

DOI: 10.19462/j.cnki.zgzy.20250518001

# 植物单倍体育种研究进展

王鑫 纪晓楠 葛祥茜 霍如雪 刘振宁

(临沂大学农林科学学院, 山东临沂 276000)

**摘要:**传统育种技术通常耗时较长、成本高昂,而单倍体育种通过单倍体的产生与染色体加倍,在极短时间内可获得纯合的双单倍体植株,极大地缩短了育种周期。通过全面梳理单倍体育种的基础理论、关键技术、应用领域以及未来发展方向,重点分析了花药培养、花粉培养、胚珠培养、远缘杂交以及基因编辑技术在单倍体育种中的应用与挑战,同时探讨了该技术在分子育种和基因组研究中的前景。单倍体育种技术的成熟与应用为现代农业的可持续发展提供了重要支撑。

**关键词:**单倍体;双单倍体;育种;基因编辑

## Research Progress on Plant Haploid Breeding

WANG Xin, JI Xiaonan, GE Xianghan, HUO Ruxue, LIU Zhenning

(College of Agriculture and Forestry Sciences, Linyi University, Linyi 276000, Shandong)

单倍体育种的概念最早可追溯至 20 世纪初, Buchholz 等<sup>[1]</sup>在曼陀罗花中首次发现了天然单倍体,此后单倍体的研究一直是学术界的研究热点。然而,由于自然条件下单倍体形成的概率极低,其实际应用受到限制,单倍体的发展变得十分缓慢。直到 Guha 等<sup>[2-3]</sup>通过对曼陀罗花进行花药离体培养并成功诱导单倍体植株,单倍体育种才成为可行的技术,此研究成果为单倍体育种提供了新的思路。中国科学家也在该领域作出了开创性贡献,我国首次培育出的单倍体植株是由中国科学院遗传研究所通过小麦花药离体培养而成,也是在国际上率先培育出的第一株小麦花粉单倍体植株<sup>[4]</sup>,这一研究成果一经发出引起世界的广泛关注。近年来,随着基因组学、组织培养技术以及基因编辑技术的发展,单倍体育种在作物遗传改良和生物学研究中得到广泛应用。单倍体育种不仅能够显著缩短育种周期,还可以通过染色体加倍快速获得基因型纯合的双单倍体(DH, Doubled haploid)植株<sup>[5]</sup>。通过配子胚胎发

生产单倍体和双单倍体,从杂合亲本一步发展为完整的纯合子系,为优质作物新品种选育提供了一条高效途径<sup>[6]</sup>。回顾单倍体育种的百年历程,从早期天然单倍体的偶然发现,到花药离体培养技术的关键突破,再到如今多学科技术的深度融合,这项技术不断突破发展瓶颈。本文将从理论基础、技术方法、应用现状及未来发展方向对单倍体育种进行系统综述。

### 1 单倍体的产生

单倍体在自然条件下的形成极为罕见,如图 1 所示,主要通过以下途径实现。

#### 1.1 自然途径

**1.1.1 孤雌生殖** 孤雌生殖是指卵细胞不经过受精而自主发育成胚胎的生殖方式,该现象在自然界中广泛存在。在昆虫、蜥蜴和鱼类等动物中尤为常见,在植物中大多以雌雄异株植物为主,尤其是大麻属、山嵛属、菠菜属和蓖麻属植物,还有一些具有雌雄单性花的雌雄同株植物,例如玉米。孤雌生殖现象最早由 Bonnet 于 1745 年在蚜虫中发现,而在植物中, Smith 于 1841 年在大戟科植物山杆麻中首次发现,该植物无需花粉即可产生正常种子,这一发现被认为是无性繁殖的第一个证据<sup>[7-8]</sup>。我国对孤雌生殖

