



•技术与方法•

# 鲟鱼分子鉴定方法的整合应用

牛晓锋<sup>1,2</sup>, 王晓梅<sup>2,3</sup>, 张研<sup>2</sup>, 赵志鹏<sup>2\*</sup>, 樊恩源<sup>2\*</sup>

1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院, 北京 100141; 3. 中国水产科学院长岛增殖实验站, 山东烟台 265800

**摘要:** 鲟形目物种是国家重点保护水生野生动物和CITES附录物种。其人工养殖种群数量众多, 种类丰富, 产品贸易量大, 但种类鉴定困难。本文在厘清当前鲟鱼商业类群的基础上, 通过分析现有种类鉴定方法, 整合了线粒体DNA遗传分析、SNP分析和微卫星DNA分析的鉴定方法, 探讨其鉴定国际贸易所涉鲟鱼的可行性。结果表明: 上述3种方法整合应用可在11种纯种鲟鱼及其正反杂交产生的杂交鲟范围内进行盲检。当前共有贸易鲟鱼36种, 其中杂交鲟14种, 杂交鲟的亲本共涉及9种鲟鱼。整合方法可准确鉴定小体鲟(*Acipenser ruthenus*)、达氏鳇(*Huso dauricus*)、施氏鲟(*Acipenser schrenckii*)、欧洲鳇(*Huso huso*)、闪光鲟(*Acipenser stellatus*)、高首鲟(*A. transmontanus*)两两杂交所产生的杂交鲟, 小体鲟为母本与纳氏鲟(*Acipenser naccarii*)或富氏鲟(*A. fulvescens*)或中华鲟(*A. sinensis*)产生的杂交鲟, 纯种的达氏鳇、高首鲟、富氏鲟和中华鲟, 但无法准确鉴定纯种的西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*)和俄罗斯鲟(*A. gueldenstaedti*)以及父母本涉及此两种鲟鱼的杂交鲟。由于已开发的分子标记仍有限, 上述结果是对当前CITES贸易所涉鲟鱼鉴定的最大范围, 可以满足一些鲟鱼野生种群保护、贸易产品检测、种质资源管理等情景下的鉴定需求。

**关键词:** 鲟鱼; 种类鉴定; SNP; mtDNA; 微卫星DNA; 物种保护; 种质资源管理

牛晓锋, 王晓梅, 张研, 赵志鹏, 樊恩源 (2022) 鲟鱼分子鉴定方法的整合应用. 生物多样性, 30, 22034. doi: 10.17520/biods.2022034.

Niu XF, Wang XM, Zhang Y, Zhao ZP, Fan EY (2022) Integration and application of sturgeon identification methods. Biodiversity Science, 30, 22034. doi: 10.17520/biods.2022034.

## Integration and application of sturgeon identification methods

Xiaofeng Niu<sup>1,2</sup>, Xiaomei Wang<sup>2,3</sup>, Yan Zhang<sup>2</sup>, Zhipeng Zhao<sup>2\*</sup>, Enyuan Fan<sup>2\*</sup>

1 College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306

2 Chinese Academy of Fishery Sciences, Beijing 100141

3 Changdao Enhancement and Experiment Station, Chinese Academy of Fishery Sciences, Yantai, Shandong 265800

### ABSTRACT

**Aims:** Sturgeons are important economic fishes with high market value. However, with the overfishing and the habitat destruction, the natural population of sturgeon have been declined worldwide. To address the challenges, all sturgeon species has been included in the appendices of CITES in 1997, besides, all species in natural waters of China are also included in the China's protection catalogue under the Wildlife Protection Law. The identification of sturgeons still faces some difficulties. There are many identification methods for sturgeons, but most of them are applicable conditionally within range of species, respectively. This study aims to integrate available methods to meet more identification requirement in judicial authentication, wildlife supervision and germplasm resource management.

**Methods:** This study analyzed the identification methods and search the trade situation of sturgeons from the CITES database. Based on this, an integrated identification method which include mtDNA genetic analysis, Single Nucleotide Polymorphism (SNP) analysis and microsatellite DNA was established and analyzed to evaluate the effectiveness in identifying the 11 kinds of commercial sturgeon species and their hybrids.

**Results:** A total of 36 kinds of aquaculture sturgeons can be found from the CITES sturgeon trade database, including

收稿日期: 2022-01-15; 接受日期: 2022-04-19

基金项目: 中国水产科学研究院本级基本科研业务费(2020B001)、中国水产科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2020TD11)、国家自然科学基金(32101239)和农业农村部物种资源保护费-水生野生动物保护专项研究(21301350001007)

\* 共同通讯作者 Co-authors for correspondence. E-mail: ecofan@foxmail.com; zhaozhipeng@cafs.ac.cn

14 hybrids and 22 purebred species. Although there are many methods to identify sturgeon species, molecular biological methods are proved to be effective identification methods. By integrating three identification methods above, blind detection is applicable to identify 11 purebred sturgeons and their hybrid sturgeons referring to the current international trade. Among them, two kinds of hybrid sturgeons can be accurately identified: (1) The hybrid sturgeons with parents from *Acipenser ruthenus*, *Huso dauricus*, *A. schrenckii*, *Huso huso*, *A. stellatus* or *A. transmontanus*. (2) The hybrid sturgeons whose female parent is *A. ruthenus* and male parent is *A. naccarii* or *A. fulvescens* or *A. sinensis*. Besides, the purebred *H. dauricus*, *A. transmontanus*, *A. fulvescens* and *A. sinensis* can be identified only under the current trade background. However, the hybrid sturgeons with parents from *A. baerii* or *A. gueldenstaedti* still cannot be accurately identified. Meanwhile, it is difficult to distinguish some purebred sturgeons among several of their hybrid sturgeons (*A. baerii* or *A. gueldenstaedti* as male parent).

**Conclusion & suggestion:** The identifiable sturgeon species are still limited based on the literature, the integration of the method above could satisfy the needs of sturgeon identification in some scenarios and is important for sturgeon conservation, trade product detection and germplasm resources management. Since many species still lack available markers for identification, developing new specific markers and further verifying the scope of existing specific markers should be encouraged with the international cooperation for the diverse sturgeon materials, especially for *A. baerii* and *A. gueldenstaedti* as parents of many hybrid sturgeons.

**Key words:** sturgeon; species identification; SNP; mtDNA; microsatellite DNA; sturgeon conservation; germplasm resources management

现存鲟鱼(鲟形目)共2科6属27种, 是世界上古老的硬骨鱼类之一, 具有重要的物种生态保护价值。受栖息生境破坏和人类活动影响, 鲟鱼野生资源急剧下降, 所有物种均被列入《濒危野生动植物种国际贸易公约》(CITES)附录。在2021年修订的《国家重点保护野生动物名录》中, 我国自然水域分布的8个物种均被收录。依据现有法律规定要求, 人工养殖鲟鱼及其制品的贸易受CITES和《中华人民共和国野生动物保护法》的严格管理。在实际市场贸易过程中, 因鲟鱼外形相似, 海关和普通社会公众很难鉴别, 这给物种保护、国际贸易和国内市场管理带来一定的困难。因此, 有效的种类鉴定方法对鲟鱼物种保护管理和规范市场秩序非常重要。CITES第18届缔约国大会(Rev. CoP18)也建议组织一项研究, 对鲟鱼种类、来源和年龄的鉴定方法及研究进展进行回顾(CITES, 2020)。

目前, 应用于鲟鱼种类鉴定的方法主要包括形态学方法和分子生物学方法。CITES推荐的鲟鱼识别指南通过关键形态学特征进行鲟鱼鉴定(CITES, 2001), 但无法鉴定其卵和鱼子酱(Debus et al, 2002)。鲟形目所有物种的形态特征在陈细华(2007)中有详细的描述与比较, Artyukhin等(2007)曾通过对比嘴型等28处形态学特征鉴定出23种鲟鱼。张颖等(2012)对养殖的施氏鲟(*Acipenser schrenckii*)、达氏鳇(*Huso dauricus*)及其杂交种的骨板数等7项性状数据, 进行单因子方差分析、聚类分析、主成分

