sup>,  
WANG Xiaoqing<sup>1\*</sup>, HU Yazhou<sup>1</sup>, LI Xiaowen<sup>3</sup>

(1.College of Fisheries, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2.College of Biology and Environmental Science, Jishou University, Jishou, Hunan 416000, China; 3.Hengyang County Fish Fry Fish Farm, Hengyang, Hunan 421299, China)

**Abstract:** Morphological characteristics of Changyong population of Chinese soft-shelled turtle(*Pelodiscus sinensis*) (Changyong turtle) native to Changyong Village, Hengyang County, Hunan Province were investigated by measuring body weight, body length, body height, carapace length, carapace width, plastron length, plastron width and calipash width. Changyong turtle and Dongting turtle were cultured under the same circumstance to investigate breeding

收稿日期: 2024-03-27

修回日期: 2024-09-20

基金项目: 湖南省水产种业创新项目(202310000309)

作者简介: 陆雨旷(1999—), 男, 湖南岳阳人, 硕士研究生, 主要从事水产动物遗传育种研究, 1210671951@qq.com; \*通信作者, 王晓清, 博士, 教授, 主要从事水产动物遗传育种研究, wangxiao8258@126.com

performance of these turtles aged 11-15 months, Quantitative RT-PCR was used to investigate the difference between Changyong turtle and Dongting turtle in relative expression of melanin genes, and spots counts were recorded to analyze spot characteristics. Phylogenetic tree was constructed to analyze genetic relationship of Changyong turtles based on mitochondrial *Cytb*, *COI* and *12S rRNA* sequences. Genetic diversity of Changyong turtle was analyzed based on haploid diversity and nucleotide diversity. The results showed that 1) The length of the abdominal shell/back shell and the width of the abdominal shell/back shell of the Changyong turtle were  $0.97\pm 0.02$  and  $1.01\pm 0.03$ , respectively, which was significantly smaller than those of the Dongting turtle, indicating back shell of Changyong turtle was smaller compared to Dongting turtle. 2) The highest values of absolute weight gain rate and instantaneous weight gain rate of Changyong turtle were 1.01 and 2.39, respectively, which was higher than those of Dongting turtle; the survival rate of Changyong turtle is 76.03, which is higher than that of Dongting turtle. 3) Changyong turtle has block shaped flower spots on its back, and the number and area of flower spots increase with body size during a certain period of time. After 14 months of age, the number of flower spots tends to stabilize. 4) The qPCR results showed that the relative expression levels of *Tyr*, *Tyrp1*, and *Gpnmb* genes in Changyong turtle were significantly higher than those in Dongting turtle ( $P<0.05$ ), while the relative expression level of *Ddc* gene was significantly lower than that in Dongting turtle ( $P<0.05$ ). there was no significant difference in relative expression level of *Gchl* gene. 5) The haplotype diversity values of mitochondrial *Cytb* and *COI* in Changyong turtle are  $0.817\pm 0.055$  and  $0.906\pm 0.040$ , respectively, and the nucleotide diversity values are  $0.0099\pm 0.0019$  and  $0.0059\pm 0.0021$ , respectively; both values are at a high level, indicating rich genetic diversity. 6) The haplotype phylogenetic tree constructed based on mitochondrial *Cytb*, *COI*, and *12S rRNA* sequences showed that the genetic relationship between Changyong turtle and Black turtle, Dongting turtle, and Huangsha turtle was relatively close, with a node support rate of over 96%.

**Keywords:** Changyong population of Chinese soft-shelled turtle(*Pelodiscus sinensis*); morphological; culture performance; spots; genetic diversity analysis

中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)隶属爬行纲龟鳖目鳖科鳖属,是中国名特水产品种之一。由于地理条件的差异,中华鳖形成了具有明显形态特征的地理群体,如黄河鳖、淮河鳖、洞庭鳖等<sup>[1]</sup>;同一地理品系中华鳖又衍生出不同群体,如黄河鳖衍生出陕西黄河滩中华鳖<sup>[2]</sup>、吴王渡黄河鳖<sup>[3]</sup>等。中华鳖除地理品系外,还有近些年人工培育出的新品种,如“珠水一号”“浙新花鳖”“英明中华鳖”<sup>[4]</sup>等。万刚等<sup>[5]</sup>比较了九肋中华鳖与八肋鳖在形态上的差异并分析九肋鳖的遗传特性,九肋鳖背甲宽、裙边宽小于八肋鳖的,体高大于八肋鳖的,在亲缘关系上九肋鳖与中华鳖同源性达 99%以上。肖凤芳等<sup>[6]</sup>对黄河鳖、洞庭鳖和绿卡鳖等群体的生长性能进行研究,发现绿卡鳖的生长速度和饲料利用率都高于黄河鳖和洞庭鳖群体的。唐伟<sup>[7]</sup>分析了姚江水系中华鳖的亲缘关系,发现姚江水系中华鳖与清溪乌鳖亲缘关系较近。王佩<sup>[8]</sup>使用高通量测序技术筛选出了 60 个中华鳖皮肤体色候选基因,获得了 118、122 个 mRNA-miRNA 互作对,推测这些 miRNA 和候选基因对中华鳖体色形成具有重要作用。

