

利用微卫星遗传标记探讨达氏鲟的多倍体倍性

张小敏^{①②} 马徐发^① 吴文化^③ 李林妙^② 陈金平^{②*}

① 华中农业大学水产学院 武汉 430070; ② 广东省昆虫研究所/华南濒危动物研究所 广州 510260;

③ 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所 哈尔滨 150070

摘要: 鲟形目 (Acipenseriformes) 鱼类是一类多倍体起源的鱼类, 种间易于杂交, 且由于存在大量微型染色体, 其染色体数目和倍性也难于确定。到目前为止包括达氏鲟 (*Huso dauricus*) 在内的一些鲟鱼物种基因组大小和染色体倍性仍旧存在争议。本实验采用微卫星遗传标记技术, 通过观察 9 个微卫星位点的等位基因数目, 发现达氏鲟在大部分位点中显示的倍性大于二倍性, 同时利用多倍体分析软件 POLYSAT 推断了 26 尾达氏鲟的个体倍性。结果表明, 26 尾达氏鲟中有 20 尾显示为六倍体, 占总数的 76.92%; 4 尾显示为八倍体, 占总数的 15.38%; 2 尾显示为四倍体, 占总数的 7.79%。因此, 我们认为达氏鲟应该为八倍体物种, 结果中出现的四倍体和六倍体个体, 是由于这些个体在我们选取的微卫星位点中存在部分纯合等位基因, 导致了多数个体显示为六倍体。这一结论与近年来支持达氏鲟为进化性八倍体物种的研究结果一致。

关键词: 达氏鲟; 微卫星; 多倍体; 倍性

中图分类号: Q953 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2013)04-507-06

Polyploidy of *Huso dauricus* as Revealed by Microsatellite Genetic Markers

ZHANG Xiao-Min^{①②} MA Xu-Fa^① WU Wen-Hua^③ LI Lin-Miao^② CHEN Jin-Ping^{②*}

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

② Guangdong Entomological Institute/South China Institute of Endangered Animals, Guangzhou 510260;

③ Heilongjiang River Fishery Research Institute of Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China

Abstract: Acipenseriforme fishes originating from polyploidy fish are easy to undergo interspecific hybridization. Furthermore, their abundant mini-chromosomes make it hard to determine their chromosome number and ploidy. So far, reports about the genome size and chromosome ploidy of some sturgeon species including Kaluga Sturgeon (*Huso dauricus*), are still controversial. In this study, microsatellite genetic markers were used to observe the number of alleles of nine microsatellite loci, and ploidy patterns of 26 Kaluga individuals were analyzed with the help of polyploidy analysis software POLYSAT. We found that most loci showed greater than diploidy, with 20 of 26 Kaluga individuals were hexaploid, 4 individuals were octoploid, and the remaining 2 were tetraploid. Therefore, Kaluga sturgeon should be classified as octaploid species, and its hexaploidy and tetraploidy might be a result of partial homozygous allele existing in the loci we used in some individuals. Our results support the recent opinion that Kaluga sturgeon belongs to evolutionary octaploid group.

基金项目 广东省中国科学院全面战略合作项目 (No. 2011B090300024);

* 通讯作者, E-mail: chenjp@gdei.gd.cn;

