

· 科学论坛 ·

动物优良种质创制的关键理论和技术^{*}

任红艳¹ 陈从英² 孟庆峰³ 杜生明¹ 胡景杰^{1* *}

(1. 国家自然科学基金委员会生命科学部, 北京 100085;

2. 江西农业大学动物科技学院, 330045; 3. 国家自然科学基金委员会政策局 北京 100085)

[摘要] 第190期“双清论坛”2017年10月19—20日在南昌召开。基于本次论坛, 本文回顾了我国动物遗传育种领域近年来在农业动物优良种质创制关键理论和技术研究方面取得的主要进展和成就, 总结了我国农业动物优良种质创制科学研究及产业发展所面临的重大机遇与挑战, 凝练了该领域未来5—10年的重大关键前沿科学问题, 探讨了科学基金资助战略。

[关键词] 动物遗传育种; 优良种质创制; 基础研究; 良种选育理论

我国是世界养殖大国, 肉蛋和水产品总产量居世界第一, 2015年畜牧业总产值达2.9万亿元; 水产养殖产量达4937.9万吨(养殖产值8274.78亿元), 占世界水产养殖总产量的70%以上。改革开放以来, 我国养殖业发展迅猛, 养殖业的产值已接近并在快速超过种植业, 标志着我国农业产业结构的历史巨变, 也预示着我国人民饮食结构正在从温饱型向健康型转变, 养殖业已成为农民脱贫致富的重要抓手。农以种为先, 在我国养殖业取得的重大成绩中, 畜禽水产的育种工作做出了重大贡献, 如培育出中国黑白花奶牛、美利奴细毛羊、节粮小型蛋鸡、新型黄羽肉鸡、黄海1号对虾、蓬莱红栉孔扇贝、中科3号鲫鱼等一批具有很大影响力的品种, 推动了产业的健康发展。然而, 我们也应清晰地认识到, 相对于国际先进国家, 我国在养殖动物的育种理论、技术研发和种业体系建设方面还存在许多不足, 差距较大。至今我国许多良种的核心种源仍主要依赖进口, 面临被跨国集团垄断控制和重大动物疫病传入的风险。突破性良种少、种质衰退现象突出、高端动物品种主要依赖进口的局面没有得到根本改观。当前, 世界动物种业科技保持快速发展态势, 学科交叉和技术整合加快, 动物育种理论与技术正孕育着新的突破; 另一方面, 国内新常态下对养殖业健康和可持续发展提出了新要求。因此, 我国动物种业科技

发展的机遇与挑战并存, 更加需要相关基础理论及高效育种技术的不断创新来引领种业的不断提升。为此, 2017年10月19—20日, 国家自然科学基金委员会生命科学部与政策局、信息学部联合召开了主题为“动物优良种质创制的关键理论和技术”的第190期双清论坛。与会专家就重要经济性状遗传参数评价和遗传调控网络解析; 重要功能基因准确定位与鉴定的新方法; 生物信息学与分子育种的理论与技术等进行了研讨, 明确了畜禽和水产动物遗传育种学研究方向, 凝练了急需关注和解决的重要基础科学问题, 并为未来5—10年国家自然科学基金资助领域提出了建议。

1 农业动物优良种质创制关键理论和技术研究主要进展和成就

1.1 我国农业动物种业发展现状

近年来, 动物种业发达国家已经形成完备的种业科技创新技术体系, 重要经济性状形成的遗传机制不断被解析, 推动了前沿育种技术不断升级换代和动物种质水平的快速提升。受国际动物种业科技创新大环境的影响, 我国农业动物种业在技术、人才和科技成果数量方面也取得可喜成绩, 国产品种的市场占有率逐步提升, 培育了一批具有自主知识产权的新品种或品系, 科技论文数量和质量逐步上升。

收稿日期: 2018-02-27; 修回日期: 2018-04-20

* 本文根据第190期“双清论文”的研讨内容整理。

* * 通信作者, Email: hujj@nsfc.gov.cn

一是具备了全世界最丰富的农业动物遗传资源。猪、鸡、肉牛、羊、肉鸭的地方品种分别多达 76、107、54、100 和 32 个,资源评价平台不断完善,组织全国建立了中国动物遗传资源信息和实物共享体系,初步实现了动物遗传资源的社会化共享,为我国农业动物种业发展提供了强有力的资源基础。二是获得了一批具有影响力的动物种业科技成果。近 20 年来,先后审定畜禽新品种和配套系 75 个,其中,京红、京粉系列和农大 3 号等蛋鸡品种使国产蛋鸡市场占有率从 2004 年的 25% 提高到 2014 年的 50% 以上;华农温氏 I 号猪配套系肉猪出栏量近 10 年增长 30 倍,达到 1218 万头;新兴黄鸡、岭南黄鸡、新广铁脚麻鸡等黄羽肉鸡占据国内肉鸡市场半壁江山。2000 年以来,我国通过审定的鱼类新品种共 62 个,其中选育新品种 28 个。三是基础研究不断深入,技术成果数量增长迅速。目前我国家畜、家禽遗传育种领域国际期刊发文数位列全球第 3 和第 4 位,发明专利数量位列全球第 2 和第 1,并呈持续增长态势;家猪、绵羊、鸭、牦牛和水产动物基因组研究取得重要突破性进展;25 项成果获国家级科技奖励。

