

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2018.17326

中国达氏鳇野生群体和两个养殖群体的线粒体遗传多样性分析

户国¹, 程磊¹, 马波¹, 孙大江¹, 王斌¹, 刘晓勇¹, 柳淑芳², 张颖¹

1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 黑龙江省冷水性鱼类种质资源及增养殖重点开放实验室, 黑龙江 哈尔滨 150070;

2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071

摘要: 达氏鳇(*Huso dauricus*)是黑龙江流域土著鲟, 近几十年来野生资源急剧下降, 被确定为濒危物种之一。本研究采用线粒体 DNA 的 Cyt *b* 基因和 D-loop 区域的多态性信息评估了黑龙江抚远段野生群体、北京房山国家级鲟鱼原种场的保种群体及浙江衢州国家级鲟鱼良种场的繁殖群体等 3 个达氏鳇群体的遗传多样性水平。所有测试个体在 Cyt *b* 基因位点的核苷酸水平上没有检测到多样性, 均具有相同的 Cyt *b* 单倍型, 而在 D-loop 区域中发现了 9 种单倍型, 对于 D-loop 区, 单倍型多样性(H_d)达到 0.593, 但核苷酸多样性(π)仅为 0.00213。在 8 尾野生个体中检测到 6 种 D-loop 单倍型, 2 个养殖群体共计 58 尾个体共计检出 5 种 D-loop 单倍型个体。分析结果显示: 野生达氏鳇群体遗传多样性极低, 历史上可能经历过严重的遗传瓶颈, 同时达氏鳇人工繁殖过程中每批次可能只有极少个体参与了繁殖。此外, 基于 Cyt *b* 基因部分序列的分析结果提示, 达氏鳇与其他太平洋鲟类的亲缘关系较近, 而与欧鳇(*Huso huso*)关系较远, 传统上鳇属(*Huso*)的分类地位得不到有效的分子生物学数据支持。

关键词: 达氏鳇; Cyt *b*; D-loop; 遗传多样性; 系统发生

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2018)04-0803-08

达氏鳇(*Huso dauricus*)是最大型淡水鱼类之一, 最大个体能达到 1 t 以上, 隶属于鲟形目(Acipenseriformes)、鲟科(Acipenseridae)、鳇属(*Huso*), 是黑龙江流域特产的两种鲟科鱼类之一^[1]。黑龙江鳇, 包括施氏鳇(*Acipenser schrenckii*)和达氏鳇(*Huso dauricus*), 民间统称为鲟鲤鱼, 其中达氏鳇个体大, 鱼卵制成的鱼子酱品质好, 深受市场欢迎, 在被列为重点保护野生动物之前是产区的重要捕捞对象, 历史上的资源较丰富, 产量很高^[2]。黑龙江在我国境内的江段, 鳇年产量为 200 t 左右。20 世纪 80 年代以来, 国内鱼子酱价格与国际市场接轨后迅速提高, 极大地激发了捕捞强度, 捕捞产量在 1987 年达到历史峰值 452 t。自此之后, 过量捕捞加之生境破坏、环境污染等原因, 致使黑龙江中上游段资源急剧下降, 捕捞

的重点区域转移到中国境内黑龙江下游的抚远江段, 捕捞江段缩短了约 756 km。1987—1991 年, 年均捕捞量为 322.2 t, 1992—1997 年年均捕捞量下降至 169.5 t, 1997 年下降为 136 t, 1998 年又下降至 130 t, 仅为 1987 年我国历史最高年产量的 28.8%^[3]。

目前, 黑龙江流域鳇捕捞作业区只限于黑龙江干流抚远段, 产量不足 50 t, 几乎全部为施氏鳇, 达氏鳇野生资源破坏程度极为严重, 我国境内只在抚远等地偶尔能捕获到野生个体, 已不能形成稳定捕捞产量^[3]。在 2016 年环境保护部和中国科学院联合编制的《中国生物多样性红色名录——脊椎动物卷》中, 野生(达氏)鳇被评估为极度濒危, 需要加以重点保护。在新公布的《国家重点保护野生动物名录(征求意见稿)》中达氏鳇

收稿日期: 2017-09-12; 修订日期: 2017-10-29.

基金项目: 国家科技重大专项子课题(2015ZX07201-008-05); 中国水产科学研究院基本科研业务费专项(2014A11).

