

单倍体育种研究进展及其在 亚麻育种中的应用

齐燕妮, 王利民, 李闻娟, 党照, 汪平, 赵玮,
谢亚萍, 徐晨梦, 王琰, 张建平
(甘肃省农业科学院作物研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 单倍体育种能有效缩短育种年限, 不但从本质上提高作物新品种选育进程, 而且在杂合二倍体中不表达的一些隐性基因可以在双单倍体(DH)中表达, 有利于发现作物的优良性状, 提高育种效率。此外, 单倍体对分子遗传学、细胞生物学、作物进化等基础研究也具有非常重要的作用。亚麻作为重要的油料及经济作物, 需求量日益增多, 单倍体育种能有效加快亚麻育种进程, 促进亚麻产业发展。本文总结了作物单倍体获得方法、单倍体诱导基因研究、亚麻单倍体育种等方面的进展, 以为作物 DH 育种提供一定参考。

关键词: 双单倍体育种; 活体单倍体; DMP; PLA1; 亚麻

中图分类号: S33; S563.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 2097-2172(2025)02-0099-06

[doi:10.3969/j.issn.2097-2172.2025.02.001](https://doi.org/10.3969/j.issn.2097-2172.2025.02.001)

Research Progress on Haploid Breeding and Its Application in Flax Breeding

QI Yanni, WANG Limin, LI Wenjuan, DANG Zhao, WANG Ping, ZHAO Wei, XIE Yaping,
XU Chenmeng, WANG Yan, ZHANG Jianping
(Institute of Crops, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: Haploid breeding could effectively shorten the breeding cycle and essentially improve the breeding process of new varieties. Moreover, some recessive genes that are not expressed in heterozygous diploids could be expressed in double haploid (DH) lines, which is helpful to discover the beneficial traits of crops and improve breeding efficiency. Additionally, haploids play a crucial role in basic research fields such as molecular genetics, cell biology, and crop evolution. As an important oil and cash crop, the demand of flax is increasing day by day. Haploid breeding can effectively accelerate the process of flax breeding and promote the development of flax industry. This paper summarizes the progress of haploid acquisition method for crops, haploid induction gene and flax haploid breeding, which could provide certain reference for crop double haploid breeding.

Key words: Double haploid breeding; *In vivo* haploid; DMP; PLA1; Flax

传统育种需要多个世代的自交和回交才能将有益的等位基因导入目标受体, 得到性状优良的纯合株系。此方法需要大量筛选遗传背景, 并且需要较大的群体以增加遗传重组的概率, 工作繁琐、育种周期长、成本高, 而且结果不可预测, 往往达不到预期目标。此外, 当目标性状与不良性状连锁时, 此方法会受到连锁阻力效应的影响, 要分离这两个性状要么需要特别大的群体, 要么

因为特定区域没有重组事件而无法实现^[1]。双单倍体(Doubled haploid, DH)育种是基于体内诱导获得单倍体植株, 再通过加倍使植株获得正常染色体数。DH 育种能在两个世代内获得稳定的二倍体纯系, 即 DH 系, 从本质上加速作物育种进程, 而且许多在杂合二倍体中不表达的隐性基因可以在 DH 系中表达, 有利于发现作物的优良性状, 提高作物育种效率^[2]。此外, DH 育种对于分子遗传

收稿日期: 2024-09-23; 修订日期: 2024-10-20

基金项目: 国家自然科学基金(32360502); 国家特色油料产业技术体系(CARS-14-1-05); 兰州市科技计划项目(2023-3-37); 安宁区科技计划项目(2023-JB-8); 甘肃省重点研发计划(24YFWA002)。

作者简介: 齐燕妮(1987—), 女, 甘肃庆阳人, 助理研究员, 硕士, 主要从事胡麻分子育种研究工作。Email: qiyanni@gsagr.ac.cn。

