

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2017.16088

中国沿海 6 个花鲈群体的遗传多样性分析

王桂兴¹, 侯吉伦¹, 任建功¹, 任玉琴¹, 陈睿毅², 骆明飞³, 王玉芬¹, 刘海金¹

1. 中国水产科学研究院 北戴河中心实验站, 河北 秦皇岛 066100;

2. 浙江省海洋水产研究所, 浙江 舟山 316021;

3. 珠海市现代农业发展中心, 广东 珠海 519000

摘要: 利用 8 对微卫星或简单重复序列[microsatellite or simple sequence repeats (SSR)]标记对辽宁东港(DG)、绥中(SZ)、河北秦皇岛(QHD)、山东青岛(QD)、浙江舟山(ZS)以及广东珠海(ZH)海域的 6 个花鲈(*Lateolabrax maculatus*)群体进行遗传多样性分析。结果表明, 共检测到等位基因 90 个, 每个位点的等位基因数(N_A)为 3~20; 有效等位基因数(A_e)为 1.7~11.4; 观测杂合度(H_o)为 0.355~0.971; 期望杂合度(H_e)为 0.398~0.912; 多态信息含量(PIC)为 0.365~0.906; 6 个群体的遗传多样性处于中等水平且群体间差异不显著($P>0.05$), 其中舟山群体的遗传多样性最高($N_A=11$; $H_e=0.762$; $PIC=0.734$), 绥中群体的遗传多样性最低($N_A=9.8$; $H_e=0.721$; $PIC=0.692$); 哈代-温伯格平衡检验显示, 除秦皇岛群体外, 标记 *Lama18*、*Lama21* 和 *Lama29* 在其他 5 个群体中偏离 HWE ($P<0.01$)。位点 *Lama18* 与 *Lama42* 间存在极显著性的连锁不平衡($P<0.01$); 分子方差(AMOVA)分析结果显示群体间、群体内个体间以及所有个体间的方差均达显著性水平($P<0.01$); 群体间配对 F_{st} (pair-wise F_{st})和遗传距离分析结果显示, 舟山群体与其他 5 个群体遗传分化最远, 遗传距离最大, 而北方的绥中、东港、青岛以及秦皇岛 4 个群体间分化不显著; 聚类分析显示, 珠海与秦皇岛群体先聚合, 再与舟山群体聚为一支。绥中、东港、青岛群体聚为一支; 遗传组分分析结果显示, 6 个花鲈群体中共包含 3 个主要遗传组分, 其中舟山群体遗传混杂少, 遗传信息保留完整, 而绥中、东港和青岛 3 个群体遗传组分类似, 遗传混杂严重。另外, 秦皇岛与珠海群体约 40%的遗传组分相同; 研究结果表明, 中国沿海的花鲈群体中除舟山群体外, 绥中、东港、青岛、秦皇岛和珠海 5 个群体的遗传多样性已受到现有养殖模式与养殖逃逸的影响。

关键词: 花鲈; SSR; 遗传多样性; 遗传结构; 遗传组分

中图分类号: S96

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2017)02-0395-08

花鲈(*Lateolabrax maculatus*)隶属于鲈形目(Perciformes), 鲈科(Serranidae), 花鲈属(*Lateolabrax*), 是一种广温性近岸中下层鱼类, 广泛分布于中国沿海及朝鲜半岛, 为东亚特有种之一^[1-2]。花鲈属在建立时仅有 *Lateolabrax japonicus* 一个物种^[3], 因此中国花鲈与日本鲈(*L. japonicus*)长期被认为属于同一个物种。1995 年, Yokogawa 等^[4]提出两者在分类学角度存在差异; 1996 年, Nakayama 等^[5]基于其早期形态学上的差异认为是两个种; 2000 年, 中国学者楼东等^[2]也倾向于两者为不同物种,

2003 年又用同工酶标记进行了验证^[6]; 2006 年, Liu 等^[7]提出了区分 2 个种的遗传学与分子生物学证据; 2007 年胡自民等^[8]用 RAPD 在分子水平上进一步支持了这一观点; 后来花鲈逐渐得到国内外学者认同^[1, 9-10]。目前一般公认花鲈属有 3 个种, 分别为高体鲈(*L. latus*)、日本鲈(*L. japonicus*)和花鲈(*L. maculatus*)。其中花鲈个体大、肉味美、生长快, 深受国内外消费者的欢迎, 是我国海水捕捞及养殖的重要对象之一^[1-2]。据中国渔业年鉴统计, 2010–2014 年连续五年其养殖产量超过 10

收稿日期: 2016-03-23; 修订日期: 2016-10-09.

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-50-G2); 中国水产科学研究院基本科研业务费资助项目(2016HY-JC0308).