作者简介: 户国(1984—), 博士, 副研究员, 主要研究方向为分子数量遗传与水产动物育种. E-mail: huguo@126.com

通信作者: 张颖, 副研究员, 主要从事冷水性鱼类养殖和遗传育种研究. E-mail: zhangying@hrfri.ac.cn

被建议列为国家 I 级保护动物。中国水产科学研究院黑龙江水产研究所的科研人员在 20 世纪 90 年代开始了达氏鳇的人工繁殖和驯化工作,随后形成了一定规模的商业养殖^[3]。研究人员发现黑龙江土著达氏鳇♀×施氏鲟♂种间杂交组合(俗称“大杂交”)后代生长速度快、性成熟较早、怀卵量大、加工的鱼子酱品质好,在生产性能上有明显的优势,并成功培育良种“鲟龙 1 号”,通过国家水产原良种委员会审定并于 2017 年公告(品种登记号:GS-02-002-2016)。我国生产的第一种商品鲟鱼子酱品牌卡露伽(Kaluga queen),也源于达氏鳇的俄语名称^[4]。

本研究以线粒体 DNA 的 Cyt *b* 基因和 D-loop 区部分序列为标记评估了黑龙江抚远段野生群体、北京房山国家级鲟鱼原种场的保种群体及浙江衢州国家级鲟鱼良种场的繁殖群体等 3 个达氏鳇群体的遗传多样性水平。此外,基于 Cyt *b* 基因部分序列对达氏鳇在鲟形目内的系统分类地位进行了分析探讨。本研究的结果可以为达氏鳇的野生资源保护与修复及养殖群体的种质评价与遗传管理提供参考依据,为采用达氏鳇作为亲本材料的种质创新奠定必要的遗传学数据基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 达氏鳇的外部形态特征 达氏鳇体型(图 1)呈长梭形,腹部扁平,歪尾;头部及身体前端略粗,躯干部横切面呈五角形,向后渐细。头呈三角形,吻较尖,头部腹面及侧面有许多梅花状的罗伦氏器。口下位,呈半月形,左右鳃盖膜相连,与峡部不相连。吻须 4 根,须基呈品字形。躯干部具有 5 行骨板,背中线上 1 行,左右体侧各 1 行,左右腹部各 1 行。



图 1 达氏鳇成体形态特征

Fig. 1 Morphological characteristics of adult *Huso dauricus*

1.1.2 样本来源 本研究中涉及的达氏鳇样品来源于 1 个野生群体和 2 个养殖群体,共计 66 尾。其中,野生种群样本有 8 尾鱼鳍条样本,是由农业部黑龙江流域渔业资源环境科学观测实验站从中国黑龙江抚远段捕获的达氏鳇个体收集获得,体长范围为 190~240 cm,体重范围为 180~400 kg。养殖群体分别来自于中国水产科学研究院鲟鱼繁育技术工程中心(31 尾)与浙江衢州千岛湖鲟龙科技有限公司的国家级鲟鱼良种场(27 尾),均为野生达氏鳇繁育 F₁ 代性成熟亲鱼,体长范围为 190~230 cm,体重范围为 100~150 kg。

1.1.3 样本采集 样本采集时,剪取少量胸鳍组织,放入无水乙醇中固定保存。回实验室后,用基因组 DNA 小量提取试剂盒(Life Sciences, 美国)遵照试剂盒说明书提供的方法分离纯化总 DNA。随后,取 5 μL 溶解后的 DNA 用 1%的琼脂糖凝胶电泳,检测 DNA 的浓度与质量,稀释到约 50 ng/μL 备用。

1.2 线粒体 DNA 扩增和测序

利用引物 L15267 (5'-AATGACTTGAAGA-ACCACCGT-3')^[5]和 H1065-12s (5'-GGCATAGT-GGGGTATCTAATCCCAGTTTGT-3')^[6]组合,可以同时扩增达氏鳇线粒体 DNA 的 Cyt *b* 基因和 D-loop 区的全序列,目的片段长度约 3 kb。PCR 反应体系体积为 50 μL,含有 1 × Ex Taq mix(宝生物,大连),约 50 ng DNA 模板,L15267 和 H1065-12S 引物各 20 pmol。PCR 扩增程序如下:94℃预变性 5 min;94℃变性 30 s,56℃退火 30 s,72℃延伸 3 min,40 个循环;最终 72℃延伸 15 min。PCR 产物送商业测序公司,用本课题组自行设计合成的 H15396 (5'-GGATTGAGAAAGGGGTCGG-3')和 H129 (5'-GCGGAGACTTGCATGTGTAA-3')引物测序。

