



遗传育种生物技术创新与水产养殖绿色发展

张晓娟^{1,2†}, 周莉^{1,2†}, 桂建芳^{1,2*}

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. 中国科学院大学, 现代农业科学学院, 中国科学院种子创新研究院, 北京 100101

† 同等贡献

* 联系人, E-mail: jfgui@ihb.ac.cn

收稿日期: 2019-08-01; 接受日期: 2019-08-13; 网络版发表日期: 2019-10-22

中国科学院战略性先导科技专项(批准号: XDA08030201, XDA08030202)、现代农业产业技术体系(批准号: NYCYTX-49)和淡水生态与生物技术国家重点实验室自主项目(批准号: 2019FBZ04)资助

摘要 新中国成立70年来, 由于政策引导、科技进步和市场开放, 中国水产养殖产量持续快速增长. 特别是随着生物技术的快速发展, 水产遗传育种已从传统选择育种和杂交育种, 发展至细胞工程育种、性别控制育种、分子标记辅助选择育种、全基因组选择育种、分子设计育种和基因组编辑等精准设计育种. 水产遗传育种基础研究和技术的进步推动着中国水产种业的形成和蓬勃发展, 截至2018年, 全国水产原良种审定委员会审定并由农业农村部公告的水产新品种就有215个. 本文在分析国内外主要进展的基础上, 重点综述了水产遗传育种生物技术发展的重大事件及其时间节点、新品种培育和水产种业的发展现状, 并由此提出了新时代水产遗传育种和水产种业的国家需求以及推动水产养殖绿色发展的作用及其意义.

关键词 水产养殖, 遗传育种, 生物技术, 水产种业, 绿色发展

中国是世界上最早开始池塘养鱼的国家. 3200年前殷墟出土的甲骨文“贞其雨, 在圃渔”和“在圃渔, 十一月”, 表明在殷商时期, 中国就开始了池塘养鱼. 2500多年前春秋时代, 楚国重臣范蠡辞官经商养鱼, 撰写了世界上第一部《养鱼经》, 主要记载了如何在多大的池塘圈养一定比例的雌雄个体以繁育出可养的鱼苗, 可以说《养鱼经》主要是养鱼的种业经. 因而, 中国水产养殖的悠久历史始于繁育(breeding), 始于种业.

新中国成立后, 在党和国家领导人的高度重视下, 水产养殖得到了快速发展. 1956年毛泽东主席在武汉调研时, 曾就如何解决吃鱼难问题问计于当时的中国

科学院水生生物研究所所长王家楫先生, 并写下了“才饮长沙水, 又食武昌鱼”这一脍炙人口的经典词作. 1955~1960年, 经多家科研机构合作, 实现了青、草、鲢、鳙“四大家鱼”人工繁殖技术的突破, 为水产种苗生产提供了关键的技术支撑^[1-5]; 同时期, 还研发出紫菜人工育苗和海带自然光育苗技术, 解决了紫菜和海带养殖大发展急需的种苗问题^[6-8]; 1960年, 培育成功了中国第一批海水人工有核珍珠^[9], 随后又突破了淡水无核珍珠养殖、珍珠贝早期育苗等技术难关. 由于水产繁育技术的连续突破, 1959年, 中央政府确定了“养捕并举”方针. 1978年, 《人民日报》发表社论, 提

引用格式: 张晓娟, 周莉, 桂建芳. 遗传育种生物技术创新与水产养殖绿色发展. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 1409-1429

Zhang X J, Zhou L, Gui J F. Biotechnological innovation in genetic breeding and sustainable green development in Chinese aquaculture (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2019, 49: 1409-1429, doi: 10.1360/SSV-2019-0142

出要“千方百计解决吃鱼难”问题。1980年,邓小平同志在《关于编制长期规划的意见》中,专门谈到渔业“以养殖为主”的构想。1986年,国家出台《渔业法》,正式确立了渔业“以养为主”的方针。在海水鱼类人工育苗方面,通过采用由多巴胺受体拮抗剂和促性腺激素释放激素组成的林彼诱导鱼类产卵方法(Linpe method)^[10],显著提高了海水鱼类的种苗生产。

伴随着经济和科学技术的发展、全球人口增长对水产品需求的增加以及基础设施建设和研究经费的投入等,世界水产养殖得到了迅猛发展^[11,12]。水产养殖业被认为是“全球各种产业中增长最快的食品生产方式之一”,水产养殖已提供了超过50%的可供人类食用的水产品。改革开放后,中国很快成为世界第一大水产养殖国和第一大水产品出口国和消费国^[13,14],为保障全球食品营养和安全做出了突出贡献。2018年,中国水产养殖面积约为719.0万公顷,年总产量为4991.1万吨,年产值达9456.3亿元;而捕捞产量仅有1466.6万吨,养殖产量与捕捞产量的比例达77.3:22.7^[15]。可以概括地说,中国水产养殖的快速发展得益于政策引导、科技创新和市场开放,得益于包括管理、科研、生产和经营的所有水产从业人员的共同努力。作为水产遗传育种生物技术创新和水产新品种培育的主要参与者^[12,16~18],本文重点介绍了水产遗传育种及其育种技术的发展历程、水产新品种培育与水产种业形成对推动水产养殖绿色发展的作用,以及新时代水产遗传育种的基础研究现状和技术发展需求。

1 水产遗传育种技术的发展历程

中国虽3000年前就有水产种业的萌芽,但现代水产种业的兴起仅仅源于近50年来水产遗传育种学科的发展。随着现代遗传育种理论和生物技术的不断发展和创新,中国已建立了诸如选择育种、杂交育种、分子标记辅助育种、细胞工程育种、性别控制、基因转移等技术,并在全基因组选择育种、分子设计及分子模块设计育种、基因组编辑等前沿技术中也进行了尝试和应用,这些育种技术驱动着中国水产种业的蓬勃发展^[16~19](图1)。

1.1 选择育种技术

最早的选择育种可以追溯到1800多年前我国养鱼

人从天然水体中对鲫的红色或金色突变体的发现。由于其稀有性和观赏性,经长期驯养和不断选择,加上近代新技术逐渐引入,至今已选育出300多个金鱼品种^[20~22]。选择是育种的基础,其理论创建于19世纪50年代^[23]。有文献记录的水产生物选择育种的科学实验始于20世纪20年代早期,是在美洲红点鲑中进行的^[24]。20世纪30年代,前苏联鱼类遗传育种学家Kirpichnikov^[25]建立了世界上第一个致力于经济鱼类遗传改良的专业实验室,其撰写的*Fish Genetics and Breeding*成为水产遗传育种的经典论著^[26]。20世纪70年代初,挪威鱼类遗传育种先驱Gjedrem教授从家畜动物遗传育种研究转到鱼类遗传育种研究,领衔建立了大西洋鲑和虹鳟育种的研究基地和养殖设施,由此奠定了挪威鲑鳟产业在全球的领衔地位。中国第一个从事鱼类遗传育种的专业机构是1972年在中国科学院水生生物研究所成立的鱼类遗传育种学研究室。随后,几家类似机构也相继在中国水产科学研究院所属研究所成立。

自20世纪70~80年代起,群体选育和家系选育已广泛应用于水产生物的遗传育种。然而,经多代选择后易出现近交衰退现象,遗传进展降低。Henderson^[27]提出了以线性混合模型理论为基础的最佳线性无偏预测(best linear unbiased prediction, BLUP)方法,能够对系统环境误差进行矫正,得到无偏可稳定遗传的育种值。基于BLUP遗传评估的单性状或多性状复合育种技术在20世纪90年代后期开始应用于水产生物遗传育种。同时期,随着分子标记技术和其他基因组技术的飞速发展,分子标记辅助育种技术也开始应用于水产生物育种以缩短育种周期^[28]。上述选择育种技术在虹鳟、大西洋鲑、斑点叉尾鮰、罗非鱼等养殖鱼类的生长性状改良中发挥了重要作用,每个世代平均提升了10%~20%的生长速率^[29,30]。分子标记辅助育种技术在抗病育种中也起了关键作用,如筛选含有微卫星序列等位基因*Poli9-8TUF*的日本牙鲆,它对淋巴囊肿病毒具有显著抗性,其选出的品种已占有35%的日本牙鲆市场^[31]。基于数量性状位点(quantitative trait locus, QTL)定位的分子标记辅助育种,在水产养殖生物中的第一个成功例子是在大西洋鲑中开展的对感染性胰腺坏死病毒抗性的选育^[32],应用这个抗性相关的QTL,在生产上可成功控制感染性胰腺坏死病毒病的暴发^[33]。

中国开始藻类选择育种也很早。1962年,方宗熙等人^[34]利用定向选择和连续自交技术选育了海带新品

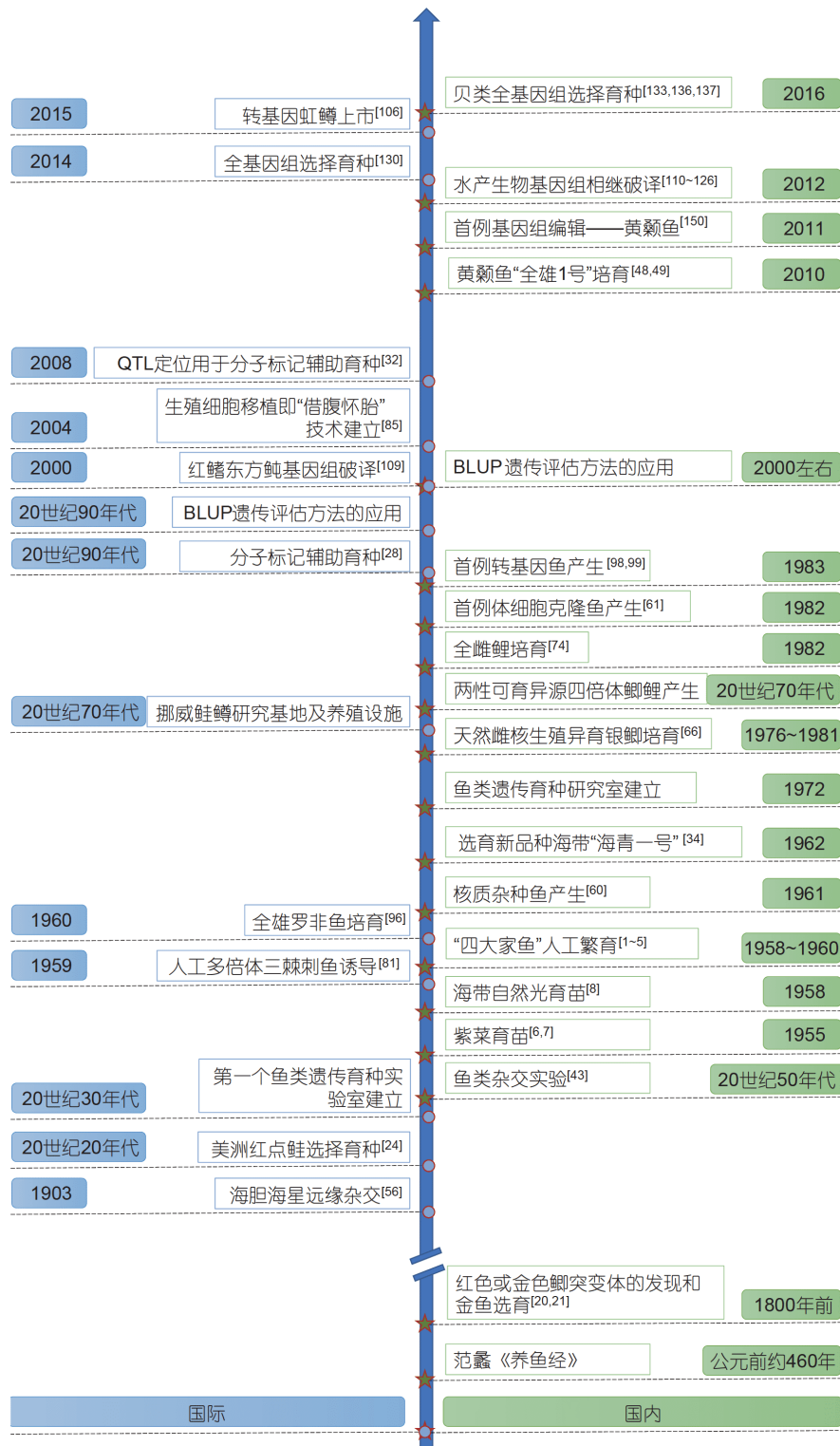


图 1 水产遗传育种生物技术发展的重大事件及其时间节点
Figure 1 Major events and time nodes in the development of genetic breeding biotechnologies in aquaculture

