

CRISPR/Cas9基因编辑技术在鱼类育种中的应用和展望

张龙岗*, 王俊鹏, 和 飞, 王锡荣, 刘 飞, 孟庆磊[#]

山东省淡水渔业研究院, 山东 济南

收稿日期: 2025年10月5日; 录用日期: 2025年11月4日; 发布日期: 2025年11月14日

摘 要

传统育种技术为提高鱼类产量做出了突出贡献。为满足人们对优质蛋白日益增长的需求, 亟需应用新技术加速育种进程, 以进一步提升鱼类产量。CRISPR/Cas9基因编辑技术在编辑基因方面因具有速度快、成本低、精度高等优点, 已成为加快物种遗传改良进程的重要工具。文章介绍了CRISPR/Cas9基因编辑技术的原理, 综述了其在鱼类育种中的应用现状和面临的挑战, 并展望了未来的发展方向, 以期为该技术在鱼类优良性状遗传改良中的应用提供一定参考。

关键词

基因编辑, CRISPR/Cas9, 鱼类, 育种, 性状

Application and Prospect of CRISPR/Cas9 Gene-Editing Technology in Fish Breeding

Longgang Zhang*, Junpeng Wang, Fei He, Xirong Wang, Fei Liu, Qinglei Meng[#]

Shandong Freshwater Fisheries Research Institute, Jinan Shandong

Received: October 5, 2025; accepted: November 4, 2025; published: November 14, 2025

Abstract

Traditional breeding techniques have made outstanding contributions to improving fish yields. To meet the growing demand for high-quality protein, there is an urgent need to apply new technologies to accelerate the breeding process and further increase fish production. The CRISPR/Cas9

*第一作者。

[#]通讯作者。

文章引用: 张龙岗, 王俊鹏, 和飞, 王锡荣, 刘飞, 孟庆磊. CRISPR/Cas9 基因编辑技术在鱼类育种中的应用和展望[J]. 农业科学, 2025, 15(11): 1335-1344. DOI: 10.12677/hjas.2025.1511168

gene-editing technology, with advantages such as high speed, low cost, and high precision in gene editing, has become an important tool for accelerating the genetic improvement of species. This article introduces the principle of CRISPR/Cas9 gene-editing technology, reviews its application status and challenges in fish breeding, and looks forward to its future development directions, aiming to provide certain references for the application of this technology in the genetic improvement of excellent traits in fish.

Keywords

Gene Editing, CRISPR/Cas9, Fish, Breeding, Traits

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

随着“大食物观”战略的深化推进，水产品正从传统美食转型为国民健康管理的核心载体。水产品为我国居民提供了 30% 的优质动物蛋白。其中，鱼类消费量约占全部食用水产品消费量的 60%，是人类最重要的蛋白质来源之一[1]。根据世界粮农组织统计，已超 600 余种鱼类被人工养殖作为食用水产品。然而，只有不到 10% 的鱼类养殖品种是通过人工育种进行了遗传改良，大多数养殖鱼类苗种来源至今仍是未经选育种[2]。鱼类育种中最常用的是选择育种、杂交育种等手段，在约 50 种重要鱼类养殖品种的遗传改良中发挥了重要作用[3] [4]，但这种方法也存在一些缺点：如近交衰退严重、选育时间长、可选择性状有限、难以同时改良多个性状等，科研人员亟需采取更有效的方法来加快鱼类优良性状的遗传改良进程。

基因编辑技术是指特异性改变目标基因序列的技术。上世纪 80 年代，科学家在小鼠胚胎干细胞中通过基因打靶技术实现了基因编辑[5]，但此技术在其余细胞内效率极低，应用受到了极大的限制。此后，基因编辑技术的发展又经历了锌指核酸酶(ZFNs)技术、转录激活样因子核酸酶(TALENs)技术和规律成簇的间隔短回文重复序列(CRISPR)技术[6]。因 CRISPR 技术具有识别序列广泛、效率高、操作简单、成本低等优点[7]，近年来，CRISPR-Cas9 基因编辑技术日益受到水产科研工作者青睐，为加快鱼类遗传改良进程提供了一种便捷且有效的育种工具[8]。

本文介绍了 CRISPR/Cas9 基因编辑技术的原理，综述了其在鱼类育种中的应用现状和面临的挑战，并展望了未来的发展方向，以期能为基因编辑技术在鱼类优良性状遗传改良中的应用提供一定参考。

2. CRISPR/Cas9 基因编辑技术概述

CRISPR/Cas9 是细菌和古细菌在长期演化过程中形成的一种适应性免疫防御，可用来对抗入侵的病毒及外源 DNA。CRISPR/Cas9 系统通过将入侵噬菌体和质粒 DNA 的片段整合到 CRISPR 中，并利用相应的 CRISPRRNAs(crRNAs)来指导同源序列的降解，从而提供免疫性。CRISPR 是一段 DNA 序列，其中包含有重复和间隔的片段；Cas9 是一种酶，能够与 CRISPR 序列结合并切割 DNA。CRISPR/Cas9 技术的基本原理是通过人工设计的 sgRNA 来识别目的基因组序列，将 Cas9 酶引导到特定的 DNA 序列上，并引导 Cas9 蛋白酶进行有效切割 DNA 双链，DNA 损伤后修复会造成基因敲除或敲入或特异突变，最终达到对基因组 DNA 进行改造的目的[9]。该技术的原理如图 1 所示。