分析并采用逐步判别分析构建判别函数, 结果表明杂交鲟在形态上更接近于其母本达氏鳇。形态学方法是较为直观的种类鉴定方法, 但通常需要观察整个鱼体并测量形态计量学数据, 有一定的主观性。典型的形态特征往往体现在成年纯种鲟鱼上, 且部分特征会随着鲟鱼的生长而改变, 形态计量学数据的获取也较为困难(Ludwig et al, 2021)。在实际应用中, 待鉴定样品可能为鲟鱼制品或无法获得完整鱼体, 加之杂交鲟表现出的嵌合性状, 易导致关键形态特征和形态计量学数据无法获得。因此, 仅依靠形态学方法不能准确鉴定鲟鱼种类, 特别是贸易中多种多样的鲟鱼制品和杂交鲟。

现有的鲟鱼分子生物学鉴定方法依据不同分析对象, 分为线粒体DNA (mtDNA)遗传分析和核DNA遗传分析两类。mtDNA遗传分析主要包括单链构象多态性分析(PCR-SSCP) (Rehbein et al, 1999; Ludwig & May, 2000), 物种特异性PCR技术(SS-PCR) (Desalle & Birstein, 1996; Birstein et al, 2000, 2010), 限制性片段长度多态性分析(PCR-RFLP) (Wolf et al, 1999; Ludwig et al, 2002; 董传举等, 2014), DNA条形码技术(Hubert et al, 2008; Birstein et al, 2009)和荧光定量PCR技术(陈光哲等, 2018; 丁健等, 2018; 万超等, 2021)。郭向贺等(2014)对这5种方法的原理和优缺点进行了分析。线粒体DNA控制区(D-Loop)、细胞色素**b**基因(Cytochrome *b*, *Cytb*)和细胞色素**c**氧化酶亚基**I**基因(Cytochrome

coxidase I, *COI*)是较为常用的3种目的基因。鲟形目鱼类已有88条线粒体完整基因组参考序列、1,154条D-Loop参考序列、745条*Cytb*参考序列(Ludwig et al, 2021)和433条*COI*参考序列。Mugue等(2008)通过分析俄罗斯鲟(*Acipenser gueldenstaedtii*)、波斯鲟(*A. persicus*)等8种鲟鱼的D-Loop区序列,设计了一组特异性引物,可准确鉴定除波斯鲟之外的其他种类,但无法将波斯鲟与俄罗斯鲟、西伯利亚鲟(*A. baerii*)区分。郭向贺<sup>①</sup>验证并优化了这组特异性引物的多重PCR体系,用以鉴定杂交鲟母本种类。Zhang等(2021)通过分析比对*COI*和*Cytb*序列,判断鱼子酱标签信息是否正确。因此,基于*COI*、*Cytb*和D-Loop的序列比对和遗传距离分析(mtDNA遗传分析)是鉴定纯种鲟鱼和杂交鲟母本种类的有效方法。

核DNA遗传分析主要包括随机扩增多态性DNA分析(RAPD) (Gilkolaei, 1997; Comincini et al, 1998), 扩增片段长度多态性分析(AFLP) (Jennekens et al, 2001; 胡佳等, 2010; 刘洋等, 2015), 单核苷酸多态性分析(SNP)和微卫星DNA分析。Ludwig等(2010)概述了这4种方法在鲟鱼鉴定中的应用和优缺点,受实验结果可重复性差和限制性内切酶种类限制, RAPD和AFLP已不作为首选方法,应着重考虑微卫星DNA分析和SNP分析。目前已针对不同鲟鱼开发出诸多微卫星引物(May et al, 1997; 刘洋, 2014<sup>②</sup>; 肖新平, 2018<sup>③</sup>; Hu et al, 2019), 且部分引物在多种鲟鱼间通用(邵昭君等, 2002; 彭涛等, 2009)。微卫星引物Ls19和SX226相互验证使用可有效区分施氏鲟、达氏鳊、西伯利亚鲟及其杂交鲟(孔杰等, 2020)。SNP分析在物种鉴定中的应用更为简便且更适用于大规模样本的筛选,是鲟鱼种类鉴定的有效技术。目前共11种鲟鱼开发出SNP引物,包括纳氏鲟(*Acipenser naccarii*)、富氏鲟(*A. fulvescens*)、闪光鲟(*A. stellatus*)、中华鲟(*A. sinensis*)、高首鲟(*A. transmontanus*)、欧洲鳊(*Huso huso*)和小体鲟(*Acipenser ruthenus*)的特异性引物、

施氏鲟和达氏鳊的共用引物、西伯利亚鲟和俄罗斯鲟的共用引物(Boscari et al, 2014; Boscari et al, 2017; Havelka et al, 2017, 2019)。

本研究在厘清合法鲟鱼商业类群的基础上,旨在对现有鲟鱼种类鉴定方法进行分析和整合,为贸易鲟鱼种类建立可行的鉴定方法,并为鲟形目鱼类鉴定方法的标准化、体系化及鲟形目物种保护和种质资源管理提供帮助。

## 1 材料与方法

### 1.1 数据来源

鲟形目鱼类物种数量较多,且人工培育了多个杂交品种用于水产养殖和商业贸易。本文在CITES贸易数据库(<https://trade.cites.org/>)中下载2010–2020年国际鲟鱼贸易记录(CITES, 2021),统计所有贸易目的和来源的鲟鱼。厘清贸易中涉及的鲟鱼种类,分析杂交鲟亲本所涉及的物种,以此作为需鉴定的基本范围。同时,本文对国内部分鲟鱼养殖企业进行调研,以更好地理解和分析CITES鲟鱼贸易数据。

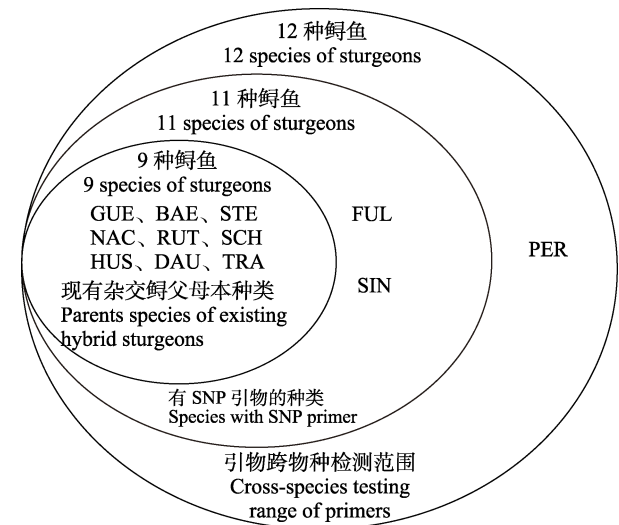


图1 目前已有SNP引物可鉴定的鲟鱼种类范围。GUE: 俄罗斯鲟; BAE: 西伯利亚鲟; STE: 闪光鲟; NAC: 纳氏鲟; RUT: 小体鲟; SCH: 施氏鲟; HUS: 欧洲鳊; DAU: 达氏鳊; TRA: 高首鲟; FUL: 富氏鲟; SIN: 中华鲟; PER: 波斯鲟。

Fig. 1 Range of sturgeon species identified using known SNP primers. GUE, *A. gueldenstaedtii*; BAE, *A. baerii*; STE, *A. stellatus*; NAC, *A. naccarii*; RUT, *A. ruthenus*; SCH, *A. schrenckii*; HUS, *Huso huso*; DAU, *H. dauricus*; TRA, *A. transmontanus*; FUL, *A. fulvescens*; SIN, *A. sinensis*; PER, *A. persicus*.