长永鳖原产于湖南衡阳县长永村,其特点是背甲有不规则的花斑,形似“铜钱”,长永鳖的养殖在

当地已形成一定规模并有较好的经济效益,2020 年成功获批国家地理标志农产品。笔者使用主成分分析和单因素方差分析法,从长永鳖的形态特性、生长性能、花斑和遗传多样性方面出发,比较长永鳖和洞庭鳖的形态差异,通过相同条件养殖实验比较两者的生长和成活率等生产性能,基于王佩<sup>[8]</sup>的研究,选取了对中华鳖皮肤体色可能具有较高影响力的 *Tyrp1*、*Gchl*、*Ddc*、*Gpnmb*、*Tyr* 等 5 个基因 qPCR 检测基因相对表达量,并利用线粒体 *Cytb*、*COI* 和 *12S rRNA* 区域分析长永鳖遗传多样性,以期探究长永鳖种质特性,为开展长永鳖选育工作提供基础资料 and 理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

长永鳖幼鳖(292 只)和成鳖(30 只)由湖南衡阳鱼苗鱼种场提供;洞庭鳖幼鳖(452 只)和成鳖(30 只)以及黄河鳖、乌鳖、黄沙鳖和日本鳖各 30 只成鳖,由湖南金鳞农业科技发展有限公司养殖基地提供。幼鳖均为 2022 年 7 月份的出壳鳖,成鳖均为 2 龄成鳖。

## 1.2 方法

### 1.2.1 长永鳖的形态观察和生长指标的测量

从2023年6月初开始,每30 d随机抽取30只长永鳖和洞庭鳖幼鳖,测量它们的形态,记录11~15月龄各期的形态数据。选取长永鳖、洞庭鳖成鳖各30只,测量其形态数据,用于主成分分析。依照GB 21044—2007《中华鳖国家标准》,测量体长、体高、背甲长、背甲宽、腹甲长、腹甲宽、裙边宽。同时记录长永鳖背部花斑的形态和数量。

### 1.2.2 长永鳖黑色素相关基因的表达测定

选取成年洞庭鳖和长永鳖各3只,各取部分背甲和腹甲皮肤,放入组织保护液,4℃过夜后置于-80℃保存。依照RNA提取试剂盒(Omega Bio-Tek, R6934-02)说明书提取样品中的RNA。经浓度和质量检测后( $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}} > 2$ ),置于-80℃保存备用。按照试剂盒说明书(ReverAid First Strand cDNA Synthesis Kit, K1621)进行反转录,获得的cDNA经浓度和质量检测后( $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}} > 1.8$ ),使用ddH<sub>2</sub>O将部分cDNA质量浓度调整至50 ng/μL,于-80℃保存备用。选择5个黑色素形成相关基因

*Tyrp1*、*Gpnmb*、*Tyr*、*Gchl*和*Ddc*并以*Gapdh*和*β-Actin*作为内参基因,设计引物。引物序列见表1。

每个基因设置3个生物学重复和3个技术重复,进行qPCR扩增。qPCR体系为10 μL,使用SYBR染料5 μL,正反引物各0.4 μL,cDNA模板1 μL,然后补充ddH<sub>2</sub>O至10 μL。qPCR程序为95℃预变性30 s;95℃变性5 s,60℃退火40 s,39个循环;60℃退火5 s,95℃变性5 s。

### 1.2.3 线粒体基因扩增和测序

采集31只长永鳖成鳖的新鲜肌肉,于-80℃保存。采用湖南艾科瑞生物工程有限公司提供的通用型基因组DNA抽提试剂盒(AG21011)提取DNA,经质量与浓度检测后( $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}} > 1.8$ ),使用ddH<sub>2</sub>O将部分DNA样品质量浓度调整至50 ng/μL,于-80℃保存备用。根据GenBank数据库中中华鳖的线粒体基因组DNA信息,使用Primer Premeier 5.0软件设计引物以扩增长永鳖线粒体*Cytb*、*COI*以及*12S rRNA*基因序列。使用同样的方法扩增洞庭鳖、黄沙鳖、黄河鳖、乌鳖和日本鳖成鳖各3只的线粒体*Cytb*、*COI*以及*12S rRNA*基因序列。引物序列见表1。