1.2 农业动物优特种质特性精准鉴定及其性状形成的遗传机制解析

1.2.1 农业动物基因组学发展

基因组结构和序列图谱的解析是农业动物重要经济性状遗传解析和育种应用的基础,随着测序技术的发展,我国在家猪、绵羊、鸭、牦牛、鲤鱼、牡蛎、刺参等农业动物基因组研究方面取得重要突破性进展,并为农业动物复杂性状的解析奠定了扎实的基础。2013 年藏猪全基因组重测序完成,并开展了全基因组水平的基因选择性清除分析,鉴定了藏猪高海拔适应性、肌肉生长、脂肪沉积、免疫等受到人工强烈选择的基因^[1]。2015 年,我国科技人员在成功构建了覆盖我国 24 个省市自治区现有 68 个猪种的中国地方猪种基因组 DNA 库的基础上,对来自我国 15 个不同地理居群的、代表广泛血缘的 32 个猪种 69 头无相关血缘中国地方猪,进行了全基因组高覆盖度(25×)的重测序、家猪群体遗传学分析、冷热环境适应机理及家猪适应性进化分析^[2]。

在反刍动物基因组研究方面,2012 年我国研究者完成了已驯化牦牛基因组的测序图谱工作,并从中揭示了高海拔动物高原适应性的相关遗传学基础^[3]。2014 年我国研究人员完成了绵羊的基因组测序,并通过与其他哺乳动物的基因组序列比较,构

建了一个比较绵羊、山羊、牛、牦牛、猪、马及其他物种的系统发育树,从中解析了绵羊特殊消化系统及绵羊独特脂肪代谢过程的相关基因^[4]。

在家禽基因组研究方面,2013 年我国完成了北京鸭的全基因组测序、组装及分析,鉴定了鸭只对禽流感产生免疫反应的相关遗传基因^[5]。2015 年我国完成了家鹅的全基因组测序,测定了高达 107 倍测序深度的全基因组序列,构建了覆盖全基因组 98% 以上、Scaffold 总长度为 1.1 Gb 的高质量序列精细图谱,为从基因组水平揭示有关家鹅起源、驯化及其他重要生物学特性的遗传基础奠定了基础^[6]。

在水产动物基因组研究方面,2010 年,我国科学家利用新一代测序技术和全新的序列组装策略,发现一系列与牡蛎抗逆能力相关的基因发生了明显扩张,揭示了在贝壳逆境适应中发挥重要作用的复杂的基因组学机制^[7];2014 年我国率先完成了半滑舌鳎、鲤鱼和大黄鱼的全基因组序列图谱绘制,其中鲤鱼全基因组序列揭示了其独特的全基因组复制事件^[8]。2015 年,草鱼全基因组序列图谱绘制完成,为鱼类重要经济性状相关基因的发掘和养殖品种的遗传改良提供关键技术支撑^[9];同年我国科研人员在国际上成功完成刺参基因组测序和组装^[10]。

近年来,我国在农业动物转录组学、表观组学等多组学研究方面也取得显著成绩,如我国科学家参与的国际家猪“DNA 元件百科全书”计划(Encyclopedia of DNA Elements, ENCODE)目前取得重要进展,为家猪重要经济性状遗传解析奠定了基础;猪脂肪组织全基因组甲基化分析为了解猪脂肪沉积和人类肥胖形成机理提供了参考。另外,随着染色质构象捕获技术及其衍生技术的发展,染色质空间构象的研究也有了突破性进展,尤其是基于高通量的染色质构象捕获技术(Hi-C)。

1.2.2 农业动物重要经济性状形成的遗传机制解析

农业动物重要经济性状主效基因和因果突变位点的分离和鉴定是基因组技术应用于动物育种的前提,但由于农业动物经济性状形成的遗传机制的复杂性,到目前为止,鉴别和经过功能验证的主效基因及其因果突变位点还屈指可数。近年来,随着全基因组关联分析技术、大规模基因组测序技术等新技术、新方法的发展,为规模化、高通量基因筛选提供了快捷手段,极大地提升了基因资源发掘与利用的效率。同时,蛋白质组学、代谢组学、脂质组学等新兴学科的兴起为农业动物重要性状形成的遗传机制

