

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2011.00682

吉富罗非鱼 *IGF-1* 基因的基因型对生长和体型的影响

阮瑞霞¹, 俞菊华², 李红霞², 李建林², 唐永凯²

1. 南京农业大学 无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081;

2. 中国水产科学研究院 淡水渔业研究中心 农业部淡水鱼类遗传育种和养殖生物学重点开放实验室,
江苏 无锡 214081

摘要: 通过比对 6 尾吉富罗非鱼(Genetically Improved Farmed Tilapia, GIFT)的胰岛素样生长因子 1(Insulin-like Growth Factor 1, *IGF-1*)基因外显子 1-部分内含子 2 和外显子 3-部分内含子 4 序列, 共找到 3 个 SNPs 位点, 分别为内含子 1_A1307G、内含子 1_G1319T 和内含子 3_C6T。使用 PCR-RFLP 法检测了 5 个家系共 121 尾吉富罗非鱼在内含子 1_A1307G 和内含子 3_C6T 的基因型, 分析不同基因型与生长性状的相关性。结果表明, 内含子 1_A1307G 与雌鱼增重和体厚/体长值均显著相关($P < 0.05$), 但与雄鱼的相关性不显著($P > 0.05$); 内含子 3_C6T 与雄鱼和雌鱼的增重分别呈显著 ($P < 0.05$)和极显著相关 ($P < 0.01$), 与雌鱼体高/体长显著相关($P < 0.05$)。为了验证所选标记在其他家系的表现, 本实验检测了来自 60 个家系的 417 尾吉富罗非鱼在内含子 1_A1307G、内含子 3_C6T 的基因型与增重性状的相关性, 结果具有相同趋势。本实验筛选到与吉富罗非鱼体型和增重相关的 SNP 位点 2 个, 可作为辅助育种标记。

关键词: 胰岛素生长因子-1; 吉富罗非鱼; 单核苷酸多态性; 增重; 体型; 相关性

中图分类号: S917; Q959.483

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2011)03-0682-07

IGFs 是与胰岛素高度同源的一类单链多肽物质, 至今发现动物体内有 2 种 IGFs, 分别为 IGF-1 和 IGF-2。哺乳类研究结果表明, IGF-2 主要在胚胎阶段起作用, IGF-1 则在动物生长、发育过程中起重要作用, 具有调节细胞代谢, 促进细胞生长、分化和分裂, 抑制细胞死亡和调节渗透压等多种生理功能^[1]。IGF-1 以内分泌、旁分泌和自分泌的模式发挥作用^[2], 但主要在肝脏表达, 在血液中与 IGF 结合蛋白(IGF Binding Proteins, IGFBP)结合后运输到不同靶细胞, 从 IGFBP 中释放后与细胞膜上 IGF 受体(IGF receptors, IGFR)结合, 发挥作用^[3]。对鱼类的研究也表明 IGF-1 具有调节生长和生殖的作用^[4-6]。1989 年 Cao^[7]首次在

银大麻哈鱼克隆了 *IGF-1* cDNA。近年来, 国内外学者已从马苏大马哈鱼(*Oncorhynchus masou formosanus*)、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)、罗非鱼(*Tilapia*)、澳洲肺鱼(*Neoceratodus forsteri*)、斑马鱼(*Danio rerio*)、鲤(*Cyprinus carpio Linnaeus*)、鲫(*Carassius auratus*)等不同鱼中分离了 *IGF-1* 基因^[3, 8]。鱼类 *IGF-1* 基因阅读框由 5 个外显子和 4 个内含子组成。IGF-1 的表达主要受生长激素^[6]、营养水平^[9]的调控。已有研究表明畜禽类 *IGF-1* 基因多态性与动物经济性状相关^[10-16]。肖书奇等^[14]利用 PCR-SSCP 技术研究发现, *IGF-1* 基因第 4 外显子的 A/C 突变对松辽黑猪断奶后日增重有显著影响, AA 型的松辽黑猪断奶后日增重显著高于

收稿日期: 2010-07-22; 修订日期: 2010-09-26.

基金项目: 农业部公益性行业科研专项(200903046-02); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2011JBFC03); 农业部淡水生物多样性保护与利用重点开放实验室第七期开放课题(LFBU0706).

