

8 种鲤养殖品种线粒体 *Cyt b* 基因的 遗传多样性和系统进化分析

肖同乾^{1,2}, 鲁翠云^{1,3}, 李超¹, 张明昭¹, 顾颖¹, 孙效文^{1*}

(1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070;

2. 大连海洋大学水产与生命学院, 辽宁 大连 116023;

3. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 对 8 种鲤养殖品种的线粒体 *Cyt b* 基因部分序列进行测定, 并比较分析其遗传多样性和系统进化关系, 结果获得 425 bp 的 *Cyt b* 序列, 其中 T、C、A、G 的平均含量分别为 26.8%、29.0%、29.7%、14.5%, A+T 含量 (56.5%) 高于 G+C 含量 (43.5%), 翻译为 141 个氨基酸, 其中突变多数存在于缬氨酸和异亮氨酸之间 (两个氨基酸都为不带电荷的疏水性氨基酸), 其变异不影响 *Cyt b* 的功能, 说明该蛋白是一个进化缓慢的蛋白, 适合用于遗传进化分析。140 个个体中共检测到 4 个单倍型, 其中 75.5% 的个体属于单倍型 Hap 2, 而单倍型 Hap 1 主要分布在 3 种表现型为镜鲤的品种。AMOVA 分析结果和利用 Kimura 2-parameter 模型分析的系统发育关系结果表明, 德国镜鲤、散磷镜鲤和松浦红镜鲤亲缘关系较近, 而蓝鳞鲤、荷包红鲤抗寒品系和高寒鲤亲缘关系较近。

关键词: 鲤; 遗传多样性; 细胞色素 b

中图分类号: Q 343.3⁺5; S 917.4

文献标志码: A

鲤 (*Cyprinus carpio*), 隶属于硬骨鱼纲 (Osteichthyes), 鲤形目 (Cypriniformes), 鲤科 (Cyprinidae), 鲤属 (*Cyprinus*), 养殖历史悠久, 是我国养殖范围最广泛的淡水经济鱼类之一^[1-2]。经过半个多世纪的品种开发, 其养殖品种越来越多。如散磷镜鲤为 1958 年从苏联引进, 经几十年选育而来; 德国镜鲤为 1984 年从联邦德国引进, 是欧洲野鲤的鳞被基因发生突变后经选育而来; 高寒鲤是从 1979 年开始经过约 15 年的时间, 采用杂交和雌核发育相结合的方法, 将黑龙江野鲤的耐低温、荷包红鲤的耐高密度养殖和镜鲤的生长快等优良性状综合到一起选育出的抗寒力高、生长速度快的新品种; 荷包红鲤抗寒品系是 1979 年开始以黑龙江野鲤和江西婺源荷包红鲤杂交而来; 松浦镜鲤是 1986 年至 1990 年在黑龙江水产研究所松浦试验场用该所选育的散磷镜鲤和联

邦德国引进的德国镜鲤进行品系间杂交而来, 且于最近又经选育得到松浦镜鲤良种; 松浦红镜鲤是 2011 年审定通过的新品种, 为荷包红鲤和散磷镜鲤杂交后代中分离而来; 而蓝鳞鲤是黑龙江野鲤和红镜鲤杂交 F₁ 的后代^[3-5]。由于不同品种之间的杂交育种, 各品种间的系统进化关系较混乱, 不利于杂交种的管理和新品种的培育, 而且随着种质资源的利用, 各品种有出现种质退化的现象, 遗传特性有待改善。

动物的遗传多样性是动物进化和适应环境的基础, 群体的遗传多样性越丰富, 适应环境变化的能力就越强, 而遗传多样性的丧失, 对生存于不稳定环境中的动物群体是极大的威胁, 所以, 对鲤各养殖品种之间的进化关系和遗传多样性分析非常必要, 有助于保持各优良品种的优势基因, 且对鲤鱼品种的开发和管理具有十分重要的理论价值和