第一作者介绍 张小敏, 女, 硕士研究生; 研究方向: 分子生态学; E-mail: zxmprincess@163.com。

收稿日期: 2013-02-26, 修回日期: 2013-05-10

Key words: Kaluga Sturgeon (*Huso dauricus*); Microsatellite; Polyploidy; Ploidy

鲟鱼是一类古老的软骨硬鳞鱼类,具有巨大的经济价值和科研价值。鲟鱼为硬骨鱼纲(Osteichthyes)辐鳍亚纲(Actinopterygii)鲟形目(Acipenseriformes)的大中型鱼类,有鲟科(Acipenseridae)和白鲟科(Polyodontidae)2个科,其中,鲟科包括鲟属(*Acipenser*)、鳇属(*Huso*)、铲鲟属(*Scaphirhynchus*)、拟铲鲟属(*Pseudoscaphirhynchus*)4个属。世界上所有的野生鲟鱼从1998年4月1日起都被联合国华盛顿公约《濒危野生动植物种国际贸易公约》(CITES)列入为濒临绝种的保护动物(李融2008)。目前世界上有鲟(鳇)鱼30多种,我国有8种。我国在鲟类的生理学、遗传学、生态学上均有大量研究(罗相忠等2001),对于其染色体数目和倍性的研究也很多(尹洪滨等2004, Zhou et al. 2011)。鲟形目鱼类是一类多倍体起源的鱼类,细胞水平的进化有别于其他鱼类,染色体由大型染色体和微型染色体(小染色体)两部分组成,由于鲟鱼类染色体数量多,存在微型染色体等原因,其具体染色体数目难于确定(宋苏祥等1997,张四明等1999)。达氏鳇(*H. dauricus*)是鳇属2种鲟鱼的一种,体型较大,为凶猛肉食性鱼类,是我国特有的重要经济淡水鱼类,分布于黑龙江流域,与施氏鲟(*A. schrenckii*)一起作为亲本生产的杂交后代被国内广泛养殖(孙大江等2003),而达氏鳇染色体的倍性也一直存在争议(Ludwig et al. 2001, 尹洪滨等2004, Vasil'ev et al. 2009, Zhou et al. 2011)。

微卫星遗传标记可以随机分布于物种的全基因组中,具有多态性丰富、共显性遗传方式、重复性好、分析方法简单等特点(吴文化2010),因此可以通过计算个体不同位点的等位基因数目来估计该物种的倍性。Ludwig等(2001)为了解鲟鱼的基因组复制事件,采用微卫星遗传标记法,通过6个位点的等位基因对20种鲟鱼共962尾个体的多倍体倍性进行了分析,其中对达氏鳇的倍性研究认为其应该属于功能性二倍体物种,并且认为基因组重复在

鲟鱼的进化过程中反复出现; Drauch等(2011)通过分析8个微卫星位点的等位基因,认为高首鲟(*A. transmontanus*)属于八倍体起源物种,并揭示了高首鲟为同源多倍体物种。POLYSAT软件是一款基于多倍体基因型分析的软件,它可以分析同源多倍体和异源多倍体物种,结合多个位点的基因型分析多倍体物种的遗传多样性和遗传结构等,并且还可以估计多倍体物种的倍性(Clark et al. 2011)。

本文采用微卫星遗传标记技术,利用POLYSAT软件推测达氏鳇的倍性,以便在细胞学水平上探索达氏鳇的进化地位,为鲟鱼类种质标准的建立、种质保存及合理开发利用提供基础资料和科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料 26尾达氏鳇分别采自于中国水产科学院鲟鱼繁育工程技术中心($n=13$)、北京市水产研究所($n=5$)和杭州千岛湖鲟龙科技开发有限公司($n=8$)。所采集样品均为外部形态容易鉴定的纯种成鱼。

1.2 实验方法

1.2.1 DNA提取 实验所用的26尾达氏鳇经外部形态确定为纯种达氏鳇后,剪其鳍条置于95%乙醇中保存。用DNeasy Tissue Kit(Qiagen)提取基因组DNA,具体操作方法严格参照试剂盒说明书。

1.2.2 微卫星PCR扩增 本实验起初从文献中挑选了15对在多种鲟鱼中容易扩增且多态性较好的引物,送往生工生物工程(上海)股份有限公司合成后,以达氏鳇基因组DNA为模板进行PCR扩增。扩增产物再用非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,然后根据电泳结果从中筛选出9对在达氏鳇中容易扩增且多态性高的引物。把这9对引物中的F引物全部送往生工生物工程(上海)股份有限公司进行荧光标记。最后用这9对荧光引物再对达氏鳇基因组DNA进行了PCR扩增,荧光引物具体信息见表