① 郭向贺 (2014) 五种鲟鳊鱼种质鉴定及遗传多样性分析. 硕士学位论文, 河北农业大学, 河北保定。

② 刘洋 (2014) 施氏鲟微卫星的开发及其应用. 硕士学位论文, 大连海洋大学, 辽宁大连。

③ 肖新平 (2018) 达氏鲟微卫星开发及其亲缘鉴定应用效果评估. 硕士学位论文, 华中农业大学, 武汉。

### 1.2 研究方法

在明确贸易中杂交鲟种类的基础上, 通过分析现有鉴定方法的应用条件和鉴定范围, 探讨不同方法的整合在不同应用情景下进行鲟鱼鉴定的可行性。目前已开发出SNP引物的11种鲟鱼包含了杂交鲟亲本种类, 且引物在12种鲟鱼中存在跨物种扩增检测(图1), 故本文以11种鲟鱼及其杂交鲟为研究范围进行方法整合。在现有SNP引物中(附录1), ST、T、H、SI、F、N分别为闪光鲟、高首鲟、欧洲鲟、中华鲟、富氏鲟、纳氏鲟的特异性引物, 可分别从11种鲟鱼中准确鉴定出对应种类(Boscari et al, 2014, 2017); 在引物SI、F和N排除中华鲟、富氏鲟和纳氏鲟的情况下, 通过引物R可准确鉴定出小体鲟(Havelka et al, 2017)。引物SD为施氏鲟和达氏鲟共用引物, 仅可从11种鲟鱼中将种类范围缩小至此两种鲟鱼(Boscari et al, 2014), 再以微卫星引物Ls19和SX226 (孔杰等, 2020) 鉴别施氏鲟和达氏

鲟。引物G不仅是西伯利亚鲟和俄罗斯鲟的共用引物, 也可在部分波斯鲟中扩增出目的条带(Havelka et al, 2019), 但无法在其他鲟鱼中扩增出目的条带, 故该引物大概率可将种类范围缩小至此3种鲟鱼。即核DNA遗传分析(SNP分析和微卫星DNA分析相结合)可在11种鲟鱼及其可能的杂交鲟范围内鉴定样品亲本种类, 但无法区分亲本雌雄性。故本文再以mtDNA遗传分析鉴定样品母本种类, 以区分亲本雌雄性, 进而准确鉴定鲟鱼种类(图2)。

核DNA遗传分析流程为, 提取样品全基因组DNA, 通过附录1中引物扩增, 依据是否有目的条带和目的条带片段大小鉴定亲本种类。mtDNA遗传分析流程为, 以样品全基因组DNA为模板扩增D-Loop、Cytb或COI序列(选择多种基因序列可相互验证鉴定结果), 测序后在GenBank中进行序列比对, 下载相似度大于99%的序列进一步分析。利用Mega7软件, 采用邻接法(neighbor-joining, NJ)构建

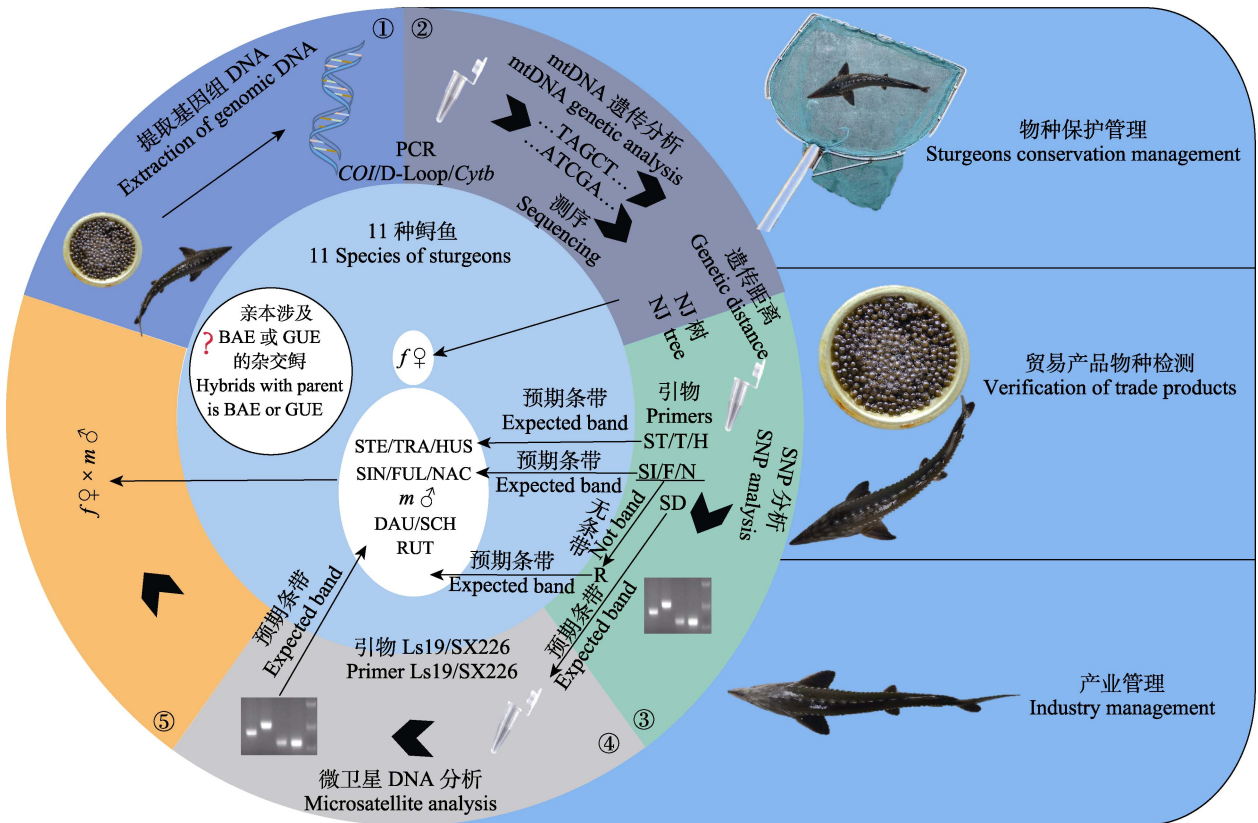


图2 鲟鱼鉴定方法及应用情景。f、m可为同一种鲟鱼, 引物ST、T、H、SI、F、N、SD无使用先后顺序; 图中物种缩写全称见图1。

Fig. 2 Combination of methods in sturgeon identification and the application scenarios. *f* and *m* can be the same species, the primer ST, T, H, SI, F, N, and SD can be used out of order; Please refer to Fig. 1 for the full names of species abbreviation in the figure.

系统进化树并计算遗传距离, 建树设置双参数 Kimuar-2-Parameter, 各分支置信度由 1,000 次 bootstrap 重复检测。以遗传距离和系统进化树结果共同确定母本种类。

## 2 结果

### 2.1 贸易鲟鱼种类情况

当前贸易中共有 36 种鲟鱼, 其中杂交鲟 14 种。杂交鲟亲本共涉及 9 种鲟鱼(以下简称 9 种鲟鱼) (图 1), 包括俄罗斯鲟、西伯利亚鲟、闪光鲟、纳氏鲟、小体鲟、施氏鲟、欧洲鳇、达氏鳇和高首鲟。西伯利亚鲟和俄罗斯鲟是杂交鲟最常见的亲本物种, 共有 8 种杂交鲟的亲本涉及此两个物种(表 1)。由于 CITES 数据库未标注杂交鲟亲本的雌雄性, 本文默认其可能存在正交和反交两种杂交类型。

### 2.2 整合方法的鉴定分析

本文通过整合 mtDNA 遗传分析(基于 COI、Cytb 和 D-Loop 的序列比对和遗传距离分析)、SNP 分析和微卫星 DNA 分析, 理论上能在 11 种纯种鲟鱼及其正反杂交可能产生的杂交鲟(共 121 种)范围内进行盲检, 此范围包括目前贸易中所有的杂交鲟, 也包含了未来可能出现的部分新杂交鲟种类。在方法整合过程中, 核 DNA 遗传分析与 mtDNA 遗传分析无先后顺序。同时, 可直接依据核 DNA 遗传分析结果或 mtDNA 遗传分析结果完成排他性鉴定, 用于样品