2012 年，Martin 等证实 CRISPR/Cas9 可作为可编程的基因编辑工具[10]；2013 年，张锋团队首次在

人类细胞及小鼠细胞中成功应用 CRISPR/Cas9 实现了基因编辑，推动其在真核生物中的普及[11]。2013 年，CRISPR/Cas9 技术被成功应用于斑马鱼[6]，为后续经济鱼类基因编辑的广泛应用和跨学科发展开辟了道路。近年来，基因编辑技术发展迅速，被视为一项颠覆性技术，其在医疗领域、农业领域、生物合成领域等多个领域展现出了巨大价值。在鱼类研究中已成功用于斑马鱼[6]、尼罗罗非鱼[12]、大西洋鲑鱼[13]、大西洋鲑鱼[14]和虹鳟[15]、团头鲂[16]等重要鱼类品种，并且已创制出具有优良表型性状的新种质。

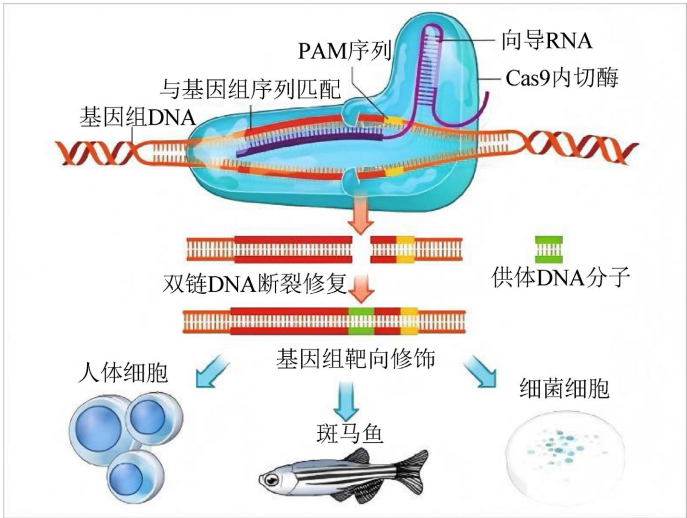


Figure 1. Editing mechanism of CRISPR/Cas9 system
图 1. CRISPR/Cas9 基因编辑技术原理图

3. 基因编辑技术在鱼类育种中的应用情况

CRISPR/Cas9 基因编辑技术因具有流程短、成本低、通用性强等优点，被科研工作者视为开展基因编辑工作的首选工具。国内外很多从事鱼类分子设计育种的专家均开始采用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术进行特殊位点的定点敲除突变，用于基因功能分析和新品种选育。目前，CRISPR/Cas9 基因编辑技术已在 20 余种经济鱼类中进行了基因功能及育种研究，具体见表 1。

Table 1. Application of genome editing techniques in fish breeding
表 1. 基因组编辑技术在鱼类育种中的应用

目标性状	物种	基因名称	参考文献
生长	团头鲂	mdh	[17]
	尼罗罗非鱼	mstnb	[18]
	鲤鱼	mstnba	[19]
	银鲫	pik3r1	[20]
	牙鲆	MSTN	[21]
抗病	蓝鲮鱼	As-Cath	[22]
	斑马鱼	isg15	[23]
	斑马鱼	irf3	[24]
	斑马鱼	IL-6	[25]
	大西洋鲑	Mavs 和 irf3	[26]
	团头鲂	socs1a 和 socs1b	[27]
	草鱼	gcJAM-A	[28]

续表

抗逆	尼罗罗非鱼	setd7	[29]
	斑马鱼	hsp70	[30]
	斑马鱼	sod1	[31]
	斑马鱼	Sirt7	[32]
性别	银鲫	foxl2aB、foxl2b-A 和 foxl2b-B	[33]
	银鲫	gsdf-A 或 gsdf-B	[34]
	鲤	cyp17a1	[35]
体色	尼罗罗非鱼	pmela 和 pmelb	[36]
	尼罗罗非鱼	hps4	[37]
	尼罗罗非鱼	csflra	[38]
	红罗非鱼	tyrb	[39]
	瓯江彩鲤	MC1R	[40]
	瓯江彩鲤	tyr	[41]
	瓯江彩鲤	asip1 和 asip2	[42]
肌间刺	鲫	bmp6	[43]
	鲤	sp7a 和 sp7b	[44]
	斑马鱼	scxa	[45]
	斑马鱼	runx2b	[46]
	团头鲂	runx2b	[47]
	草鱼	runx2b	[48]
	异育银鲫	runx2b	[49]
	斑马鱼	bmp6	[50]