种“海青一号”。自1970年起, 群体选育和家系选育开始广泛应用^[35], 选育成果丰硕。在1996~2018年农业农村部审定的215个水产新品种中, 有82个选育品种是仅通过群体或家系选育培育的, 另外还有27个杂交品种在育种过程中也应用了群体或家系选择育种技术。譬如, 在进行种质资源调查的基础上, 以湖北省淤泥湖的团头鲂原种为育种基础群, 采用群体选育技术, 历经16年培育出首个团头鲂新品种“浦江1号”^[36]; 在突破对虾人工繁育和工厂化全人工育苗关键技术的基础上^[37,38], 采用群体选育技术培育出中国第一个海水养殖动物新品种——中国对虾“黄海1号”^[39,40]。基于BLUP遗传评估的单性状或多性状复合育种技术自2000年引入中国后, 发展迅速。自2008年起, 中国应用该技术培育出福瑞鲤、福瑞鲤2号、吉富罗非鱼“中威1号”、中国对虾“黄海2号”、中国对虾“黄海5号”、日本囊对虾“闽海1号”、凡纳滨对虾“海兴农2号”、凡纳滨对虾“兴海1号”和海大金贝等10个水产养殖新品种。

分子标记辅助选择育种技术在鉴定出与性状相关的分子遗传标记的基础上^[41~43], 部分标记已用于指导新品种选育。截至2018年, 异育银鲫“中科3号”^[44]和“中科5号”^[45,46]、“夏奥1号”奥利亚罗非鱼^[47]等4个选育新品种以及牡蛎“华南1号”、马氏珠母贝“海优1号”等4个杂交新品种的选育都应用了分子标记辅助育种技术^[28]。在长期的养殖实践中, 已发现至少超过20种养殖鱼类表现出明显的雌雄生长性别异形。因此, 开发性别特异的分子标记, 结合使用性反转和人工雌核生殖等性别控制育种技术, 培育单性养殖群体, 可显著增加产量和经济效益。黄颡鱼“全雄1号”^[48,49]和尼罗罗非鱼“鹭雄1号”的选育就是其中的两个典型范例。通过X和Y染色体特异地分子标记, 可以快速、简易、活体鉴定XX雌性个体、XY雄性个体和YY超雄个体, 从而构建大规模生产全雄黄颡鱼或尼罗罗非鱼的繁育技术体系^[50,51]。

20世纪90年代和21世纪初, 中国从其他国家引进了大菱鲆、牙鲆、罗非鱼、大口黑鲈、凡纳滨对虾、海湾扇贝等30多种水产养殖动物进行推广养殖, 并由此进行遗传改良。譬如, 中国从英国引进了大菱鲆, 从美国、墨西哥等国家引进了海湾扇贝, 在突破工厂化育苗关键技术和创建适合养殖模式^[52,53]的基础上, 培育出大菱鲆“多宝1号”、“丹法鲆”、海湾扇贝“中科红”、“中科2号”、“海益丰12”等多个新品种。凡纳滨

对虾新品种的培育情况也是这样^[54], 截至2018年, 已培育出9个凡纳滨对虾新品种。这些新品种经大规模养殖后, 产生了巨大的社会效益和经济效益。

1.2 杂交育种技术

除选择育种外, 杂交育种是最基础且得到广泛应用的育种技术之一。第一次文献记载的杂交育种出现于1760年^[55], 1903年, Loeb^[56]报道了海胆与海星间的远缘杂交实验^[54]。中国自20世纪50年代末开始进行了大量的鱼类杂交试验^[41], 涉及40多种鱼类、100多个杂交组合。杂交选育硕果累累, 目前已审定了包括湘云鲫、牙鲆“鲆优1号”、杂交青虾“太湖1号”、“大连1号”杂交鲍、“蓬莱红”扇贝、刺参“水院1号”和杂交海带“东方3号”等在内的68个杂交品种, 涵盖鱼、虾、蟹、贝、参和藻类。另外, 还有13个选育品种和2个其他品种在其培育过程中也应用了杂交育种技术。20世纪70年代, 刘筠等人利用远缘杂交技术, 获得了遗传性状稳定、可育的异源四倍体鲫鲤, 并将它们与普通二倍体鱼杂交培育出湘云鲫和湘云鲤^[57]。在此基础上, 进一步揭示了淡水鱼类远缘杂交的主要遗传和繁殖规律, 建立了关键共性技术, 研制出湘云鲫2号等改良三倍体鱼和更多两性可育的新型四倍体鱼品系^[43,57~59]。

1.3 细胞工程育种技术

细胞工程育种技术包含核移植(核质杂交)、雌(雄)核生殖、多倍体育种及生殖细胞移植技术等, 是在细胞或染色体组水平上进行遗传改良的育种技术。

1961年, 童第周等人^[60]率先证明细胞核移植可以在脊椎动物中进行, 并获得多种核质杂种鱼。1982年, 陈宏溪等人^[61]通过两轮核移植将银鲫的短期培养肾脏细胞移植到鲫的去核卵子中, 获得了世界上第一例体细胞克隆鱼, 比英国“多莉”羊^[62]早15年。2002年, Lee等人^[63]将长期培养并经过遗传操作, 过表达绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)的斑马鱼胚胎成纤维细胞的核移入去核卵中, 获得了斑马鱼克隆鱼。2009年, Yi等人^[64]将青鳉单倍体胚胎干细胞的核移植入正常的、不去核的鱼卵中, 获得了半克隆鱼“霍利”。尽管这些成功的尝试带来了通过克隆技术进行水产动物遗传育种的曙光, 但由于体细胞克隆效率非常低, 克隆子代常常表现出各种缺陷, 因此克隆技术应用于水产生物遗传育种还有许多理论和技术问题需要

突破^[65].

在细胞工程育种技术中,应用较成功的是雌核生殖,包括对天然雌核生殖物种的利用以及通过人工雌核生殖技术以快速建立纯系或结合性反转培育单性群体. 1976~1981年,蒋一珪等人^[66]以方正银鲫为母本、兴国红鲤为父本进行交配实验时意外发现,其后代并非为鲫鲤杂种,而是与母本性状完全一致的全雌性子代,由此发现银鲫的天然雌核生殖方式和异精效应,并培育出异育银鲫;接着通过表型和经济性状评估,结合同工酶等标记从中选育出高体型异育银鲫^[67]. 同时期,具有优良经济性状、来自不同地理群体的银鲫克隆系也被审定为新品种,如从黑龙江方正银鲫中选育出松浦银鲫^[68],从江西省彭泽湖等水域选育出彭泽鲫和萍乡红鲫. 随着对银鲫独特的多重生殖方式^[69,70]以及其六倍体遗传背景对其他鱼类精子染色体组或染色体片段的包容性和整合性的认识^[71],银鲫新品种纷至沓来. 2008年,本研究组^[44]通过对不同克隆系交配的子代应用分子标记辅助育种技术培育出核质杂种异育银鲫“中科3号”;2015年,与中国水产科学院长江水产研究所合作,参与培育出融入有鲤精子全部染色体的“长丰鲫”^[72,73]. 2018年,基于基因组reads测序深度比较策略和分子模块筛选鉴定,培育出异育银鲫“中科5号”^[45,46]. 在人工雌核生殖技术方面,1986年,吴清江等人^[74]应用该技术结合性反转,培育出可规模化养殖的全雌鲤. 目前,人工雌核生殖技术已在许多新品种的培育中得到成功应用,其中用于快速纯化以获得遗传稳定新品种的有建鲤、太湖鲂鲢、长丰鲢和大黄鱼“闽优1号”以及“蓬莱红”扇贝等;与性反转结合培育单性品种的还有黄颡鱼“全雄1号”、牙鲆“北鲆1号”、“北鲆2号”和尼罗罗非鱼“鹭雄1号”.

与其二倍体祖先或近缘种相比,多倍体常常表现出生长快、适应性和抗病力强等优良经济性状^[28,70,75]. 余先觉等人^[76,77]在20世纪80年代分析了长江流域和珠江流域等水系共170种鱼类的染色体组型,为多倍体鱼类的鉴定和利用奠定了细胞遗传学基础. 许多天然的多倍体鱼类,包括鲑鳟类、世界上第一个养殖对象鲤以及银鲫、鲫和鲟等,都是重要的水产养殖对象^[28,70]. 其中,鲑鳟类是古老的同源四倍体^[78,79],鲤和鲫是古老的异源四倍体^[43,80],这些古四倍体在其进化历程中已完成二倍化转变;而银鲫是六倍体,正处于二倍化过程中^[69]. 除了利用天然多倍体水产生物外,还可通过

物理、化学或远缘杂交等生物的方法合成人工多倍体. 人工多倍体鱼类最早诱导成功的报道是1959年的三棘刺鱼^[81],迄今已在多种鲑鳟类、鲤、鲫、草鱼、鲢、大鳞副泥鳅、牙鲆、真鲷、黄鳊、海带、裙带菜等中有诱导成功的报道^[28]. 最成功的人工多倍体培育和应用范例是三倍体太平洋牡蛎^[82],已占据美国市场的70%. 其他已进行商业化养殖的人工多倍体大多是从鲤科和鲑科等天然古老多倍体鱼类中合成的同源或异源多倍体^[70,83,84].

相对于其他经典细胞工程育种技术,生殖细胞移植(germ cell transplantation, GCT)是新发展的细胞工程育种技术. 2004年,Takeuchi等人^[85]将供体山女鳉的原始生殖细胞(primordial germ cell, PGC)植入受体雌性虹鳉体内,后者产下成熟的山女鳉卵子,与山女鳉精子受精孵化后得到了山女鳉鱼苗,因此GCT也被称之为“借腹怀胎”. 随后,在多种鱼类中进行了精原干细胞(spermatogonial stem cell, SSC)移植^[86]、单个PGC细胞移植^[87]以及供体选择三倍体不育个体等^[88]的成功尝试. GCT技术为濒危物种种质资源保护以及性成熟时间长的名贵物种的种苗生产提供了新的途径. 建立生殖细胞库,冷冻保存PGC, SSC或精巢组织,应用GCT技术有望产生功能性雌雄配子. 例如, Ye等人建立的鲟生殖细胞移植技术平台^[89]以及将太平洋蓝鳍金枪鱼PGCs移植到白腹鲱鱼苗中^[90]就是基于这些目的. 有趣的是,基于精原干细胞和卵原细胞的性别可塑性,如将虹鳉的卵原细胞分别移植入雌雄供体中,可分别产生虹鳉的卵子和精子^[91], Okutsu等人^[92]提出了一条性别控制育种,生产YY超雄虹鳉的新思路. 雌性供体能产生来自受体SSC、含有Y染色体的卵子,它们与正常含有Y染色体的精子授精,可产生YY超雄个体.

1.4 性别控制育种技术

早在20世纪40年代, Liu^[93]发现了黄鳊性别反转现象,由此“打开了脊椎动物性别决定机制研究之门”^[94]. 中国几代鱼类遗传育种学家在鱼类性别异形和性别决定的遗传基础研究以及性别控制育种技术方面进行了孜孜不倦的探索,取得了许多重大突破^[16,19,50,51,95]. 除了上述人工雌核生殖结合性反转,或辅助以分子标记选择育种生产牙鲆、黄颡鱼和尼罗罗非鱼单性种苗^[50,51]以及通过“借腹怀胎”生产YY超雄虹鳉外^[92],在罗非鱼中还可利用分别具有XX/XY或ZW/ZZ性别决

定型的不同种之间进行杂交以达到生产全雄或高雄比例后代的目的。譬如, 早在1960年, Hickling^[96]首次报道了利用种间杂交产生全雄罗非鱼。在中国, 利用三系配套法生产了YY莫桑比克超雄罗非鱼^[97]; 以综合应用群体选育、分子标记辅助育种、杂交育种等技术培育的新品种“夏奥1号”奥利亚罗非鱼为母本, 以尼罗罗非鱼为父本, 可生产雄性率在93%以上的奥尼杂交子代^[47]。目前审定的单性品种共有11个, 包括7个天然雌核生殖银鲫系列品种(含萍乡肉红鲫)和4个通过性别控制育种技术培育的单性品种。

1.5 基因转移与转基因育种技术

中国最早开始转基因育种研究, 诞生了世界上首例转基因鱼, 由此开拓了鱼类转基因育种新领域, 并建立了转基因鱼理论模型^[98,99]。目前中国已具备成熟的培育优良养殖鱼类新品种的转基因技术, 已在多种养殖鱼类中针对生长、品质、抗逆和抗病等多个性状进行了转基因育种研究^[65,100-102]。其中, 转“全鱼”生长激素基因的冠鲤^[103]在2000年系统完成了中间试验, 包括食用安全和生态安全评价^[104]; 并与异源四倍体鲫鲤通过倍间杂交, 研制出生长快速、饵料利用率高、不育的三倍体转基因吉鲤, 从而从根本上解决了生态风险问题^[105]。2015年, 美国食品和药物管理局(US Food and Drug Administration, FDA)已批准转全鱼生长激素基因的大西洋鲑“水优三文鱼”(AquAdvantage salmon)为首个可食用的转基因动物产品^[106]。转基因冠鲤和吉鲤已完成了严格的食用安全性和生态安全性评价, 产业化条件成熟。但遗憾的是, 尽管首例转基因鱼诞生于中国, 但转基因鱼的产业化在中国仍举步维艰。事实上, 转基因育种可视为一种精准定向的“分子杂交育种技术”, 是一种效率高的育种技术^[101,107,108]。除转基因鱼外, 基因转移育种还在中国对虾、凡纳滨对虾、大珠母贝和皱纹盘鲍等水产动物中进行了尝试。