1. PCR 反应的扩增体系为 15 μ l,其中含 10 ng 模板 DNA,浓度为 10 μ mol/L 的正反引物各 0.5 μ l,6 μ l ddH₂O 和 7.5 μ l 的 Premix Taq (2 \times)。反应条件为 95 $^{\circ}$ C 预变性 4 min,循环设置为 94 $^{\circ}$ C 变性 40 s,50~58 $^{\circ}$ C 复性 30 s(表 1),72 $^{\circ}$ C 延伸 40 min,共 35 个循环,然后 72 $^{\circ}$ C 再延伸 10 min,置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存。

1.2.3 微卫星数据分析 将荧光标记的 PCR 产物送于生工生物工程(上海)股份有限公司进行基因分型,加内标进行毛细管电泳,以 ABI 3730XL 测序仪为依托用 GeneMapper4.0 软件对其检测。公司返回分型数据后自己再利用 GeneMarker1.6 软件读取,选取数据时参照 Palop-Esteban 等(2011)对四倍体勿忘草(*Limonium narbonense*)等位基因的判断方法。然后运用 POLYSAT 软件对达氏鳇不预设其倍性,而是通过计算等位基因数目来对其进行倍性分析(Clark et al. 2011)。

2 结果

2.1 基于位点的达氏鳇倍性 9 对引物共扩

出 73 个等位基因,多态性最好的为引物 AS100,共扩增出 13 个等位基因;其次为 LS68 和 HLJSX24,分别有 12 个和 10 个;SPL120 和 SPL168 均有 9 个;SPL106 有 7 个;SPL113 有 5 个;LS19 和 LS54 最少,各有 4 个(表 2)。这 9 个位点中大部分位点显示的达氏鳇倍性大于二倍性,位点 LS68 甚至显示为八倍性。图 1 为用 GeneMarker1.6 软件读取其中 2 尾达氏鳇个体在位点 LS68 和 HLJSX24 的等位基因峰图,图 1a 中显示位点 LS68 在其中 1 尾达氏鳇个体中有 8 个等位基因,图 1b 中显示位点 HLJSX24 在另外 1 尾达氏鳇个体中有 5 个等位基因。

2.2 基于个体的达氏鳇倍性 实验结果显示,26 尾达氏鳇中有 20 尾显示为六倍体,占总数的 76.92%;4 尾显示为八倍体,占总数的 15.38%;2 尾显示为四倍体,占总数的 7.79%。这个结果中出现了三种倍性,八倍体为最高倍性,四倍体为最低倍性,六倍体虽处于中间倍性,但却是占个体总数最多的倍性。

表 1 本实验中所选微卫星具体信息

Table 1 Characteristics of sturgeon microsatellite markers in this study

引物名称 Locus	引物序列 Primer sequences (5' - 3')	核心序列 Core sequences	荧光标记 Fluorescent dye	退火温度($^{\circ}$ C) Annealing temperature	参考文献 References
SPL106	F: CACGTGGATGGGAGAAATAC R: GGGGAGAAAACCTGGGGTAAA	(CTAT) ₁₂	5'HEX	58	McQuown et al. 2000
SPL113	F: TCCCACATGGCTTGTATTGA R: ACCACACCATGCGTCATAAG	(AGAT) ₁₄	5'TAMRA	58	
SPL120	F: ATTCCATGAGCAACACCACA R: TGATGGTCTGATGAGATCGG	(TATC) ₁₅	5'HEX	58	
SPL168	F: CACTGATTGCTACAACCGT R: AGAAGGACTTGCAGTCCGAA	(TATC) ₁₈	5'HEX	50	
LS19	F: CATCTTAGCCGTCTGTGGTAC R: CAGGTCCCTAATACAATGGC	(TTG) ₉	5'TAMRA	58	May et al. 1997
LS54	F: CTCTAGTCTTTGTTGATTACAG R: CAAAGGACTTGAAGACTAGG	(GATA) ₆ (GACA) ₇	5'TAMRA	56	
LS68	F: TTATTGCATGGTGTAGCTAAAC R: AGCCCAACACAGACAATATC	(GATA) ₁₃	5'TAMRA	57	
AS100	F: GGGAGAAAACCTGGGGTAAA R: CCAAAAAGAAGTGTAGACGG	(AAC) ₂ (TAAA) ₉	5'HEX	57	邵昭君等 2002
HLJSX24	F: TGTCTCTGCGTGTGTGTGAA R: CTGCAGCTCCATCTTCTCCT	(CT) _{6N} (CT) _{6N} (CT) ₂₀	5'6FAM	58	于冬梅等 2007