**基金项目:**国家自然科学基金项目(32070344);山东省高等学校青创科技计划项目(2021KJ055);大学生创新创业训练计划项目(202410452009)

**通信作者:**刘振宁

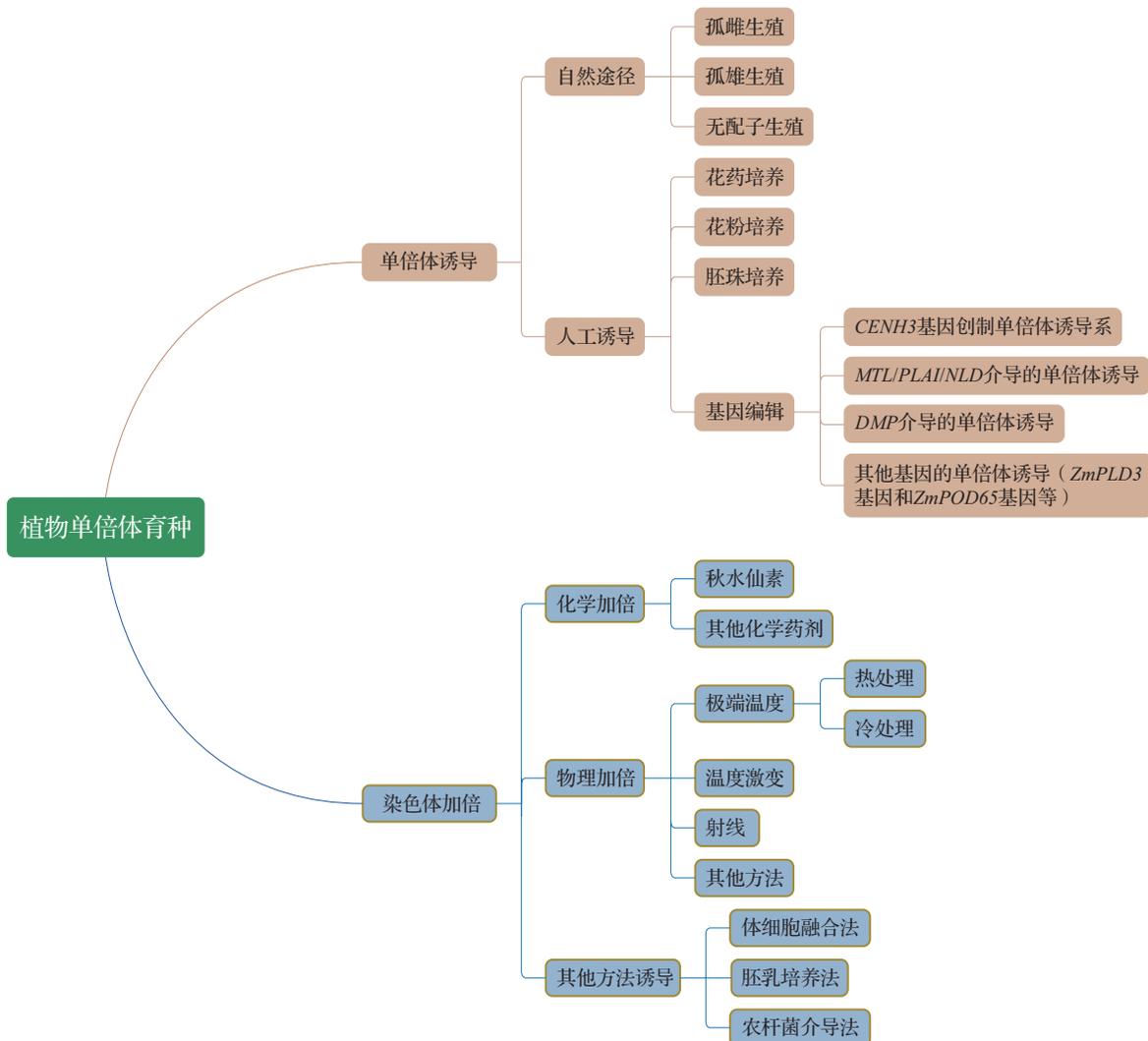


图1 植物单倍体和双单倍体产生途径

的研究也作出了重要的贡献,例如在甘蓝型油菜中,1976年四川大学植物遗传实验室首次报道了甘蓝型油菜诱发孤雌生殖的初步结果,并在后续20年间进行了一系列研究<sup>[9]</sup>。

**1.1.2 孤雄生殖** 孤雄生殖是指卵核在精子入卵后即发生退化和解体,在卵细胞质内发育成只含雄配子染色体组的单倍体胚的生殖方式。根据植物性别表现的不同,孤雄生殖可分为两大类:完全孤雄生殖以及部分孤雄生殖。完全孤雄生殖通常指所有植物个体中有些是完全雌性,而有些则是雌雄同体,或以某些雄性器官表现为主要特征,这种生殖方式在植物群体中较为常见,尤其是自花授粉的物种中<sup>[10]</sup>。部分孤雄生殖则是指植物体内虽然存在雄性生殖器官,但在某些特定的环境条件或发育阶段,某些个体会表现为部分雌性或雄性生殖特征。这种现象通常与植物的适应性演化紧密相关,通过不同的性别

表现形式帮助植物种群在动态环境中保持较高的繁殖成功率<sup>[11]</sup>。不同的作物品种和基因型对孤雄生殖的响应可能不同。因此,在进行孤雄生殖育种时,需要选择对孤雄生殖敏感的作物品种和基因型。通过选择合适的品种和基因型,可以提高孤雄生殖的效率<sup>[12]</sup>。

**1.1.3 无配子生殖** 植物的无配子生殖是一种广义的单性生殖,是维管(束)植物中配子体卵细胞以外的细胞单独分裂和发育产生孢子体的现象,这种方式在蕨类植物群体中表现尤为突出。例如金粉蕨的配子体仅产生精子器,不形成颈卵器,属于专性无配子生殖,其配子体生长点下方的细胞经分裂形成无配子生殖胚,最终发育成孢子体<sup>[13]</sup>。与有性生殖相比,无配子生殖具有较高的效率和适应性,尤其在环境条件严苛或配子发生不利的情况下。然而,尽管无配子生殖的研究逐渐深入,但其机制、调控和生态