解析注入了新的推动力。

我国在农业动物复杂性状主效基因和因果突变位点的分离和鉴定方面也取得了重要进展。在家畜方面,由我国科技人员鉴别的影响猪复杂性状的主效基因和因果突变位点占世界上该物种所有鉴别的主效基因和因果突变位点的一半以上,如2011年鉴定了猪7号染色体的PPARD基因的一个错义突变是影响猪耳朵大小的因果突变^[11];2012年在国际上率先鉴别了影响大肠杆菌(ETEC)F4仔猪腹泻抗性的MUC13基因,从科学上揭示了仔猪腹泻遗传抗性的分子机理^[12];2013年发现了VRTN基因的两个突变是影响猪肋骨数的因果突变位点,确定了VRTN基因的因果突变位点(QTN)可以增加1根肋骨数的效应^[13];2015年在猪3号染色体鉴别到导致酸肉进而影响加工产量的PHKG1基因突变^[14];2017年鉴别了提高猪肌肉脂肪含量的主效基因和因果突变位点。在家禽方面,我国科技人员成功鉴别到SLCO1B3基因是导致中国地方品种鸡产绿壳蛋的因果基因^[15];2012和2016年,我国科研人员鉴别到MNR2和HOXB8是影响鸡冠型的因果基因^[16];2014年鉴别到PDSS2是影响中国地方鸡丝羽的因果基因等^[17]。

在水产动物方面,我国科研人员定位了大黄鱼多种经济性状的染色体基因位点,获得100多个与经济性状紧密连锁或显著相关的分子标记,克隆了近百个与免疫、抗逆性和性腺发育相关的重要基因,为开发标记辅助育种、寻找确定决定性状差异的主效与关键基因等提供了基础。

1.3 农业动物全基因组选择、基因编辑等育种新技术发展

1.3.1 农业动物全基因组选择育种新技术发展

数量遗传评估技术对易于活体测定的表型,如生长速度和背膘,选育改良的效果显著。然而,对于农业动物难以开展准确表型鉴定和遗传机理非常复杂的性状,如肉质性状、繁殖性状和抗病性状,依赖数量遗传评估技术所能获得遗传改良进展缓慢,效果甚微。而且这类性状通常同时受到许多遗传和环境因素的影响,迄今鉴定这类复杂性状的因果突变位点依然费时费力。在此背景下,Meuwissen等人于2001年提出利用全基因组高密度分子标记信息估计基因组育种值(Genomic breeding value, GEBV)的育种新策略,即基因组选择(Genomic selection, GS)。基因组选择技术被认为是继BLUP之后新一代的家畜育种技术,是家畜遗传改

良研究中里程碑式的事件。全基因组选择的准确率优于传统的基于家系信息的数量遗传评估育种值。GS成功应用于奶牛育种,准确性达70%—90%,育种成本降低92%,育种进展提高50%。

我国在农业动物全基因组选择育种方面取得了重要进展,在猪的全基因组选择方面,我国建立了基于高密度SNP芯片和基于简化基因组测序的猪基因组选择技术,广东温氏食品集团率先采用全基因组选择技术对猪饲料利用率、日增重、肉质等性状进行选择;在奶牛的基因组选择育种方面,通过基因组选择技术的实施,给我国奶牛育种带来了显著成效,公牛主要性状基因组遗传评估的准确性达到0.67—0.80,与我国过去的公牛后裔测定相比,准确性提高了12%—17%。大幅缩短了公牛的世代间隔,加快了群体遗传进展,使我国荷斯坦牛每年平均遗传进展由0.24个遗传标准差提高到0.49个遗传标准差。“中国荷斯坦牛基因组选择分子育种技术体系的建立与应用”项目还荣获2016年国家科技进步二等奖。在肉牛方面,我国完成了15家公牛站,1234头西门塔尔青年公牛的基因组育种值评估,公牛评估准确性达到0.41—0.74。另外,我国在其他畜禽全基因组选择育种方面都在陆续开展研究和试验。

在水产动物的基因组选择方面,我国采用全基因组选择技术培育了3个扇贝品种;同时已在牙鲆、半滑舌鳎和大黄鱼上开展了全基因组选择研究,其中大黄鱼的全基因组选择以闽优1号大黄鱼核心群中500尾和192尾个体作参考群,利用4000个标记对生长和肌肉多不饱和脂肪酸含量进行基因组选择育种试验。发现养殖到13月龄时,多不饱和脂肪酸选育组生长速度比其他各组的平均值高15.7%,EPA含量提高13.78%,DHA含量提高5.19%,EPA+DHA含量提高7.4%,效果显著;采用全基因组选择技术辅助培育出了牙鲆“鲆优2号”新品种,提高了抗病良种选择的效率和准确性。全基因组选择技术在鱼类抗病、高产、优质良种培育中具有重要应用价值和推广前景。