1.6 基于全基因组信息及分子设计等前沿育种技术

2000年, 第一个水产动物红鳍东方鲀基因组的测序完成^[109], 开启了水产生物基因组测序时代。自2012年起, 中国相继破译了重要水产养殖生物, 如太平洋牡蛎^[110]、半滑舌鳎^[111]、鲤^[112]、弹涂鱼^[113]、草鱼^[114]、大黄鱼^[115,116]、红鲫^[117]、海马^[118]、团头鲂^[119]、牙

鲆^[120]、雅罗鱼^[121]、虾夷扇贝^[122]、栉孔扇贝^[123]、黄颡鱼^[124]、凡纳滨对虾^[125]、魁蚶^[126]、橙点石斑鱼、银鲫、鲢、鳙、海带等的全基因组序列, 同时中国对虾、翘嘴红鲂、坛紫菜等许多水产养殖生物的全基因组测序也在进行中。这些研究为解析水产养殖物种独特的生物学特性, 鉴定包括生长和发育、生殖和性别、抗病和抗逆等重要经济性状相关的分子标记、功能基因或分子模块以及遗传改良提供了重要数据和技术支撑^[16,19,127]。

在全基因组选择育种技术方面, 2001年, Meuwissen等人^[128,129]基于分子标记辅助育种提出了全基因组水平的选择育种技术。在基于单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)的基因分型技术以及全基因组关联分析(genome wide association study, GWAS)技术支持的基础上, 全基因组选择育种技术得到了快速发展。目前, 水产动物全基因组选择育种处于形成发展期, 其他国家主要是针对大西洋鲑、虹鳟等感染性疾病的抗性开展育种工作^[130-135]。在完成太平洋牡蛎^[110]、虾夷扇贝^[122]和栉孔扇贝^[123]的全基因组框架图之后, 搭建了贝类全基因组选择育种分析评估系统^[133,136,137], 并基于此技术育成了新品种栉孔扇贝“蓬莱红2号”、海湾扇贝“海益丰12”; 在完成牙鲆^[116]的全基因组解析后, 针对牙鲆抗迟缓爱德华氏菌病性状, 建立了基因组选择育种技术, 培育出“鲆优2号”牙鲆新品种^[127]; 在大黄鱼中也针对生长和肌肉中的不饱和脂肪酸含量等性状, 开展了全基因组选择技术研究^[138,139]。

在基因组编辑技术方面, ZFNs(zinc finger nucleases)^[140]、TALENs(transcription activator-like effector nucleases)^[141]和CRISPR/Cas9(clustered regularly interspaced short palindromic repeats/Cas9)^[142,143]等基因组编辑技术能够快速、特异地对多个内源基因进行精细编辑(仅涉及少数碱基的改变), 无外源基因引入, 特异性高, 等效于自然界广泛存在的基因突变或者SNP, 特别是CRISPR/Cas9系统, 更为高效和便捷^[144-146]。因此, 一经问世, 便在生命科学领域掀起了一场全新的技术革命。在鱼类中, 基因组编辑技术已在模式鱼类斑马鱼中得到了广泛应用^[65,102,147,148]。2014年, 中国学者领衔完成了“斑马鱼1号染色体全基因敲除计划”, 敲除了斑马鱼1号染色体上的1333个基因, 为建立水产育种学模型等研究奠定了基础^[65,145,149]。最早在水产养殖生物

中应用基因组编辑的成功报道是,应用ZFNs技术在黄颡鱼中敲除肌肉生长抑制素(myostatin)基因*mstn*^[150].自此,基因组编辑在多种养殖鱼类中得到了应用,如虹鳟^[151]、罗非鱼^[152]、鲤^[153]、大西洋鲑^[154]、斑点叉尾鲴^[155]、黄鳝^[156]、半滑舌鳎^[157]和小体鲟^[158]等.基因组编辑技术将在水产养殖动物基因功能解析和经济性状精准设计育种中发挥重要作用^[102,145,149].

在分子设计育种与分子模块设计育种领域,2003年,Peleman和van der Voort^[159]基于筛选鉴定优异性状基因进而培育优良新品种的理念,提出了分子设计育种.中国在作物中完善了这一理念,建立了高效精准的设计育种体系,培育了一系列高产优质的新品种^[160~163].在鲤中,建立了基于分子标记以及QTL定位的多位点聚合育种技术,为鱼类分子设计育种奠定了基础^[42,164].2013年,薛勇彪等人^[165,166]基于复杂农艺(经济)性状受“模块化”网络调控的认识,提出了分子模块设计育种.该育种思路是在解析分子模块的基础上,将各种高产、稳产、优质、高效的优良性状分子模块系统耦合,高效组装设计新品种.跟随作物的分子模块设计育种研究,在鲫、鲤中已初步应用这一理念^[18].

综上所述,中国已经应用群体或家系选择育种、杂交育种技术培育了众多水产新品种,也开始采用分子标记辅助育种、BLUP遗传评估、全基因组选择育种、雌核生殖、性别控制育种等技术培育新品种,但前沿性的育种技术实际应用不多,一些技术的应用仅停留在实验室阶段^[167].水产种业是水产养殖业发展的基础,遗传育种是生产优质种苗和提升产量的有效手段^[12].2012年,著名鱼类遗传育种学家、有着“挪威渔业之父”之称的Gjedrem教授^[168,169]发表了题为“遗传改良推动全球水产养殖高效发展:个人经验”的评述,认为得到遗传改良的水产生物物种还不足10%,如果全部养殖遗传改良种,则全球水产养殖动物产量在2020年将达19000万吨.2017年全球水产养殖动物产量仅为8013.6万吨,因此水产遗传育种技术的创新和应用,在提升水产品养殖产量上尚有很大提升空间.

2 水产新品种培育与水产种业形成

“发展养殖,种业先行”.中国的水产种业经历了以捕捞天然种苗为主(有水产养殖的时期~1957年)、以

简单的人工繁殖种苗为主(1958~1991年)和遗传改良种应用逐步扩大(1992年至今)三个主要阶段^[170].1958年,“四大家鱼”人工繁殖以及成功研发出海带自然光育苗,标志着进入第二阶段;第三阶段的标志是1991年农业部成立全国水产原种和良种审定委员会,启动水产原良种体系建设.截至2019年7月,已建设31个遗传育种中心、35家遗传资源保存分中心、84家国家级水产原良种场和820家地方级水产原良种场等.

从1996年开始,全国水产原良种审定委员会开始审定,并由农业部发布公告推广养殖新品种.截至2018年,已审定215个新品种,涵盖了鱼、虾、贝、蟹、参、藻等主要养殖种类,包括118个选育品种(GS-01系列)、61个杂交品种(GS-02系列)、30个引进种或品种(GS-03系列)和6个其他品种(GS-04系列).从1996~2018年每年审定的品种数量和类型可知(图2A),引进种或品种超过半数是在1996年审定的,且从2008年后再也没有审定引进品种,这表明近10年审定的品种都具有中国自主知识产权.审定品种数量较多的年份在1996年、2010年、2014年以及2017年.1996年是第一次审定新品种,共审定了33个品种,是对之前育种家们20多年品种培育和引进工作的一次集中认定.随后的2010年和2014年的品种审定数高峰与国家“十一五”和“十二五”计划执行末期吻合,表明中国水产新品种培育的成果得益于国家相关科技项目的资助.总的来说,每一个“五年”计划审定的新品种数,在逐步增多,这表明中国水产遗传育种能力在不断进步.

如前所述,很多新品种的培育过程中,联合使用了多种遗传育种技术.本研究组^[28]曾详细列表描述了1996~2014年审定的156个水产新品种的亲本来源、育种技术以及优良性状等信息;Wang等人^[59]也列表描述了1996~2017年审定的83个鱼类新品种的亲本来源、选育单位以及40个鱼类杂交品种的育种技术等信息.概括来说,一般是以群体选育、家系选育或杂交选育为基础,单独或联合使用分子标记辅助育种、BLUP遗传评估、全基因组选择育种、雌核生殖、诱变(藻类)等育种技术.譬如,在118个选育品种中,仅采用家系或群体选育技术培育成功的有82个;在选育过程中应用了分子标记辅助育种的有4个;基于BLUP遗传评估的有10个;全基因组选择育种的有2个;应用了杂交育种技术的有12个;利用了天然雌核生殖的有5个银鲫全雌品种;应用了人工雌核生殖技术以快速纯化的有6

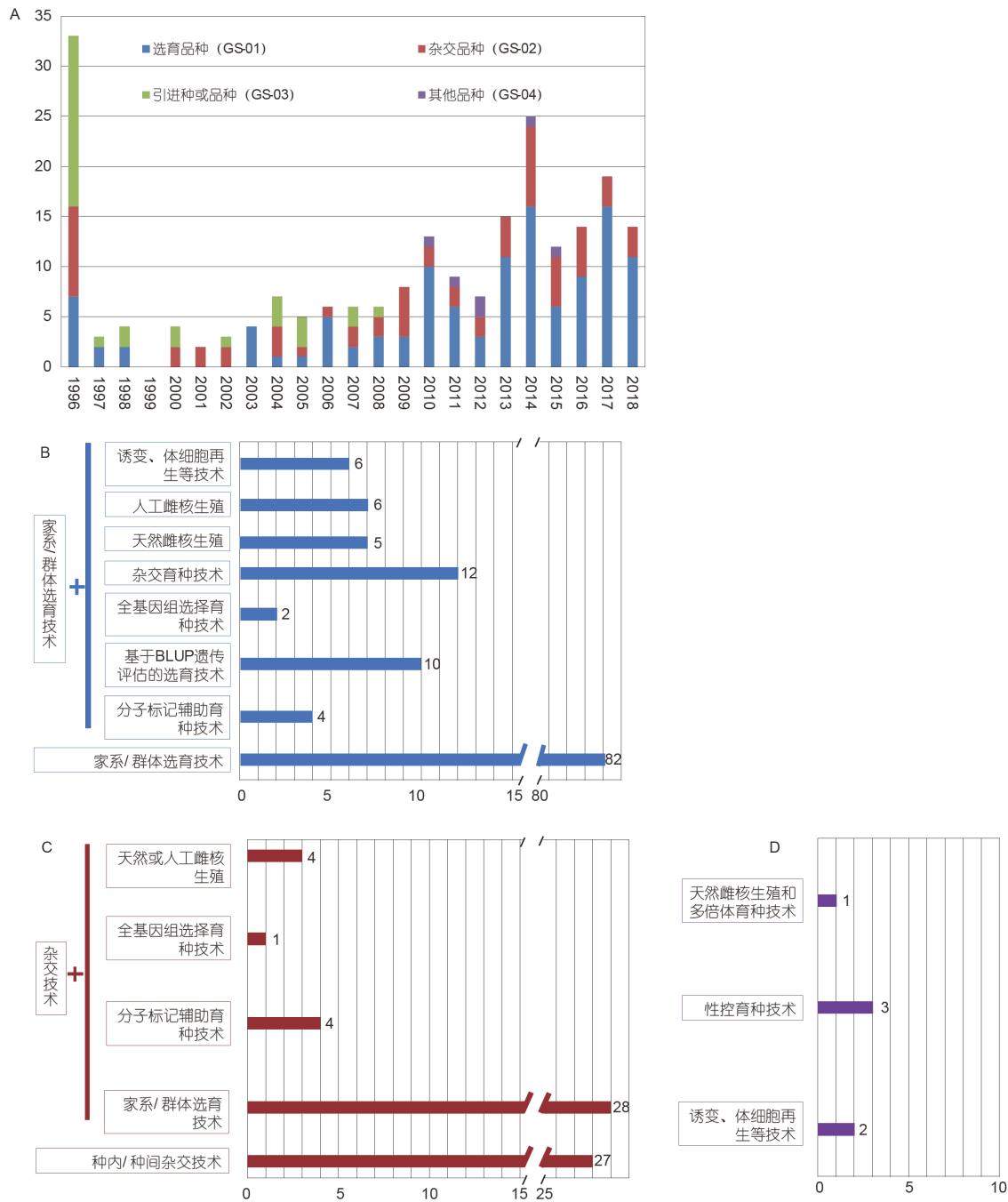


图 2 215个新品种的年代分布和采用的生物技术。A: 215个审定新品种年代分布; B: 118个选育品种(GS-01系列)的育种技术分布; C: 61个杂交品种(GS-02系列)的育种技术分布; D: 6个其他品种(GS-04系列)的育种技术分布

Figure 2 Chronological distribution and the used biotechnologies of 215 new varieties in China. A: Chronological histogram; B: Distribution histogram of breeding biotechnologies in 118 selected varieties (GS-01); C: Distribution histogram of breeding biotechnologies in 61 hybrid varieties (GS-02); D: Distribution histogram of breeding biotechnologies in 6 other varieties (GS-04)

