

DOI: 10.3724/SP.J.1035.2010.00562

肖四海湖野生和人工放流鳊群体遗传结构分析

吴旭^{1,2} 严美姣² 李钟杰¹

(1. 中国科学院水生生物研究所, 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072;

2. 福建农林大学动物科学学院, 福州 350002)

摘要: 采用微卫星标记研究天然封闭型水体肖四海内鳊放流群体与野生群体的遗传差异, 试图从分子水平探讨人工增殖放流群体与野生群体遗传结构的差异。结果表明: 鳊两个群体在 10 对微卫星座位共发现有 50 个等位基因。其中, 放流群体发现有 22 个等位基因, 野生群体发现 37 个等位基因; 通过 H_e 和 PIC 统计发现, 野生群体遗传多样性明显高于放流增殖鳊, 野生鳊群体表现出更丰富的遗传多样性; 由杂合度检验可以看出, 两个群体都呈现杂合过剩现象, 经哈代-温伯格平衡检验, 显示两个群体均显著偏离哈代-温伯格平衡 ($P < 0.001$), 属于连锁不平衡群体; 群体间的 F_{ST} 检验, 可以看出群体间的 F_{ST} 高于 0.25, 反映遗传变异主要存在于群体间, 而不是群体内部, 这充分反映近交及瓶颈效应会引起养殖群体遗传结构的改变, 从而导致群体间的遗传分化。

关键词: 鳊; 放流增殖; 微卫星; 遗传结构

中图分类号: Q346.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2010)03-0562-07

鳊 (*Siniperca chuatsi*, Basilewsky) 属鲈形目 (Perciformes), 鲈科 (Serranidae), 鳊属 (*Siniperca*), 为我国名贵淡水鱼类, 是长江中下游湖泊重要的定居型食鱼性鱼类。近年来, 由于水域污染、气候条件恶化、过度捕捞, 造成包括鳊在内的野生经济鱼类资源进一步下降^[1]。多年来鳊人工放流增殖发展十分迅速, 极大地推动了鳊资源的开发与利用, 也可能造成鳊种苗的混杂与种质的衰退^[2]。

从入侵生态学角度来看, 由于放养鱼类与野生鱼类之间的遗传差异, 当放养鱼类与自然群体相互交配时, 基因渐渗 (Gene dilution) 等可能导致野生种群的地方适应性 (Local adaptation) 和适合度 (Fitness) 的降低, 表现为生长减慢、抗病力下降等^[3,4]。而当杂交群体和放养群体具有明显的竞争优势时, 野生种群的生存会受到威胁, 杂交数量越大, 野生种群消失的可能性也就越大^[5]。因此, 大规模的放流增殖是否会导致多样性降低, 生活力下降都是值得关注的问题。

目前国内外针对人工放流增殖对野生群体遗传结构影响的研究主要聚焦于洄游性鱼类^[3,6], Fritzner, et al. 研究表明, 为避免人工增殖鱼群与野生鱼群的基因库混杂, 在实施人工增殖时, 应对人工放流鱼群的遗传背景进行评估, 以确保野生鱼群遗传结构的稳定^[7]。而通过保持野生种群群体的有效含量和利用增殖群体繁殖性能较野生种群低的手段也不失为有效的保护方法。然而在西班牙, 种群恢复的效果并不如期望的那样好^[8]。相反的, 由于放养而导致的负面遗传影响却有日益增多地证据, 这就需要强有力的举措, 使其能有效的评估杂种对所需开发的野生和养殖种群基因库的影响范围^[9]。因此, 采用适时、适地监控, 连续(世代)检测和评估野生种群在人工增殖下的遗传结构的变化是很有必要的。

微卫星等位基因具有突变速度快、多态性高、共显性等特性, 因此在鱼类遗传图谱构建、亲子鉴定和血缘关系分析等方面得到了广泛的应用^[10,11]。本试验, 采用微卫星标记研究放流个体同野生群体