3.1. 生长性状

在鱼类育种领域，提高鱼类的生长速率是研究者和业界共同追求的重要目标。通过精准编辑鱼类生长激素基因或相关信号通路基因，可以显著促进其生长发育速度或饲料转化率。郭丹丹等[17]利用 CRISPR 基因组编辑技术敲除团头鲂的 mdh 基因，发现突变体明显小于野生型，且 qPCR 结果显示 mdh 基因的缺失对生肌决定因子和肌纤维类型因子也有显著影响。西南大学 Wu 等[18]利用 CRISPR 基因组编辑技术敲除了罗非鱼 mstnb 基因，发现 5 月龄 mstnb 突变体鱼具有明显的双肌表型。苏州大学的 Zhong 等[19]采用 CRISPR/Cas9 敲除鲤鱼 mstnba 基因，发现 3 月龄时 F0 突变体鲤的体重增加了 20%，体长增加了 12.5%。Huang 等[20]对银鲫 pik3r1 基因进行敲除，在 F0 中获得了缺失 4bp (TACG)的突变体，并采用雌核发育构建了银鲫 F2 群体，4 个月的同池塘生长对比实验表明 F2 群体的体重比野生型增加了 1 倍，8 周的饲料转化率试验结果表明饲料转化率提升了约 10%。KIM 等[21]采用 CRISPR 技术对牙鲆 MSTN 基因进行了敲除，经过筛选，在 F1 中获得了杂合双等位基因突变体，表现为身体增厚，肥满度增加。

3.2. 抗病相关性状

在鱼类基因编辑育种的应用中，改善鱼类的抗病能力是另一个重要的研究方向，通过精确的修改基因组中与鱼类免疫系统相关的特定基因，可有效增强其对病原体的抵抗力，减少疾病的发生，降低养殖成本。Wang 等[22]通过 CRISPR-Cas9 辅助系统将短吻鳄抗菌肽(As-Cath)基因整合到蓝鲶鱼体内，从而增强其对抗常见致病菌黄杆菌的能力。这一改良技术有效降低了死亡率。科研人员对免疫相关基因 isg15 和 irf3 进行了基因编辑[23] [24]，发现这种基因改造使斑马鱼对病毒性出血性败血症病毒(VHSV)的易感性

显著增加。Zhai 等[25]通过 CRISPR/Cas9 技术构建斑马鱼 IL-6 基因敲除品系,探究了 IL-6 在细菌感染引发肝脏反应中的作用。实验发现,感染嗜水气单胞菌后,IL-6 缺陷型斑马鱼的肝脏损伤程度较野生型斑马鱼明显减轻。科学家们通过精准编辑大西洋鲑的 *mavs* 和 *irf3* 等免疫相关基因,成功增强了其对传染性胰腺坏死病毒(IPNV)的抵抗力[26]。赵心愉等[27]成功获得了分别缺失 *socs1a* 和 *socs1b* 基因的团头鲂突变体,攻毒实验结果表明,两种基因对炎症反应的维护具有重要作用。Ma 等[28]利用 CRISPR/Cas9 敲除草鱼 *gcJAM-A* 基因,显著抑制草鱼呼肠孤病毒(GCRV)的感染,GCRV 的子代病毒产量下降 72%,细胞病变效应(CPE)显著减轻。

3.3. 抗逆相关性状

编辑与抗逆相关的基因,培育耐低氧、耐高盐或耐低温等鱼类新品系,可使鱼类更好的适应环境变化,提高养殖的稳定性和成活率。何宏阳等[29]在尼罗罗非鱼中构建了 *setd7* 基因的突变品系,发现突变鱼表现出更强的低氧耐受能力,其浮头现象出现时间显著晚于野生型,且在低氧环境下的存活时间明显延长。在应激耐受性研究方面,科学家利用 CRISPR/Cas9 技术对热休克蛋白 70 (*hsp70*)和超氧化物歧化酶 1 (*sod1*)等基因进行精准调控,这些基因在抵御高盐度或温度波动等恶劣环境时发挥着关键作用,可有效缓解氧化应激并增强生物存活率[30] [31]。Liao 等[32]通过 CRISPR/Cas9 技术构建了 *Sirt7* 基因缺失品系,发现敲除 *sirt7* 基因后,斑马鱼红细胞数量增加 38%,耐低氧存活率提升 55%,且不影响正常发育。CRISPR/Cas9 技术已在鱼类抗温、耐低氧育种中展现出巨大潜力,为解决水产养殖中的环境制约问题提供了新途径。