标签信息的快速核查。

通过上述 3 种方法的整合应用(以下简称整合方法), 在 121 种鲟鱼中(图 3), 共可准确鉴定 69 种杂交鲟, 而两类杂交鲟无法准确鉴定。一是亲本涉及西伯利亚鲟或俄罗斯鲟的杂交鲟(共 38 种), 此类杂交鲟仅可将种类范围确定至西伯利亚鲟或俄罗斯鲟与 9 种鲟鱼中其余物种的杂交鲟, 二是母本为中华鲟、富氏鲟或纳氏鲟, 父本为小体鲟的杂交鲟(共 3 种, 目前尚不存在此类杂交鲟)。在现有的 14 种杂交鲟中, 小体鲟 × 欧洲鳇、高首鲟 × 欧洲鳇、达氏鳇 × 施氏鲟、欧洲鳇 × 纳氏鲟、欧洲鳇 × 施氏鲟、欧洲鳇 × 闪光鲟共 6 种杂交鲟的正反杂交类型均可准确鉴定; 其余 8 种杂交鲟的亲本涉及西伯利亚鲟或俄罗斯鲟, 仅可鉴定至一定范围而无法准确确定亲本种类(表 1)。

对于纯种鲟鱼的鉴定, 若该种类未与西伯利亚鲟或俄罗斯鲟作父本产生杂交鲟, 则可依据所有引物均未扩增出目的条带而判定为纯种鲟鱼。其中, 纯种的达氏鳇、高首鲟、富氏鲟和中华鲟在当前贸易背景下可被准确鉴定; 纯种的纳氏鲟、施氏鲟、小体鲟、欧洲鳇、闪光鲟、俄罗斯鲟和西伯利亚鲟, 因无法区分纯种和其与西伯利亚鲟或俄罗斯鲟为父本的杂交鲟, 故无法被准确鉴定。对于贸易中未产生杂交鲟的物种, 在默认其为纯种的前提下, 可通过 mtDNA 遗传分析鉴定其种类(表 1)。

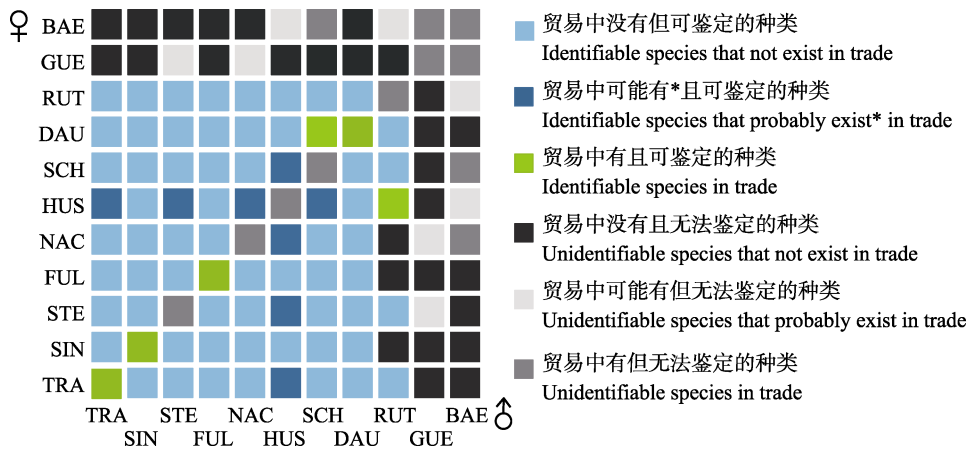


图3 11种纯种鲟鱼及其可能的杂交鲟种类鉴定结果。可能有\*指CITES贸易数据库中仅标注杂交鲟双亲种类, 未标注雌性, 故不确定实际贸易中杂交鲟的母本是哪一个。图中物种缩写全称见图1。

Fig. 3 Identifiability of sturgeons with parents from the 11 species. Probably exist\* means that only the parent species of this hybrid is recorded in the CITES trade database, but the male parent and female parent are not marked, so it is uncertain if this hybrid is existing in actual trade. Please refer to Fig. 1 for the full names of species abbreviation in the figure.

表1 贸易鲟鱼种类及鉴定可行性

Table 1 Species and identification feasibility of sturgeons in trade

种类 <sup>a</sup> Species	拉丁名 Latin name	鉴定可行性 <sup>b</sup> Identification feasibility	备注 Comment
西伯利亚鲟(BAE)	<i>Acipenser baerii</i>	N	缺乏可用于种类鉴定的基因标记 Lack of markers for species identification
西伯利亚鲟 × 俄罗斯鲟 (BAE × GUE)	<i>Acipenser baerii</i> × <i>Acipenser gueldenstaedtii</i>	N	缺乏可用于种类鉴定的基因标记 Lack of markers for species identification
西伯利亚鲟 × 纳氏鲟 (BAE × NAC)	<i>Acipenser baerii</i> × <i>Acipenser naccarii</i>	N	正反杂交种均不可鉴定, 但贸易中实际为NAC♀ × BAE♂ Reciprocal hybrids cannot be identified, but in trade it is NAC♀ × BAE♂
西伯利亚鲟 × 施氏鲟 (BAE × SCH)	<i>Acipenser baerii</i> × <i>Acipenser schrenckii</i>	N	正反杂交种均不可鉴定 Reciprocal hybrids cannot be identified
西伯利亚鲟 × 小体鲟 (BAE × RUT)	<i>Acipenser baerii</i> × <i>Acipenser ruthenus</i>	N	正反杂交种均不可鉴定 Reciprocal hybrids cannot be identified
俄罗斯鲟(GUE)	<i>Acipenser gueldenstaedtii</i>	N	缺乏可用于种类鉴定的基因标记 Lack of markers for species identification
俄罗斯鲟 × 西伯利亚鲟 (GUE × BAE)	<i>Acipenser gueldenstaedtii</i> × <i>Acipenser baerii</i>	N	缺乏可用于种类鉴定的基因标记 Lack of markers for species identification
俄罗斯鲟 × 闪光鲟 (GUE × STE)	<i>Acipenser gueldenstaedtii</i> × <i>Acipenser stellatus</i>	N	正反杂交种均不可鉴定 Reciprocal hybrids cannot be identified
纳氏鲟(NAC)	<i>Acipenser naccarii</i>	N	无法区分NAC和NAC × BAE、NAC × GUE NAC, NAC × BAE and NAC × GUE could not be distinguished
纳氏鲟 × 俄罗斯鲟 (NAC × GUE)	<i>Acipenser naccarii</i> × <i>Acipenser gueldenstaedtii</i>	N	正反杂交种均不可鉴定 Reciprocal hybrids cannot be identified
小体鲟(RUT)	<i>Acipenser ruthenus</i>	N	无法区分RUT和RUT × BAE RUT and RUT × BAE could not be distinguished
小体鲟 × 欧洲鳇 (RUT × HUS)	<i>Acipenser ruthenus</i> × <i>Huso huso</i>	Y	正反杂交种均可鉴定, 但贸易中实际为HUS♀ × RUT♂ Both positive and negative hybrids could be identified, but in trade it is HUS♀ × RUT♂
施氏鲟(SCH)	<i>Acipenser schrenckii</i>	N	无法区分SCH和SCH × BAE SCH and SCH × BAE could not be distinguished
闪光鲟(STE)	<i>Acipenser stellatus</i>	N	无法区分STE和STE × GUE STE and STE × GUE could not be distinguished
高首鲟(TRA)	<i>Acipenser transmontanus</i>	Y	尽管贸易中没有TRA × BAE、TRA × GUE, 但无法区分TRA与两种杂交鲟, 仅可在现有贸易情况下判定其为纯种TRA TRA, TRA × BAE and TRA × GUE could not be distinguished although the two hybrids did not exist in trade, so TRA only be considered pure under the current trade conditions
高首鲟 × 欧洲鳇 (TRA × HUS)	<i>Acipenser transmontanus</i> × <i>Huso huso</i>	Y	正反杂交种均可鉴定 Reciprocal hybrids could be identified
达氏鳇(DAU)	<i>Huso dauricus</i>	Y	尽管贸易中没有DAU × BAE、DAU × GUE, 但无法区分DAU与两种杂交鲟, 仅可在现有贸易情况下判定其为纯种DAU DAU, DAU × BAE and DAU × GUE could not be distinguished although the two hybrids did not exist in trade, so DAU only be considered pure under the current trade conditions
达氏鳇 × 施氏鲟 (DAU × SCH)	<i>Huso dauricus</i> × <i>Acipenser schrenckii</i>	Y	正反杂交种均可鉴定, 但贸易中实际为DAU♀ × SCH♂ Reciprocal hybrids could be identified, but in trade it is DAU♀ × SCH♂
欧洲鳇(HUS)	<i>Huso huso</i>	N	无法区分HUS和HUS × BAE HUS and HUS × BAE could not be distinguished
欧洲鳇 × 纳氏鲟 (HUS × NAC)	<i>Huso huso</i> × <i>Acipenser naccarii</i>	Y	正反杂交种均可鉴定 Reciprocal hybrids could be identified
欧洲鳇 × 西伯利亚鲟 (HUS × BAE)	<i>Huso huso</i> × <i>Acipenser baerii</i>	N	正反杂交种均不可鉴定 Reciprocal hybrids can not be identified
欧洲鳇 × 施氏鲟 (HUS × SCH)	<i>Huso huso</i> × <i>Acipenser schrenckii</i>	Y	正反杂交种均可鉴定 Reciprocal hybrids could be identified
欧洲鳇 × 闪光鲟 (HUS × STE)	<i>Huso huso</i> × <i>Acipenser stellatus</i>	Y	正反杂交种均可鉴定 Reciprocal hybrids could be identified