个;另外,在6个藻类新品种选育中,采用了诱变、体细胞再生或单性生殖等技术(图2B)。杂交品种的培育过程也类似。在61个杂交品种中,有27个新品种仅采用

了种内/种间杂交,而近年来审定的28个杂交新品种的母本或父本都是经过群体或家系选育而成的;有4个杂交品种采用了分子标记辅助育种技术;“蓬莱红”扇贝

和太湖鲢鲂应用了人工雌核生殖以快速纯化,而“北鲟2号”通过人工雌核生殖和性反转以生产全雌养殖群体(图2C)。6个其他品种包括3个性别控制育种培育成功的(“北鲟2号”、黄颡鱼“全雄1号”和尼罗罗非鱼“鹭雄1号”)、1个多倍体育种和天然雌核生殖培育成功的(长丰鲫)和2个通过诱变、杂交、体细胞再生或单性生殖等多种方法培育成功的藻类新品种(坛紫菜“闽丰1号”和龙须菜“鲁龙1号”)(图2D),其中4个鱼类新品种都是单性品种。

水产新品种的诞生使中国水产养殖业逐渐摆脱对野生种的依赖,鲫、鲤已基本实现良种化。譬如,近40年来,已连续培育出17个鲫和26个鲤新品种,这些新品种极大地促进了相关养殖业的快速发展,全国鲫鱼和鲤鱼产量已从1983年的4.8和8.57万吨(联合国粮食及农业组织(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)在线统计数据)增至277.2和295.2万吨^[15,171]。但是,无论是与本国种植业和畜牧业相比,还是与水产养殖发达的挪威等国相比,目前良种对中国水产增产的贡献率仍处在较低的水平,仅为25%~30%左右^[167,172]。造成目前这种状况的原因很多。一方面,水产养殖种类繁多可满足人们多元化的需求。据联合国粮食及农业组织2010年的统计结果,水产养殖物种就有541种^[167],而且养殖种类还在不断增加。不同物种生物学特性不同,研究发展程度也不同,这就导致许多水产养殖物种仍然停留在利用原种的阶段。同时,一些传统的养殖对象,由于性成熟时间长导致育种周期长,如“四大家鱼”中,仅有鲢审定了长丰鲢和津鲢两个新品种。解决上述问题需要建立一套成熟的、共性强的育种理论和技术体系,同时发展和完善精准、定向、高效的育种技术以缩短育种周期。另一方面,良种推广力度不够。因此,要注重研发良种的规模化繁育技术、养殖模式和养殖技术等,实现良种配良法。

综上所述,经过20多年水产原良种体系建设,中国现代化水产种业已基本形成,新品种培育成果丰硕。2018年中国水产种苗产值664.6亿元,是全球水产种业市值最多的国家之一,但种业产业竞争力还不强。科技自主创新能力仍有待大幅提升,尚未形成“育、繁、推”全产业链技术体系和商业化种业发展机制等,因此仍需在政策扶持、科学规划、多元投入等多方面给予支持,以加快现代水产种业体系建设步伐^[172]。

3 水产遗传基础研究方兴未艾

以前曾有人将水产养殖产业中出现的产量“盛衰”现象归咎于市场波动等经济行为,而最近研究表明,水产养殖产量下降与该物种近交衰退及病害直接相关^[173],且产量和效益取决于其遗传资源的利用率^[174]。因此,了解水产物种的生物学特性至关重要^[16]。事实上,许多在产业中发挥重大作用的水产养殖品种是在对其遗传背景充分解析的基础上培育而成的。如藻类新品种的培育是在揭示了紫菜丝状体壳孢子是紫菜种苗的主要孢子来源等基础研究,以及突破“海带自然光育苗法”的基础上,解决了种苗生产和栽培中的关键问题才得以发展起来^[6-8];系列异育银鲫新品种的培育,就是在进行种质资源调查^[175,176]、发现其独特生殖方式和性别决定方式,结合分子标记辅助育种和细胞工程育种等技术培育成功的^[19,28,50,68,69,95]。

自2012年起,中国学者相继破译了数10种水产养殖生物的全基因组序列,并揭示了它们独特的生命现象和适应性进化机制的遗传基础^[16,124]。譬如,解析了牡蛎适应潮间带极端环境和贝壳生物矿化机制^[110];揭示了比目鱼ZW性染色体进化、底栖适应和变态发育的分子基础^[111,120];阐明了鲤的全基因组复制和亚种起源的遗传基础^[112];揭示了大黄鱼完善的免疫系统以及对环境胁迫敏感的分子机制^[115,116]、弹涂鱼适应陆地生境^[113]、雅罗鱼适应碱性环境分子机制^[121]以及草鱼草食性^[114]和海马“雄性育儿”和垂直游动^[118]等特殊的生物学现象的分子基础。更为重要的是,这些养殖生物基因组的解析,完成了大量功能基因的注释,为后续发掘重要经济性状相关分子标记和功能基因,解析重要性状形成的遗传机制,进行全基因组选择育种和基因组编辑育种提供了大数据支撑。除了这些全基因组序列的精细图谱解析外,中国学者还构建了鳙、鲤等数十种水产养殖生物高密度遗传图谱,开展了与生长、抗病、饲料转化、性别决定、抗逆等相关的QTL定位研究^[42]和GWAS分析^[177-179]。在遗传机制解析方面,围绕生长、生殖、性别、内分泌调控、品质、抗病、耐低氧、耐寒等重要经济性状,开展了系列研究,取得了重要进展^[16,19,50,180-182]。其中突破性的进展之一是揭示组蛋白去甲基化酶KDM6B调控红耳龟温度依赖型性别决定的分子机制^[183]。同时,近10多年,中国学者在水产动物病原鉴定和基因组解析、病毒-宿主相互作用

用、鱼类先天性免疫和抗病毒相关基因鉴定和信号通路的解析方面做了大量工作,为抗病育种研究提供了一定的分子基础^[182,184]。但目前关于水产养殖生物重要经济性状遗传机制解析的大多数工作都是围绕数个基因开展,基因组编辑技术也刚开始在水产养殖生物中应用以揭示基因功能,因此对这些重要性状分子机制的认识还有大量的研究工作要做。

综上所述,中国水产科研工作者在水产遗传育种的遗传基础和技术应用方面做了大量的工作,成绩斐然。自2011年以来,水产遗传育种领域共获得包括国家自然科学二等奖(1项)、国家科技进步二等奖(5项)和国家技术发明二等奖(2项)等在内的国家奖8项,占水产国家级科技奖的60%。随着功能基因组时代的到来,水产遗传基础研究方兴未艾。利用基因组结合转录组、蛋白质组、表观组、代谢组等多种组学数据,在水产养殖生物中完善和应用基因组编辑技术以及其他分析蛋白互作、蛋白与核酸互作的分子细胞技术,解析重要性状形成的遗传机制,为基因组选择育种和基因组编辑育种奠定理论基础,是今后水产遗传基础的研究重点。

4 新时代水产遗传育种和水产种业的发展需求

随着育种技术、养殖技术和工程设施等的快速发展和进步,加上养殖规模的不断扩大,中国水产养殖产量大幅增加,到1995年养殖产量达到世界水产养殖产量的65%左右。进入21世纪后,可持续发展渔业已成为世界共同关注的时代主题,水产养殖对世界水产品供应的作用已在发达国家学者中达成共识^[185~187],认为应对鱼类需求日益增长的唯一途径是养殖^[188],养殖的鱼能够替代捕捞的鱼^[189]。因而水产养殖已成为发达国家正在快速发展的新型产业。因此,其他一些国家的水产养殖产量也在不断提升,加上近年来中国高度重视生态文明建设和水产养殖业绿色发展,政府大幅取缔大中型水域以及河道的无序围栏和网箱养殖,发展新的养殖模式,提倡减量增收、提质增效和绿色发展,中国水产养殖产量增量减缓,但仍持续占世界水产养殖产量的58%以上(图3A)。不同于捕捞业远超养殖业的其他国家(图3B),中国水产产量主要来自于水产养殖,是最大的渔业生产国(图3C)。据FAO网站在线数据

实时统计,当前中国水产捕捞对世界渔业贡献率不足8.90%,而水产养殖对世界渔业贡献率由1980年的1.83%跃升至2017年的27.12%(图3D)。也就是说,中国总渔业生产贡献率由1980年前的10%增加至2017年的36.02%,增长主要是由水产养殖带来的。

在未来30年内,全球人口将达到100亿,当前主要农作物(小麦、水稻、玉米)产量的增长速度已不足以满足未来粮食需求,这就需要颠覆性地加速育种技术,培育更高产、更抗病和更环境友好的作物^[190]。另一方面,联合国联合粮食及农业组织、世界卫生组织、世界粮食计划署、国际农业发展基金、联合国儿童基金会等提出“营养行动十年(2016~2025年)”计划,呼吁将水产品纳入到主流的粮食安全和营养政策^[14]。在合理有效地管理和控制下,水产养殖能为全球食品安全和经济增长产生持续的利益。自2015年起,联合国通过了“可持续发展目标”,其中多项与渔业和水产养殖的可持续发展有着直接关联。为加快推进水产养殖业绿色发展和促进产业转型升级,2019年1月中国农业农村部联合生态环境部、自然资源部等十部委在肯定中国水产养殖业发展的显著成绩和突出贡献的前提下,就养殖布局 and 产业结构不合理、局部地区养殖密度过高等问题,提出《关于加快推进水产养殖业绿色发展的意见》。该文件在提出指导思想、基本原则和主要目标的基础上,围绕加强科学布局、转变养殖方式、改善养殖环境、强化生产监管、拓宽发展空间、加强政策支持及落实保障措施等方面作出了全面部署,是指导中国水产养殖业绿色发展的纲领性文件。

近年来,水产养殖模式朝向多元化发展,设施化和智能化的集约养殖模式和生态化和有机化的和谐综合养殖模式已成为主流,“智慧”和“绿色”是其中最重要的两个关键词。一方面,养殖的机械化、自动化、智能化技术水平不断提升;另一方面,强调发挥水产养殖的生态服务功能,不仅提供优质水产品,也达到以渔净水,修复水域生态环境的目的。同时,除传统池塘外,还大力拓展了稻田、盐碱地、深海等新的养殖空间。稻渔综合种养,可实现渔稻互促,双水双绿,是政府大力倡导、企业和农民踊跃参与的生态渔农模式;大水面生态净水渔业,在湖泊水库发展不投饵滤食性鱼类,并合理配置放养鱼类的种类和数量,可实现放鱼养水,修复渔业水域生态,养护渔业资源,已涌现千岛湖和查干湖等典型例子;国家和地方政府已加大池

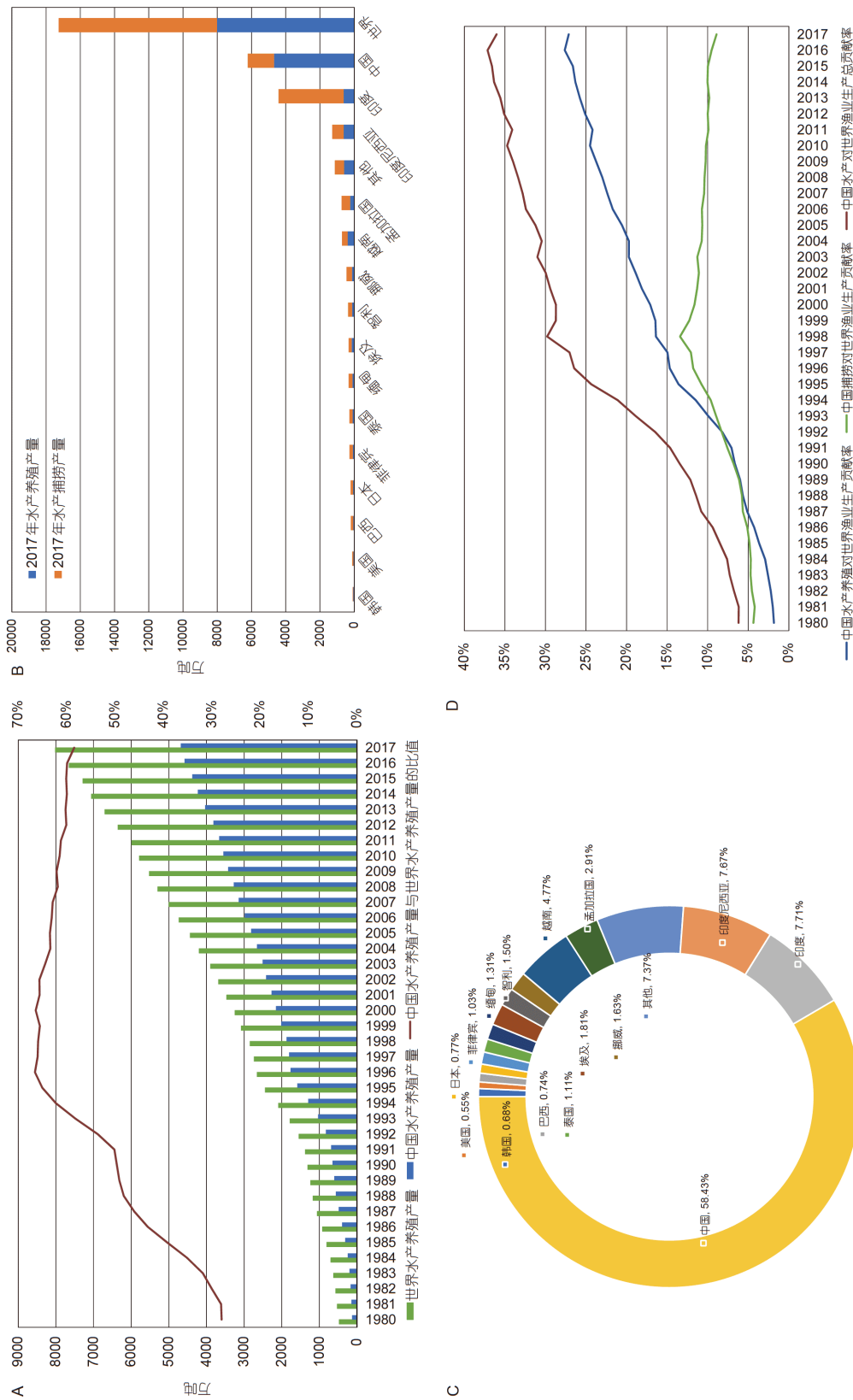


图 3 中国水产养殖对世界的贡献。A: 1980年以来中国与世界水产养殖产量的比较; B: 2017年世界主要水产大国养殖产量与捕捞产量的比较; C: 2017年主要水产养殖大国的水产养殖产量占世界水产养殖产量的比值; D: 中国水产养殖和捕捞渔业对世界渔业生产的贡献(数据引自FAO网站在线数据)