1.3.2 农业动物基因编辑育种新技术发展

基因编辑技术是近年来兴起的用于靶向基因特定DNA修饰的重要工具。它能够实现对特定DNA片段的敲除、加入等。以ZFN、TALEN特别是CRISPR/Cas9为代表的序列特异性核酸酶技术以其能够高效进行定点基因组编辑,在基础研究、基因治疗和动、植物遗传改良等方面展示出巨大潜力。

在农业动物基因编辑方面,我国科技人员获得

了 MSTN 和 UCP1 基因编辑猪。MSTN 基因敲除猪肌肉量明显增加但并没有影响猪只的生长发育,在梅山猪中出现了经典的双肌臀的表型^[18]。使用 CRISPR/Cas9 敲入 UCP1 基因的猪体脂比普通猪少 24%,而且还能增强猪只自主体温调节能力^[19]。另外,我国科研人员还使用 CRISPR/Cas9 在猪只中过表达线虫 FAT-1,使生产富含 ω -3 多不饱和脂肪酸的健康高品质猪肉成为可能^[20]。在水产动物中,我国科学家已利用 TALEN/CRISPR 技术敲除了斑马鱼 1 号染色体上的 1333 个基因,为研究人类疾病演化及治疗奠定了科学基石;使用 TALEN 技术敲除了罗非鱼 Dmrt1 基因,表现出输精管缺陷、生殖细胞缺失等;而 Foxl2、Cyp19a1a 敲除的罗非鱼,出现卵巢退化、性别逆转等现象。我国科研人员还使用基因编辑技术获得了 Dmrt1 基因敲除的半滑舌鳎雄鱼,其平均体重比普通雄鱼大 2.2 倍^[21]。

总体来说,基因编辑技术在农业动物育种中的利用还处于起始和试验阶段,高效基因组编辑技术为通过遗传操作改良农业动物的生产性状提供了可能,也为目前以基因组选择为核心的农业动物遗传育种提供了有力的帮助。

1.4 农业动物优良种质高效扩繁技术的发展

在动物高效扩繁技术中,精液长效保存和人工授精技术相结合已广泛应用于农业动物特别是家畜的育种过程中。超数排卵和胚胎移植(MOET)技术也已成功应用于奶牛优良种公母畜的快速繁育中,目前 MOET 育种技术已经成为核心群母牛快速扩繁的重要技术手段。不仅如此,MOET 还是种公牛选育的重要手段。在水产动物中,鱼类“借腹怀胎”技术(原始生殖干细胞移植技术)成为解决繁育难和濒危物种的有效途径之一。另外,性别控制、体外胚胎生产、体细胞核移植和转基因等技术也取得快速发展并慢慢接近实用化。其中体细胞克隆技术是一种可以获得基因组遗传信息完全相同后代的生物技术。体细胞克隆技术的重要意义在于不仅可以保证每个克隆个体具有相同的优良性状,而且可以使“复制”出的个体数量巨大,是优良家畜繁育的重要手段之一。

到目前为止,全世界利用体细胞克隆技术获得了多个品种的农业动物,如绵羊、山羊、牛、猪、马和狗等。在我国,1999—2002 年间,我国科学家获得数量较多的体细胞克隆牛和山羊;2005 年获得了中国第一头体细胞克隆猪。2008 年以来,我国在农业动物体细胞克隆技术领域得到快速发展,国内许多

团队开展体细胞克隆工作的技术水准得以显著提高。可以预见,体细胞克隆技术将在优质种畜核心群的高效扩繁中发挥重要作用。

1.5 水产动物基因组多倍化研究

基因组多倍化既为物种演化提供了有利机会和动力,又为物种新基因和新性状的形成提供了物质基础。基因组重复加倍了基因数量,并由此增加了生物学复杂性和适应性。在极端的环境压力下,由于遗传变异和表达变化的增加提升了多倍体动物适应性潜能。在鱼类等水生动物中,多倍体物种或多倍体生物型已被广泛揭示具有生长快、适应性广和抗病性强的优良特性。基于这一原因,在我国,大量天然的多倍体鱼类,如鲤、银鲫、鲫、鲢和鲟等,已被选为重要的水产养殖对象;许多人工多倍体也被广泛用于养殖,且其多数是从鲤科和鲢科等天然多倍体鱼类中创制的^[22]。由于易于批量生产和具有生长快、肉质好等优良特性,从鲤、鲫等天然多倍体鱼类中合成的同源多倍体或异源多倍体已在我国广泛养殖。

拥有 100、156、162 和 200 多条染色体数的鲫、金鱼、银鲫是多倍化的产物,它们经历了多倍化后二倍化、二倍化后再多倍化、多倍化后再二倍化的演化历程,共同构成了鲫属复合种。由于鲫属复合种具有相对古老的四倍体,复发的六倍体和八倍体,加上天然突变和人工选择,培育而成的金鱼品种就有几百个。近年来,我国科研人员在揭示鲫属复合种单性雌核生殖和有性生殖等多重生殖方式的基础上培育出系列异育银鲫新品种,鲫属复合种已成为进化发育遗传学和优良种质创制研究的特殊对象。