作者简介: 王桂兴(1982–), 男, 工程师, 硕士, 研究方向为鱼类遗传育种. E-mail: wangguixing_1982@163.com

通信作者: 刘海金, 研究员. E-mail: liuhaijin2005@126.com

万 t。但目前花鲈产业优良品种匮乏, 浙江、福建、广东等南方主产区仍大量利用北方黄渤海野生花鲈苗种进行养殖或利用海捕野生亲鱼进行育苗^[1-2], 导致了种质退化等问题。花鲈资源的合理开发、保护和种质工程的建立势在必行。

随着分子标记技术的不断发展, 国内外学者已利用不同分子标记开展了花鲈遗传多样性、遗传分化等方面的研究。在日本 Ariake Sea 海域捕捞的鲈(*Lateolabrax sp.*)具有和花鲈类似的外部形态特征, 同工酶、AFLP 等分子标记分析结果表明 Ariake Sea 及其附近的 Yatsushiro Sea 的鲈群体为日本鲈和花鲈的杂交后代^[11]。韩国学者 An 等^[9, 12]利用花鲈和日本鲈的微卫星标记及多重 PCR 技术分别比较分析了野生群体与养殖群体的遗传差异及韩国 3 个花鲈主要养殖区的群体遗传特征, 为其花鲈的养殖群体的管理和监控提供了数据基础。在国内, 楼东等^[6]用同工酶比较分析中日花鲈群体, 发现两者间存在较大遗传距离。李祥云等^[13-14]用同工酶和 RAPD 分析了山东日照和福建厦门花鲈群体的遗传结构、遗传多样性和遗传差异。江鑫等^[15]利用 23 个日本鲈的微卫星标记对中国沿海花鲈的遗传结构进行分析。Shao 等^[10]开发并通过群体验证获得 18 个高度多态的花鲈微卫星标记, 为花鲈群体的种质资源、遗传分析提供高效可靠的分子工具^[9, 12]。

微卫星是一种在基因组中广泛存在的简单重复序列, 其片段变异长度因重复数的差异而不同^[16]。微卫星标记已被广泛应用于亲子鉴定^[17-18]、遗传多样性分析^[15, 19]以及放流回捕率统计^[20-21]等研究中。但现有的花鲈遗传多样性的报道中, 使用花鲈微卫星标记的研究较少^[9, 12], 其中对花鲈不同群体的遗传组分的分析尚未见报道。本研究, 利用花鲈的 8 个微卫星标记对来自辽宁东港(DG)、绥中(SZ), 河北秦皇岛(QHD), 山东青岛(QD), 浙江舟山(ZS)以及广东珠海(ZH)等覆盖我国黄海、渤海、东海以及南海海域 6 个花鲈群体的 180 尾个体进行分析, 以期在花鲈的野生种群保护和良种选育等提供数据基础。

1 材料与方法

1.1 样品采集与 DNA 提取

2015 年分别从辽宁东港(DG)、绥中(SZ), 河

北秦皇岛(QHD), 山东青岛(QD), 浙江舟山(ZS)以及广东珠海(ZH)海域(图 1)各采集花鲈样品 30 尾, 共计 180 尾。样品体重 45.98~1232.01 g, 体长 14.30~48.63 cm。剪取胸鳍平铺于采样纸上, 37℃烘干后保存。使用海洋动物基因组 DNA 提取试剂盒(TIANGEN, DP324)提取基因组 DNA。提取完成后, 采用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计分别检测 DNA 的质量和浓度。

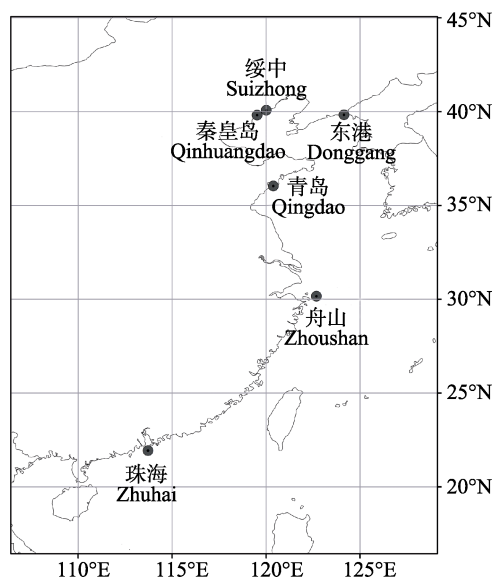


图 1 6 个花鲈群体采集地(●)

Fig. 1 Geographical locations (●) of 6 spotted sea bass populations

1.2 微卫星检测

本研究从 Shao 等^[10]推荐使用的花鲈微卫星标记中选取 8 个用于分析。各标记的名称、引物序列、退火温度等见表 1。利用 FAM 和 HEX 对 8 对引物的正向引物 5'端进行荧光标记, 其中 Lama04、Lama18、Lama23 和 Lama31 标记为 FAM, 被激发后呈蓝色; Lama07、Lama21、Lama29 和 Lama42 标记为 HEX, 被激发后呈绿色。PCR 反应体系为 15 μL, 包括 10×buffer 1.5 μL, Mg²⁺(25 mmol/μL) 1.5 μL, dNTPs (10 mmol/μL)各 0.25 μL, 上下游引物(10 pmol/μL)各 0.15 μL, Taq DNA 聚合酶(5 U/μL) 0.2 μL, 模板 DNA (30~50 ng)1 μL, ddH₂O 9.5 μL。PCR 反应程序为: 94℃预变性 3 min; 94℃ 25 s, 50~54℃ 25 s, 72℃ 60 s, 共 35 个循环; 最后 72℃延伸 10 min。PCR 扩增在 PE9700 型 PCR 仪上进行。取 1 μL PCR 产物与 10 μL 的 Hidi Formamid