通信作者: 张建平(1972—), 男, 陕西蓝田人, 研究员, 主要从事胡麻育种研究工作。Email: zhangJPzw3@gsagr.ac.cn。

学、细胞生物学、作物进化等基础研究也有相当重要的作用^[3]。自从 Guha 等^[4]通过曼陀罗花药离体培养获得单倍体胚胎,越来越多的作物相继培育出了单倍体植株^[5],而且已经成功应用于玉米、亚麻、油菜等重要农作物育种中^[6-8],获得了显著的经济效益和社会效益。随着单倍体技术的广泛应用,在多种作物中对单倍体获得方法进行了深入研究,并且相继培育出单倍体植株^[9]。

亚麻(*Linum usitatissimum* L, $2n=2x=30$)属于亚麻科亚麻属,一年生,是一种古老的油用和纤维作物,早在一万年以前的古埃及和古苏美尔,人类就开始利用其油用和纤维价值^[10]。亚麻籽富含 α -亚麻酸(55%左右)、木酚素、膳食纤维及蛋白质等多种营养成分,在抗癌、增强智力、预防和治疗心脑血管疾病等方面具有重要作用^[11-12]。随着人们健康观念的日益增强,亚麻成为备受喜爱的油料作物之一,亚麻籽需求量越来越大,并且对亚麻籽品质有了更高的要求。目前,中国亚麻产量占世界总产量的12%,亚麻籽进口量是世界总进口量的31%^[13]。亚麻纤维具有柔软、细度好、拉力强等特点,有“纤维皇后”的美称,是纺织工业重要的原材料。我国是亚麻制品生产和出口大国,但国内亚麻纤维产量严重不足,近年来每年从欧洲进口亚麻纤维11万t左右,是亚麻纺织原料的进口大国。可见,中国亚麻产需缺口巨大,因此,迫切需要建立一种快速有效的育种方法,加快优良亚麻品种培育进程。

1 作物单倍体获得方法研究进展

在自然条件下,植物虽然能够自发形成单倍体,但频率极低,仅0.002%~0.020%,无法满足育种的需求^[14]。近年来,在单倍体获得方面进行了大量研究。

1.1 雄配子体离体培养

1982年,胡道芬等^[15]首次利用小麦雄配子体离体培养培育出冬小麦品种京花1号。同年,Lichter^[16]首次利用油菜小孢子成功培养出单倍体。1991年,杭玲等^[17]以花药为材料首次培育出玉米杂交种。此外,大麦、水稻、白菜等多种作物也通过雄配子体离体培养获得了单倍体植株^[18-20]。

1.2 未受精雌核离体培养

未受精子房或胚珠离体培养也可获得单倍体

植株。San^[21]首次利用未受精子房培养出大麦单倍体植株,随后在水稻、小麦、玉米等多个作物中也取得了成功^[22]。然而,体外获得单倍体的方法具有高度的基因型依赖性,在多种作物中的应用受到限制^[2, 23]。

1.3 孤雌生殖

孤雌生殖是获得单倍体的另一种方式。2006年,雷春等^[24]利用 γ 射线辐射黄花雄花,之后进行授粉成功获得了黄瓜单倍体植株。用激动素、甲苯胺蓝、油菜素内酯等化学药物处理去雄后的柱头或未授粉的花序也可诱导孤雌生殖,已在小麦、玉米等作物中获得了单倍体植株^[25-26]。此外,通过远源花粉刺激也可诱导孤雌生殖,从而获得单倍体植株,这种方法在小麦、大麦等作物中的应用比较广泛。1984年,Zenktele^[27]最早利用玉米花粉对小麦进行授粉获得了小麦单倍体植株,将小麦与高粱、大麦分别进行远缘杂交也可产生小麦单倍体^[28-29]。尽管如此,利用辐射或化学药物诱导单倍体操作复杂、成本高,且诱导率较低,而远缘杂交则存在诱导效率低、依赖遗传背景等问题,且目前主要应用于禾本科作物。