1.3 数据分析

用 ClusterX v1.83 软件对测序结果进行排序(alignment)^[7],人工检查校正。对齐后的序列截取相同长度,用 DNAsp v5.10 软件统计单倍型数、单倍型多样性、核苷酸多样性等参数^[8]。以鲟形目近缘种的同源 DNA 为外群,利用 MEGA7 软件^[9]中邻接法(neighbor-joining, NJ)^[10],分析了本研究测得的 Cyt *b* 单倍型联通鲟形目已知同源序列 25

个物种的演化关系,同时以最近缘的北美洲中吻鲟(*Acipenser medirostris*)和库页岛鲟(*Acipenser mikadoi*)线粒体 D-loop 区同源序列为外类群,分析了达氏鳢不同 D-loop 单倍型间的亲缘关系。邻接法具体参数如下: 碱基替换模型为 maximum composite likelihood, 碱基替换包括转换(transitions)和颠换(transversions), 分支树可信度的测试使用自展法(bootstrap)检验^[11], 经 1000 次自展检验得到分支树节点的支持率, 其余参数选择 MEGA7 的默认值。

2 结果与分析

2.1 测序与排序

本研究中扩增引物可以扩增出所有样品的完整 Cyt *b* 基因和 D-loop 序列,但是由于鲟科鱼类中 D-loop 区的 5'端起始处普遍存在重复序列,直接 PCR 产物测序难以测通。所以最终用 H15396 和 H129 作为测序引物避开了重复区域,分别测定 Cyt *b* 基因 5'端和 D-loop 区 3'端的部分序列。经过排序对齐后获得了所有 66 尾个体的 Cyt *b* 基因 5'端 806 bp 序列和 D-loop 区 3'端 790 bp 序列。测定的达氏鳢 Cyt *b* 基因部分序列的 A、T、G、C 四种碱基的比例分别是 26.30%、26.67%、15.14%、31.89%, A+T=52.97%, G+C=47.03%, 其中碱基 G 含量明显低于其他 3 种碱基的含量,但是 A+T 的含量仅略高于 G+C 的含量。测定的达氏鳢 D-loop 区 A、T、G、C 四种碱基的平均比例分别为 32.45%、30.01%、15.02%、22.52%, A+T=62.46%, G+C=37.54%, A+T 的含量为明显高于 G+C 的含量,碱基组成具有明显偏倚性,与其他鱼类的线粒体 D-loop 区碱基组成情况一致。

2.2 线粒体 DNA 多样性

在所有测定的 66 尾个体中, Cyt *b* 基因位点不存在多态, 只获得了 1 种 Cyt *b* 基因的单倍型, 因此未对样本 Cyt *b* 基因的多样性做进一步分析。而线粒体 DNA 的 D-loop 区 3'端在 66 尾个体中共发现 10 个变异位点, 定义了 9 种 D-loop 单倍型(CR1~CR9), 结果如表 1 所示。其中抚远的 8 尾野生个体中共能发现 6 种单倍型, 这 6 种单倍型存在 8 个变异碱基, 而余下的 58 尾养殖个体却只

有 5 种单倍型, 这 5 种单倍型中共存在 6 个碱基的差异。D-loop 单倍型序列信息已提交 GenBank (Accession Numbers: MF940101~MF940110), 各个群体的单倍型分布如表 1 所示。

表 1 达氏鳢 D-loop 区部分序列不同单倍型在三个群体中的分布
Tab. 1 The distribution of the haplotypes of partial D-loop sequences in three Kaluga populations

单倍型序号 haplotype name	个体数 number of individuals	野生群体 wild population	衢州群体 Quzhou population	房山群体 Fangshan population
CR1	41	—	10	31
CR2	4	—	4	—
CR3	3	2	1	—
CR4	4	1	3	—
CR5	9	—	9	—
CR6	1	1	—	—
CR7	2	2	—	—
CR8	1	1	—	—
CR9	1	1	—	—
全部 total	66	8	27	31

表 1 中的结果显示, 抚远野生群体的 8 尾个体的 6 种单倍型中有 4 种是独享的, 而养殖的 58 尾个体中只检测到 5 种单倍型, 其中衢州群体 5 种单倍型均能检测到, 而房山群体中历年采集的累计 31 尾个体样品只检测到 1 种单倍型。本研究中将两个养殖群体合并后对野生和养殖样本线粒体 DNA 的 D-loop 部分序列进行了多样性比较分析, 结果显示(表 2), 对于 D-loop 区, 以全部样品分析, 单倍型多样性 H_d 达到 0.593, 但核苷酸多样性(π)仅为 0.00213。抚远野生群体的单倍型多样性($H_d=0.929$)要远高于养殖群体 ($H_d=0.477$)。