收稿日期: 2012-09-28 修回日期: 2012-12-14

资助项目: 公益性行业 (农业) 科研专项 (200903045); 国家“八六三”高技术研究发展计划 (2011AA100402-5); 国家科技基础条件平台建设运行项目

通信作者: 孙效文, E-mail: sunxw2002@163.com

现实意义。目前,对鲤科鱼类种属间的进化关系研究较多,而对鲤不同地理群和养殖品系的研究较少,之前多利用鲤的形态学特征对其进行系统学研究^[6],而这些特征所提供的分辨效果相对较差,且特别容易受到外界环境等因素的影响使系统进化信息产生误差。mtDNA 具有比核基因快的进化速度和一级结构歧化的特点,因此成为研究近缘种间和种内群体遗传分化的重要遗传标记。其中 Cyt b 基因倍受关注,其长度约为 1 140 bp,具有一定的保守性,且进化速率适中,足以阐明种间的系统分化关系,也可进行种内水平的研究,Kartavtsev^[7]已通过实验加以验证,且在各物种的研究中得到广泛应用^[8-10]。

本实验以 8 种鲤养殖品种共 140 个个体作为研究对象,采用 PCR 测序的方法获得线粒体 Cyt b 部分序列,通过对测序结果的分析,讨论鲤各养殖品种间的系统发育关系和遗传多样性,旨在为各养殖品种的种质遗传资源的客观评价、种质资源的保护和合理开发利用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

选取来自黑龙江水产研究所松浦实验站的 8 种鲤养殖品种为研究对象,包括松浦鲤(SP)22 尾、散磷镜鲤(SL)10 尾、德国镜鲤(DJ)12 尾、松浦红镜鲤(HJ)14 尾、荷包红鲤抗寒品系(HK)15 尾、高寒鲤(GH)24 尾、松浦镜鲤(SJ)21 尾、蓝鳞鲤(LL)22 尾,共 140 尾,分别取其尾鳍,70% 乙醇保存于 -20 °C 冰箱。

1.2 实验方法

基因组 DNA 提取 基因组 DNA 的提取采用传统的酚氯仿抽提的方法^[11]。

PCR 扩增与测序 采用 Xiao W-H 设计的引物(L14724: 5'-GACTTGAAAAACCACCGTTG-3', H15149: 5'-CCTCAGAAGGATATTTGTCCTC-3')^[12],扩增各养殖品种的 Cyt b 基因。引物由上海生工生物公司合成。PCR 反应体系为 50 μL,包括混合 buffer 36 μL、上下游引物(10 μmol/L)各 0.5 μL、模板 DNA 2 μL、Taq DNA 聚合酶 2 U,加适量灭菌水。扩增反应均在 PE 9700 型 PCR 仪(PE 公司)上完成,反应条件:94 °C 预变性 7 min;94 °C 30 s,60 °C 30 s,72 °C 30 s,共 26 个循环;72 °C 延伸 5 min。PCR 产物经 2% 琼脂

糖凝胶电泳检测后由上海生工生物工程技术服务有限公司纯化后测序。

序列分析 测序后,将序列输入 Clustal X 1.83 软件^[13]进行序列的对位排列,并加以人工校对,截取相同长度的部分序列用于群体遗传分析,用 DnaSP v.5^[14]软件计算单倍型和核酸多态性,利用软件 Arlequin 3.11 中的分子方差分析(AMOVA)计算群体间的遗传分化。用 MEGA 4.0^[15]软件分析序列的碱基组成和差异百分比、变异位点、简约信息位点数、转换/颠换值,根据 Kimura 双参数模型计算各群体间的遗传距离(D)。根据群体间的遗传距离,利用 MEGA 4.0 软件构建群体间系统发生关系的 NJ(Neighbor-Joining)聚类树,采用 Bootstrap(重复数 = 1 000)检验分子系统树各分支的置信度。