1.6 水产动物性别决定的机制及其在育种中应用

性别决定是最基础的生物学问题,也是遗传育种领域的研究热点。养殖鱼类普遍存在雌雄个体间生长速度和体型大小的显著差异,明显影响到养殖效益。鱼类是自然界最大的脊椎动物类群,其性别决定类型复杂多样,除受遗传因素控制外,还受环境因素影响。鱼类的性别具有明显的可塑性,已有研究表明,有 300 多种鱼类存在天然性逆转现象(先雄后雌或先雌后雄),而且不存在天然性逆转的鱼在性腺未分化时可以经激素诱导性逆转,即使性腺分化后(甚至成体)仍然可以诱导性逆转(次发性逆转)。

研究发现,在鱼类中不仅可以通过转基因过表达或敲除性别决定基因引起鱼类性逆转(如在 XX 罗非鱼过表达 Amhy 导致由雌向雄的性逆转,而在 XY 鱼敲出 Amhy 导致由雄向雌的性逆转)^[23],而且

还可以敲除雌雄通路上的关键基因引起性逆转(如在XX鱼敲除Foxl2和Cyp19a1a导致由雌向雄的性逆转,而在XY鱼敲出Gsdf和AmhR2导致由雄向雌的性逆转)^[24]。更为有趣的是,敲除性别决定通路上的关键基因,可以迅速改变性别决定基因、性染色体甚至性别决定方式,如在XY性别决定系统突变雄性通路基因Gsdf,杂合突变XY仍为雄鱼,纯合突变逆转为雌鱼,XY杂合子与纯合子交配可以导致性染色体的转换;突变雌性通路基因Foxl2,杂合突变XX仍为雌鱼,纯合突变XX逆转为雄鱼,杂合子与纯合子交配可以导致性别决定基因和性染色体的转换,同时导致性别决定方式的转换。

鱼类性别决定基因、性染色体和性别决定方式的转换还可以通过杂交实现。比如,奥利亚罗非鱼ZZ与尼罗罗非鱼XX杂交,得到全雄ZX,将ZX与XX不断杂交,就能实现性别决定基因从SdW到SdY转换、性染色体从LG3、LG23到LG1转换和性别决定方式从ZW到XY的转换^[25]。

2 农业动物种业发展和优良种质创制科学研究面临的重大机遇与挑战

2.1 我国农业动物种业发展面临的重大机遇与挑战

我国是畜牧、水产生产和消费大国,而种业位于农业动物养殖产业链条的最上游,为生产提供优质种用动物,决定了养殖链条的生产效率,是科技创新的主要载体。因此发展农业动物种业是国家重大战略需求,是保障我国种业安全的重要举措,也是使我国跻身生物战略性新兴产业的重要契机。但目前,我国自主培育的农业动物种质的市场占有率非常低,如肉鸭、蛋鸡、黄羽肉鸡品种市场占有率为15%,50%和50%,白羽肉鸡几乎为零,生猪、肉牛和肉羊核心种源大部分依赖进口。与此同时,国际种业集团大规模、全方位进入国内市场,我国畜禽种业核心种质受制于人的形势严峻,面临被跨国集团垄断控制的风险。此外,频繁的引种带来了疫病风险,养殖业安全问题严峻,例如对养猪业带来巨大损失的蓝耳病、圆环病毒病等均从北美传入中国。因此,加强种业科技创新,加快自主品种培育是确保我国动物种业与养殖业源头安全的必然选择。

2.2 优良种质创制科学研究面临的重大机遇与挑战

畜牧、水产养殖业的迅速发展对优良种质创制的科技进步提出了强烈要求,国家和地方有关部门

也加强了相应的科技投入,为我国动物遗传育种科学研究带来了良好的发展机遇。同时生物学领域科学研究的发展日新月异,动物功能基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学、生物信息学、大数据分析技术和基因工程技术等相关知识、技术的快速发展,将有力地推动动物遗传育种学科及动物优良种质创制研究进入一个快速发展阶段。