适应性仍然是当前植物学研究的前沿领域。

总的来说,由于自然单倍体形成的概率低( $<0.1\%$ ),难以满足育种需求。

**1.2 人工诱导单倍体** 相较于自然途径产生的单倍体,人工诱导单倍体产生的效率较高。人工诱导单倍体主要包括诱变以及离体培养的方式。目前离体培养是获得大量单倍体最高效的方法。离体培养主要包括花药培养、花粉培养、胚珠培养以及直接从母体植株中提取细胞,通过人为创造环境诱导形成单倍体。随着研究的深入,基因编辑技术也逐渐成为诱导单倍体的主要方法(图1)。

## 2 单倍体育种的技术方法

**2.1 花药培养技术** 花药培养技术是通过体外培养植物花药,诱导花粉发育成单倍体植株的一种方法。该技术在植物育种和遗传研究中具有重要意义,能够缩短育种周期、提高育种效率,并为遗传改良提供纯合的遗传材料。花药培养的核心在于将处于特定发育阶段的花药在适宜的培养基上培养,诱导其中的小孢子(花粉母细胞)由配子体发育途径转向孢子体发育途径,最终形成单倍体植株。这些单倍体植株经过染色体加倍处理,可获得纯合的二倍体植株,广泛应用于育种实践中。

花药培养的成功率受多种因素影响,包括以下几点:(1)基因型依赖性。不同植物种类和品种对花药培养的反应存在显著差异。例如,小麦的花药培养效果受基因型影响显著<sup>[14]</sup>。(2)培养基成分。培养基中的激素种类和浓度、碳源类型、矿质元素等都会影响花药的脱分化和再分化过程。研究表明,适当的激素组合有助于提高愈伤组织的诱导率和再生能力<sup>[15]</sup>。(3)培养条件。温度、光照、pH值等环境条件对花药培养的效果也有重要影响。例如,适宜的温度和光周期有助于提高花药的再生效率。

**2.2 花粉培养技术** 花粉培养技术的核心挑战在于维持花粉的活力和胚性分化能力。研究表明,预处理温度(通常为 $4\sim 10^{\circ}\text{C}$ )显著影响花粉的胚性诱导效率。例如,在小麦花药培养中,低温预处理可明显提高花粉愈伤组织的数量<sup>[16]</sup>。此外,培养基中碳源种类对花粉培养的成功率也有重要影响。在辣椒花药培养中,碳源的选择直接影响胚状体的诱导与植株再生<sup>[17]</sup>。与花药培养相比,花粉培养直接将花粉粒培养成单倍体胚,省略了花药分离过程,但对花

粉粒的活力要求更高。因此,优化预处理条件和培养基成分对于花粉培养至关重要。

**2.3 胚珠培养技术** 胚珠培养是一种通过离体培养未受精胚珠,诱导其发育为单倍体植株的技术。该方法在植物育种中具有重要意义,尤其适用于花药培养难以成功的物种。胚珠培养的核心在于利用未受精的胚珠,通过适当的培养条件,诱导其发生雌核发育,直接形成胚状体,进而发育成单倍体植株。这一过程避免了受精步骤,使获得纯合基因型的单倍体成为可能。不同物种对胚珠培养的反应存在显著差异。例如,在黄瓜的研究中,不同基因型的胚珠培养成功率差异明显<sup>[18]</sup>。胚珠的发育时期直接影响培养效果。通常,选择胚囊发育至八核至成熟阶段的胚珠进行培养,成功率较高。适当的预处理(如低温处理)有助于提高胚珠的培养效率。在小麦的研究中,低温预处理显著提高了胚珠的愈伤组织诱导率<sup>[19]</sup>。培养基中的碳源、激素种类和浓度对胚珠培养至关重要。在南瓜属蔬菜的研究中,培养基中添加适量的生长素和细胞分裂素可提高单倍体植株的诱导效率<sup>[20]</sup>。胚珠培养已成功应用于多种作物的单倍体诱导,如油菜、黄瓜、甜瓜等。通过该技术,可加速育种进程,缩短育种周期,获得纯合的双单倍体植株。尽管胚珠培养在单倍体诱导中具有独特优势,但其成功率仍受多种因素影响,且不同物种间存在差异。未来的研究应致力于优化培养条件,深入理解胚珠发育机制,以提高胚珠培养的效率和稳定性。

**2.4 基因编辑技术** 通过CRISPR/Cas9系统对孤雌生殖相关基因进行编辑,可以人工诱导单倍体形成。CRISPR/Cas9技术的兴起为单倍体诱导提供了新的可能性。通过编辑关键调控基因(如孤雌生殖相关基因),可以显著提高单倍体的诱导率<sup>[21]</sup>。

**2.4.1 基因编辑改造 CENH3 基因创制单倍体诱导系** CENH3 (Centromere-specific histone 3 variant) 即着丝粒特异组蛋白 H3 变体,在真核生物中对着丝粒的形成和功能发挥至关重要<sup>[22]</sup>。它是细胞分裂时染色体分离所必需的,决定着丝点的定位。2010年 Ravi 等<sup>[23]</sup>报道了通过在着丝粒组蛋白 H3 (CENH3) 中引入单一基因改变,可以有效地诱导产生单倍体植物。这一研究成果的发表是单倍体研究的一项重大突破,也为基因编辑创制单倍体提供了新思路。

