

4种鲟鱼养殖亲鱼群体遗传多样性分析

王巍 朱华 胡红霞*

国家淡水渔业工程技术研究中心暨北京市水产科学研究所 北京 100068

摘要:近年鲟鱼人工繁殖技术促进了鲟鱼养殖业的发展,但在选育初期未对后备亲鱼进行遗传背景分析,为了抑制种质资源退化和防止近交衰退,繁育场需要对现有后备亲鱼进行遗传背景分析。本文利用线粒体控制区(D-loop)部分序列对4种养殖鲟鱼后备亲鱼群体(共120个样本)的遗传多样性进行了分析。研究发现不同种鲟鱼D-loop部分序列长度不同(451~469 bp),种间存在1~18 bp的插入/缺失,种内无插入/缺失位点。每个群体至少包含4个单倍型,序列相似性大于98%。不同单倍型间有4~12个简约信息位点,遗传距离0.002~0.024。核苷酸多样性以史氏鲟(*Acipenser schrenckii*)最低($\pi=0.002$),小体鲟(*A. ruthenus*)最高($\pi=0.010$),单倍型多样性则以俄罗斯鲟(*A. gueldenstaedtii*)最低($H=0.352$),西伯利亚鲟(*A. baerii*)最高($H=0.706$)。通过分析认为,4种鲟鱼后备亲鱼群体遗传多样性偏低,建议在利用这4种鲟鱼后备亲鱼进行种质保存和繁殖时要充分注意遗传距离及近交繁殖的影响。

关键词:西伯利亚鲟;俄罗斯鲟;小体鲟;史氏鲟;后备亲鱼;线粒体控制区;遗传多样性

中图分类号:Q953 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2012)01-105-07

Genetic Diversity of the Reserved Broodstocks in Four Species of Sturgeon

WANG Wei ZHU Hua HU Hong-Xia*

National Engineering Research Center for Freshwater Fisheries and Beijing Fisheries Research Institute, Beijing 100068, China

Abstract: Artificial propagation of Sturgeon has promoted the development of sturgeon aquaculture in recent years. However, the genetic relationship among reserved broodstocks has not been analyzed. In order to avoid the degradation of germplasm resources and prevent inbreeding depression, the genetic background of reserved broodstocks should be investigated. In this research, partial sequence of mitochondrial control region (D-loop) was used to examine the genetic diversity of reserved broodstocks in four species of sturgeon. Different length of D-loop sequences between 451 – 469 bp were obtained from a total of 120 samples. There were 1 – 18 bp interspecific indels, while no intraspecific indels were detected. Each group contained at least four haplotypes which had greater than 98% sequence similarity. There were 4 – 12 parsimony informative sites between different haplotypes and genetic distance among intraspecific haplotypes varied from 0.002 – 0.024. The highest nucleotide diversity was presented in Sterlet (*Acipenser ruthenus*) ($\pi=0.010$) while the lowest was in Amur Sturgeon (*A. schrenckii*) ($\pi=0.002$). The highest haplotype diversity was showed in Siberian Sturgeon (*A. baerii*) ($H=0.706$) while the lowest was in Russian Sturgeon (*A. gueldenstaedtii*) ($H=0.352$). These results indicate that there is a low genetic diversity in the four reserved broodstocks and that inbreeding impact

基金项目 北京市科委项目(No. Z080005032508019),农业部行业专项(No. 201003055-05);

* 通讯作者, E-mail: huhongxia1@yahoo.com.cn;

第一作者简介 王巍,男,工程师;研究方向:鱼类基因组和遗传育种;E-mail: raywang8848@163.com。

收稿日期:2011-09-05, **修回日期:**2011-11-12

and genetic distance should be seriously considered in the fry production and germplasm conservation of the four species of sturgeon.