但动物优良种质创制的关键理论和技术研究也面临一些挑战,这很大程度上是由于动物遗传育种研究对象和研究材料的复杂性所致,主要挑战表现在:(1) 优特地方种质资源精准鉴定不够,开发利用不足。我国有丰富的畜禽种质资源,包括众多适应高海拔或极端气温等不同生态环境的优异地方品种,但这些品种资源特性的鉴定手段相对落后,急需改进。种群遗传多样性,如品种内的连锁不平衡、品种间的连锁不平衡、群体有效含量、基因组变异度、品种间的亲缘关系及分化等评价不系统,种质特性形成的遗传机理不清晰,且仅有小部分用于自主创制优质高效新品种(系)。(2) 基础研究创新性不够。目前我国有重大影响力的动物遗传育种原创性理论缺乏,特别是农业动物重要经济性状形成机制和杂种优势机理的解析不足。目前已鉴定的具有重大育种价值的农业动物重要经济性状主效基因及其因果突变位点还屈指可数,重要经济性状形成的分子机制及基因调控网络解析还不清楚。(3) 精准育种及高效扩繁核心技术相对不足。分子育种、基因组选择、基因编辑等育种新技术和性别控制、胚胎工程等繁殖新技术创新性有待加强,育种技术研发能力滞后于农业动物种业的发展需求。首先,全基因组选择技术虽然已在一些农业动物的商业群体,特别是奶牛中得到了广泛的推广。但该技术仍有关键科学技术问题有待深入研究。一是跨群体和品系的基因组选择。基因组选择是基于标记和数量性状位点之间的连锁不平衡,如果参考群体和目标群体属于来自不同的两个群体或者品系,那么两个群体连锁不平衡模式的差异会降低GEBV估计的效率。二是用于全基因组选择的标记会发生突变,造成GEBV估计的准确率下降,Meuwissen等人建议每隔三代就应该重新估计一次GEBV。三是育种成本问题,目前测量一个个体全基因组高密度SNP芯片仍需100美元,而通常需要测量基因型的动物个体数比较多,所以降低检测成本是未来的一个重点攻关方向。

其次,在基因编辑精准育种方面也存在许多问

题:一是主效基因及其调控网络通路鉴定不足,可供编辑的、功能确定的、调控网络清晰的候选基因不足。候选因果突变位点和主效基因信息的准确性、可靠性和稳定性亟待提高;二是候选靶标基因的功能和调控网络功能鉴定不足;三是基因编辑技术对多基因调控的复杂性状改良的技术难度大。农业动物许多重要经济性状都是由多基因控制的复杂性状,为了有效地调控农业动物生产性状相关的“功能模块”,需要同时对多个基因进行编辑,这对基因组编辑技术的效率和特异性等都提出了更高的要求。

再次,用于优良种质高效扩繁的体细胞克隆技术也有待加强,其面临的主要挑战是胚胎发育效率低,调控克隆胚发育的分子机制还不清楚。在水产动物中,性别决定的机制及其在育种中应用研究有待加强。

3 未来 5—10 年动物优良种质创制关键理论和技术研究的主要科学问题及资助重点

3.1 发展目标

依据农业动物优良种质创制过程中存在的关键理论和技术难题、亟需深入开展的研究方向等,从基础研究、共性关键技术理论研究等层面出发,开展优特种质资源挖掘、重要经济性状遗传解析、精准育种与高效繁殖新技术创建等研究。创新农业动物遗传育种的基础理论,创建分子育种、基因组选择、基因编辑、性别控制等新型共性关键技术。以期通过科技创新,深入解析性状遗传规律和形成机制,提升育种基础理论水平。

3.2 资助重点

本次双清论坛与会专家经过深入研讨,基于我国在动物遗传育种及优良种质创制领域现有研究基础,针对农业动物优良种质创制过程中存在的关键理论和技术问题,凝练了未来 5—10 年动物优良种质创制科学领域关键基础科学问题、亟需关注的关键理论和技术,并建议围绕以下 8 个方面开展原创性研究。

3.2.1 中国地方特色农业动物优特种质特性精准鉴定及其性状形成的遗传机制解析

精准鉴定中国特色农业动物的种质资源特性;重点开展优良肉质、高繁殖力、抗病、抗逆、高生长速度等性状的大群体精准测定,建立表型数据库,对种质资源特性进行科学评价和精准鉴定;挖掘影响优特性状的主效基因及其基因互作网络,揭示优特性

状形成的遗传机制。

3.2.2 农业动物节粮、优质、高效、抗病、抗逆等特性的遗传基础研究

开展农业动物主要商业品种精准表型测定,建立表型数据库,开展主要商业品种的重要经济性状全基因组关联分析;创建功能基因组学的新方法和新技术;构建全球代表性品种大样本重测序数据库;开展主要特色品种多种组织转录组研究,解析调控优良性状形成的基因表达网络;通过表观组、转录组、蛋白组、代谢组等研究,解析主要商业品种节粮、优质、高效、抗病、抗逆等特性形成的分子机制和调控网络。

3.2.3 水产动物性别可塑及性别决定的机制及其在育种中应用的基础研究

开展水生动物性别决定与分化的调控机制研究;阐明性反转的遗传基础与调控机理;开展性别决定方式转换机制研究,建立养殖鱼类的性控模型;解析生殖质组装及 PGCs 形成的机制;开展转基因(敲除)性控育种技术的基础研究等等。