1.4 母本单倍体诱导系

母本单倍体诱导系诱导单倍体操作简单、成本低、不依赖遗传背景、诱导效率高,是目前获得玉米单倍体的主要方法之一,该方法主要在单子叶作物中得到了商业化应用。Stock6是最早发现的活体单倍体诱导系,也是世界上第一个被广泛应用的诱导系,单倍体诱导率(Haploid induction rate, HIR)达2.3%^[30]。随后以Stock6为基础进行改良及选育,选育出ZMs、SW14等多个新单倍体诱导系,诱导率可达8%~12%^[31]。目前,玉米活体单倍体诱导系统(Haploid induction, HI)已经成功应用于水稻、小麦、油菜、苜蓿、马铃薯等物种^[32-36]。此外,将HI系统与CRISPR/Cas9(Clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated protein 9)基因编辑技术相结合,建立了单倍体诱导系介导的基因组编辑(Haploid-inducer mediated genome editing, IMGE)方法,可以在不同遗传背景下实现基因编辑,而不会导入父本基因组,两代内即可获得目标性状改良的DH系^[37-38]。此方法克服了许多具有商业价值的

品种性状改良费时费力和遗传转化困难的问题, 可以在很大程度上加速作物育种进程。在双子叶植物中也有关于活体单倍体诱导系统的报道, 但绝大多数双子叶活体 HI 系统效率极低或是无法应用于其他双子叶作物^[39]。

2 单倍体诱导基因研究进展

虽然早在六十多年前就发现玉米 Stock6 可诱导单倍体的产生, 但在近几年才对玉米活体 HI 背后的遗传机制有了比较深入的了解。QTL 定位结果表明, 玉米单倍体诱导主要由 *qhir1* 和 *qhir8* 两个位点控制, 对单倍体诱导率遗传变异的作用分别为 66%、20%^[40-41]。*qhir1* 位点触发 HI 的原因是 *ZmPLA1/MATL/NLD* (*patatin-like phospho-lipaseA1/MATRILINEAL/NOT LIKE DAD*) 基因编码区 C 端有 4 bp 的插入^[42-44], 此基因编码在精细胞中特异表达的磷脂酶; 而 *qhir8* 位点触发 HI 的原因是 *ZmDMP* (DOMAIN OF UNKNOWN FUNCTION 679 membrane protein) 基因发生了单核苷酸突变, 引起第一个跨膜结构域中一个氨基酸的替换^[45]。

2.1 *PLA1* 基因克隆及功能解析

2017 年, 3 个研究团队同时对 *ZmPLA1/MTL/NLD* 基因进行了克隆与功能验证。Gilles 等^[43]的研究证实, 所研究的诱导系材料中, 所有 *NLD* 基因都有一个 4 bp 的插入, 引起蛋白编码提前终止, 与野生型 *NLD* 蛋白相比, 突变型 *NLD* 蛋白无法定位在精细胞膜上; 而且 *NLD* 启动子仅在成熟花粉及花粉管中有活性。Liu 等^[42]的研究表明, *Zm-PLA1* 基因在花粉中特异表达, 在三核期其 mRNA 水平最高; 利用 CRISPR 对 *ZmPLA1* 进行敲除, 不同类型突变体的 HIR 最高可达 6.67%, 平均值为 2.00%, 与 Stock6 的 HIR 接近^[30]; 同时还发现, 以 *zmpla1* 突变体为父本进行杂交时, 胚乳败育率为 9.05%~10.25%。Kelliher 等^[44]利用 TALEN 技术对 *MTL* 进行编辑, 以 *mtl* 突变株作为父本与野生型进行杂交, HIR 达 6.70%。

MATL 在谷类作物中很保守, 在水稻中鉴定到了同源基因 *OsMATL*, *OsMATL* 在花粉中特异表达, 具有与 *ZmMATL* 相同的表达模式, 对 *Os-MATL* 进行敲除会降低结籽率, 突变体的 HIR 为 2%~6%^[32]。在小麦中也鉴定到了 *ZmPLA1* 同源基因 *TaPLA-A*、*TaPLA-B* 和 *TaPLA-D*, 对这 3 个基

