



基因组选择技术在半滑舌鲷“鲷优 1 号”新品种培育中的应用研究

卢 昇^{1,2}, 李仰真², 王 磊², 刘 洋², 程向明³,
周 茜², 杨英明², 郑卫卫², 陈松林^{1,2*}

(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黄海水产研究所, 海洋科学与技术试点国家实验室海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266071;

3. 维卓水产养殖有限公司, 河北 唐山 063200)

摘要: 为了改善半滑舌鲷种质资源现状, 本课题组以快速生长和抗哈维氏弧菌为主要目标性状, 开展了连续四代家系选育。从第三代选育开始, 利用基因组最佳线性无偏预测方法, 计算了半滑舌鲷抗哈维氏弧菌的基因组估计育种值 (GEBV), 并将 GEBV 和感染存活率较高的家系作为抗病重点家系。在第三代选育中, 筛选到 12 个重点家系, 这些家系的平均感染存活率 (85.4%) 和平均 GEBV (1.13) 明显高于对照组 (52.2%; 0.27)。在第四代选育中, 筛选到的 5 个重点家系的平均感染存活率和平均 GEBV 分别为 71.5% 和 0.24, 而对照组的感染存活率和 GEBV 分别为 30.1% 和 0.03。连续四代选育后, 利用生长速率快和抗病力强的家系大规模繁育苗种, 培育出我国首个半滑舌鲷新品种“鲷优 1 号”(新品种登记号: GS-01-005-2021)。与未经选育的半滑舌鲷相比, “鲷优 1 号”抗哈维氏弧菌感染能力提高 30.9%, 18 月龄体质量平均提高 17.7%, 养殖成活率平均提高 15.7%。此外, “鲷优 1 号”苗种的生理雌鱼比例高达 40% 左右。半滑舌鲷新品种“鲷优 1 号”的成功培育为水产养殖业增添了良种, 推动了半滑舌鲷分子育种技术的发展, 也为基因组选择育种技术在水产良种培育中的应用奠定了基础。

关键词: 半滑舌鲷; 家系选育; 基因组选择; 选择育种

中图分类号: S 961.2

文献标志码: A

半滑舌鲷 (*Cynoglossus semilaevis*) 隶属于鲈形目 (Pleuronectiformes) 鲷亚目 (Soleoidei) 舌鲷科 (Cynoglossidae) 舌鲷属 (*Cynoglossus*), 有“鲷米”、“鲷目”和“牛舌头”等俗称, 从我国南海到渤海均有分布, 以渤海居多。在韩国和日本的近海海域也有一定分布。半滑舌鲷肉质细腻、味道鲜美, 深受消费者喜爱, 市场价值很高。随着半滑舌鲷人工繁育技术的不断研究^[1-2], 其养殖产业发展迅

速, 逐渐成为我国海水养殖鱼类的主导品种, 入选国家海水鱼产业技术体系, 年产值达 30 多亿元。但在半滑舌鲷养殖业蓬勃发展过程中, 种质退化、抗病力下降、疾病频发等问题相继出现, 严重制约了产业的健康可持续发展。细菌感染是影响半滑舌鲷健康养殖的主要因素, 目前已从养殖的半滑舌鲷病鱼中分离出多种致病菌, 如鳃弧菌 (*Vibrio anguillarum*)^[3]、副溶血性弧菌 (*V. parahaemolyticus*)^[4] 等。

收稿日期: 2022-03-21 修回日期: 2022-05-02

资助项目: 国家自然科学基金 (31530078); 中国水产科学研究院创新团队项目 (2020TD20);

黄海水产研究所基本业务费专项 (20603022021001); 山东省泰山学者攀登计划项目

第一作者: 卢昇 (照片), 从事鱼类遗传育种研究, E-mail: luhaoyin@outlook.com

通信作者: 陈松林, 从事鱼类生物技术与遗传育种研究, E-mail: chensl@ysfri.ac.cn



molyticus)^[4]、哈维氏弧菌 (*V. harveyi*)^[5]、海藻希瓦氏菌 (*Shewanella algae*)^[6] 和创伤弧菌 (*V. vulnificus*)^[7] 等。患病个体通常表现为体表溃烂出血, 并伴有腹水、肠炎和烂尾等典型症状, 严重影响了商品鱼的产量和品质。因此, 培育半滑舌鳎高产抗病良种成为半滑舌鳎养殖业亟待攻克的难题。