Key words: *Acipenser baerii*; *A. gueldenstaedtii*; *A. ruthenus*; *A. schrenckii*; Reserved broodstock; Mitochondrial control region; Genetic diversity

21 世纪以前鲟鱼苗种主要依靠捕捞河流中生殖洄游的野生亲鱼剖腹取卵来繁育,但近年由于水环境污染和大型水利工程的兴建等原因,鲟鱼栖息环境破坏严重,野生资源急剧下降^[1]。随着鲟鱼苗种市场的发展和鲟鱼保护意识的加深,越来越多的鲟鱼繁育场开始培育亲鱼进行人工繁殖以补充野生群体和满足市场需求^[2]。但是由于种质保存和良种选育技术的滞后,在鲟鱼人工选育初期并未对亲鱼群体进行亲缘关系分析,也未在后续的累代繁殖中通过重建遗传系谱来规避近亲交配,而且在鲟鱼人工培育和野生种群中都已发现表型与基因型不一致^[3]及种间基因渐渗的现象^[4-7],因此繁育场在进行鲟鱼遗传育种时有必要对后备亲鱼的遗传背景进行分析,这样有利于抑制养殖群体的种质退化和保护优质水产资源,防止因近交衰退而造成后代成活率降低、生长速度减慢等问题。目前对鲟鱼后备亲鱼的分子遗传学研究很少^[8],主要还是集中在亲缘地理、系统发育和保护多样性方面^[7, 9-10]。

线粒体基因组因进化速度快、极少发生重组和母性遗传等特征已广泛应用于水生动物的种群遗传分析中,如鲈鱼(*Morone saxatilis*)^[11-12]、沟鲈(*Ictaluru punctatus*)^[13]等。线粒体控制区(control region, 又称 D-loop)是线粒体基因组碱基突变、长度变化最大和进化速率最快区域^[14],其碱基替换率比 mtDNA 的其他区域高 5~10 倍^[15],比其他线粒体功能基因如细胞色素 *b*(Cyt *b*)、*NADH* 等能提供更多分子生物学信息^[8, 16-17],因此广泛用于种群鉴定^[18-20]、种群遗传分析^[21]、系统发育分析^[22]和生物地理学研究^[23]。本研究利用线粒体控制区部分序列对 4 种国内主要人工养殖的鲟鱼西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*)、俄罗斯鲟(*A. gueldenstaedtii*)、小体鲟(*A. ruthenus*)和史氏鲟(*A. schrenckii*)后备

亲鱼的遗传多样性进行分析,为鲟鱼后备亲鱼的选育、种质资源保护和育种提供依据和建议。

1 材料与方法

1.1 材料 研究用鲟鱼样本 2009 年取自北京市国家淡水渔业工程技术研究中心。随机挑选 4 种 8~12 龄西伯利亚鲟、俄罗斯鲟、小体鲟和史氏鲟后备亲鱼各 30 条,剪取尾鳍部分鳍条,存于 95% 酒精中。西伯利亚鲟、俄罗斯鲟、小体鲟为 1996~2000 年从欧洲分不同批次和年份引自同一养殖场的人工繁殖鱼苗;史氏鲟为 1999~2001 年分 2 次捕捞于黑龙江的野生亲鱼进行人工繁殖的后代。所有鲟鱼都用电子标签进行了标记。

1.2 总 DNA 提取 剪取约 0.5 g 的鲟鱼鳍条样本,加 0.3 ml 组织匀浆液(100 mmol/L NaCl; 10 mmol/L Tris-HCl, pH 8.0; 0.25 mmol/L EDTA, pH 8.0)混合匀浆,然后加 0.3 ml 酶解液(200 mmol/L NaCl; 10 mmol/L Tris-HCl pH 8.0; 50 mmol/L EDTA, pH 8.0; 200 μ g/ml 蛋白酶 K; 1% SDS)混匀,55 $^{\circ}$ C 水浴裂解 12 h,次日利用酚氯仿抽提法提取总 DNA,并用 TE 缓冲液溶解,4 $^{\circ}$ C 保存。