3.4. 性别与体色相关性状

针对某些鱼类性别与生长速度相关的特点,通过基因编辑控制性别,获得全雌或者全雄群体,提高养殖产量。Gan 等[33]通过敲除银鲫 *foxl2aB* 基因,导致 F0 突变体卵巢发育停止或完全性逆转,而同时敲除 *foxl2b-A* 和 *foxl2b-B* 基因后发现 F0 突变体不育。而 Wang 等[34]敲除银鲫 *gsdf-A* 或 *gsdf-B* 导致约 80%的雄性突变体性逆转为雌性,而完全敲除 *gsdf-A* 和 *gsdf-B* 则导致 F2 中全部雄性突变体性逆转为雌性。Zhai 等[35]通过敲除鲤鱼的 *cyp17a1* 基因,获得了鲤全雄群体。另外,编辑色素合成相关的基因可以控制鱼的体色,获得色彩鲜艳的观赏鱼品种,满足观赏鱼市场的需求。西南大学采用 CRISPR 技术突变了罗非鱼数十个体色形成关键基因,创制出金色、银白色、白化、灰色和灰体黑尾的罗非鱼,使其成为当前通过基因组编辑建立突变系最多的养殖鱼类。其中,发现纯合突变黑色素前体蛋白关键编码基因 *pmela* 和 *pmelb*,创制出了金色罗非鱼[36];突变纯合突变黑色素合成关键基因 *hps4*,创制出银白色罗非鱼[37];突变黄色素细胞分化的关键基因 *csflra*,创制出灰色和灰体黑尾罗非鱼[38];通过突变黑色素合成酶关键基因 *tyrb* 导致完全白化的表型,在红罗非鱼中突变 *tyrb* 导致黑色素细胞缺失但并不影响红色素细胞的存在,结合性别连锁的分子标记辅助技术获得 *tyrb* 缺失的 YY 超雄红罗非鱼,与 XX 红罗非鱼繁殖,建立了遗传全雄无黑斑红罗非鱼的生产技术[39]。Mandal 等[40]利用 CRISPR 技术敲除 MC1R 基因构建了瓯江彩鲤 F0 突变系,发现其皮肤黑色素显著性减少。Xu 等[41]通过敲除瓯江彩鲤中 2 个 *tyr* 同源基因,获得了无黑色素的金黄色瓯江彩鲤 F0 突变体。Chen 等[42]利用 CRISPR 技术成功敲除瓯江彩鲤中的 *asip1* 和 *asip2* 基因发现缺失 *asip1* 和 *asip2* 基因的瓯江彩鲤突变体黑色斑块消失。

3.5. 肌间刺性状

通过敲除调控鱼刺发育的关键基因,培育少刺或无刺鱼类,解决了人们吃鱼卡刺的问题,也降低了鱼类加工的难度,具有重要的经济和社会价值。匡友谊等[43]通过敲除鲫的 *bmp6* 基因,对 F3 群体的骨染色和 X 光扫描结果表明,F3 代突变体肌间刺完全缺失,获得了无肌间刺鲫新种质。仲兆民等[44]利用

CRISPR 技术敲除了鲤鱼 *sp7a* 及 *sp7b* 基因, 结果发现 *sp7a* 的突变体肌间刺变短以及部分骨缺损, 存在严重的骨发育异常现象。聂春红等[45][46]利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术分别获得了 *scxa* 与 *runx2b* 基因突变斑马鱼, *scxa*^{-/-}突变体的 IBs 数量显著减少约 70%, *runx2b*^{-/-}突变体的 IBs 则完全缺失。Dong 等[47]在团头鲂 *runx2b* 突变 F1 代群体中筛选到了完全无肌间刺个体, 且无肌间刺个体的肌肉营养成分与野生型个体无显著差异; 王在银[48]在草鱼 *runx2b* 突变 F1 代中筛选到完全无肌间刺个体, 除肌间刺完全缺失外, 其骨组织密度以及脂肪、肌肉体积均与野生型草鱼无显著性差异; Gan 等[49]利用 CRISPR 技术在异育银鲫中突变 *runx2b* 基因, 也获得了完全无肌间刺个体。Xu 等[50]构建的斑马鱼 *bmp6* 基因突变品系也表现出肌间刺显著减少或完全缺失的情况。

4. 基因编辑技术在鱼类育种中面临的挑战

尽管 CRISPR-Cas9 基因编辑技术在鱼类育种应用中展现出巨大潜力, 但其大规模应用仍面临巨大的挑战。

4.1. 技术层面

首先, 基因编辑技术面临编辑效率与精准性难题。部分海水鱼类品种的受精卵卵膜较硬, 显微注射困难, 且不同品种鱼类胚胎发育速度不同且发育速度快, 基因编辑工具的递送时间窗口极短, 易发生部分编辑成功部分嵌合的现象, 致使后代性状不一致, 增加了后续筛选的难度。部分鱼类存在多倍体情况, 存在多个等位基因, 需要同时编辑所有同源基因才能够完全敲除目标基因, 技术难度远远高于普通二倍体鱼类, 常因编辑不彻底导致性状表达不稳定。其次, 存在脱靶效应。基因编辑工具可能在非目标基因组区域产生意外切割, 导致脱靶突变, 引发未知的生理异常。再者, 鱼类有些经济性状可能由多基因协同调控, 单一基因编辑效果有限, 难以显著改良性状。另外, 技术层面还存在遗传稳定性与世代传递丢失风险。目标性状可能在繁殖过程中因基因重组或突变而丢失, 增加育种周期及成本。

4.2. 生物安全风险层面

因编辑育种导致的生物安全风险, 一般可归为生态安全风险和食品安全风险。生态安全方面, 鱼类在养殖过程中发生的逃逸比陆生种养动植物的逃逸更为隐蔽, 可逃逸的距离更远[51], 且更难以实现有效、快速的鉴别和回捕[52]。若基因编辑鱼类逃逸至自然水域, 可能通过杂交将编辑基因导入野生群体, 改变种群遗传结构或导致野生种群遗传多样性下降, 造成野生种群基因污染。另外, 基因编辑过程中产生的基因漂移现象也可能对生态系统造成破坏, 基因漂移可能造成有益基因的丢失或有害基因的扩散, 从而影响生态系统的稳定性和多样性。食品安全方面, 鱼类基因编辑育种过程中因原有 DNA 编码区发生改变, 形成与原编码蛋白不一样的“新蛋白”, 这些“新蛋白”可能会对食物链中不同层级的消费者、甚至人类食用后产生毒理学效应、过敏原效应等, 对人类健康产生潜在的影响, 引发食品安全隐患。