人工选育是一种能够改良养殖鱼类复杂经济性状的有效方法^[8]。Li 等^[9] 和卢昇等^[10] 基于半滑舌鳎家系材料和人工感染哈维氏弧菌实验, 估算半滑舌鳎抗哈维氏弧菌的遗传力范围为 0.11~0.37。Liu 等^[11] 利用混合线性模型拟合了 3 种生长表型, 分别估算了半滑舌鳎全长、体高和体质量的遗传力为 0.21、0.26 和 0.27, 并且全长、体高和体质量之间的遗传相关范围为 0.91~0.96。上述研究表明, 不同半滑舌鳎家系对哈维氏弧菌的抗病力不同, 且不同家系间生长性能存在差异。因此, 可以通过选育技术培育高产抗病的半滑舌鳎苗种。然而, 与生长性状相比, 候选亲鱼的抗病力通常难以直接度量, 并且经过人工感染的个体不用作候选亲本, 导致传统选育手段对抗病性状的选择效率不高。

2001 年, Meuwissen 等^[12] 提出了基因组选择的概念, 旨在利用广泛分布于基因组内的高密度分子标记改良养殖动物的经济性状。该方法利用具有表型和基因型的参考群体, 构建计算基因组估计育种值 (GEBV) 的统计模型, 获取候选个体的基因型后, 无需测定候选个体的表型, 利用构建好的统计模型即可直接计算出候选个体的 GEBV。因此, 基因组选择技术特别适用于难以直接度量的复杂性状的选育, 如抗病、抗逆和品质等性状。得益于分子生物学、基因组学和计算机科学的不断发展, 我国已绘制了数十种养殖鱼类的全基因组图谱, 全基因组信息的解析为基因组选择技术的研究与应用奠定了坚实的基础^[13]。目前, 国内外已开展了多种养殖鱼类抗病性状基因组选择育种技术的研究, 如大西洋鲑 (*Salmo salar*) 抗鱼虱 (*Lepeophtheirus salmonis*)^[14]、虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 抗细菌性冷水病^[15]、牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 抗迟缓爱德华氏菌 (*Edwardsiella tarda*)^[16-17]、大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 抗刺激隐核虫 (*Cryptocaryon irritans*)^[18]、吉富罗非鱼 (GIFT *Oreochromis niloticus*) 抗无乳链球菌 (*Streptococcus agalactiae*)^[19-20] 和鲇 (*Silurus asotus*) 抗柱状黄杆菌 (*Flavobacterium columnare*)^[21] 等。

为培育半滑舌鳎抗病高产良种, 本课题组于 2005 年启动半滑舌鳎良种选育项目, 综合利用家系选育、最佳线性无偏预测 (BLUP) 和基因组选择等技术方法, 以抗哈维氏弧菌和快速生长为主要目标性状进行选育。2008 年开始构建第一代家系, 前两代主要利用 BLUP 法对抗病性状进行选育, 从第三代开始利用基因组选择技术进行选育, 以提高抗病性状的选育效率。历经连续四代选育和两年生产性对比实验, 本课题组培育出了首个国审半滑舌鳎新品种“鳎优 1 号”(新品种登记号: GS-01-005-2021)。本实验主要探讨半滑舌鳎基因组选择育种技术平台的建立及其在新品种“鳎优 1 号”选育中的应用。

1 材料与方法

1.1 家系来源和家系构建

2004 年开始, 本课题组陆续从黄渤海域 (野生群体) 和山东莱州当地养殖场 (养殖群体) 收集半滑舌鳎, 作为繁育基础群体, 详细来源见陈松林等^[22] 研究。亲鱼经过营养强化、控温控光后, 挑选体格健硕、活力好的个体进行人工催产。半滑舌鳎亲鱼人工催产和授精技术方法按照杨景峰等^[2] 所述进行。依据陈松林等^[22] 实验方法构建半滑舌鳎家系。利用人工采卵和干法授精技术, 每年建立 70~180 个家系。

1.2 半滑舌鳎生长和抗病性能测定

当每个家系鱼苗长至 9~17 cm 时, 从每个家系中随机取 100~200 尾鱼苗进行标记。标记后的鱼苗混养在 25 m³ 的水泥池中。放养前, 每个家系随机取 50 尾幼鱼, 测量体质量、全长、体高等生长指标。混合后按照常规方法进行养殖, 每隔 5~6 个月检查荧光标记, 并及时补标记, 养殖约 1 年按照陈松林等^[22] 方法测量全长和体质量, 计算各家系全长和体质量的平均数以及平均日增重。利用软件 ASReml 计算各家系生长性状的估计育种值 (EBV)。根据 EBV 进行排序, 排名前 20%~30% 的家系为快速生长家系, 并进行重点培育和留种。

