

现代林木育种关键核心技术研究现状与展望

陈赢男¹, 韦素云¹, 曲冠正², 胡建军³, 王军辉³, 尹佟明¹, 潘惠新¹,
卢孟柱⁴, 康向阳⁵, 李来庚⁶, 黄敏仁¹, 王明庥^{1*}

(1.南京林业大学林木遗传与生物技术省部共建教育部重点实验室,南京林业大学林学院,江苏 南京 210037;
2.东北林业大学,林木遗传育种国家重点实验室,黑龙江 哈尔滨 150006;3.中国林业科学研究院林业研究所,
北京 100091;4.浙江农林大学林业与生物技术学院,省部共建亚热带森林培育国家重点实验室,
浙江 杭州 311300;5.北京林业大学生物科学与技术学院,北京 100083;6.中国科学院上海生命
科学研究院,植物生理生态研究所,植物分子遗传国家重点实验室,上海 200032)

摘要:良种是提升人工林生产力和增强其碳汇能力的重要基础。“林业种质资源培育与质量提升”是国家“十四五”重点研发任务之一。突破制约林木育种效率和遗传增益提升的瓶颈对于保障国家木材安全和实现“双碳”目标具有十分重要的战略意义。由于传统林木育种周期长、效率低、表型选择精度差,以分子育种为代表的现代育种技术可以显著缩短林木育种周期,精准改良目标性状,成为实现高效林木遗传改良的关键途径。笔者分析了限制林木遗传改良进程的主要问题,阐述了全基因组选择育种等现代林木育种关键核心技术的发展现状及应用情况,并对这些技术未来发展方向进行了展望,为加速林木遗传改良的重大技术创新提供参考。

关键词:林木育种;全基因组选择育种;双单倍体(DH)系育种;多倍体育种;多基因聚合育种;基因编辑育种

中图分类号:S722

文献标志码:A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文章编号:1000-2006(2022)06-0001-09

The key and core technologies for accelerating the tree breeding process

CHEN Yingnan¹, WEI Suyun¹, QU Guanzheng², HU Jianju³, WANG Junhui³,
YIN Tongming¹, PAN Huixin¹, LU Mengzhu⁴, KANG Xiangyang⁵,
LI Laigeng⁶, HUANG Minren¹, WANG Mingxiu^{1*}

(1. Key Laboratory of Tree Genetics and Biotechnology of Department of Education, College of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2. State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Northeast Forestry University, Harbin 150006, China; 3. Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China; 4. State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, College of Forestry and Biotechnology, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, China; 5. College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 6. State Key Laboratory of Plant Molecular Genetics, Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China)

Abstract: Elite cultivars provide important foundations for enhancing carbon sink capacity and increasing the productivity of forest plantations. Forestry germplasm resources breeding and quality improvement has been one of the national key research and development programs during the 14th Five-Year Plan period in China. For ensuring timber safety and achieving dual-carbon goals, it is strategically important to break through the bottleneck that restricts the increase in breeding efficiency and the genetic gain of forest trees. Due to the long period, low efficiency, and low phenotypic selection accuracy of traditional breeding approaches, modern breeding technologies represented by molecular

收稿日期 Received: 2022-06-14

修回日期 Accepted: 2022-07-02

基金项目:国家重点研发计划(2021YFD2200202)。

第一作者:陈赢男(chenyngnan@njfu.edu.cn),副教授。***通信作者:**王明庥(wangmx@njfu.edu.cn),教授,院士。

引文格式:陈赢男,韦素云,曲冠正,等.现代林木育种关键核心技术研究现状与展望[J].南京林业大学学报(自然科学版),2022,46(6):1-9.CHEN Y N, WEI S Y, QU G Z, et al. The key and core technologies for accelerating the tree breeding process[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 2022, 46(6): 1-9. DOI: 10.12302/j.issn.1000-2006.202206020.

breeding have become a critical path towards high-efficient genetic improvement of forest trees. This is because it can considerably shorten breeding cycles and improve target traits with precision. This paper analyzed the main problems limiting the genetic improvement of forest trees, reviewed the key and core technologies for accelerating the tree breeding process, such as genomic selection breeding, and further discussed some future perspectives for this area. This review will provide useful information for accelerating the revolution and innovation of genetic improvement in forest trees.

Keywords: tree breeding; genomic selection breeding; doubled haploid(DH) breeding; polyploid breeding; multi-gene pyramid breeding; gene editing breeding

森林是陆地生态系统的主体,森林碳汇在全球碳收支平衡中起着至关重要的作用,受到世界各国的广泛关注和重视。中国在第75届联合国大会上郑重承诺将争取2060年实现碳中和目标,为新时代林木遗传改良和林木良种选育工作指明了研究方向。中国是全球第一木材进口大国,自2014年起我国木材对外依存度已超过50%^[1],随着全球性的天然林禁伐,我国木材供应安全面临严峻的挑战。此外,以橡胶、生漆、松脂等次生代谢物为主要目标的林副产品生产和林业生态修复等生态文明建设的大力推进,要求林木育种工作需根据不同目的开展定向改良。同时,森林的生态功能及非木质林产品生产对社会经济发展至关重要,也日益受到有关专家的关注。因此,加速林木育种进程,培育高碳汇能力林木良种,提高人工林生产力,是实现“碳达峰、碳中和”国家战略目标、保障我国木材安全和满足市场不同需求的重要基础。传统育种以选择、交配、遗传测定为核心开展新品种培育,已选育出一系列适合不同栽培目标的优良无性系。以杨树为例,中国林业科学研究院以小叶杨(*Populus simonii*)为母本、钻天杨(*P. nigra* var. *italica*)为父本选育出抗逆、速生良种合作杨(*P. ×xi-aozhunica*),以小叶杨为母本,与钻天杨及早柳混合花粉杂交选育出群众杨(*P. ×popularis*)^[2];南京林业大学从美洲黑杨(*P. deltoides*)×小叶杨F₁代选育出生根力强、造林成活率高的速生优良品种‘NL-80105’‘NL-80106’等^[3]。传统育种技术选育的这些优良品种在“三北”防护林工程和国家造林项目中广泛应用,多年来为国家木材安全和林业产业发展做出了重要贡献。但传统育种方法存在周期长、预见性差、效率低等缺点,致使快速定向培育新品种的需求与传统育种瓶颈效应之间的矛盾日益显现。随着科学技术的发展,新的育种理论和方法不断涌现,以分子育种为代表的现代林木育种技术极大推进了林木新品种的定向选育进程。全基因组选择技术、倍性育种技术、优良性状高效聚合和基因精准编辑技术等现代林木育种核心技术体系,是加速林木遗传改良进程,实现林木高效育种,