表1 (续) Table 1 (continued)

种类 <sup>a</sup> Species	拉丁名 Latin name	鉴定可行性 <sup>b</sup> Identification feasibility	备注 Comment
富氏鲟(FUL)	<i>Acipenser fulvescens</i>	Y	尽管贸易中没有FUL × BAE、FUL × GUE、FUL × RUT, 但无法区分FUL与三种杂交鲟, 仅可在现有贸易情况下判定其为纯种FUL FUL, FUL × BAE, FUL × GUE and FUL × RUT could not be distinguished although the three hybrids did not exist in trade, so FUL only be considered pure under the current trade conditions
中华鲟(SIN)	<i>Acipenser sinensis</i>	Y	尽管贸易中没有SIN × BAE、SIN × GUE、SIN × RUT, 但无法区分SIN与三种杂交鲟, 仅可在现有贸易情况下判定其为纯种SIN SIN, SIN × BAE, SIN × GUE and SIN × RUT could not be distinguished although the three hybrids did not exist in trade, so SIN only be considered pure under the current trade conditions
尖吻鲟(OXY)	<i>Acipenser oxyrinchus</i>	Y	贸易中暂无其杂交鲟, 仅可通过现有引物扩增判断其是否与11种鲟鱼中除BAE和GUE之外的种类杂交产生杂交鲟; 仅可在现有贸易情况下判定其为纯种 These species have not produced hybrid sturgeon at present, and the existing primers can only judge whether these species produce hybrid sturgeon with other species except BAE and GUE among the 11 sturgeon species. So these species can only be considered pure under current trade conditions
铲鲟(PLA)	<i>Scaphirhynchus platyrhynchus</i>	Y	
匙吻鲟(SPA)	<i>Polyodon spathula</i>	Y	
短吻鲟(BRE)	<i>Acipenser brevirostrum</i>	Y	
波斯鲟(PER)	<i>Acipenser persicus</i>	Y	
中吻鲟(MED)	<i>Acipenser medirostris</i>	Y	
大西洋鲟(STU)	<i>Acipenser sturio</i>	Y	
裸腹鲟(NUD)	<i>Acipenser nudiventris</i>	Y	
白铲鲟(ALB)	<i>Scaphirhynchus albus</i>	Y	
太平洋鲟(MIK)	<i>Acipenser mikadoi</i>	Y	
阿姆河大拟铲鲟(KAU)	<i>Pseudoscaphirhynchus kaufmanni</i>	Y	

<sup>a</sup> 表中统计的鲟鱼包括所有贸易目的和来源, 但CITES鲟鱼贸易数据中杂交鲟亲本未标注雌雄性。<sup>b</sup> 鉴定可行性指在现有贸易下, 能否从121种鲟鱼内准确鉴定出某种鲟鱼, Y (能), N (不能)。

<sup>a</sup> Sturgeons in the table include all trade purposes and sources, but there is no male or female for parents of hybrid sturgeons in CITES trade data. <sup>b</sup> Identification feasibility refers to whether certain sturgeon can be accurately identified from 121 species of sturgeon under current trade background, Y (Yes), N (No).

### 3 讨论

#### 3.1 鉴定方法

尽管目前已有多种鉴定方法应用于鲟鱼种类鉴定, 但单一方法均是在特定种类范围或情景下的区分鉴定, 无法满足当前物种管理背景下的鉴定需求。通过整合线粒体DNA遗传分析、SNP分析和微卫星DNA分析, 将各方法的鉴定范围组合并扩展至当前贸易背景下, 形成一个较大的鉴定范围以满足部分鉴定需求。整合方法从线粒体和核基因的角度分别鉴定母本和父本种类, 进而准确鉴定样品种类。特别是对于整合方法可鉴定的杂交鲟, 尽管CITES数据库未标注亲本的雌雄性, 但其正反杂交类型均可被准确鉴定。

整合方法无法准确鉴定西伯利亚鲟和俄罗斯鲟以及亲本涉及此两种鲟鱼的杂交鲟, 也导致其他多个纯种鲟鱼的鉴定困难。这是由于当前已开发的

鉴定技术无法在线粒体基因和核基因层面有效鉴别西伯利亚鲟和俄罗斯鲟。在核DNA遗传分析中, 西伯利亚鲟和俄罗斯鲟共用引物G的扩增效率非百分之百, 也可在部分波斯鲟中扩增出目的条带。Barmintseva和Mugue (2013)利用5个微卫星位点鉴别西伯利亚鲟、俄罗斯鲟等10种鲟鱼, 结果表明俄罗斯鲟和波斯鲟无法完全区分。在mtDNA遗传分析中, Doukakis等(2012)基于D-Loop、Cytb和COI 3种目的基因进行序列比对和遗传距离分析也无法鉴别俄罗斯鲟、西伯利亚鲟和波斯鲟, 之后多项研究也得出相似结果(Ludwig et al, 2015; Johnson & Iyengar, 2015; 程佩林等, 2021)。因此, 本整合方法对于涉及西伯利亚鲟或俄罗斯鲟的杂交鲟也仅可鉴定至一定范围。

对于未产生杂交鲟的纯种鲟鱼, 由于暂无有效的核基因鉴定标记, 本整合方法以mtDNA遗传分析进行种类鉴定。然而, 锡尔河拟铲鲟(*Pseudo-*

*scaphirhynchus fedtschenkoi*)暂无线粒体参考序列,无法被鉴定。太平洋鲟(*Acipenser mikadoi*)、阿拉巴马铲鲟(*Scaphirhynchus suttkusi*)、白鲟(*Psephurus gladius*)和拟铲鲟属(*Pseudoscaphirhynchus*)暂无COI基因参考序列,应以D-Loop或Cytb为目的基因进行鉴定。

### 3.2 应用情景

#### 3.2.1 物种保护管理

鲟鱼物种保护管理需求应包括种类鉴定和来源分析。在我国,中华鲟、长江鲟(*A. dabryanus*)、白鲟和达氏鳇(仅限野外种群)为国家一级保护动物,西伯利亚鲟、裸腹鲟(*A. nudiventris*)、小体鲟、施氏鲟的野外种群为国家二级保护动物。依据相关法律,非法捕捉和利用上述野生动物将会受到刑事处罚,在目前鲟鱼人工养殖规模较大的情况下,准确鉴定上述种类,对打击野生动物违法行为至关重要。