和 GeneScan™-500 LIZ Size Standard 混合液 (Hidi Formamid : GeneScan™-500 LIZ Size Standard= 80 : 1, 体积比)充分混合, 95℃变性 5 min, 结束后迅速转移至冰上冷却。处理后的产物通过 ABI 3700 测序仪进行毛细管电泳, 并利用 GeneMarker V2.2.0 软件进行基因分型。

1.3 数据分析

采用 Genepop4.0 软件分析花鲈群体等位基因数(N_A)、有效等位基因数(A_e)、观测杂合度(H_o)、

期望杂合度(H_e)、多态信息含量(PIC)、哈代-温伯格平衡(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)检验及连锁不平衡(link disequilibrium, LD)分析; 采用 Arlequin3.5 软件对花鲈 6 个群体进行遗传分化指数(F -statistics)和分子方差分析(analysis of molecular variance, AMOVA); 采用 phylip3.69 软件进行群体间遗传距离及群体聚类分析; 采用 Structure 2.3 软件进行遗传组分分析, 根据 Evanno 等^[22]的方法确定遗传组分。

表 1 8 个微卫星标记的名称、核心序列、引物序列、退火温度及 GenBank 登录号
Tab. 1 Locus, motif, primers, annealing temperature and GenBank assession no. of 8 microsatellites

位点 locus	核心序列 motif	引物序列(5'-3') primer sequence (5'-3')	退火温度/℃ annealing temperature	GenBank 登录号 accession no.
Lama04	(AC) ₉	F: TTGTTGTAAGTAGTGTTGGGAAT R: AAAAATGAAGGAGGACAGAATGA	54	EU090734
Lama07	(CA) ₁₃ N(AC) ₁₂	F: AAAGGGTTGAAAATCCGTGG R: CAGGAGGTAATAAAACAGGGCTA	54	EU090737
Lama18	(GT) ₁₄ CT(GT) ₁₀	F: ACAAGAGGAAAACAGCAACATC R: GCTCACTTTCTGACCAAACCTT	54	EU090748
Lama21	(AC) ₁₃	F: TCCAGGTCTGTTTTCTGTTTC R: TTTTCTCGGATTATCTGTCTCA	54	EU090751
Lama23	(GT) ₁₅	F: AACTGACGGAGATGATACGGT R: GCTGAAGAAGAGGCAGGTGT	54	EU090753
Lama29	(CA) ₁₈	F: TAAGGGGTAGTGATTATTGTGA R: TGAAGTGGTAAGAGGGGATT	54	EU090759
Lama31	(TG) ₁₃	F: CCAGGGGGCAGACAGGAGGT R: GCCCATTCTTCCTCCAACCA	54	EU090761
Lama42	(AC) ₁₅	F: GTATTTCATATCCCATCTCG R: TATTGTGCTCTTCCTCTCTC	50	EU090772

2 结果与分析

2.1 遗传多样性分析

采用 Genepop4.0 进行 6 个群体的 HWE 检验, 并经 Bonferroni 校正。结果显示, 除秦皇岛群体外, 标记 Lama18、Lama21 和 Lama29 在其他 5 个群体中偏离 HWE ($P<0.01$)。连锁不平衡分析结果显示, 位点 Lama18 和 Lama42 间存在极显著性的连锁不平衡现象($P<0.01$)。因此, Lama18、Lama21 和 Lama29 未用于后续分析。

微卫星位点的遗传多样性参数值列于表 2。共检测到等位基因 90 个, 每个位点的等位基因数(N_A)为 3~20; 有效等位基因数(A_e)为 1.7~11.4; 观测杂合度(H_o)为 0.355~0.971; 期望杂合度(H_e)为 0.398~0.912; 多态信息含量(PIC)为 0.365~0.906。花鲈 6 个群体的遗传多样性处于中等水平, 并且群体间的多样性水平差异不显著($P>0.05$), 其中舟山群体的遗传多样性最高($N_A=11$; $H_e=0.762$;

$PIC=0.734$), 绥中群体的遗传多样性最低($N_A=9.8$; $H_e=0.721$; $PIC=0.692$)。

2.2 遗传分化及聚类分析

分子方差(AMOVA)结果显示, 主要的变异来源为群体内个体间(6.23%)和个体间(91.96%); 而群体间变异所占比例较低, 为 1.81%, 但也到达了显著性水平(表 3, $P<0.01$)。6 个群体总的 F_{st} 为 0.018, 群体间配对 F_{st} 为-0.0003~0.0461, 舟山群体均与其他群体遗传分化最大, 而绥中, 东港, 青岛以及秦皇岛 4 个群体间遗传分化不显著(表 4, $P<0.01$)。