提升我国林木种业创新能力的重要途径。

1 限制林木遗传改良进程的主要问题

传统林木遗传改良研究多集中于种质资源收集、引种驯化以及杂交育种等方面。由于木本植物固有的生物学特性,如个体高大、世代周期长等,一个育种周期往往长达十几年甚至几十年的时间,多世代轮回选择育种进程难以推进,遗传增益提升缓慢。例如,美国湿地松第1代遗传改良工作耗时34 a,第2代和第3代分别耗时16 a和11 a^[4-6]。林木许多重要经济性状如生长、材性和抗性属于多基因控制的数量性状,林木多为异交物种,遗传负荷较高,普遍存在自交不亲和或近交衰退现象,不能像农作物一样获得自交系、近交系等基本的遗传作图和育种群体材料,限制了林木重要经济性状的精细遗传定位与解析,林木新品种定向培育的需求难以满足。此外,林木遗传背景复杂,多数树种缺少完整的遗传转化体系,已建立组培再生体系的树种仍具有较强的基因型效应和基因型依赖性,不能广泛应用于不同基因型的研究,导致林木功能基因组研究相对薄弱,制约了基因工程育种以及精准基因编辑等先进育种理念和技术在林木遗传改良上的应用。总之,与作物相比,林木具有世代周期长、近交衰退、遗传背景复杂、遗传转化体系匮乏、基因功能研究相对薄弱等特点或问题,这些因素限制了林木遗传改良进程,成为提升林木育种效率、加速林木种质创新的瓶颈。

2 加速林木遗传改良进程的现代育种技术

2.1 全基因组选择育种

林木世代周期长,传统林木育种主要是基于表型选择,表型数据的获得依靠人工测量,存在效率低、误差大和部分性状测量难度大等不足。突破林木长育种周期瓶颈的关键是实现由表型选择向基因型选择的转变。目前较有效的技术是基于基因型的早期选择技术:一是针对主效基因位点控制性状的分子标记辅助选择(marker-assisted selection, MAS)育种技术,二是针对微效多基因控制性状的

基因组选择(genomic selection, GS)育种技术。

利用分子标记能够精确定位控制目标性状的主效遗传位点, MAS 技术将标记信息纳入遗传改良, 逐步实现了由表型选择向基因型选择的转变。在水稻 (*Oryza sativa*)、玉米 (*Zea mays*)、小麦 (*Triticum aestivum*) 等作物上, 通过重要农艺性状紧密连锁的分子标记, 实现了从基因型层面上对抗病、产量、分蘖性状等的 MAS 育种^[7]。在林木 MAS 研发方面, 自 20 世纪 90 年代开始, 国内外学者针对杨树^[8-9]、柳树^[10]、桉树^[11]、火炬松^[12] 等多个树种开展了重要性状基因定位与遗传解析研究。最近, 南京林业大学林木遗传育种研究团队克隆了美洲黑杨性别决定基因, 开发了性别特异的分子标记, 为实现不飞絮美洲黑杨新品系的早期选择奠定了基础^[13]。值得注意的是, MAS 技术主要依赖于数量性状基因位点 (quantitative trait loci, QTL) 定位的准确性以及位点的遗传效应, MAS 只能利用与效应显著的基因或主效 QTL 紧密连锁的标记进行辅助选择, 对遗传力低的性状选择准确性差。林木大多数重要经济性状都是由微效多基因控制的数量性状, 每个基因的效应较小, 且基因间、基因与环境间存在复杂的互作关系, 加上 MAS 技术涉及的分子标记数量有限, 无法对众多微效基因控制的数量性状进行有效选择, 极大地限制了 MAS 技术在育种中的应用。

随着高通量测序技术的飞速发展以及基因分型成本的下降, 基于精确基因组信息的辅助育种研究为优异基因资源的发掘与利用带来了新的机遇。Meuwissen 等^[14] 在 2001 年首次提出了基因组选择 (GS) 育种的概念, GS 利用覆盖全基因组的高密度标记进行目标性状选择, 尤其对低遗传力、微效多基因控制的复杂性状具有较好的预测效果。相对于 MAS 育种, GS 育种的优势在于不需要检测与目标性状相关的主效 QTL, 且能在表型调查前进行早期选择, 可以大大提高育种效率及单位时间的选择增益。此外, GS 育种还可以克服林木复杂性状遗传基础薄弱及基因位点难以精准定位的局限。目前 GS 在牲畜育种中已取得了巨大成效, 如中国农业大学创建的奶牛 GS 技术平台, 使荷斯坦牛育种世代间隔较常规选择技术缩短了 4 年, 选择准确性提高了 22%^[15]。近年来 GS 在水稻、小麦、玉米等农作物中也取得了较大的进展^[16-18]。林木 GS 技术研发尚处于起步阶段, 主要针对林木生长、材性等性状构建 GS 预测模型, 并对影响基因组预测准确性的主要因素开展理论研究。Resende 等^[19] 首

次在林木中应用 GS 技术, 该研究通过对两个不同桉树群体的生长和木材品质性状分别构建预测模型, 发现 GS 预测精度受到目标性状和有效群体大小的影响, 较小有效群体的 GS 预测准确度较高, 此外, 该研究还发现使用一个群体的 GS 模型来预测另一个无亲缘关系的群体时, GS 预测精度会大幅度下降^[19]; Isik 等^[20] 利用包含 661 个无性系的海岸松 (*Pinus pinaster*) 育种群体构建 GS 预测模型, 发现 GBLUP、Bayesian Ridge regression 和 Bayesian LASSO regression 3 种模型对海岸松胸径和地径的预测准确度相似; Thistlethwaite 等^[21] 利用 1 372 株花旗松 (*Pseudotsuga menziesii*) 训练群体构建的 GS 模型, 对株高和木材密度性状的预测准确率达到 79%~92%; Suontama 等^[22] 利用 691 株亮果桉 (*Eucalyptus nitens*) 训练群体构建 GS 预测模型, 发现材性性状的预测准确度高于生长性状的预测准确度; Lenz 等^[23] 构建的预测模型对白云杉 (*Picea glauca*) 大部分性状的预测准确率可以达到 61%~74%, 该研究首次在多交配设计的背景下测试 GS 选择效率, 证明了半同胞家系预测比基于母系谱系的预测准确率提高了 22%~52%, 比使用重建的全同胞家系的预测准确率提高 5%~7%, 证明了 GS 方法用在林木半同胞家系育种选择中是可行的。我国林木 GS 育种研究目前尚属空白, 但在常规育种过程中保留有大量全同胞或半同胞家系, 可以根据育种目标快速构建 GS 训练群体和育种群体, 有针对性地开发并优化各类林木 GS 预测模型, 提高目标性状预测的能力和准确度。