按照陈松林等^[22] 方法进行人工感染实验 (包括预实验和正式实验), 当半滑舌鳎各家系鱼苗长至 10~12 cm 时, 每个家系随机选取 100~200 尾幼鱼进行实验。采用腹腔注射的方式进行病原菌感染, 并设置 1 个对照组 (注射生理盐水), 感染组约 3~5 d 出现死亡高峰。注射后, 每隔 6~8 h 观

察1次鱼苗存活状态,记录并及时捞出死亡鱼苗。当连续1周内没有出现死亡个体时,终止实验,统计死亡和存活的个体数目,计算各家系存活率。利用软件ASReml计算各个家系抗病性状的EBV或GEBV。根据抗病EBV或GEBV的排名,将前20%~30%的家系作为抗病家系,进行重点培育和留种。

1.3 基因组选择育种技术的建立

进行第三代选育时,我们搭建了半滑舌鲷抗哈维氏弧菌基因组选择育种技术平台。首先,从2014年哈维氏弧菌感染后的家系中选取863尾具有抗病表型的个体构建参考群体,计算了第三代家系的抗病GEBV,并从中选取感染后存活率和GEBV都较高的家系进行重点培养。选育进行至第四代时,我们将参考群体的规模扩充至1045尾,并计算了第四代家系的抗病GEBV。最终构建了1个包含1572尾半滑舌鲷的抗病参考群体^[23],并计算了“鲷优1号”亲本所在家系的GEBV。用于拟合抗病表型和计算抗病GEBV的模型:

$$y = Xb + Za + Wd + e$$

式中, y 为个体的抗病表型向量; b 为固定效应向量,包括群体均值、家系建立地点、家系建立年份以及嵌套于年份中的实验批次; a 为随机效应向量,表示个体加性遗传效应,其服从 $N(0, G\sigma_a^2)$ 的分布, G 为基因组亲缘关系矩阵,参照VanRaden^[24]所述方法构建; d 为随机母性效应向量并服从 $N(0, I\sigma_d^2)$ 的分布; e 为残差向量;矩阵 X 、 Z 和 W 为构造矩阵,分别用于固定效应、随机效应和随机母性与表型的连接。

1.4 半滑舌鲷“鲷优1号”选育过程

本课题组经历连续四代选育,分别培育出抗哈维氏弧菌感染能力强的家系与快速生长家系。在充分控制近交的前提下,选择抗病家系和快速生长家系中的个体进行交配,繁育出的后代具有生长快、抗哈维氏弧菌感染能力强和养殖成活率高等特点。

本课题组于2008年至2010年开展了半滑舌鲷第一代选育,建立了73个家系,筛选到12个快速生长家系和11个抗病家系。同期,还开展了第一代群体选育,选出了500尾雌性头鱼作为后备亲鱼。2012年至2013年开展了第二代选育,建立80个家系,筛选到12个快速生长家系和10个抗病家系,同时引入部分第二代群体选育个体

作为后备亲鱼。2014年至2015年开展第三代选育,建立184个家系,筛选到26个快速生长家系和23个抗病家系。同期,开始搭建半滑舌鲷抗哈维氏弧菌基因组选择育种技术平台,利用GEBV选出12个重点抗病家系。2016年至2017年(第四代选育),建立113个家系,筛选到快速生长家系13个和抗病家系13个,利用GEBV选出5个重点抗病家系。2018年,从第四代抗病和快速生长家系中选择个体进行繁育,培育速生抗病的半滑舌鲷苗种。之后,根据SC/T 1116—2012《水产新品种审定技术规范》的要求,选择山东、河北和天津等半滑舌鲷主要养殖地区进行了连续2年的生产性对比实验。

2 结果

2.1 第三代家系抗病GEBV

在第三代选育建立的184个家系中,对其中54个(2014年)具有抗病表型的家系的亲本进行了全基因组重测序,并计算抗病GEBV。结果表明,GEBV排名前20%的家系共有12个,平均感染后存活率为72.2%,平均GEBV为1.63;GEBV排名后20%的家系共有11个,平均感染后存活率为34.9%,平均GEBV为-1.55。我们选择了感染存活率和GEBV都较高的12个家系进行重点培养,这12个家系的平均感染存活率为85.4%,平均GEBV为1.13,均高于对照组(表1)。

此外,从2015年建立的家系中选取30个家系进行哈维氏弧菌人工感染实验,其中有13个家系的父本来源于高GEBV家系。感染结果显示,利用GEBV选择的13个家系(基因组选择家系)的平均感染存活率为67.6%,高于17个未使用GEBV选择的家系(普通家系)(43.0%),感染存活率提高了24.6%。查阅生产记录后统计,基因选择家系和普通家系的养殖存活率分别为68.6%和52.3%,表明使用GEBV进行选择后,养殖存活率提高了16.3%。

