

4 个不同地理群体中华鳖 *pomc* 基因 PCR-RFLP 分析

张 林^{1,2} 吴 涛³ 何 力²

1. 华中农业大学水产学院, 武汉 430070;

2. 中国水产科学研究院长江水产研究所/农业部淡水鱼类种质监督检验测试中心, 武汉 430223;

3. 武汉轻工大学动物科学与营养工程学院, 武汉 430023

摘要 为探讨不同地理群中华鳖的 *pomc* 基因的多态性, 建立区分中华鳖不同地理群的分子遗传标记, 采用 PCR-RFLP 的方法扩增得到 4 个不同地理群(太湖鳖群体、沙鳖群体、台湾鳖群体和黄河鳖群体)中华鳖的 *pomc* 基因, 比较 4 个地理群中华鳖的 *pomc* 基因的同源性, 构建遗传进化树, 对其亲缘关系进行分析, 并用 *Acc* II、*Bsc*BI、*Asu* I 和 *Tsc* I 4 种限制性内切酶对 *pomc* 基因进行酶切分析。结果显示: 4 个不同地理群的中华鳖均能扩增出 786 bp 的 *pomc* 基因。亲缘关系分析表明: 在遗传上台湾鳖和沙鳖亲缘关系较近, 而太湖鳖与黄河鳖亲缘关系较近。用酶切分析 *pomc* 基因扩增产物, 结果表明: 用 *Acc* II 内切酶对 4 种中华鳖 *pomc* 基因进行酶切, 其中沙鳖切出 303 bp 和 483 bp 2 个条带, 而其他 3 个种属的中华鳖只有 1 个 786 bp 的条带。用 *Bsc*BI 酶对 4 种中华鳖 *pomc* 基因进行酶切, 其中台湾鳖和沙鳖切出 351 bp 和 435 bp 2 个条带, 而其他 2 个种属的中华鳖只有 1 个 786 bp 的条带。用 *Asu* I 酶对 4 种中华鳖 *pomc* 基因进行酶切, 其中台湾鳖和黄河鳖切出 349 bp 和 437 bp 2 个条带, 而其他 2 个种属的中华鳖只有 1 个 786 bp 的条带。用 *Tsc* I 酶对中华鳖 *pomc* 基因进行酶切, 其中黄河鳖和太湖鳖切出 349 bp 和 437 bp 2 个条带, 而其他 2 个种属的中华鳖只有 1 个 786 bp 的条带。这 4 个限制性内切酶的联合使用分析, 可使这 4 个地理群的中华鳖在分子水平都得到明确的鉴定。从这 4 个地理群的中华鳖 *pomc* 基因核苷酸序列的显著差异和酶切位点的变化, 进一步证明 *pomc* 基因可以作为区分这 4 个不同地理群中华鳖的分子遗传标记。

关键词 中华鳖; *pomc* 基因; 单核苷酸多态性; PCR-RFLP

中图分类号 S 966.5 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2013)05-0106-06

阿片黑素促皮质素原(POMC)是动物脑和垂体中多种活性肽类的共同前体, 在动物体内通过 *pomc* 基因在不同的组织细胞中选择性地表达和加工而产生如 ACTH、MSH、 β -内啡肽等不同的活性肽, 如在垂体中叶的促黑素细胞中 POMC 被加工为 α -MSH、 β -LPH 和 β -内啡肽等, 在垂体前叶 ACTH 细胞中, POMC 被加工为 ACTH 和 β -促脂素。这些活性肽物质在动物的应激、摄食和能量代谢等调节中起着至关重要的作用, 并且该基因在不同动物体内的特异性表达及加工后的产物对动物的生产性能也有着显著的影响, 如人的 *pomc* 基因定位于人的 2 号染色体中, 编码 267 个氨基酸, 该基因紧靠营养物质进食量的数量性状位点^[1]、肥胖数量性状位点^[2-3]和血清瘦素水平数量性状位点^[4-5]等基因位点