2.2 基于单倍体的双单倍体 (DH) 系工程化育种

利用传统育种方法, 植物需要经过 6~8 代的自交和选择, 才能获得基因型和表型相对稳定的纯合品系, 但在长期制种和繁育过程中仍然可能发生产性状分离和衰退等现象。利用单倍体 (haploid) 加倍得到 DH (doubled haploid) 系的育种策略一般只需 2 代即可获得纯系, 可以大大缩短育种周期, 而且得到的 DH 系具有基因组高度纯合、稳定性强、遗传变异丰富等独特的遗传学优势, 是选配高产优质、强优势组合的宝贵育种材料。基于单倍体技术的 DH 系工程化育种已经在农作物特别是玉米种质改良和新品种选育中发挥了巨大作用^[24]。北京市农林科学研究院玉米研究中心利用单倍体诱导技术选育的 'MC278' 'MC703' 'MC670' 等优良玉米品种已经通过国家和省级审定, 其中, 新品种 'MC670' 刷新了我国玉米单产记录^[25]。

林木是基因组高度杂合的异交物种, 有性生殖

会导致性状分离,利用单倍体诱导和加倍技术获得DH系,在此基础上开展定向改良和选配组合培育良种,是缩短林木育种年限和提高育种效率的有效途径。花药离体培养是目前获得单倍体及DH系最为常用的手段。林木花药离体培养具有极强的基因型依赖性,不同树种或同一树种的不同基因型植株的花药在愈伤组织诱导率、分化率及植株再生率等方面存在显著差异,多数生产上推广的林木良种难以诱导出花粉植株^[26]。此外,木本植物每年仅开花1次,花药样品的采集还受到环境及花期难以调控等因素的限制,导致林木单倍体诱导极其困难,规模化创制DH系仍存在严重的技术障碍。杨树是木本植物遗传研究的模式树种,也是开展单倍体育种研究相对深入的树种。自20世纪60年代起,学者们就开展了杨树的单倍体诱导研究,我国植物细胞学家王敬驹等^[27]最先利用花药离体培养获得了欧洲黑杨(*Populus nigra*)花粉植株,随后,10余种杨树花粉植株被成功诱导^[28]。Deutsch等^[29]利用杂交黑杨(*P. nigra*×hybrid)未成熟花粉获得了DH系,15个单倍体细胞系形成再生植株。最近,东北林业大学林木遗传育种研究团队以小黑杨(*P. simonii*×*P. nigra*)花药为材料成功获得了DH系,并对小黑杨亲本和单倍体植株开展了基因组重测序和分子核型分析,结果显示,获得的小黑杨DH系基因组高度纯合,该研究为在林木中开展DH系规模化创制提供了重要的技术支撑^[30]。

除杨树外,利用花药或花粉离体培养成功获得单倍体植株的木本植物还有大叶合欢(*Albizia lebeck*)、茶树(*Camellia sinensis*)、印楝(*Azadirachta indica*)、橡胶(*Quercus suber*)、麻疯树(*Jatropha curcas*)、*Camellia assamica*等^[31-36]。此外,单倍体和DH系在果树纯系育种中也有较为广泛的应用,通过孤雌生殖或花药/花粉离体培养等途径,目前世界上主要栽培的果树种类都已获得单倍体植株或愈伤组织,包括猕猴桃(*Actinidia deliziosa*)、多种柑橘属果树(*Citrus*)、苹果(*Malus domestica*)、梨(*Pyrus pyrifolia*)、杏(*Prunus armeniaca*)、椰子(*Cocos nucifera*)、冬枣(*Zizyphus jujuba*)等^[37-39],这些单倍体材料的获得为果树的诱变育种、倍性育种和遗传转化等研究提供了重要的材料基础。

2.3 多倍体育种

基因组多倍化不仅是植物进化的主要动力,也是物种形成和生物多样性建立的重要机制。多倍体植株普遍表现出更优越的农艺性状,如生活力强、生长迅速、器官增大、代谢物含量增加等,因而

具有较高的育种价值和应用前景。多倍体育种在农作物和果树的遗传改良中取得了较为显著的成果,例如,人工合成六倍体小麦单株产量比亲本提高了6.4%~18.1%^[40],三倍体苹果‘乔纳金’(‘Jonagold’)、四倍体葡萄‘巨峰’(‘Kyoho’)和八倍体草莓‘房香’(‘Fusanoka’)等具有果实大、风味佳、品质优等特点,在国内外的推广栽培中占据重要地位^[41]。由于林木多年生,多数树种可以无性繁殖,并且基因组倍性水平变异丰富,多倍体林木新品种一旦选育成功即可长期持续利用,因此林木多倍体育种具有独特的优越性和重要的应用价值。林木多倍体育种在短周期森林工业用材树种、收获次生代谢产物的经济林木和生态防护林木新品种选育等方面都发挥了重要作用^[42]。朱之梯等^[43]、姚春丽等^[44]利用毛白杨(*P. tomentosa*)天然2n花粉与毛新杨(*P. tomentosa*×*P. bolleana*)回交成功选育出的三倍体毛白杨具有生长快、纤维素含量高和木素含量低等特点。Li等^[45]、康向阳^[46]通过高温处理诱导大孢子染色体加倍选育的三倍体杜仲(*Eucommia ulmoides*)无性系表现出生长快、药效成分显著提高等优良特性。由二倍体刺槐(*Robinia pseudoacacia*)体细胞加倍育成的四倍体刺槐,适宜在我国华北黄土高原和太行山宜林荒山荒坡、荒漠化治理、盐碱地改造等工程中广为栽培^[47-48]。近年来,以杨树为代表的林木多倍体诱导技术取得了显著的进步:基于高温处理诱导配子染色体加倍技术,田梦迪等^[49]利用银灰杨(*P. canescens*)2n花粉与银白杨(*P. alba*)雌配子杂交首次获得了银灰杨杂种三倍体;耿喜宁等^[50]利用毛白杨(*P. tomentosa*)2n雌配子与银腺杨(*P. glandulosa*)花粉杂交选育出毛白杨杂种三倍体,三倍体的株高和地径均优于二倍体;周晴等^[51]利用秋水仙碱诱导银灰杨优良单株的2n花粉,分别与河北杨(*P. hopeiensis*)及银腺杨杂交,获得不同组合的银灰杨杂种三倍体;Ren等^[52]利用秋水仙碱处理‘84K’杨二倍体离体叶片获得了‘84K’杨四倍体植株,与二倍体植株相比,四倍体‘84K’杨出现叶片大而厚、气孔稀疏、叶肉细胞增大、根系变短等表型变异。可见,多倍体育种是培育速生、优质、抗逆林木良种的有效途径之一,随着多倍体育种相关的细胞遗传学、分子生物学等基础理论研究的逐渐深入,以及多倍体育种技术的创新和完善,林木多倍体育种将焕发新的生机与活力。