收稿日期: 2009-02-16; 修订日期: 2009-12-28

基金项目: 国家自然科学基金(30830025)资助

作者简介: 吴旭(1976—), 男, 江苏南通人; 副教授; 研究方向为鱼类群体遗传学研究。E-mail: wuxufafu@163.com

通讯作者: 李钟杰, E-mail: zhongjie@ihb.ac.cn

的遗传差异, 试图从分子水平探讨人工增殖放流群体及野生群体遗传结构的差异, 为下一步探讨两种群体混养后, F_1 代群体遗传多样性和杂合度的变化, 揭示人工增殖群体对野生群体遗传结构影响打下基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

保安湖(30°15'N, 114°43'E)位于湖北省大冶县, 地处江汉平原东部边缘, 为长江中游南岸一个浅水草型湖泊, 分为四个湖区: 主体湖区、桥墩湖区、扁担塘湖区及肖四海湖区。试验样本取自其中一封闭湖区-肖四海湖(1.33 km², 图 1)。本试验进行前未曾投放过鳊鱼人工繁殖苗种, 故其中鳊鱼认定为野生群体。试验中所投放的人工增殖鳊(来自湖北省江夏区国营牛山湖渔场), 采用微型编码金属标作了标记, 以区分湖泊自然繁殖的野生鳊。标志放流后一年内回捕放流群体 32 尾, 野生群体 34 尾。

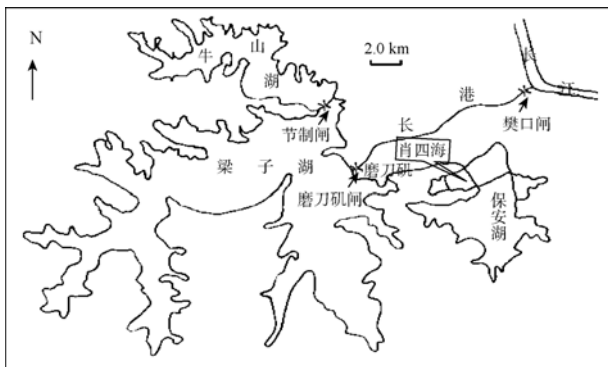


图 1 采样点肖四海的地理位置

Fig. 1 Map of sampling sites of Xiaosihai Lake

Taq DNA 聚合酶、蛋白酶 K、dNTPs、PBR322DNA/MSPI Markers、丙烯酰胺等均购自上海生工; 苯酚、无水乙醇均为国产分析纯。

1.2 标志方法

微型编码金属标 (Coded Wire Tag, CWT) 购于美国西北海洋技术公司 (Northwest Marine Technology, NMT), 长度为 1.10 mm, 直径为 0.25 mm。我们使用 NMT 公司的手工标记仪 (Mark IV) 对鳊稚鱼预先选定背部肌肉 (背鳍第一个硬棘基部下 5 mm) 进行标志, 标志被打入表皮下 2 mm 的肌肉内。

1.3 样品总 DNA 提取

将尾鳍组织(约 100 mg)剪碎后加入 500 μ L 组织裂解液, 剪取组织样时用于剪取不同个体的解剖剪严格清洗并分开, 防止交叉污染。采用常规酚仿法

抽提 DNA, 具体操作参照 Sambrook 的方法^[12], 稍做改动。

1.4 引物合成

参考张彬等研究结果^[13], 本试验共选取 10 个多态性较好的微卫星标记, 由上海生工生物工程技术有限公司合成, 引物序列信息(表 1)。

1.5 PCR 扩增和结果记录

扩增反应总体积为 25 μ L, 其中包括: ddH₂O 18.3 μ L, 10 $\times$ buffer 缓冲液 2.5 μ L, dNTP 1.0 μ L, 引物 F、R 各为 1.0 μ L, Taq DNA 聚合酶 0.2 μ L, 模板 DNA 1.0 μ L。反应条件为 94 $^{\circ}$ C 热变性 5min, 然后 94 $^{\circ}$ C 30s, 55—60 $^{\circ}$ C(根据引物的不同选择温度)复性 30s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 40s, 30 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5min, 4 $^{\circ}$ C 保存备用。8%变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 6—7h (100 V), 银染, 利用 Kodak Digital Science 1D Image Analysis Software 照相, 根据标准 pBR322 DNA /Msp I Marker 计算扩增片段的大小, 确定个体基因型。