中华鲟、长江鲟和白鲟3个物种的保护可直接依据种类鉴定结果,即如果在样本中检出上述鲟鱼种类的特异性序列,则可以认定其涉嫌违法利用国家一级保护动物。我国司法部公布的非法捕捞野生中华鲟案例中,曾通过扩增比对核基因和线粒体基因的4条序列,发现与中华鲟相应序列相似度最高,据此判定捕捞物为中华鲟([http://www.moj.gov.cn/pub/sfbgw/fzgz/fzgzggflfw/fzgzggflfw/202106/t20210604\\_426693.html](http://www.moj.gov.cn/pub/sfbgw/fzgz/fzgzggflfw/fzgzggflfw/202106/t20210604_426693.html))。与之相比,通过特异性引物扩增鉴定中华鲟种类的方法更为简便高效。本整合方法可准确鉴定中华鲟及其可能产生的杂交鲟;可识别长江鲟、白鲟及其作为母本可能产生的杂交鲟,但当其作为父本时暂无法识别(暂无此类杂交鲟)。对于仅限野外种群的物种,整合方法可以准确鉴定达氏鳇,无法鉴定小体鲟、西伯利亚鲟和施氏鲟,物种保护工作仍需基于种类鉴定进行来源分析。

在水生野生动物种群维护管理工作中,增殖放流是重要的举措之一,达氏鳇、施氏鲟和中华鲟是我国目前增殖放流的主要鲟鱼种类。依据《水生生物增殖放流管理规定》,用于增殖放流的亲体、苗种等水生生物应当是本地种,苗种应当是本地种的原种或子一代。禁止使用外来种、杂交种、转基因种以及其他不符合要求的水生生物物种进行增殖放流。鲟鱼存在多种杂交鲟,整合方法可以从排他性的角度确定鉴定样品是纯种或非纯种,为鲟鱼野

生种质资源保护管理提供有效的技术支持。

#### 3.2.2 贸易产品物种检测

我国现已形成世界上最大的鲟鱼人工养殖基群,成为人工养殖鲟鱼产量和鱼子酱加工出口第一大国(王保友等,2020)。西伯利亚鲟和‘杂交鲟’(西伯利亚鲟 × 施氏鲟)为我国商品鲟鱼的主要养殖种类,其中西伯利亚鲟为母本的杂交鲟称为‘西杂’,反之为‘施杂’。‘鲟龙1号’(达氏鳇♀ × 施氏鲟♂)是我国最重要的鱼子酱生产种类(<http://www.capp-ma.org.cn/view.php?id=3245>)。

本整合方法可准确鉴定‘鲟龙1号’,但无法准确鉴定‘西杂’和‘施杂’(只能将范围确定至‘西杂’或‘施杂’)。在实际生产中,两者具有相似的杂交优势,人们更倾向于统称为“西杂”。在我国进出口鲟鱼产品涉及的其他杂交鲟中,纳氏鲟 × 西伯利亚鲟、西伯利亚鲟 × 俄罗斯鲟、欧洲鳇 × 西伯利亚鲟和纳氏鲟 × 俄罗斯鲟无法鉴定。整合方法也可以通过排他性的方式对鲟鱼产品的真实性进行检测以识别贸易产品信息的正确性,对CITES公约履约至关重要。

#### 3.2.3 产业管理

我国是鲟鱼种类自然分布较多的国家之一,同时也是多种鲟鱼的引进国。我国自然水域分布的鲟鱼物种均为国家保护动物,但西伯利亚鲟、施氏鲟、俄罗斯鲟、小体鲟、达氏鳇和匙吻鲟均被列入《人工繁育国家重点保护野生动物名录》,可以合法利用。在产业管理过程中,物种鉴定可帮助企业实现对养殖基群的管理,提高养殖场内部养殖种群信息的准确性,减少或避免对野外自然种群的扰动。

## 4 展望

物种鉴定对物种保护、濒危动物贸易产品检测和种质资源管理具有重要意义。本文通过分析现有鲟鱼鉴定方法,发现单一鉴定方法无法满足鲟鱼管理的鉴定需求,但不同方法的整合可准确鉴定现有合法商业利用的部分人工养殖鲟鱼种类和未来可能出现的部分新杂交种类。为进一步完善鲟鱼种类鉴定方法体系,建议:

(1)丰富鲟鱼线粒体参考序列。锡尔河拟铲鲟暂无线粒体基因参考序列而无法鉴定其种类,部分物种的参考序列过少也可能导致鉴定结果错误。西伯

利亚鲟和尖吻鲟(*A. oxyrhynchus*)在自然状态下存在亚种(陈细华, 2007; Ludwig et al, 2021), 然而在种类鉴定研究中, 材料来源未说明亚种问题且数据库中参考序列也未区分亚种。亚种在核酸序列上是否存在差异以及这些差异是否影响西伯利亚鲟和尖吻鲟的鉴定尚未可知。亚种在种类鉴定时是否会出现鉴定错误还有待进一步研究。

(2)开发可用于鉴定西伯利亚鲟和俄罗斯鲟的核基因标记。西伯利亚鲟和俄罗斯鲟是贸易中的两个重要物种, 现有杂交鲟中超过一半的种类与之相关。目前, 西伯利亚鲟和俄罗斯鲟的鉴别仅局限于几个种类之间(郭向贺, 2014<sup>①</sup>; 杨世勇等, 2018)。由于无法将纯种的西伯利亚鲟和俄罗斯鲟与杂交鲟(亲本涉及西伯利亚鲟或俄罗斯鲟)区分开, 导致多种杂交鲟无法准确鉴定。因此, 开发可鉴定2种鲟鱼的核基因标记是目前鲟鱼种类鉴定研究中的重点。微卫星DNA分析和SNP分析在鲟鱼种类鉴定中有很大的发展潜力但SNP分析在国内应用较少, 可着重考虑这两种技术。

此外, 研究技术的不断发展必然会产生更加简便高效的鉴定方法, 为鲟鱼种类鉴定提供新的思路和技术。如高通量基因组DNA测序方法的发展, 种类鉴定完全可基于全基因组DNA筛选SNP位点或微卫星位点。与目前基于基因片段的分析相比, 该技术将不受不同物种间同源基因片段相似性高而无法鉴别的限制。

(3)扩大现有引物的跨物种扩增检测范围, 开发其余鲟鱼可用于种类鉴定的核基因标记。特异性引物和引物的跨物种扩增检测范围是种类鉴定的关键, 现有方法的整合应用最大可在11种纯种鲟鱼及其正反杂交可能产生的杂交鲟(121种)范围内实现盲检。尽管此范围已包含贸易中所有杂交鲟, 但扩大引物跨物种扩增检测范围可以发现该引物潜在的不适用物种, 进而扩大鲟鱼鉴定的范围。引物R未在中华鲟、富氏鲟和纳氏鲟中扩增检测, 导致了母本为此3种鲟鱼其中一种, 父本为小体鲟的杂交鲟无法鉴定, 应验证引物R在3种鲟鱼中的扩增效果。鲟鱼分布在北回归线以北的多个国家, 国际合作有利于开发核基因标记。

(4)适时跟踪市场信息, 准确掌握鲟形目物种贸易种类及相关产品信息。定期进行市场调研, 关注CITES鲟鱼国际贸易数据, 掌握真实的鲟鱼贸易种类和鉴定需求, 不断改进、完善现有鉴定方法。目前鲟形目仍有多个物种尚未开发出可用于种类鉴定的核基因标记, 且部分种类因为极度濒危而无法获取研究材料。故鲟鱼种类鉴定方法应依据鉴定需求而不断补充完善。

**致谢:** 感谢湖南省花垣县北欧玛鲟鱼养殖有限公司郑维中、中国水产科学研究院房山科学试验基地王红伟、白喜军以及杭州千岛湖鲟龙科技股份有限公司许式见为我们了解鲟鱼养殖和国内外贸易情况给予的帮助。

## ORCID

牛晓锋  <https://orcid.org/0000-0003-3994-057X>  
王晓梅  <https://orcid.org/0000-0001-6228-086X>  
张研  <https://orcid.org/0000-0003-2833-9789>  
赵志鹏  <https://orcid.org/0000-0002-6665-8943>  
樊恩源  <https://orcid.org/0000-0003-2150-3216>