2.4 基因工程多基因聚合育种

作物高产、优质、抗逆等重要经济性状都是由

多基因控制的复杂农艺性状。随着全基因组、转录组、蛋白组等测序分析平台的快速发展,高通量组学数据分析发现,控制重要性状的关键基因及其调控网络呈现“模块化”特点,即主效基因及其互作的多基因调控网络作为一个整体负责相关功能的发挥与目标性状的形成^[53]。林木遗传负荷高,并存在严重的连锁累赘,无法通过多代回交去除与优良性状紧密连锁的不利基因。通过模块化育种设计和多基因遗传叠加,进行多个优良性状的精准高效聚合是缩短林木育种周期、提升林木育种效率的重要技术。模块化遗传改良在番茄上已成功应用,Butelli等^[54]通过在番茄果实中特异性过量表达花青素合成调控因子(*Delila*和*Rosea1*),创制出了抗氧化能力显著提高的紫色番茄。林木也开始相关探索研究,Wang等^[55]通过转录组、蛋白组、代谢组等多组学数据整合分析,对木质素生物合成途径关键基因进行了耦合研究,为木材品质相关性状的模块化遗传改良提供了关键基因;中国科学院分子植物科学卓越创新中心李来庚团队解析了生长和材性性状基因模块的耦合效应,在分子水平上证实了林木高产和优质性状同向改良的可能性^[56];浙江农林大学卢孟柱团队获得了一系列与林木生长和次生木质部发育相关的基因和调控模块,如*PagERF35-PagWOX11/12a*模块、*PagKNAT2/6b-PagGA20OX1*模块、*PagWOX11/12a-PagCYPB6A12*模块^[57-59],为开展林木优良性状多基因聚合育种研究提供了候选基因。

以高碳汇、速生、优质为目标的分子模块设计育种,通常涉及基因位点较多,已有的林木遗传转化体系大多是转化单个或2~3个功能基因,不能满足复杂性状分子设计育种目标的需要。河北农业大学杨敏生团队利用多基因单载体的构建方法,建立了一次性转化多个目的基因的转基因技术体系,分别获得了转双*Bt*基因巨霸杨(*P. deltoides* ‘50’ × *P. deltoides* ‘36’)、转双抗虫基因(*BtCry1Ac+API*) ‘107杨’ (*P. ×euramericana* ‘74/76’)和转抗虫耐盐三价基因(*Cry1Ac + Cry3A + BADH*) ‘107杨’,其中,转双*Bt*基因巨霸杨显著提高柳蓝叶甲(*Plagioderia versicolora*)抗性^[60];转双抗虫基因 ‘107杨’,对美国白蛾(*Hyphantria cunea*)和杨扇舟蛾均具有明显抗性^[61],并且可以有效抑制靶标害虫种群发展^[62];转三价基因 ‘107杨’在低盐浓度处理下幼苗株高增长量显著高于对照^[63];Zhou等^[64]在同一个表达载体中用4个独立的启动子分别启动2个抗虫基因(*Cry3A +*

Cry1Ac)和2个耐盐基因(*mtlD+BADH*),利用叶盘法转化欧洲山杨(*P. nigra*),获得了多基因转化杨树,转基因杨树显著提高美国白蛾的抗性。此外,在高效多载体多次转化方面,Tang等^[65]通过两次独立的农杆菌介导的遗传转化,在*PaC3H17*显性抑制转基因杨树中抑制*PaMYB199*的表达,获得了生长量显著提高的转基因杨树。

2.5 基因编辑精准育种

基因编辑技术的迅猛发展,大大加快了作物遗传改良进程,同时使定向设计和精准分子育种成为可能。由于可以对目标基因开展定向编辑,CRISPR/Cas9技术为精准育种提供了前所未有的便捷工具,在提高作物产量、改良作物品质、培育抗胁迫新品种等方面已有广泛的研究报道^[66]。最早尝试应用CRISPR/Cas9技术进行木本植物基因编辑的研究工作在甜橙(*Citrus sinensis*)中开展,但该研究并未获得基因编辑植株^[67]。随后,中国西南大学罗克明团队针对*PDS*基因(八氢番茄红素脱氢酶)在毛白杨(*P. tomentosa*)中建立起杨树基因编辑体系,*PDS*基因的编辑效率达到51.7%^[68];同年,美国佐治亚大学Tsai团队报道了在银灰杨(*P. tremula × alba*)中分别编辑*CL1*和*CL2*基因(4-香豆酸辅酶A连接酶),编辑效率高达100%,获得的基因编辑株系茎秆呈红褐色^[69]。上述两项研究工作的完成标志着杨树高效基因编辑体系的建立,近年来CRISPR/Cas9技术体系在杨树生长、材性、抗逆及抗病等方面的研究中都已有成功应用的案例。例如,敲除杨树*UGT71L1*基因(UDP依赖的糖基转移酶)不仅导致植株生长出现明显变化——个体矮小、叶片变小呈锯齿状,而且对白斑毒蛾(*Orgyia leucostigma*)幼虫的抗性显著降低^[70]。除杨树外,CRISPR/Cas9技术体系已在多种果树(苹果、梨、猕猴桃、葡萄柚等)和经济树种(咖啡、橡胶、木薯等)中建立^[71],成为林木基因功能研究和遗传改良的重要工具。

CRISPR/Cas9技术还被用于定向改良作物的野生近缘种,实现作物的“从头驯化”过程。研究人员将产量和品质性状精准地导入野生番茄(*Solanum pimpinellifolium*),使得具有突出耐盐、抗病特征的野生番茄获得了更好的产量和品质性状^[72-73]。最近,中国科学院遗传与发育研究所李家洋院士团队实现了野生四倍体水稻的“从头驯化”,创造了世界首例重新设计与快速驯化的四倍体水稻^[74]。传统作物驯化过程通常需要上百年甚至上千年的时间,上述研究证实了利用CRISPR/

Cas9 技术介导的精确育种能够实现野生植物的快速驯化,极大拓展了人类利用植物丰富遗传变异的能力。野生植物的从头驯化代表着一条全新的利用植物界大量遗传及表型变异的新策略,为精准设计和创造全新作物提供了新的途径。大多数林木基本处于野生或半野生状态,由于生长周期长、基因组高度杂合等特点,在长期的进化过程中形成了大量的自然变异类型,为育种工作提供了极为丰富的基础材料。与作物相比,林木具有较为理想的自然群体材料,结合分子数量遗传学和群体遗传学的研究手段,克隆控制林木重要经济性状、抗逆、抗病性状的主效基因,并在天然群体中开发高效等位基因,在此基础上,借助 CRISPR/Cas9 介导的基因定点编辑、单碱基替换和等位基因替换系统,可以有目标地精准创制包含特定优异等位基因的林木新种质,实现从传统“经验育种”向“精准育种”的转变。