1.6 数据处理

数据统计分析方法: 应用 Excel、geneclass2、popgene32 软件对鳊种间遗传结构进行分析, 计算以下遗传参数: 杂合度 (H)、多态信息含量 (PIC)、有效等位基因数 (N_e)、固定指数 (F)、基因流 (Nm); 根据 Nei's 遗传距离用类平均聚类方法 (UPGMA) 进行系统聚类, 分析群体间遗传分化关系。

杂合度 (Heterozygosity, H), 即基因多样性

$$h_i = 1 - \sum_{i=1}^k P_i^2; H = \sum_{i=1}^r h_j / r;$$
 其中: r 为座位数; k 为等位基因数; P_i 为第 k 个座位第 i 个等位基因的频率。

多态信息含量 (Polymorphism Information

Content, PIC)
$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^k P_i^2 - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k 2P_i^2 P_j^2 =$$

$$2 \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k P_i P_j (1 - P_i P_j);$$
 其中: k 为等位基因数目; P_i

和 P_j 分别为第 i 和第 j 个等位片段的频率。

固定指数 (Fixation Index) $F = (H - H_0) / H$; 其中: H 是随机交配情况下杂合子的期望频率, H_0 是群体杂合子的观察频率。

基因流 Nm 由 $F_{ST} = 1 / (4Nm + 1)$ 换算。

2 结 果

2.1 等位基因组成、等位基因频率计算

部分 PCR 扩增结果(图 2)。根据个体基因型计

算两个鳊群体在 10 个微卫星座位各等位基因的基因频率 (表 2)。放流鳊、野生鳊种群在 10 对微卫星座位共发现有 50 个等位基因。其中, 放流鳊群体共有 22 个等位基因, 而野生鳊发现 37 个等位基因,

表现出更丰富的遗传多样性。

2.2 群体内的遗传变异

2 个鳊群体的平均等位基因数, 平均期望杂合度、平均多态信息含量(表 3)。放流鳊单个座位的

表 1 10 个微卫星座位的性质及 PCR 反应条件
Tab. 1 Characterization of the ten microsatellite loci and conditions of PCR

Locus	Repeat motif	Primer sequence (5'-3')	Tm (°C)	Size range (bp)	GenBank Accession No.
SC12	(GT) ₁₃	F: CCAGTGAACATTGGTGCAGT R: GGAGGAAATCGTGCATTTGT	60	240—310	DQ487856
SC13	(TG) ₁₃	F: TGGTGGTGTGTTTTCTCAGC R: AACACACACGACCAATACGC	58	268—302	DQ487857
SC19	(TG) ₁₅	F: AACCTTCCTCCCAGCTCACT R: TGTGGTGAACTTTGGGACA	58	176—212	DQ487860
SC23	(TG) ₁₃	F: CAGACGTCCGATTACCCAGT R: AACTTCCCCCTTAGCTCCTG	60	264—292	DQ487862
SC25	(GT) ₁₉	F: TGAGAAAAATAACTCGACTGAACAA R: CACTGCCTTCAGCTCACAGA	55	242—258	DQ487863
SC29	(GT) ₁₄	F: GGTGCAGAAACAGGTCCAAT R: CCCAGTGAGACGACAGAAT	58	187—270	DQ487864
SC31	(CA) ₃₄	F: AGTTGAGCCAAGAGGAAACG R: TGTGGAGGGGAGTTTCAGTC	58	206—292	DQ487866
SC33	(GT) ₁₂	F: TGATGCCATTTTGTTCAGGA R: TGCATTTCTGACTCTGCAC	55	172—210	DQ487867
SC34	(CA) ₂₅	F: CCTTGCCTCTCCAAGAACAG R: TGGTCTGTAACCAGACACCTTG	58	170—242	DQ487868
SC42	(CA) ₁₇	F: TGTGTGTTCCCTCTCGCTTCT R: CCTGACACCTCCTCCACACT	58	162—204	DQ487871