Figure 3 Contribution of Chinese aquaculture to the world. A: Comparison of aquaculture production between China and world since 1980; B: Production comparison between aquaculture and capture fisheries among major aquaculture countries in 2017; C: Aquaculture production proportions of major aquaculture countries in 2017; D: Contribution of Chinese aquaculture and capture fisheries to aquatic products of the world (Source: Online data from FAO website)

塘标准化和工程化改造, 特别重视湿地、生态沟渠等养殖尾水处理设施的升级改造。这些新的养殖模式在推进生态文明建设和水产养殖绿色发展中发挥了重要作用^[12,18,191~193]。为了让世界更广泛了解中国水产养殖的现状, 在中国科学院、中国工程院和中国水产学会的支持下, 邀约了100多个从事水产养殖的专家共同编汇了英文版专著《中国水产养殖: 成功故事和现代趋势》^[194]。这本书的出版很快得到国际同行的赞誉, 认为这本专著“掀起了中国水产养殖的窗帘, 为更广阔的世界洞开了这个卓越水产养殖超级大国主要生产活动的内在景色”^[195]。

新时代水产养殖变革, 对水产遗传育种技术和水产种业发展提出了新的需求。尽管中国在水产新品种培育数量上取得了一定成绩, 但大多数改良的是生长性状, 极少数兼顾抗病、高饲料转化率或品质等性状; 培育的品种是通用型的, 未考虑不同养殖模式的特殊要求。对现代水产种业而言, 培育抗病、耐低氧、低应激反应的适合高密度、集约化养殖的, 或培育克氏原螯虾等适合“稻渔综合种养”等生态化养殖的新品种, 以及兼顾高产、稳产、高效、优质等多个性状综合的突破性品种, 是未来发展的目标。为实现这个目标, 未来需在下列方向重点布局。

4.1 重要经济性状形成的遗传机制解析

解析水产养殖生物重要经济性状的遗传基础, 是育种改良的理论基石。全基因组精细图谱解析为挖掘与水产养殖生物重要经济性状相关的分子遗传标记、功能基因、调控元件和优异等位基因变异等提供了数据资源。除了继续对生长、生殖与性别发育、抗病等重要经济性状外, 还需加强对资源高效利用、抗逆(耐低氧、耐极端温度、耐盐碱、低应激反应等)、品质(肌间刺、出肉率、不饱和脂肪酸含量等)等性状形成的遗传机制解析。重要的是, 鉴定有育种价值的功能基因以及优异等位基因, 应用于育种中。

4.2 遗传育种前沿技术开发以及育种技术集成应用

全基因组选择育种技术和基因组编辑技术已成为包括作物、畜禽、果蔬、水产在内所有动植物遗传改良最重要的两个技术手段。中国学者在水稻中完善了全基因组育种技术体系^[196,197]; 率先将基因组编辑

技术应用于农作物和果蔬的精准设计育种中^[146,163,198~202]。如在六倍体小麦中实现了同时编辑3个同源等位基因(homoeoallele), 获得了可遗传的、对白粉菌具有广谱抗性的小麦^[203]; 在水稻中建立了基因定点替换及定点插入体系, 创制了对草甘膦具有抗性的水稻^[198]; 使用多靶点CRISPR/Cas9载体系统, 精准靶向多个产量和品质性状控制基因, 实现了野生番茄的快速驯化^[203]。Hickey等人^[190]2018年提出“加速育种”(speed breeding)技术, 改变传统温室培养的光暗循环, 以缩短作物生长周期, 并结合基因组编辑和全基因组选择育种等技术, 将提高2~3倍的作物改良速率^[204,205]。为了规范和推动基因组编辑技术在育种中的应用, 中国学者联合德国和美国学者在《自然-遗传学》(*Nature Genetics*)上撰文提出基因组编辑作物的监管框架, 建议在满足5点条例的基础上, 基因组编辑作物只需接受常规育种作物同样的管理^[206]。事实上, 美国农业监管部门至少已认定5种基因组编辑作物新品种, 如低植酸玉米品种、耐冷藏马铃薯品种、高油酸和低亚油酸大豆、抗褐化双孢菇和抗除草剂玉米, 不属于转基因生物监管范畴。

鉴于全基因组选择育种和基因组编辑技术在作物遗传育种中已取得的重大应用效果, 急需依据物种特性, 在更多水产养殖生物中发展、完善和应用这两种前沿技术, 以实现多个性状综合、快速地遗传改良; 特别是对性成熟时间长的野生鱼类, 可快速从头驯化, 创制新品种。此外, 在传统选择育种和杂交育种的基础上, 仍需发展、创新和集成性别控制育种、染色体组倍性操控技术、分子设计育种、分子模块设计育种技术、生殖干细胞移植等遗传育种技术, 以培育重大品种。

4.3 重大突破型优良品种的培育与示范应用

进行水产养殖生物种质资源鉴定和评价, 开展高通量、精准的表型和基因型深度解析, 创制育种核心基础群; 以生长、饲料高效利用、性别、抗病、抗逆、品质等重要经济性状为选育目标, 在经济性状形成机制遗传解析的基础上, 集成应用全基因组选择育种、基因组编辑育种、性别控制育种、染色体组倍性操控等传统和前沿育种技术, 培育高产优质、资源高效利用、抗病抗逆、适于不同养殖模式的主要水产养殖新品种, 并研发新品种规模化繁育和配套养殖技术,

进行新品种的示范推广.

参考文献

- 1 Chu N S. Preliminary experiments on induced ovulation of some economical cyprinids (in Chinese). *Acta Hydrob Sin*, 1955, 2: 60–69 [朱宁生. 青、鲢、鳊、鳙等家鱼催情试验的初步报告. 水生生物学集刊, 1955, 2: 60–69]
- 2 Chung L. The propagation of silver carp and bighead carp in the pond (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 1958, 21: 658–659 [钟麟. 鲢鳙的池塘繁殖. 科学通报, 1958, 21: 658–659]
- 3 Institute of Experimental Biology, Chinese Academy of Sciences. The Artificial Propagation of Farm Fish (in Chinese). Beijing: Science Press, 1962 [中国科学院实验生物研究所. 家鱼人工生殖的研究, 北京: 科学出版社, 1962]
- 4 Wu H W, Chung L. Progress and achievements in the artificial propagation of four farm fish in China (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 1964, 10: 900–907 [伍献文, 钟麟. 鲢、青、鳊、鳙的人工繁殖在我国的进展和成就. 科学通报, 1964, 10: 900–907]
- 5 Chung L. Biology and Artificial Propagation of Farm Fish (in Chinese). Beijing: Science Press, 1965 [钟麟. 家鱼的生物学和人工繁殖. 北京: 科学出版社, 1965]
- 6 Tseng C K, Zhang D R. Studies on spore sources in artificial cultivation of *Porphyra* (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 1954, 12: 50–54 [曾呈奎, 张德瑞. 紫菜人工养殖上的孢子来源问题. 科学通报, 1954, 12: 50–54]
- 7 Tseng C K. Chinese marine biology in the past ten years (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 1959, 20: 674–677 [曾呈奎. 十年来的中国海洋生物学. 科学通报, 1959, 20: 674–677]
- 8 Ministry of Fisheries, Central Committee. Kelp seedlings is successfully cultivated with natural light (in Chinese). *Aquat Sci Technol Inform*, 1958, 1 [中央水产部. 自然光培育海带苗方法成功. 水产科学技术情报, 1958, 1]
- 9 Xiong D R. Culture of Pearl (in Chinese). Guangzhou: Jinan University Press, 1959 [熊大仁. 珍珠的养殖. 广州: 暨南大学印, 1959]
- 10 Lin H R. Fish Physiology (in Chinese). Guangzhou: Sun Yat-sen University Press, 2011 [林浩然. 鱼类生理学. 广州: 中山大学出版社, 2011]
- 11 Bostock J, McAndrew B, Richards R, et al. Aquaculture: Global status and trends. *Phil Trans R Soc B*, 2010, 365: 2897–2912
- 12 Wang Q, Li Z, Gui J F, et al. Paradigm changes in freshwater aquaculture practices in China: Moving towards achieving environmental integrity and sustainability. *Ambio*, 2017, 27
- 13 Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016: Contributing to Food Security and Nutrition for All. Rome, 2016 [联合国粮农组织. 2016年世界渔业和水产养殖状况: 为全面实现粮食和营养安全做贡献. 罗马, 2016]
- 14 Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018: Meeting the Sustainable Development Goals. Rome, 2018 [联合国粮农组织. 2018年世界渔业和水产养殖状况: 实现可持续发展目标. 罗马, 2018]
- 15 Bureau of Fisheries of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China Fisheries Statistical Yearbook 2019 (in Chinese). Beijing: China Agriculture Press, 2019 [农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会编制. 2019中国渔业统计年鉴. 北京: 中国农业出版社, 2019]
- 16 Gui J F. Fish biology and biotechnology is the source for sustainable aquaculture (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2014, 44: 1195–1197 [桂建芳. 鱼类生物学和生物技术是水产养殖可持续发展的源泉. 中国科学: 生命科学, 2014, 44: 1195–1197]
- 17 Gui J F, Bao Z M, Zhang X J. Development strategy for aquaculture genetic breeding and seed industry (in Chinese). *Eng Sci*, 2016, 18: 8–14 [桂建芳, 包振民, 张晓娟. 水产遗传育种与水产种业发展战略研究. 中国工程科学, 2016, 18: 8–14]
- 18 Gui J F, Zhou L, Zhang X J. Research advances and prospects for fish genetic breeding (in Chinese). *Bull Chin Acad Sci*, 2018, 33: 932–939 [桂建芳, 周莉, 张晓娟. 鱼类遗传育种发展现状与展望. 中国科学院院刊, 2018, 33: 932–939]
- 19 Gui J F, Zhu Z Y. Molecular basis and genetic improvement of economically important traits in aquaculture animals (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2012, 57: 1751–1760 [桂建芳, 朱作言. 水产动物重要经济性状的分子基础及其遗传改良. 科学通报, 2012, 57: 1751–1760]
- 20 Komiyama T, Kobayashi H, Tatenos Y, et al. An evolutionary origin and selection process of goldfish. *Gene*, 2009, 430: 5–11
- 21 Wang S Y, Luo J, Murphy R W, et al. Origin of Chinese goldfish and sequential loss of genetic diversity accompanies new breeds. *PLoS ONE*, 2013, 8: e59571
- 22 Ye Q C, Qu L M. Goldenfish of China (in Chinese). Fuzhou: Straits Pub Distrib Group, 2016 [叶其昌, 曲利明. 中国金鱼图鉴. 福州: 海峡书局, 2016]