3 展 望

传统林木遗传育种技术由于周期长、效率低等问题,难以应对未来林业面临的高碳汇需求和木材安全带来的巨大挑战,迫切需要建立和应用新型育种技术。突飞猛进发展的单细胞测序、基因编辑等新兴技术为林木目标性状的基因组定位、精细调控和聚合提供了有效手段,同时为现代林木遗传改良技术的改革和创新带来了机遇。围绕制约林木育种效率和遗传增益提升的技术难题,未来林木种质创新与遗传改良将重点发展以下核心技术:

1) 全面系统性开发 GS 技术在林木遗传育种中的应用。我国虽然设计了多个树种的 GS 育种技术研发计划,但尚未有相关研究成果报道。在基因组研究基础较好的树种中优化 GS 算法模型,建立适合林木的动态 GS 新算法,利用覆盖全基因组的高密度遗传标记预测复杂数量性状,在林木种苗阶段根据基因组育种值进行个体选择,可以显著加快选育进程,提高遗传增益。

2) 建立林木 DH 系工程化育种技术。利用高通量测序筛选影响花药培养的关键因子,攻克小孢子脱分化增殖瓶颈技术;突破林木良种单倍体化学诱导加倍技术,规模化创制林木 DH 系;解析林木纯合与杂合基因组的位点遗传效应,创制具有育种价值的新种质。

3) 加强林木天然多倍体种质资源发掘,开发多倍体诱导新技术,特别是针对速生和珍贵树种良种,进一步提高多倍体诱导率,综合利用杂种优势

和倍性优势,实现林木多目标性状的快速改良。

4) 利用分子模块设计和多基因遗传操作,攻克林木优良性状高效聚合育种技术。解析林木生长、材性等重要经济性状的分子调控模块以及不同性状基因模块耦合效应,建立适用于林木目标性状联合改良的分子育种设计与精准调控技术,进一步开发高效快速多基因表达载体构建、大片段 DNA 遗传操作和遗传叠加转化技术,建立多性状高效聚合育种技术。

5) 建立更多林木野生资源的遗传转化体系,利用野生植物的从头驯化,以特异木本植物资源为起始材料,利用基因组编辑技术将与驯化改良相关的性状快速整合,有效避免传统驯化所需的漫长的杂交、筛选过程。

需要指出的是,基于杂交育种和种子园选择的传统育种体系目前仍占据林木良种选育和生产的主导地位。现代林木育种基础理论或技术方法创新在指导林木良种选育快速发展的同时,仍有许多短板问题需要解决。与作物相比,林木基因组庞大、杂合度高,多数树种基因组组装质量不高,进一步提升参考基因组的质量和水平仍是在多数树种中开展 GS 育种和分子设计育种面临的前提和基础性问题。相对于低成本、高通量、标准化分析的林木基因型数据,获取大规模、多维度表型组数据的方法较为滞后,如何开发林木表型性状高通量测定技术,搭建准确有效的表型数据采集与分析平台,是现代林木遗传育种面临的又一问题。此外,倍性育种需要目标树种具备完善的组培再生体系,多基因聚合育种和基因编辑育种都有赖于高效的遗传转化体系,但是,许多生产上推广的优良品种和我国特有的乡土树种仍不具备组培或遗传转化体系,限制了现代育种技术的应用。综合利用人工智能、基因组学、细胞工程、基因工程等方法手段,推进 GS 育种、倍性育种、多基因聚合和基因编辑育种等技术在林木中的应用与优化,无疑将大大缩短育种周期、提升林木育种效率,为解决现代林木种业卡脖子技术难题提供创新性解决方案,也将显著提升我国林木种业创新能力,为充分发挥林业的经济和生态效益提供技术支撑。

参考文献(reference):

- [1] 陈家鑫,徐子然,宋经纬,等.我国木材资源供应与用材林培育建设分析[J].林业科技通讯,2021(11):18-21. CHEN J X, XU Z R, SONG J W, et al. Analysis of China's timber resource supply status and timber forest cultivation measures[J]. For Sci Technol, 2021(11):18-21. DOI:10.13456/j.cnki.lykt.2021.01.15.0002.

