



宋爱萍,叶景轩,陈发棣. 观赏植物基因编辑育种研究进展[J]. 南京农业大学学报,2026,49(5):1035-1048.

Song A P, Ye J X, Chen F D. Advances in gene editing-mediated breeding of ornamental plants[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2026, 49(5):1035-1048.

特约综述

观赏植物基因编辑育种研究进展

宋爱萍,叶景轩,陈发棣*

(南京农业大学作物遗传与种质创新利用全国重点实验室/农业农村部景观农业重点实验室/农业农村部花卉生物学与种质创制(南方)重点实验室/生物育种钟山实验室/园艺学院,江苏 南京 211800)

摘要:花卉产业的持续发展对观赏植物新品种的培育提出了更高的要求,亟须高效、精准的育种技术。传统育种方法受限于育种周期长、效率低及目标性状难以精准聚合等瓶颈,难以满足现代市场需求。近年来,以 CRISPR/Cas 为代表的基因编辑技术为观赏植物分子育种提供了精准调控的可能。本文系统综述了基因编辑技术在调控观赏植物花型、花色、花期及瓶插寿命等关键园艺性状方面的研究进展。尽管受限于复杂的基因组背景、较低的遗传转化效率及分子资源匮乏等因素,基因编辑技术在观赏植物育种中的应用仍处于起步阶段,但随着基因组数据的积累与编辑系统的优化,已在多个性状改良上取得突破。本文在总结技术瓶颈与最新研究进展的基础上,借鉴基因编辑技术在主要农作物中的演进规律,对观赏植物基因编辑育种研究未来发展趋势进行了展望,以期对观赏植物的分子设计育种提供理论依据与技术参考。

关键词:观赏植物;基因编辑;CRISPR/Cas9;遗传转化;园艺性状改良;分子设计育种

中图分类号:S33;Q812

文献标志码:A

文章编号:1000-2030(2026)05-1035-14

Advances in gene editing-mediated breeding of ornamental plants

SONG Aiping, YE Jingxuan, CHEN Fadi*

(National Key Laboratory of Crop Genetics & Germplasm Enhancement and Utilization/Key Laboratory of Landscaping, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Key Laboratory of Flower Biology and Germplasm Innovation(South), Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Zhongshan Biological Breeding Laboratory/College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 211800, China)

Abstract: The sustainable development of the ornamental plant industry has imposed increasingly stringent requirements on the breeding of new varieties, necessitating the advancement of efficient and precise breeding technologies. Conventional breeding approaches are constrained by long breeding cycles, low efficiency, and difficulties in accurately pyramiding target traits, rendering them insufficient to meet modern market demands. In recent years, gene editing technologies, particularly CRISPR/Cas, have provided new opportunities for precise genetic manipulation in ornamental plant molecular breeding. This review systematically summarizes recent progress in the application of gene editing technologies for regulating key horticultural traits in ornamental plants, including flower morphology, coloration, flowering time, and vase life. Although the application of gene editing technologies in ornamental plant breeding remains at an early stage due to constraints such as complex genomic backgrounds, low genetic transformation efficiency, and scarce molecular resources, breakthroughs have already been achieved in the improvement of multiple traits with the accumulation of genomic data and the optimization of editing systems. Building upon a summary of current technical bottlenecks and recent research advances, and drawing insights from the evolutionary trajectories of gene editing technologies in major crops, this paper outlines future development trends of gene editing-mediated breeding of ornamental plants, aiming to provide a theoretical foundation and technical reference for the molecular design breeding of ornamental plants.

Keywords: ornamental plants; gene editing; CRISPR/Cas9; genetic transformation; horticultural trait improvement; molecular design breeding

收稿日期:2026-04-30

基金项目:生物育种钟山实验室项目(ZSBBL-KY2025-2);国家自然科学基金项目(32522095);中央高校基本科研业务费专项资金(YDZX2026045);作物遗传与种质创新利用全国重点实验室项目(ZZ202601)

作者简介:宋爱萍,教授,主要从事观赏植物分子生物学、生物信息学和基因编辑研究, E-mail: aiping_song@njau.edu.cn。*通信作者:陈发棣,教授,博导,主要从事菊花遗传育种研究, E-mail: chenfd@njau.edu.cn。

随着国民生活水平的显著提升,观赏植物作为园林绿化与家庭园艺的核心要素,不仅承载着重要的生态功能,更在精神文化层面发挥着不可替代的作用。在全球经济一体化与国际贸易蓬勃发展的背景下,观赏植物的产销规模持续扩大,市场对创新型品种的需求日益迫切。面对这一趋势,如何高效、精准地创制兼具多重优良性状的新品种,已成为当前观赏植物育种领域亟待解决的核心科学问题。