表 2 9 个微卫星位点在达氏鲤中所观察到的等位基因数

Table 2 The number of alleles were calculated in nine microsatellite loci selected for *Huso dauricus*

位点 Locus	等位基因范围 Range of allele sizes	等位基因总数 Total number of alleles	个体最少等位基因数 Least number of alleles of individuals	个体最多等位基因数 Greatest number of alleles of individuals	推断倍性 Inferred ploidy level
SPL106	215 ~ 279	7	1	3	> 2n
SPL113	269 ~ 309	5	1	2	2n
LS19	119 ~ 128	4	1	3	> 2n
HLJSX24	186 ~ 218	10	1	6	> 4n
SPL120	263 ~ 303	9	1	5	> 4n
LS68	129 ~ 201	12	4	8	8n
SPL168	202 ~ 266	9	2	4	4n
LS54	151 ~ 187	4	1	3	> 2n
AS100	171 ~ 241	13	1	3	> 2n

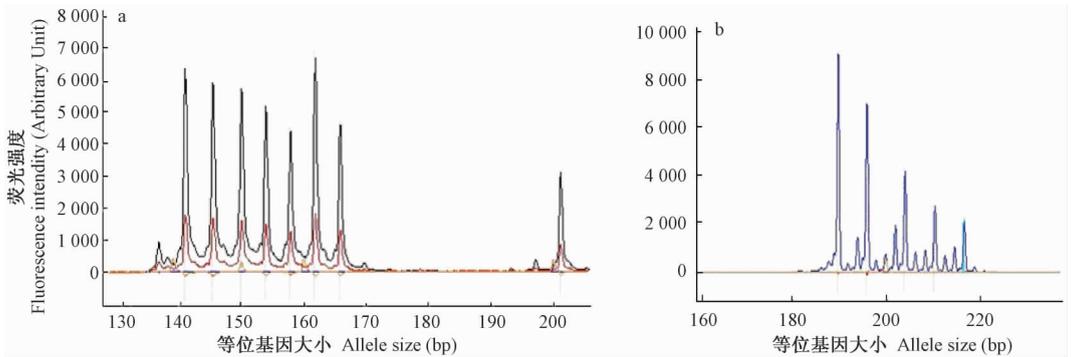


图 1 GeneMarker1.6 软件读取等位基因峰图

Fig.1 The electropherogram peaks differing in size from one individual were read by GeneMarker 1.6 software

a. 位点 LS68 在其中 1 尾达氏鲤中所扩增的等位基因峰图, 有 8 个等位基因, 分别为 141 bp、145 bp、149 bp、153 bp、157 bp、161 bp、165 bp、201 bp; 红色峰表示噪音值, 黑色峰表示等位基因大小。b. 位点 HLJSX24 在另外 1 尾达氏鲤中所扩增的等位基因峰图, 有 5 个等位基因, 分别为 190 bp、196 bp、204 bp、210 bp、216 bp; 蓝色峰表示等位基因大小。

a. Eight alleles, 141 bp, 145 bp, 149 bp, 153 bp, 157 bp, 161 bp, 165 bp, 201 bp, that found in the electropherogram peaks of LS68 from one individual; Read peak indicates noise, black peak indicates allele size. b. Five alleles, 190 bp, 196 bp, 204 bp, 210 bp, 216 bp, that found in the electropherogram peaks of HLJSX24 from another individual; blue peak indicates allele size.