作者简介: 阮瑞霞(1984-), 女, 硕士研究生, 主要从事鱼类遗传育种研究. E-mail: rxlhb@163.com

通信作者: 俞菊华(1966-), 女, 研究员, 专业方向为鱼类遗传育种研究. E-mail: yujh@ffrc.cn

AB 和 BB 型黑猪; AA 型猪的瘦肉率显著低于 AB 型和 BB 型。朱智等^[15]利用 PCR-PFLP 方法检测了鸡 *IGF-1* 基因的 3 个 SNPs 位点, 结果表明 3 个 SNP 位点与鸡的部分屠体性状呈现极显著 ($P < 0.01$) 或显著相关 ($P < 0.05$)^[15]。范刚等^[16]研究了鸡 *IGF-1* 基因 5' 调控区 C/T 转换与骨骼肌生长总量和肌纤维直径的相关性, CC 型个体的胸部和腿部肌肉总量明显高于 TT 型个体。类似研究在鱼类中尚未见报道。

本实验查找了吉富罗非鱼 *IGF-1* 基因的 SNP 位点, 使用 PCR-RFLP 法检测 121 尾吉富罗非鱼在 2 个 SNP 位点的基因型, 分析了不同基因型与雌雄鱼群体增重、体型的相关性, 找到了与吉富罗非鱼雌、雄鱼增重和体型相关的分子标记, 为今后分子标记辅助育种奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用吉富罗非鱼取自中国水产科学研究院淡水渔业研究中心宜兴养殖基地, 为同一批繁殖的苗种。所有鱼在 20 g 左右进行 PIT 标记, 然后在同一池塘养殖 300 d 后, 再测定每尾鱼体质量、体长、体高、体厚等, 并计算 300 d 的增重。标记筛选用鱼取自 5 个家系, 每家系 23~25 尾, 共 121 尾吉富罗非鱼, 其中雌鱼 66 尾, 雄鱼 55 尾。为了验证所选标记在其他家系的表现, 在 60 个家系, 每家系随机选 3~12 尾鱼, 共 417 尾, 雌鱼 271 尾, 雄鱼 146 尾进行分析。

1.2 基因组 DNA 的抽提

从尾静脉采血, 使用传统的蛋白酶 K 消化过夜, 酚-氯仿法提取基因组 DNA^[17], DNA 完整性和浓度使用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检

验和测定, OD_{260}/OD_{280} 一般为 1.8 左右。用 TE 溶液将 DNA 样品稀释成 50~100 ng/ μ L。

1.3 SNP 位点的查找

根据本实验室已分离的吉富罗非鱼 *IGF-1* 基因序列(内含子 2 大于 2.2 kb, 未分离完整), 设计引物寻找 *IGF-1* 基因外显子 1-部分内含子 2 和外显子 3-部分内含子 4 的 SNP 位点。引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成, 详细信息见表 1。PCR 总反应体系为 50 μ L, 其中含模板 DNA 2 μ L (100~200 ng), 10 μ mol/L 引物各 1 μ L, 其他组分根据 *Taq* 酶(上海申能博彩生物有限公司)说明书要求, 反应程序: 94 预变性 2 min; 94 变性 30 s, 56 退火 45 s, 72 延伸 1~2 min, 30 个循环; 72 延伸 5 min, 4 保存, 延伸时间根据扩增片段大小确定。PCR 扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 切胶, 用 DNA 胶回收试剂盒(上海申能博彩生物有限公司)回收, 后与 pMD18-T 载体(Takara, 中国大连)连接, 转化到大肠杆菌(*Escherichia coli*) DH5 α 敏感态细胞中, 挑选阳性克隆(每个平板至少挑 2 个阳性克隆), 送至上海博尚生物技术有限公司测序。使用 ClustalW^[18] 软件比对 6 个个体共 12 条序列, 以同一位点不同碱基比例大于 1/3 认定为 SNP 位点。

1.4 多态位点的检测

使用 PCR-RFLP 检测 2 个 SNP 位点(内含子 1_A1307G、内含子 3_C6T)的基因型。检测所使用的 PCR 引物、限制性内切酶以及不同基因型酶切片段信息见表 2。PCR 反应体系总体积为 12.5 μ L, 其中含模板 DNA 1.0 μ L, 引物各 0.25 μ L (10 μ mol/L)。反应结束取 6 μ L PCR 产物置于 10 μ L 酶切体系, 其中含内切酶 0.2 μ L (10 U/ μ L), 在 37 反应 3 h 以上, 然后使用 2% 琼脂糖凝胶电泳检