传统观赏植物育种主要依赖于自然变异的筛选与人工杂交。自孟德尔遗传规律被认知与应用以来,通过模拟自然授粉并聚合不同亲本的优良性状,育种学家已成功培育出大量观赏价值极高的品种。然而,此类方法本质上依赖于基因重组的随机性,普遍存在育种周期长、选择效率低以及目标性状难以精准聚合等局限。这一问题在多倍体及高杂合度物种(如菊花和月季)的育种实践中尤为突出^[1-2]。

分子生物学的飞速发展,特别是转基因技术的问世,为观赏植物育种开辟了新的技术路径。该技术通过导入外源功能基因或调控元件,实现了对花色、花期及抗逆性等关键性状的定向改良。相较于传统杂交育种,转基因技术在缩短育种年限与提高性状改良的针对性方面展现出显著优势。近年来,以 CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats)/Cas 系统为代表的新一代基因编辑技术,推动植物分子育种迈入了精准调控的新阶段^[3-5]。与转基因技术不同,基因编辑能够在不引入或仅微量引入外源 DNA 的前提下,对内源基因进行定点敲除、精确替换或表达调控,从而实现对目标性状的精细调控^[6]。

相较于粮食作物与模式植物,生物育种技术在观赏植物中的研究与应用仍处于起步阶段^[7],其发展目前仍受限于多重瓶颈,包括种质再生与遗传转化体系效率低下、高质量基因组信息匮乏以及特异性表达元件缺失等。然而,随着基因组资源的不断积累与完善^[2,8-9]、高效转化体系的逐步建立^[10]以及新型基因编辑工具的持续迭代优化^[11],基因编辑技术在观赏植物中的应用潜力正逐步显现,并有望推动观赏植物育种向精准化、高效化与智能化方向发展。

1 观赏植物基因编辑育种研究进展

由于许多观赏植物普遍存在基因组复杂、遗传转化与再生体系不完善等问题,基因编辑技术在观赏植物中的应用总体上显著滞后于粮食作物等主要农作物。迄今为止,相关研究主要集中于少数具有明确商业价值且表型易于判定的园艺性状。近年来,研究人员围绕花型、花色、花期、瓶插寿命及其他重要观赏性状,在观赏植物基因编辑研究上取得了一系列进展。本章系统梳理和归纳了上述研究领域的最新成果,并立足于不同性状,深入探讨了观赏植物分子育种未来的发展方向。

1.1 花型

花型(包括花器官身份与花器官数量)是花卉的重要观赏性状之一,其定向创新与改良对提升品种观赏价值与商业竞争力具有关键意义。在矮牵牛(*Petunia × hybrida*)中,同时敲除 2 个功能冗余的 *AG* (*AGAMOUS*)同源基因 *PMADS3* 和 *FBP6* (*FLORAL BINDING PROTEIN 6*),不仅让雄蕊转变成花瓣,还打破了花分生组织的程序性终止,在雌蕊位置长出新的花器官,最终创制出具有典型“花中生花”结构的重瓣矮牵牛的新种质^[12]。此外,通过 CRISPR/Cas9 技术对矮牵牛中 3 个 *BOP* (*BLADE-ON-PETIOLE*)同源基因进行编辑,获得 *bop1/2/3* 三基因突变体,其花冠直径增加约 3 mm,花冠长度缩短约 11 mm,整体花冠形态更为扁平,从而改善了观赏性状^[13]。

围绕花器官身份决定与花分生组织命运转换,越来越多调控节点被鉴定并纳入可编辑的候选基因库,例如, *MADS-box* 类转录因子 (*A/B/C/E* 类)^[14-15]、*TCP* (*TEOSINTE BRANCHED 1/CYCLOIDEA/PROLIFERATING CELL FACTORS 1 AND 2*) 基因家族^[16-18]、生长素响应因子 *ARF* (*AUXIN RESPONSE FACTOR*)^[19-20]。这些基因的功能解析,为不同花型(重瓣、花瓣大小、花序结构优化等)的定向创制提供了可复用的模块化靶点。未来,结合单细胞和空间转录组对花器官分化的时空过程解析,以及多基因协同编辑与精准编辑工具(如碱基编辑、引导编辑)的应用,有望实现对花型性状从单性状到综合性状(如花瓣数、排列方式与花器官比例)等更高分辨率层面的可编程调控,从而加速观赏植物花型创新及其产业化育种进程。

1.2 花色

花色作为花卉的核心观赏性状,其创新与改良对提升品种观赏价值与商业潜力具有重要意义。近年来,基因编辑技术已被用于定向调控色素合成、修饰、转运以及表观遗传状态,从而在多种观赏植物中获得稳定且可预期的花色变异。在牵牛(*Ipomoea nil*)中,对二氢黄酮醇-4-还原酶 *B* (*DFR-B*)基因进行靶向编