基于 *CENH3* 基因的单倍体诱导系在玉米中有一定的应用。如利用 CRISPR/Cas9 创制 *CENH3* 突变杂合子 (+/*cenh3*), 通过与野生型植株正反交诱导单倍体<sup>[24]</sup>。此外, 利用基因编辑突变 *CENH3* 基因创制单倍体诱导系在拟南芥、大麦和甜菜中也有相关报道<sup>[25]</sup>。

在植物中, 单倍体胚诱导是一种强大的植物育种工具, 但其应用目前仅限于极少数作物。通过对着丝粒组蛋白 H3 (*CENH3*) 进行基因编辑, 可构建基于种子的单倍体系统, 该系统能够产生父本单倍体胚。结合有关将玉米母本单倍体诱导能力转化至小麦和水稻的研究, 成功实现了父本单倍体胚胎的产生。这一创新性系统为单倍体胚胎诱导提供了新途径, 打破了以往单倍体诱导系的局限性, 为植物育种拓展了更多可能性<sup>[26]</sup>。

**2.4.2 *MTL/PLA1/NLD* 介导的单倍体诱导** *MTL/PLA1/NLD* (磷脂酶 *A1*) 是在玉米中发现的一个关键基因, 它在单倍体诱导中起着重要作用<sup>[27]</sup>。目前的研究表明, 该基因功能缺失能够介导单倍体诱导。具体来说, 通过对 *ZmPLA1* 突变体花药进行综合的多组学分析, 包括转录组、代谢组、定量蛋白质组和蛋白质修饰数据的整合, 发现与氧化应激反应相关的分子实体的功能类别显著富集或差异丰富, 这表明活性氧 (ROS) 爆发在单倍体诱导中起着关键作用。进一步的研究发现, 用 ROS 试剂对花粉进行简单的化学处理可以诱导单倍体产生。

由于 *MTL/PLA1/NLD* 基因家族的成员比较常见, 在单子叶植物中的序列相似性高, 功能类似, 可以作为创制单倍体诱导系的候选基因。在水稻研究中利用 CRISPR/Cas9 编辑水稻中 *OsPLA1* 的同源基因, 成功创制了第一个水稻单倍体诱导系, 诱导率为 2%~6%<sup>[28]</sup>。在小麦中 CRISPR/Cas9 系统编辑小麦 *TaMTL* 基因, 结果显示: *TaMTL-4A* 和 *TaMTL-4D* 的双敲除突变系的单倍体诱导率为 10%, 而 *TaMTL-4A*、*TaMTL-4B* 和 *TaMTL-4D* 三敲除突变系的单倍体诱导率为 11.8%~31.6%<sup>[29]</sup>。

虽然磷脂酶基因 *ZmPLA1* 已在水稻、小麦等植物上成功应用并获得了单倍体, 但是在双子叶植物中的进展仍然十分缓慢。在双子叶植物中, 此基因的序列变异大, 表达效果多样, 功能也不完全相同。这就需要对该基因在双子叶植物中的表

达进行更深的研究, 了解其在双子叶植物中的作用机制。

**2.4.3 *DMP* 介导的单倍体诱导** Zhong 等<sup>[30]</sup> 率先克隆了首个非诱导系 Stock6 来源的玉米单倍体诱导关键基因 *ZmDMP*, 该基因编码一个 DUF679 (DOMAIN OF UNKNOWN FUNCTION 679) 结构域的膜蛋白, 在花粉发育后期高度表达, 通过基因编辑手段敲除 *ZmDMP* 基因可以独立诱导产生单倍体, 单倍体诱导效率为 0.1%~0.3%, 与 *MTL* 基因不同, *DMP* 在某些单子叶植物和大多数双子叶植物中具有保守性, 为在双子叶植物中应用这种单倍体诱导系统提供了可能性。Zhong 等<sup>[31]</sup> 利用基因编辑技术对拟南芥中与 *ZmDMP* 同源的 *AtDMP8* 和 *AtDMP9* 进行了编辑, 构建的诱导系诱导效率为 2.1% ± 1.1%, 并且开发了一种种子特异表达的 RFP 标签以加快单倍体种子的筛选。随后在番茄、苜蓿、油菜、马铃薯和西瓜等双子叶植物中相继报道出 *DMP* 基因可以诱导产生单倍体<sup>[32-36]</sup>。Zhao 等<sup>[37]</sup> 克隆了一个在花粉中高表达的甘蓝基因 *BoC03*。 *DMP9*, 利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术对其功能进行了研究, 发现 *boc03.dmp9* 功能敲除突变体自交或作为父本进行杂交, 均能够诱导产生母本单倍体, 诱导率为 0.41%~2.35%, 没有基因型依赖性。Zhong 等<sup>[38]</sup> 在甘蓝型油菜中鉴定到 4 个 *DMP* 基因, 并利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术进行了多靶位点敲除, 获得的敲除突变体中单倍体诱导率达到 2.4%。与此同时, Li 等<sup>[34]</sup> 使用同样的方法敲除了甘蓝型油菜 Westar 的 4 个 *BnaDMP* 基因, 在 T0、T1 和 T2 代的单倍体诱导率可达 2.53%。另外, Zhong 等<sup>[38]</sup> 与 Li 等<sup>[34]</sup> 都发现 4 个 *BnaDMP* 同源基因之间存在剂量补偿效应, 在二突、三突和四突中单倍体诱导率逐步提升。