1.3 mtDNA 控制区的扩增 鲟鱼线粒体控制区存在长串联重复序列(约 78~82 bp),起始于 D-loop 约 1~8 bp^[24],所以设计引物时避开此区域。将已有 4 种鲟鱼的 D-loop 序列全长(gi: 226452516-20)经 Clustal X2^[25]全局比对后,在重复序列下游约 177~206 bp 的保守区域和 tRNA^{phe}基因 5'端保守区域设计扩增引物。引物序列分别为,上游 dloop-f3: 5'-TACTGGCAT-CTGCTTCCTAT-3'; 下游 tphe-r2: 5'-ATGCTTAG-TTAAGCTACGC-3'。PCR 反应体系(50 μ l)为: DNA 模板 30 ng, 6 mmol/L MgCl₂, 1 \times 扩增缓冲液, 4 种 dNTP 各 0.45 mmol/L, 上下游引物各

4.5 pmol/L, 1 U r-Taq DNA 聚合酶(Takara)。扩增反应程序为:95℃ 预变性 4 min;95℃ 45 s, 54℃ 40 s, 72℃ 45 s, 36 个循环;72℃ 最终延伸 8 min。PCR 产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳分离后用胶回收试剂盒(Axygen Bioscience)进行纯化,然后利用 3730 全自动分析仪进行单向测序,并对峰图中存在杂合位点的样本进行了 2 次测序,以验证结果的可靠性。

1.4 数据处理 结果经人工校对和 BioEdit^[26] 分析得到全部样本的 D-loop 部分序列。经 Clustal X2^[25] 全局比对后,利用 DnaSP V5^[27] 进行多态性位点、单倍型多样性(H)^[28] 和核苷酸多样性(π)^[28] 分析。利用 Mega 4.02 分析单倍型碱基组成,以 Kimura-2-parameter 为模型计算种内单倍型间的距离^[29],并用 Network 4.1 的 Median-joining Network 法^[30] 构建单倍型网状结构图,程序运行参数都设定为默认值。

2 结果与分析

2.1 单倍型分析 经测序后得到了 4 种鲟鱼亲本线粒体控制区部分序列 120 条,GC 含量都在 40% 左右,种间和种内无明显差异。不同种鲟鱼的 D-loop 部分序列长度不同,在 451 ~ 469 bp 之间(表 1),种间序列插入/缺失在 1 ~ 18 bp,种内单倍型相似性大于 98%,没有插入/缺失位点。西伯利亚鲟和史氏鲟的变异位点都为转换,俄罗斯鲟和小体鲟发生颠换的位点都只有一个,分别

在位点 241 和 179。变异位点多是简约信息位点,占序列长度的 0.8% ~ 2.6% (表 2)。史氏鲟包含 8 个单倍型,另 3 种鲟鱼只有 4 ~ 5 个单倍型(表 2),但是核苷酸多样性是史氏鲟最低,小体鲟最高;单倍型多样性则以俄罗斯鲟最低,西伯利亚鲟最高(表 1)。单倍型序列已提交至 GenBank(JF806468 ~ JF806488)。

2.2 种内单倍型遗传距离和网络结构分析

遗传距离结果显示,西伯利亚鲟、俄罗斯鲟、小体鲟和史氏鲟种内单倍型间的距离不远,分别为 0.004 ~ 0.011、0.002 ~ 0.024、0.002 ~ 0.022 和 0.002 ~ 0.011,只有俄罗斯鲟 HapG2 与 HapG1、HapG2 与 HapG4,小体鲟 HapR1 与 HapR4 间的距离在 0.020 以上,分别为 0.020、0.024、0.022。单倍型网络结构图将单倍型很好地连接起来,未显示出明显二级结构与谱系分化现象。从图中可以看出,史氏鲟 HapS1 位于网络结构相对中心的位置,俄罗斯鲟 HapG2 和小体鲟 HapR4 相对其他单倍型距离较远,这与遗传距离结果相一致(图 1)。

3 讨论

近年国内外利用人工繁殖技术不断对鲟鱼野生种群进行补充,但是由于鲟鱼进化速率慢^[31-32] 和世代时间长^[33],鲟鱼野生种群的遗传多样性都不很高。Zhang 等^[2] 通过对长江中华鲟(*A. sinensis*) 的遗传多样性分析,发现 35