6 个群体相互间的遗传距离为 0.053~0.277(表 4), 绥中与东港群体遗传距离最近(0.053), 而遗传距离最远的是舟山和珠海群体(0.277)。依据 Nei 氏遗传距离构建进化树(图 2)。舟山群体独立为一支; 珠海和秦皇岛群体聚为一支; 绥中和东港群体先聚成一支, 再与青岛群体聚为一支。遗传距离结果与 F_{st} 结果相符合。

表 2 6 个花鲈群体遗传多样性
Tab. 2 Genetic diversity among 6 populations of *L. maculatus*

群体 population	位点 locus	遗传参数 genetic parameter				
		N_A	A_e	H_o	H_e	PIC
绥中 SZ	Lama04	3	1.8	0.400	0.445	0.402
	Lama07	13	4.3	0.833	0.769	0.744
	Lama23	4	3.6	0.633	0.724	0.673
	Lama31	18	9.3	0.867	0.892	0.885
	Lama42	11	4.5	0.767	0.776	0.757
	平均 mean	9.8	4.70	0.700	0.721	0.692
东港 DG	Lama04	4	1.8	0.355	0.457	0.417
	Lama07	14	4.0	0.742	0.750	0.725
	Lama23	7	4.3	0.774	0.768	0.729
	Lama31	18	9.3	0.871	0.893	0.885
	Lama42	11	5.4	0.903	0.815	0.794
	平均 mean	10.8	5.00	0.729	0.737	0.710
青岛 QD	Lama04	3	2.1	0.448	0.527	0.472
	Lama07	10	4.2	0.759	0.763	0.738
	Lama23	5	3.9	0.828	0.747	0.701
	Lama31	20	11.4	0.931	0.912	0.906
	Lama42	11	5.2	0.759	0.806	0.781
	平均 mean	9.8	5.36	0.745	0.751	0.719
秦皇岛 QHD	Lama04	4	1.7	0.419	0.398	0.365
	Lama07	12	3.3	0.677	0.699	0.673
	Lama23	6	3.9	0.774	0.743	0.702
	Lama31	18	8.1	0.968	0.877	0.867
	Lama42	15	5.7	0.807	0.825	0.807
	平均 mean	11.0	4.54	0.729	0.708	0.683
珠海 ZH	Lama04	5	2.0	0.487	0.511	0.465
	Lama07	13	3.1	0.649	0.681	0.658
	Lama23	5	3.5	0.730	0.717	0.671
	Lama31	17	11.1	0.811	0.910	0.903
	Lama42	9	5.1	0.703	0.802	0.777
	平均 mean	9.8	4.96	0.676	0.724	0.695
舟山 ZS	Lama04	5	2.1	0.543	0.526	0.475
	Lama07	16	7.6	0.857	0.869	0.856
	Lama23	5	3.5	0.686	0.717	0.669
	Lama31	20	11.2	0.971	0.911	0.905
	Lama42	9	4.7	0.800	0.787	0.763
	平均 mean	11.0	5.82	0.771	0.762	0.734
总体 globe	Lama04	6	1.9	0.446	0.486	0.444
	Lama07	27	4.5	0.751	0.778	0.760
	Lama23	8	4.00	0.736	0.747	0.704
	Lama31	33	13.6	0.902	0.926	0.922
	Lama42	16	5.4	0.788	0.815	0.795
	平均 mean	18.0	5.88	0.724	0.750	0.725

注: N_A 为等位基因数, A_e 为有效等位基, H_o 为观测杂合度, H_e 为期望杂合度。
Note: N_A , number of alleles; A_e , effective number of alleles; H_o , the observed hetrozygosity; H_e , the expected heterozygosity.

表 3 6 个花鲈群体分子方差分析结果
Tab. 3 AMOVA among 6 geological populations of *L. maculatus*

变异来源 source of variance	方差组分 variance component	变异所占比例 percentage variation	P 值 P value
群体间 among populations	0.059	1.81*	0.000
群体内个体间 among individuals within a population	0.204	6.23*	0.000
个体间 among individuals within total	3.001	91.96*	0.000
总体变异 total	3.271		

注: “*”表示差异极显著($P<0.01$).
Note: “*” indicates extremely significant difference ($P<0.01$).