2 结果

2.1 核苷酸和氨基酸序列的特征

将所得序列在 GenBank 中 Blast,结果确定此为鲤鱼线粒体的 Cyt b 基因的部分序列。所有序列经 ClustalX 比对并加以人工校对后,共截取 425 bp 序列用于群体遗传分析。因 SJ 10 个体测序结果污染,加以去除后共 139 个个体。经 MEGA 4.0 分析,此序列可编码 141 个氨基酸,保守位点为 418 个,变异位点为 7 个,简约信息位点为 3 个,在序列的 178 ~ 349 bp 之间所有群体都无变异位点。测得的所有序列 T、C、A、G 的含量分别为 26.8%、29.0%、29.7%、14.5%,其中 A + T 含量(56.5%)高于 G + C 含量(43.5%),转换/颠换值为 8.2。

将所选核苷酸序列翻译为氨基酸序列,并在 NCBI 上比对后,确认为正确的氨基酸序列,加上在 NCBI 上下载的金鱼的 Cyt b 所编码的部分氨基酸序列,经 MEGA 4.0 比对后,发现 8 个变异位点,3 个简约信息位点,其中氨基酸变异主要存在于缬氨酸和异亮氨酸之间,极少数在赖氨酸和异亮氨酸之间。

2.2 单倍型及核苷酸多样性

所有群体的 Cyt b 基因可分为 4 个单倍型,22.3% 个体属于单倍型 Hap 1,绝大多数个体(75.5%)属于单倍型 Hap 2,少数个体(1.44%)属于单倍型 Hap 3,极少个体(0.72%)属于单倍型 Hap 4(表 1)。散磷镜鲤、德国镜鲤和松浦红镜

鲤以单倍型 Hap 1 为主且单倍型 Hap1 主要分布在这 3 个品种中(占 74.2%),松浦鲤、高寒鲤和松浦镜鲤以单倍型 Hap 2 为主,荷包红鲤抗寒品系和蓝鳞鲤只存在单倍型 Hap 2,松浦镜鲤中存在全部 4 种单倍型。

单倍型数(n_h)为 1~4 个,单倍型多样性(H_d)在(0.000±0.000)和(0.568±0.119)之间,

核苷酸多样性(P_i)在(0.000 00±0.000 00)和(0.002 65±0.002 27)之间,其中荷包红鲤抗寒品系和蓝鳞鲤的多样性为 0,除荷包红鲤抗寒品系和蓝鳞鲤外,其他所有品种的 Tajima's D 中性检验值的变化范围为-1.411 04~1.757 51,中性检验结果显示均不显著($P > 0.1$ 或 $0.1 > P > 0.05$),符合中性突变(表 2)。

表 1 基于线粒体 Cyt b 基因的各群体的单倍型数
Tab.1 Haplotypes from each populations based on Cyt b gene of mtDNA

单倍型 haplotype	群体 population									GenBank 登录号 accession no.
	总数 total	SP	SL	DJ	HJ	HK	GH	SJ	LL	
Hap 1	31	3	7	7	9		2	3		JX963628
Hap 2	105	19	3	5	5	15	22	14	22	JX963629
Hap 3	2							2		JX963630
Hap 4	1							1		JX963631

表 2 基于线粒体 Cyt b 基因的遗传多样性
Tab.2 Genetic diversity estimates based on Cyt b gene of mtDNA

群体 population	n_h	H_d (±SD)	P_i (±SD)	中性检验 neutrality test	
				Tajima's D	P
SP	2	0.247 ± 0.108	0.001 16 ± 0.000 96	-0.227 69	$P > 0.10$
SL	2	0.467 ± 0.132	0.002 20 ± 0.001 27	1.032 99	$P > 0.10$
DJ	2	0.530 ± 0.076	0.002 50 ± 0.001 18	1.757 51	$0.10 > P > 0.05$
HJ	2	0.495 ± 0.088	0.002 34 ± 0.001 12	1.553 73	$P > 0.10$
HK	1	0.000 ± 0.000	0.000 00 ± 0.000 00	0	0
GH	2	0.159 ± 0.094	0.000 75 ± 0.000 94	-0.889 89	$P > 0.10$
SJ	4	0.568 ± 0.119	0.002 65 ± 0.002 27	-1.411 04	$P > 0.10$
LL	1	0.000 ± 0.000	0.000 00 ± 0.000 00	0	0

注: n_h . 单倍型数; H_d . 单倍型多样性; P_i . 核苷酸多样性。

Notes: n_h . number of haplotypes; H_d . haplotype diversity; P_i . nucleotide diversity.