**2.4.4 其他基因的单倍体诱导应用** 虽然已经发现许多单倍体诱导基因的存在, 但是鉴定更多单倍体诱导基因对解析单倍体诱导遗传机理具有重要意义。2021 年中国农业大学宋伟彬课题组发现玉米单倍体诱导新基因——*ZmPLD3*, *ZmPLD3* 的功能缺失突变导致单倍体诱导率与 *MTL/ZmPLA1/NLD* 相似, 并且在 *MTL/ZmPLA1/NLD* 存在的情况下显示出协同效应而非功能冗余, 将单倍体诱导率从 1.19% 提高到 4.13%, 此外, *ZmPLD3* 在谷物中高度保守,

表明这些体内单倍体诱导系在其他重要作物中具有潜在的应用价值<sup>[39]</sup>。Jiang等<sup>[40]</sup>鉴定了全新的能诱导单倍体的基因*ZmPOD65*,它编码一种精子特异性过氧化物酶,是一个控制单倍体诱导的新基因,为玉米单倍体诱导创造了一种新方法,也为加速作物育种提供了一条潜在途径。

### 3 染色体加倍技术

获得单倍体后,利用染色体加倍技术将其转变为纯合体。染色体加倍是单倍体育种的核心环节,其方法主要有以下几种。

**3.1 化学加倍** 通过使用化学药剂(如秋水仙素、去甲基水杨酸酯等)干扰微管蛋白聚合,抑制纺锤体形成,从而阻止细胞在有丝分裂过程中染色体的正常分离,诱导加倍。Blakeslee等<sup>[41]</sup>首次报道了使用秋水仙素诱导植物染色体加倍的方法。

**3.2 物理加倍** 通过热处理或冷处理干扰细胞周期以促进染色体加倍。Ramsey等<sup>[42]</sup>论述了物理方法在多倍体形成中的作用。但由于难度较大,所以目前以此方法进行染色体加倍的应用较少。除此之外,温度激变和射线的方法也能诱导植物多倍体的产生。

**3.3 其他方法** 目前体细胞融合法、胚乳培养法以及农杆菌介导法也逐渐成为诱导多倍体的热门方法。随着基因编辑技术的兴起,利用CRISPR/Cas9等工具调控细胞周期相关基因(如*MAD2*或*BUB1*基因)成为诱导染色体加倍的潜在方法<sup>[43]</sup>。这种方法具有特异性高、毒性低的优势,但目前仍处于实验室研究阶段。

## 4 单倍体育种的应用

**4.1 农作物遗传改良** 玉米 玉米是全球重要的粮食和饲料作物。玉米单倍体育种能够将纯系的育种时间从6~7代缩短至1~2代,极大地缩短了育种进程。中国农业大学陈邵江教授团队利用*MTL/ZmPLA1/NLD*基因突变,在玉米中可以产生2%的诱导率<sup>[30]</sup>,在国际上率先攻克了玉米单倍体诱导的难题。仅通过两个世代就可以获得育种所需要的纯系,让玉米育种坐上了育种的“高铁”专列。

水稻 水稻是全球主要的粮食作物之一。单倍体育种技术在水稻育种中被广泛应用。通过花粉培养等方法,可快速获得纯合体,加速抗病、抗逆等优良性状的选育。采用定向回交育种方法,结合分

子标记辅助选择技术和花药培养技术,快速改良了武运粳29196的稻瘟病抗性。以籼稻品种谷梅4号为稻瘟病抗性基因*Pigm(t)*的供体,经过连续回交和自交过程,利用与*Pigm(t)*紧密连锁的InDel标记进行分子标记辅助选择。在BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>世代进行花药培养,获得185个双单倍体群体(DH群体),从中筛选出82个含有*Pigm(t)*基因的改良株系。经过农艺性状、稻瘟病抗性和稻米品质性状的系统鉴定,发现改良株系DH036和DH158的综合性状与武运粳29196已十分相近,且稻米品质有所提升,在保持了武运粳29196丰产性的同时,稻瘟病抗性有了明显提高<sup>[44]</sup>。