- 23 Harlan H V, Martin M L, Stevens H. A Study of Methods in Barley Breeding. Washington: USDA Tech Bull, 1940, 720
- 24 Embury G C, Hayford C O. The advantage of rearing brook trout fingerlings from selected breeders. [Trans Am Fisheries Soc](#), 1925, 55: 135–148
- 25 Kirpichnikov V S. Fish Genetics and Breeding. Leningrad: Nauka, 1987
- 26 Golubovsky M D. Valentin Sergeevich Kirpichnikov: To the 100th anniversary of his birth (1908–1991). [Russ J Genet](#), 2008, 44: 753–757
- 27 Henderson C R. Best linear unbiased estimation and prediction under a selection model. [Biometrics](#), 1975, 31: 423–447
- 28 Zhou L, Gui J F. Applications of genetic breeding biotechnologies in chinese aquaculture. In: Gui J F, Tang Q S, Li Z J, et al., eds. Aquaculture in China: Success Stories and Modern Trends. Oxford: John Wiley Sons Ltd, 2018. 465–496
- 29 Hulata G. Genetic manipulations in aquaculture: A review of stock improvement by classical and modern technologies. [Genetica](#), 2001, 111: 155–173
- 30 Nguyen N H. Genetic improvement for important farmed aquaculture species with a reference to carp, tilapia and prawns in Asia: Achievements, lessons and challenges. [Fish Fish](#), 2016, 17: 483–506
- 31 Fuji K, Hasegawa O, Honda K, et al. Marker-assisted breeding of a lymphocystis disease-resistant Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). [Aquaculture](#), 2007, 272: 291–295
- 32 Houston R D, Haley C S, Hamilton A, et al. Major quantitative trait loci affect resistance to infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon (*Salmo salar*). [Genetics](#), 2008, 178: 1109–1115
- 33 Moen T, Baranski M, Sonesson A K, et al. Confirmation and fine-mapping of a major QTL for resistance to infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon (*Salmo salar*): Population-level associations between markers and trait. [BMC Genom](#), 2009, 10: 368
- 34 Fang Z X, Wu C Y, Jiang B Y, et al. The breeding of a new breed of Haidai (*Laminaria japonica* Aresch) and its preliminary genetic analysis (in Chinese). *J Integr Plant Biol*, 1962, 10: 197–209 [方宗熙, 吴超元, 蒋本禹, 等. 海带“海青一号”的培育及其初步的遗传分析. 植物学报, 1962, 10: 197–209]
- 35 Wu C J, Gui J F. Fish Genetics and Breeding Engineering (in Chinese). Shanghai: Shanghai Scientific Technical Publishers, 1999 [吴清江, 桂建芳. 鱼类遗传育种工程. 上海: 上海科学技术出版社, 1999]
- 36 Li S F, Cai W Q. Genetic improvement of the herbivorous blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). *NAGA*, WorldFish Center Quart, 2003, 26: 20–23
- 37 Zhao F Z. Artificial Culture of Shrimp (in Chinese). Beijing: Science Press, 1979 [赵法箴. 人工养殖对虾. 北京: 科学出版社, 1979]
- 38 Zhao F Z. Culture and Stock Enhancement of Chinese Shrimp. China Agricultural Encyclopedia-Aquaculture Industry Volume (in Chinese). Beijing: China Agriculture Press, 1994 [赵法箴. 中国对虾养殖与增殖. 中国农业百科全书·水产业卷. 北京: 中国农业出版社, 1994]
- 39 Wang Q Y. Overview on culture and genetic breeding of shrimp industry in China (in Chinese). *Sci Fish Farm*, 2008, 4: 1–3 [王清印. 我国对虾业养殖和育种概况. 科学养鱼, 2008, 4: 1–3]
- 40 Wang Q Y. Progress in Marine Aquaculture Technology in China (2014): From Wild to Domestic: A Review of Chinese Shrimp Culture Development (in Chinese). Beijing: China Ocean Press, 2015 [王清印. 中国海水养殖科技进展(2014): 从野生到家养——中国对虾养殖发展述评. 北京: 海洋出版社, 2015]
- 41 Bai J J. Molecule Identification Technique for Fish Genetic Resources (in Chinese). Beijing: China Ocean Press, 2011 [白俊杰. 鱼类种质分子鉴定技术. 北京: 海洋出版社, 2011]
- 42 Tong J G, Sun X W. Genetic and genomic analyses for economically important traits and their applications in molecular breeding of cultured fish (in Chinese). [Sci Sin Vitae](#), 2014, 44: 1262–1271 [童金苟, 孙效文. 鱼类经济性状遗传解析及分子育种应用研究. 中国科学: 生命科学, 2014, 44: 1262–1271]
- 43 Xu K, Duan W, Xiao J, et al. Development and application of biological technologies in fish genetic breeding (in Chinese). [Sci Sin Vitae](#), 2014, 2044: 1272–1288 [徐康, 段巍, 肖军, 等. 鱼类遗传育种中生物学方法的应用及研究进展. 中国科学: 生命科学, 2014, 2044: 1272–1288]
- 44 Wang Z W, Zhu H P, Wang D, et al. A novel nucleo-cytoplasmic hybrid clone formed via androgenesis in polyploid gibel carp. [BMC Res Notes](#), 2011, 4: 82
- 45 Gao F X, Wang Y, Zhang Q Y, et al. Distinct herpesvirus resistances and immune responses of three gynogenetic clones of gibel carp revealed by comprehensive transcriptomes. [BMC Genom](#), 2017, 18: 561
- 46 Li Z, Zhou L, Wang Z W, et al. Comparative analysis of intermuscular bones between clone A+ and clone F strains of allogynogenetic gibel carp (in Chinese). *Acta Hydrobiol Sin*, 2017, 40: 860–869 [李志, 周莉, 王忠卫, 等. 异育银鲫A+系和F系肌肉间骨的比较分析. 水生生物学报, 2017, 40: 860–869]

- 2017, 40: 860–869]
- 47 Yang H, Wu T T, Xia D Q. Breeding effect comparison of three kinds of Xia'ao hybrid tilapia (in Chinese). *Sci Fish Farm*, 2005, 3: 18 [杨弘, 吴婷婷, 夏德全. 三种奥尼杂交罗非鱼养殖效果比较. *科学养鱼*, 2005, 3: 18]
 - 48 Liu H, Guan B, Xu J, et al. Genetic manipulation of sex ratio for the large-scale breeding of YY super-male and XY all-male yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco* (Richardson)). *Mar Biotechnol*, 2013, 15: 321–328
 - 49 Wang D, Mao H L, Chen H X, et al. Isolation of Y- and X-linked SCAR markers in yellow catfish and application in the production of all-male populations. *Anim Genet*, 2009, 40: 978–981
 - 50 Mei J, Gui J F. Genetic basis and biotechnological manipulation of sexual dimorphism and sex determination in fish (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2014, 44: 1198–1212 [梅洁, 桂建芳. 鱼类性别异形和性别决定的遗传基础及其生物技术操控. *中国科学: 生命科学*, 2014, 44: 1198–1212]
 - 51 Li X Y, Gui J F. An epigenetic regulatory switch controlling temperature-dependent sex determination in vertebrates. *Sci China Life Sci*, 2018, 61: 996–998
 - 52 Zhang F S. Aquaculture development of the bay scallop in China (in Chinese). *Mar Sci*, 1992, 4: 1–4 [张福绥. 中国海湾扇贝养殖业的发展. *海洋科学*, 1992, 4: 1–4]
 - 53 Lei J L, Liu X F, Guan C T. Turbot culture in China for two decades: Achievement and prospect (in Chinese). *Prog Fish Sci*, 2012, 33: 123–130 [雷霖霖, 刘新富, 关长涛. 中国大菱鲆养殖20年成就和展望——庆祝大菱鲆引进中国20周年. *渔业科学进展*, 2012, 33: 123–130]
 - 54 Xiang J H. Retrospect, status and prospect of seed industry development of aquaculture in China (in Chinese). *J Agric Sci Tech China*, 2013, 15: 1–7 [相建海. 中国水产种业发展过程回顾、现状与展望. *中国农业科技导报*, 2013, 15: 1–7]
 - 55 Xu Y B. *Molecular Plant Breeding*. London: CABI, 2010
 - 56 Loeb J. The fertilization of the egg of thesea-urchin by the sperm of the starfish. *Univ Cal Pub Physiol*, 1903, 1: 39–54
 - 57 Liu S J. *Fish Distant Hybridizations* (in Chinese). Beijing: Science Press, 2015 [刘少军. 鱼类远缘杂交. 北京: 科学出版社, 2015]
 - 58 Liu S J. Distant hybridization leads to different ploidy fishes. *Sci China Life Sci*, 2010, 53: 416–425
 - 59 Wang S, Tang C, Tao M, et al. Establishment and application of distant hybridization technology in fish. *Sci China Life Sci*, 2019, 62: 22–45
 - 60 Tung T C, Wu S Q, Ye Y F, et al. Nuclear transplantation in fish (in Chinese). *Sci Bull*, 1963, 7: 60–61 [童第周, 吴尚勤, 叶毓芬, 等. 鱼类细胞核的移植. *科学通报*, 1963, 7: 60–61]
 - 61 Chen H X, Yi Y L, Chen M R, et al. Studies on the developmental potentiality of cultures cell nuclei of fish (in Chinese). *Acta Hydrobiol Sin*, 1986, 1: 1–7 [陈宏溪, 易詠兰, 陈敏容, 等. 鱼类培养细胞核发育潜能的研究. *水生生物学报*, 1986, 1: 1–7]
 - 62 Turner L. A sheep named dolly. *Can Med Assoc J*, 1997, 156: 1149–1150
 - 63 Lee K Y, Huang H, Ju B, et al. Cloned zebrafish by nuclear transfer from long-term-cultured cells. *Nat Biotechnol*, 2002, 20: 795–799
 - 64 Yi M, Hong N, Hong Y. Generation of medaka fish haploid embryonic stem cells. *Science*, 2009, 326: 430–433
 - 65 Ye D, Zhu Z Y, Sun Y H. Fish genome manipulation and directional breeding (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2014, 44: 1253–1261 [叶鼎, 朱作言, 孙永华. 鱼类基因组操作与定向育种. *中国科学: 生命科学*, 2014, 44: 1253–1261]
 - 66 Jiang Y G, Liang S C, Chen B D, et al. Biological effect of heterologous sperm on gynogenetic offspring in *Carassius auratus gibelio* (in Chinese). *Acta Hydrobiol Sin*, 1983, 8: 1–13 [蒋一珪, 梁绍昌, 陈本德, 等. 异源精子在银鲫雌核发育子代中的生物学效应. *水生生物学学报*, 1983, 8: 1–13]
 - 67 Zhu L F, Jiang Y G. Intraspecific genetic markers of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) and their application to selective breeding (in Chinese). *Acta Hydrobiol Sin*, 1987, 12: 105–111 [朱蓝菲, 蒋一珪. 银鲫种内的遗传标记及其在选种中的应用. *水生生物学报*, 1987, 12: 105–111]
 - 68 Shen J B, Liu M H, Fan Z T. *Silver crucian carp in Heilongjiang* (in Chinese). Harbin: Heilongjiang Science and Technology Press, 1997 [沈俊宝, 刘明华, 范兆廷. 黑龙江银鲫. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1997]
 - 69 Gui J F, Zhou L. Genetic basis and breeding application of clonal diversity and dual reproduction modes in polyploid *Carassius auratus gibelio* (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2010, 42: 97–103 [桂建芳, 周莉. 多倍体银鲫克隆多样性和双重生殖方式的遗传基础和育种应用. *中国科学: 生命科学*, 2010, 42: 97–103]
 - 70 Zhou L, Gui J. Natural and artificial polyploids in aquaculture. *Aquacult Fish*, 2017, 2: 103–111
 - 71 Yi M S, Li Y Q, Liu J D, et al. Molecular cytogenetic detection of paternal chromosome fragments in allogynogenetic gibel carp, *Carassius auratus gibelio* Bloch. *Chromosome Res*, 2003, 11: 665–671
 - 72 Li Z, Liang H W, Wang Z W, et al. A novel allotetraploid gibel carp strain with maternal body type and growth superiority. *Aquaculture*, 2016,