表1 扩增序列的引物信息

Table1 Primers for gene sequence amplification

基因	上游引物序列(5'-3')	下游引物序列(5'-3')
<i>COI</i>	CTCCATACTCACTCCAATC	GGTATGGTCATGAAAGTGTA
<i>12S rRNA</i>	AAAGCATGGCACTGAAGACGC	TTTCAATTTCCCTTGCGGTAC
<i>Cytb</i>	AGCCATACATTACTCACC	GTGAAGGATGGAGGATGT
<i>Tyrp1</i>	TGTGCTACCGTTGATGCCTT	CGGCTACACATTGACCCCTT
<i>Gpnmb</i>	TAATCACAGAGAAGGAGGGCAG	TGTGTCTTGTGCCCCCAAT
<i>Tyr</i>	ACACCCCACTAACCCTCAGT	GGGAGTCTAGGTGTCTCTCGT
<i>Gchl</i>	TCCGGGAGGATCCAAAGACT	GCGACACAGGACAGTACGAT
<i>Ddc</i>	CCATCCTGCGGAATCCACTT	GCCGGTTTGGGTTTAGGGTA
<i>β-Actin</i>	GAGACCCGACAGACTACCT	AGGATGATGAAGCAGCAGT
<i>Gapdh</i>	TTCATGGCACTGTCAAGGCT	GGTTGACGCCCATCACAAAC

PCR体系为25 μL,使用2×*Taq* Plus Master Mix II 12.5 μL,正反引物各1 μL,DNA模板1 μL,补充ddH<sub>2</sub>O至25 μL。反应条件为94℃预变性5 min;94℃变性30 s,60℃退火30 s,72℃延伸45 s,34个循环;最后72℃延伸10 min,4℃保存。使用1%琼脂糖凝胶电泳验证PCR产物条带长度,将PCR产物送北京擎科(长沙)生物技术有限公司纯化,双向测序。

使用DNA Star软件对长永鳖线粒体DNA序列进行比对,并进行人工剪切、编辑和校对,保留有效片段以确保序列的准确性。使用Dnasp5.0软件对序列进行分析,统计序列的碱基组成并进行单倍型分析、多态位点分析和中性分析。此外,从NCBI上下载其他鳖属相关序列,使用MEGA7.0软件上的邻接法构建单倍型进化树。

### 1.3 数据分析

为消除长永鳖的个体大小对各性状参数的影响，将数据转化为比例性状，即以体长为基数获得体长/背甲长、体高/背甲长、背甲宽/背甲长、腹甲长/背甲长、腹甲宽/背甲长、裙边宽/背甲长等 6 项比例参数<sup>[9]</sup>，用于主成分分析。

参考文献[10]的方法，计算月增重率、绝对增重率、日瞬时增重率和成活率。

运用 SPSS 软件对长永鳖 6 项比例数据进行主成分分析，比例参数和体质量使用单因素方差分析 (One-way ANOVA)；qPCR 结果采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算。

## 2 结果与分析

### 2.1 长永鳖的形态特性

#### 2.1.1 长永鳖形态的主成分分析

长永鳖形态数据主成分分析结果显示，KMO(KaiserMeyer-Olkin)值为 0.752，巴特利特检验结果小于 0.01，表示该数据适合使用主成分分析法。在主成分分析中共获得 2 个主成分(表 2)，2 个主成分的贡献率分别为 46.088%和 17.944%，累计贡献率达 64.032%。主成分 1 的主要指标为体高/背甲长、背甲宽/背甲长、腹甲长/背甲长、腹甲宽/背甲长，主要反映了长永鳖在体形的长度、宽度和

高度的特性，主成分 2 的主要指标为裙边宽/背甲长，主要反映了长永鳖裙边宽的形态变化。体长/背甲长在 2 个主成分中均有一定占比，主要反映了体长的变化。

表 2 长永鳖形态特征因子负荷

Table 2 Morphological characteristic factor loading matrix of Changyong turtle

形态比例参数	负荷值	
	主成分 1	主成分 2
体长/背甲长	0.478	0.447
体高/背甲长	0.658	-0.458
背甲宽/背甲长	0.817	0.166
腹甲长/背甲长	0.724	-0.405
腹甲宽/背甲长	0.797	-0.138
裙边宽/背甲长	0.524	0.676

#### 2.1.2 长永鳖和洞庭鳖形态的单因素方差分析

对长永鳖和洞庭鳖 6 项形态比例数据与体质量的单因素方差分析结果显示：体长/背甲长、体高/背甲长、背甲宽/背甲长和裙边宽/背甲长差异不显著( $P>0.05$ )，长永鳖的腹甲长/背甲长显著小于洞庭鳖( $P<0.05$ )的，长永鳖的腹甲宽/背甲长小于洞庭鳖的且差异极显著( $P<0.01$ )。说明在背甲长相同时，长永鳖腹甲整体上小于洞庭鳖的(表 3)。

表 3 长永鳖各性状参数比值

Table 3 The ratios of various trait parameters for Changyong turtle

材料	体长/背甲长	体高/背甲长	背甲宽/背甲长	腹甲长/背甲长	腹甲宽/背甲长	裙边宽/背甲长	体质量/g
长永鳖	1.22±0.03	0.40±0.02	0.88±0.04	(0.97±0.02)*	(1.01±0.03)**	0.16±0.02	535.80±129.07
洞庭鳖	1.23±0.08	0.41±0.04	0.88±0.04	(0.99±0.04)*	(1.09±0.06)**	0.16±0.02	533.97±125.48