表 1 实验中所用引物
Tab. 1 Primers used in this experiment

引物 primer	序列(5'-3') sequence (5'-3')	退火温度/ T_m	产物 product	产物大小/bp size
F1	TGAGTGTCTAGCGCTTTTTCCTTTC	56.0	外显子 1-部分内含子 2 exon 1-partial intron 2	1663
R1	AGGAGAAGCCAAAGCAGAGTGTCT			
F2	AATAAACCAACAGGCTATGGCC	56.0	外显子 3-部分内含子 4 exon 3-partial intron 4	668
R2	AACGCTCACACTATAGCACCAGATC			

表 2 2 个 SNP 位点的检测引物、限制性内切酶和酶切产物条带
Tab. 2 Primers, restriction enzymes and restriction fragments

SNP 位点 SNP locus	引物 primer	内切酶(反应温度) restriction enzyme(reaction temperature)	酶切片段长度/bp length of restriction fragments
内含子 1_A1307G	F1: TAATACTGCCACTTACTAGCGTGCC	<i>Pdm</i> I (37 °C)	AA: 442
	R1: AGGAGAAGCCAAAGCAGAGTGTC		GG: 304, 138
内含子 3_C6T	F2: AATAAACCAACAGGCTATGGCC	<i>Bpu</i> 1102I (37 °C)	TT: 668
	R2: AACGCTCACACTATAGCACCAGATC		CC: 443, 225

测酶切片段, 确定基因型。

1.5 统计分析

利用 SPSS 软件包的 GLM 模型进行吉富罗非鱼 *IGF-1* 基因 SNP 位点不同基因型与增重、体高/体长和体厚/体长的相关分析。

2 结果与分析

2.1 SNPs 位点

通过比对 6 个个体的序列, 发现外显子上均无 SNPs 位点, 在内含子 1 存在 2 个 SNP 位点: 内含子 1_A1307G, 距外显子 2 31 bp; 内含子 1_G1319T, 距外显子 2 18 bp。在内含子 3 存在 1 个 SNP 位点: 内含子 3_C6T, 距外显子 3 6 bp。3 个位点不同碱基出现比例分别为 2/1、1/2 和 2/1。

2.2 不同基因型的检测及其与增重、体型的关联分析

内含子 1_A1307G 和内含子 3_C6T 位点的基因型分型图如图 1 所示。表明各有 3 种不同基因型, 内含子 1_A1307G 中 AA 型、GG 型和 AG 型

的雄鱼个体数分别为 6、13 和 36, 雌鱼为 10、13 和 43; 内含子 3_C6T 中 CC 型、TT 型和 CT 型的雄鱼个体数分别为 13、7 和 34, 雌鱼为 8、16 和 42。但基因型分布差异较大, 个别基因型个体明显偏少, 如内含子 1_A1307G 的 AA 基因型在雄鱼中只有 6 尾 (表 3)。

运行 SPSS 软件 GLM 程序, 对 121 尾雌雄吉富罗非鱼 SNP 位点的不同基因型与增重进行关联分析, 结果表明, 内含子 1_A1307G 位点与雄鱼增重无显著相关 ($P>0.05$), 与雌鱼增重显著相关 ($P<0.05$), AG 型个体增重显著大于 GG 型。内含子 3_C6T 位点与雄鱼增重显著相关 ($P<0.05$), 与雌鱼增重极显著相关 ($P<0.01$), TT、CT 型雄鱼增重显著大于 CC 型; CT 型雌鱼增重极显著大于 TT 型。与鱼体型的相关性分析结果显示, 内含子 1_A1307G 与雌鱼体厚/体长显著相关 ($P<0.05$), AG 型个体体厚/体长值显著大于 GG 型; 内含子 3_C6T 与雌鱼体高/体长显著相关 ($P<0.05$), TT、CT 型个体体高/体长值显著大于 CC 型(表 3)。