4.3. 伦理与社会接受度层面

在鱼类基因编辑育种过程中, 还存在着伦理及社会道德层面的风险和挑战。基因编辑过程中, 可能会对鱼类造成一定的痛苦与伤害, 如操作不当造成鱼类身体损伤或生理功能异常, 影响其正常的生活和生存质量, 这涉及到对动物福利的考量, 容易引起动物保护组织的反对。另外, 基因编辑鱼类的食品安全问题备受关注。公众对基因编辑技术的了解有限, 容易产生误解及恐慌。虽然目前有研究表明基因编辑可以改良鱼类的遗传性状, 提高其营养价值, 但也有观点认为基因编辑可能会导致一些未知的风险, 如产生新的过敏原或毒素, 对人体健康造成潜在威胁, 并影响其商业化推广, 进而影响社会接受度。例如, 虽然无刺鱼等基因编辑育种中未插入外源基因, 但是“基因编辑”标签仍可能会像“转基因食品”一

样引发消费抵触。此外，媒体的报道也可能影响公众的认知，如果报道不准确或过于强调风险，可能会加剧公众的抵触情绪。

4.4. 监管与商业化层面

基因编辑全球监管标准并不一致，目前没有国际公认的基因编辑动物监管框架。美国将基因编辑鱼视为“转基因动物”，需通过 FDA 严格审批；欧盟则将其视为“新食品”，审批流程复杂，商业化进展缓慢；而中国将基因编辑动物按照转基因生物管理条例管理，要想上市必须完成相关申报及测试工作，周期长，要求严。目前我国尚未发布有关农用基因编辑动物的安全评价指南，尚无基因编辑动物通过生物安全论证。

目前，全球范围内仅有日本和阿根廷两个国家批准了基因编辑鱼上市。大多数国家对基因编辑生物的监管框架尚不完善，现有的转基因生物监管框架对基因编辑鱼类的适用性存在争议，如部分基因编辑鱼不引入外源基因片段，用传统转基因监管框架可能不适合，但是又缺乏专门针对基因编辑鱼类的具体风险评估框架和指南。商业化方面，公众对基因编辑鱼类的接受度是商业化面临的重要挑战。尽管基因编辑技术有诸多优势，但由于转基因、基因编辑等概念混淆，消费者对其安全性存在疑虑。

5. 展望

为充分发挥 CRISPR/Cas9 技术的潜力并降低相关风险，笔者认为未来研究应聚焦多个关键领域。一是加强基因编辑鱼类“可控不育”及多性状精准育种研究。通过基因编辑创制“可控不育”的鱼类新种质，然后在可控不育的基础上再聚合无肌间刺、抗病、抗逆、高饲料转化率等多性状改良，实现精准编辑定制化育种。二是改进和优化 Cas 核酸酶。通过优化 Cas 蛋白结构、开发新型 Cas 酶、改造 PAM 识别区域、筛选低免疫原性 Cas 酶等，提升基因编辑效率和特异性。三是研发新型基因编辑载体递送方法。高效、安全地将 CRISPR 组件递送至鱼类受精卵，是实现精准基因编辑的关键。优化显微注射技术、电穿孔技术等常规技术，研发纳米载体以及工程外泌体递送等新型载体递送方法是大势所趋。四是加大人工智能在基因编辑技术中的应用研究。人工智能技术通过对 CRISPR-Cas9 系统的深度学习和模型训练后，可以在优化 gRNA 的设计、降低脱靶率、提高基因编辑的效率和准确性方面发挥重要作用。此外，人工智能技术还可以通过分析大量基因编辑数据，发现潜在的基因编辑规律和靶点，为鱼类遗传性状的改良提供更多可能性。

从全球范围来看，基因编辑水产动物产业化已进入加速期。如泰国渔业局颁布《使用基因编辑技术开发水生动物的认证标准与程序》、日本批准基因编辑的速生、高饲料转化率罗非鱼上市、中国海大集团斥资 5000 万元购买“无刺草鱼”基因编辑技术等事件让基因编辑技术再次进入人们的视野。为推动我国基因编辑水产动物的产业化应用，近两年，社会各界对尽快出台基因编辑水产动物监管政策的呼声日益高涨。日前，中国科学院桂建芳院士在建言“十五五”时期水产种业发展时就提出：要推动基因编辑水产养殖动物的研发和产业化应用，参照《农业用基因编辑植物安全评价指南(试行)》和《农业用基因编辑植物评审细则》，发布农用动物基因编辑准则，制定评审流程。展望未来，随着科技的不断进步和社会的不断发展，基因编辑技术在鱼类性状改良方面将会发挥越来越大的作用。

基金项目

山东省淡水渔业研究院科研创新人才基金项目(DSY2025KC01)。

参考文献

- [1] 中国居民水产品食用消费量测算与分析报告(2023) [R]. 2023.