附近, 调控着人的进食量, 导致肥胖发生, 因此人的 *pomc* 基因已用于一些肥胖病的遗传检测; 动物中关于 POMC 的功能也有报道, 如牛的 *pomc* 基因位于一个与平均日增重和屠体质量相关的 QTL^[6] 附近, 对牛的生长性能起着至关重要的作用。中华鳖的 *pomc* 基因 mRNA 全序列早在 2003 年台湾学者 Shen 等^[7] 首次进行了报道, 发现该基因除了在脑和垂体表达外, 还在其他很多的外周组织有表达, 但不同中华鳖的 *pomc* 基因是否存在多样性, 该基因是否也与中华鳖生长性状相关有待进一步的研究。笔者在前期工作^[8] 的基础上, 对不同地理群中华鳖的 *pomc* 基因的多态性位点进行了 PCR-RFLP 分析, 以为开发中华鳖不同地理群鉴别的分子遗传标记奠定基础。

收稿日期: 2013-01-02

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(2011JBFA19)

张 林, 助理研究员, 研究方向: 淡水鱼类种质资源检测. E-mail: zhanglhg@163.com

通讯作者: 何 力, 研究员, 研究方向: 淡水鱼类种质资源与遗传育种. E-mail: heli28@sohu.com

1 材料与方法

1.1 主要试剂及器材

血液样本 RNA 提取纯化试剂盒, cDNA 合成试剂盒, 凝胶回收试剂盒, 核酸染料 Green View, 琼脂糖以及 *Acc* II、*Asu* I、*Bsc* B I 和 *Tsc* I 等限制性内切酶均购自 TaKaRa 公司。PBS 缓冲液, TE 缓冲液自行配制。

主要器材包括 Qiagen RNA 提取纯化仪、PCR 仪 (IO-RAD Laboratories)、紫外凝胶成像系统 (BIO-RAD Laboratories)、凝胶电泳系统等。

1.2 试验鳖及处理

试验所用的不同地理群的中华鳖幼鳖, 分别采集于安徽(太湖鳖群体)、湖南(沙鳖群体)、福建(台湾鳖群体)和山东(黄河鳖群体)^[8]。

每个群体取中华鳖幼鳖 10 只, 共 40 只, 带回实验室后每只鳖采取抗凝血 3~5 mL 用于 RNA 的提取。

1.3 *pomc* 基因的扩增

RNA 的提取、cDNA 的合成以及 *pomc* 基因的 PCR 扩增, 严格按照试剂盒操作进行, 具体方法参考作者前期试验^[8]。

1.4 *pomc* 基因的序列测定及分析

将经过凝胶电泳分析正确的 PCR 产物进行纯

化回收, 并将纯化回收产物送往北京奥科生物科技有限公司进行基因序列测定, 利用 Jellyfish 软件分析 4 个地理群的中华鳖 *pomc* 基因的同源性。并利用 MEGA 3.1 软件对 4 个地理群的中华鳖及相关群体构建分子进化树, 分析其亲缘关系。

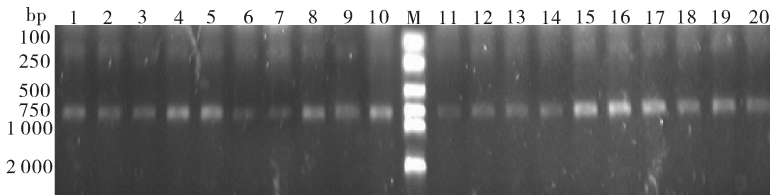
1.5 PCR-RFLP 分析

用 Mega2.1 分析软件比较所测得的不同中华鳖 *pomc* 基因序列, 找出基因发生变异的位点。根据变异的序列位点寻找合适的核酸内切酶, 并以此内切酶对所扩增的 4 个不同群体中华鳖的 *pomc* 基因 PCR 产物进行酶切, 并对酶切产物经凝胶电泳分析, 比较 4 个群体中华鳖 *pomc* 基因的多态性。经过分析本研究选用的是 *Acc* II、*Asu* I、*Bsc* B I 和 *Tsc* I 4 种限制性内切酶。酶解反应体系总体积 20 μ L, 酶切反应按照试剂盒说明书操作进行。酶切产物经 2.0% 琼脂糖凝胶上电泳分离, 然后用凝胶成像分析系统进行观察、分析。