**4.2 植物遗传研究** 单倍体育种通过快速构建纯合群体,为植物遗传研究提供了重要材料,加速了基因定位、基因功能验证、复杂性状解析以及分子标记辅助选择的研究进程。在基因定位方面,利用DH技术可以快速精确地定位目标基因。例如,在水稻中,采用混合线性模型的复合区间作图方法,对水稻圭630和02428组合DH群体的谷粒外观性状——粒长、粒宽和粒型进行了数量性状基因定位,同时对定位的主效应和上位性进行了环境效应分析<sup>[45]</sup>。在基因功能验证方面,单倍体育种与基因编辑技术结合,为研究提供了高效工具。例如,在玉米中,中国农业大学田丰课题组和李继刚课题组合作研究,首次在玉米中鉴定到“智慧株型”基因*lac1*,揭示了光信号动态调控*lac1*促使玉米适应密植的分子机制,并建立了“一步成系”的单倍体诱导编辑技术体系<sup>[46]</sup>。此外,复杂性状(如产量和抗逆性)通常由多基因控制,传统解析方法易受遗传背景干扰,而DH技术通过提供均一的纯合遗传背景,结合数量性状位点(QTL)分析,有效解析了复杂性状。同样,在现代育种中,DH技术结合MAS显著提升了选择效率。例如,在油菜中,通过DH技术快速纯合携带抗病基因标记位点的植株,不仅加速了抗病品种的选育,还大幅度减少了育种周期和成本<sup>[47]</sup>。这些优势使得单倍体育种在植物遗传研究和分子育种中展现了广泛应用潜力。

**4.3 转基因育种** 利用单倍体育种技术可快速筛选转基因植株,显著提高转基因作物开发效率。单倍体育种技术在转基因作物的筛选和稳定方面具有重要应用价值。通过单倍体技术,可以快速筛选出

稳定表达目标基因的转基因植株,提高转基因育种的效率和精准性。例如,在玉米研究中,利用单倍体诱导技术结合 CRISPR/Cas9 基因编辑系统敲除 *ZmPLD3* 基因,成功地在二代内获得了纯合的基因编辑植株<sup>[48]</sup>。这种方法显著缩短了育种周期,提高了育种效率。

## 5 未来发展方向

**5.1 技术优化** 未来的研究将进一步优化单倍体诱导和染色体加倍技术,提高效率和稳定性,降低成本。尤其是在不同作物中,优化培养基配方和培养条件,以适应更多作物种类的需求。

**5.2 多样化作物应用** 将单倍体育种技术推广到更多作物中,特别是一些对经济和生态发展重要的非主粮作物,如蔬菜、果树和花卉等,单倍体育种技术能够提高这些作物的育种效率和品种改良速度。

**5.3 与分子育种结合** 将单倍体育种与基因组选择和分子标记辅助育种结合,提升精准性。将单倍体育种与分子标记辅助育种、基因组选择等现代育种技术结合,进一步提高育种效率和精准性。这种综合育种策略将有助于更快速、更准确地开发出符合市场需求和环境适应性的新品种。

## 6 结论

单倍体育种作为一种革命性的育种技术,通过快速纯合基因型,大幅缩短了育种周期,是现代农业遗传改良的重要工具。它在单倍体诱导、染色体加倍和纯合体选择方面具有显著优势,为作物改良提供了高效的平台。单倍体育种不仅应用于抗病、抗逆、高产等性状的改良,还在基因功能验证、数量性状位点精确定位、分子标记辅助选择等方面具有不可替代的作用。通过与 CRISPR/Cas9 基因编辑技术的结合,单倍体育种显著提升了复杂性状遗传解析的效率和准确性。

未来,随着技术的不断优化,如单倍体诱导率的提高、染色体加倍效率的改进,以及高通量基因组测序技术的应用,单倍体育种将进一步降低育种成本,提高品种改良的速度和质量。此外,新方法的探索,如在多倍体作物和非模式植物中的应用,将拓展其适用范围,为全球农业生产提供更广泛的支持。在全球气候变化和粮食安全挑战日益严峻的背景下,单倍体育种技术有望在粮食增产、抗逆性育种及精准农业中发挥更加重要的作用,为实现农业的可