2.2 第四代家系抗病GEBV

在第四代选育建立的113个家系中,对43个家系进行了人工感染实验,筛选到13个抗病家系。其中,感染后存活率高于60%的家系有5个,这些家系的平均感染存活率和GEBV分别为71.5%和0.24,而对照组家系的感染存活率和GEBV分别为30.1%和0.03(表2)。据此,我们选出感染存

表 1 第三代抗病家系和对照家系基因组育种值比较

Tab. 1 Comparison of GEBV between the third-generation disease-resistant families and control family

家系类别 classification of family	家系编号 family ID	感染后存活率/% survival rate after infection	基因组估计 育种值 GEBV
抗病家系 disease-resistant families	G3-F1	89.9	2.44
	G3-F2	87.5	2.03
	G3-F3	81.9	1.43
	G3-F4	78.6	1.43
	G3-F5	93.5	1.09
	G3-F6	85.0	1.00
	G3-F7	91.5	0.98
	G3-F8	78.1	0.83
	G3-F9	86.6	0.69
	G3-F10	83.5	0.67
	G3-F11	93.1	0.59
	G3-F12	75.3	0.42
对照家系 control family	G3-Ctrl	52.2	0.27

活率和 GEBV 都较高的第四代家系作为“鲟优 1 号”的抗病亲本家系。

2.3 新品种“鲟优 1 号”的创制

经过连续四代选育的半滑舌鲟，其抗哈维氏弧菌感染能力和生长速率比对照组有了明显提高。将这些抗哈维氏弧菌感染能力强的家系与快速生长家系交配，培育出我国首个半滑舌鲟新品种“鲟优 1 号”(新品种登记号：GS-01-005-2021)。与未经选育的半滑舌鲟相比，新品种“鲟优 1 号”抗哈维氏弧菌感染能力提高 30.9%，18 月龄体质量平均提高 17.7%，养殖成活率平均提高 15.7%(图 1)；“鲟优 1 号”苗种的生理雌鱼比例高达 40% 左右。

表 2 第四代抗病家系和对照家系基因组育种值比较

Tab. 2 Comparison of GEBV between the fourth-generation disease-resistant families and control family

家系类别 classification of family	家系编号 family ID	感染后存活率/% survival rate after infection	基因组估计 育种值 GEBV
抗病家系 disease-resistant families	G4-F1	88.2	0.11
	G4-F2	78.3	0.16
	G4-F3	69.5	0.26
	G4-F4	61.0	0.34
	G4-F5	60.4	0.33
对照家系 control family	G4-Ctrl	30.1	0.03

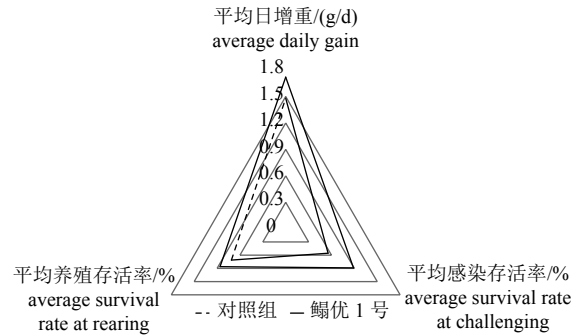


图 1 “鲟优 1 号”与对照组主要经济性状比较图

Fig. 1 Comparison of main economic traits between “Tayou No.1” and control group

2.4 “鲟优 1 号”家系 GEBV

2018 年，课题组在山东莱州繁育半滑舌鲟“鲟优 1 号”家系，并和对照家系一起进行了哈维氏弧菌人工感染实验。结果显示，“鲟优 1 号”家系平均感染存活率为 83.6%，对照家系平均感染存活率为 28.9%；“鲟优 1 号”家系 GEBV 均值为 0.162，明显高于对照家系平均 GEBV (-0.169)(表 3)。由此可知，基因组选择技术结合家系选育能够有效提高半滑舌鲟抗哈维氏弧菌感染的能力。

表 3 半滑舌鲟“鲟优 1 号”家系和对照家系基因组育种值比较

Tab. 3 Comparison of GEBV between the *C. semilaevis* “Tayou No.1” families and control family

家系类别 classification of family	家系编号 family ID	感染后存活率/% survival rate after infection	基因组估计 育种值 GEBV
“鲟优 1 号”	TY	83.6	0.162
对照家系	control	28.9	-0.169