3.2.4 动物活体表型高通量智能化精准鉴定的基础理论及方法技术研究

针对农业动物活体表型测定难问题,开展集成生物信息学、物联网、机电传感等技术的农业动物重要生产性状表型自动测定设备,大规模育种数据采集、存储及分析设备的基础理论及方法技术研究。

3.2.5 优良种畜禽定向创制及高效扩繁的关键理论及技术研究

研究分子设计育种和生物信息育种交融的育种方法,创新遗传评估技术、多性状 BLUP 选择、标记辅助选择、基因育种、全基因组选择、基因组编辑等育种技术;研发高通量 SNP 分子育种芯片及育种软件;构建高效精准的畜禽育种技术体系;创建基因编辑和细胞工程育种新技术。研究体细胞重编程机理,创新干细胞、克隆等繁殖技术基础理论。

3.3.6 农业动物基因组功能元件注释及其空间构象调控模式研究

解读基于主要商业品种的基因组 DNA 功能元件,构建全球共享的猪 ENCODE 图谱;开展 3D(三维)、4D(动态)基因组研究,利用 Hi-C、ChIA-PET 等技术手段、解析基因组三维空间构象对基因表达调控和农业动物重要经济性状的影响机制。

3.2.7 影响农业动物重要经济性状的肠道菌群组成及其与宿主基因组互作的基础研究

采用宏基因组学技术手段,分离影响农业动物

重要经济性状的肠道菌群种类;整合宏基因组学、宏转录组学及代谢组学阐明肠道菌群影响农业动物重要经济性状的分子机制;分析宿主基因组对肠道菌群组成影响及其肠道菌群与宿主基因互作对农业动物重要经济性状影响机制;揭示基因组与环境互作对动物优良性状形成的影响机理;建立有利于提高农业动物生产水平的肠道菌群调控技术。

3.2.8 水产动物基因组多倍化及其优良种质创制的基础理论研究

利用基因组多倍化有利条件和创新潜能,开发利用天然多倍体、合成人工多倍体,探索多倍体重要经济性状的遗传基础和遗传网络调控机理,建立基于基因组多倍化的鱼类等水产动物优良种质创新和遗传育种的基础理论。

4 结束语

畜牧、水产养殖业是我国农业的支柱产业,创制农业动物优良种质对保障肉、蛋、奶、水产品等动物源食品稳定供给、促进国民经济稳健发展、增加农牧民收入具有重大战略意义。近年来,得益于多组学、生物信息学、细胞生物学等技术的发展,我国在农业动物基因组学、重要经济性状形成的遗传机制解析、全基因组选择、精准育种技术等动物优良种质创制的关键理论和技术方面取得了突破性进展。但还存在优特地方种质资源精准鉴定不够、开发利用不足,有重大影响力的动物遗传育种原创性理论缺乏,特别是农业动物重要经济性状形成机制的解析不足,精准育种及高效扩繁核心技术相对不足等等瓶颈问题。还未完全建立起我们自己独特的技术体系和适应我们研究对象和材料的遗传育种体系。而这些问题的解决依赖动物遗传育种领域科技进步,针对以上重大问题,本期双清论坛提出了未来5—10年动物优良种质创制关键理论和技术研究发展目标及资助重点。

致谢 感谢本次论坛主席江西农业大学黄路生院士、清华大学孟安明院士、中国科学院水生生物研究所桂建芳院士以及所有参会代表,全体专家共同凝练了未来5—10年的主要科学问题及资助重点。