持续发展提供强有力的科学依据和技术支撑。

## 参考文献

- [1] Buchholz J T, Blakeslee A F. Studies of the pollen tubes and abortive ovules of the globe mutant of *Datura*. *Science*, 1922, 55 ( 1431 ): 597-599
- [2] Guha S, Maheshwari S C. *In vitro* production of embryos from anthers of *Datura*. *Nature*, 1964, 204 ( 4957 ): 497
- [3] Guha S, Maheshwari S C. Cell division and differentiation of embryos in the pollen grains of *Datura in vitro*. *Nature*, 1966, 212: 97-98
- [4] 欧阳俊, 胡含, 庄家骏, 曾君祉. 小麦花粉植株的诱导及其后代的观察. *中国科学*, 1973 ( 1 ): 74-84
- [5] 杨延铭, 王娜. 植物单倍体诱导的方法、应用及展望. *自然杂志*, 2024, 46 ( 4 ): 285-298
- [6] Germanà M A. Anther culture for haploid and doubled haploid production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2011, 104: 283-300
- [7] Vijverberg K, Ozias-Akins P, Schranz M E. Identifying and engineering genes for parthenogenesis in plants. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 19 ( 10 ): 128
- [8] 姬亚捷, 熊杰, 邱先进, 王克剑. 植物孤雌生殖研究进展: 助力无融合生殖走向应用. *遗传*, 2025, 47 ( 4 ): 448-455
- [9] 四川大学生物系植物遗传组. 人工诱油菜孤雌生殖单倍体的研究. *遗传学报*, 1976, 3 ( 4 ): 293-298
- [10] Lloyd D G. The maintenance of gynodioecy and androdioecy in angiosperms. *Genetica*, 1975, 45: 325-339
- [11] Charlesworth B, Charlesworth D. A model for the evolution of dioecy and gynodioecy. *The American Naturalist*, 1978, 112: 988
- [12] Islam S M, Tuteja N. Enhancement of androgenesis by abiotic stress and other pretreatments in major crop species. *Plant Science*, 2012, 182: 134-144
- [13] 代小菲, 曹建国, 黄武杰, 仲晓辉, 李新国. 金粉蕨配子体发育及其无配子生殖的研究. *植物研究*, 2010, 30 ( 2 ): 180-184
- [14] 王炜, 陈琛, 欧巧明, 叶春雷, 罗俊杰. 小麦花药培养的研究和应用. *核农学报*, 2016, 30 ( 12 ): 2343-2354
- [15] 徐舶, 高霞, 石凤翎, 崔楠, 乌日娜. 黄花苜蓿花药培养再生体系的建立与单倍体鉴定. *草业科学*, 2018, 35 ( 5 ): 1090-1097
- [16] 张秀刚. 低温预处理在小麦 (*Triticum aestivum* L.) 花药培养中的作用. *北京农学院学报*, 1987 ( 2 ): 66
- [17] 王仲慧, 刘金兵, 刁卫平, 王述彬, 潘宝贵, 戈伟. 辣椒花药培养胚状体发生途径影响因子研究. *核农学报*, 2015, 29 ( 8 ): 1471-1478
- [18] 苏华, 金宝燕, 任华中. 黄瓜单倍体育种的研究进展. *农业工程学报*, 2005, 21 ( 14 ): 13-15
- [19] 王文和. 未授粉子房和胚珠离体培养诱导植物雌核发育研究进展. *植物学报*, 2005, 22 ( S ): 108-117
- [20] 孙朋朋, 刘涛, 沈虹, 孙锦. 利用南瓜属蔬菜未授粉子房培养单倍体的研究进展. *黑龙江农业科学*, 2015 ( 6 ): 141-146
- [21] 刘耀光, 李构思, 张雅玲, 陈乐天. CRISPR/Cas 植物基因组编辑技术研究进展. *华南农业大学学报*, 2019, 40 ( 5 ): 38-49
- [22] 段民孝, 骆美洁, 赵久然, 刘新香, 王元东, 邢锦丰, 张雪原, 张春