3 讨论

通过测定鲟鱼类的 DNA 含量来确定其倍性的方法主要有显微分光光度计法和流式细胞仪法两种(张四明等 1999, 尹洪滨等 2004), 但也有运用微卫星遗传标记法来确定鲟鱼倍性的研究(Ludwig et al. 2001, Drauch et al. 2011)。研究表明, 同种鲟鱼不同的研究方法得出的染色体数目会有细小差别, 比如, 有研究表明高首鲟的染色体数目是 230 条(Hedrick et al. 1991), 也有研究报道为 (248 ± 8) 条(Fontana 1994), 还有研究结果为 276 条(Eenennaam et

al. 1998), 这可能主要与鲟鱼类普遍存在微型染色体有关。根据染色体数目或核 DNA 含量, 现存的鲟形目可以分为三类倍性水平: (1) 功能性二倍体或进化性四倍体物种, 染色体数目约为 120 条, DNA 含量为 3.2 ~ 4.6 pg; (2) 功能性四倍体或进化性八倍体物种, 染色体数目约为 250 条, DNA 含量为 6.1 ~ 9.6 pg; (3) 功能性六倍体或进化性十二倍体物种, DNA 含量约为 13 ~ 14 pg(Fontana et al. 2008)。据此, 达氏鲤应该属于第二种。

Serebryakova(1972) 最早分析得到达氏鲤的染色体数为 $2n = 60$, 这是对达氏鲤染色体倍

性的最早研究,之后对达氏鳇的倍性研究逐渐增多。Burtzev 等(1976)测得达氏鳇染色体为 120 条;Birstein 等(1993)利用流式细胞仪测得达氏鳇 DNA 含量为 3.74 ~ 3.81 pg,推测其染色体数目为 120 条;Ludwig 等(2001)采用微卫星遗传标记法,通过 6 个位点的等位基因数推断达氏鳇为四倍体(4n);尹洪滨等(2004)采用流式细胞仪法测得达氏鳇的体细胞 DNA 含量为 4.77 pg,推断其属于四倍体类型,上述这些研究都认为达氏鳇应该被归类为功能性二倍体或进化性四倍体物种。但是随着研究方法的不断发展,近年来也出现了与以前不同的观点,Vasil'ev 等(2009)测得达氏鳇染色体为(268 ± 4)条;Zhou 等(2011)测得达氏鳇的 DNA 含量为 8.3 pg,推测染色体数目为 250 条,这些研究均认为达氏鳇应该被归类为功能性四倍体或进化性八倍体物种。从线粒体 DNA 系统发育树来看,王巍等(2009)用 D-loop 全长基因构建了部分鲟鱼的系统发育树,发现达氏鳇与达氏鲟(*A. dabryanus*)、施氏鲟和高首鲟聚为一枝,已知达氏鲟、施氏鲟和高首鲟为八倍体物种(张四明等 1999, Drauch et al. 2011),因此从这种进化关系中我们也可以推测达氏鳇可能属于八倍体物种。本实验选取了 9 个微卫星位点,结果表明大部分位点显示达氏鳇倍性大于二倍性,位点 LS68 甚至显示达氏鳇为八倍性,而运用 POLYSAT 软件对每个达氏鳇个体的倍性进行分析,76.92% 的达氏鳇个体显示为六倍体,15.38% 个体显示为八倍体,7.79% 个体显示为四倍体。因此我们认为达氏鳇应该为八倍体物种,而其中的四倍体、六倍体个体是由于这些个体在所选取的微卫星位点中存在部分纯合等位基因,导致了多数个体显示为六倍体。由于微卫星具有高多态性,随机分布于核基因组中,且遵循孟德尔遗传方式等特点,因此可以通过计算不同位点的等位基因数目来估计该物种的倍性,假设每个位点的等位基因数目反映了该物种的最低倍性水平(Ludwig et al. 2001),再结合最新的多倍体分析软件得出达氏鳇为八倍体物种,可靠性强,而且这一结论与近年来支持达