表 4 6 个花鲈群体间遗传分化指数 F_{st} (对角线下)
和遗传距离(对角线上)

Tab. 4 Pair-wise F_{st} estimator (below diagonal) and
Nei’s unbiased genetic distance (above diagonal)
between populations

	SZ	DG	QD	QHD	ZH	ZS
绥中 SZ	—	0.053	0.062	0.077	0.135	0.228
东港 DG	−0.0024	—	0.066	0.069	0.117	0.263
青岛 QD	−0.0009	−0.0003	—	0.085	0.129	0.245
秦皇岛 QHD	0.0040	0.0018	0.0046	—	0.098	0.221
珠海 ZH	0.0194*	0.0148*	0.0162*	0.0107*	—	0.277
舟山 ZS	0.0358*	0.0412*	0.0359*	0.0344*	0.0461*	—

注: “*”表示差异极显著($P<0.01$).
Note: “*” indicates extremely significant difference ($P<0.01$).

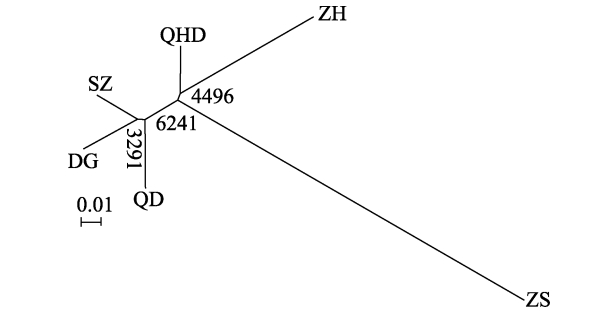


图 2 基于群体间遗传距离构建的 6 个花鲈群体的聚类树
枝上的数字表示 bootstrap 置信值, bootstrap 抽样 10000 次,
图中标尺为 Nei 氏遗传距离。

Fig. 2 Tree of six populations based on Nei’s unbiased
genetic distance
Original scale bar represents the distance of 0.01. On
branches are the numbers of the same branch
obtained in 10000 calculations.

2.3 遗传组分分析

采用 Structure 2.3 软件进行遗传组分分析,
根据 Evanno 等^[22]的方法确定遗传组分。6 个花鲈

群体中共包含 3 个遗传组分(图 3; 红、绿、蓝三色分别表示不同遗传组分)。舟山群体的遗传混杂最少, 珠海群体次之; 绥中、东港和青岛 3 个群体间的遗传组分混杂严重; 秦皇岛群体中约 40%的

遗传组分与珠海群体相同。结果表明, 舟山群体与其他群体的遗传分化较大, 遗传混杂少, 遗传信息完整。遗传组分分析结果与 F_{st} 、遗传距离结果相符合。

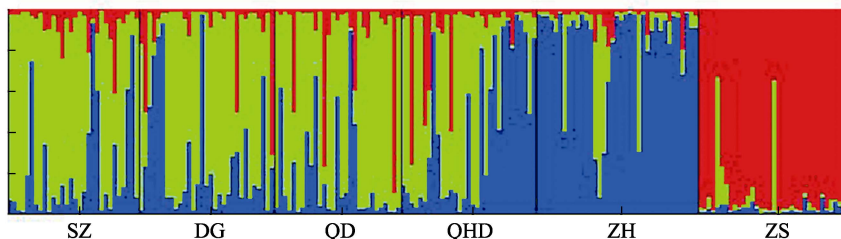


图 3 6 个花鲈群体的遗传组分分析

Fig. 3 Genetic component among 6 populations of *L. maculatus*

3 讨论

花鲈是中国重要的名特优水产品之一, 具有巨大的养殖前景^[1-2]。花鲈的遗传研究越来越受到学者的重视, 但现有报道中使用的遗传标记主要为同工酶^[6, 14]、RAPD^[13, 23]和日本鲈的微卫星标记^[15, 24], 而鲜有花鲈微卫星标记的报道。直到 2009 年 Shao 等^[10]首次开发出花鲈的微卫星标记, 花鲈才有了本物种的微卫星标记并很快得到了应用^[9, 12]。本研究的目的是利用花鲈的 8 个微卫星分子标记分析和比较中国沿海 6 个花鲈群体的遗传多样性、遗传分化及遗传组分等, 以期在花鲈的资源保护和遗传育种提供基础数据。

遗传多样性结果显示, 6 个花鲈群体总体遗传多样性(平均 $N_A=18.0$, 平均 $H_e=0.750$)与江鑫等^[15]研究结果(平均 $N_A=10.8$, 平均 $H_e=0.768$)相似, 中国群体与韩国野生群体(平均 $N_A=11.0$, 平均 $H_e=0.761$)多样性水平相当^[9], 这些说明本研究使用的微卫星标记能够真实准确地反映出花鲈群体的遗传信息。本研究中渤海海域的绥中($N_A=3\sim22$, $H_e=0.445\sim0.934$)和秦皇岛($N_A=4\sim28$, $H_e=0.398\sim0.948$)群体的遗传多样性略高于 Shao 等^[10]于 2009 年公布的渤海自然群体(32 尾)的遗传多样性($N_A=3\sim9$, $H_e=0.406\sim0.868$), 可能是因为本研究使用的样本量较大(180 尾), 另外还使用了测序仪进行毛细管电泳, 较普通的聚丙烯凝胶电泳分辨率高, 等位基因检出率更高。