辑,结果显示,在获得的32株转基因植株中,有24株(75%)开出缺乏花青素积累的白色花朵^[21]。在牵牛中,利用CRISPR/Cas9技术在白花品种中敲除类胡萝卜素裂解双加氧酶基因*InCCD4*,将花瓣颜色由白色转为淡黄色,突变体花瓣中类胡萝卜素总量较非转基因植株提高约20倍^[22]。在夏堇(*Torenia fournieri*)中,通过编辑编码参与类黄酮生物合成的关键酶黄酮3-羟化酶基因(*F3H*),在T₀代植株中产生淡蓝色(近白色)花表型^[23]。在龙胆(*Gentiana triflora* × *G. scabra*)中,建立了CRISPR/Cas9介导的基因编辑体系并获得*gst1*突变体,获得的编辑株系呈现2种典型花色表型:一种为几乎完全失色(近白色),另一种则表现为浅蓝色^[24]。此外,在具有紫色花冠的矮牵牛商业品种‘Madness Midnight’中,研究鉴定到了2个*F3H*编码基因(*F3HA*和*F3HB*)。通过设计1个同时针对2个*F3H*的引导RNA,构建了Cas9-RNP体系,并通过PEG-Ca²⁺介导的原生质体转化体系,获得了7株*F3HA*或*F3HB*基因发生突变的植株,同时研究结果表明,仅当*F3HA*与*F3HB*同时发生纯合突变时,花色才出现显著变浅(淡紫色)表型,提示该性状受同源基因功能冗余影响明显^[25]。在一品红(*Euphorbia pulcherrima*)中,利用CRISPR/Cas9技术敲除了红花品种‘圣诞夜’的类黄酮3'-羟化酶(*F3'H*)基因,突变体植株的苞片颜色由鲜红转为更偏橙红的色调,同时花青素含量显著下降^[26]。在矮牵牛‘Mitchell Diploid’中,通过CRISPR/Cas9技术获得的*dpl*突变体表明:*DPL*(*DEEP PURPLE*)功能缺失并不影响花冠筒条纹形成,但会导致花青素不能在花冠外侧合成,从而改变色素的空间分布模式^[27]。此外,*trm6*突变体花色素苷含量降低,整体花色呈现粉白色,且花瓣边缘出现显著的褪色现象^[28]。

值得注意的是,除直接编辑编码基因外,近年来也开始通过表观遗传编辑实现花色可逆调控与新种质创制。在菊花(*Chrysanthemum morifolium*)中,通过将dCas9与菊花内源性DNA甲基转移酶(CmDRM2a、CmDRM2b、CmCMT2)融合,构建了2种DNA甲基化调控系统(R-L系统和A-D系统),通过定向改变*CmMYB6*(*R2R3-MYB transcription factor 6*)启动子的DNA甲基化水平,获得了从粉红色到黄色或白色和从粉红色到深粉红色的菊花花色新种质^[29]。该策略为观赏植物中“非破坏性、可控性”的花色改良提供了新的技术路径。

上述研究表明,观赏植物花色改良正在从单一的结构基因敲除逐步迈向调控网络重构。除已被验证的色素合成结构基因如*F3H*、*DFR*、*ANS*(*ANTHOCYANIDIN SYNTHASE*)外,越来越多与花色表型直接相关的关键节点正在被鉴定并纳入可编辑的候选基因库,包括决定色素分支流向与色调差异的修饰酶与分支通路基因,如*F3'H*、*F3'5'H*(*flavonoid 3',5'-hydroxylase*)、*UFGT*(*UDP-glucose:flavonoid 3-O-glucosyltransferase*)、*OMT*(*O-methyltransferase*)等^[30-32],以及控制色素时空表达与花纹图案形成的上游调控因子(如*R2R3-MYB*、*bHLH*等)^[33-34]。这些基因的持续发现不仅丰富了花色调控的分子机制,也为花色模块化设计提供了更完整的靶点资源。此外,随着越来越多观赏植物基因组与泛基因组资源的建立,花色相关基因的拷贝数变异、等位基因差异及关键顺式调控元件逐渐被解析,为品种间差异的遗传解释、等位基因特异编辑以及避免脱靶的精准靶点设计提供了基础性资源。