## 参考文献

- Artyukhin EN, Vecsei P, Peterson DL (2007) Morphology and ecology of Pacific sturgeons. *Environmental Biology of Fishes*, 79, 369–381.
- Barmintseva AE, Mugue NS (2013) The use of microsatellite loci for identification of sturgeon species (*Acipenseridae*) and hybrid forms. *Russian Journal of Genetics*, 49, 1093–1105.
- Birstein VJ, Desalle R, Doukakis P, Hanner R, Ruban GI, Wong E (2009) Testing taxonomic boundaries and the limit of DNA barcoding in the Siberian sturgeon, *Acipenser baerii*. *Mitochondrial DNA*, 20, 110–118.
- Birstein VJ, Doukakis P, DeSalle R (2000) Polyphyly of mtDNA lineages in the Russian sturgeon, *Acipenser gueldenstaedtii*: Forensic and evolutionary implications. *Conservation Genetics*, 1, 81–88.
- Birstein VJ, Doukakis P, Sorkin B, Desalle R (2010) Population aggregation analysis of three caviar-producing species of sturgeons and implications for the species identification of Black caviar. *Conservation Biology*, 12, 766–775.
- Boscari E, Barmintseva A, Pujolar JM, Doukakis P, Mugue N, Congiu L (2014) Species and hybrid identification of sturgeon caviar: A new molecular approach to detect illegal trade. *Molecular Ecology Resources*, 14, 489–498.
- Boscari E, Barmintseva A, Zhang SY, Yue HM, Li CJ, Shedko SV, Lieckfeldt D, Ludwig A, Wei QW, Mugue NS, Congiu L (2017) Genetic identification of the caviar-producing

① 郭向贺 (2014) 五种鲟鳇鱼种质鉴定及遗传多样性分析. 硕士学位论文, 河北农业大学, 河北保定.

- Amur and Kaluga sturgeons revealed a high level of concealed hybridization. *Food Control*, 82, 243–250.
- Chen GZ, Zheng HX, Zhu CQ (2018) Establishment of the detection method of TaqMan real-time PCR for *Acipenser sinensis*. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 34, 399–403. (in Chinese with English abstract) [陈光哲, 郑红霞, 祝长青 (2018) 中华鲟TaqMan实时荧光PCR检测方法的建立. *江苏农业学报*, 34, 399–403.]
- Chen XH (2007) *Biology and Resources Status of Acipenseriformes Species*, China Ocean Press, Beijing. (in Chinese) [陈细华 (2007) 鲟形目鱼类生物学与资源现状. 海洋出版社, 北京.]
- Cheng PL, Yu D, Liu HZ, Du H, Wei QW (2021) Molecular phylogeny of Acipenseriformes based on complete mitochondrial genome sequence. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 45, 487–495. (in Chinese with English abstract) [程佩琳, 俞丹, 刘焕章, 杜浩, 危起伟 (2021) 基于线粒体基因组全序列的鲟形目鱼类(Pisces: Acipenseriformes)的分子系统发育重建. *水生生物学报*, 45, 487–495.]
- CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) (2001) The CITES identification guide-sturgeons and paddlefish. <https://cites.org/sites/default/files/eng/notif/2001/094.shtml>. (accessed on 2021-07-13)
- CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) (2020) AC31 Doc.16: Identification and Traceability of Sturgeons and Paddlefish (*Acipenseriformes* spp.). <https://cites.org/sites/default/files/eng/com/ac/31/Docs/E-AC31-16.pdf>. (accessed on 2021-07-13)
- CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) (2021) International sturgeon Trade Data 2010–2020. [https://trade.cites.org/en/cites\\_trade/download?filters%5Btime\\_range\\_start%5D=2010&filters%5Btime\\_range\\_end%5D=2020&filters%5Bexporters\\_ids%5D%5B%5D=all\\_exp&filters%5Bimporters\\_ids%5D%5B%5D=all\\_imp&filters%5Bsources\\_ids%5D%5B%5D=all\\_sou&filters%5Bpurposes\\_ids%5D%5B%5D=all\\_pur&filters%5Bterms\\_ids%5D%5B%5D=all\\_ter&filters%5Btaxon\\_concepts\\_ids%5D%5B%5D=102&filters%5Breset%5D=&filters%5Bselection\\_taxon%5D=taxonomic\\_cascade&web\\_disabled=true](https://trade.cites.org/en/cites_trade/download?filters%5Btime_range_start%5D=2010&filters%5Btime_range_end%5D=2020&filters%5Bexporters_ids%5D%5B%5D=all_exp&filters%5Bimporters_ids%5D%5B%5D=all_imp&filters%5Bsources_ids%5D%5B%5D=all_sou&filters%5Bpurposes_ids%5D%5B%5D=all_pur&filters%5Bterms_ids%5D%5B%5D=all_ter&filters%5Btaxon_concepts_ids%5D%5B%5D=102&filters%5Breset%5D=&filters%5Bselection_taxon%5D=taxonomic_cascade&web_disabled=true). (accessed on 2021-06-10)
- Comincini S, Lanfredi M, Rossi R, Fontana F (1998) Use of RAPD markers to determine the genetic relationships among sturgeons (*Acipenseridae*, Pisces). *Fisheries Science*, 64, 35–38.
- Congiu L, Dupanloup I, Patarnello T, Fontana F, Rossi R, Arlati G, Zane L (2010) Identification of interspecific hybrids by amplified fragment length polymorphism: The case of sturgeon. *Molecular Ecology*, 10, 2355–2359.
- Debus L, Winkler M, Billard R (2002) Structure of micropyle surface on oocytes and caviar grains in sturgeons. *International Review of Hydrobiology*, 87, 585–603.
- Desalle R, Birstein VJ (1996) PCR identification of black caviar. *Nature*, 381, 197–198.
- Ding J, Liu SY, Su W, Sun XF, Lin CJ, Wu B, Jiang D (2018) A rapid quantitative real-time PCR method for identification of *Acipenser ruthenus*. *Journal of Molecular Science*, 34, 144–148. (in Chinese with English abstract) [丁健, 刘淑艳, 苏旺, 孙晓飞, 林长军, 吴斌, 蒋丹 (2018) 利用实时荧光 PCR鉴定小体鲟物种的快速方法. *分子科学学报*, 34, 144–148.]
- Dong CJ, Liu YY, Liu XY, Song YN, Xu P, Sun XW (2014) PCR-RFLP analysis of mtDNA to identify four kinds of sturgeons. *Biotechnology Bulletin*, (12), 78–85. (in Chinese with English abstract) [董传举, 刘园园, 刘晓勇, 宋迎楠, 徐鹏, 孙效文 (2014) 四种鲟鱼线粒体PCR-RFLP鉴定方法的研究. *生物技术通报*, (12), 78–85.]
- Doukakis P, Pikitch EK, Rothschild A, DeSalle R, Amato G, Kolokotronis SO (2012) Testing the effectiveness of an international conservation agreement: Marketplace forensics and CITES caviar trade regulation. *PLoS ONE*, 7, e40907.
- Gilkolaei R (1997) *Molecular Population Genetic Studies of Sturgeon Species in the South Caspian Sea*. PhD dissertation, Swansea University, Swansea, England.
- Guo XH, Dong Y, Hu HX, Zhao YZ (2014) Research progresses of germplasm identification methods in sturgeons. *Biotechnology Bulletin*, (2), 56–63. (in Chinese with English abstract) [郭向贺, 董颖, 胡红霞, 赵艳珍 (2014) 鲟鱼种质鉴定方法研究进展. *生物技术通报*, (2), 56–63.]
- Havelka M, Boscaro E, Sergeev A, Mugue N, Congiu L, Arai K (2019) A new marker, isolated by ddRAD sequencing, detects Siberian and Russian sturgeon in hybrids. *Animal Genetics*, 50, 115–116.
- Havelka M, Fujimoto T, Hagihara S, Adachi S, Arai K (2017) Nuclear DNA markers for identification of Beluga and Sterlet sturgeons and their interspecific Bester hybrid. *Scientific Reports*, 7, 1694.
- Hu J, Wang DQ, Wei QW, Shen L (2010) Molecular identification of Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*), Kaluga (*Huso dauricus*) and their reciprocal hybrids. *Journal of Fishery Sciences of China*, 17(1), 21–30. (in Chinese with English abstract) [胡佳, 汪登强, 危起伟, 沈丽 (2010) 施氏鲟、达氏鲟及其杂交子代的分子鉴定. *中国水产科学*, 17(1), 21–30.]
- Hu Y, Liu X, Yang J, Xiao K, Du H (2019) Development of twenty-two novel cross-species microsatellite markers for Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*) from Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) via next-generation sequencing. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 19, 85–88.
- Hubert N, Hanner R, Holm E, Mandrak NE, Taylor E, Burrige M, Watkinson D, Dumont P, Curry A, Bentzen P (2008) Identifying Canadian freshwater fishes through DNA barcodes. *PLoS Biology*, 3, e2490.
- Jennekens I, Meyer JN, Horstgen-Schwarkk G, May B, Debus L, Wedekind H, Ludwig A (2001) A fixed allele at microsatellite locus LS-39 exhibiting species - specificity for the black caviar producer *Acipenser stellatus*. *Journal of Applied Ichthyology*, 17, 39–42.
- Johnson TA, Iyengar A (2015) Phylogenetic evidence for a case of misleading rather than mislabeling in caviar in the United Kingdom. *Journal of Forensic Sciences*, 60,