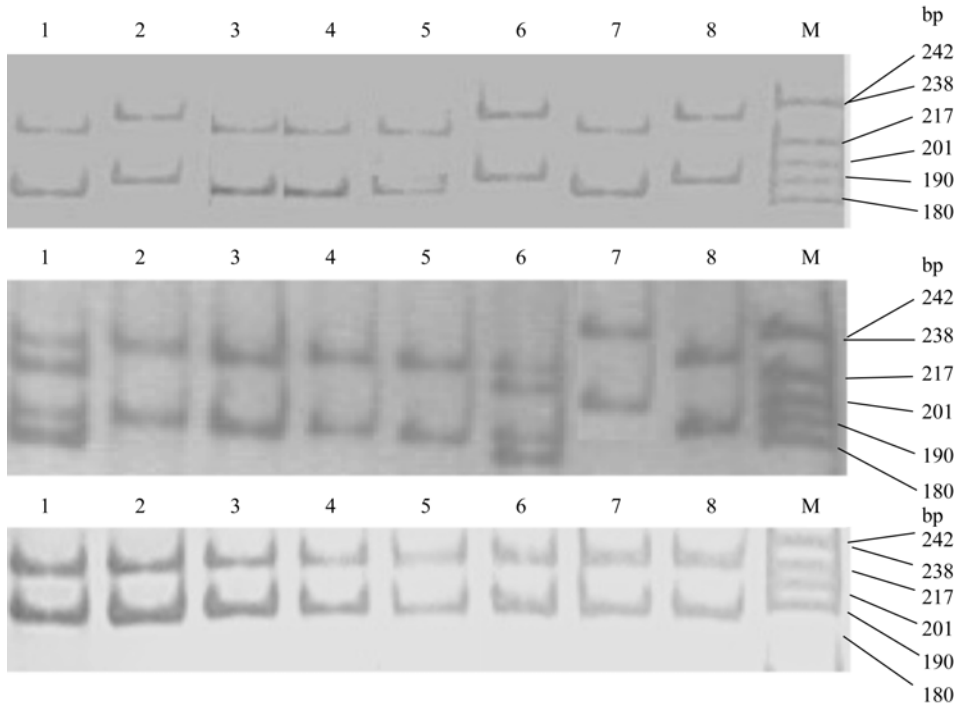


图 2 鳊群体在 3 对微卫星引物的部分扩增结果

Fig. 2 A portion of PCR results of three primers in mandarin fish populations
1—8. 样品序号; M. pBR322 DNA /Msp I Marker; 引物代号: sc31, sc34, sc42
1—8. Sample number; M. pBR322 DNA /Msp I Marker; Names of three primers: sc31, sc34, sc42

表 2 10 个微卫星座位在鳊群体中的等位基因频率
Tab. 2 Allele frequencies at ten microsatellite loci in mandarin fish populations

座位 Locus	等位基因 Allele (bp)	群体 Populations		座位 Locus	等位基因 Allele (bp)	群体 Populations	
		野生 W	放流 S			野生 W	放流 S
SC12	238	0.0000	0.5000	SC29	199	0.0000	0.5000
	242	0.5000	0.0000		215	0.4853	0.0000
	246	0.0588	0.0000		217	0.0882	0.0000
	270	0.0000	0.5000		247	0.0147	0.0000
	284	0.4412	0.0000		249	0.4118	0.0000
SC13	234	0.0000	0.5000	SC31	253	0.0000	0.5000
	246	0.4412	0.0000		184	0.0588	0.3036
	270	0.1029	0.5000		188	0.0000	0.3571
	276	0.0294	0.0000		194	0.4706	0.0000
	282	0.4265	0.0000		230	0.0000	0.3393
SC19	170	0.1029	0.5000	SC33	256	0.4706	0.0000
	176	0.4118	0.0000		150	0.5147	0.0000
	194	0.0735	0.0000		160	0.0000	0.5830
	224	0.0000	0.5000		184	0.4265	0.0000
	238	0.4118	0.0000		188	0.0588	0.0000
SC23	248	0.0000	0.5000	SC34	198	0.0000	0.4170
	250	0.0735	0.0000		178	0.0735	0.0000
	258	0.1912	0.0000		184	0.4559	0.5000
	260	0.5147	0.0000		242	0.3382	0.5000
	270	0.0588	0.5000		250	0.1324	0.0000
SC25	280	0.1618	0.0000	SC42	173	0.3529	0.0000
	246	0.4853	0.5000		179	0.0000	0.4580
	270	0.0294	0.0000		187	0.0441	0.0000
	280	0.4853	0.5000		199	0.1765	0.0000
					215	0.4265	0.0420
					225	0.0000	0.4580