HWE 检验结果显示, 8 个微卫星标记在秦皇

岛群体中均处于平衡状态, 标记 *Lama18*, *Lama21* 和 *Lama29* 在其他 5 个群体中出现偏离, 显示出显著的杂合子缺失(表 2, $P<0.01$), 可能是无效等位基因、过度捕捞和养殖个体逃逸引起的。相似的结果也有报道, 例如, 在 Shao 等^[10]研究中, 由于无效等位基因或亚种群的存在, 导致 4 个位点(*Lama18*, *Lama23*, *Lama29*, *Lama39*)出现偏离, 而在韩国养殖群体中由于养殖驯化及选育使 6 个位点发生偏离^[12]。

现有研究表明, 我国沿海花鲈群体间已发生遗传分化。李多云等^[13-14, 23]用同工酶和 RAPD 研究结果证实了“花鲈南北两种群分化”之说。江鑫等^[15]用微卫星标记分析花鲈遗传结构的结果显示, 威海和北海群体间遗传距离最大, 威海群体与舟山群体及北海群体与舟山群体遗传距离相似; 威海群体与 2 个烟台群体间的遗传分化达到了显著水平; 2000–2006 年山东半岛沿海花鲈群体遗传结构已发生一定程度的改变^[24]。刘明月等^[25]通过细胞色素 b 序列分析显示, 北海的花鲈单独成群, 大连、黄骅、青岛、盐城、宁波的花鲈没有单独成群, 黄渤海与东海的花鲈没有明显分化。本研究中, 舟山群体和其他群体遗传差异最大, 而北方的绥中、东港、青岛、秦皇岛 4 个群体间差异不显著(表 4, 图 1)。结果符合“花鲈南北两种群分化”之说。

另外, 本研究首次对中国沿海的花鲈群体的遗传组分进行报道。研究结果表明, 舟山群体的

遗传混杂最少,可能是由于舟山群体位于长江入海口,河口地区为鱼苗提供了具有丰富的食物及躲避捕食者的场所^[24, 26],才保留完整的遗传信息(图 2)。而北方的绥中、东港和青岛 3 个群体间的遗传混杂严重,珠海与秦皇岛群体约 40%的遗传组分相同,珠海群体与北方群体的遗传背景和亲缘关系较舟山群体的更近,与 F_{st} 和遗传距离的结果相同。6 个花鲈群体的遗传组分的分析结果和我国目前花鲈养殖业发展的地域特征具有一定的关系。珠海是我国最重要的花鲈养殖产区,当地养殖苗种主要利用黄渤海的野生花鲈亲鱼在当地或者福建等地进行人工繁殖,受精卵孵化培育成鱼苗时再运往珠海养殖,或者直接将受精卵运至珠海进行苗种培育和养成。因自然灾害或操作不当等原因,养殖花鲈会逃逸到自然海域中。养殖逃逸是水产养殖中普遍存在的一种现象,挪威沿海 1989–1996 年捕获的大西洋鲑中有 34%~54%是养殖逃逸的鲑(*Salmo salar*),在峡湾捕获的鲑中逃逸鱼占 10%~21%^[27]。现有研究已经证明,养殖逃逸鱼对野生种群的遗传多样性会造成副作用^[28]。

综上所述,现有的养殖模式和养殖逃逸已对中国沿海野生花鲈遗传多样性和遗传结构产生一定影响,因此渔业主管部门需要加强对养殖户的宣传教育以及执法力度,杜绝人为原因造成的逃逸事件,切实保护好野生花鲈种质资源多样性。

参考文献:

- [1] Wen H S, Zhang M Z, Li J F, et al. Research progress of aquaculture industry and its seed engineering in spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) of China[J]. Fishery Information & Strategy, 2016(2): 105–111. [温海深, 张美昭, 李吉方, 等. 我国花鲈养殖产业现状与种子工程研究进展[J]. 渔业信息与战略, 2016(2): 105–111.]
- [2] Lou D, Gao T X, Zhang X M, et al. The advance on germplasm resources study of *Lateolabrax*[J]. Journal of Zhejiang Ocean University: Natural Science, 2000, 19(2): 162–167. [楼东, 高天翔, 张秀梅, 等. 花鲈种质资源的研究进展[J]. 浙江海洋学院学报: 自然科学版, 2000, 19(2): 162–167.]
- [3] Bleeker P. Nieuwe nalezingen op de ichthyologie van Japan[J]. Verh Batav Genootsch Kunst Wet, 1854–1857, 26: 1–132.
- [4] Yokogawa K, Seki S. Morphological and genetic differences between Japanese and Chinese sea bass of the genus *Lateolabrax*[J]. Jpn J Ichthyol, 1995, 41(4): 437–445.
- [5] Nakayama K, Kineshita I, Seikai T. Morphological comparisons during early stage rearing of Chinese and Japanese forms of the temperate bass, *Lateolabrax japonicus*[J]. Jpn J Ichthyol, 1996, 43(1): 13–20.
- [6] Lou D, Zhang X M, Liu G D, et al. Study on genetic variation in Chinese and Japanese sea bass[J]. Journal of Ocean University of Qingdao, 2003, 33(1): 22–28. [楼东, 张秀梅, 柳广东, 等. 中日花鲈生化遗传变异的初步研究[J]. 青岛海洋大学学报: 自然科学版, 2003, 33(1): 22–28.]
- [7] Liu J X, Gao T X, Yokogawa K, et al. Differential population structuring and demographic history of two closely related fish species, Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) and spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) in Northwestern Pacific[J]. Mol Phylogenet Evol, 2006, 39(3): 799–811.
- [8] Hu Z M, Gao T X, Han Z Q, et al. Studies on genetic differentiation of the spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) and Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*)[J]. Periodical of Ocean University of China, 2007, 37(3): 413–418. [胡自民, 高天翔, 韩志强, 等. 花鲈和鲈鱼群体的遗传分化研究[J]. 中国海洋大学学报, 2007, 37(3): 413–418.]
- [9] An H S, Lee J W, Kim H Y, et al. Genetic differences between wild and hatchery populations of Korean spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) inferred from microsatellite markers[J]. Genes Genom, 2013, 35(5): 671–680.
- [10] Shao C W, Chen S L, Xu G B, et al. Eighteen novel microsatellite markers for the Chinese sea perch, *Lateolabrax maculatus*[J]. Conserv Genet, 2009, 10(3): 623–625.
- [11] Yokogawa K, Taniguchi N, Seki S. Morphological and genetic characteristics of sea bass, *Lateolabrax japonicus*, from the Ariake Sea, Japan[J]. Jpn Ichthyolog Res, 1997, 44(1): 51–60.
- [12] An H S, Kim H Y, Kim J B, et al. Genetic characterization of hatchery populations of Korean spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) using multiplex polymerase chain reaction assays[J]. Genet Mol Res, 2014, 13(3): 6701–6715.
- [13] Li M Y, Zhao M Z, Zhong A H, et al. The analysis of genetic variation of *Lateolabrax japonicus* from Rizhao of Shandong and Xiamen of Fujian by isozyme and RAPD methods[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2005, 27(3): 119–123. [李明月, 赵明忠, 钟爱华, 等. 山东日照和福建厦门沿海花鲈遗传差异的同工酶和 RAPD 分析[J]. 海洋学报, 2005, 27(3): 119–123.]
- [14] Li M Y, Zhao M Z, Zhong A H, et al. Comparative analysis of genetic variation by isozymes between two stocks of the sea Bass (*Lateolabrax japonicus*) from Rizhao & Xiamen sea areas, China[J]. Journal of Zhejiang Ocean University: Natural