- 458: 55–63
- 73 Shao G M, Li X Y, Wang Y, et al. Whole genome incorporation and epigenetic stability in a newly synthetic allopolyploid of gynogenetic gibel carp. *Genome Biol Evol*, 2018, 10: 2394–2407
- 74 Wu Q J, Ye Y Z, Chen R D. Karyotype evidences of genome manipulation in the carp (*Cyprinus Carpio* L.) (in Chinese). *Acta Hydrobiol Sin*, 1986, 10: 265–270 [吴清江, 叶玉珍, 陈荣德. 鲤鱼染色体组人工调控的核型证明. *水生生物学报*, 1986, 10: 265–270]
- 75 Song C, Liu S J, Xiao J, et al. Polyploidy organisms (in Chinese). *Sci Sin-Vitae*, 2012, 42: 173–184 [宋灿, 刘少军, 肖军, 等. *中国科学: 生命科学*, 2012, 42: 173–184]
- 76 Yu X J, Zhou T, Li Y C, et al. Chromosome of Chinese Freshwater Fish (in Chinese). Beijing: Science Press, 1989 [余先觉, 周瞰, 李渝成, 等. *中国淡水鱼类染色体*. 北京: 科学出版社, 1989]
- 77 Yu X, Zhou T, Li K, et al. On the karyosystematics of cyprinid fishes and a summary of fish chromosome studies in China. *Genetica*, 1987, 72: 225–235
- 78 Berthelot C, Brunet F, Chalopin D, et al. The rainbow trout genome provides novel insights into evolution after whole-genome duplication in vertebrates. *Nat Commun*, 2014, 5: 3657
- 79 Lien S, Koop B F, Sandve S R, et al. The Atlantic salmon genome provides insights into rediploidization. *Nature*, 2016, 533: 200–205
- 80 Chen Z, Omori Y, Koren S, et al. *De novo* assembly of the goldfish (*Carassius auratus*) genome and the evolution of genes after whole-genome duplication. *Sci Adv*, 2019, 5: eaav0547
- 81 Swarup H. Production of triploidy in *Gasterosteus aculeatus* (L). *J Genet*, 1959, 56: 129–142
- 82 Guo X, DeBrosse G A, Allen S K Jr. All-triploid Pacific oysters (*Crassostrea gigas* thunberg) produced by mating tetraploids and diploids. *Aquaculture*, 1996, 142: 149–161
- 83 Arai K. Genetic improvement of aquaculture finfish species by chromosome manipulation techniques in Japan. *Aquaculture*, 2001, 197: 205–228
- 84 Piferrer F, Beaumont A, Falguière J C, et al. Polyploid fish and shellfish: Production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment. *Aquaculture*, 2009, 293: 125–156
- 85 Takeuchi Y, Yoshizaki G, Takeuchi T. Surrogate broodstock produces salmonids. *Nature*, 2004, 430: 629–630
- 86 Okutsu T, Suzuki K, Takeuchi Y, et al. Testicular germ cells can colonize sexually undifferentiated embryonic gonad and produce functional eggs in fish. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 2725–2729
- 87 Saito T, Goto-Kazeto R, Arai K, et al. Xenogenesis in teleost fish through generation of germ-line chimeras by single primordial germ cell transplantation. *Biol Reprod*, 2007, 78: 159–166
- 88 Okutsu T, Shikina S, Kanno M, et al. Production of trout offspring from triploid salmon parents. *Science*, 2007, 317: 1517
- 89 Ye H, Li C J, Yue H M, et al. Establishment of intraperitoneal germ cell transplantation for critically endangered Chinese sturgeon *Acipenser sinensis*. *Theriogenology*, 2017, 94: 37–47
- 90 Yazawa R, Takeuchi Y, Higuchi K, et al. Chub mackerel gonads support colonization, survival, and proliferation of intraperitoneally transplanted xenogenic germ cells. *Biol Reprod*, 2010, 82: 896–904
- 91 Yoshizaki G, Ichikawa M, Hayashi M, et al. Sexual plasticity of ovarian germ cells in rainbow trout. *Development*, 2010, 137: 1227–1230
- 92 Okutsu T, Shikina S, Sakamoto T, et al. Successful production of functional Y eggs derived from spermatogonia transplanted into female recipients and subsequent production of YY supermales in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 2015, 446: 298–302
- 93 Liu C K. Rudimentary hermaphroditism in the symbranchoid eel, *Monopterus javanensis*. *Sinensia*, 1944, 15: 1–8
- 94 Bullough W S. Hermaphroditism in the lower vertebrates. *Nature*, 1947, 160: 9–11
- 95 Li X Y, Liu X L, Zhu Y J, et al. Origin and transition of sex determination mechanisms in a gynogenetic hexaploid fish. *Heredity*, 2018, 121: 64–74
- 96 Hickling C F. The malacca tilapia hybrids. *J Genet*, 1960, 57: 1–10
- 97 Yang Y Q, Zhang Z Y, Lin K H, et al. Use of three line combination for production of genetic all-male *Tilapia mossambica* (in Chinese). *Acta Genet Sin*, 1980, 7: 241–246 [杨永铨, 张中英, 林克宏, 等. 应用三系配套途径产生遗传上全雄莫桑比克罗非鱼. *遗传学报*, 1980, 7: 241–246]
- 98 Zhu Z, He L, Chen S. Novel gene transfer into the fertilized eggs of gold fish (*Carassius auratus* L. 1758). *J Appl Ichthyol*, 1985, 1: 31–34
- 99 Zhu Z Y, Xu K S, Xie Y F, et al. A model of transgenic fish (in Chinese). *Sci China Ser B*, 1989, 2: 147–155 [朱作言, 许克圣, 谢岳峰, 等. 转基因

因鱼模型的建立. 中国科学B辑: 化学 生命科学 地学, 1989, 2: 147–155]

- 100 Hu W, Zhu Z Y. Integration mechanisms of transgenes and population fitness of gh transgenic fish. *Sci China Life Sci*, 2010, 53: 401–408
- 101 Wang Y P, He L B. Retrospect and prospect of transgenic fish breeding in China (in Chinese). *Chin J Biotech*, 2016, 32: 851–860 [汪亚平, 何利波. 我国转基因鱼研制的历史回顾与展望. 生物工程学报, 2016, 32: 851–860]
- 102 Sun Y, Zhu Z. Designing future farmed fishes using genome editing. *Sci China Life Sci*, 2019, 62: 420–422
- 103 Wang Y, Hu W, Wu G, et al. Genetic analysis of “all-fish” growth hormone gene transferred carp (*Cyprinus carpio* L.) and its F1 generation. *Chin Sci Bull*, 2001, 46: 1174–1178
- 104 Hu W, Wang Y P, Zhu Z Y. Progress in the evaluation of transgenic fish for possible ecological risk and its containment strategies (in Chinese). *Sci China Ser C*, 2007, 37: 377–381 [胡炜, 汪亚平, 朱作言. 转基因鱼生态风险评价及其对策研究进展. 中国科学C辑: 生命科学, 2007, 37: 377–381]
- 105 Yu F, Xiao J, Liang X Y, et al. The fast growth and sterility of the growth hormone gene transgenic triploid carps (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2010, 55: 1987–1992 [于凡, 肖俊, 梁向阳, 等. 转生长激素基因三倍体鲤鱼的快速生长与不育特性. 科学通报, 2010, 55: 1987–1992]
- 106 Ledford H. Salmon approval heralds rethink of transgenic animals. *Nature*, 2015, 527: 417–418
- 107 Hu W, Zhu Z Y. Enlighenments for China from the industrialization of the transgenic Atlantic salmon in the US (in Chinese). *Eng Sci*, 2016, 18: 105–109 [胡炜, 朱作言. 美国转基因大西洋鲑产业化对我国的启示. 中国工程科学, 2016, 18: 105–109]
- 108 Zhu Z Y, Hu W. Transgenic fish and its biosafety (in Chinese). *Science*, 2017, 69: 25–27 [朱作言, 胡炜. 转基因鱼及其安全性. 科学, 2017, 69: 25–27]
- 109 Venkatesh B, Gilligan P, Brenner S. Fugu: A compact vertebrate reference genome. *FEBS Lett*, 2000, 476: 3–7
- 110 Zhang G, Fang X, Guo X, et al. The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation. *Nature*, 2012, 490: 49–54
- 111 Chen S, Zhang G, Shao C, et al. Whole-genome sequence of a flatfish provides insights into ZW sex chromosome evolution and adaptation to a benthic lifestyle. *Nat Genet*, 2014, 46: 253–260
- 112 Xu P, Zhang X, Wang X, et al. Genome sequence and genetic diversity of the common carp, *Cyprinus carpio*. *Nat Genet*, 2014, 46: 1212–1219
- 113 You X, Bian C, Zan Q, et al. Mudskipper genomes provide insights into the terrestrial adaptation of amphibious fishes. *Nat Commun*, 2014, 5: 5594–5605
- 114 Wang Y, Lu Y, Zhang Y, et al. The draft genome of the grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) provides insights into its evolution and vegetarian adaptation. *Nat Genet*, 2015, 47: 962
- 115 Wu C, Zhang D, Kan M, et al. The draft genome of the large yellow croaker reveals well-developed innate immunity. *Nat Commun*, 2014, 5: 5227–5234
- 116 Ao J, Mu Y, Xiang L X, et al. Genome sequencing of the perciform fish *Larimichthys crocea* provides insights into molecular and genetic mechanisms of stress adaptation. *PLoS Genet*, 2015, 11: e1005118
- 117 Liu S, Luo J, Chai J, et al. Genomic incompatibilities in the diploid and tetraploid offspring of the goldfish × common carp cross. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 1327–1332
- 118 Lin Q, Fan S, Zhang Y, et al. The seahorse genome and the evolution of its specialized morphology. *Nature*, 2016, 540: 395–399
- 119 Liu H, Chen C, Gao Z, et al. The draft genome of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) reveals the development of intermuscular bone and adaptation to herbivorous diet. *GigaScience*, 2017, 6: gix039
- 120 Shao C, Bao B, Xie Z, et al. The genome and transcriptome of japanese flounder provide insights into flatfish asymmetry. *Nat Genet*, 2017, 49: 119–124
- 121 Xu J, Li J T, Jiang Y, et al. Genomic basis of adaptive evolution: The survival of Amur ide (*Leuciscus waleckii*) in an extremely alkaline environment. *Mol Biol Evol*, 2017, 34: 145–159
- 122 Wang S, Zhang J, Jiao W, et al. Scallop genome provides insights into evolution of bilaterian karyotype and development. *Nat Ecol Evol*, 2017, 1: 120–131
- 123 Li Y, Sun X, Hu X, et al. Scallop genome reveals molecular adaptations to semi-sessile life and neurotoxins. *Nat Commun*, 2017, 8: 1721
- 124 Gong G, Dan C, Xiao S, et al. Chromosomal-level assembly of yellow catfish genome using third-generation DNA sequencing and Hi-C analysis. *GigaScience*, 2018, 7: giy120
- 125 Zhang X, Yuan J, Sun Y, et al. Penaeid shrimp genome provides insights into benthic adaptation and frequent molting. *Nat Commun*, 2019, 10: 356–369

- 126 Bai C M, Xin L S, Rosani U, et al. Chromosomal-level assembly of the blood clam, *Scapharca (Anadara) broughtonii*, using long sequence reads and Hi-C. [GigaScience](#), 2019, 8: giz067
- 127 Chen S L, Xu W T, Liu Y. Fish genomic research: Decade review and prospect (in Chinese). *J Fish Chin*, 2019, 43: 3–16 [陈松林, 徐文腾, 刘洋. 鱼类基因组研究十年回顾与展望. *水产学报*, 2019, 43: 3–16]
- 128 Meuwissen T, Hayes B J, Goddard M E. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 2001, 157: 1819–1829
- 129 Meuwissen T. Genomic selection: Marker assisted selection on a genome wide scale. *J Anim Breed Genets*, 2007, 124: 321–322
- 130 Ødegård J, Moen T, Santi N, et al. Genomic prediction in an admixed population of Atlantic salmon (*Salmo salar*). [Front Genet](#), 2014, 5: 402
- 131 Tsai H Y, Hamilton A, Tinch A E, et al. Genome wide association and genomic prediction for growth traits in juvenile farmed Atlantic salmon using a high density SNP array. [BMC Genom](#), 2015, 16: 969
- 132 Tsai H Y, Robledo D, Lowe N R, et al. Construction and annotation of a high density SNP linkage map of the Atlantic salmon (*Salmo salar*) genome. [Genes Genom Genet](#), 2016, 6: 2173–2179
- 133 Dou J, Li X, Fu Q, et al. Evaluation of the 2b-RAD method for genomic selection in scallop breeding. [Sci Rep](#), 2016, 6: 19244
- 134 Vallejo R L, Leeds T D, Fragomeni B O, et al. Evaluation of genome-enabled selection for bacterial cold water disease resistance using progeny performance data in rainbow trout: Insights on genotyping methods and genomic prediction models. [Front Genet](#), 2016, 7: 96
- 135 Robledo D, Palaiokostas C, Bargelloni L, et al. Applications of genotyping by sequencing in aquaculture breeding and genetics. [Rev Aquacult](#), 2018, 10: 670–682
- 136 Jiao W, Fu X, Dou J, et al. High-resolution linkage and quantitative trait locus mapping aided by genome survey sequencing: Building up an integrative genomic framework for a bivalve mollusc. [DNA Res](#), 2014, 21: 85–101
- 137 Li H, Wang J, Bao Z. A novel genomic selection method combining GBLUP and LASSO. [Genetica](#), 2015, 143: 299–304
- 138 Dong L, Xiao S, Chen J, et al. Genomic selection using extreme phenotypes and pre-selection of SNPs in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). [Mar Biotechnol](#), 2016, 18: 575–583
- 139 Dong L, Fang M, Wang Z. Prediction of genomic breeding values using new computing strategies for the implementation of MixP. [Sci Rep](#), 2017, 7: 17200
- 140 Urnov F D, Rebar E J, Holmes M C, et al. Genome editing with engineered zinc finger nucleases. [Nat Rev Genet](#), 2010, 11: 636–646
- 141 Joung J K, Sander J D. TALENs: A widely applicable technology for targeted genome editing. [Nat Rev Mol Cell Biol](#), 2013, 14: 49–55
- 142 Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, et al. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. [Science](#), 2012, 337: 816–821
- 143 Wang H, Yang H, Shivalila C S, et al. One-step generation of mice carrying mutations in multiple genes by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. [Cell](#), 2013, 153: 910–918
- 144 Doudna J A, Charpentier E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. [Science](#), 2014, 346: 1258096
- 145 Sun Y H. Genome editing opens a new era for physiological study and directional breeding of fishes. [Sci Bull](#), 2017, 62: 157–158
- 146 Gao C. The future of CRISPR technologies in agriculture. [Nat Rev Mol Cell Biol](#), 2018, 19: 275–276
- 147 Barman H K, Rasal K D, Chakrapani V, et al. Gene editing tools: State-of-the-art and the road ahead for the model and non-model fishes. [Transgenic Res](#), 2017, 26: 577–589
- 148 Zhu B, Ge W. Genome editing in fishes and their applications. [General Comp Endocrinol](#), 2018, 257: 3–12
- 149 Ma D, Liu F. Genome editing and its applications in model organisms. [Genom Proteom Bioinf](#), 2015, 13: 336–344
- 150 Dong Z, Ge J, Li K, et al. Heritable targeted inactivation of myostatin gene in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) using engineered zinc finger nucleases. [PLoS ONE](#), 2011, 6: e28897
- 151 Yano A, Guyomard R, Nicol B, et al. An immune-related gene evolved into the master sex-determining gene in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. [Curr Biol](#), 2012, 22: 1423–1428
- 152 Li M, Yang H, Zhao J, et al. Efficient and heritable gene targeting in tilapia by CRISPR/Cas9. [Genetics](#), 2014, 197: 591–599
- 153 Zhong Z, Niu P, Wang M, et al. Targeted disruption of *sp7* and myostatin with CRISPR-Cas9 results in severe bone defects and more muscular cells in common carp. [Sci Rep](#), 2016, 6: 22953
- 154 Edvardsen R B, Leininger S, Kleppe L, et al. Targeted mutagenesis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) using the CRISPR/Cas9 system induces complete knockout individuals in the F0 generation. [PLoS ONE](#), 2014, 9: e108622