- [2] Yang, Z., Yu, Y., Tay, Y.X. and Yue, G.H. (2021) Genome Editing and Its Applications in Genetic Improvement in Aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, **14**, 178-191. <https://doi.org/10.1111/raq.12591>
- [3] Gjerdem, T. and Rye, M. (2016) Selection Response in Fish and Shellfish: A Review. *Reviews in Aquaculture*, **10**, 168-179. <https://doi.org/10.1111/raq.12154>
- [4] Shen, Y. and Yue, G. (2019) Current Status of Research on Aquaculture Genetics and Genomics-Information from ISGA 2018. *Aquaculture and Fisheries*, **4**, 43-47. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2018.11.001>
- [5] Leung, C. and Jia, Z. (2016) Mouse Genetic Models of Human Brain Disorders. *Frontiers in Genetics*, **7**, Article 40. <https://doi.org/10.3389/fgene.2016.00040>
- [6] Hwang, W.Y., Fu, Y., Reyon, D., Maeder, M.L., Tsai, S.Q., Sander, J.D., *et al.* (2013) Efficient Genome Editing in Zebrafish Using a Crispr-Cas System. *Nature Biotechnology*, **31**, 227-229. <https://doi.org/10.1038/nbt.2501>
- [7] Martinez, E.A., Angel, M.A., Cuello, C., Sanchez-Osorio, J., Gomis, J., Parrilla, I., *et al.* (2014) Successful Non-Surgical Deep Uterine Transfer of Porcine Morulae after 24 Hour Culture in a Chemically Defined Medium. *PLOS ONE*, **9**, e104696. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104696>
- [8] 陈俊祥, 郑佩华, 鲁耀鹏, 等. CRISPR/Cas9 基因编辑技术在鱼类养殖应用的研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2024(1): 23-28.
- [9] Heigwer, F., Kerr, G. and Boutros, M. (2014) E-CRISP: Fast CRISPR Target Site Identification. *Nature Methods*, **11**, 122-123. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2812>
- [10] Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J.A. and Charpentier, E. (2012) A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. *Science*, **337**, 816-821. <https://doi.org/10.1126/science.1225829>
- [11] Cong, L., Ran, F.A., Cox, D., Lin, S., Barretto, R., Habib, N., *et al.* (2013) Multiplex Genome Engineering Using CRISPR/Cas Systems. *Science*, **339**, 819-823. <https://doi.org/10.1126/science.1231143>
- [12] Feng, R., Fang, L., Cheng, Y., He, X., Jiang, W., Dong, R., *et al.* (2015) Retinoic Acid Homeostasis through *aldh1a2* and *cyp26a1* Mediates Meiotic Entry in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Scientific Reports*, **5**, Article No. 10131. <https://doi.org/10.1038/srep10131>
- [13] Aluru, N., Karchner, S.I., Franks, D.G., Nacci, D., Champlin, D. and Hahn, M.E. (2015) Targeted Mutagenesis of Aryl Hydrocarbon Receptor 2a and 2b Genes in Atlantic Killifish (*Fundulus heteroclitus*). *Aquatic Toxicology*, **158**, 192-201. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.11.016>
- [14] Datsomor, A.K., Zic, N., Li, K., Olsen, R.E., Jin, Y., Vik, J.O., *et al.* (2019) CRISPR/Cas9-Mediated Ablation of *elovl2* in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) Inhibits Elongation of Polyunsaturated Fatty Acids and Induces *Srebp-1* and Target Genes. *Scientific Reports*, **9**, Article No. 7533. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43862-8>
- [15] Cleveland, B.M., Yamaguchi, G., Radler, L.M. and Shimizu, M. (2018) Editing the Duplicated Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-2b Gene in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Scientific Reports*, **8**, Article No. 16054. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34326-6>
- [16] Sun, Y., Zheng, G., Nissa, M., Chen, J. and Zou, S. (2020) Disruption of *mstna* and *mstnb* Gene through CRISPR/Cas9 Leads to Elevated Muscle Mass in Blunt Snout Bream (*Megalobrama amblycephala*). *Aquaculture*, **528**, Article ID: 735597. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735597>
- [17] 郭丹丹, 郑国栋, 陈杰, 等. 利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术探究团头鲂 *mdh* 基因功能[J]. 水产学报, 2024, 48(11): 110-118
- [18] Wu, Y., Wu, T., Yang, L., Su, Y., Zhao, C., Li, L., *et al.* (2023) Generation of Fast Growth Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) by Myostatin Gene Mutation. *Aquaculture*, **562**, Article ID: 738762. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738762>
- [19] 仲兆民. 鲤鱼基因组修饰和 ENU 诱变技术的建立及其在成骨细胞与肌肉纤维发育研究中的应用[D]: [博士学位论文]. 苏州: 苏州大学, 2016.
- [20] Huang, J., Shi, C., Gao, Y., Su, J., Shu, Y., Zeng, N., *et al.* (2021) Heterozygous Depletion of *pik3r1* Improves Growth and Feed Conversion Efficiency in Gibel Carp (*Carassius gibelio*). *Aquaculture*, **545**, Article ID: 737207. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737207>
- [21] Kim, J., Cho, J.Y., Kim, J., Kim, H., Noh, J.K., Kim, Y., *et al.* (2019) CRISPR/Cas9-Mediated Myostatin Disruption Enhances Muscle Mass in the Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, **512**, Article ID: 734336. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734336>
- [22] Wang, J., Su, B., Al-Armanazi, J., Wise, A.L., Shang, M., Bern, L., *et al.* (2023) Integration of Alligator Cathelicidin Gene via Two CRISPR/Cas9-Assisted Systems Enhances Bacterial Resistance in Blue Catfish, *Ictalurus furcatus*. *Aquaculture*, **576**, Article ID: 739860. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739860>