2 结果与分析

2.1 不同中华鳖 *pomc* 基因的 PCR 扩增

以 4 个不同群体中华鳖血液 RNA 为模板, 经 RT-PCR 扩增, 均得到大小为 760 bp 左右的目的条带, 与预期的结果相符, 标明所得到的基因片段为中华鳖的 *pomc* 基因的编码核苷酸序列 (图 1)。



1-5: 黄河鳖群体 Huanghe River population; 6-10: 太湖鳖群体 Taihu Lake population; 11-15: 沙鳖群体 *Pelodiscus axenaria* population; 16-20: 台湾鳖群体 Taiwan-introduced population; M: DL 2 000 marker.

图 1 不同地理群中华鳖 *pomc* 基因编码核苷酸序列的 PCR 扩增

Fig. 1 PCR amplification of *pomc* gene from different group *Pelodiscus sinensis*

2.2 不同品种中华鳖 *pomc* 基因的序列测定及分析

经测序 4 个不同地理群中华鳖 *pomc* 基因的扩增序列长度相同, 均为 786 bp。统计结果显示沙鳖群体、台湾鳖群体、太湖鳖群体和黄河鳖群体的 A、G、T、C 含量相似, 分别为 208 个 (26.46%)、233 个 (29.64%)、127 个 (16.46%)、218 个 (27.74%); 210 个 (26.72%)、234 个 (29.77%)、124 个 (15.78%)、218 个 (27.74%); 208 个 (26.46%)、234 个 (29.77%)、126 个 (16.03%)、218 个 (27.74%); 208 个 (26.46%)、236

个 (30.03%)、126 个 (16.03%)、216 个 (27.48%)。用 Jellyfish 软件分析对同源性分析结果表明: *pomc* 基因序列在 4 个群体的中华鳖中高度保守, 仅有 15 个核苷酸位点存在差异。

2.3 4 个不同地理群中华鳖亲缘关系分析

利用 MEGA 3.1 软件对 4 个地理群的中华鳖及相关群体构建分子进化树 (图 2)。结果显示: 中华鳖 4 个地理群之间遗传距离比较近, 其中沙鳖和台湾鳖 2 个群体之间的相对遗传距离最近、这 2 个地理群与太湖鳖群体之间的相对遗传距离比较近,

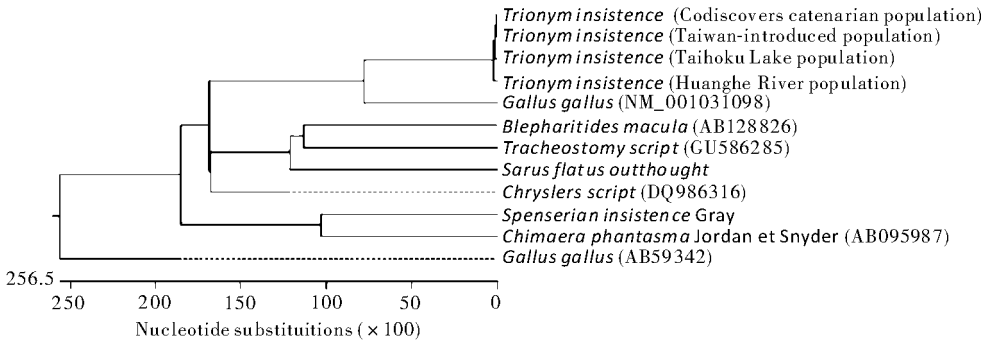


图 2 4 个地理群的中华鳖及相关群体的分子进化树

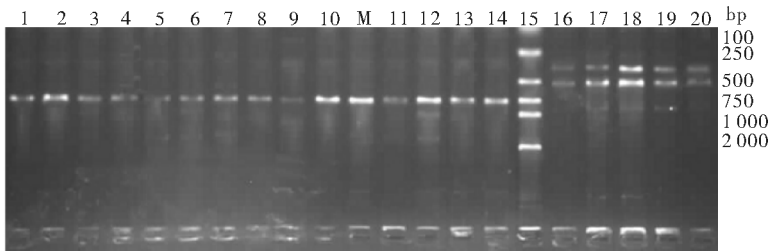
Fig. 2 Phylogenetic trees of different population of *Pelodiscus sinensis*