因进行编辑, 除了结籽率之外(转化株系结籽率为 30.0%~60.0%, 野生株系结籽率平均值为 92.6%), 转化株系与野生株系在表型上无明显差异^[33]。转化株系自交可诱导产生单倍体, HIR 为 5.88%~15.66%, 将转化株系与其他品种进行杂交, HIR 可达 10.00%以上, 由于小麦是六倍体, 还产生了非整倍体。尽管如此, *MTL/NLD/ZmPLA1* 在双子叶植物中并不保守, 且未在双子叶植物中鉴定到 *ZmPLA1* 同源基因^[32-33, 44], 因此, 基于 *PLA1* 基因的单倍体诱导系统难以在双子叶植物中得到应用。

2.2 *DMP* 基因克隆及功能解析

玉米单倍体诱导系 CAU5 (具有 *qhir8* 位点) 的 HIR 要高于 CAUHOI (不存在 *qhir8* 位点), 在 *qhir1* 存在时, *qhir8* 可将 HIR 提高 2~3 倍^[40]。Zhong 等^[45]利用图位克隆鉴定到玉米 *DMP* 基因并利用 CRISPR 对其进行了功能验证。结果表明, *zmdmp* 突变体的 HIR 为 0.1%~0.3%, 且在 *zmpla1* 存在时, *ZmDMP* 的敲除将 HIR 提高了 5~6 倍, 这说明利用 CRISPR 对 *ZmDMP* 进行编辑可作为创制单倍体诱导系的一种新途径。此外, 该研究还发现 *ZmDMP* 和 *zmdmp* 具有相同的表达模式, 均在花粉发育后期表达量较高, 且其编码蛋白都定位在质膜。系统发育分析表明, *DMP* 在单子叶和双子叶植物中都相当保守, 序列同源性高达 74%, 而且 DUF679 结构域中 4 个跨膜结构域的氨基酸序列也相当保守^[45-48], 此外, *ZmDMP-like* 基因的表达模式与 *ZmDMP* 一致, 在花粉、雄蕊及花蕾等组织中的表达量相对较高, 这为在双子叶植物中建立 *DMP-HI* 系统提供了可能。

2020 年 Zhong 等^[48]在拟南芥中发现, *AtDMP8* 和 *AtDMP9* 功能缺失可诱导单倍体的产生, 当以 *dmp8*、*dmp9* 和 *dmp8 dmp9* 突变株分别作为父本与野生型杂交时, *dmp8*(0.03%) 和 *dmp9*(0.40%) 突变株的 HIR 明显低于 *dmp8 dmp9*(2.1%±1.1%) 突变株。对单倍体植株进行重测序, 经染色体倍性和 SNP 分析, 所有植株均为纯粹的母本单倍体。此外, 各类型突变体自交时, 只有 *dmp8 dmp9* 突变株能诱导产生单倍体。随后 Zhong 等^[49]在异源多倍体甘蓝型油菜和普通烟草中建立了基于 *DMP* 的母本单倍体诱导系统, 平均单倍体诱导率分别为 2.4% 和 1.2%。同年, 在豆科苜蓿、甘蓝、异源四倍体烟草

及马铃薯中也建立了 DMP-HI 系统^[35-36, 50-51]。这些结果进一步证实了 DMP 基因在双子叶植物中具有单倍体诱导能力, DMP-HI 系统为加速这些作物育种进程提供了一种新的 DH 技术。该方法的成功以及 DMP 基因在双子叶植物中的保守性, 表明 DMP-HI 系统在其他双子叶植物中具有广泛的适用性。