- 155 Qin Z, Li Y, Su B, et al. Editing of the luteinizing hormone gene to sterilize channel catfish, *Ictalurus punctatus*, using a modified zinc finger nuclease technology with electroporation. *Mar Biotechnol*, 2016, 18: 255–263
- 156 Feng K, Luo H, Li Y, et al. High efficient gene targeting in rice field eel *Monopterus albus* by transcription activator-like effector nucleases. *Sci Bull*, 2017, 62: 162–164
- 157 Cui Z, Liu Y, Wang W, et al. Genome editing reveals *dmrt1* as an essential male sex-determining gene in Chinese tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). *Sci Rep*, 2017, 7: 42213
- 158 Chen J, Wang W, Tian Z, et al. Efficient gene transfer and gene editing in sterlet (*Acipenser ruthenus*). *Front Genet*, 2018, 9: 117
- 159 Peleman J D, van der Voort J R. Breeding by design. *Trends Plant Sci*, 2003, 8: 330–334
- 160 Wang Y, Xue Y, Li J. Towards molecular breeding and improvement of rice in China. *Trends Plant Sci*, 2005, 10: 610–614
- 161 Qian Q, Guo L, Smith S M, et al. Breeding high-yield superior quality hybrid super rice by rational design. *Nat Sci Rev*, 2016, 3: 283–294
- 162 Zeng D, Tian Z, Rao Y, et al. Rational design of high-yield and superior-quality rice. *Nat Plants*, 2017, 3: 17031
- 163 Yu H, Wang B, Chen M J, et al. Research advance and perspective of rice breeding by molecular design (in Chinese). *Chin Bull Life Sci*, 2018, 30: 1032–1037 [余泓, 王冰, 陈明江, 等. 水稻分子设计育种发展与展望. 生命科学, 2018, 30:1032–1037]
- 164 Sun X W. Fish Molecular Breeding (in Chinese). Beijing: China Ocean Press, 2010 [孙效文. 鱼类分子育种学. 北京: 海洋出版社, 2010]
- 165 Xue Y B, Chong K, Han B, et al. New chapter of designer breeding in China: Update on strategic program of molecular module-based designer breeding systems (in Chinese). *Bull Chin Acad Sci*, 2015, 30: 393–402 [薛勇彪, 种康, 韩斌, 等. 开启中国设计育种新篇章——“分子模块设计育种创新体系”战略性先导科技专项进展. 中国科学院院刊, 2015, 30: 393–402]
- 166 Xue Y B, Chong K, Han B, et al. Innovation and achievements of designer breeding by molecular modules in China (in Chinese). *Bull Chin Acad Sci*, 2018, 33: 893–899 [薛勇彪, 种康, 韩斌, 等. 创新分子育种科技, 支撑我国种业发展. 中国科学院院刊, 2018, 33: 893–899]
- 167 Yang H S. Several strategies for the modernization of the construction of the aquaculture seed industry silicon valley (in Chinese). *Mar Sci*, 2018, 10: 1–7 [杨红生. 现代水产种业硅谷建设的几点思考. 海洋科学, 2018, 10: 1–7]
- 168 Gjerdem T. Genetic improvement for the development of efficient global aquaculture: A personal opinion review. *Aquaculture*, 2012, 344–349: 12–22
- 169 Gjerdem T. Disease resistant fish and shellfish are within reach: A review. *J Mar Sci Eng*, 2015, 3: 146–153
- 170 Deng W, Li W, Zhang Z D, et al. Consideration on development of modern aquatic seed industry (in Chinese). *Chin Fish Econ*, 2013, 2: 5–12 [邓伟, 李巍, 张振东, 等. 中国现代水产种业建设的思考. 中国渔业经济, 2013, 2: 5–12]
- 171 Zhou L, Wang Z W, Wang Y, et al. Crucian carp and gibel carp culture. In: Gui J F, Tang Q S, Li Z J, et al., eds. *Aquaculture in China: Success Stories and Modern Trends*. Oxford: John Wiley Sons Ltd, 2018, 149–157
- 172 Liu Y X, Li W, Fang H, et al. Advances and prospects on aquaculture seed industry in China (in Chinese). *Chin J Fish*, 2018, 2: 50–56 [刘永新, 李巍, 方辉, 等. 我国水产种业的发展现状与展望. 水产学杂志, 2018, 2: 50–56]
- 173 You W, Hedgecock D. Boom-and-bust production cycles in animal seafood aquaculture. *Rev Aquacult*, 2018, 21
- 174 Abdelrahman H, ElHady M, Alcivar-Warren A, et al. Aquaculture genomics, genetics and breeding in the united states: Current status, challenges, and priorities for future research. *BMC Genom*, 2017, 18: 191
- 175 Liu X L, Li X Y, Jiang F F, et al. Numerous mitochondrial DNA haplotypes reveal multiple independent polyploidy origins of hexaploids in *Carassius* species complex. *Ecol Evol*, 2017, 7: 10604–10615
- 176 Liu X L, Jiang F F, Wang Z W, et al. Wider geographic distribution and higher diversity of hexaploids than tetraploids in *Carassius* species complex reveal recurrent polyploidy effects on adaptive evolution. *Sci Rep*, 2017, 7: 5395
- 177 Geng X, Sha J, Liu S, et al. A genome-wide association study in catfish reveals the presence of functional hubs of related genes within QTLs for columnaris disease resistance. *BMC Genom*, 2015, 16: 196
- 178 Dong L, Xiao S, Wang Q, et al. Comparative analysis of the GBLUP, emBayesB, and GWAS algorithms to predict genetic values in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *BMC Genom*, 2016, 17: 460
- 179 Zheng X, Kuang Y, Lv W, et al. Genome-wide association study for muscle fat content and abdominal fat traits in common carp (*Cyprinus carpio*). *PLoS ONE*, 2016, 11: e0169127
- 180 Dai X Y, Zhang W, Zhuo Z J, et al. Neuroendocrine regulation of somatic growth in fishes (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2014, 44: 1213–1226 [代向燕, 张玮, 卓子见, 等. 鱼类生长的神经内分泌调控. 中国科学: 生命科学, 2014, 44: 1213–1226]
- 181 Xiao W. The hypoxia signaling pathway and hypoxic adaptation in fishes (in Chinese). *Sci Sin-Vitae*, 2014, 44: 1227–1235 [肖武汉. 低氧信号

- 传导途径与鱼类低氧适应. 中国科学: 生命科学, 2014, 44: 1227–1235]
- 182 Zhang Q Y, Gui J F. Virus genomes and virus-host interactions in aquaculture animals (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2014, 44: 1236–1252 [张奇亚, 桂建芳. 水产动物的病毒基因组及其病毒与宿主的相互作用. 中国科学: 生命科学, 2014, 44: 1236–1252]
- 183 Ge C, Ye J, Weber C, et al. The histone demethylase KDM6B regulates temperature-dependent sex determination in a turtle species. *Science*, 2018, 360: 645–648
- 184 Zhang Q Y, Gui J F. Diversity, evolutionary contribution and ecological roles of aquatic viruses. *Sci China Life Sci*, 2018, 61: 1486–1502
- 185 Naylor R L, Goldburg R J, Primavera J H, et al. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 2000, 405: 1017–1024
- 186 James H T, Geoff L A. Fishes as food: aquaculture's contribution. *EMBO Rep*, 2001, 2: 958–963
- 187 Pauly D, Christensen V, Guénette S, et al. Towards sustainability in world fisheries. *Nature*, 2002, 418: 689–695
- 188 Cressey D. Aquaculture: Future fish. *Nature*, 2009, 458: 398–400
- 189 Walsh B. The future of fish: Can farming save the last wild food? *Time Mag*, 2011, 178: 28–36
- 190 Hickey L T, N. Hafeez A, Robinson H, et al. Breeding crops to feed 10 billion. *Nat Biotechnol*, 2019, 37: 744–754
- 191 Gui J F, Zhang X J. The transformation of aquaculture models in new era (in Chinese). *Technol Econ Changjiang*, 2018, 1: 25–29 [桂建芳, 张晓娟. 新时代水产养殖模式的变革. 长江技术经济, 2018, 1: 25–29]
- 192 Vance E. China's fish farms could save the oceans. *Sci Am*, 2015, 312: 52–59
- 193 Ishwaran N, Hong T H, Yi Z J. Building an ecological civilization in China: Towards a practice based learning approach. *J Earth Sci Eng*, 2015, 5: 349–362
- 194 Gui J F, Tang Q S, Li Z J, et al. *Aquaculture in China: Success Stories and Modern Trends*. Oxford: John Wiley Sons Ltd, 2018
- 195 Hargreaves. Book review: *Aquaculture in China*. *World Aquaculture*, 2018
- 196 Wang W, Mauleon R, Hu Z, et al. Genomic variation in 3,010 diverse accessions of Asian cultivated rice. *Nature*, 2018, 557: 43–49
- 197 Wing R A, Purugganan M D, Zhang Q. The rice genome revolution: From an ancient grain to green super rice. *Nat Rev Genet*, 2018, 19: 505–517
- 198 Li J, Meng X, Zong Y, et al. Gene replacements and insertions in rice by intron targeting using CRISPR-Cas9. *Nat Plants*, 2016, 2: 16139
- 199 Meng X, Yu H, Zhang Y, et al. Construction of a genome-wide mutant library in rice using CRISPR/Cas9. *Mol Plant*, 2017, 10: 1238–1241
- 200 Zong Y, Song Q, Li C, et al. Efficient C-to-T base editing in plants using a fusion of nCas9 and human APOBEC3A. *Nat Biotechnol*, 2018, 36: 950–953
- 201 Zong Y, Wang Y, Li C, et al. Precise base editing in rice, wheat and maize with a Cas9-cytidine deaminase fusion. *Nat Biotechnol*, 2017, 35: 438–440
- 202 Wang Y, Cheng X, Shan Q, et al. Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. *Nat Biotechnol*, 2014, 32: 947–951
- 203 Li T, Yang X, Yu Y, et al. Domestication of wild tomato is accelerated by genome editing. *Nat Biotechnol*, 2018, 36: 1160–1163
- 204 Ghosh S, Watson A, Gonzalez-Navarro O E, et al. Speed breeding in growth chambers and glasshouses for crop breeding and model plant research. *Nat Protoc*, 2018, 13: 2944–2963
- 205 Watson A, Ghosh S, Williams M J, et al. Speed breeding is a powerful tool to accelerate crop research and breeding. *Nat Plants*, 2018, 4: 23–29
- 206 Huang S, Weigel D, Beachy R N, et al. A proposed regulatory framework for genome-edited crops. *Nat Genet*, 2016, 48: 109–111

Biotechnological innovation in genetic breeding and sustainable green development in Chinese aquaculture

ZHANG XiaoJuan^{1,2}, ZHOU Li^{1,2} & GUI JianFang^{1,2}

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

2 Innovative Academy of Seed Design, Chinese Academy of Sciences, College of Modern Agriculture Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Since the People's Republic of China was founded in 1949, Chinese aquaculture production has been increasing during the past 70 years, thanks to policy guidance, market opening, and scientific and technological advances. Along with rapid development of biotechnologies, aquaculture genetic breeding has transformed from traditional selection breeding and hybrid breeding to cell engineering breeding, sex control breeding, marker-assisted selection breeding, genome-wide genotyping-based selective breeding, molecular design breeding and genome editing breeding. Advances in basic research and biotechnology of aquaculture genetic breeding have promoted the formation of aquaculture seed industry in China. Till 2018, 215 new aquaculture varieties were bred and approved by the National Certification Committee for Aquatic Varieties and announced by Ministry of Agriculture and Rural Affairs of China. Through detailed analysis of the main progress, this review summarizes the major events and time nodes in the development of genetic breeding biotechnologies in aquaculture and the current status of new variety breeding and aquaculture seed industry, and thereby prospects for the national requirements in the new era, as well as the roles and significances for promoting sustainable green development in Chinese aquaculture.

aquaculture, genetic breeding, biotechnology, aquaculture seed industry, green development

doi: [10.1360/SSV-2019-0142](https://doi.org/10.1360/SSV-2019-0142)