等位基因数 2—3 个, 平均为 2.2。而野生鳊的单个座位的等位基因数 3—5 个, 平均 3.7 个。由表 3 可以看出, 野生鳊多态信息含量较高, 为 0.5188; 放流的人工增殖鳊的多态信息含量较低, 为 0.4071。野生鳊有 6 个座位的多态信息含量超过 0.5, 分别是 SC13、SC19、SC23、SC29、SC34 和 SC42。而放流鳊只有 1 个座位多态信息含量超过 0.5, 是 SC31; 野生鳊群体的平均期望杂合度为 0.6096, 而放流增殖鳊的平均期望杂合度较低, 为 0.5210 (表 3)。

2.3 群体间的遗传变异

通过每个位点的固定指数 *FIT*、*FIS*、*FST* 检验群体的遗传分化。2 个鳊群体各个座位的 *F*-statistics 分析结果(表 4)。针对 10 个微卫星座位计算群体间总的遗传分化系数为 *FST* 为 0.403, 表明有 40.3 % 的遗传变异来自于群体间, 59.7 % 的遗传变异来自于

群体内。这表明鳊野生群体和养殖群体间存在较大的遗传分化; 群体内杂合子剩余显著, 群体内的近交系数 *FIS* 为 -0.768 ($P < 0.01$); 各座位的基因流较小, 均小于 1, 平均 *Nm* 值为 0.4677。sc34 座位有最大的基因流, *Nm* = 0.4406, 而座位 sc42 有最小的基因流, *Nm* = 0.2876。

3 讨 论

3.1 标记放流鳊的效果评价

鳊属定居性鱼类, 鳊自然群体可以在水体中自然繁殖, 保安湖水系肖四海是鳊的传统产区, 自然群体数量较多。因此, 要有效评估鳊人工放流增殖效果, 前提条件是能够准确区分水体中的自然鳊和放流鳊。为此, 必须通过有效方法对人工放流群体进行标志。通过对鱼类标志技术及方法的研究, 选

表 3 两种鳊等位基因数、平均观察杂合度、平均期望杂合度和多态信息含量
Tab. 3 Mean number of alleles per locus, mean heterozygosity (*He* and *Ho*), and *PIC* for the two mandarin fish populations

群体 Populations	平均等位基因数 Num of alleles	平均期望杂合度 Expected heterozygosity	平均观察杂合度 Observed heterozygosity	多态信息含量 <i>PIC</i>
XSH-W	3.7	0.6096	0.8588	0.5188
XSH-S	2.2	0.5210	0.8750	0.4071

表 4 群体 10 个微卫星座位杂合度、*F* 统计量
Tab. 4 Effective number of Fixation index (*F*) of ten microsatellite DNA loci in populations

座位 Locus	杂合度 <i>He</i>	总近交系数 <i>FIT</i>	群体分化系数 <i>FST</i>	群体内近交系数 <i>FIS</i>	基因流 <i>Nm</i>
SC12	0.8394	-0.012	0.426	-0.763	0.3369
SC13	0.8608	0.001	0.453	-0.826	0.3019
SC19	0.7073	-0.209	0.376	-0.936	0.4149
SC23	0.8165	0.053	0.386	-0.542	0.3977
SC25	0.7457	-0.084	0.370	-0.721	0.4257
SC29	0.8368	0.003	0.442	-0.788	0.3156
SC31	0.8820	0.064	0.376	-0.500	0.4149
SC33	0.7077	-0.207	0.378	-0.941	0.4114
SC34	0.8155	-0.089	0.362	-0.707	0.4406
SC42	0.8174	-0.048	0.465	-0.960	0.2876
平均值	0.8029	-0.053	0.403	-0.768	0.3747