而与黄河鳖群体相对遗传距离比较远。但是 4 个地理群的中华鳖与斑马鱼、龟类等水产动物的遗传距离都比较远。

2.4 PCR-RFLP 检测

用 Jellyfish 软件对 4 个群体中华鳖的 pomc 基因的核苷酸序列比对分析,以及限制性内切酶位点的预测,结果表明在测定的 786 bp 的片段中:沙鳖在 303 bp 处有 1 个 Acc II 限制性酶切识别位点,而台湾鳖、黄河鳖和太湖鳖在此位点没有该酶识别位点。用 Acc II 酶对 4 个地理群中华鳖 pomc 基因进行酶切,其中沙鳖切出 303 bp 和 483 bp 2 个条带,

而其他 3 个种属的中华鳖只有 1 个 786 bp 的条带,结果与理论相符(图 3);台湾鳖和沙鳖在 351 bp 处有 1 个 BscB I 限制性内切酶识别位点,而黄河鳖和太湖鳖在此处没有该酶识别位点。用 BscB I 酶对 4 个地理群中华鳖 pomc 基因进行酶切,其中台湾鳖和沙鳖切出 351 bp 和 435 bp 2 个条带,而其他 2 个种属的中华鳖只有 1 个 786 bp 的条带。结果与理论相符(图 4);台湾鳖和黄河鳖在 349 bp 处有 1 个 Asu I 限制性内切酶识别位点,而沙鳖和太湖鳖在此处为 Tsc I 限制性内切酶识别位点。用 Asu I 酶对 4 个群体中华鳖 pomc 基因进行酶切,其中台



1-5:台湾鳖群体 Taiwan-introduced population; 6-10:黄河鳖群体 Huanghe River population; 11-15:太湖鳖群体 Taihu Lake population; 16-20:沙鳖群体 *Pelodiscus axenaria* population; M:DL 2 000 marker.

图 3 pomc 基因的 Acc II 酶切图

Fig. 3 Restriction map of pomc gene digested by Acc II



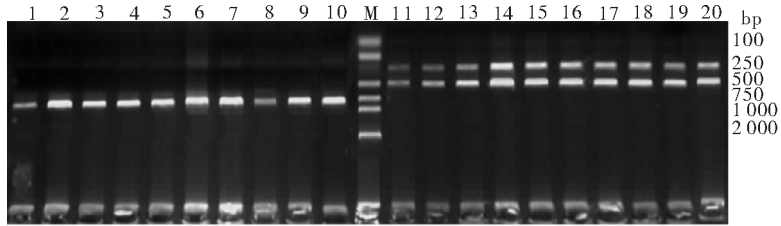
1-5:太湖鳖群体 Taihu Lake population; 6-10:黄河鳖群体 Huanghe River population; 11-15:台湾鳖群体 Taiwan-introduced population; 16-20:沙鳖群体 *Pelodiscus axenaria* population; M:DL 2 000 marker.

图 4 pomc 基因的 BscB I 酶切图

Fig. 4 Restriction map of pomc gene digested by BscB I

湾鳖和黄河鳖切出 349 bp 和 437 bp 2 个条带, 而其他 2 个种属的中华鳖只有 1 个 786 bp 的条带。结果与理论相符(图 5); 用 *Tsc* I 酶对 4 个群体中华鳖 *pomc* 基因进行酶切, 其中黄河鳖和太湖鳖切出 349

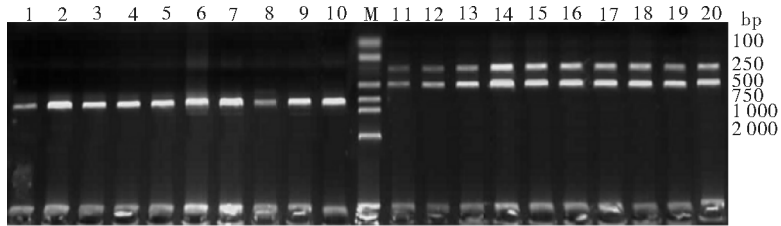
bp 和 437 bp 2 个条带, 而其他 2 个种属的中华鳖只有 1 个 786 bp 的条带。结果与理论相符(图 6)。4 个群体中华鳖的 PCR-RFLP 检测结果和用 Jellyfish 软件预测的结果一致。



1-5: 台湾鳖群体 Taiwan-introduced population; 6-10: 黄河鳖群体 Huanghe River population; 11-15: 太湖鳖群体 Taihu Lake population; 16-20: 沙鳖群体 *Pelodiscus axenaria* population; M: DL 2 000 marker.