- Science, 2003, 22(2): 121–124. [李明月, 赵明忠, 钟爱华, 等. 山东日照和福建厦门沿海花鲈同工酶的遗传变异分析[J]. 浙江海洋学院学报: 自然科学版, 2003, 22(2): 121–124.]
- [15] Jiang X, Yang G P, Wei Q W, et al. Analysis of the genetic structure of Spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) inhabiting the Chinese coast[J]. Periodical of Ocean University of China, 2009, 39(2): 271–274. [江鑫, 杨官品, 危起伟, 等. 中国沿海花鲈群体遗传结构分析[J]. 中国海洋大学学报, 2009, 39(2): 271–274.]
- [16] Liu Z J, Cordes J F. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics[J]. Aquaculture, 2004, 238(1–4): 1–37.
- [17] Kong J, Gao H, Yu F, et al. Parentage identification of Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*) using microsatellite-based triplex PCR Genescan technology[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(1): 59–66. [孔杰, 高焕, 于飞, 等. 微卫星三重 PCR 基因扫描技术在中国明对虾家系标识中的应用[J]. 中国水产科学, 2007, 14(1): 59–66.]
- [18] Ji X, Sun X W, Yang L G, et al. Paternity testing of mitogenetic Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) using microsatellite loci[J]. Zoological Research, 2008, 29(1): 25–30. [季旭, 孙效文, 杨立更, 等. 微卫星标记对牙鲆有丝分裂雌核发育家系的亲子鉴定[J]. 动物学研究, 2008, 29(1): 25–30.]
- [19] Liu H J, Zhu X C, Sun X W, et al. Analysis of genetic structure among 5 cultured stocks of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15(1): 30–37. [刘海金, 朱晓琛, 孙效文, 等. 牙鲆5个养殖群体的遗传多样性分析[J]. 中国水产科学, 2008, 15(1): 30–37.]
- [20] Chen R Y, Wang G X, Liu H J, et al. Difference in parental contribution to reproduction in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(4): 698–705. [陈睿毅, 王桂兴, 刘海金, 等. 牙鲆亲本对子代贡献率的实验研究[J]. 中国水产科学, 2013, 20(4): 698–705.]
- [21] Sekino M, Saitoh K, Yamada T, et al. Genetic tagging of released Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) based on polymorphic DNA markers[J]. Aquaculture, 2005, 244(1–4): 49–61.
- [22] Evanno G, Regnaut S J, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study[J]. Mol Ecol, 2005, 14(8): 2611–2620.
- [23] Li M Y, Zhao M Z, Zhong A H, et al. Comparative analysis of RAPD genetic variation between two stocks of sea bass (*Lateolabrax aponicus*) from Shandong Rizhao and Fujian Xiamen sea areas[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2003, 34(6): 618–624. [李明月, 赵明忠, 钟爱华, 等. 山东日照和福建厦门沿海花鲈(*Lateolabrax japonicus*)遗传多样性的RAPD研究[J]. 海洋与湖沼, 2003, 34(6): 618–624.]
- [24] Jiang X, Yang G, Liao M, et al. Microsatellite DNA polymorphism of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) inhabiting Chinese and Japanese coasts[J]. J Appl Ichthyol, 2008, 24(2): 180–186.
- [25] Liu M Y, Jiang Q C, Yang J X. Analysis on mitochondrial DNA cytochrome b gene of *Lateolabrax Japonicas* from different seas[J]. Journal of Nanjing Normal University: Natural Science Edition, 2010, 33(1): 102–106. [刘明月, 蒋琦辰, 杨家新. 不同海域中国花鲈的细胞色素 b 序列的遗传分析[J]. 南京师大学报: 自然科学版, 2010, 33(1): 102–106.]
- [26] Shoji J, Tanaka M. Influence of spring river flow on the recruitment of Japanese seaperch *Lateolabrax japonicus* into the Chikugo estuary, Japan[J]. Sci Mar, 2006, 70(2): 159–164.
- [27] Clifford S L, McGinnity P, Ferguson A. Genetic changes in an Atlantic salmon population resulting from escaped juvenile farm salmon[J]. J Fish Biol, 1998, 52(1): 118–127.
- [28] You F, Zhang P J, Xiang J H, et al. Conservation of genetic diversity on marine cultured fish[J]. Marine Sciences, 2003, 27(12): 10–13. [尤锋, 张培军, 相建海, 等. 海水养殖鱼类遗传多样性的保护[J]. 海洋科学, 2003, 27(12): 10–13.]

Genetic variability in six *Lateolabrax maculatus* populations inhabiting the Chinese coast

WANG Guixing¹, HOU Jilun¹, REN Jiangong¹, REN Yuqin¹, CHEN Ruiyi², LUO Mingfei³,
WANG Yufen¹, LIU Haijin¹

1. Beidaihe Central Experiment Station, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qinhuangdao 066100, China;

2. Marine Fisheries Research Institute of Zhejiang, Zhoushan 316021, China;

3. Zhuhai Modern Agricultural Development Center, Zhuhai 519000, China

Abstract: *Lateolabrax maculatus* is a rapidly maturing fish and an important aquaculture species in China. A comprehensive analysis of the genetic structure of a germplasm resource is an essential prerequisite for their effective protection and utilization. The genetic diversity and structure of six *L. maculatus* populations—Donggang (DG), Qingdao (QD), Qinhuangdao (QHD), Suizhong (SZ), Zhuhai (ZH), and Zhoushan (ZS), inhabiting the Chinese coast were determined using eight microsatellite DNA markers. A medium level of genetic diversity was detected among the six populations but no significant differences were observed. Population SZ had the least genetic diversity, whereas ZS had the most. Most populations, except QHD, had a significant loss of heterozygosity ($P < 0.01$), which was also revealed by the global Hardy–Weinberg equilibrium ($P < 0.01$). Linkage disequilibrium was extremely significant ($P < 0.01$) between the Lama18 and Lama42 markers. The analysis of molecular variance results detected a significant difference in variance between populations, between individuals, and between individuals within populations ($P < 0.01$); the pair-wise F_{st} between groups and genetic distance results showed that maximum genetic differentiation and genetic distance occurred between ZS and the other five populations. No significant genetic differentiation was detected among the SZ, DG, QHD, and QD populations. A cluster analysis showed that ZS, ZH, and QHD were clustered with SZ, DG, and QD. Three genetic compositions were observed in the six populations. The genetic information in ZS was intact and was not mixed. The other five populations had a similar genetic composition and were significantly mixed genetically. Approximately 40% genetic similarity was detected between QHD and ZH. These results indicate that genetic differentiation has occurred between the ZS population and the other five populations analyzed. The genetic diversity among the five populations (DG, QD, QHD, SZ, and ZH) of *L. maculatus* inhabiting the Chinese coast has decreased and has become more homogeneous due to interactions with escapees from local aquaculture operations.

Key words: *Lateolabrax maculatus*; SSR; genetic diversity; genetic structure; genetic composition

Corresponding author: LIU Haijin. E-mail: liuhaijin2005@126.com