2.3 群体遗传分化

利用 Cyt b 基因比较各群体间的遗传分化, AMOVA 结果表明,遗传差异主要来自群体内(69.31%),少数来自群体间(30.69%)(表 3)。各群体的遗传变异 F_{st} 分析,结果显示,松浦红镜鲤、

德国镜鲤和散磷镜鲤之间的 F_{st} 值为负,这 3 种鲤鱼与其他 5 种鲤鱼之间的 F_{st} 值为 0.141 85~0.722 22,表现品种间分化差异显著($P < 0.05$)(表 4)。

表 3 基于线粒体 Cyt b 基因的 AMOVA 分析结果
Tab.3 The result of AMOVA based on Cyt b gene of mtDNA

变异来源 source of variation	自由度 df	平方和 sum of squares	方差分量 variance components	总变异百分比 percentage of variation
群体间 among populations	7	18.588	0.136 64 V_a	30.69***
群体内 within populations	131	40.419	0.308 55 V_b	69.31***
总数 total	138	59.007	0.445 18	

Notes: * $P < 0.05$, ** $P < 0.005$, *** $P < 0.001$.

表 4 基于 Cyt b 基因的各群体间的 F_{st} 和基于 Kimura 双参数模型计算各群体之间遗传距离
 Tab. 4 The F_{st} among populations based on Cyt b gene and genetic distance of each population calculated based on Kimura 2-parameter model

	HJ	SP	GH	SJ	LL	HK	DJ	SL
HJ		0.409 26 *	0.514 53 *	0.205 37 *	0.394 02 *	0.635 00 *	-0.075 78	-0.085 72
SP	0.003		-0.030 46	0.027 61	0.036 97	0.065 02	0.340 37 *	0.485 37 *
GH	0.003	0.001		0.078 87	0.053 84	0.015 66	0.454 22 *	0.596 13 *
SJ	0.003	0.002	0.002		0.034 33	0.156 91	0.141 85 *	0.251 31 *
LL	0.003	0.001	0.000	0.001		0.099 12	0.331 48 *	0.449 83 *
HK	0.003	0.001	0.000	0.001	0.000		0.580 42 *	0.722 22 *
DJ	0.002	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003		-0.068 99
SL	0.002	0.003	0.003	0.004	0.003	0.003	0.002	

注:对角线以下为群体间的遗传距离,对角线以上为群体间的 F_{st} , * 表示显著性水平 $P < 0.05$ 。

Notes: above the diagonal is F_{st} , below the diagonal is genetic distance, * indicated significance $P < 0.05$.

2.4 遗传距离和系统进化树的构建

利用 Cyt b 基因序列,采用 MEGA 4.0 软件,根据 Kimura 双参数模型计算各群体之间的遗传距离 (D),结果显示蓝鳞鲤、荷包红鲤抗寒品系和高寒鲤之间的遗传距离为 0,且各群体之间的遗

传距离为 0.001~0.004(表 4)。

根据各群体间的遗传距离构建的系统进化关系结果显示,蓝鳞鲤、荷包红鲤抗寒品系和高寒鲤聚为一支,松浦红镜鲤、德国镜鲤和散磷镜鲤聚为一支后再与松浦镜鲤聚为一支,松浦鲤独立一支。