1.3 花期

花期调控是观赏植物分子育种中最具产业应用价值的性状之一,开花时间的精准调控不仅能够有效实现花卉产品的周年化生产与季节性市场供应,同时也为优化栽培管理策略提供了重要的技术支撑。近年来,围绕开花关键调控因子开展的基因编辑研究在多种观赏植物中取得了代表性进展。在矮牵牛中,通过设计靶向4个*TFL1*(*TERMINAL FLOWER-LIKE 1*)同源基因*PhTFL1a*、*PhTFL1b*、*PhTFL1c*和*PhTFL1d*的基因编辑载体,并通过农杆菌介导的遗传转化获得4株四基因均发生双等位突变的植株。与野生型相比,突变体侧枝数量显著增加且开花时间明显提前^[35]。在野菊(*C. indicum*)中,利用构建的CRISPR/Cas9体系,创制了3株*tf1a*双等位基因突变体和1株*tf1b*纯合突变体。这些突变体植株表现出不同程度的早花表型^[36]。此外,在野菊中利用基因编辑技术编辑*NF-YB8*(*NUCLEAR FACTOR Y, SUBUNIT B8*),成功获得了花期提前的突变体^[37]。除对编码基因进行功能缺失编辑外,表观遗传编辑为花期的可调控改良提供了新的策略。在菊花中,使用CRISPR-dCas9-TET1cd系统靶向*CmFDa*(*FD bZIP transcription factor*)启动子进行去甲基化,可上调*CmFDa*表达并获得开花延迟的表型。相反,在稳定晚花突变体*epilate*中使用CRISPR-dCas9-SunTag-NtDRM2cd系统对同一启动子进行定向甲基化,则抑制*CmFDa*表达并促进开花^[38]。上述结果表明,通过对关键花期基因启动子甲基化状态的双向操控,可以在不改变编码序列的情况下实现开花时间的精细调节,为观赏植物花期分子设计育种提供了可拓展的技术框架。

目前,观赏植物花期改良总体仍以单基因编辑为主,但已开始拓展到通过表观遗传调控实现花期可编程调节的探索。与此同时,除 *FT* 和 *TFL1* 这一经典核心模块外,越来越多参与光周期响应、年龄途径与春化相关的关键节点被陆续鉴定并纳入可编辑的候选基因库,例如光信号与昼夜节律相关因子 *CO* (*CONSTANS*)、*GI* (*GIGANTEA*)、*ELF3* (*EARLY FLOWERING 3*) 等^[39-41]、整合上游信号的开花整合子 *SOCI* (*SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1*) 等^[42],以及年龄途径调控因子 *miR156-SPL* 与 *miR172-APETALA2-like*^[43-44]。这些基因为实现早花、晚花及花期可塑性调控提供了更丰富的靶基因资源。

1.4 瓶插寿命

瓶插寿命与花瓣衰老是切花品质评价的关键指标,直接影响观赏植物的商品价值、运输适应性与终端消费体验。近年来,围绕花瓣衰老调控网络及乙烯合成/信号通路的关键基因开展的基因编辑研究,为延缓衰老、延长花期提供了可验证的分子育种策略。在牵牛中,*EPH1* (*EPHEMERALI*) 被鉴定为花瓣衰老过程中的关键调节基因。通过构建包含 3 个单向导 RNA 盒的二元载体同时靶向 *EPH1* 基因内的 3 个区域,获得的 T_1 代突变体表现出显著的花瓣衰老延迟表型^[45]。在矮牵牛中,利用 CRISPR/Cas9 技术编辑乙烯生物合成相关基因 *PhACO1*,与野生型相比, T_0 代突变体(包括纯合突变体与单等位突变体)均表现为乙烯产量显著降低并伴随花寿命延长;且在纯合突变体中,乙烯下降与花期延长的表型幅度较单等位突变体更为显著,提示该性状呈现明显的剂量效应^[46]。除乙烯合成途径外,靶向乙烯信号转导关键节点基因同样可降低花器官对乙烯的敏感性。在月季(*Rosa hybrida*)中,基于体细胞胚介导的遗传转化体系对乙烯信号通路核心基因 *EIN2* 进行编辑,获得了包含插入、缺失及替换等多种突变类型的植株材料;功能鉴定表明,*EIN2* 编辑植株在花朵开放过程中对外源乙烯的敏感性显著降低^[11]。在东方百合(*Lilium oriental hybrids*) ‘Acapulco’ 中,设计 2 条靶向 *LhNAP* (*NAC-LIKE, ACTIVATED BY AP3/PI*) 基因不同区域的 sgRNA,并通过农杆菌介导转化获得双等位基因突变体。花瓣衰老由野生型的 6~8 d 延迟至 10~13 d,同时将花瓣脱落时间从野生型平均 7.7 d 延长至 11.2~12.0 d,显示出对切花保鲜性状的显著改良效果^[10]。

目前,观赏植物瓶插寿命改良的核心策略是通过基因编辑技术,对乙烯生物合成及信号转导通路中的关键节点基因进行靶向敲除或功能突变,从而阻断植物对乙烯的响应机制,实现乙烯不敏感型长效保鲜花卉新种质的精准创制。随着研究的不断深入,越来越多参与花器官衰老调控的因子被鉴定并纳入可编辑的候选基因库。例如,具有全局调控作用的衰老相关转录因子 *NAC*、*WRKY*、*ERF* (*ETHYLENE RESPONSE FACTOR*)^[47-49],这些基因的功能解析与靶向编辑,不仅为实现切花采后寿命延长及综合保鲜性状的精准改良提供更加丰富且多样化的分子靶点,还有望打破单一激素调控易引发多效性(如抗逆性下降)的局限。