\*表示差异显著( $P<0.05$ )，\*\*表示差异极显著( $P<0.01$ )。

### 2.2 长永鳖的生长性能

长永鳖的平均体质量、绝对增重率、日瞬时增重率和成活率、月增重率列于表 4。11~13 月龄长

永鳖的生长速率大于洞庭鳖的，随后两者生长速率都降低，逐渐趋于一致；此外，长永鳖的成活率高于洞庭鳖的。

表 4 长永鳖的平均体质量、绝对增重率、瞬时增重率和成活率

Table 4 Average weight, absolute weight gain rate, instantaneous weight gain rate and survival rate of Changyong turtle

材料	月龄	平均体质量/g	月增重率/%	绝对增重率/(g·d <sup>-1</sup> )	日瞬时增重率/%	成活率/%
长永鳖	11	18.85±6.16				76.03
	12	30.55±9.70	62.07	0.37	1.51	
	13	56.93±23.24	86.35	1.01	2.39	
	14	76.16±27.76	33.78	0.64	0.97	
	15	87.52±32.69	14.92	0.28	0.34	

表 4(续)

材料	月龄	平均体质量/g	月增重率/%	绝对增重率/(g·d <sup>-1</sup> )	日瞬时增重率/%	成活率/%
洞庭鳖	11	24.46±7.58				67.48
	12	37.36±15.99	52.74	0.41	1.37	
	13	57.27±22.96	53.29	0.51	1.10	
	14	73.25±23.49	27.90	0.80	1.23	
	15	81.63±24.61	11.07	0.29	0.37	

13 月龄前,长永鳖与洞庭鳖一样,月增重率呈上升的趋势,13 月龄后月增重率下降,至 15 月龄时降至最低。长永鳖的月增重率均高于洞庭鳖的,在 13 月龄时差距最大。

### 2.3 长永鳖背部花斑

#### 2.3.1 长永鳖背部花斑特性

长永鳖背部为墨绿色,如图 1 所示,洞庭具有

不规则的块状黑色花斑。由图 2 可知,长永鳖花斑面积随体形增大而增大。从 11 月龄至 15 月龄长永鳖背部花斑数量分别为 17.9±7.33、20.73±4.94、23.47±6.45、27.83±5.13、26.53±5.76 个,可见长永鳖背部花斑数量也随体形增大而增多,但在 14 月龄后趋于稳定。



左为洞庭鳖,右为长永鳖,红色圆圈示黑色花斑。

图 1 长永鳖与洞庭鳖的背部花斑

Fig.1 Spots on the back of Changyong turtle and Dongting turtle



(a) 稚鳖; (b) 幼鳖; (c) 成鳖。

图 2 不同时期长永鳖的背部花斑面积

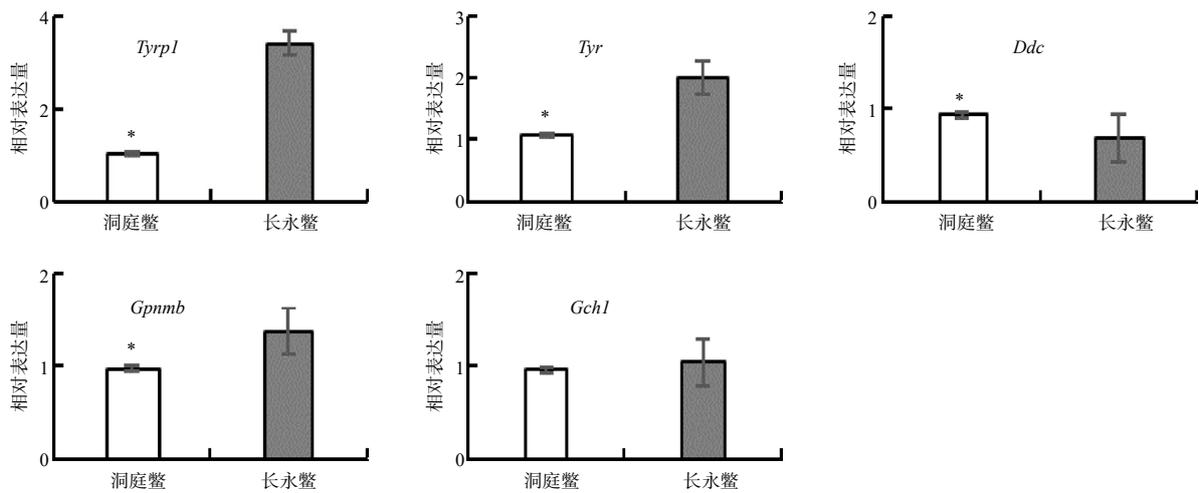
Fig.2 Spots on the back of Changyong turtle at different growth stages

#### 2.3.2 长永鳖黑色素相关基因的相对表达量

从长永鳖和洞庭鳖背部皮肤中提取 RNA,选取 5 个黑色素相关基因 *Tyrl*、*Gchl*、*Ddc*、*Gpnmb*

和 *Tyr* 进行 qPCR 分析,结果如图 3 所示,可见除 *Gchl* 基因无显著差异外,其他 4 个基因的相对表达量均存在显著差异,其中长永鳖 *Tyrl*、*Tyr*、*Gpnmb*