了目前国际上常用的微型编码金属标 (Coded Wire Tag, CWT) 标志鳊稚鱼进行放流。CWT 标志自 20 世纪 60 年代被开发以来, 已经成功用于多种鱼类标志研究。但是, CWT 标志在我国仅在中华鲟的保护放流增殖等研究中进行了应用^[14]。

本研究中, CWT 标志鳊在经历较长时间(将近一年)后, 保持稳定, 不再脱落。同时, CWT 标志对放流鳊的生长和存活没有显著影响, 是一种优良的体外标记方法。

3.2 鳊野生和养殖群体内及群体间的遗传分化

本研究发现, 鳊人工繁殖放流群体平均有 41% 的等位基因丢失, 期望杂合度平均值也显著低于野生群体。在其他鱼类的研究中发现类似的现象: Norris, *et al.* 对大西洋鲑的 4 个野生群体和 3 个人工放流群体遗传多样性分析时发现, 所有的人工放流群体遗传变异水平低于野生群体, 其微卫星座位上检测到的等位基因数目和等位基因大小变化范围都低于野生群体^[15]。Skaala, *et al.* 在研究大西洋鲑时, 发现 42% 的等位基因在养殖群体中丢失, 但杂合度并没有发生明显变化, 他认为引起养殖群体等位基因丢失的主要原因在于建群者效应^[16]。

固定指数又称为 Hardy-Weinberg 平衡遗传偏离指数, 是反应群体在某座位偏离 Hardy-Weinberg 程度的参数。 $F > 0$, 表明某群体在该座位杂合子缺失;

相反, 当 $F < 0$, 则表明该群体在该座位杂合子过剩, 数值大小则表明缺失或过剩的程度。本研究发现放流群体和野生群体都表现为杂合子严重过剩, 显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡。放流群体是来自牛山湖的人工繁殖场。繁殖亲本数比较小, 会更加容易发生瓶颈效应和近交现象, 可能出现纯合子的几率更多。笔者认为, 可能是基因座位表现的基因多型性, 杂合个体在生存中相比纯合个体处于一定的优势, 此现象在海产鱼类鲷、鲆类的研究中都曾报道^[17,18], 是由于杂合型个体的成活率和生长速度高于纯合型个体的超显性选择 (Overdominant selection) 效应, 但这种推断需对生长性状进行进一步研究予以证实。

基因分化系数是表征群体间遗传分化程度的重要参数, 当该参数在 0—0.05 时, 群体间遗传分化较弱; 在 0.05—0.15 时, 遗传分化中等; 0.15—0.25 时, 遗传分化较大; 当大于 0.25 时, 表示群体间分化极大。本研究中肖四海野生群体与人工放流养殖群体间基因分化系数分别为 0.403, 这表明鳊野生群体与人工养殖群体间遗传分化较大。由此可见: 与野生群体相比, 人工放流的养殖群体的遗传结构已经明显发生改变。对于鳊养殖群体而言, 当环境情况改变时, 现存的基因型可能并不适于生存, 但一个可塑的群体可以通过重组以致产生新的更加适宜的

类型来适应环境; 另外, 近交及瓶颈效应也容易引起养殖群体遗传结构的改变。本研究中鳊人工放流养殖群体的亲本均来自原种场, 但由于亲本数量较少, 发生近交及瓶颈效应的可能性更大。

3.3 人工放流可能对鳊种质资源影响的展望

定居性鱼类的人工放养是当前长江中下游地区湖泊渔业的重要模式, 鳊的人工放养是鱼类增殖的主要对象之一。对于定居性鱼类的人工放养效果的评估研究, 在理论和实际应用方面都具有重要意义。目前国内外学者对人工放流增殖效果开展了较多的研究, 但主要集中在甲壳类、洄游及半洄游性鱼类中, 对于定居性鱼类人工放养增殖可能造成的遗传效果的研究相对缺乏。

本实验初步分析了放流群体和野生群体在遗传上的差异和一些遗传的种质特点。在此基础上, 通过分子生态学手段系统研究人工放流的增殖效果, 监测放流子代的基因流及遗传多样性变化, 探讨遗传多样性的变化对生态适应性的影响, 将是以后开展研究的重点方向, 这将会为定居性鱼类的人工繁殖放流提供理论及实践指导。