在玉米中已经证实了单受精和染色体消除是单倍体胚形成的重要原因^[38, 52-53]。有研究表明, *AtDMP8* 和 *AtDMP9* 对卵细胞-精子融合的促进作用大于对中心细胞-精子融合的促进作用, 一个 *dmp8 dmp9* 突变的精细胞优先与中心细胞融合, 而另一个精细胞仅仅是附着在卵细胞上, 却无法完成受精, 这说明中心细胞的受精与胚乳发育对产生可育的单倍体种子是必需的^[46-48]。这些研究表明, DMP 在双受精中的功能是保守的, 但对 DMP 诱导单倍体的机制还需要进一步解析。

3 亚麻单倍体育种研究进展

亚麻单倍体最早于 1933 年由 Kappert^[54]发现, 1979 年孙洪涛^[55]首次在实验室通过花药培养获得了亚麻单倍体植株。建立一种有效且成本较低的亚麻单倍体产生方法, 是 DH 技术在亚麻育种实践中进行应用的先决条件, 而且单倍体和双单倍体是亚麻细胞培养研究非常重要的材料。因此, 国内外许多研究者对亚麻单倍体产生方法、影响因素等相关方面进行了全面系统地研究, 并应用到了亚麻育种实践中^[56-57]。

目前, 花药培养是亚麻 DH 育种中应用最成功的方法, 先后育成了 Venica、双亚 13 号等品种^[7, 58]。然而亚麻花药培养具有很强的基因型依赖性, 不同品种的花培反应能力具有显著差异^[59]。此外, 亚麻花药培养植株再生效率普遍较低, 所以认为亚麻是一种具有花培抗性的作物^[60]。除花药培养之外, 相继通过小孢子培养、子房培养、双胚亚麻获得了亚麻单倍体植株^[61-63]。小孢子培养比花药培养难度更大^[58], 国内目前还没有通过小孢子培养成功获得亚麻单倍体的报道。通过对未受精子房进行培养也可产生亚麻单倍体植株, 但子房培养也具有较强的基因型依赖性, Obert 等^[62]的研究中不同基因型愈伤组织诱导率为 4%~64%。双胚亚麻是产生亚麻单倍体的另一种方式, 然而

不同基因型间双生胚产生频率具有很大差异^[63-65], 要在育种中进行应用, 需要将易产生双生胚的材料与其他材料进行杂交, 但这需要较长的育种周期。

4 展望

将单倍体育种技术应用到亚麻育种中是培育优良亚麻品种、加速亚麻育种进程的重要途径。DMP-HI 系统不依赖遗传背景、能快速有效的产生单倍体, 是目前应用潜力最大的获得单倍体的方法。目前 DMP-HI 系统只在拟南芥、烟草、油菜、甘蓝及马铃薯等极少数双子叶植物中得到了应用^[36, 48-50], 亚麻中尚未有相关报道。因此明确 DMP 基因诱导亚麻单倍体的生物学功能、创制亚麻自有的活体单倍体诱导系并将其应用于亚麻育种具有重要的理论和实践意义。

参考文献:

- [1] PENG T, SUN X, MUMM R H. Optimized breeding strategies for multiple trait integration: I. Minimizing linkage drag in single event introgression[J]. *Molecular Breeding*, 2014, 33(1): 89-104.
- [2] CHANG M T, COE E H. In molecular genetic approaches to maize improvement(eds Kriz A L & Larkins B A)[M]. Heidelberg: Springer Berlin, 2009.
- [3] FORSTER B, HEBERLEBORS E, KASHA K, et al. The resurgence of haploids in higher plants[J]. *Trends in Plant Science*, 2007, 12(8): 368-375.
- [4] GUHA S, MAHESHWARI S C. In vitro production of embryos from anthers of *Datura* [J]. *Nature*, 1964, 204(4957): 497.
- [5] MALUSZYNSKI M, KASHA K J, FORSTER B P, et al. Doubled haploid production in crop plants: A manual [M]. Dordrecht: Kluwer Springer, 2003.
- [6] FORSTER B P, THOMAS W T. Doubled haploids in genetics and plant breeding[J]. *Plant Breeding Reviews*, 2005, 25: 57-88.
- [7] 宋淑敏. 亚麻新品种“双亚 13 号”的选育[J]. *中国麻业科学*, 2008, 30(4): 197-198.
- [8] THOMPSON K F. Cytoplasmic male-sterility in oil-seed rape[J]. *Heredity*, 1972, 29(2): 253-257.
- [9] KALINOWSKA K, CHAMAS S, UNKEL K, et al. State-of-the-art and novel developments of in vivo haploid technologies[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2019, 132(3): 593-605.
- [10] ZOHARY D. Monophyletic vs. polyphyletic origin of the crops on which agriculture was founded in the near east [J]. *Genetic Resources & Crop Evolution*, 1999, 46:

- 133–142.
- [11] GOYAL A, SHARMA V, UPADHYAY N, et al. Flax and flaxseed oil: an ancient medicine & modern functional food[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2014, 51(9): 1633–1653.
- [12] TOLKACHEV O N, ZHUCHENKO A A. Biologically active substances of flax: Medicinal and nutritional properties[J]. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2000, 34(7): 360–367.
- [13] Food and Agriculture Organization of the United Nations Database[EB/OL]. (2020–10–15). <http://www.fao.org/faostat/en/#home>.
- [14] SAVIN F, DECABLE V, LE C M, et al. The X-ray detection of haploid embryos arisen in muskmelon (*Cucumis melo* L.) seeds and resulting from a parthenogenetic development induced by irradiated pollen[J]. *Cucurbit Coop Reports*, 1988, 11: 36–40.
- [15] 胡道芬, 汤云莲, 袁振东, 等. 冬小麦花粉孢子体的诱导及“京花1号”的育成[J]. *中国农业科学*, 1983, 16(1): 29–35.
- [16] LICHTER R. Induction of haploid plants from isolated-pollen of *Brassica napus*[J]. *Zeitschrift Für Pflanzenphysiologie*, 1982, 105(5): 427–434.
- [17] 杭玲, 卢卫山, 罗毓喜. 玉米花培杂交种桂花1号和桂三1号的选育及其利用[J]. *广西农业科学*, 1991(4): 149–151.
- [18] KOHLER F, WENZEL G. Regeneration of isolated barley microspores in conditioned media and trials to characterize the responsible factor[J]. *Journal of Plant Physiology*, 1985, 121(2): 181–191.
- [19] CHOM M S, ZAPATA F J. Callus formation and plant regeneration on isolated pollen culture of rice (*Oryza sativa* L. cv. *Taipei309*) [J]. *Plant Science*, 1988, 58: 239–244.
- [20] SATO T, NISHIO T, HIRAI M. Plant regeneration from isolated microspore cultures of Chinese cabbage (*Brassica campestris* spp. *Pekinensis*) [J]. *Plant Cell Reports*, 1989, 8(8): 486–488.
- [21] SAN N L H. Haploids of *Hordeum vulgare* L. from in vitro culture of unfertilized ovaries[J]. *Annales de Amélioration des Plantes*, 1976, 26: 751–754.
- [22] XU Y. *Molecular plant breeding* [M]. Wallingford, UK: Centre for Agriculture and Biosciences International, 2010.
- [23] DWIVEDI S L, BRITT A B, TRIPATHI L, et al. Haploids: constraints and opportunities in plant breeding[J]. *Biotechnology Advances*, 2015, 33: 812–829.
- [24] 雷春, 陈劲枫, 钱春桃, 等. 辐射花粉授粉培育单倍体黄瓜研究[J]. *中国农业科学*, 2006, 39(7): 1428–1436.
- [25] 赵佐宇, 明光. 药物诱导玉米孤雌生殖获得二倍体纯系[J]. *遗传学报*, 1984, 11(1): 39–46.
- [26] 孙耀中, 董洪平. 在隔离区用药物诱导显性核不育小麦孤雌生殖的研究[J]. *华北农学报*, 1995, 10(1): 11–16.
- [27] ZENKTELER N W. Hybridization experiments in cereals[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1984, 68(4): 311–315.
- [28] LAURIE D A, BENNETT M D. Cytological evidence for fertilization in haploid wheat × sorghum crosses[J]. *Plant Breeding Reviews*, 1988, 10: 73–82.
- [29] BARLY I R. High frequencies of hold production in wheat by chromosome elimination[J]. *Nature*, 1975, 256: 410–411.
- [30] COE E H. A line of maize with high haploid frequency [J]. *The American Naturalist*, 1959, 93(873): 381–382.
- [31] ROBER F K, GORDILLO G A, GEIGER H H. In vivo haploid induction in maize—performance of new inducers and significance of doubled haploid lines in hybrid breeding[J]. *Maydica*, 2005, 50: 275–283.
- [32] YAO L, ZHANG Y, LIU C, et al. OsMATL mutation induces haploid seed formation in indica rice[J]. *Nature Plants*, 2018, 4(8): 530–533.
- [33] LIU C, ZHONG Y, QI X, et al. Extension of the in vivo haploid induction system from maize to hexaploid wheat [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2020, 18(2): 316–318.
- [34] ZHONG Y, WANG Y, CHEN B, et al. Establishment of a dmp based maternal haploid induction system for polyploid *Brassica napus* and *Nicotiana tabacum*[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2022, 64(6): 1281–1294.
- [35] WANG N, XIA X, JIANG T, et al. In planta haploid induction by genome editing of DMP in the model legume *Medicago truncatula*[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2022, 20(1): 22–24.
- [36] ZHANG J, YIN J, LUO J, et al. Construction of homozygous diploid potato through maternal haploid induction [J]. *Abiotech*, 2022, 3(3): 163–168.
- [37] WANG B, ZHU L, ZHAO B, et al. Development of a haploid-inducer mediated genome editing (IMGE) system for accelerating maize breeding[J]. *Molecular Plant*, 2019, 12(4): 597–602.
- [38] KELLIHER T, STARR D, SU X, et al. One-step genome editing of elite crop germplasm during haploid induction [J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(3): 287–292.