3 讨论

本课题组综合利用群体选育、家系选育和基因组选择等技术手段，改良了半滑舌鲟生长和抗病 2 个关键经济性状，并成功培育出我国首个半滑舌鲟速生抗病新品种“鲟优 1 号”。2018 年，在唐山市维卓水产养殖有限公司进行的生产性对比实验中可以发现，“鲟优 1 号”的养殖存活率显著高于对照组，原因是养殖期间暴发了多次以弧菌为主要致病菌的细菌性疾病，死亡率很高。“鲟优 1 号”在疾病自然暴发期间依然保有较高的存活率，进一步表明抗病性状的改良是有效的。纵观整个选育过程，我们认为成功提高半滑舌鲟的抗病力离不开以下几方面的工作：第一，建立家系，保证充足的选育材料。不同家系的抗病力不同，

意味着选育群体具有丰富的表型变异和足够的选择差, 能够满足长期选育的需求。第二, 获取准确的抗病表型。人工感染实验和养殖区域内自然暴发疾病均可获取抗病表型^[8]。然而, 自然发病期间引起个体死亡的因素较多, 不易确定个体死亡是否主要由疾病引起, 并且疾病暴发初期会采取预防措施, 导致收集的抗病表型不准确, 从而影响遗传参数评估的准确性。在“鲷优 1 号”培育过程中, 实验均采用腹腔注射病原菌的方式获取抗病表型, 这样不仅可以确定病原菌是导致个体死亡的主要因素, 还可以保证实验条件和结果的稳定。第三, 建立了基因组选择育种技术平台。选择准确性是影响遗传进展的重要因素之一。研究表明, 基因组选择方法预测鱼类抗细菌病育种值的准确性高于传统的基于系谱的估算方法 (PBLUP)。Vallejo 等^[15]报道了使用 BayesB 预测虹鳟抗细菌性冷水病育种值的准确性 (0.71) 远高于 PBLUP (0.34), Lu 等^[19]和 Joshi 等^[20]分别报道了加权基因组最佳线性无偏预测和 BayesC 预测罗非鱼抗无乳链球菌育种值的准确性 (0.47 和 0.78) 均高于传统方法 (0.18 和 0.49), Palaiokostas 等^[25]在金头鲷 (*Sparus aurata*) 抗巴斯德氏菌病的研究中发现, BayesA 的预测准确性 (0.46) 优于 PBLUP 的准确性 (0.30)。此外, Lu 等^[23]报道了仅需使用数目高于 1 k 的单核苷酸多态性 (SNP) 标记, 基因组最佳线性无偏预测 (GBLUP) 估算半滑舌鲷抗哈维氏弧菌 GEBV 的准确性即可高于 PBLUP。在新品种“鲷优 1 号”培育过程中, 从第三代选育开始利用基因组选择技术改良半滑舌鲷抗哈维氏弧菌这一性状, 保证了选择准确性, 提高了遗传进展。第四, 多点生产养殖实验。表型同时受到基因和环境的影响, 同一基因型在不同环境下的表现可能不同。在“鲷优 1 号”培育过程中, 课题组在多地培育“鲷优 1 号”苗种, 并在山东、河北和天津等地测定生产性能。统计各地的生产记录, 表明“鲷优 1 号”的主要生产性能稳定, 在不同养殖地区均有较好的适应性。

半滑舌鲷新品种“鲷优 1 号”的成功培育不仅为我国水产养殖种业增添了良种, 同时也为其他水产养殖动物的良种培育提供了重要经验。现阶段, 鱼类的生长和抗病等性状还有很大的改良空间^[26]。未来, 半滑舌鲷良种培育还可从以下方面进行深入研究, 达到精准、定向育种的目的。第一, 选用预测准确性更高的基因组选择方法。无论使用 GBLUP 还是贝叶斯方法, 计算 GEBV 时