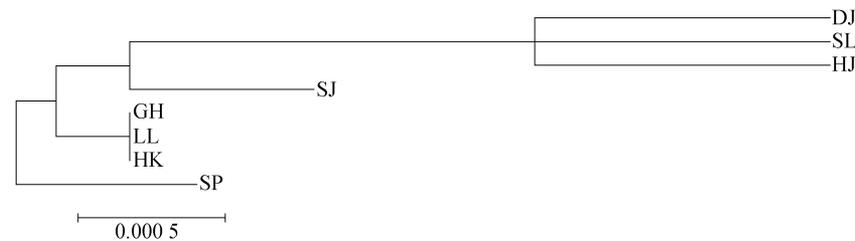


图 1 基于 Cyt b 基因的遗传距离的 NJ 树

Fig. 1 NJ tree from the genetic distance based on Cyt b gene of mtDNA

3 讨论

3.1 核苷酸序列和氨基酸序列

随着对线粒体基因研究的不断深入,研究发现脊椎动物在核内存在线粒体基因的拷贝序列,它们以假基因的形式存在,无编码功能,与其对应的线粒体基因相比,具有不同的进化模式,但同样也可以被通用引物扩增出来。在本研究中,测序得到的所有序列,经 BLAST 比对后确认为鲤线粒体的 Cyt b 序列,无假基因现象。

所有 Cyt b 序列的 A + T 的含量(56.5%)明显高于 G + C 的含量(43.5%)^[16]。T、C、A、G 的含量分别为 26.8%、29.0%、29.7%、14.5%,表现出明显的反 G 现象。一般当转换/颠换值小于 2.0 时,则认为该基因的突变已达到饱和,受进化噪音影响的可能性大,在系统进化分析时需进行

加权分析^[17],而本研究中所有群体 Cyt b 部分序列的转换/颠换值为 8.2,明显大于 2.0,所以该 Cyt b 序列可以进行系统发育分析。本研究还发现所有个体在序列的 178 bp 到 349 bp 之间都没有核苷酸变异,因此,推测这段序列编码的氨基酸可能与其功能紧密相关。

截取序列所编码的氨基酸序列分析结果显示,氨基酸变异主要发生在缬氨酸和异亮氨酸之间,缬氨酸和异亮氨酸都为不带电荷的疏水氨基酸,它们之间的变异不影响 Cyt b 的疏水性和带电荷数,因此更能说明 Cyt b 是一个进化缓慢的蛋白,适合于遗传进化的分析。

3.2 单倍型及核苷酸多样性分析

由单倍型分析中得出,75.5% 的个体属于单倍型 Hap 2,且每一个群体中都含有单倍型 Hap 2,因此单倍型 Hap 2 应是各养殖品种的主要单倍

型,其它单倍型可能由此单倍型演变而来,但因所取样本为养殖群体,所以是否适应于野生群体还需实验加以确认,不过由于本研究所取样本量大,群体数量多,所以其结果有较大的可信度。由表2可以看出,单倍型 Hap 1 主要分布在散鳞镜鲤、德国镜鲤、松浦红镜鲤中,且在这3种鱼中都占多数,而这3种鱼都为镜鲤种,因此,推测单倍型 Hap 1 应主要存在于镜鲤种。

每个群体的单倍型多样性分析得出松浦镜鲤的遗传多样性最高(0.568 ± 0.119),这是由于该松浦镜鲤为最近几年新选育出来的良种,种质保存较好。本研究测得的松浦鲤的单倍型多样性(0.247 ± 0.108)比赵莹莹^[16]测得的松浦鲤多样性(0.800 ± 0.100)降低很多,由此可以看出,松浦鲤存在一定的遗传退化,在之后的育种中应加强基因交流和种群管理以保证其遗传多样性。而蓝鳞鲤和荷包红鲤抗寒品系只含有单倍型 Hap 2,其遗传多样性极低,这可能是由于 *Cyt b* 基因比较保守所致。Tajima's D 检验结果发现,散鳞镜鲤、德国镜鲤和松浦镜鲤的 Tajima's D 检验值为正值,暗示着此3种鱼在进化的过程中可能经历了平衡选择的作用,且发现松浦鲤、高寒鲤和松浦镜鲤虽为负值却不显著,据此推测该6个品种在较近的历史时期没有出现种群扩张和持续增长模式,种群大小保持相对稳定的状态^[18]。