- [23] Kim, M.S. and Kim, K.H. (2019) Effect of CRISPR/Cas9-Mediated Knockout of Either Mx1 or ISG15 Gene in EPC Cells on Resistance against VHSV Infection. *Fish & Shellfish Immunology*, **93**, 1041-1046. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.08.058>
- [24] Sellathurai, S.R., Jung, S., Nadarajapillai, K., Kim, M. and Lee, J. (2024) Functional Characterization of irf3 against Viral Hemorrhagic Septicemia Virus Infection Using a CRISPR/Cas9-Mediated Zebrafish Knockout Model. *Developmental & Comparative Immunology*, **158**, Article ID: 105208. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2024.105208>
- [25] Zhai, W., Wang, Z., Ye, C., Ke, L., Wang, H. and Liu, H. (2023) IL-6 Mutation Attenuates Liver Injury Caused by *Aeromonas hydrophila* Infection by Reducing Oxidative Stress in Zebrafish. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, Article 17215. <https://doi.org/10.3390/ijms242417215>
- [26] van der Wal, Y.A., Nordli, H., Akandwanaho, A., Greiner-Tollersrud, L., Kool, J. and Jørgensen, J.B. (2023) CRISPR-Cas- Induced IRF3 and MAVS Knockouts in a Salmonid Cell Line Disrupt PRR Signaling and Affect Viral Replication. *Frontiers in Immunology*, **14**, Article 1214912. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1214912>
- [27] 赵心愉, 刘娟, 邹曙明, 等. 利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术敲除团头鲂 *socs1* 重复基因[J]. 水产学报, 2020, 44(12): 1937-1947.
- [28] Ma, J., Fan, Y., Zhou, Y., Liu, W., Jiang, N., Zhang, J., *et al.* (2018) Efficient Resistance to Grass Carp Reovirus Infection in JAM-A Knockout Cells Using CRISPR/Cas9. *Fish & Shellfish Immunology*, **76**, 206-215. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.02.039>
- [29] 何宏阳, 王伊凡, 贾海旺, 等. *setd7* 基因编辑提高尼罗罗非鱼的低氧耐受能力[J/OL]. 水产学报, 2025, 1-10. <https://link.cnki.net/urlid/31.1283.s.20250311.1813.002>, 2025-03-12.
- [30] Li, X., Xu, S., Fuhrmann-Aoyagi, M.B., Yuan, S., Iwama, T., Kobayashi, M., *et al.* (2022) CRISPR/Cas9 Technique for Temperature, Drought, and Salinity Stress Responses. *Current Issues in Molecular Biology*, **44**, 2664-2682. <https://doi.org/10.3390/cimb44060182>
- [31] Wu, Y. and Wang, I. (2020) Heat-Shock-Induced Tyrosinase Gene Ablation with CRISPR in Zebrafish. *Molecular Genetics and Genomics*, **295**, 911-922. <https://doi.org/10.1007/s00438-020-01681-x>
- [32] Liao, Q., Zhu, C., Sun, X., Wang, Z., Chen, X., Deng, H., *et al.* (2023) Disruption of Sirtuin 7 in Zebrafish Facilitates Hypoxia Tolerance. *Journal of Biological Chemistry*, **299**, Article ID: 105074. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.105074>
- [33] Gan, R., Wang, Y., Li, Z., Yu, Z., Li, X., Tong, J., *et al.* (2021) Functional Divergence of Multiple Duplicated *foxl2* Homeologs and Alleles in a Recurrent Polyploid Fish. *Molecular Biology and Evolution*, **38**, 1995-2013. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab002>
- [34] Wang, M., Li, Z., Ding, M., Yao, T., Yang, S., Zhang, X., *et al.* (2022) Two Duplicated *gsdf* Homeologs Cooperatively Regulate Male Differentiation by Inhibiting *cyp17a1* Transcription in a Hexaploid Fish. *PLOS Genetics*, **18**, e1010288. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1010288>
- [35] Zhai, G., Shu, T., Chen, K., Lou, Q., Jia, J., Huang, J., *et al.* (2022) Successful Production of an All-Female Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) Population Using *cyp17a1*-Deficient Neomale Carp. *Engineering*, **8**, 181-189. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2021.03.026>
- [36] Wang, C., Xu, J., Kocher, T.D., Li, M. and Wang, D. (2022) CRISPR Knockouts of *pmela* and *pmelb* Engineered a Golden Tilapia by Regulating Relative Pigment Cell Abundance. *Journal of Heredity*, **113**, 398-413. <https://doi.org/10.1093/jhered/esac018>
- [37] Wang, C., Kocher, T.D., Lu, B., Xu, J. and Wang, D. (2022) Knockout of Hermansky-Pudlak Syndrome 4 (*hps4*) Leads to Silver-White Tilapia Lacking Melanosomes. *Aquaculture*, **559**, Article ID: 738420. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738420>
- [38] Lu, B., Wang, C., Liang, G., Xu, M., Kocher, T.D., Sun, L., *et al.* (2022) Generation of Ornamental Nile Tilapia with Distinct Gray and Black Body Color Pattern by *Csflra* Mutation. *Aquaculture Reports*, **23**, Article ID: 101077. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101077>
- [39] Lu, B., Liang, G., Xu, M., Wang, C., Tan, D., Tao, W., *et al.* (2022) Production of All Male Amelanotic Red Tilapia by Combining MAS-GMT and *tyrb* Mutation. *Aquaculture*, **546**, Article ID: 737327. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737327>
- [40] Mandal, B.K., Chen, H., Si, Z., Hou, X., Yang, H., Xu, X., *et al.* (2020) Shrunk and Scattered Black Spots Turn Out Due to MC1R Knockout in a White-Black Oujiang Color Common Carp (*Cyprinus carpio* var. color). *Aquaculture*, **518**, Article ID: 734822. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734822>
- [41] Xu, X., Chen, H., Mandal, B.K., Si, Z., Wang, J. and Wang, C. (2022) Duplicated *Tyr* Disruption Using CRISPR/Cas9 Reveals Melanophore Formation in Oujiang Color Common Carp (*Cyprinus carpio* Var. Color). *Reproduction and Breeding*, **2**, 37-45. <https://doi.org/10.1016/j.repbre.2022.05.001>
- [42] Chen, H., Wang, J., Du, J., Si, Z., Yang, H., Xu, X., *et al.* (2019) ASIP Disruption via CRISPR/Cas9 System Induces