氏鳇为进化性八倍体物种的研究结果一致(Vasil'ev et al. 2009, Zhou et al. 2011)。

在鱼类中普遍存在着多倍体现象,而且多倍体在鱼类进化中起了重要作用,大量研究表明鲟形目存在多倍体进化(Havelka et al. 2011)。从过去到现在的研究中可以发现,达氏鳇的染色体数目和 DNA 含量在不断的增多,这种基因组大小的变化可能是达氏鳇自发地发生了多倍体进化(Vasil'ev et al. 2010)。目前对鲟鱼的自发性多倍体个体的产生机制尚无定论,但抑制减数分裂、未减数配子和多精入卵被认为是导致这种倍性自然进化的三个可能原因(Zhou et al. 2011)。另外,鱼类也普遍存在基因组重复,与其他鱼类类群的单基因组复制事件相比,基因组的复制在鲟鱼进化过程中反复出现,基因沉默、染色体重排、转座事件在鲟鱼基因组的形成中发挥着重要作用(Ludwig et al. 2001, Zhou et al. 2011)。基因组重复已经永久地塑造了许多高等真核生物基因组的结构和功能(Lee et al. 2013)。多倍体化和基因组重复在鲟形目鱼类的进化及物种形成过程中扮演着重要的角色,因此测定达氏鳇的倍性可以更好地了解其在细胞学水平上的进化地位,也可以为种质资源的保护和鲟鱼养殖业的规范提供科学依据。

参 考 文 献

- Birstein V J, Poletaev A I, Goncharov B F. 1993. DNA content in Eurasian sturgeon species determined by flow cytometry. *Cytometry*, 14(4): 377 - 383.
- Burtzev I A, Nikoljukin L J, Serebryakova E V. 1976. Karyology of the Acipenseridae family in relation to the hybridization and taxonomy problems. *Ichthyologia*, 8(1): 27 - 34.
- Clark L V, Jasieniuk M. 2011. POLYSAT: an R package for polyploid microsatellite analysis. *Molecular Ecology Resources*, 11(3): 562 - 566.
- Drauch S A, Gille D, Mahardja B, et al. 2011. Neutral markers confirm the octoploid origin and reveal spontaneous autopolyploidy in white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *Journal of Applied Ichthyology*, 27(Suppl 2): 24 - 33.
- Eenennaam A L, Murray J D, Medrano J F. 1998. Mitotic analysis of the North American white sturgeon, *Acipenser*