1.5 其他育种性状改良

除花色、花型与花期等核心观赏性状外,近年来基因编辑在观赏植物中的应用范围正逐步扩展至生长发育调控、功能代谢物改良、抗病性提升等多个方向。这些工作不仅验证了 CRISPR 系统在不同观赏植物中的可行性,也为后续性状定向改良提供了可复用的基因资源与技术路线。

在百合(*Lilium*)中,利用 CRISPR/Cas9 技术成功编辑了生长抑制因子 *ABI5* (*ABA INSENSITIVE 5*),获得了生长显著加快的突变体,提示 ABA 信号通路节点具备作为株型与生长速度改良靶标的潜力^[50]。在野菊中,利用基因编辑技术敲除鼠李糖合成酶基因 *CiRHM1*,可显著促进多种黄酮苷元如芹菜素(apigenin)、木犀草素(luteolin)、去甲汉黄芩素(norwogonin)、香叶木素(diosmetin)和高车前素(hispidulin)等的合成^[51]。此外,在花烟草(*Nicotiana glauca*)商业品种 ‘Jasmine’ 中,对 *MLO* (*MILDEW RESISTANCE LOCUS O*) 进行靶向敲除, T_0 的编辑效率达到 45.6%,获得的纯合和双等位突变体在 T_1 、 T_2 代均表现了对白粉病的抗性^[52]。观赏植物基因编辑技术的应用汇总见表 1。

1.6 基因编辑体系构建与递送体系优化

如表 2 所示,在编辑体系构建方面,多物种研究已提供了可参考的技术范式^[36,52-59]。毛状根(hairy root)转化体系作为一种快速验证工具,能够显著缩短植物基因编辑的研究周期。在香豌豆(*Lathyrus odoratus*)中,利用发根农杆菌(*Agrobacterium rhizogenes*)介导的毛状根转化体系分别敲除 *LoPDS* (*PHYTOENE DESATURASE*)与 *LoSD1* (*SEMIDWARF 1*),靶点测序显示 *LoPDS* 与 *LoSD1* 的编辑效率分别达到 71%与 60%^[53]。在月季中,使用发根农杆菌介导的毛状根转化体系对 2 个 *RhPDS* 基因进行编辑,Sanger 测序结果表明编辑效率达到 62%,且靶位点呈现多样化突变类型^[54]。在灯盏花(*Erigeron breviscapus*)

表 1 观赏植物基因编辑技术的应用汇总

Table 1 Summary of gene editing applications in ornamental plants

物种 Species	靶标基因 Target genes	调控性状 Modified traits	递送方式 Delivery methods	编辑工具 Gene editing tools	参考文献 Reference
矮牵牛 <i>Petunia × hybrida</i>	<i>PMADS3</i> 和 <i>FBP6</i>	重瓣	根癌农杆菌介导	CRISPR/Cas9	[12]
矮牵牛 <i>Petunia × hybrida</i>	<i>BOP</i>	花冠筒形状扁平	根癌农杆菌介导	CRISPR/Cas9	[13]
牵牛 <i>Ipomoea nil</i>	<i>DFR-B</i>	白色花瓣	根癌农杆菌介导	CRISPR/Cas9	[21]
牵牛 <i>Ipomoea nil</i>	<i>CCD4</i>	黄色花瓣	根癌农杆菌介导	CRISPR/Cas9	[22]
夏堇 <i>Torenia fournieri</i>	<i>F3H</i>	淡蓝色花瓣	根癌农杆菌介导	CRISPR/Cas9	[23]
龙胆 <i>Gentiana triflora × G. scabra</i>	<i>GST1</i>	淡蓝色或白色花瓣	根癌农杆菌介导	CRISPR/Cas9	[24]
矮牵牛 <i>Petunia × hybrida</i>	<i>F3HA</i> 和 <i>F3HB</i>	淡紫色花瓣	PEG- Ca^{2+} (RNP)	CRISPR/Cas9	[25]
一品红 <i>Euphorbia pulcherrima</i>	<i>F3'H</i>	橙红色苞片	根癌农杆菌介导	CRISPR/Cas9	[26]
矮牵牛 <i>Petunia × hybrida</i>	<i>DPL</i>	白色花冠外侧	根癌农杆菌介导	CRISPR/Cas9	[27]
矮牵牛 <i>Petunia × hybrida</i>	<i>TRM6</i>	粉白色花瓣	根癌农杆菌介导	CRISPR/Cas9	[28]
菊花 <i>Chrysanthemum morifolium</i>	<i>MYB6</i>	黄色	根癌农杆菌介导	CRISPR/dCas9-CmDRM2a, CmDRM2b	[29]
菊花 <i>Chrysanthemum morifolium</i>	<i>MYB6</i>	深粉色	根癌农杆菌介导	CRISPR/dCas9-CmCMT2	[29]
矮牵牛 <i>Petunia × hybrida</i>	<i>PhTFL1a</i> 、 <i>PhTFL1b</i> 、 <i>PhTFL1c</i> 和 <i>PhTFL1d</i>	侧枝数量变多且开花时间提前	根癌农杆菌介导	CRISPR/Cas9	[35]
野菊 <i>Chrysanthemum indicum</i>	<i>TFL1a</i> 和 <i>TFL1b</i>	开花时间提前	根癌农杆菌介导	CRISPR/Cas9	[36]
野菊 <i>Chrysanthemum indicum</i>	<i>NF-YB8</i>	开花时间提前	根癌农杆菌介导	CRISPR/Cas9	[37]
菊花 <i>Chrysanthemum morifolium</i>	<i>CmFDa</i>	开花时间延迟	根癌农杆菌介导	CRISPR/dCas9-TET1cd	[38]
菊花 <i>Chrysanthemum morifolium</i>	<i>CmFDa</i>	开花时间提前	根癌农杆菌介导	CRISPR/dCas9-SunTag-NtDRM2cd	[38]
牵牛 <i>Ipomoea nil</i>	<i>EPH1</i>	花瓣衰老延迟	根癌农杆菌介导	CRISPR/Cas9	[45]
矮牵牛 <i>Petunia × hybrida</i>	<i>ACO1</i>	乙烯产量降低,花寿命延长	根癌农杆菌介导	CRISPR/Cas9	[46]
月季 <i>Rosa hybrida</i>	<i>EIN2</i>	对乙烯信号不敏感	根癌农杆菌介导	CRISPR/Cas9	[11]
东方百合 <i>Lilium oriental hybrids</i>	<i>NAP</i>	花瓣衰老延迟,花瓣脱落时间延长	根癌农杆菌介导	CRISPR/Cas9	[10]
百合 <i>Lilium</i>	<i>ABI5</i>	生长速度显著加快	根癌农杆菌介导	CRISPR/Cas9	[50]
野菊 <i>Chrysanthemum indicum</i>	<i>RHM1</i>	多种黄酮苷元合成增加	根癌农杆菌介导	CRISPR/Cas9	[51]
花烟草 <i>Nicotiana glauca</i>	<i>MLO</i>	白粉病抗性	根癌农杆菌介导	CRISPR/Cas9	[52]