- [39] HOUGAS R W, PELOQUIN S J. A haploid plant of the potato variety Katahdin[J]. *Nature*, 1957, 180(4596): 1209–1210.
- [40] DONG X, XU X, MIAO J, et al. Fine mapping of *qhir1* influencing *in vivo* haploid induction in maize[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126: 1713–1720.
- [41] LIU C, LI W, ZHONG Y, et al. Fine mapping of *qhir8* affecting *in vivo* haploid induction in maize[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2015, 128(12): 2507–2515.
- [42] LIU C, LI X, MENG D, et al. A 4-bp insertion at *Zm-PLA1* encoding a putative phospholipase a generates haploid induction in maize[J]. *Molecular Plant*, 2017, 10(3): 520–522.
- [43] GILLES L M, KHALED A, LAFFAIRE J B, et al. Loss of pollen-specific phospholipase NOT LIKE DAD triggers gynogenesis in maize[J]. *The EMBO Journal*, 2017, 36(6): 707–717.
- [44] KELLIHER T, STARR D, RICHTBOURG L, et al. MATRILINEAL, a sperm-specific phospholipase, triggers maize haploid induction[J]. *Nature*, 2017, 542(7639): 105–109.
- [45] ZHONG Y, LIU C, QI X, et al. Mutation of *ZmDMP* enhances haploid induction in maize[J]. *Nature Plants*, 2019, 5(6): 575–580.
- [46] TAKAHASHI T, MORI T, UEDA K, et al. The male gamete membrane protein DMP9/DAU2 is required for double fertilization in flowering plants[J]. *Development*, 2018, 145(23): dev170076.
- [47] CYPREY P, LINDEMEIER M, SPRUNCK S. Gamete fusion is facilitated by two sperm cell-expressed DUF679 membrane proteins[J]. *Nature Plants*, 2019, 5(3): 253–257.
- [48] ZHONG Y, CHEN B, LI M, et al. A DMP-triggered *in vivo* maternal haploid induction system in the dicotyledonous *Arabidopsis*[J]. *Nature Plants*, 2020, 6(5): 466–472.
- [49] ZHONG Y, WANG Y, CHEN B, et al. Establishment of a dmp based maternal haploid induction system for polyploid *Brassica napus* and *Nicotiana tabacum*[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2022, 64(6): 1281–1294.
- [50] ZHAO X, YUAN K, LIU Y, et al. *In vivo* maternal haploid induction based on genome editing of DMP in *Brassica oleracea*[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2022, 20(12): 2242–2244.
- [51] ZHANG X, ZHANG L, ZHANG J, et al. Haploid induction in allotetraploid tobacco using DMPs mutation[J]. *Planta*, 2022, 255(5): 98.