- [2] 徐伟英,佟永昌.新杂交种:群众杨[J].林业科学,1984,20(2):122-131.XU W Y,TONG Y C.A new hybrid: 'Popularis' [J].Sci Silvae Sin,1984,20(2):122-131.
- [3] 桑玉强,李继东,李淑玲.杨树育种研究的现状与展望[J].河南农业大学学报,2001,35(2):134-139.SANG Y Q,LI J D,LI S L.Current situation and prospects of study on breeding of *Populus*[J].J Henan Agric Univ,2001,35(2):134-139.DOI:10.16445/j.cnki.1000-2340.2001.02.011.
- [4] 王章荣.林木高世代育种原理及其在我国的应用[J].林业科技开发,2012,26(1):1-5.WANG Z R.Principle of high-generation tree breeding and its application in China[J].China For Sci Technol,2012,26(1):1-5.
- [5] WHITE T,HODGE G,POWELL G L.An advanced-generation tree improvement plan for slash pine in the southeastern United States[J].Silvae Genet,1993,42(6):359-371.
- [6] WHITE T L,HUBER D A,POWELL G L.Third-cycle breeding strategy for slash pine by the cooperative forest genetics research program [C]// MCKINLEY C R. Proceedings of the 27th Southern Forest Tree Improvement Conference, 2003.
- [7] COLLARD B C Y,MACKILL D J.Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century [J].Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci,2008,363(1491):557-572.DOI:10.1098/rstb.2007.2170.
- [8] INGVARSSON P K,GARCIA M V,LUQUEZ V, et al.Nucleotide polymorphism and phenotypic associations within and around the phytochrome B2 locus in European aspen (*Populus tremula*, Salicaceae) [J].Genetics,2008,178(4):2217-2226.DOI:10.1534/genetics.107.082354.
- [9] SUN P,JIA H X,CHENG X Q, et al.Genetic architecture of leaf morphological and physiological traits in a *Populus deltoides* 'Danhong' × *P*[J].Tree Genet Genomes,2020,16(3):45.DOI:10.1007/s11295-020-01438-y.
- [10] WEI S Y,YANG G,YANG Y H, et al.Time-sequential detection of quantitative trait loci and candidate genes underlying the dynamic growth of *Salix suchowensis* [J].Tree Physiol,2021,42(4):877-890.DOI:10.1093/treephys/tpab138.
- [11] FREEMAN J S,POTTS B M,VAILLANCOURT R E.Few Mendelian genes underlie the quantitative response of a forest tree, *Eucalyptus globulus*, to a natural fungal epidemic [J].Genetics,2008,178(1):563-571.DOI:10.1534/genetics.107.081414.
- [12] BROWN G R,BASSONI D L,GILL G P, et al.Identification of quantitative trait loci influencing wood property traits in loblolly pine (*Pinus taeda* L.).III.QTL verification and candidate gene mapping [J].Genetics,2003,164(4):1537-1546.DOI:10.1093/genetics/164.4.1537.
- [13] XUE L J,WU H T,CHEN Y N, et al.Evidences for a role of two Y-specific genes in sex determination in *Populus deltoides* [J].Nat Commun,2020,11:5893.DOI:10.1038/s41467-020-19559-2.
- [14] MEUWISSEN T H,HAYES B J,GODDARD M E.Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps [J].Genetics,2001,157(4):1819-1829.DOI:10.1093/genetics/157.4.1819.
- [15] 杨宁,姜力.动物遗传育种学科百年发展历程与研究前沿[J].农学学报,2018,8(1):55-60.YANG N,JIANG L.The centennial development history and research frontiers of animal genetics and breeding [J].J Agric,2018,8(1):55-60.
- [16] XU S Z,ZHU D,ZHANG Q F.Predicting hybrid performance in rice using genomic best linear unbiased prediction [J].Proc Natl Acad Sci USA,2014,111(34):12456-12461.DOI:10.1073/pnas.1413750111.
- [17] BASSI F M,BENTLEY A R,CHARMET G, et al.Breeding schemes for the implementation of genomic selection in wheat (*Triticum* spp.) [J].Plant Sci,2016,242:23-36.DOI:10.1016/j.plantsci.2015.08.021.
- [18] GAIKPA D S,MIEDANER T.Genomics-assisted breeding for ear rot resistances and reduced mycotoxin contamination in maize: methods, advances and prospects [J].Theor Appl Genet,2019,132(10):2721-2739.DOI:10.1007/s00122-019-03412-2.
- [19] RESENDE M D V,RESENDE M F R Jr,SANSALONI C P, et al.Genomic selection for growth and wood quality in *Eucalyptus*: capturing the missing heritability and accelerating breeding for complex traits in forest trees [J].New Phytol,2012,194(1):116-128.DOI:10.1111/j.1469-8137.2011.04038.x.
- [20] ISIK F,BARTHOLOMÉ J,FARJAT A, et al.Genomic selection in maritime pine [J].Plant Sci,2016,242:108-119.DOI:10.1016/j.plantsci.2015.08.006.
- [21] THISTLETHWAITE F R,RATCLIFFE B,KLÁPŠTĚ J, et al.Genomic prediction accuracies in space and time for height and wood density of Douglas-fir using exome capture as the genotyping platform [J].BMC Genomics,2017,18(1):930.DOI:10.1186/s12864-017-4258-5.
- [22] SUONTAMA M,KLÁPŠTĚ J,TELFER E, et al.Efficiency of genomic prediction across two *Eucalyptus nitens* seed orchards with different selection histories [J].Heredity,2019,122(3):370-379.DOI:10.1038/s41437-018-0119-5.
- [23] LENZ P R N,NADEAU S,AZAIÉZ A, et al.Genomic prediction for hastening and improving efficiency of forward selection in conifer polycross mating designs: an example from white spruce [J].Heredity,2020,124(4):562-578.DOI:10.1038/s41437-019-0290-3.
- [24] 张如养,段民孝,赵久然,等.单倍体技术在玉米种质改良和育种中的应用方向[J].作物杂志,2012(5):4-8.ZHANG R Y,DUAN M X,ZHAO J R, et al.The application of haploid technology on germplasm improving and breeding in maize [J].Crops,2012(5):4-8.DOI:10.16035/j.issn.1001-7283.2012.05.007.
- [25] 赵久然,王帅,李明,等.玉米育种行业创新现状与发展趋势 [J].植物遗传资源学报,2018,19(3):435-446.ZHAO J R,WANG S,LI M, et al.Current status and perspective of maize breeding [J].J Plant Genet Resour,2018,19(3):435-446.DOI:10.13430/j.cnki.jpgr.2018.03.008.
- [26] 张冰玉,苏晓华,周祥明,等.林木花药培养研究进展及展望 [J].植物学通报,2003,20(6):656-663.ZHANG B Y,SU X H,ZHOU X M, et al.Progress and perspective of anther culture in forest [J].Chin Bull Bot,2003,20(6):656-663.DOI:10.3969/j.issn.1674-3466.2003.06.003.
- [27] 王敬驹,朱至清,孙敬三.杨树花粉植株的诱导 [J].植物学报,1975,17(1):56-59,81.WANG J J,ZHU Z Q,SUN J S.The induction of populus pollen-plants [J].J Integr Plant Biol,1975,17(1):56-59,81.
- [28] 朱湘渝,王瑞玲,梁彦.杨树花粉植株的诱导 [J].林业科学,1980,16(3):190-197,242.ZHU X Y,WANG R L,LIANG Y.Induction of poplar pollen plantlets [J].Sci Silvae Sin,1980,16(3):190-197,242.
- [29] DEUTSCH F,KUMLEHN J,ZIEGENHAGEN B, et al.Stable haploid poplar callus lines from immature pollen culture [J].Physiol