3.3 群体遗传分化和系统发育关系

基于 *Cyt b* 基因的 AMOVA 分析结果表明,遗传差异主要来自于群体内,说明这8种群体间存在较少的分化。本研究中,松浦红镜鲤、德国镜鲤和散鳞镜鲤之间的 F_{st} 值为负,表明这3种鱼之间没有遗传分化,这可能因这3种鱼都为镜鲤种且 *Cyt b* 基因较保守所致。这3种鱼与其他品种的 F_{st} 值为 $0.14185 \sim 0.72222$,表明它们之间存在一定的遗传分化,可作为不同的亚种来对待。基于 *Cyt b* 部分基因各群体间的遗传距离分析得出蓝鳞鲤、荷包红鲤抗寒品系和高寒鲤之间的遗传距离为零,表明这3种鱼的亲缘关系很近,与其它几个种群的亲缘关系较远,与 AMOVA 分析结果一致。

由基于 *Cyt b* 基因的遗传距离的 NJ 树可以看出,蓝鳞鲤、荷包红鲤抗寒品系和高寒鲤聚为一支,荷包红鲤抗寒品系为黑龙江野鲤和荷包红鲤杂交后再通过选育而来^[3],高寒鲤是黑龙江野

鲤、荷包红鲤、德国镜鲤和散鳞镜鲤多次杂交、回交而来,蓝鳞鲤为黑龙江野鲤和红镜鲤杂交而来^[5],而这3种群体都以黑龙江野鲤作为其中一个亲本,聚类结果与它们的育种背景相一致。德国镜鲤、散鳞镜鲤和松浦红镜鲤聚为一支,这与单倍型分布表中得出的结果一致,都说明德国镜鲤、散鳞镜鲤和松浦红镜鲤亲缘关系很近,然后与蓝鳞鲤、荷包红鲤抗寒品系和高寒鲤距离较远。松浦鲤与高寒鲤相同,是以黑龙江野鲤、荷包红鲤、德国镜鲤和散鳞镜鲤4个品种为亲本多次杂交、回交获得的品种^[3],而聚类结果中松浦鲤处于独立一支,既不处于德国镜鲤一支也不处于荷包红鲤抗寒品系一支,这说明松浦鲤已与其亲本形成一定的遗传差异。松浦镜鲤为德国镜鲤和散鳞镜鲤杂交而来^[4],与聚类结果中松浦镜鲤处于紧靠3种镜鲤的一支相一致。该聚类结果可以帮助我们明确8种鲤养殖品种的系统进化关系,为之后新品种的培育和养殖品种的管理提供了理论依据。

由单倍型分布和聚类分析结果可以看出,*Cyt b* 基因无法把8种鲤养殖品种完全分开,只能分成两个比较明显的分支,说明只依靠 *Cyt b* 基因还无法完全了解鲤养殖品种之间的系统进化关系,在之后的研究中,应结合其它适于遗传分析的基因(如 *CO II*、*D-loop* 区、*16S rRNA* 基因等)联合分析其系统进化关系,得出的结果会更加准确;另外,线粒体上有关序列作为标记分析,仅代表母源差异,对于种内杂交而来的鲤不同品种而言,还需要选取基因组 DNA 标记来分析父源的遗传差异对目标品种遗传多样性的影响,这样才能全面评估现有鲤品种间的真实关系和总体遗传多样性状态。

参考文献:

- [1] 陈宜瑜. 中国动物志硬骨鱼纲鲤形目(中卷)[M]. 北京:科学出版社,1998.
- [2] 全迎春,孙效文,梁利群. 应用微卫星多态分析四个鲤鱼群体的遗传多样性[J]. 动物学研究,2005,26(6):595-602.
- [3] 朱健. 鲤鱼养殖现状及种质问题探讨[J]. 中国水产,2001(3):79-82.
- [4] 刘明华,沈俊宝,王强,等. 松浦镜鲤[(散鳞镜鲤×德国镜鲤) F_1]主要经济性状及遗传特性[J]. 水产学杂志,1993,16(1):19-26.