参 考 文 献

- [1] Li M, Tian S, Jin L, Zhou G, et al. Genomic analyses identify distinct patterns of selection in domesticated pigs and Tibetan wild boars. *Nature Genetics*, 2013, 45(12):1431—1438.
- [2] Ai H, Fang X, Yang B, et al. Adaptation and possible ancient interspecies introgression in pigs identified by whole-genome sequencing. *Nature Genetics*, 2015, 47(3):217—225.
- [3.] Qiu Q, Zhang G, Ma T, et al. The yak genome and adaptation to life at high altitude. *Nature Genetics*, 2012, 44(8):946—949.
- [4] Jiang Y, Xie M, Chen W, et al. The sheep genome illuminates biology of the rumen and lipid metabolism. *Science*, 2014, 344(6188):1168—1173.
- [5] Huang Y, Li Y, Burt DW, et al. The duck genome and transcriptome provide insight into an avian influenza virus reservoir species. *Nature Genetics*, 2013, 45(7):776—783.
- [6] Lu L, Chen Y, Wang Z, et al. The goose genome sequence leads to insights into the evolution of waterfowl and susceptibility to fatty liver. *Genome Biology*, 2015, 16:89.
- [7] Zhang G, Fang X, Guo X, et al. The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation. *Nature*, 2012, 490(7418):49—54.
- [8] Xu P, Zhang X, Wang X, et al. Genome sequence and genetic diversity of the common carp, *Cyprinus carpio*. *Nature Genetics*, 2014, 46(11):1212—1219.
- [9] 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. *Nature Genetics*, 2015, 47(6):625—631.
- [10] Zhang X, Sun L, Yuan J, et al. The sea cucumber genome provides insights into morphological evolution and visceral regeneration. *PLoS Biology*, 2017, 15(10):e2003790.
- [11] Ren J, Duan Y, Qiao R, et al. A missense mutation in PPARD causes a major QTL effect on ear size in pigs. *PLoS Genetics*, 2011, 7(5):e1002043.
- [12] Ren J, Yan X, Ai H, Zhang Z, et al. Susceptibility towards enterotoxigenic *Escherichia coli* F4ac diarrhea is governed by the MUC13 gene in pigs. *PLoS One*, 2012, 7(9):e44573.
- [13] Yang J, Huang L, Yang M, et al. Possible introgression of the VRTN mutation increasing vertebral number, carcass length and teat number from Chinese pigs into European pigs. *Scientific Reports*, 2016, 6:19240.
- [14] Ma J, Yang J, Zhou L, et al. A splice mutation in the PHKG1 gene causes high glycogen content and low meat quality in pig skeletal muscle. *PLoS Genetics*, 2014, 10(10):e1004710.
- [15] Wang Z, Qu L, Yao J, et al. An EAV-HP insertion in 5' Flanking region of SLC01B3 causes blue eggshell in the chicken. *PLoS Genetics*, 2013, 9(1):e1003183.
- [16] Guo Y, Gu X, Sheng Z, et al. A Complex Structural Variation on Chromosome 27 Leads to the Ectopic Expression of HOXB8 and the Muffs and Beard Phenotype in Chickens. *PLoS Genetics*, 2016, 12(6):e1006071.
- [17] Feng C, Gao Y, Dorshorst B, et al. A cis-regulatory mutation of PDSS2 causes silky-feather in chickens. *PLoS Genetics*, 2014, 10(8):e1004576.

- [18] Wang K, Ouyang H, Xie Z, et al. Efficient Generation of Myostatin Mutations in Pigs Using the CRISPR/Cas9 System. *Scientific Reports*, 2015, 5:16623.
- [19] Zheng Q, Lin J, Huang J, et al. Reconstitution of UCP1 using CRISPR/Cas9 in the white adipose tissue of pigs decreases fat deposition and improves thermogenic capacity. *Proceeding of National Academy Science USA*, 2017, 114(45): E9474-E9482.
- [20] Zhou Y, Lin Y, Wu X, et al. The high-level accumulation of n-3 polyunsaturated fatty acids in transgenic pigs harboring the n-3 fatty acid desaturase gene from *Caenorhabditis briggsae*. *Transgenic Research*, 2014, 23(1):89—97.
- [21] 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*). *Scientific Reports*, 2017, 7:42213.
- [22] Li XY, Zhang QY, Zhang J, et al. Extra Microchromosomes Play Male Determination Role in Polyploid Gibel Carp. *Genetics*, 2016, 203(3):1415—1424.
- [23] Li MH, Sun YL, Zhao JE, et al. A tandem duplicate of anti-Müllerian hormone with a missense SNP on the Y chromosome is essential for male sex determination in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *PLoS Genetics*, 2015, 11(11): e1005678.
- [24] Sun LN, Jiang XL, Xie QP, et al. Transdifferentiation of differentiated ovary into functional testis by long term treatment of aromatase inhibitor in Nile tilapia. *Endocrinology*, 2014, 155:1476—1488.
- [25] Li M, Yang H, Zhao J, et al. Efficient and heritable gene targeting in tilapia by CRISPR/Cas9. *Genetics*, 2014, 97: 591—599.

Key theory and technology for cultivating the elite animal breeds

Ren Hongyan¹ Chen Congying² Meng Qinfeng³ Du Shengming¹ Hu Jingjie¹

(1. *Department of Life Sciences, National Natural Science Foundation of China, Beijing 100085*; 2. *College of Animal Science and Technology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045*; 3. *Policy Bureau, National Natural Science Foundation of China, Beijing 100085*)

Abstract The 190th NFSC Shuangqing forum was held in Nanchang on October 19—20, 2017. Based on the discussions of this forum, this paper reviewed the major advances and achievements that have been made in the aspect of the key theory and technology for cultivating the elite animal breeds in the field of animal genetics and breeding in recent years in China. This paper also summarized the great opportunities and challenges that have been faced in the scientific research and industrial development of cultivating the elite farm animal breeds in China, condensed the major and key frontier scientific issues in this field in the next five to ten years, and discussed the funding strategy of national natural science foundation.

Key words animal genetics and breeding; cultivation of elite animal breed; basic research; theory of selection breeding