图 5 *pomc* 基因的 *Asu* I 酶切图

Fig. 5 Restriction map of *pomc* gene digested by *Asu* I



1-5: 台湾鳖群体 Taiwan-introduced population; 6-10: 沙鳖群体 *Pelodiscus axenaria* population; 11-15: 太湖鳖群体 Taihu Lake population; 16-20: 黄河鳖群体 Huanghe River population; M: DL 2 000 marker.

图 6 *pomc* 基因的 *Tsc* I 酶切图

Fig. 6 Restriction map of *pomc* gene digested by *Tsc* I

3 讨 论

3.1 *pomc* 基因在分子群体遗传学中的应用

自从 1979 年首次报道了牛的 POMC cDNA 以来, 到目前为止, 大多数脊椎动物代表种类的 POMC 一级结构都已阐明, 如哺乳类^[7]、两栖类^[9]、辐鳍鱼类^[10-11] 和无颌类^[12-13]。对这些不同来源的 POMC cDNA 的分析表明: 在脊椎进化过程中, 由于基因的重复增加了 *pomc* 基因的拷贝数, 或因基因内部 MSH 区域的重复或缺失, 而造成 *pomc* 基因的多样性^[14]。而且研究发现 *pomc* 基因与动物的生长速度及动物肉品质具有一定的相关性^[14]。目前在哺乳动物中已有利用动物 *pomc* 基因作为动物鉴定的分子标记。

3.2 分子鉴定标记方法分析

种群亲缘关系的传统研究方法是从形态学、细胞学、生化指标等方面进行, 但受个体和环境的影响较大, 有时不能反映物种本身所固有的特征。随着分子生物学技术的发展, 很多新的分子生物学标记

技术发展成熟, 如同工酶技术、RAPD 技术及 RFLP 技术等。这些分子生物学方法由于受到技术方面的限制在实际应用中也有一定的局限性, 如 RAPD 鉴别技术在操作过程中对所获得的模板 DNA 质量要求高, DNA 模板质量的差异会干扰检测结果; 同工酶鉴定标记技术由于受到个体或组织的差异性影响, 导致检测结果的可信度降低; 而 RFLP 技术是基于不同物种之间 DNA 序列的核苷酸多态性而发展起来的分子生物学方法, 该方法可以通过 PCR 方法方便地控制扩增的 DNA 片段的大小, 从而有效地限定酶切位点数量; 而且模板量的扩大, 特别适用于微量组织样品的分析。同时检测所需的组织材料的量很少, 尤其适用于物种早期发育阶段的鉴别研究, 并且该方法在很多物种的鉴定中得到验证与应用, 如 Sun 等^[15] 利用线粒体 DNA 16S rRNA 部分片段的 PCR-RFLP 标记, 对中华绒螯蟹和合浦绒螯蟹成功地进行了快速有效的鉴别; Angel 等^[16] 利用线粒体 DNA 12S rRNA 部分片段的 PCR-RFLP 标记, 对商用比目鱼 5 个不同种进行了准确的鉴别;

Carrera 等^[17] 和 Cespedes 等^[18-19] 利用细胞色素 b 基因的 PCR-RFLP 标记, 分别对大西洋鲑、虹鳟和不同种的比目鱼进行了准确的鉴别; Yang 等^[20] 在测定采自浙江瑞安市的一头须鲸类标本 mtDNA 细胞色素 b 基因和控制区部分序列的基础上, 发现其可能是所罗门群岛的小布氏鲸。