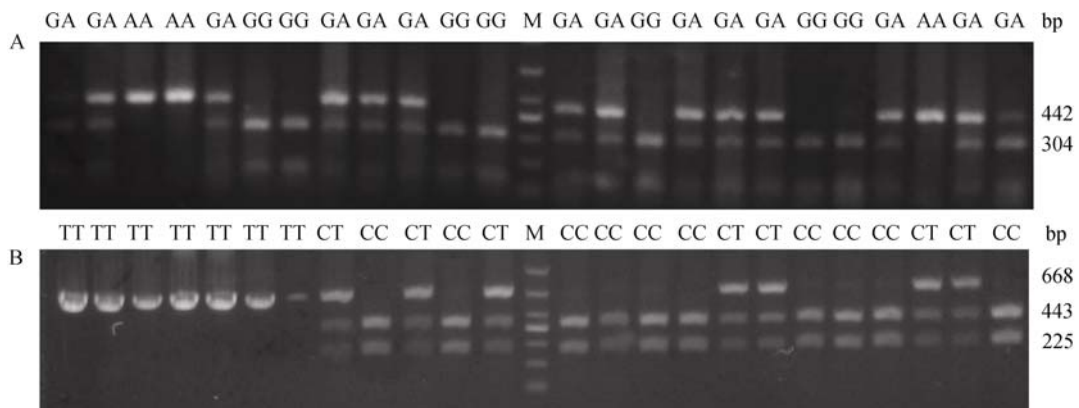


图 1 2 个 SNP 位点不同基因型的电泳结果

A: *IGF-1* 内含子 1_A1307G; B: *IGF-1* 内含子 3_C6T. M: DL1000 分子标记.

Fig. 1 Electrophoresis patterns of different genotypes in two SNP loci
A: intron1_A1307G. B: intron3_C6T. M: DNA maker (DL1000).

表 3 121 尾吉富罗非鱼 *IGF-I* 不同基因型与增重和体型的相关性
Tab. 3 Correlation of different genotypes with body shape and weight gain in 121 tilapias

座位 locus	性别 sex	基因型 genotype	样本数 number	性状 trait		
				增重/g weight gain	体高/体长 height/length	体厚/体长 thickness/length
内含子 1_ A1307G	雄性 male	AA	6	426.3±131.9	0.3851±0.0415	0.1959±0.0055
		GG	13	483.8±150.3	0.3837±0.4862	0.2038±0.0119
		AG	36	527.6±114.2	0.3859±0.4301	0.1969±0.2015
	雌性 female	AA	10	341.7±104.1 ^{ab}	0.3646±0.0229	0.1884±0.0109 ^{ab}
		GG	13	322.5±73.9 ^b	0.3452±0.0932	0.1798±0.0509 ^b
		AG	43	371.7±67.2 ^a	0.3704±0.0167	0.1967±0.0117 ^a
内含子 3_ C6T	雄性 male	CC	13	436.8±127.7 ^b	0.3919±0.1729	0.1991±0.0110
		TT	7	561.8±96.1 ^a	0.4023±0.2425	0.1962±0.0167
		CT	34	518.7±126.2 ^a	0.3836±0.0422	0.1978±0.2010
	雌性 female	CC	8	369.4±52.7 ^{AB}	0.3317±0.0119 ^b	0.1809±0.0681
		TT	16	311.5±89.3 ^B	0.3711±0.0247 ^a	0.1879±0.0129
		CT	42	372.9±69.1 ^A	0.3683±0.0146 ^a	0.1958±0.0095

注: 同列中不同小写字母表示同一性别不同基因型间差异显著 ($P<0.05$), 不同大写字母表示同一性别不同基因型间差异极显著 ($P<0.01$).

Note: different small letters indicate significantly difference between different genotypes within the same gender at 0.05 level; and different capital letters indicate significantly difference between different genotypes within the same gender at 0.01 level.

2.3 SNPs 在其他家系中的表现

为了验证所选标记在其他家系的表现, 从 60 个家系中的每个家系随机选取 3~12 尾, 共 417 尾吉富罗非鱼。将 SNP 位点的不同基因型与增重进行关联分析, 结果表明, 内含子 1_A1307G 位

点 AG 型雌鱼、雄鱼增重均大于 GG、AA 型个体, 但差异不显著 ($P>0.05$)。内含子 3_C6T 位点 CT 型雌鱼增重显著大于 TT 型个体 ($P<0.05$), TT、CT 型雄鱼增重大于 CC 型个体, 但差异不显著 ($P>0.05$)。与鱼体型的相关性分析结果显示, 内含子

表 4 417 尾吉富罗非鱼 *IGF-I* 不同基因型与增重和体型的相关性
Tab. 4 Correlation of different genotypes with body shape and weight gain in 417 tilapias