只利用了测序个体的信息, 大量未测序个体的数据没有充分利用。因此, 需要评估“一步法”GBLUP^[27-28]和加权“一步法”GBLUP^[29-30]预测 GEBV 的准确性, 充分整合、利用长期选育过程中累积的育种数据。此外, 近几年人工智能技术的飞速发展也为开发更高效、更准确的基因组选择方法提供了新的思路^[31-33]。第二, 应用高效基因分型平台。利用基因组选择技术进行育种的过程中, 对候选个体进行快速、准确的基因分型是一项重要的工作。除重测序技术外, SNP 芯片也是常用的高效分型手段。相比重测序, 使用 SNP 芯片可以节约基因分型成本和时间成本。目前, SNP 芯片已应用至大西洋鲑、虹鳟、鲈和罗非鱼等鱼类基因组选择的研究中, 如大西洋鲑 132 k SNP 芯片^[34]、虹鳟 57 k SNP 芯片^[35]、鲈 250 k SNP 芯片^[36]和罗非鱼 58 k SNP 芯片^[37]。此外, 国内也研制了牙鲆 50 k SNP 芯片“鱼芯 1 号”^[38]、大黄鱼 600 k SNP 芯片“宁芯 1 号”^[39]和长牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 190 k SNP 芯片^[40]等, 这些 SNP 芯片的成功研制为群体遗传学、分子育种和良种创制的研究工作提供了便捷、高效的工具。目前, 我们基于半滑舌鲷全基因组精细图谱^[41]和半滑舌鲷高质量全基因组重测序数据, 自主设计位点筛选策略, 研发了半滑舌鲷 38 k SNP 基因芯片, 并将其命名为“鲷芯 1 号”^[23]。研究表明, 使用“鲷芯 1 号”SNP 芯片得到的基因型和重测序得到的基因型的一致性为 94.8%, 分型准确性高, 保障了计算 GEBV 的准确性^[23]。因此, “鲷芯 1 号”SNP 芯片的研发为提高半滑舌鲷抗病性状选育效率、培育半滑舌鲷良种提供了有效的工具, 为基因组选择技术和 SNP 芯片在半滑舌鲷良种选育中的推广应用奠定了基础。第三, 开展半滑舌鲷联合育种, 构建半滑舌鲷优良遗传资源共享平台, 扩大育种群体规模, 进一步提高选育效率, 增强苗种在不同养殖环境下主要经济性状的稳定性。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] 柳学周, 庄志猛, 马爱军, 等. 半滑舌鲷繁殖生物学及繁育技术研究[J]. 海洋水产研究, 2005, 26(5): 7-14.

Liu X Z, Zhuang Z M, Ma A J, et al. Reproductive biology and breeding technology of *Cynoglossus semilaevis* Günther[J]. Marine Fisheries Research, 2005, 26(5): 7-

- 14 (in Chinese).
- [2] 杨景峰, 陈松林, 翟介明, 等. 半滑舌鳎人工催产技术研究[J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版), 2010, 25(2): 185-187+190.
Yang J F, Chen S L, Zhai J M, *et al.* Artificial propagation of half-smooth tongue-sole, *Cynoglossus semilaevis*[J]. Journal of Inner Mongolia University for Nationalities, 2010, 25(2): 185-187+190 (in Chinese).
- [3] Tang X Q, Zhou L, Zhan W B. Isolation and characterization of pathogenic *Listonella anguillarum* of diseased half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis* Günther)[J]. *Journal of Ocean University of China*, 2008, 7: 343-351.
- [4] 胡璇, 孙敬锋, 陈成勋, 等. 养殖半滑舌鳎腹水病的病原分离鉴定及药物敏感性分析[J]. 天津农学院学报, 2014, 21(3): 12-16.
Hu X, Sun J F, Chen C X, *et al.* Isolation and identification of pathogen of ascites disease from *Cynoglossus semilaevis* Günther and its antibiotic sensitivity analysis[J]. *Journal of Tianjin Agricultural University*, 2014, 21(3): 12-16 (in Chinese).
- [5] 徐晓丽, 邵蓬, 李贺密, 等. 半滑舌鳎体表溃疡病病原的分离鉴定[J]. 中国海洋大学学报, 2015, 45(11): 29-35.
Xu X L, Shao P, Li H M, *et al.* Isolation and identification of the pathogens of the skin ulceration of disease of *Cynoglossus semilaevis*[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2015, 45(11): 29-35 (in Chinese).
- [6] Han Z R, Sun J F, Lv A J, *et al.* Isolation, identification and characterization of *Shewanella algae* from reared tongue sole, *Cynoglossus semilaevis* Günther[J]. *Aquaculture*, 2017, 468: 356-362.
- [7] 胡秀彩, 王英杰, 吕爱军, 等. 半滑舌鳎创伤弧菌分离鉴定及其荧光定量PCR方法的建立[J]. 水产学报, 2019, 43(5): 1359-1368.
Hu X C, Wang Y J, Lü A J, *et al.* Isolation and identification of *Vibrio vulnificus* from *Cynoglossus semilaevis* and establishment of fluorescence quantitative PCR technique[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(5): 1359-1368 (in Chinese).
- [8] Houston R D. Future directions in breeding for disease resistance in aquaculture species[J]. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2017, 46: 545-551.
- [9] Li Y Z, Wang L, Yang Y M, *et al.* Genetic analysis of disease resistance to *Vibrio harveyi* by challenge test in Chinese tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*)[J]. *Aquaculture*, 2019, 503: 430-435.
- [10] 卢昇, 李泽宇, 李仰真, 等. 半滑舌鳎抗哈维氏弧菌病的遗传力和育种值分析[J]. 农业生物技术学报, 2018, 26(1): 1770-1777.
Lu S, Li Z Y, Li Y Z, *et al.* Analyzing of heritability and breeding values for resistance against *Vibrio harveyi* in Chinese tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*)[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2018, 26(1): 1770-1777 (in Chinese).
- [11] Liu F, Yang Y M, Li Y Z, *et al.* Phenotypic and genetic parameter estimation of juvenile growth and bottom color traits in half-smooth tongue sole, *Cynoglossus semilaevis*[J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2016, 35(10): 83-87.
- [12] Meuwissen T H E, Hayes B J, Goddard M E. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps[J]. *Genetics*, 2001, 157(4): 1819-1829.
- [13] 陈松林, 徐文腾, 刘洋. 鱼类基因组研究十年回顾与展望[J]. 水产学报, 2019, 43(1): 1-14.
Chen S L, Xu W T, Liu Y. Fish genomic research: decade review and prospect[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(1): 1-14 (in Chinese).
- [14] Kjetså M H, Ødegård J, Meuwissen T H E. Accuracy of genomic prediction of host resistance to salmon lice in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using imputed high-density genotypes[J]. *Aquaculture*, 2020, 526: 735415.
- [15] Vallejo R L, Leeds T D, Gao D, *et al.* Genomic selection models double the accuracy of predicted breeding values for bacterial cold water disease resistance compared to a traditional pedigree-based model in rainbow trout aquaculture[J]. *Genetics Selection Evolution*, 2017, 49: 17.
- [16] Liu Y, Lu S, Liu F, *et al.* Genomic selection using BayesC π and GBLUP for resistance against *Edwardsiella tarda* in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. *Marine Biotechnology*, 2018, 20(5): 559-565.
- [17] Lu S, Liu Y, Yu X, *et al.* Prediction of genomic breeding values based on pre-selected SNPs using ssGBLUP, WssGBLUP and BayesB for Edwardsiellosis resistance in Japanese flounder[J]. *Genetics Selection Evolution*, 2020, 52: 49.
- [18] Zhao J, Bai H Q, Ke Q Z, *et al.* Genomic selection for parasitic ciliate *Cryptocaryon irritans* resistance in large yellow croaker[J]. *Aquaculture*, 2021, 531: 735786.
- [19] Lu S, Zhu J J, Du X, *et al.* Genomic selection for resistance to *Streptococcus agalactiae* in GIFT strain of *Oreochromis niloticus* by GBLUP, wGBLUP, and Bayes-