基因的相对表达量显著高于洞庭鳖的( $P<0.05$ ), 而 *Ddc* 基因的相对表达量则相反( $P<0.05$ )。



\*示长永鳖与洞庭鳖之间的差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

图 3 长永鳖体色相关基因的相对表达量

Fig.3 Quantitative RT-PCR detection of body color related genes

## 2.4 长永鳖线粒体 *Cytb*、*COI* 和 *12S rRNA* 序列的比对和进化树

### 2.4.1 线粒体 *Cytb*、*COI* 和 *12S rRNA* 基因序列分析

通过 PCR 扩增和对序列的比对、剪切, 获得了长永鳖线粒体 *Cytb*、*COI* 和 *12S rRNA* 基因的部分序列, 长度分别为 776 bp、1 992 bp 和 1 086 bp, A、T、C、G 这 4 种碱基占比如表 5 所示。*Cytb* 基因

表 5 长永鳖 *Cytb*、*COI* 和 *12S rRNA* 基因的碱基组成

线粒体基因	A 占比/%	T 占比/%	G 占比/%	C 占比/%
<i>Cytb</i>	31.3	28.0	29.1	11.6
<i>COI</i>	30.5	30.4	23.3	15.8
<i>12S rRNA</i>	37.9	21.7	24.6	15.8

A+T 总量高于 C+G 总量, *COI* 基因 A+T 总量高于 C+G 总量, *12S rRNA* 基因 A+T 总量高于 C+G 总量。

### 2.4.2 线粒体 *Cytb*、*COI* 和 *12S rRNA* 的遗传多样性

对长永鳖线粒体的 *Cytb*、*COI* 和 *12S rRNA* 序列的单倍型分析、多态位点分析和中性分析的结果见表 6。3 个基因均无碱基的颠换、插入与缺失。*COI* 的单倍型数、单倍型多样性和平均核苷酸差异数均高于 *Cytb* 和 *12S rRNA* 的, 而 *Cytb* 的核苷酸多样性最高, 可见 *COI* 在 3 种序列中遗传多样性和分化程度较高, 而 *12S rRNA* 最为保守。

表 6 基于 *Cytb*、*COI*、*12S rRNA* 基因片段的长永鳖的遗传多样性参数

基因	样本数	多态位点	单倍型数	单倍型多样性	核苷酸多样性	平均核苷酸差异数	Tajima's D
<i>Cytb</i>	31	26	10	0.817±0.055	0.009 9±0.001 9	7.701	0.496 8
<i>COI</i>	31	58	15	0.906±0.040	0.005 9±0.002 1	11.786	-0.879 4
<i>12S rRNA</i>	31	23	8	0.454±0.111	0.003 1±0.001 3	3.342	-1.473 2

### 2.4.3 基于线粒体基因的进化树

将长永鳖 *Cytb*、*COI* 和 *12S rRNA* 序列与 NCBI 上鳖科动物相关序列以及日本鳖、黄沙鳖、洞庭鳖、乌鳖和黄河鳖等 5 个群体的不同单倍型序列进行对比, 构建 NJ 进化树, 其中 *Cytb* 序列以鼋(*Pelochelys cantorii*)、斑鳖(*Rafetus swinhoei*)、山瑞鳖(*Palea steindachneri*)、非洲鳖(*Trionyx triunguis*)和砂鳖