- S248–S253.
- Kong J, Li SK, Wang JL, Zeng SY, Liu T (2020) Application of germplasm identification in Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*), Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*), and Kaluga (*Huso dauricus*), and their hybrids. *Journal of Fishery Sciences of China*, 27, 771–778. (in Chinese with English abstract) [孔杰, 李世凯, 王金乐, 曾诗雨, 刘霆 (2020) 施氏鲟、西伯利亚鲟、达氏鲟及其杂交种质鉴定方法的建立及其应用. *中国水产科学*, 27, 771–778.]
- Liu Y, Lu CY, Li C, Cheng L, Wu WH, Zhao YF, Sun XW (2015) Genetic identification of Amur sturgeon, Kaluga and their hybrids based on microsatellite markers. *Chinese Journal of Fisheries*, 28(1), 18–23. (in Chinese with English abstract) [刘洋, 鲁翠云, 李超, 程磊, 吴文化, 赵元凤, 孙效文 (2015) 应用微卫星标记鉴别施氏鲟、达氏鲟及其杂交子代. *水产学杂志*, 28(1), 18–23.]
- Ludwig A (2010) Identification of Acipenseriformes species in trade. *Journal of Applied Ichthyology*, 24, 2–19.
- Ludwig A, Boner M, Bonscari E, Congiu L, Gessner J, Jahri J, Striebel B (2021) Identification of species and hybrids, source and geographical origin of sturgeon and paddlefish (*Acipenseriformes* spp.) specimens and products in trade. <https://cites.org/sites/default/files/eng/com/ac/31/Docs/E-A-C31-16-Add.pdf>. (accessed on 2021-07-13)
- Ludwig A, Lieckfeldt D, Jahrl J (2015) Mislabeled and counterfeit sturgeon caviar from Bulgaria and Romania. *Journal of Applied Ichthyology*, 31, 587–591.
- Ludwig A, Lutz D, Jenneckens I (2002) A molecular approach to control the international trade in black caviar. *International Review of Hydrobiology*, 87, 661–674.
- Ludwig A, May B (2000) Heteroplasmy in the mtDNA control region of sturgeon (*Acipenser*, *Huso* and *Scaphirhynchus*). *Genetics*, 156, 1933–1947.
- May B, Krueger CC, Kincaid HL (1997) Genetic variation at microsatellite loci in sturgeon: Primer sequence homology in *Acipenser* and *Scaphirhynchus*. *Canadian Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 54, 1542–1547.
- Mugue NS, Barmintseva AE, Rastorguev SM, Mugue VN, Barmintsev VA (2008) Polymorphism of the mitochondrial DNA control region in eight sturgeon species and development of a system for DNA-based species identification. *Russian Journal of Genetics*, 44, 793–798.
- Peng T, Wang NM, Tong GX, Qu QZ, Qi Q, Suo L, Sun DJ (2009) Cross-amplifications of microsatellite markers of lake sturgeon in three kinds of sturgeons and their hybrids. *Chinese Journal of Fisheries*, 22(2), 12–16. (in Chinese with English abstract) [彭涛, 王念民, 佟广香, 曲秋芝, 齐茜, 索力, 孙大江 (2009) 湖鲟微卫星引物在三种鲟鱼及杂交子代的通用性研究. *水产学杂志*, 22(2), 12–16.]
- Rehbein H, Gonzales-Sotelo C, Perez-Martin RI, Quinteiro J, Santos AT (1999) Differentiation of sturgeon caviar by single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) analysis. *Archiv Fur Lebensmittelhygiene*, 50, 13–17.
- Shao ZJ, Zhao N, Zhu B, Zhou FL, Chang JB (2002) Applicability of microsatellite primers developed from shovelnose sturgeon in Chinese sturgeon. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 26, 577–584. (in Chinese with English abstract) [邵昭君, 赵娜, 朱滨, 周发林, 常剑波 (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, 577–584.]
- Wan C, Yang AF, Dai D, Qu F, Xu JY, Jia Y, Wang L, Yang Y (2021) A double fluorescence PCR system and its application for simultaneous detection of *Acipenser baerii* and *Acipenser stellatus*: China, CN112831571A. (in Chinese) [万超, 杨爱馥, 代弟, 屈菲, 徐君怡, 贾赞, 王雷, 杨宇 (2021) 一种同时检测闪光鲟、西伯利亚鲟物种双染料荧光PCR特异性检测体系及应用: 中国, CN112831571A.]
- Wang BY, Wang B, Chen W, Li BS (2020) Current situation and developmental trend of sturgeon culture industry in China. *Open Journal of Fisheries Research*, 7, 107–114. (in Chinese with English abstract) [王保友, 王斌, 陈玮, 李宝山 (2020) 我国鲟鱼养殖产业现状及发展趋势. *水产研究*, 7, 107–114.]
- Wolf C, Hübner P, Lüthy J (1999) Differentiation of sturgeon species by PCR-RFLP. *Food Research International*, 32, 699–705.
- Yang SY, Zhao ZM, Liu Z, Huang XL, Miao Y, Du ZJ, Luo W, Chen H, Chen DF, Feng Y (2018) Identification of *Acipenser baerii* and hybrid: *Acipenser baerii* ♀ × *Acipenser schrenckii* ♂: China, CN108660223A. (in Chinese) [杨世勇, 赵仲孟, 刘钊, 黄小丽, 苗懿, 杜宗君, 罗伟, 陈虎, 陈德芳, 冯杨 (2018) 西伯利亚鲟及以西杂的鉴定方法: 中国, CN108660223A.]
- Zhang X, Tinacci L, Xie SZ, Wang JH, Ying XG, Wen J, Armani A (2021) Caviar products sold on Chinese business to customer (B2C) online platforms: Labelling assessment supported by molecular identification. *Food Control*, 131, 108370.
- Zhang Y, Liu XY, Qu QZ, Sun DJ (2012) Comparative discriminate analysis of morphological traits among *Acipenser schrenckii*, *Huso dauricus* and their hybrid (*A. schrenckii* (♂) × *H. dauricus* (♀)). *Freshwater Fisheries*, 42, 27–32. (in Chinese with English abstract) [张颖, 刘晓勇, 曲秋芝, 孙大江 (2012) 达氏鲟, 施氏鲟及其杂交种(施氏鲟♂ × 达氏鲟♀)形态差异与判别分析. *淡水渔业*, 42, 27–32.]

(责任编辑: 陈小勇 责任编辑: 李会丽)

## 附录 Supplementary Material

### 附录1 本文涉及的SNP引物和微卫星引物

Appendix 1 Efficient SNP and microsatellite primers involved in this study

<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2022034-1.pdf>