本研究利用 PCR-RFLP 标记技术对 4 个地理群体的中华鳖进行检测, 扩增出中华鳖 *pomc* 的基因片段后利用不同的限制性内切酶对该片段进行酶切鉴定, 结果表明该标记的鉴定结果准确可靠, 可重复性好且未发现有个体特异性, 同时扩增反应对基因组模板的质量要求不高, 使得这个标记为 4 个地理群体的中华鳖的快速鉴别提供了一种准确、可靠、易于操作的分子鉴定途径。

3.3 中华鳖的遗传标记

目前已经报道的作为中华鳖鉴定的分子遗传标记有线粒体细胞色素 b 的基因 (*Cytb*)、16S rRNA 基因以及 mtDNA 的 D-loop 片段^[21-22], 而与动物的生长速度呈一定的相关性的编码动物阿片黑素促皮质素原的基因 (*pomc*), 在哺乳动物中已有利用该基因作为动物鉴定的报道, 但是在中华鳖中还是首次报道。本研究的前期工作^[8] 对不同地理群的中华鳖的 *pomc* 基因进行了扩增及序列测定分析, 结果表明该基因具有一定的多态性, 而且利用序列比对的方法鉴定了不同地理群的中华鳖的 SNP 位点, 本研究利用 RFLP 的方法进一步确定了 *pomc* 基因可以作为不同地理群体中华鳖鉴定的分子标记, 联合利用 *Acc* II、*Asu* I、*Bsc*B I 和 *Tsc* I 这 4 种不同的限制性内切酶可以鉴定不同地理群的中华鳖。但中华鳖不同地理群 *pomc* 基因的差异是否与中华鳖的生长速度及中华鳖肉品质相关还需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] CAI G, COLE S A, BASTARRACHEA R A, et al. Quantitative trait locus determining dietary macronutrient intakes is located on human chromosome 2p22[J]. *Clin Nutr*, 2004, 80(5): 1410-1414.
- [2] ROTIMI C N, COMUZZIE A G. The quantitative trait locus on chromosome 2 for serum leptin levels is confirmed in African-Americans [J]. *Diabetes*, 1999, 48(3): 643-644.
- [3] HAGER J, DINA C, FRANCKE S, et al. A genome-wide scan for human obesity genes reveals a major susceptibility locus on chromosome 10 [J]. *Nat Genet*, 1998, 20(3): 304-308.
- [4] MONTANGUE C T, FAROOQI I S, WHITEHEAD J P, et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans [J]. *Nature*, 1997, 387: 903-908.
- [5] CLEMENT K, VAISSE C, LAHLOU N, et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction [J]. *Nature*, 1998, 392: 398-401.
- [6] THUE T D, BUCHANAN F C. Linkage mapping of POMC to bovine chromosome 11 [J]. *Anim Genet*, 2003, 34(2): 146-160.
- [7] SHEN S T, LU L M, CHEN J R. Molecular cloning of proopiomelanocortin (POMC) cDNA from mud turtle, *Pelodiscus sinensis* [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2003, 131(2): 192-201.
- [8] 张林, 邹世平, 艾晓辉, 等. 4 个不同地理种群中华鳖 *pomc* 基因全长 cDNA 克隆及其序列分析 [J]. *华中农业大学学报*, 2012, 31(5): 645-649.
- [9] HILARIO E, LIHRMANN I, VAUDRY H. Characterization of cDNA encoding proopiomelanocortin in the frog *Rana ridibunda* [J]. *Biochem Biophys Res Comm*, 1990, 173: 653-659.
- [10] PAN F, CHENG W C. Nucleotide sequence of bullfrog proopiomelanocortin cDNA [J]. *Nucl Acids Res*, 1989, 17: 5843.
- [11] AMEMIYA Y, TAKAHASHI A, DORES R M. Sturgeon proopiomelanocortin has a remnant of γ -elanot ropin [J]. *Biochem Biophys Res Comm*, 1997, 230: 452-456.
- [12] SALBERT G, CHAUVEAU I, BONNEC G. One of the two trout proopiomelanocortin messenger RNAs potentially encodes new peptides [J]. *Mol Endocrinol*, 1992, 6: 1605-1612.
- [13] HEINING J A, KEELEY F W, ROBSON P. The appearance of proopiomelanocortin early in vertebrate evolution: cloning and sequencing of POMC from a lamprey pituitary cDNA library [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 1995, 99: 137-144.
- [14] TAKAHASHI A, AMEMIYA Y, SARASHI M, et al. Melanotropin and corticotropin are encoded on two distinct genes in the lamprey, the earliest evolved extant vertebrate [J]. *Biochem Biophys Res Comm*, 1995, 231: 490-496.
- [15] SUN H Y, ZHOU K Y, LU J J, et al. Sequence divergence of mitochondrial DNA 16S rRNA of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* and their molecular marker for identification [J]. *Progress in Natural Science*, 2002, 12(5): 485-490.
- [16] ANGELS C, PAZ A, ANDRES S. Molecular identification of five commercial flatfish species by PCR-RFLP analysis of a 12S rRNA gene fragment [J]. *Sci Food Agric*, 2003, 83: 752-759.
- [17] CARRERA E, GARCIA T, CESPEDES A, et al. Identification of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using PCR amplification and restriction analysis of the mitochondrial cytochrome b gene [J]. *Food Prot*, 1998, 61: 482-486.
- [18] CESPEDES A, GARCIA T, CARRERA E, et al. Identification of flatfish species using polymerase chain reaction (PCR) and restriction analysis of the cytochrome b gene [J]. *Food Sci*, 1998, 63: 206-209.
- [19] CESPEDES A, GARCIA T, CARRERA E, et al. Polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism analy-