(*Trionyx axenaria*)为外群, *COI* 序列以鼋和砂鳖为外群, *12S rRNA* 序列以山瑞鳖、斑鳖和鼋为外群。结果见图 4。

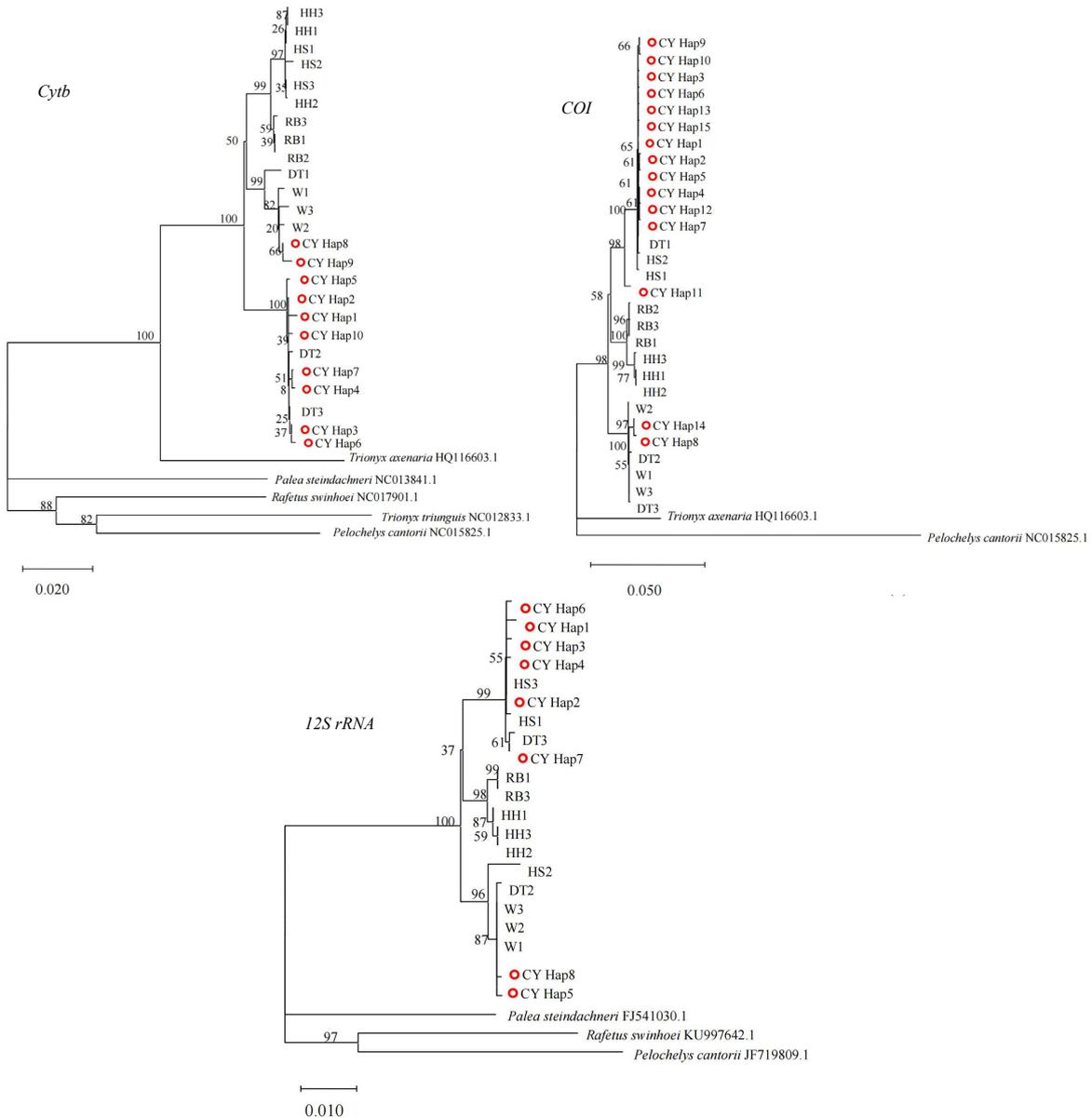
基于 *Cytb* 序列构建的单倍型进化树分为 15 个支系, 其中, 长永鳖 Hap8 和 Hap9 与洞庭鳖和乌鳖聚为一支, 长永鳖其他单倍型也与洞庭鳖聚为一支, 节点支持率为 100%; 此外, 砂鳖单独为一支,

并与中华鳖其他品系聚为一个大支，节点支持率为 100%，说明长永鳖与洞庭鳖和乌鳖的亲缘关系较近，砂鳖与中华鳖也具有较近的亲缘关系。

基于COI序列构建的进化树分为12个支系，其中长永鳖Hap1~Hap7、Hap9~Hap10、Hap12~ Hap13、Hap15和洞庭鳖以及黄沙鳖聚为一支，节点支持率为100%；此外，这一支与Hap11又聚为一大支，节点支持率为98%，长永鳖Hap8、Hap14与乌鳖和洞庭鳖聚为一支，节点支持率为100%，且这一支与乌

鳖又聚为一大支，节点支持率为97%。

基于 12S rRNA 构建的进化树分为 10 个支系，其中长永鳖 Hap1~Hap 4、Hap6~Hap 7 与黄沙鳖、洞庭鳖聚为一支，节点支持率 99%，此外长永鳖 Hap5、Hap8 与洞庭鳖、乌鳖和黄沙鳖聚为一支，节点支持率为 96%。基于 COI 和 12S rRNA 构建的进化树结果比较相似，表现为长永鳖和乌鳖、洞庭鳖以及黄沙鳖亲缘关系较近。



RB、HH、HS、W、DT、CY 分别表示日本鳖、黄河鳖、黄沙鳖、乌鳖、洞庭鳖和长永鳖。

图 4 基于邻接法构建的长永鳖线粒体基因序列与鳖科各物种同源序列的系统发育树

Fig.4 Phylogenetic tree constructed using mitochondrial gene sequences and homologous sequences of various species of turtle family based on NJ method