- 原. *CENH3* 介导的单倍体诱导技术研究进展. 分子植物育种, 2017, 15 (10): 4127-4132
- [23] Ravi M, Chan S W L. Haploid plants produced by centromere-mediated genome elimination. *Nature*, 2010, 464: 615-618
- [24] Wang N, Gent J I, Dawe R K. Haploid induction by a maize *cenH3* null mutant. *Science Advances*, 2021, 7 (4): eabe2299
- [25] Karimi-Ashtiyani R, Ishii T, Niessen M, Stein N, Heckmann S, Gurushidze M, Banaei-Moghaddam A M, Fuchs J, Schubert V, Koch K, Weiss O, Demidov D, Schmidt K, Kumlehn J, Houben A. Point mutation impairs centromeric *CENH3* loading and induces haploid plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112 (36): 11211-11216
- [26] Widiez T. Haploid embryos: being like mommy or like daddy?. *Trends in Plant Science*, 2021, 26 (5): 425-427
- [27] Jiang C L, Sun J, Li R, Yan S J, Chen W, Guo L, Qin G C, Wang P C, Luo C, Huang W J, Zhang Q H, Fernie A R, Jackson D, Li X, Yan J B. A reactive oxygen species burst causes haploid induction in maize. *Molecular Plant*, 2022, 15 (6): 943-955
- [28] Yao L, Zhang Y, Liu C X, Liu Y B, Wang Y L, Liang D W, Liu J T, Sahoo G, Kelliher T. *OsMATL* mutation induces haploid seed formation in indica rice. *Nature Plants*, 2018, 4 (8): 530-533
- [29] Liu H Y, Wang K, Jia Z M, Gong Q, Lin Z S, Du L P, Pei X W, Ye X G. Efficient induction of haploid plants in wheat by editing of *TaMTL* using an optimized *Agrobacterium*-mediated CRISPR system. *Journal of Experimental Botany*, 2020, 71 (4): 1337-1349
- [30] Zhong Y, Liu C X, Qi X L, Jiao Y Y, Wang D, Wang Y W, Liu Z K, Chen C, Chen B J, Tian X L, Li J L, Chen M, Dong X, Xu X W, Li L, Li W, Liu W X, Jin W W, Lai J S, Chen S J. Mutation of *ZmDMP* enhances haploid induction in maize. *Nature Plants*, 2019, 5: 575-580
- [31] Zhong Y, Chen B J, Li M R, Wang D, Jiao Y Y, Qi X L, Wang M, Liu Z L, Chen C, Wang Y W, Chen M, Li J L, Xiao Z J, Cheng D H, Liu W X, Boutilier K, Liu C X, Chen S J. A *DMP*-triggered in vivo maternal haploid induction system in the dicotyledonous *Arabidopsis*. *Nature Plants*, 2020, 6: 466-472
- [32] Zhong Y, Chen B J, Wang D, Zhu X J, Li M R, Zhang J Z, Chen M, Wang M, Riksen T, Liu J C, Qi X L, Wang Y W, Cheng D H, Liu Z K, Li J L, Chen C, Jiao Y Y, Liu W X, Huang S W, Liu C X, Boutilier K, Chen S J. *In vivo* maternal haploid induction in tomato. *Plant Biotechnology Journal*, 2022, 20 (2): 250-252
- [33] Wang N, Xia X Z, Jiang T, Li L L, Zhang P C, Niu L F, Cheng H M, Wang K J, Lin H. *In planta* haploid induction by genome editing of *DMP* in the model legume *Medicago truncatula*. *Plant Biotechnology Journal*, 2022, 20 (1): 22-24
- [34] Li Y F, Li D, Xiao Q, Wang H D, Wen J, Tu J X, Shen J X, Fu T D, Yi B. An in planta haploid induction system in *Brassica napus*. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2022, 64 (6): 1140-1144
- [35] Zhang J Z, Yin J, Luo J Y, Tang D, Zhu X J, Wang J, Liu Z H, Wang P, Zhong Y, Liu C X, Li C H, Chen S J, Huang S W. Construction of homozygous diploid potato through maternal haploid induction. *aBIOTECH*, 2022, 3 (3): 163-168
- [36] Chen X N, Li Y X, Ai G L, Chen J F, Guo D L, Zhu Z H, Zhu X J, Tian S J, Wang J F, Liu M, Li Y. Creation of a watermelon haploid inducer line via *CIDMP3*-mediated single fertilization of the central cell. *Horticulture Research*, 2023, 10 (6): uhad081
- [37] Zhao X Y, Yuan K W, Liu Y X, Zhang N, Yang L M, Zhang Y Y, Wang Y, Ji J L, Fang Z Y, Han F Q, Lv H B. *In vivo* maternal haploid induction based on genome editing of *DMP* in *Brassica oleracea*. *Plant Biotechnology Journal*, 2022, 20: 2242-2244
- [38] Zhong Y, Wang Y W, Chen B J, Liu J C, Wang D, Li M R, Qi X L, Liu C X, Boutilier K, Chen S J. Establishment of a *dmp* based maternal haploid induction system for polyploid *Brassica napus* and *Nicotiana tabacum*. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2022, 64 (6): 1281-1294
- [39] Li Y F, Li D, Xiao Q, Wang H D, Wen J, Tu J X, Shen J X, Fu T D, Yi B. An in planta haploid induction system in *Brassica napus*. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2022, 64 (6): 1140-1144
- [40] Jiang C L, Sun J, Li R, Yan S J, Chen W, Guo L, Qin G C, Wang P C, Luo C, Huang W J, Zhang Q H, Fernie A R, Jackson D, Li X, Yan J B. A reactive oxygen species burst causes haploid induction in maize. *Molecular Plant*, 2022, 15 (6): 943-955
- [41] Blakeslee A F, Avery A G. Methods of induction doubling of chromosomes in plants by treatment with colchicine. *Journal of Heredity*, 1937, 28: 393-411
- [42] Ramsey J, Schemske D W. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 1998, 29: 467-501
- [43] Wang Y, Zhai Y J, Zhang M Z, Song C L, Zhang Y Q, Zhang G. Escaping from CRISPR-Cas-mediated knockout: the facts, mechanisms, and applications. *Cell Molecular Biology Letter*, 2024, 29 (1): 48
- [44] 王芳权, 陈智慧, 许扬, 王军, 李文奇, 范方军, 陈丽琴, 陶亚军, 仲维功, 杨杰. 水稻广谱抗稻瘟病基因 *PigmR* 功能标记的开发及应用. *中国农业科学*, 2019, 52 (6): 955-967
- [45] 谭耀鹏, 李兰芝, 李平, 王玲霞, 胡中立. 利用 DH 群体定位水稻谷粒外观性状的 QTL. *分子植物育种*, 2005, 3 (3): 314-322
- [46] Tian J G, Wang C L, Chen F Y, Qin W C, Yang H, Zhao S H, Xia J L, Du X, Zhu Y F, Wu L S, Cao Y, Li H, Zhuang J H, Chen S J, Zhang H Y, Chen Q Y, Zhang M C, Deng X W, Deng D Z, Li J G, Tian F. Maize smart-canopy architecture enhances yield at high densities. *Nature*, 2024, 632: 576-584
- [47] 何鸟飞, 赵绪涛, 李开祥, 杜德志. 分子标记辅助选择在油菜育种中的应用现状与展望. *江苏农业科学*, 2024, 52 (1): 10-16
- [48] Li Y, Lin Z, Yue Y, Zhao H M, Fei X H, E L Z, Liu C X, Chen S J, Lai J S, Song W B. Loss-of-function alleles of *ZmPLD3* cause haploid induction in maize. *Nature Plants*, 2021, 7: 1579-1588

(收稿日期: 2025-05-18)