- Сπ[J]. *Aquaculture*, 2020, 523: 735212.
- [20] Joshi R, Skaarud A, Alvarez A T, *et al.* Bayesian genomic models boost prediction accuracy for survival to *Streptococcus agalactiae* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Genetics Selection Evolution*, 2021, 53: 37.
- [21] Zhang Y, Liu Z, Li H. Genomic prediction of columnaris disease resistance in catfish[J]. *Marine Biotechnology*, 2020, 22: 145-151.
- [22] 陈松林, 杜民, 杨景峰, 等. 半滑舌鳎家系建立及其生长和抗病性能测定[J]. *水产学报*, 2010, 34(12): 1789-1794.
- CHEN S L, DU M, YANG J F, *et al.* Development and characterization for growth rate and disease resistance of families in half-smooth tongue sole(*Cynoglossus semilaevis*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2010, 34(12): 1789-1794 (in Chinese).
- [23] Lu S, Zhou Q, Chen Y D, *et al.* Development of a 38 k single nucleotide polymorphism array and application in genomic selection for resistance against *Vibrio harveyi* in Chinese tongue sole, *Cynoglossus semilaevis*[J]. *Genomics*, 2021, 113(4): 1838-1844.
- [24] VanRaden P M. Efficient methods to compute genomic predictions[J]. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91(11): 4414-4423.
- [25] Palaiokostas C, Ferrareso S, Franch R, *et al.* Genomic prediction of resistance to pasteurellosis in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) using 2b-RAD sequencing[J]. *G3 (Bethesda)*, 2016, 6(11): 3693-3700.
- [26] Gjedrem T. Disease resistant fish and shellfish are within reach: a review[J]. *Journal of Marine Science and Engineering*, 2015, 3: 146-153.
- [27] Misztal I, Legarra A, Aguilar I. Computing procedures for genetic evaluation including phenotypic, full pedigree, and genomic information[J]. *Journal of Dairy Science*, 2009, 92(9): 4648-4655.
- [28] Christensen O F, Lund M S. Genomic prediction when some animals are not genotyped[J]. *Genetics Selection Evolution*, 2010, 42: 2.
- [29] Wang H Y, Misztal I, Aguilar I. Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes[J]. *Genetics Research*, 2012, 92(2): 73-83.
- [30] Zhang X Y, Lourenco D, Aguilar I, *et al.* Weighting strategies for single-step genomic BLUP: an iterative approach for accurate calculation of GEBV and GWAS[J]. *Frontiers in Genetics*, 2016, 7: 151.
- [31] Li B, Zhang N X, Wang Y G, *et al.* Genomic prediction of breeding values using a subset of SNPs identified by three machine learning methods[J]. *Frontiers in Genetics*, 2018, 9: 237.
- [32] Perez-Enciso, M, Zingaretti L M. A guide for using deep learning for complex trait genomic prediction[J]. *Genes*, 2019, 10(7): 553.
- [33] Piles M, Bergsma R, Gianola D, *et al.* Feature selection stability and accuracy of prediction models for genomic prediction of residual feed intake in pigs using machine learning[J]. *Frontiers in Genetics*, 2021, 12: 137.
- [34] Houston R D, Taggart J B, Cézard T, *et al.* Development and validation of a high density SNP genotyping array for Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J]. *BMC Genomics*, 2014, 15: 90.
- [35] Palti Y, Gao G, Liu S, *et al.* The development and characterization of a 57K single nucleotide polymorphism array for rainbow trout[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2015, 15(3): 662-672.
- [36] Liu S K, Sun L Y, Li Y, *et al.* Development of the catfish 250K SNP array for genome-wide association studies[J]. *BMC Research Notes*, 2014, 7: 135.
- [37] Joshi R, Árnýasi M, Lien S, *et al.* Development and validation of 58K SNP-array and high-density linkage map in Nile tilapia (*O. niloticus*)[J]. *Frontiers in Genetics*, 2018, 9: 472.
- [38] Zhou Q, Chen Y D, Lu S, *et al.* Development of a 50K SNP array for Japanese flounder and its application in genomic selection for disease resistance[J]. *Engineering*, 2021, 7(3): 406-411.
- [39] Zhou T, Chen B H, Ke Q Z, *et al.* Development and evaluation of a high-throughput single-nucleotide polymorphism array for large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. *Frontiers in Genetics*, 2020, 11: 571751.
- [40] Qi H G, Song K, Li C Y, *et al.* Construction and evaluation of a high-density SNP array for the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)[J]. *PLoS ONE*, 2017, 12(3): e0174007.
- [41] Chen S L, Zhang G J, Shao C W, *et al.* Whole-genome sequence of a flatfish provides insights into ZW sex chromosome evolution and adaptation to a benthic life-style[J]. *Nature Genetics*, 2014, 46(3): 253-260.