- transmontanus* Richardson (Pisces, Acipenseridae), a fish with a very high chromosome number. *Genome*, 41(2): 266 – 271.
- Fontana F. 1994. Chromosomal nucleolar organizer regions in four sturgeon species as markers of karyotype evolution in Acipenseriformes (Pisces). *Genome*, 37(5): 888 – 892.
- Fontana F, Congiu L, Mudrak V A, et al. 2008. Evidence of hexaploid karyotype in shortnose sturgeon. *Genome*, 51(2): 113 – 119.
- Havelka M, Kaspar V, Hulak M, et al. 2011. Sturgeon genetics and cytogenetics: a review related to ploidy levels and interspecific hybridization. *Folia Zoologica*, 60(2): 93 – 103.
- Hedrick R P, McDowell T S, Rosemark R, et al. 1991. Two cell lines from white sturgeon. *Transactions of the American Fisheries Society*, 120(4): 528 – 534.
- Lee T H, Tang H, Wang X, et al. 2013. PGDD: a database of gene and genome duplication in plants. *Nucleic Acids Research*, 41(1): 1152 – 1158.
- Ludwig A, Belfiore N M, Pitra C, et al. 2001. Genome duplication events and functional reduction of ploidy levels in sturgeon (*Acipenser*, *Huso* and *Scaphirhynchus*). *Genetics*, 158(3): 1203 – 1215.
- May B, Krueger C C, Kincaid H L. 1997. Genetic variation of microsatellite loci in sturgeon: primer sequence homology in *Acipenser* and *Scaphirhynchus*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54(7): 1542 – 1547.
- McQuown E C, Sloss B L, Sheehan R J, et al. 2000. Microsatellite analysis of genetic variation in sturgeon: new primer sequences for *Scaphirhynchus* and *Acipenser*. *Transactions of the American Fisheries Society*, 129(6): 1380 – 1388.
- Palop-Esteban M, Segarra M J G, González-Candelas F. 2011. Polyploid origin, genetic diversity and population structure in the tetraploid sea lavender *Limonium narbonense* Miller (Plumbaginaceae) from eastern Spain. *Genetica*, 139(10): 1309 – 1322.
- Serebryakova E V. 1972. Some data on the chromosome complexes in Acipenseridae // Cherfas B I. *Genetics, Selection, and Hybridization of Fish* (Translated from Russian by Israel Program for Scientific Translations). Jerusalem: Keter' Press Binding, Wiener Bindery Ltd, 98 – 106.
- Vasil'ev V P, Vasil'eva E D, Shedko S V, et al. 2009. Ploidy levels in the kaluga, *Huso dauricus* and Sakhalin sturgeon *Acipenser mikadoi* (Acipenseridae, Pisces). *Doklady Biological Sciences*, 426(1): 228 – 231.
- Vasil'ev V P, Vasil'eva E D, Shedko S V, et al. 2010. How many times has polyploidization occurred during acipenserid evolution? New data on the karyotypes of sturgeons (Acipenseridae, Actinopterygii) from the Russian Far East. *Journal of Ichthyology*, 50(10): 950 – 959.
- Zhou H, Fujimoto T, Adachi S, et al. 2011. Genome size variation estimated by flow cytometry in *Acipenser mikadoi*, *Huso dauricus* in relation to other species of Acipenseriformes. *Journal of Applied Ichthyology*, 27(2): 484 – 491.
- 李融. 2008. 中国鲟鱼养殖产业可持续发展研究. 青岛: 中国海洋大学博士学位论文, 17 – 23.
- 罗相忠, 刘恒顺. 2001. 我国鲟鱼类渔业生物学研究现状. *湖北农学院学报*, 21(1): 89 – 93.
- 邵昭君, 赵娜, 朱滨, 等. 2002. 铲鲟微卫星引物对中华鲟的适用性研究. *水生生物学报*, 26(6): 577 – 584.
- 宋苏祥, 刘洪柏, 孙大江, 等. 1997. 施氏鲟的核型及 DNA 含量研究. *遗传*, 19(3): 5 – 8.
- 孙大江, 曲秋芝, 马国军, 等. 2003. 中国鲟鱼养殖概况. *大连水产学院学报*, 18(3): 216 – 221.
- 王巍, 朱华, 胡红霞, 等. 2009. 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*, 30(5): 487 – 496.
- 吴文化. 2010. 几种鲟鱼及杂交种 DNA 条形码研究及分子鉴别. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 8 – 9.
- 尹洪滨, 孙中武, 孙大江. 2004. 五种养殖鲟、鲤鱼 DNA 含量的比较. *上海水产大学学报*, 13(2): 111 – 114.
- 于冬梅, 匡友谊, 马海涛, 等. 2007. 用磁珠富集法制备史氏鲟的微卫星分子标记. *大连水产学院学报*, 22(6): 431 – 435.
- 张四明, 晏勇, 邓怀, 等. 1999. 几种鲟鱼基因组大小、倍体的特性及鲟形目细胞进化的探讨. *动物学报*, 45(2): 200 – 206.