座位 loci	性别 sex	基因型 genotype	样本数 number	生长性状 trait		
				增重/g weight	体高/体长 height/length	体厚/体长 thickness/length
内含子 1_ A1307G	雄性 male	AA	12	468.9±133.5	0.3983±0.0156	0.1996±0.0169
		GG	29	514.4±90.6	0.3934±0.0259	0.1943±0.0152
		AG	105	519.0±137.8	0.3990±0.0201	0.1954±0.0195
	雌性 female	AA	30	335.3±92.5	0.3756±0.0174	0.1956±0.0125
		GG	96	335.3±96.4	0.3718±0.0425	0.1924±0.0246
		AG	145	347.6±96.9	0.3739±0.0325	0.1971±0.0198
内含子 3_ C6T	雄性 male	CC	31	507.5±113.5	0.3957±0.0224	0.1977±0.0164
		TT	31	519.3±125.5	0.3995±0.0183	0.1957±0.0210
		CT	84	511.3±140.8	0.3982±0.0216	0.1944±0.0188
	雌性 female	CC	94	349.5±94.4 ^a	0.3726±0.0429	0.1979±0.0251
		TT	46	315.3±80.7 ^b	0.3751±0.0346	0.1915±0.0112
		CT	131	352.6±96.4 ^a	0.3738±0.0334	0.1958±0.0205

注: 同列中不同小写字母表示同一性别不同基因型间差异显著 ($P<0.05$).

Note: different small letters indicate significantly difference between different genotypes within the same gender at 0.05 level.

1_A1307G 位点 AG 型雌鱼体厚/体长值大于 GG 型个体, 但差异不显著($P>0.05$); 内含子 3_C6T 位点 TT、CT 型雌鱼体高/体长值大于 CC 型个体, 但差异不显著($P>0.05$, 表 4)。

3 讨论

IGF-1 在动物生长发育中起着非常重要的作用。本实验对吉富罗非鱼 *IGF-1* 基因的 SNP 位点以及其基因型与增重、体型的相关性进行了分析, 结果表明, 检测的 2 个位点与生长呈一定的相关性。考虑到罗非鱼雌雄之间生长差异比较明显^[19], 本实验对雌雄吉富罗非鱼分开进行分析, 发现内含子 1_A1307G 与雌鱼增重显著相关; 内含子 3_C6T 与雌雄鱼增重均显著相关, 说明 *IGF-1* 对生长具有重要影响, 同时也体现了 SNPs 与生长相关性存在性别差异。

检测 SNP 的方法很多, 但由于内含子 1_G1319T 没有合适的限制性内切酶, 使用四引物等方法设计引物存在困难(内含子部分 AT 含量较高), 其他如 SSCP(Single Strand Conformation Polymorphism)、荧光方法、高效液相色谱法等方法存在不够稳定、重复性差、对设备条件要求高等缺点, 因此未能构建合适的检测方法。本实验找到的与生长相关的 2 个 SNP 位点均位于外显子附近, 分别距外显子 2 31 bp 和外显子 3 6 bp。近期的研究表明, 与外显子交界处的内含子序列与基因正确加工有密切关系^[20-22]。此外, *IGF-1* 外显子中未查找到 SNP 位点, 主要由于内含子不参与功能基因的编码, 所受的选择压力小, 因而比外显子更容易积累较大的变异^[23]。

在内含子 1_A1307G 和内含子 3_C6T 位点, 基因型 AG、CT 型个体增重均有大于纯合型的趋势。表明杂合型 AG、CT 是控制生长性状的优势基因型。具有内含子 3_C6T 不同基因型的雌鱼、雄鱼增重不一致, TT、CT 型的雄鱼增重显著大于 CC 型个体, CC、CT 型的雌鱼增重显著大于 TT 个体, 类似结果在李建林等^[24]、陈雪峰等^[25]的研究中也有出现。此类标记与生长性状相关性不一致的现象, 在标记辅助选育中不具有普遍性, 推

测其原因, 可能是此类基因 mRNA 在雌雄罗非鱼的表达水平不一致, 具体原因有待于进一步探究。

生长性状是由多基因控制的数量性状, 因此筛选 SNP 位点时应尽量使样本遗传背景一致, 从而减少对生长有影响的遗传位点。样本的遗传背景越复杂, 则要求的样本量越多。本实验用于进行 SNPs 与增重、体型相关性分析的 121 尾吉富罗非鱼来自 5 个家系, 每个家系样本数大于 22 尾; 而用于验证的 417 尾吉富罗非鱼来自 60 个家系, 平均每家系 7 尾, 样本量少而遗传背景多样, 导致筛选出的在 121 尾鱼中极显著相关的位点在验证组呈显著相关, 而在 121 尾鱼中筛选出的显著相关的位点在验证组则相关不显著。标记验证中出现显著性降低的现象除了样本量不够大外, 标记本身不够理想也可能是原因之一, 比如各基因型分布不均。然而基因型在群体中分布不均的现象还是比较普遍的^[24,26]。今后筛选标记时应考虑样本的遗传背景和数量的关系, 应该取尽量多的不同家系, 同时同一家系的个体数应该达到一定量。