表 2 观赏植物中基因编辑体系开发汇总

Table 2 Summary of the development of gene editing systems in ornamental plants

物种 Species	靶标基因 Target genes	编辑效率/% Editing efficiency	递送方式 Delivery methods	可视化标记 Visual marker	编辑工具 Gene editing tools	参考文献 Reference
香豌豆 <i>Lathyrus odoratus</i>	<i>PDS</i>	71.00	发根农杆菌介导		CRISPR/Cas9	[53]
香豌豆 <i>Lathyrus odoratus</i>	<i>SD1</i>	60.00	发根农杆菌介导		CRISPR/Cas9	[53]
月季 <i>Rosa hybrida</i>	<i>PDS</i>	62.00	发根农杆菌介导		CRISPR/Cas9	[54]
灯盏花 <i>Erigeron breviscapus</i>	<i>PDS</i>	33.30	根癌农杆菌介导		CRISPR/Cas9	[55]
万寿菊 <i>Tagetes erecta</i>	<i>PDS</i>	70.10	根癌农杆菌介导		CRISPR/Cas9	[56]
国兰 <i>Cymbidium sinense</i>	<i>PDS</i>	27.50	根癌农杆菌介导		CRISPR/Cas9	[57]
菊花 <i>Chrysanthemum morifolium</i>	<i>CpYGFP</i>	6.40~13.10	根癌农杆菌介导		CRISPR/Cas9	[58]
野菊 <i>Chrysanthemum indicum</i>	<i>PDS</i>	63.60	根癌农杆菌介导	eYGFPuv	CRISPR/Cas9	[36]
花烟草 <i>Nicotiana glauca</i>	<i>PDS</i>	58.80	根癌农杆菌介导	花青素积累	CRISPR/Cas9	[52]
康乃馨 <i>Dianthus caryophyllus</i>	<i>ANS</i>	2.35	多脉冲电穿孔(RNP)		CRISPR/Cas9	[59]