2.3 系统发育分析

鲟形目现有鱼类 27 种^[13], 除锡尔河拟铲鲟(*Pseudoscaphirhynchus fedtschenkoi*)未获得同源的 Cyt *b* 基因片段外, 其余 26 种鲟形目鱼类的 Cyt *b* 基因同源片段均包括在了本研究中。邻接法分析结果显示鲟形目鱼类可以分成 5 大类群(图 2), 达氏鳢与中吻鲟和库页岛鲟的亲缘关系最近。鲟形目鱼类线粒体 D-loop 区多样性较高, 且具有重复结构, 不太适合远缘物种间的系统发育分析^[12-13]。因此在 D-loop 单倍型的分析中, 本研究只选择

表 2 达氏鳇野生和养殖群体 D-loop 部分序列多样性比较

Tab. 2 Diversity comparison of partial D-loop sequences in wild and cultured *Huso dauricus* populations

样本 sample	样本数 number of individuals	单倍型数(H) number of haplotypes	单倍型多样性(H _d) haplotype diversity	核苷酸多样性(π) nucleotide diversity	多态位点数(S) number of polymorphic sites	平均核苷酸差异(K) average number of nucleotide differences
全部 total	66	9	0.593	0.00213	10	1.843
野生样本 wild population	8	6	0.929	0.00357	8	3.143
养殖群体 cultured population	58	5	0.477	0.00187	6	1.618

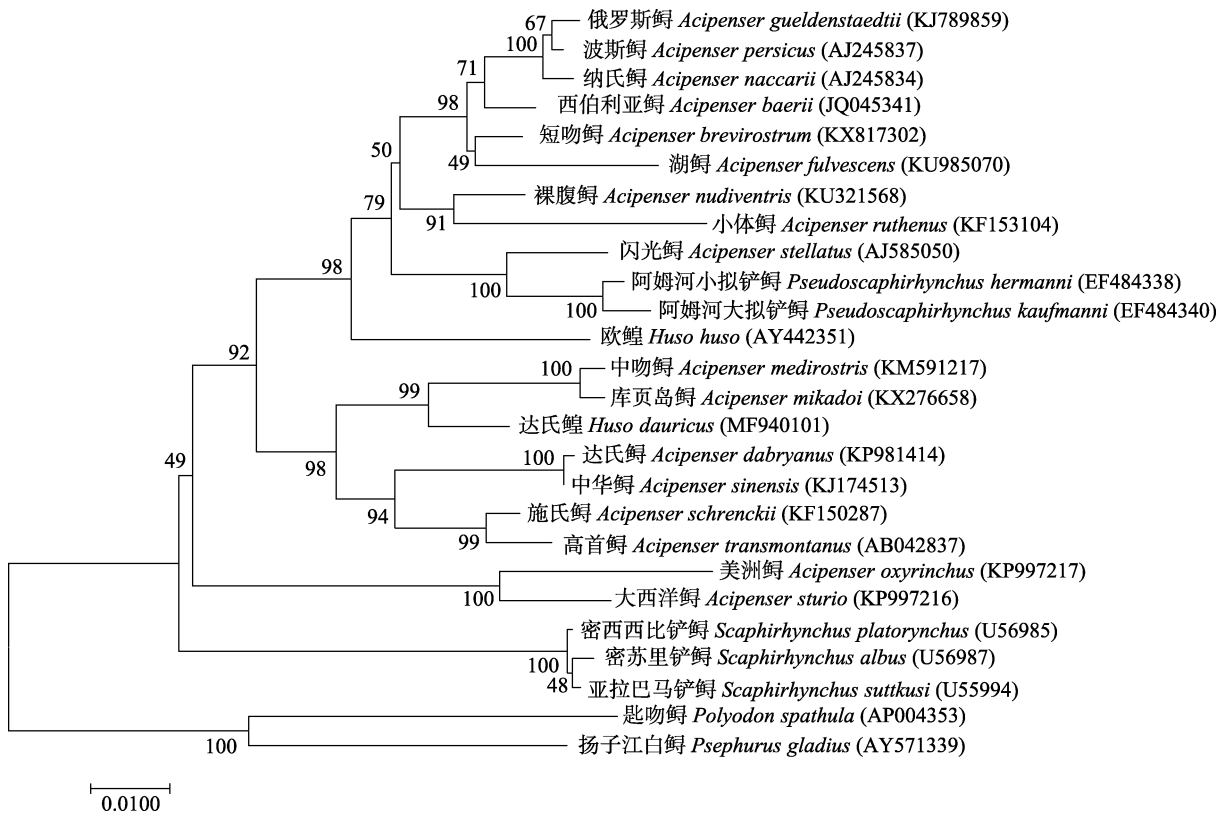


图 2 基于 Cyt b 基因部分序列以邻接法构建的鲟形目鱼类系统发育树

Fig. 2 The phylogenetic tree of the Acipenseriformes family constructed based on the partial sequence of the Cyt b gene by the neighbour-joining method