研究表明, 罗非鱼的出肉率主要取决于鱼增重, 但体型也有一定程度的影响^[27], 因此在育种过程中考虑增重的同时也应重视体型的选育。本研究结果表明, *IGF-1* 内含子 1_A1307G AG 基因型个体的增重及体高/体长比值为本次调查中的最大值, 可以作为影响吉富罗非鱼生长性状的分子标记。

参考文献:

- [1] 赵红霞, 詹勇, 许仪荣. 胰岛素样生长因子-1 研究与应用[J]. 畜牧与兽医, 2002, 34 (6): 36-38.
- [2] 王蕾, 杨连玉. 胰岛素样生成因子-1(IGF-1)促生长作用的研究进展[J]. 畜牧与饲料科学, 2009, 30 (10): 10-12.
- [3] 章力, 黄希贵, 王德寿. 鱼类胰岛素样生长因子(IGF)系统的研究进展[J]. 动物学杂志, 2005, 40(2): 99-105.
- [4] Jones J R, Clemmons D R. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions[J]. *Endocr Rev*, 1995, 16: 3-34.
- [5] Upton Z, Yandell C A, Degger B G, et al. Evolution of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) action: *in vitro* characterization of vertebrate IGF-1 proteins [J]. *Comp Biochem Physiol*,

- 1998, 121(1)B: 35-41.
- [6] Evock C M, Walton P E, Etherton T D. Effect of GH status on IGF-I and IGF- concentrations and serum IGF-binding profiles in pigs [J]. *J Anim Sci*, 1990, 68: 1963-1964.
- [7] Cao Q P. Nucleotide sequence and growth hormone regulated expression of salmon insulin-like growth factor I mRNA [J]. *Mol Endocrinol*, 1989, 3: 2006-2010.
- [8] Schmid A C, Esther N, Kloae W, et al. Insulin-like growth factor- I and in the ovary of a bony fish, *Oreochromis mossambicus*, the tilapia: in situ hybridization, immunohistochemical localization, Northern blot and cDNA sequences [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 1999, 156: 141-149.
- [9] 华益民, 林浩然. 营养状况对幼年鲤鱼肝脏 IGF-1 mRNA 表达的影响[J]. *动物学报*, 2001, 47(1): 94-100.
- [10] 潘和平, 姚玉妮, 梁春年, 等. 大通牦牛 IGF-1 基因多态性及其与生长性能相关性的研究[J]. *甘肃农业大学学报*, 2008, 12 (6): 33-37.
- [11] 李长春, 李进, 李奎, 等. 藏鸡 IGF-I 基因的 SNPs 检测及与生长性状的关联分析[J]. *畜牧兽医学报*, 2005, 36(11): 1111-1116 .
- [12] 吴旭, 王金玉, 严美姣, 等. GNRHR, IGF-1 基因对文昌鸡繁殖性状的遗传效应分析[J]. *畜牧兽医学报*, 2007, 38(1): 31-35.
- [13] 刘大林, 王金龙, 魏岳, 等. 京海黄鸡 IGF-1 基因与生长和屠体性状的关联分析[J]. *中国畜牧杂志*, 2009, 45(11): 9-12.
- [14] 肖书奇, 张树敏, 张嘉保, 等. 松辽黑猪 IGF-1 基因的单核苷酸多态性(SNP) 及其与生长和胴体性状的关联性 [J]. *中国兽医学报*, 2008, 28 (6): 724-728.
- [15] 朱智, 徐宁迎, 吴登俊, 等. 鸡 IGF-1 基因 SNPs 及其对屠体性状的遗传效应分析[J]. *畜牧兽医学报*, 2007, 38(10): 1021-1026.
- [16] 范刚, 王志跃. IGF-1 基因多态性与骨骼肌性状的关系[J]. *广州体育学院学报*, 2008, 29 (5): 86-90.
- [17] Sambrook J, Fritsch E, Maniatis T. *Molecular cloning-A laboratory manual*[M]. New York: Cold Springs Harbor Laboratory Press, 1989.
- [18] 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]. *Nucl Acids Res*, 1994, 22: 4673-4680.
- [19] Liang H W, Li Z, Luo X Z, et al. Genetic diversity based on microsatellite markers in five Nile tilapia strains[J]. *Biodivers Sci*, 2009, 17 (1): 82-87.
- [20] GIBBS W W. The unseen genome: gems among the junk[J]. *Sci Am Mag*, 2003. 289: 46-53.
- [21] GIBBS W W. The unseen genome: Beyond DNA[J]. *Sci Am Mag*, 2003, 289: 106-113.
- [22] Lopez A J. Alternative splicing of pre-mRNA: Developmental consequences and mechanisms of regulation[J]. *Ann Rev Genet*, 1998, 32: 279-305.
- [23] Zhao Z, Fu Y X, Hewett-Emmett D, et al. Investigating single nucleotide polymorphism(SNP) density in the human genome and its implications for molecular evolution[J]. *Gene*, 2003, 312: 207-213.
- [24] 李建林, 唐永凯, 俞菊华, 等. 吉富罗非鱼微卫星标记与体质量、体形性状相关性分析[J]. *中国水产科学*, 2009, 16(6): 824-832.
- [25] 陈雪峰, 杨国梁, 俞菊华, 等. 吉富罗非鱼 IGF2 基因分离及其单核苷酸多态性与体型、增重相关性[J]. *动物学杂志*, 2010, 45(2): 107-114.
- [26] 孙效文, 鲁翠云, 匡友谊, 等. 镜鲤两个繁殖群体的遗传结构和几种性状的基因型分析[J]. *水产学报*, 2007, 31(3): 273-279.
- [27] Rutten M J M, Bovenhuis H, Komen H. Genetic parameters for fillet traits and body measurements in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.)[J]. *Aquaculture*, 2005, 246: 125-132.