- Black Patches Dispersion in Oujiang Color Common Carp. *Aquaculture*, **498**, 230-235. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.057>
- [43] Kuang, Y., Zheng, X., Cao, D., Sun, Z., Tong, G., Xu, H., *et al.* (2023) Generate a New Crucian Carp (*Carassius auratus*) Strain without Intermuscular Bones by Knocking Out *bmp6*. *Aquaculture*, **569**, Article ID: 739407. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739407>
- [44] Zhong, Z., Niu, P., Wang, M., Huang, G., Xu, S., Sun, Y., *et al.* (2016) Targeted Disruption of *sp7* and Myostatin with CRISPR-CAS9 Results in Severe Bone Defects and More Muscular Cells in Common Carp. *Scientific Reports*, **6**, Article No. 22953. <https://doi.org/10.1038/srep22953>
- [45] Nie, C., Wan, S., Chen, Y., Zhu, D., Wang, X., Dong, X., *et al.* (2021) Loss of Scleraxis Leads to Distinct Reduction of Mineralized Intermuscular Bone in Zebrafish. *Aquaculture and Fisheries*, **6**, 169-177. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2020.04.006>
- [46] Nie, C., Wan, S., Chen, Y., Huysseune, A., Wu, Y., Zhou, J., *et al.* (2022) Single-Cell Transcriptomes and *runx2b*^{-/-} Mutants Reveal the Genetic Signatures of Intermuscular Bone Formation in Zebrafish. *National Science Review*, **9**, nwac152. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwac152>
- [47] Dong, Q., Nie, C., Wu, Y., Zhang, D., Wang, X., Tu, T., *et al.* (2023) Generation of Blunt Snout Bream without Intermuscular Bones by *runx2b* Gene Mutation. *Aquaculture*, **567**, Article ID: 739263. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739263>
- [48] 王正银. 草鱼肌间刺发生发育特征及无肌间刺草鱼新种质培育[D]: [硕士学位论文]. 武汉: 华中农业大学, 2024.
- [49] Gan, R., Li, Z., Wang, Z., Li, X., Wang, Y., Zhang, X., *et al.* (2023) Creation of Intermuscular Bone-Free Mutants in Amphitriploid Gibel Carp by Editing Two Duplicated *runx2b* Homeologs. *Aquaculture*, **567**, Article ID: 739300. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739300>
- [50] Xu, H., Tong, G., Yan, T., Dong, L., Yang, X., Dou, D., *et al.* (2022) Transcriptomic Analysis Provides Insights to Reveal the *bmp6* Function Related to the Development of Intermuscular Bones in Zebrafish. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **10**, Article 821471. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.821471>
- [51] Kinlan, B.P. and Gaines, S.D. (2003) Propagule Dispersal in Marine and Terrestrial Environments: A Community Perspective. *Ecology*, **84**, 2007-2020. <https://doi.org/10.1890/01-0622>
- [52] Dempster, T., Arechavala-Lopez, P., Barrett, L.T., Fleming, I.A., Sanchez-Jerez, P. and Uglem, I. (2016) Recapturing Escaped Fish from Marine Aquaculture Is Largely Unsuccessful: Alternatives to Reduce the Number of Escapees in the Wild. *Reviews in Aquaculture*, **10**, 153-167. <https://doi.org/10.1111/raq.12153>