Acipenser medirostris 和 *Acipenser mikadoi* 同源序列为外类群, 结果所有达氏鳇 D-loop 单倍型聚在一起形成单系, 与 *Acipenser medirostris* 和 *Acipenser mikadoi* 的 D-loop 序列分化明显(图 3)。

3 讨论

进入 21 世纪以来, 中国鲟养殖业形成了一整套独具特色的人工繁殖、养殖技术, 基本解决了鲟人工繁殖、苗种培育和成鱼养殖过程中遇到的技术难题, 养殖规模迅速扩大, 已经成为世界第

一大鲟养殖国^[14]。2015 年产量为 9.08 万 t, 约占世界总产量的 86.5%^[15]。我国鲟主养品种也由最初的 10 多种逐渐集中为 5 种左右, 即施氏鲟、黑龙江鲟鲤杂交种(大杂交)、施氏鲟与西伯利亚鲟(*Acipenser baeri*)杂交种、西伯利亚鲟和匙吻鲟(*Polyodon spathula*), 约占鲟养殖总产量的 90%以上。现阶段, 我国鲟养殖业面临的最主要的问题之一是不注重鲟种质的遗传管理, 导致杂交制种工序流程混乱, 种质混杂, 杂交苗种来源不清, 甚至出现杂交种之间的杂交, 导致养殖鲟养殖性