- Plant, 2004, 120 (4): 613–622. DOI: 10.1111/j.0031-9317.2004.0266.x.
- [30] LIU B, WANG S, TAO X Y, et al. Molecular karyotyping on *Populus simonii* × *P. nigra* and the derived doubled haploid [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22 (21): 11424. DOI: 10.3390/ijms222111424.
- [31] GHARYAL P K, RASHID A, MAHESHWARI S C. Production of haploid plantlets in anther cultures of *Albizia lebbek* L. [J]. Plant Cell Rep, 1983, 2(6): 308–309. DOI: 10.1007/BF00270188.
- [32] SERAN T, HIRIMBUREGAMA K, SHANMUGARAJAH V. Regeneration of plantlets from cultured anthers of tea [*Camellia sinensis* (L.) O.Kuntze] [J]. Trop Agric Res, 1998, 10: 271–281.
- [33] SRIVASTAVA P, CHATURVEDI R. Increased production of azadirachtin from an improved method of androgenic cultures of a medicinal tree *Azadirachta indica* A. Juss [J]. Plant Signal Behav, 2011, 6(7): 974–981. DOI: 10.4161/psb.6.7.15503.
- [34] PINTOS B, MANZANERA J A, GÓMEZ-GARAY A. Production of doubled haploid embryos from cork oak anther cultures by antimiotic agents and temperature stress [J]. Methods Mol Biol, 2021, 2289: 199–219. DOI: 10.1007/978-1-0716-1331-3_13.
- [35] AROCKIASAMY S, PATIL M, YEPURI V, et al. Anther culture in *Jatropha curcas* L.: a tree species [J]. Methods Mol Biol, 2021, 2289: 221–233. DOI: 10.1007/978-1-0716-1331-3_14.
- [36] MISHRA V K, BAJPAI R, CHATURVEDI R. Androgenic haploid plant development via embryogenesis with simultaneous determination of bioactive metabolites in Cambod tea (*Camellia assamica* ssp.) [J]. Plant Cell Tiss Organ Cult, 2022, 148 (3): 515–531. DOI: 10.1007/s11240-021-02203-2.
- [37] GERMANÀ M A. Doubled haploid production in fruit crops [J]. Plant Cell Tiss Organ Cult, 2006, 86 (2): 131. DOI: 10.1007/s11240-006-9088-0.
- [38] 张圣仓, 魏安智, 杨途熙. 果树单倍体和加倍单倍体(DH)技术研究与应用进展 [J]. 果树学报, 2011, 28 (5): 869–874. ZHANG S C, WEI A Z, YANG T X. Advances in the research and application of haploid and doubled haploid technologies in fruit trees [J]. J Fruit Sci, 2011, 28 (5): 869–874. DOI: 10.13925/j.cnki.gsx.2011.05.023.
- [39] 吴丽萍. ‘冬枣’花药培养体系优化和再生植株鉴定研究 [D]. 北京: 北京林业大学, 2013. WU L P. Optimization of anther culture system and identification of regenerated plantlets of ‘Dongzao’ (*Zizyphus jujuba* Mill.) [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2013.
- [40] 汤永禄, 杨武云, 魏会廷, 等. 利用人工合成六倍体小麦突破小麦产量瓶颈的机会与潜力 [J]. 中山大学学报(自然科学版), 2010, 49(3): 86–92. TANG Y L, YANG W Y, WEI H T, et al. Opportunities for breaking the barriers of wheat yield using synthetic hexaploid wheats [J]. Acta Sci Nat Univ Sunyatseni, 2010, 49(3): 86–92.
- [41] 王同坤, 张京政, 齐永顺, 等. 我国果树多倍体育种研究进展 [J]. 果树学报, 2004, 21 (6): 592–597. WANG T K, ZHANG J Z, QI Y S, et al. Advances on polyploid breeding of fruit crops in China [J]. J Fruit Sci, 2004, 21 (6): 592–597. DOI: 10.3969/j.issn.1009-9980.2004.06.020.
- [42] 康向阳. 林木多倍体育种研究进展 [J]. 北京林业大学学报, 2003, 25 (4): 70–74. KANG X Y. Advances in researches on polyploid breeding of forest trees [J]. J Beijing For Univ, 2003, 25 (4): 70–74.
- [43] 朱之梯, 林惠斌, 康向阳. 毛白杨异源三倍体 B301 等无性系选育的研究 [J]. 林业科学, 1995, 31 (6): 499–505. ZHU Z T, LIN H B, KANG X Y. Studies on allotriploid breeding of *Populus tomentosa* b301 clones [J]. Sci Silvae Sin, 1995, 31 (6): 499–505.
- [44] 姚春丽, 蒲俊文. 三倍体毛白杨化学组分纤维形态及制浆性能的研究 [J]. 北京林业大学学报, 1998, 20 (5): 18–21. YAO C L, PU J W. Timber characteristics and pulp properties of the triploid of *Populus tomentosa* [J]. J Beijing For Univ, 1998, 20 (5): 18–21.
- [45] LI Y, WANG Y, WANG P Q, et al. Induction of unreduced megaspores in *Eucommia ulmoides* by high temperature treatment during megasporogenesis [J]. Euphytica, 2016, 212 (3): 515–524. DOI: 10.1007/s10681-016-1781-4.
- [46] 康向阳, 杜仲良. 种选育研究现状及展望 [J]. 北京林业大学学报, 2017, 39 (3): 1–6. KANG X Y. Status and prospect of improved variety selection in *Eucommia ulmoides* [J]. J Beijing For Univ, 2017, 39 (3): 1–6. DOI: 10.13332/j.1000-1522.20160377.
- [47] KIM C. Studies on the colchitetraploids of *Robinia pseudoacacia* L. [R]. Korea: Res Rep Inst For Gen, 1975, 12: 108.
- [48] 任满田. 四倍体刺槐生物学特性及经济价值 [J]. 山西林业, 2003 (5): 29. REN M T. Biological characteristics and economic value of tetraploid *Robinia pseudoacacia* [J]. For Shanxi, 2003 (5): 29.
- [49] 田梦迪, 李燕杰, 张平冬, 等. 高温诱导银灰杨花粉染色体加倍创制杂种三倍体 [J]. 林业科学, 2018, 54 (3): 39–47. TIAN M D, LI Y J, ZHANG P D, et al. Pollen chromosome doubling induced by high temperature exposure to produce hybrid triploids in *Populus canescens* [J]. Sci Silvae Sin, 2018, 54 (3): 39–47. DOI: 10.11707/j.1001-7488.20180305.
- [50] 耿喜宁, 任勇谕, 韩志强, 等. 高温诱导大孢子染色体加倍选育毛白杨杂种三倍体 [J]. 北京林业大学学报, 2018, 40 (11): 12–18. GENG X N, REN Y Y, HAN Z Q, et al. Production of hybrid triploids via inducing chromosome doubling of megaspore with high temperature treatment in *Leuce poplar* [J]. J Beijing For Univ, 2018, 40 (11): 12–18. DOI: 10.13332/j.1000-1522.20180215.
- [51] 周晴, 吴剑, 桑亚茹, 等. 秋水仙碱处理诱导银灰杨 2n 花粉与杂种三倍体创制 [J]. 北京林业大学学报, 2020, 42 (3): 119–126. ZHOU Q, WU J, SANG Y R, et al. Pollen chromosome doubling induced by colchicine treatment and creation of hybrid triploids in *Populus canescens* [J]. J Beijing For Univ, 2020, 42 (3): 119–126. DOI: 10.12171/j.1000-1522.20190363.
- [52] REN Y Y, JING Y C, KANG X Y. *In vitro* induction of tetraploid and resulting trait variation in *Populus alba* × *Populus glandulosa* clone 84 K [J]. Plant Cell Tiss Organ Cult, 2021, 146 (2): 285–296. DOI: 10.1007/s11240-021-02068-5.
- [53] 薛勇彪, 种康, 韩斌, 等. 开启中国设计育种新篇章: 分子模块设计育种创新体系” 战略性先导科技专项进展 [J]. 中国科学院院刊, 2015, 30 (3): 393–402, 282. XUE Y B, ZHONG K, HAN B, et al. New chapter of designer breeding in China: update on strategic program of molecular module-based designer breeding systems [J]. Bull Chin Acad Sci, 2015, 30 (3): 393–402, 282. DOI: 10.16418/j.issn.1000-3045.2015.03.014.
- [54] BUTELLI E, TITTA L, GIORGIO M, et al. Enrichment of tomato fruit with health-promoting anthocyanins by expression of select transcription factors [J]. Nat Biotechnol, 2008, 26 (11): 1301–1308. DOI: 10.1038/nbt.1506.
- [55] WANG J P, MATTHEWS M L, WILLIAMS C M, et al. Improving