- [52] ZHAO X, XU X, XIE H, et al. Fertilization and uniparental chromosome elimination during crosses with maize haploid inducers[J]. *Plant Physiology*, 2013, 163(2): 721–731.
- [53] TIAN X, QIN Y, CHEN B, et al. Hetero-fertilization together with failed egg-sperm cell fusion supports single fertilization involved in *in vivo* haploid induction in maize[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69(20): 4689–4701.
- [54] KAPPERT H. Erbliche polyembryonie bei *Linum usitatissimum* L[J]. *Biology Zentbl*, 1933, 53: 276–307.
- [55] 孙洪涛. 亚麻(*Linum usitatissimum*)花药培养研究初报[J]. *科学通报*, 1979, 24(20): 948–950.
- [56] FRIEDT W, BICKERT C, SCHAUB H. *In vitro* breeding of high-linolenic, doubled haploid lines of linseed (*Linum usitatissimum* L.) via androgenesis[J]. *Plant Breeding Reviews*, 1995, 114(4): 322–326.
- [57] OBERT B, ZÁCKOVÁ Z, SAMAJ J, et al. Doubled haploid production in flax (*Linum usitatissimum* L.)[J]. *Biotechnology Advances*, 2009, 27(4): 371–375.
- [58] TEJKLOVA E. Some factors affecting anther culture in *Linum usitatissimum* L[J]. *Rostlinna Vyroba*, 1996, 42: 249–260.
- [59] CHEN Y, KENASCHUK E, DRIBNENKI P. Response of flax genotypes to doubled haploid production[J]. *Plant cell, tissue and organ culture*, 1999, 57: 195–198.
- [60] SPIELMEYER W, LAGUDAH E S, MENDHAM N, et al. Inheritance of resistance to flax wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. lini Schlecht) in a doubled haploid population of *Linum usitatissimum* L[J]. *Euphytica*, 1998, 101: 287–291.
- [61] STEISS R, SCHUSTER A, FRIEDT W. Development of linseed for industrial purposes via pedigree-selection and haploid-technique[J]. *Industrial Crops & Products*, 1998, 7: 303–309.
- [62] OBERT B, BARTOSOVA Z, PRETOVA A. Dihaploid production in flax by anther and ovary cultures[J]. *Journal of Natural Fibers*, 2005, 1(3): 1–14.
- [63] NICHTERLEIN K, HORN R. Haploids in the improvement of linaceae and asteraceae haploids[M]. Berlin: Springer, 2005.
- [64] 郭亮, 赵爱萍. 亚麻叶中活性物质提取工艺优化研究[J]. *寒旱农业科学*, 2023, 2(6): 553–557.
- [65] 侯静静, 赵利, 王斌. 亚麻 *FAD* 基因家族的生物信息学鉴定分析[J]. *寒旱农业科学*, 2023, 2(3): 246–253.