表 1 4 种鲟鱼部分 D-loop 序列组成和多样性分析

Table 1 Diversity of partial D-loop sequence in four species of sturgeon

	长度 Length (bp)	单倍型多样性 Haplotype diversity (H)	核苷酸多样性 Nucleotide diversity (π)	简约信息位点数 Parsimony informative sites	单一变异位点数 Singleton variable sites
西伯利亚鲟 <i>Acipenser baerii</i>	468	0.706 ± 0.057	0.005 ± 0.000	5	0
俄罗斯鲟 <i>A. gueldenstaedtii</i>	469	0.352 ± 0.103	0.005 ± 0.002	9	2
小体鲟 <i>A. ruthenus</i>	466	0.572 ± 0.052	0.010 ± 0.001	12	1
史氏鲟 <i>A. schrenckii</i>	451	0.608 ± 0.100	0.002 ± 0.070	4	3

表 2 4 种鲟鱼的单倍型分析
Table 2 Haplotype analysis in four species of sturgeons

种类 Species	单倍型 Haplotype	变异位点 Variable sites	样本数 Sample (n)	单倍型频率 Haplotype frequency (%)
西伯利亚鲟 <i>Acipenser baerii</i>		11124 66973 37937		
	HapB1	GAGCC	6	20.00
	HapB2	AG...	14	46.67
	HapB3	..ATT	7	23.33
	HapB4	..AT.	2	13.33
	HapB5	A.G.T	1	3.33
俄罗斯鲟 <i>A. gueldenstaedtii</i>		111111222 20023455145 43449018717		
	HapG1	GGAGTAGCAGA	24	80.00
	HapG2	AAGACG.TG.G	4	13.33
	HapG3G..	1	3.33
	HapG4A..T.	1	3.33
小体鲟 <i>A. ruthenus</i>		1111122 1112562347902 3678597822643		
	HapR1	AGGCCCGCGGATG	16	53.33
	HapR2	.AATTTAT..G..	1	3.33
	HapR3	G...TTATAT..A	12	40.00
	HapR4	.AATTTATA.GC.	1	13.33
史氏鲟 <i>A. schrenckii</i>		112334 6130150 4990042		
	HapS1	TAGGTGA	19	63.33
	HapS2	C...A..	1	3.33
	HapS3	..A....	1	3.33
	HapS4A.	3	10.00
	HapS5	..AA...	3	10.00
	HapS6	.GAA...	1	3.33
	HapS7	..A...G	1	3.33
	HapS8G	1	3.33

个单倍型,核苷酸多样性 π 为 0.011,单倍型多样性 H 为 0.949,错配分布检测结果显示种群正在扩张,表明人工放流有效地补充了野生种群,能显著避免近交衰退。Quattro 等^[9]利用线粒体控制区(327 bp)观测到北美 6 个短吻鲟(*A. brevirostrum*)种群遗传距离 F_{st} 在 0.000 ~ 0.443 之间,种群多样性因为人工放流而增加。对比本研究结果,4 种鲟鱼核酸多样性较低($\pi < 0.01$),单倍型间距离为 0.002 ~ 0.024,单倍型多样性也不高($0.35 < H < 0.70$),推测可能

是因为后备亲鱼的来源地单一,因此在进行后备亲鱼选留和种质保存时要注意个体之间的遗传距离,以保证亲鱼具有一定的遗传变异,改善近亲繁殖的程度。另一方面人工养殖放流也会使野生种群多样性减少^[34],因此在人工放流时不能以中性标记检测的遗传多样性结果为惟一标准,还应注意放流群体的适应力、繁殖力和将来对野生种群的影响^[9, 34]。