- [5] 沈俊宝,刘明华. 蓝色鳞鲤品系的起源、筛选和培育[J]. 淡水渔业,1988,18(4):3-6.
- [6] Li Q, Ling Q F, Wang L, *et al.* Study on the morphological differences of four carp populations [J]. Agricultural Science & Technology, 2011, 12 (9):1270-1272.
- [7] Kartavtsev Y P. Divergence at *Cyt-b* and *Co-1* mtDNA genes on different taxonomic levels and genetics of speciation in animals [J]. Mitochondrial DNA, 2011, 22(3):55-65.
- [8] 孙鹏,尹飞,彭士明,等. 条石鲷线粒体 *CO I* 和 *Cyt b* 序列的遗传变异分析 [J]. 水产学报, 2011, 35 (3):327-333.
- [9] Zhao L Y, Mi T Z, Zhen Y, *et al.* Cloning, characterization, and expression of Cytochrome b (*Cyt b*)—a key mitochondrial gene from *Prorocentrum donghaiense* [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2012, 30 (3):424-432.
- [10] Jeffrine R J R, Yuzine B E. Phylogenetic analysis of *Hampala* fishes (subfamily Cyprininae) in Malaysia inferred from partial mitochondrial Cytochrome b DNA sequences [J]. Zoological Science, 2006, 23 (10):893-901.
- [11] 萨姆布鲁克 J,拉塞尔 D W. 分子克隆实验指南 [M]. 北京:科学出版社,2005:8.
- [12] Xiao W H, Zhang Y E, Liu H Z. Molecular systematics of Xenocyprinae (Teleostei: Cyprinidae): taxonomy, biogeography, and co-evolution of a special group Restricted in East Asia [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2001, 18 (2):163-173.
- [13] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, *et al.* The Clustal x windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. Nucleic Acids Research, 1997, 25 (24):4876-4882.
- [14] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. Bioinformatics, 2009, 25(11):1451-1452.
- [15] Tamura K, Dudley J, Nei M, *et al.* MEGA 4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0 [J]. Molecular Biology and Evolution, 2007, 24(8):1596-1599.
- [16] 赵莹莹. 鲤鱼亚种及品系之间的系统发育关系 [D]. 上海:上海水产大学,2006.
- [17] Knight A, Mindell D P. Substitution bias, weighting of DNA sequence evolution, and the phylogenetic position of Fea's Viper [J]. Systematic Biology, 1993, 42(1):18-31.
- [18] 周琦,王文. DNA 水平自然选择作用的检测 [J]. 动物学研究, 2004, 25(1):73-80.

Genetic diversity and phylogenetic analysis of eight Cyprinoid aquaculture breeds based on mitochondrial *Cyt b* gene

XIAO Tongqian^{1,2}, LU Cuiyun^{1,3}, LI Chao¹, ZHANG Mingzhao¹, GU Ying¹, SUN Xiaowen^{1*}

(1. Heilongjiang Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China;

2. College of Fisheries and Life Sciences, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China;

3. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The mitochondrial cytochrome b gene fragments of eight cyprinoid aquaculture breeds were sequenced and their genetic diversity and cluster analysis were compared. Mean content of T, C, A, G, are 26.8%, 29.0%, 29.7%, 14.5%, respectively, and A plus T is higher than G plus C. The mutations in the 141 amino acids translated by 425 bp of *Cyt b* gene fragment could not affect its function and during the process the majority were generated between the valin and isoleucine which were unchanged and hydrophobic. The result demonstrated that the evolution of this protein was slow, and it was adapted to the genetic analysis. Five haplotypes were detected from 140 individuals, of which 75.5 percent belong to the Hap2, and the Hap1 was mainly distributed in the mirror carp. The AMOVA and cluster analysis based on Kimura 2-parameter model exhibited very close relationship among German mirror carp, scattered mirror carp, red mirror carp, and also revealed that the relationship among *Cyprinus carpio* blue var, cold-resistance strain of red purse carp, frigid carp was close. The results were in accordance with their breeding backgrounds.

Key words: Cyprinoid aquaculture breeds; genetic diversity; *Cyt b*

Corresponding author: SUN Xiaowen. E-mail: sunxw2002@163.com