### 3 讨论

长永鳖形态主成分分析共获得 2 个主成分, 主成分 1 主要体现了形态的长度、宽度和高度, 主成分 2 主要体现裙边因子。在梁宏伟等<sup>[11]</sup>对淮河、黄河和日本群体的中华鳖形态的主成分分析中, 第一主成分为背甲宽和腹甲宽, 第二主成分为体高, 第三主成分为裙边因子; 在阙江龙等<sup>[12]</sup>对中华鳖鄱阳湖品系和黄沙品系以及其杂交群体的主成分分析结果中, 第一主成分为腹甲长和腹甲宽, 第二主成分为裙边因子; 本研究结果与两者有相似之处, 虽然第一主成分的形态因子不同, 但都体现了体型的增长, 说明在中华鳖生长中体型的增长是主要的, 其次是裙边因子, 中华鳖裙边宽度也会随着体型的增加而增加。另外本研究结果与两者研究略有不同, 说明不同的中华鳖群体在形态上具有一定差异, 这可能是受生长环境影响。在单因素方差分析中, 长永鳖和洞庭鳖的差异主要体现在腹甲的长度和宽度, 当二者背甲长等长时, 长永鳖的腹甲长和宽均低于洞庭鳖的, 说明长永鳖的腹甲小于洞庭鳖的。因此, 在长永鳖的选育中, 应注重选择腹甲长、宽性状以及裙边性状。

陈献稿等<sup>[13]</sup>对日本、黄河和浙江本地花鳖的养殖性能进行了对比, 结果表明, 日本鳖无论是生长速度还是饲料系数都具有优势, 且雄性鳖养殖性能优于雌性鳖的。张志允等<sup>[14]</sup>在对黄河群体选育的 F<sub>1</sub>-F<sub>3</sub> 代的养殖性能研究中发现, 无论是苗种还是成鳖, F<sub>3</sub> 代的生长速度、日均产量、变异系数和裙边比均有较大优势, 反映了黄河群体养殖性能的逐代提高。蔡完其等<sup>[15]</sup>对 7 个中华鳖地理群体养殖性能进行了研究, 结果表明, 黄河群体和淮河群体的生长速率和日均产量具有一定优势, 洞庭湖和鄱阳湖品系居中, 属于较佳鳖种, 而太湖、崇明和台湾群体养殖性能较低。长永鳖的瞬时增重率、绝对增重率和月增重率在 11~13 月龄时(6—8 月)气温较高, 中华鳖生长较快, 长永鳖绝对增重率和瞬时增重率高于洞庭鳖的, 在 14~15 月龄时(9—10 月), 气温降低, 中华鳖生长速度减缓, 此时长永鳖绝对增重率和瞬时增重率低于洞庭鳖的, 而长永鳖月增重率在不同时期均高于洞庭鳖的; 此外, 长永鳖的成活率也高于洞庭鳖的, 说明长永鳖的养殖性能比洞庭鳖更有优势。气温对长永鳖的生长性能具有较大

的影响, 说明养殖长永鳖需要注意调控温度, 温室养殖可能提高其生长性能。

在长永鳖的养殖过程中, 稻田养殖的体色为土黄色, 而池塘养殖的体色为黄绿色, 说明养殖环境对中华鳖的体色具有一定的影响, 而花斑性状可能受基因影响。对比长永鳖稚鳖、幼鳖和成鳖花斑发现, 每个花斑的面积随着体形的增大而增大; 11—15 月龄的花斑数量结果显示, 随着长永鳖体型的增加, 花斑的数量也随之增加, 在 14 月龄后花斑数量不再增加, 结合养殖性能研究结果可发现在 14 月龄时, 气温较低且生长减缓, 推测是由于生长的减缓使体型增长缓慢从而导致花斑数量不再增加。

本研究发现, 长永鳖的 *Tyr*、*Tyrp1* 和 *Gpnmb* 基因相对表达量均显著高于洞庭鳖的, 推测长永鳖背部皮肤可能受 *Tyr* 和 *Tyrp1* 基因表达上调影响, 促进了黑色素和真黑素的合成, 且 *Gpnmb* 的上调表达可能与长永鳖花斑的形成有关。在王佩<sup>[8]</sup>的研究中, 乌鳖 *Ddc* 相对表达量显著高于洞庭鳖的, 说明 *Ddc* 的表达上调会增加中华鳖皮肤黑色素含量。本研究中发现洞庭鳖 *Ddc* 基因相对表达量显著高于长永鳖的( $P < 0.05$ ), 说明 *Ddc* 基因参与了中华鳖皮肤黑色素合成, 也可能与长永鳖花斑形成有关。在本研究发现, 长永鳖和洞庭鳖的 *Gchl* 基因相对表达量无显著差异( $P > 0.05$ ), 说明 *Gchl* 基因可能与长永鳖花斑形成无关。李思发等<sup>[16]</sup>对中华鳖七个群体的腹部黑斑研究中发现中华鳖腹部黑斑的出现频率从黄河、淮河到长江, 从长江中游到台湾有增多的趋势, 说明环境可能影响了中华鳖腹部黑斑的形成。

综上所述, *TYR*、*Tyrp1* 和 *Gpnmb* 基因的表达上调可能是长永鳖花斑形成的原因之一; *Ddc* 会影响中华鳖皮肤黑色素含量, 也可能会影响花斑的形成; *Gchl* 基因可能与长永鳖花斑形成无关。长永鳖花斑形成可能是由基因、环境以及多方因素共同决定。