- wood properties for wood utilization through multi-omics integration in lignin biosynthesis[J]. *Nat Commun*, 2018, 9: 1579. DOI: 10.1038/s41467-018-03863-z.
- [56] GUI J S, LAM P Y, TOBIMATSU Y, et al. Fibre-specific regulation of lignin biosynthesis improves biomass quality in *Populus*[J]. *New Phytol*, 2020, 226(4): 1074–1087. DOI: 10.1111/nph.16411.
- [57] WANG L Q, LI Z, WEN S S, et al. *WUSCHEL*-related homeobox gene PagWOX11/12a responds to drought stress by enhancing root elongation and biomass growth in poplar[J]. *J Exp Bot*, 2019, 71(4): 1503–1513. DOI: 10.1093/jxb/erz490.
- [58] SONG X Q, ZHAO Y Q, WANG J N, et al. The transcription factor KNAT2/6b mediates changes in plant architecture in response to drought via down-regulating *GA20ox1* in *Populus alba* × *P. glandulosa*[J]. *J Exp Bot*, 2021, 72(15): 5625–5637. DOI: 10.1093/jxb/erab201.
- [59] WANG L Q, WEN S S, WANG R, et al. PagWOX11/12a activates *PagCYP736A12* gene that facilitates salt tolerance in poplar[J]. *Plant Biotechnol J*, 2021, 19(11): 2249–2260. DOI: 10.1111/pbi.13653.
- [60] DONG Y, DU S S, ZHANG J, et al. Differential expression of dual *Bt* genes in transgene poplar Juba (*Populus deltoides* cv. 'Juba') transformed by two different transformation vectors[J]. *Can J For Res*, 2015, 45(1): 60–67. DOI: 10.1139/cjfr-2014-0335.
- [61] 张益文,任亚超,刘娇娇,等.转双抗虫基因欧美杨 107 杨中外源基因的表达[J]. *林业科学*, 2015, 51(12): 45–52. ZHANG Y W, REN Y C, LIU J J, et al. Exogenous gene expression on transgenic *Populus × euramericana* cv. '74/76' carrying bivalent insect-resistant genes[J]. *Sci Silvae Sin*, 2015, 51(12): 45–52. DOI: 10.11707/j.1001-7488.20151206.
- [62] 任敏霞,张子恒,曾月霞,等.转抗虫基因 107 杨对主要节肢动物种群的影响[J]. *林业与生态科学*, 2021, 36(3): 277–284. REN M X, ZHANG Z H, ZENG Y X, et al. Effect of transgenic insect resistant gene 107 poplar on major arthropod populations[J]. *For Ecol Sci*, 2021, 36(3): 277–284. DOI: 10.13320/j.cnki.hjfor.2021.0039.
- [63] 陈盼飞,左力辉,王桂英,等.盐胁迫下转复合多基因欧美杨 107 杨幼苗生长及生理响应[J]. *林业科学*, 2017, 53(7): 45–53. CHEN P F, ZUO L H, WANG G Y, et al. Growth and physiological responses of transgenic *Populus × euramericana* cv. '74/76' with multiple genes under salt stress[J]. *Sci Silvae Sin*, 2017, 53(7): 45–53. DOI: 10.11707/j.1001-7488.20170705.
- [64] ZHOU X L, DONG Y, ZHANG Q, et al. Expression of multiple exogenous insect resistance and salt tolerance genes in *Populus nigra* L. [J]. *Front Plant Sci*, 2020, 11: 1123. DOI: 10.3389/fpls.2020.01123.
- [65] TANG X F, WANG D, LIU Y, et al. Dual regulation of xylem formation by an auxin-mediated PaC3H17-PaMYB199 module in *Populus*[J]. *New Phytol*, 2020, 225(4): 1545–1561. DOI: 10.1111/nph.16244.
- [66] GAO C X. Genome engineering for crop improvement and future agriculture[J]. *Cell*, 2021, 184(6): 1621–1635. DOI: 10.1016/j.cell.2021.01.005.
- [67] JIA H G, WANG N. Targeted genome editing of sweet orange using Cas9/sgRNA[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e93806. DOI: 10.1371/journal.pone.0093806.
- [68] FAN D, LIU T T, LI C F, et al. Efficient CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis in *Populus* in the first generation[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 12217. DOI: 10.1038/srep12217.
- [69] ZHOU X H, JACOBS T B, XUE L J, et al. Exploiting SNPs for biallelic CRISPR mutations in the outcrossing woody perennial *Populus* reveals 4-coumarate: CoA ligase specificity and redundancy[J]. *New Phytol*, 2015, 208(2): 298–301. DOI: 10.1111/nph.13470.
- [70] GORDON H, FELLEBERG C, LACKUS N D, et al. CRISPR/Cas9 disruption of UGT71L1 in poplar connects salicinoid and salicylic acid metabolism and alters growth and morphology[J]. *Plant Cell*, 2022: koac135. DOI: 10.1093/plcell/koac135.
- [71] 陈赢男,陆静. CRISPR/Cas9 系统在林木基因编辑中的应用[J]. *遗传*, 2020, 42(7): 657–668. CHEN Y N, LU J. Application of CRISPR/Cas9 mediated gene editing in trees[J]. *Hereditas*, 2020, 42(7): 657–668. DOI: 10.16288/j.ycz.20-092.
- [72] LI T D, YANG X P, YU Y, et al. Domestication of wild tomato is accelerated by genome editing[J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(12): 1160–1163. DOI: 10.1038/nbt.4273.
- [73] ZSÖGÖN A, CERMÁK T, NAVES E R, et al. *De novo* domestication of wild tomato using genome editing[J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(12): 1211–1216. DOI: 10.1038/nbt.4272.
- [74] YU H, LIN T, MENG X B, et al. A route to *de novo* domestication of wild allotetraploid rice[J]. *Cell*, 2021, 184(5): 1156–1170. e14. DOI: 10.1016/j.cell.2021.01.013.

(责任编辑 李燕文)