Application of genomic selection in the breeding of new variety of Chinese tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) “Tayou No.1”

LU Sheng^{1,2}, LI Yangzhen², WANG Lei², LIU Yang², CHENG Xiangming³,
ZHOU Qian², YANG Yingming², ZHENG Weiwei², CHEN Songlin^{1,2*}

(1. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China;

2. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

3. Weizhuo Aquaculture Co., Ltd., Tangshan 063200, China)

Abstract: To improve the germplasm resources of *C. semilaevis* (*Cynoglossus semilaevis*), a four-generation consecutive family selection was carried out for fast growth and *Vibrio harveyi* resistance. Starting from the third generation, we calculated the genomic estimated breeding value (GEBV) of *V. harveyi* resistance in *C. semilaevis* through the genomic best linear unbiased prediction and considered the families with high GEBV and infection survival rates as the superior disease-resistant family. In third-generation selection, we obtained 12 superior families. Their average infection survival rate (85.4%) and average GEBV (1.13) were higher than those of the control group (52.2%; 0.27). In fourth-generation selection, 5 families were selected as the superior disease-resistant families, and their average infection survival rate and average GEBV were 71.5% and 0.24, respectively. However, those of the control group were 30.1% and 0.03. After the four-generation consecutive selection, we cultivated the first new variety of *C. semilaevis* in China using the superior families with disease resistance and fast growth. Compared with the unimproved *C. semilaevis* population, the new variety “Tayou No.1” had 30.9% increase of survival rate after *V. harveyi* challenging, the body weight at 18-month-old increased by an average of 17.7%, and the survival rate in rearing improved 15.7% on average. The successful cultivation of *C. semilaevis* “Tayou No. 1” has added a good variety to the aquaculture breeding industry, promoted the development of the molecular breeding technology of *C. semilaevis*, and laid a foundation for the application of genomic selection in the aquatic breeding.

Key words: *Cynoglossus semilaevis*; family selection; genomic selection; selective breeding

Corresponding author: CHEN Songlin. E-mail: chensl@ysfri.ac.cn

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31530078); Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, CAFS (2020TD20), Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, YSFRI, CAFS (20603022021001); Taishan Scholar Project of Shandong Province