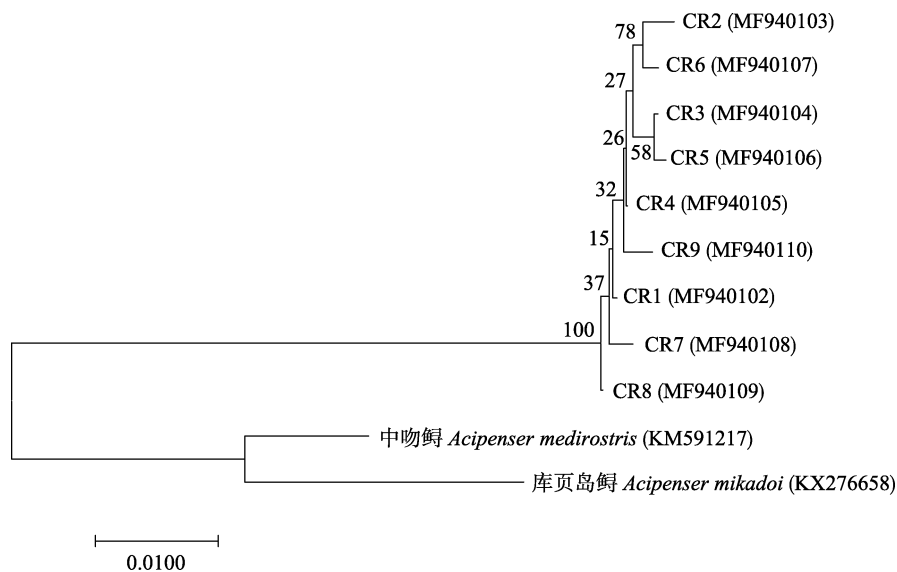


图 3 邻接法构建的达氏鳇 D-loop 区单倍型关系树

Fig. 3 Haplotypes tree of D-loop region constructed the neighbour-joining method

能以及产品品质持续下降。因此，主要养殖鲟品种的考种、保种以及遗传管理等基础性科研工作亟待开展。

野生达氏鳇幼鱼进行较大规模的人工饲料驯化养殖，驯养成活率一般不超过 10%，近期虽有较大程度改善，可以达到 40%~50%^[3]，但由于鳇养殖周期较长，全国范围内的鳇养殖群体规模一直很小。此外，目前在黑龙江中也只是偶尔能捕捞到达氏鳇成鱼，对养殖群体补充种质来源的能力有限。现阶段当务之急是测定并最大程度上维持达氏鳇群体遗传多样性水平，避免因过度近交造成亲鱼种用性能下降。相较于核基因组，线粒体 DNA 通常有更高的变异率。虽然有证据表明线粒体基因在某些生物类群、特定情况下也会受选择(如人类中存在线粒体相关的疾病等)，但是多数时候可以认为是中性的^[16]。同时，脊椎动物的线粒体 DNA 多是单倍体、母系遗传、缺乏遗传重组，遗传方式相对简单。因此，比较适合作为开展群体遗传学研究中的标记，特别是对于相关工作基础较薄弱的物种，适宜作为入手开展相关研究的遗传标记。线粒体基因虽然无法反映核基因组的群体遗传特征，但是从线粒体基因可以初步了解物种的情况，特别是母系的遗传结构，为后续研究核基因组结构奠定基础。本研究

及野生和养殖群体共计 66 尾样本在线粒体 Cyt *b* 基因均共享同一个单倍型，说明不论养殖群体还是野生群体的达氏鳇样本，其遗传多样性都极低。同时，有研究表明线粒体 D-loop 区作为非编码区遗传多样性更为丰富^[16]。因此，本研究采用 D-loop 区进一步探讨达氏鳇的遗传多样性。

本研究在达氏鳇 D-loop 区共检测到 9 种单倍型，就 D-loop 区的情况看，野生样本遗传多样性相对要高于养殖群体，但是总体而言多样性水平也较低，核苷酸多样性水平仅为 0.00357。一般说来，硬骨鱼类的线粒体 DNA 中 Cyt *b* 基因和 D-loop 区通常是紧密相邻的(一般只间隔两个 tRNA，约 150 个碱基)，在紧密连锁的两个基因座位上遗传多样性水平存在显著差异的现象，提示野生达氏鳇在历史上可能经历了严重的遗传瓶颈。同时，考虑到达氏鳇较长的世代间隔，其种群遗传多样性可能在较长的一段时间里一直处在一个很低的水平。遗传多样性是生物多样性的重要层面，在濒危物种保护工作中，维护较高水平的遗传多样性显得尤为重要。当前，达氏鳇的野生资源数量已经极度衰退，本研究则进一步揭示其遗传多样性水平也极为低下。因此，对达氏鳇野生群体开展抢救性的保护工作已经刻不容缓。本研究结果还显示，野生样本的 6 个 D-loop 单倍型

中只有 2 个是和养殖群体共享的。与淡水渔业国家工程技术研究中心(北京)保有的达氏鳇群体 D-loop 区遗传多样性检测结果类似^[17], 房山国家级鳇原种场保有的达氏鳇群体 31 尾个体只出现了 1 个单倍型, 相比之下, 衢州养殖群体的遗传多样性更为丰富一些, 有 2 个单倍型是该群体独享的。上述现象提示, 现行养殖群体人工繁殖过程中每批次可能只有极少数个体参与了繁殖。考虑到达氏鳇已经极度濒危, 其野生种群遗传多样性也极低, 在人工繁殖过程中必须加强遗传管理, 建立系谱档案, 避免遗传多样性进一步降低, 否则将可能造成不可挽回的遗传多样性丧失。

此外, 鳇起源于泥盆纪(距今约 4.5 亿~3.5 亿年前), 为软骨硬鳞下纲(Chondrostei) 中在现生动物中唯一目^[18]。在基因组进化过程中, 可以观测到脊椎动物基因组中存在大量的重复元件, 同时大量证据表明脊椎动物在进化中经历过两轮的全基因组加倍(2R 假说), 而硬骨鱼类在相较于四足动物还经历过一轮全基因加倍(3R 假说), 鲟形目鱼类在基础上还有更复杂的基因组演化, 鲟形目鱼类细胞遗传学结果显示, 现存鲟鱼类染色体倍性主要为四倍体、八倍体、十六倍体等四的整数倍, 一般倾向于鲟比其他鱼类还多经历了一轮全基因组加倍(4R 假说)^[18-20]。而且, 鲟形目鱼类在减数分裂过程中细胞遗传学行为异常复杂, 大量微小染色体不参与联会, 存在非孟德尔遗传行为, 采用 SSR 和 SNP 等核染色体传统 DNA 分子标记方法实质上无法准确分析鲟鱼类的群体遗传多样性水平。因此, 本研究中没有采用常规的核染色体分子标记用于群体遗传学分析。