Effects of *IGF-1* genotype on weight gain and body shape in GIFT strain *Oreochromis niloticus*

RUAN Ruixia¹, YU Jvhu², LI Hongxia², LI Jianlin², TANG Yongkai²

1. Wuxi Fishery College, Nanjing Agricultural University, Wuxi214081, China;

2. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences; Key Laboratory of Genetic Breeding and Aquaculture Biology of Freshwater Fishes, Ministry of Agriculture, Wuxi 214081, China

Abstract: Insulin-like Growth Factor 1 (IGF-1) is one of important genes controlling growth and development in animals. By comparing with exon1- partial intron 2- exon 3- partial intron 4 sequences of *IGF-1* from six individuals of Genetically Improved Farmed Tilapia(GIFT) strain, we identified three SNPs on *IGF-1* in this study, including intron1_A1307G, intron1_G1319T and intron3_C6T. PCR-RFLP was performed in intron1_A1307G and intron3_C6T genotypes detection on 121 individuals from five families of GIFT strain. The results of correlation analysis showed that intron1_A1307G was significantly associated with female fish weight gain and the ratio of body thickness/length ($P<0.05$). The weight gain and thickness/length ratio of female fish with AA genotype were significantly higher than those of female fish with GG type ($P<0.05$). However, the correlation of genotypes with those traits in male fish was not significant($P>0.05$). Intron3_C6T was significantly associated with weight gain in both male ($P<0.05$) and female ($P<0.01$). The weight gain of male fish with TT and CT genotype was significantly higher than that of male fish with CC type, while the weight gain of female with CT genotypes was significantly higher than that of female fish with TT. Intron3_C6T was also significantly associated with height/length ratio($P<0.05$) in female fish. The height/length ratio of female fish with TT and CT genotypes was significantly higher than that with CC($P<0.05$). In order to verify the performance of the screened markers in other families, we detected the correlation between intron1_A1307G, intron3_C6T genotypes and weight gain among 417 individuals from 60 families of GIFT strain(averaging seven individuals per family), and similar results were observed. The diverse genetic background and smaller size of samples resulted in the decreased correlation significance. These results showed that genetic background and sample size should be considered during molecular marker screening. And the two molecular markers of intron1_A1307G, intron3_C6T identified in this study could be used as reference in GIFT strain breeding.

Key words: *IGF-1* gene; GIFT; SNP; weight gain; body shape; correlation

Corresponding author: YU Jvhu. E-mail: yujh@ffrc.cn