从研究结果看,4 种鲟鱼群体都存在一些变异位点,包含了 4 种以上的单倍型(表 2)。

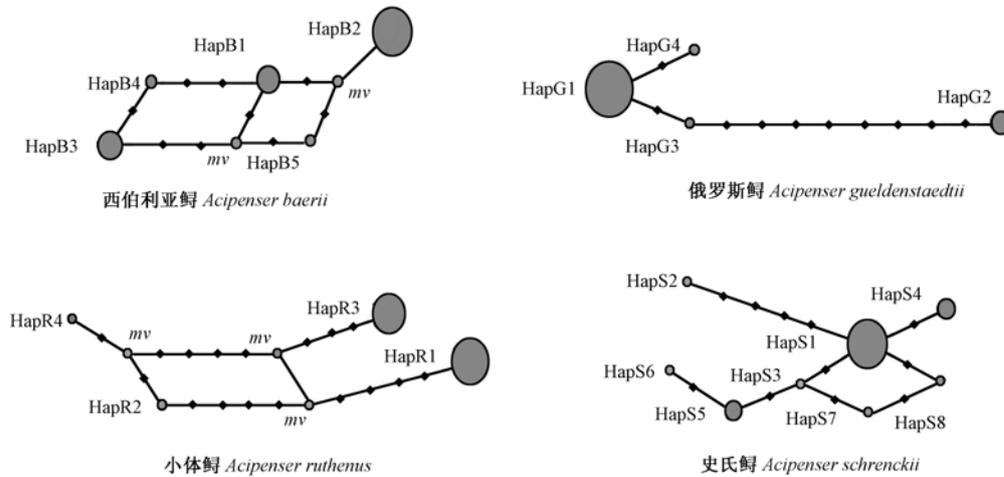


图 1 基于 MJ 法构建的单倍型网络结构图

Fig. 1 Network describing relationships among haplotypes of four species sturgeons based on MJ

灰色圈表示所推断的单倍型, 圈的面积表示单倍型数量的相对大小, 单倍型连接之间的实心黑点代表核苷酸替代数; *mv*: 节点。

Grey dots represent inferred haplotypes. The dot size is proportional to haplotype frequency. Solid black dots mark on the lines joining haplotypes represent the number of nucleotide substitutions. *mv*: Median vector.

西伯利亚鲟和史氏鲟的序列变异位点数少, 遗传距离相近(表 1), 表明样本亲缘关系很近。俄罗斯鲟 HapG1 是主要单倍型, 且距离与 HapG2 较远, 为 0.020。小体鲟 HapR1 占群体数量 53%, 与 HapR4 间的距离为 0.022(表 2, 图 1)。牛翠娟等^[35]用 D-loop 部分序列对北京和重庆 4 个史氏鲟后备亲鱼群体进行遗传多样性研究, 发现单倍型间距离为 0.002 ~ 0.024, 群体核酸多样性都在 0.01 以下, 占群体数目 83% 的单倍型 AS3 仅存在于种群 AG2 中, 而且与其他单倍型距离远(0.020 ~ 0.024)。对比可见, 本研究同种亲鱼间的遗传变异少, 除单倍型 HapG1、HapG2、HapR1 和 HapR4 外, 其他种内单倍型遗传距离偏低, 推测遗传距离较远的个体可能来自不同亲本群体。但是由于本研究观测的后备亲鱼数量较少, 很可能没有发现一些遗传差异较大的单倍型, 因此还需扩大样本进一步分析。

线粒体 D-loop 序列常用于鲟鱼种群结构和遗传多样性分析^[36]。本研究利用约 451 ~ 469 bp 的 D-loop 序列作为分子标记, 分析了繁育场不同批次或年代引进的西伯利亚鲟、俄

斯鲟、小体鲟和史氏鲟后备亲鱼遗传多样性, 发现 4 种鲟鱼的遗传多样性都较低, 单倍型类型多但分布单一。分批引进的史氏鲟和西伯利亚鲟可能属于同一群体, 如果以这样的亲鱼进行人工繁殖育苗, 会增加近交衰退的风险。虽然俄罗斯鲟和小体鲟单倍型网络结构图没有呈现明显的谱系分化, 但存在距离较远的单倍型, 推测它们可能是不同群体的后代。因此今后需扩大样本数进行检测, 也可以结合微卫星标记一起分析^[36], 但仍需要认识到核基因标记与线粒体标记多态性水平并不成正相关^[37-38]。此外通过引进与现有亲鱼产地较远的鲟鱼可能会增加现有群体的多样性^[9, 34]。