参考文献:

- [1] Zhang C G, Zhao Y H. Status of *Siniperca chuatsi* resources, measures for restoring and rational utilization in China [J]. *Bulletin of Biology*, 1999, **34**(12): 9—11. [张春光, 赵亚辉. 我国鳊资源现状及其恢复和合理利用途径. 生物学通报, 1999, **34**(12): 9—11]
- [2] He Y K, Ma J G, Wan J Y, *et al.* Enhancement and capture of the mandarin fish *Siniperca chuatsi* in medium-and small-sized lakes [J]. *Reservoir Fisheries* 2002, **22**(3): 33—35 [何晏开, 马金刚, 万建业, 等. 中小型湖泊鳊鱼增殖与捕捞技术的研究. 水利渔业, 2002, **22**(3): 33—35]
- [3] Currens K P, Hemmingsen A R, French R A, *et al.* Introgression and susceptibility to disease in a wild population of rainbow trout [J]. *North American Journal of Fisheries Management*, 1997, **17**: 1065—1078
- [4] Clifford S L, McGinnity P, and Ferguson A. Genetic changes in Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations of Northwest Irish rivers resulting from escapes of adult farm salmon [J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1998, **55**: 358—363
- [5] Einum S, Fleming I A. Genetic divergence and interactions in the wild among native, farmed and hybrid Atlantic salmon [J]. *Journal of Fish Biology*, 1997, **50**: 634—651
- [6] Patrick M, Rubin V P, Hedgecock D, *et al.* Genetic effects of artificial propagation: signal from wild and hatchery populations of red abalone in California [J]. *Aquaculture*, 1996, **143**(3-4): 257—266
- [7] Fritzner N G, Hansen M M, Madsen S S, *et al.* Use of microsatellite markers for identification of indigenous brown trout in a geographical region heavily influenced by stocked domesticated trout [J]. *Journal of Fish Biology*, 2001, **58**: 1197—1210
- [8] Youngson A F, Dosdat A, Saroglia M, *et al.* Genetic interactions between marine finfish species in European aquaculture and wild conspecifics [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2001, **17**: 153—162
- [9] Araguas R M, Sanz N, Pla C, *et al.* Breakdown of the brown trout evolutionary history due to hybridization between native and cultivated fish [J]. *Journal of Fish Biology*, 2004, **65**(Suppl. A): 28—37
- [10] Watanabe T, Fujita H, Yamasaki K, *et al.* Preliminary study on linkage mapping based on microsatellite DNA and AFLP markers using homozygous clonal fish in ayu (*Plecoglossus altivelis*) [J]. *Marine Biotechnology*, 2004, **6**: 327—334
- [11] Bertotto D, Cepollaro F, Libertini A, *et al.* Production of clonal founders in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. by mitotic gynogenesis [J]. *Aquaculture*, 2005, **246**(1-4): 115—124
- [12] Sambrook J. and Russell D W. Molecular cloning: a laboratory manual [M]. 3rd edition. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2001
- [13] Zhang B, Li Z, Tong J, *et al.* Isolation and characterization of 18 polymorphic microsatellite markers in Chinese mandarin fish *Siniperca chuatsi* (Basilewsky) [J]. *Molecular Ecology Notes*, 2006, **6**: 1216—1218
- [14] Yang D G, Wei Q W, Wang K, *et al.* Downstream migration of tag-released juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) in the Yangtze River [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, **29**(1): 26—30 [杨德国, 危起伟, 王凯, 等. 人工标志放流中华鲟幼鱼的降河洄游. 水生生物学报, 2005, **29**(1): 26—30]
- [15] Norris A T, Bradley D G, Cunningham E P. Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations [J]. *Aquaculture*, 1999, **180**: 247—264
- [16] Skaala O, Høyheim B, Glover K, *et al.* Microsatellite analysis in domesticated and wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): Allelic diversity and identification of individuals [J]. *Aquaculture*, 2004, **240**: 131—143
- [17] Kijima A, Liu S Y, Taniguchi N, *et al.* Sustentation of isozymic polymorphism in flatfish species [J]. *Fish Genetics and Breeding*, 1996, **23**: 85—93
- [18] Liu S Y, Ikeda Minoru, Fujio Yoshihisa. Selective advantage of heterozygotes at the liver isocitrate dehydrogenase locus in the Plaice [J]. *Wuhan University Journal (Natural Science Edition)*, 2000, **46**(4): 495—499 [刘思阳, 池田实, 藤尾芳久. 牙鲆群体 Idh-1 基因座位杂合型个体选择性优势. 武汉大学学报 (自然科学版), 2000, **46**(4): 495—499]