中,构建 *EbPDS* 2 个靶位点编辑载体并经农杆菌转化获得 30 株阳性苗,其中 10 株呈典型白化表型,测序验证总体编辑效率约 33.3%^[55]。在万寿菊(*Tagetes erecta*)中,以八氢番茄红素脱氢酶基因 *TePDS* 为靶标,通过农杆菌介导转化获得 47 株(70.1%)出现不同程度白化的再生株系;对其中 8 株白化植株测序共鉴定到 15 个独立编辑事件,进一步验证了该物种中 CRISPR 编辑的可操作性^[56]。在国兰(*Cymbidium sinense*)中,采用农杆菌介导的瞬时侵染对叶片进行编辑载体递送,4 d 后对 DNA 进行 PCR 扩增与 Sanger 测序,结果表明 2 个靶点均可实现有效编辑;靶点 1 编辑效率为 35%(以单核苷酸变异为主),靶点 2 编辑效率为 20%(包含多核苷酸缺失)^[57]。在菊花中,Kishi-Kaboshi 等^[58]首先构建了来自波氏哲水蚤(*Chiridius poppei*)的黄绿色荧光蛋白基因(*CpYGFP*)表达的转基因菊花植株,之后通过在菊花愈伤组织表达水平较高的欧芹泛素启动子来驱动 *Cas9*,并设计了 2 个针对 *CpYGFP* 基因的 sgRNA,获得了荧光亮度下降的突变体植株^[58]。视觉筛选标记的引入可显著提高植物基因编辑的筛选效率。在野菊中,研究人员首先通过遗传转化获得了过表达 *eYGFPuv* 的转基因植株;随后,通过构建靶向 *eYGFPuv* 与目标基因的 CRISPR/Cas9 敲除载体,利用 eYGFPuv 荧光作为视觉筛选标记,成功将基因编辑效率由 16%显著提升至 63.6%^[36]。在

花烟草中,通过超表达 *AtPAP1* (*PRODUCTION OF ANTHOCYANIN PIGMENT 1*) 和 *NtAN2* (*ANTHOCYANIN 2*) 实现了花青素积累,并在此基础上开发了 CRISPR/Cas9 双重视觉报告系统。该系统以花青素的积累指示遗传转化的成功,同时以 *PDS* 基因敲除引发的白化表型作为基因编辑有效的直观证据,筛选效率提高至 58.8%^[52]。在递送体系优化方面,以康乃馨 (*Dianthus caryophyllus*) 为材料,采用多脉冲电穿孔 (RNP) 将 Cas9 蛋白与靶向 *ANS* 的 sgRNA (#2_sgRNA) 以多脉冲电穿孔 (RNP) 形式直接导入茎段组织,在 85 株独立再生植株中鉴定到 2 株发生靶位点突变,展示了 DNA-free 递送在观赏植物中的可行性^[59]。

2 观赏植物基因编辑育种的技术瓶颈与优化策略

2.1 技术瓶颈

除核心观赏性状外,基因编辑技术在观赏植物中的应用正逐步向生长发育调控、次生代谢网络重构、抗逆性提升及底层技术体系构建等多维度拓展(表1)。然而,系统梳理现有研究进展表明,观赏植物基因编辑的广泛应用仍受制于4个维度的瓶颈:基因组数据缺乏、靶位点设计工具和基因编辑体系匮乏、遗传转化与递送体系不成熟以及基因编辑工具丰富度不足。

2.1.1 基因组数据缺乏 高质量的参考基因组是开展精准基因编辑的先决条件,其组装精度与完整性直接决定了 gRNA 靶点设计的特异性。然而,与模式植物相比,众多重要观赏植物在演化过程中经历了频繁的多倍化与杂交事件,呈现出极高的基因组复杂性。这种复杂的遗传多样性使得现有的基因组数据难以满足精准编辑的需求,成为制约技术落地的首要底层瓶颈。

多倍体植物中普遍存在的基因组冗余性为基因编辑策略中的靶位点选择带来了严峻挑战。尽管同源多倍体物种的染色体组源于共同的全基因组复制 (WGD) 事件,但受种间杂交及基因渐渗等进化机制的影响,其单倍型间仍表现出显著的序列差异。以同源四倍体栽培马铃薯 (*Solanum tuberosum*) 品种 ‘Otava’ 为例,其基因组各单倍型组间存在高度的结构变异,11.0%~42.5% 的序列具有单倍型特异性,无法与其他同源染色体有效比对^[60]。这种单倍型间显著的序列差异揭示了基因功能的亚基因组化或特定单倍型的丢失,极大地增加了多倍体观赏植物的基因编辑靶点设计的不可预见性与技术难度。首先,在多倍体背景下,敲除一个或多个基因拷贝往往会触发同源基因间的补偿效应,从而掩盖预期的表型变化;其次,基因亚功能化的存在使得不同拷贝间产生了功能分化,以普通小麦 (*Triticum aestivum*) 为例,平均约有 30% 的同源三联体 (A、B 和 D 拷贝) 基因呈现出同源表达偏好性^[61],这暗示着同源基因功能可能已经发生分化。因此,针对单一拷贝的编辑往往难以准确评估其对表型输出的贡献,显著地提升了多倍体植物遗传改良的不可预见性与技术难度。

2.1.2 靶位点设计工具和基因编辑体系匮乏 特异的靶位点设计工具和高效的基因编辑递送体系是开展精准基因编辑的核心。然而,在观赏植物领域,由于物种自身基因组的复杂性以及商业化育种目标的多样性,这两大核心要素的开发与应用仍面临严峻挑战,集中体现在靶位点精准设计工具缺乏与编辑体系难以适配主流商业品种2个方面。