关于达氏鳇的分类地位, 传统分类学认为现生的 27 种鲟形目鱼类可以分成 2 个科, 即鲟科(Acipenseridae)和匙吻鲟科(Polyodontidae), 后者仅有 2 个种, 即匙吻鲟和扬子江白鲟(*Psephurus gladius*)^[20]。本研究中, 匙吻鲟科两个种最早与鲟形目其他种类分开并形成单系(图 1 分支 I)。鲟科形态分类上认为有四个属, 分别是鲟属(*Acipenser*)、鳇属(*Huso*)、铲鲟属(*Scaphirhynchus*)、拟铲鲟属(*Pseudoscaphirhynchus*), 一般认为可以归入两个亚科, 前两者构成鲟亚科(Acipenser-

inae), 后两者构成铲鲟亚科(Scaphirhynchinae)。与前人基于分子数据的研究类似^[19, 21-22], 本研究中鲟科种类聚成四类, 但是除了铲鲟属(图 1 分支 II)自成一个单系外, 其余三类与传统分类的三个属并不一一对应。大西洋鲟(*Acipenser sturio*)和美洲鲟(*Acipenser oxyrinchus*)亲缘关系最近, 形成一个单系(图 1 分支 III)。余下的种类大致按照地理分布聚成了太平洋鲟类(IV)和大西洋鲟类(V)。传统分类中的欧鳇(*Huso huso*)和达氏鳇(*Huso dauricus*)分别归入大西洋鲟类和太平洋鲟类, 鳇属得不到分子生物学数据的支持。由于锡尔河拟铲鲟在 20 世纪 60 年代后几乎绝迹, GenBank 中并未收录该物种的 Cyt b 基因序列, 本研究中只获得了拟铲鲟属的三个种中 2 个种的 Cyt b 同源序列, 系统发育分析显示它们也应该归入大西洋鲟类。本研究中, 达氏鳇与北美洲中吻鲟和库页岛鳇的系统亲缘关系距离最近, 这与三者均处于西北太平洋区域的地理分布格局基本一致。

参考文献:

- [1] Zhang J M. Ichthyography of Heilongjiang Province[M]. Harbin: Heilongjiang Science and Technology Press, 1995. [张觉民. 黑龙江省鱼类志[M]. 哈尔滨: 黑龙江科技出版社, 1995.]
- [2] Ren M L. Fish Records in Heilongjiang River[M]. Harbin: Heilongjiang People Press, 1981. [任慕莲. 黑龙江鱼类[M]. 哈尔滨: 黑龙江人民出版社, 1981.]
- [3] Sun D J. Sturgeon Culture in China[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2015. [孙大江. 中国鲟鱼养殖[M]. 北京: 中国农业出版社, 2015.]
- [4] Lin L S, Fang H, Pan Y P, et al. Discussion on industrialization development of sturgeon caviar processing in China[J]. Progress in Fishery Sciences, 2010, 31(5): 117-121. [林连升, 方辉, 潘咏平, 等. 我国鲟鱼籽酱加工产业化开发[J]. 渔业科学进展, 2010, 31(5): 117-121.]
- [5] Briolay J, Galtier N, Brito R M, et al. Molecular phylogeny of Cyprinidae inferred from cytochrome b DNA sequences[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 1998, 9(1): 100-108.
- [6] Inoue J G, Miya M, Tsukamoto K, et al. A mitogenomic perspective on the basal teleostean phylogeny: resolving higher-level relationships with longer DNA sequences[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2001, 20(2): 275-285.
- [7] Thompson J D, Higgins D G, Gibson T J. CLUSTAL W:

- Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice[J]. *Nucleic Acids Research*, 1994, 22(22): 4673-4680.
- [8] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data[J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [9] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [10] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 1987, 4(4): 406-425.
- [11] Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap[J]. *Evolution*, 1985, 39(4): 783-791.
- [12] Zhang S M, Wu Q J, Zhang Y P. Tandem repeats of Chinese sturgeon (*Acipenser Sinensis*) and related species and its significance in evolution[J]. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2000, 16(4): 458-461. [张四明, 吴清江, 张亚平. 中华鲟 (*Acipenser sinensis*) 及相关种类的控制区串联重复序列及其进化意义[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2000, 16(4): 458-461.]
- [13] Ludwig A, May B, Debus L, et al. Heteroplasmy in the mtDNA control region of sturgeon (*Acipenser*, *Huso* and *Scaphirhynchus*)[J]. *Genetics*, 2000, 156(4): 1933-1947.
- [14] Sun D J, Qu Q Z, Zhang Y, et al. Sturgeon aquaculture in China[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2011, 24(4): 67-70. [孙大江, 曲秋芝, 张颖, 等. 中国的鲟鱼养殖[J]. *水产学杂志*, 2011, 24(4): 67-70.]
- [15] [FAO. Fishery and Aquaculture Statistics. Global capture production 1950-2015 (FishstatJ)[R]. Rome: FAO Fisheries and Aquaculture Department, 2017.
- [16] Chen X, Shen Y Y, Zhang Y P. Review of mtDNA in molecular evolution studies[J]. *Zoological Research*, 2012, 33(6): 566-573. [陈星, 沈永义, 张亚平. 线粒体DNA在分子进化研究中的应用[J]. *动物学研究*, 2012, 33(6): 566-573.]
- [17] Niu C J, Hu H X, Luo J, et al. Genetic diversity in the reserved parent fish broodstocks of *Asipenser schrenckii* and *Huso dauricus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2010, 34(12): 1795-1799. [牛翠娟, 胡红霞, 罗静, 等. 史氏鲟和达氏鳇养殖亲鱼群体遗传多样性分析[J]. *水产学报*, 2010, 34(12): 1795-1799.]
- [18] Chen J P, Sun D J, Zhang S Y, et al. Current status on phylogenesis evolution study of sturgeons[J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2004, 23(4): 374-379. [陈金平, 孙大江, 张树义, 等. 鲟鱼类系统进化的研究现状[J]. *四川动物*, 2004, 23(4): 374-379.]
- [19] Birstein V J, DeSalle R. Molecular phylogeny of Acipenserinae[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1998, 9(1): 141-155.
- [20] Chen X H. Biology and Resource Status of Sturgeon Fishes [M]. Beijing: China Ocean Press, 2007. [陈细华. 鲟形目鱼类生物学与资源现状[M]. 北京: 海洋出版社, 2007.]
- [21] Birstein V J, Doukakis P, DeSalle R. Molecular phylogeny of Acipenseridae: nonmonophyly of Scaphirhynchinae[J]. *Copeia*, 2002, 2002(2): 287-301.
- [22] Krieger J, Hett A K, Fuerst P A, et al. The molecular phylogeny of the order Acipenseriformes revisited[J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2008, 24(s1): 36-45.

Mitochondrial DNA genetic diversity in the wild and two cultured Kaluga (*Huso dauricus*) populations in China

HU Guo¹, CHENG Lei¹, MA Bo¹, SUN Dajiang¹, WANG Bin¹, LIU Xiaoyong¹, LIU Shufang², ZHANG Ying¹

1. Heilongjiang Province Cold-Water Fish Germplasm Resources and Aquaculture Key Laboratory, Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China;

2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China

Abstract: Kaluga (*Huso dauricus*) is the native sturgeon in the Amur river. Similar to other sturgeons, their populations have sharply decreased in recent decades; they have been identified as one of the most endangered species in the world. Unlike the rapid decline of wild populations, sturgeon farming has rapidly increased in China Mainland. The intra-specific hybridization of the female Kaluga and male Amur sturgeon (*Huso dauricus*♀ × *Acipenser schrenckii*♂) is widely performed, constituting a large part of sturgeon production in China. In this study, we use the Cyt *b* gene and D-loop region of mitochondrial DNA to assess the genetic diversity of three Kaluga populations, including the wild population from the Amur river, and two populations cultured in national sturgeon breeding farms located in China: one from Fangshan, in Beijing city and the other from Quzhou, in the Zhejiang province. All of the tested individuals were of identical the Cyt *b* haplotype, whereas 9 haplotypes were found in the D-loop region. There was no diversity detected at the nucleotide level on the Cyt *b* gene locus. For the D-loop region, haplotype diversity (H_d) reached 0.593, but nucleotide diversity (π) was only 0.00213. There were 6 D-loop haplotypes detected in 8 individuals from the wild population and 5 haplotypes detected in 58 individuals from the cultured populations. The results suggested the wild Kaluga population might have experienced a serious genetic bottleneck. Meanwhile, in the process of artificial propagation of Kaluga, only a few individuals might have been involved in reproduction each time in both the cultured populations. Phylogenetic tree analysis based on partial sequences of the Cyt *b* genes supported the previous results from other researchers. The phylogenetic relationship between *Huso dauricus* and other Pacific sturgeon species was close, but that between *Huso dauricus* and *Huso huso* was not. Our result implied that the prevalence of the traditional *Huso* genus was not supported by molecular genetic data.

Key words: *Huso dauricus*; Cyt *b*; D-loop; genetic diversity; phylogeny

Corresponding author: ZHANG Yin. E-mail: zhangying@hrfri.ac.cn