sis of a short fragment of the cytochrome b gene for identification of flatfish species[J]. Food Prot, 1998, 61: 1684-1685.

[20] YANG G, LIU H, ZHOU K Y, et al. Identification of a *Balaenoptera edeni* specimen by using mitochondrial DNA sequences [J]. Chinese Journal of Zoology, 2002, 37(4): 35-38.

[21] CHEN H G, LIU W B, LI J Z, et al. Comparative analysis of

mitochondrial DNA Cytb gene and their molecular identification markers in three species of soft turtles[J]. Chinese Journal of Acta Hydrobiologica Sinica, 2006, 30(4): 380-385.

[22] 张永正, 张海琪, 何中央, 等. 中华鳖 (*Pelodiscus sinensis*) 5 个不同地理群体细胞色素 b 基因序列变异及群体遗传结构分析 [J]. 海洋与湖沼, 2008, 39(3): 234-239.

PCR-RFLP analysis on *pomc* gene in four populations of *Pelodoiscus sinensis*

ZHANG Lin^{1,2} WU Tao³ HE Li²

1. College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Freshwater Fish Germplasm Quality Supervision and Testing Center, Ministry of Agriculture/Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430023, China;

3. School of Animal Science and Nutritional Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China

Abstract To establish a molecular genetic marker for identifying different populations of *Pelodoiscus sinensis*, *pomc* gene was amplified by PCR and identified by RFLP using four restriction endonucleases including *Acc* II, *Bsc*B I, *Asu* I and *Tsc* I. At the same time homology were compared and phylogenetic trees were constructed. The results showed that a 786 bp fragment was amplified from four *P. sinensis* populations. The relationship between Taiwan-introduced and *Pelodiscus axenaria* populations was closer and the relationship between Taihu Lake and Huanghe River population was closer. For *Acc* II digestion, the *P. axenaria* population carried two bands of 303 bp and 483 bp, while the other three populations carried only one band of 786 bp; for *Bsc*B I digestion, Taiwan-introduced and *P. axenaria* population carried two bands of 351 bp and 435 bp, while the other two populations carried only one band of 786 bp; for *Asu* I digestion, Taiwan-introduced and Huanghe River population carried two bands of 349 bp and 437 bp, while the other two populations carried only one band of 786 bp; for *Tsc* I digestion, Taihu Lake and Huanghe River populations carried two bands of 349 bp and 437 bp, while the other two populations carried only one band of 786 bp. Combined application of the four restriction endonuclease could clearly identify the different population of *P. sinensis* at the molecular level. All results suggested that the *pomc* gene could be used as a molecular genetic marker for identifying different population of *P. sinensis*.

Key words *Pelodoiscus sinensis*; *pomc* gene; SNP; PCR-RFLP

(责任编辑:边书京)