张卉琴等<sup>[17]</sup>克隆了汉寿中华鳖 *Cytb* 并检测了其表达模式, 发现汉寿中华鳖与砂鳖的亲缘关系较近, 且 *Cytb* 在不同组织的不同发育时期均有表达, 在精巢中表达量最高。韩晓磊等<sup>[28]</sup>对太湖流域不同群体中华鳖的线粒体 *16S rRNA*、*12S rRNA*、*Cytb* 和 *D-Loop* 区的遗传距离进行了研究, 发现太湖花鳖和太湖鳖群体没有出现种间差异但已出现遗传分化。在本研究中, 利用线粒体分析长永鳖遗传多

样性,长永鳖线粒体 *Cytb* 和 *COI* 的分别为 0.817 和 0.906,单倍型多样性核苷酸多样性分别为 0.009 9 和 0.005 9,以 0.5 和 0.005 作为临界值,二者数值越大则遗传多样性越高<sup>[19]</sup>,长永鳖 *Cytb* 和 *COI* 均超出临界值,而 *12S rRNA* 低于临界值,说明长永鳖 *Cytb* 和 *COI* 的遗传多样性较高,而 *12S rRNA* 基因较为保守。整体上长永鳖群体具有较高的遗传多样性,具有较佳的选育潜力。基于线粒体基因组构建的单倍型进化树显示,长永鳖与乌鳖、洞庭鳖和黄沙鳖的亲缘关系较近,但未找到群体特异性标记。长永鳖与其他群体是否具有种间差异和遗传分化,还需要后续对长永鳖和其他群体的遗传距离进行更加深入的研究。此外,长永鳖的单倍型分化不显著,说明长永鳖群体间存在一定的基因交流,没有形成明显的遗传分化。在长永鳖的选育过程中可适当选用遗传距离较远的亲鳖,防止近交造成种质资源退化、遗传多样性降低,但同时也需要保证优良性状的稳定遗传。

#### 参考文献:

- [1] 刘阳,赵建,朱新平,等. 中华鳖 5 个不同群体的形态差异分析[J]. 大连海洋大学学报, 2013, 28(2): 174-178.
- [2] 孔飞. 陕西黄河滩中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)生态学研究[D]. 海口:海南师范大学, 2020.
- [3] 胡伟. 吴王渡黄河鳖种群遗传多样性分析[D]. 太原:山西大学, 2021.
- [4] 范厚勇. 英明中华鳖的选育及其养殖性能研究[D]. 南昌:南昌大学, 2013.
- [5] 万刚,曾嘉伟,肖何威,等. 九肋鳖形态及遗传特性分析[J]. 水生生物学报, 2023, 47(9): 1534-1544.
- [6] 肖凤芳,李伟,洪孝友,等. 中华鳖 3 个选育群体的生长对比[J]. 广东农业科学, 2014, 41(15): 107-110.
- [7] 唐伟. 姚江水系中华鳖种质特征研究[D]. 上海:上海海洋大学, 2015.
- [8] 王佩. 中华鳖体色相关基因和 miRNA 的筛选、验证及外源色素的影响研究[D]. 长沙:湖南农业大学, 2021.
- [9] 王芬,宋光同,陈祝,等. 四种品系中华鳖的形态差异和通径分析[J]. 中国农学通报, 2023, 39(20): 147-154.
- [10] 肖凤芳. 中华鳖不同群体生长对比及形态性状对体质量的影响[D]. 南京:南京农业大学, 2014.
- [11] 梁宏伟,曹力欢,李翔,等. 三个不同品系中华鳖形态差异分析[J]. 淡水渔业, 2017, 47(4): 91-96.
- [12] 阙江龙,付辉云,张燕萍,等. 中华鳖鄱阳湖品系和黄沙品系及其杂交后代的主成分分析和判别分析[J]. 安徽农业科学, 2022, 50(8): 77-80.
- [13] 陈献稿,林修喜. 中华鳖三群体幼鳖阶段养殖性能的比较[J]. 浙江农业科学, 2013, 54(2): 211-213.
- [14] 张志允,李思发,蔡完其,等. 中华鳖黄河群体选育 F1-3 世代生长性能比较试验[J]. 水产科技情报, 2011, 38(2): 55-58.
- [15] 蔡完其,李思发,刘至治,等. 中华鳖七群体稚鳖—成鳖阶段养殖性能评估[J]. 水产学报, 2002, 26(5): 433-439.
- [16] 李思发,蔡完其,刘至治,等. 中华鳖七群体体形和腹部黑斑图案的差异比较[J]. 水产学报, 2004, 28(1): 15-22.
- [17] 张卉琴,陈志男,李戈锐,等. 汉寿中华鳖线粒体细胞色素 b 基因克隆及其遗传多样性分析[J]. 激光生物学报, 2018, 27(4): 359-366.
- [18] 韩晓磊,顾益,徐棉棉,等. 太湖流域中华鳖不同群体线粒体基因序列比较分析[J]. 常熟理工学院学报, 2017, 31(4): 91-94.
- [19] GRANT W A S, BOWEN B W. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation[J]. Journal of Heredity, 1998, 89(5): 415-426.

责任编辑:罗慧敏

英文编辑:罗维