致谢 感谢北京市水产科学研究所十渡鲟鱼养殖基地的员工在样品采集过程中给予的帮助。

参 考 文 献

- [1] Birstein V J, Bemis W E, Waldman J R. The threatened status of acipenseriform species: a summary. *Environmental Biology of Fishes*, 1997, 48(1/4): 427-435.
- [2] Zhang S M, Wang D Q, Zhang Y P. Mitochondrial DNA

- variation, effective female population size and population history of the endangered Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*. *Conservation Genetics*, 2003, 4(6): 673–683.
- [3] Jenneckens I, Meyer J N, Debus L, et al. Evidence of mitochondrial DNA clones of Siberian sturgeon, *Acipenser baerii*, within Russian sturgeon, *Acipenser gueldenstaedtii*, caught in the River Volga. *Ecology Letters*, 2000, 3(6): 503–508.
- [4] Ludwig A, Debus L, Jenneckens I. A molecular approach to control the international trade in black caviar. *Int Rev Hydrobiol*, 2002, 87(5/6): 661–674.
- [5] Ludwig A, Congiu L, Pitra C, et al. Nonconcordant evolutionary history of maternal and paternal lineages in Adriatic sturgeon. *Molecular Ecology*, 2003, 12(12): 3253–3264.
- [6] Arefjev V A. Sturgeons hybrids: natural reality and practical prospects. *Aquaculture Magazine*, 1997, 7(8): 52–58.
- [7] Ludwig A, Arndt U, Lippold S, et al. Tracing the first steps of American sturgeon pioneers in Europe. *BMC Evolutionary Biology*, 2008, 8(1): 221–256.
- [8] Mims S, Shelton W, Clark J. Steroid-induced sex reversal of paddlefish//Goetz F, Thomas P. *Proceedings of the 5th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish*. Austin, Texas, USA: University of Texas at Austin Press, 1995: 129–130.
- [9] Quattro J M, Greig T W, Coykendall D K, et al. Genetic issues in aquatic species management: the shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*) in the southeastern United States. *Conservation Genetics*, 2002, 3(2): 155–166.
- [10] Fopp-Bayat D. Meiotic gynogenesis revealed not homogametic female sex determination system in Siberian sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt). *Aquaculture*, 2010, 305(1/4): 174–177.
- [11] Wang D Q, Zhong L, Wei Q W, et al. Evolution of MHC class I genes in two ancient fish, paddlefish (*Polyodon spathula*) and Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*). *FEBS Letters*, 2010, 584(15): 3331–3339.
- [12] Yue G H, Liew W C, Orban L. The complete mitochondrial genome of a basal teleost, the Asian arowana (*Scleropages formosus*, Osteoglossidae). *BMC Genomics*, 2006, 7(1): 242–254.
- [13] Purdue J R, Oleksyk T K, Smith M H. Independent occurrences of multiple repeats in the control region of mitochondrial DNA of white-tailed deer. *Journal of Heredity*, 2006, 97(3): 235–243.
- [14] Brown W M. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Plenum Publishing Corporation, 1985: 95–130.
- [15] Woznicki P, Jankun M, Luczynski M. Chromosome polymorphism in *Salmo trutta morpha lacustris* from Poland, Wdzydze Lake population: variation in the short arm length of chromosome eleven. *Aquatic Sciences-Research Across Boundaries*, 1998, 60(4): 367–375.
- [16] van Eenennaam A L, van Eenennaam J P, Medrano J F, et al. Rapid verification of meiotic gynogenesis and polyploidy in white sturgeon (*Acipenser transmontanus* Richardson). *Aquaculture*, 1996, 147(3/4): 177–189.
- [17] Lee W J, Conroy J, Howell W H, et al. Structure and evolution of teleost mitochondrial control regions. *Journal of Molecular Evolution*, 1995, 41(1): 54–66.
- [18] Fopp-Bayat D. Inheritance of microsatellite loci in polyploid Siberian sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt) based on uniparental haploids. *Aquaculture Research*, 2008, 39(16): 1787–1792.
- [19] Saber M H, Noveiri S B, Pourkazemi M, et al. Induction of gynogenesis in stellate sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas, 1771) and its verification using microsatellite markers. *Aquaculture Research*, 2008, 39(14): 1483–1487.
- [20] Mcquown E C, Sloss B L, Sheehan R J, et al. Microsatellite analysis of genetic variation in sturgeon: new primer sequences for *Scaphirhynchus* and *Acipenser*. *Transactions of the American Fisheries Society*, 2000, 129(6): 1380–1388.
- [21] Timoshkina N N, Barmintseva A E, Usatov A V, et al. Intraspecific genetic polymorphism of Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii*. *Russian Journal of Genetics*, 2009, 45(9): 1098–1106.
- [22] Börk K, Drauch A, Israel J A, et al. Development of new microsatellite primers for green and white sturgeon. *Conservation Genetics*, 2008, 9(4): 973–979.
- [23] Verheyen E, Salzburger W, Snoeks J, et al. Origin of the superclade of cichlid fishes from Lake Victoria, East Africa. *Science*, 2003, 300(5617): 325–329.
- [24] 王巍, 朱华, 胡红霞, 等. 五种鲟鱼线粒体控制区异质性和系统发育分析. *动物学研究*, 2009, 30(5): 487–496.
- [25] Larkin M A, Blackshields G, Brown N P, et al. Clustal W and Clustal X version 2. 0. *Bioinformatics*, 2007, 23(21): 2947–2948.
- [26] Hall T A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 1999, 41:

- 95 - 98.
- [27] Librado P, Rozas J. DnaSP V5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 2009, 25(11): 1451 - 1452.
- [28] Nei M. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Columbia University Press, 1987.
- [29] Kumar S, Nei M, Dudley J, et al. MEGA: a biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Briefings in Bioinformatics*, 2008, 9(4): 299 - 306.
- [30] Bandelt H J, Forster P, Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 1999, 16(1): 37 - 48.
- [31] Krieger J, Fuerst P A. Evidence for a slowed rate of molecular evolution in the order Acipenseriformes. *Molecular Biology and Evolution*, 2002, 19(6): 891 - 897.
- [32] Donaldson K A, Wilson R R Jr. Amphi-panamic geminates of snook (*Percoidei*: Centropomidae) provide a calibration of the divergence rate in the mitochondrial DNA control region of fishes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1999, 13(1): 208 - 213.
- [33] Billard R, Lecointre G. Biology and conservation of sturgeon and paddlefish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2000, 10(4): 355 - 392.
- [34] Doukakis P, Birstein V J, Ruban G I, et al. Molecular genetic analysis among subspecies of two Eurasian sturgeon species, *Acipenserbaerii* and *A. stellatus*. *Molecular Ecology*, 1999, 8(S1): 117 - 127.
- [35] 牛翠娟, 胡红霞, 罗静, 等. 史氏鲟和达氏鲤养殖亲鱼群体遗传多样性分析. *水产学报*, 2010, 34(12): 1795 - 1799.
- [36] Timoshkina N N, Vodolazhskii D I, Usatov A V. Molecular-genetic markers in studies of intra-and interspecies polymorphism in sturgeon (Acipenseriformes). *Russian Journal of Genetics: Applied Research*, 2011, 1(2): 160 - 171.
- [37] Alpers D L, van Vuuren B J, Arctander P, et al. Population genetics of the roan antelope (*Hippotragusequinus*) with suggestions for conservation. *Molecular Ecology*, 2004, 13(7): 1771 - 1784.
- [38] Grunwald C, Maceda L, Waldman J, et al. Conservation of Atlantic sturgeon *Acipenser oxyrinchus oxyrinchus*: delineation of stock structure and distinct population segments. *Conservation Genetics*, 2008, 9(5): 1111 - 1124.