GENETIC STRUCTURE OF STOCKING DOMESTICATED AND WIDE MANDARIN FISH *SINIPERCA CHUATSI* IN XIAOSIHAI LAKE

WU Xu^{1,2}, YAN Mei-Jiao² and LI Zhong-Jie¹

(1. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072;

2. College of Animal Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002)

Abstract: Mandarin fish (*Siniperca chuatsi*, Basilewsky) has been one of the most important valuable domestic freshwater aquaculture fish in China. It is an important sedentary piscivorous fish in lakes adjacent middle and lower reaches of the Yangtze River. For many years of aquaculture, the germplasm quality and genetic diversity may have declined due to neglecting to inspect the genetic diversity in mandarin fish and the lack of the long-run and effective administer. In order to aid in investigation of the population genetic structure and marker assisted breeding, the genetic diversity and population structure of mandarin fish from the wild population and the artificial releasing population of Xiaosihai Lake were investigated by using microsatellite DNA markers.

In total 68 individuals were all collected and consisted of 34 wild individuals and 32 artificial individual. The artificial individuals were tagged with CWT (Coded Wire Tags) when those been released one year ago. Genomic DNA was extracted from ethanol-preserved fin tissues by using phenol-chloroform method. Using a set of microsatellite primers originally reported in Mandarin fish (*Siniperca chuatsi*, Basilewsky), we carried out many cross-species PCR amplifications. PCR products were separated on 7.5% nondenaturing polyacrylamide gels, stained with ethidium bromide in water and visualized with ultraviolet. The data were calculated and analyzed by statistic method.

The results indicated that 50 alleles were found in ten microsatellite loci in two populations. The number of alleles per loci ranged from 2-3 and total number was 22 in artificial releasing population; in wild population, the number of alleles per loci ranged from 3-5 and 37 in total.

Polymorphism information content value (*PIC*) was higher and more than 0.5 in locus SC13, SC19, SC23, SC29, SC34 and SC42 in Xiaosihai wild population; meanwhile the artificial releasing population had the lower *PIC* value, only one locus more than 0.5 in SC31. The average *PIC* value from wild and releasing population were 0.5188 and 0.4071 respectively.

The observed heterozygosity (*Ho*) and the expected heterozygosity (*He*) were calculated based on frequencies of genotypes and alleles of each microsatellite locus, the average *He* value was higher in wild population (*Ho* = 0.8588, *He* = 0.6096) and lower in artificial releasing population (*Ho* = 0.8750, *He* = 0.5210). The results showed that the genetic diversity of wild population was more sufficient higher than that of the cultured population. Genetic differentiation and hierarchical partition of genetic diversity were evaluated by F_{st} , which indicated that the gene differentiated more seriously apparently between wild and stocking population.

After it being checked by χ^2 test of the Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE), most loci were found to be significantly deviated from HWE ($P < 0.001$) in the two populations in which heterozygote excess was apparent. The present study results revealed inbreeding and the bottleneck effect as the main causes which result in genetic differentiation between the two populations.

All of these indices indicated that the artificial releasing population of mandarin fish have relatively low genetic diversity. The reasons may result from inbreeding while artificial propagation, and neglecting the genetic diversities and population quantity while carried out artificial releasing program. The consequent of CWT tagged in juvenile mandarin fish and theoretical signification to other settlement fish were also discussed.

Key words: Mandarin fish; Stocking; Microsatellite; Genetic structure