在靶位点设计层面,基础基因组资源的匮乏与复杂遗传背景严重影响了多重编辑的精准性与效率。多数具有高经济价值的观赏植物为同源或异源多倍体,其基因组普遍存在高度重复、同源拷贝冗余及广泛杂合等特征。尽管目前已有一些通用型 gRNA 设计软件可用^[62-64],但这些工具大多未针对多倍体基因组中多拷贝同源基因的特异性识别与脱靶风险联合评估进行优化,难以满足观赏植物多重编辑的实际需求。此外,商业化观赏植物品种繁多,不同栽培种或品系之间存在广泛的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 和结构变异 (structural variants, SV)^[65]。在此背景下,若仅依赖单一已发表的参考基因组进行多重 gRNA 设计,往往难以全面覆盖目标商业品种中特有的等位变异,极易导致靶向效率下降、脱靶效应增强或对部分同源拷贝遗漏,从而显著增加多拷贝基因同步高效编辑的技术难度。

在体系开发与应用层面,尽管已有少量研究报道了多倍体观赏植物的基因编辑体系^[58],但相关基因编辑工具开发大多基于遗传背景简单和组织培养再生相对容易的二倍体野生近缘种(如野菊等)^[36]。然而,野生近缘种与经过长期人工驯化、具备优良综合农艺性状(如花型、花色稳定性、瓶插寿命、抗病性等)的商业栽培品种之间,在遗传构成、表观调控网络及生理响应机制等方面存在显著差异^[66-67]。因此,在模式植物或者野生近缘种中开发的基因编辑工具,通常无法直接迁移应用于主流商业品种的分子设计育种中。尽管当前已通过靶向特定关键结构基因或转录因子实现了单一性状的定向改良,但涉及多基因协同

编辑与多性状复合调控的成功案例仍主要局限于矮牵牛等少数二倍体模式观赏植物^[12,35]中。在具有经济价值的商业化观赏品种中,基于多基因协同作用的多性状同步调控研究报道依然极度匮乏。

2.1.3 遗传转化与递送体系不成熟 在遗传转化与递送体系方面,农杆菌介导法凭借其相对成熟的技术体系与较为稳定的转化效率,仍是现阶段观赏植物基因编辑应用最广泛的转化手段(表1)。然而,该系统在产业化应用过程中仍面临两大亟待突破的瓶颈:一是强烈的基因型依赖性,导致大量优异的商业品种因再生困难而无法适用;二是外源基因滞留问题。在主要大田作物中,通常可通过后代自交分离去除基因组中的外源 T-DNA 插入,从而获得无转基因的编辑材料。然而,当前具有经济价值的观赏植物普遍存在高杂合的特点,主要依赖无性繁殖。通过自交或回交途径去除 T-DNA,将不可避免地导致严重的性状分离与杂种优势丧失。这种因无法有效清除转基因成分带来的限制,阻碍了观赏植物基因编辑从实验室走向市场。尽管目前已有部分研究尝试探索 DNA-free 递送技术以期规避上述风险,但相关工作仍高度局限于极少数易于再生的模式观赏植物中,尚未在大部分具有经济价值的观赏植物中实现有效转化。

2.1.4 基因编辑工具丰富度不足 在编辑工具库与靶向修饰策略方面(表1和表2),当前观赏植物基因编辑的开发与应用仍高度依赖经典的 CRISPR/SpCas9 系统。然而,SpCas9 对 NGG 型 PAM 序列的严格识别要求,使其在靶向富含 A/T 碱基的非编码调控区(如启动子、增强子等关键顺式作用元件)时,往往面临可用靶点匮乏的困境。在靶向修饰工具方面,现有研究绝大多数局限于依赖 DNA 双链断裂(DNA double-strand break, DSB)诱导的非同源末端连接(NHEJ)修复途径,以此实现靶基因的功能缺失型突变。尽管基于 dCas9 的表观遗传修饰已在菊花中展现出微调基因表达的潜力^[29,38],但在观赏植物领域对新型高精度的基因编辑工具的开发与整合应用仍严重不足,包括具备单核苷酸分辨率的碱基编辑(base editing, BE)、引导编辑(prime editing, PE)以及新型核酸酶系统(如 Cas12a 等)。底层编辑工具的单一性,极大地限制了在观赏植物复杂基因组中进行精准替换、等位基因特异性修饰以及顺式调控元件精细微调的操作空间。

2.2 优化策略

为突破上述制约观赏植物精准分子育种的瓶颈,亟须从底层数据支撑、算法工具优化、再生转化突破及递送系统创新等多维度进行系统性重构。以下将重点探讨推动观赏植物基因编辑技术迈向高效化与普适化的5项关键优化策略(图1)。

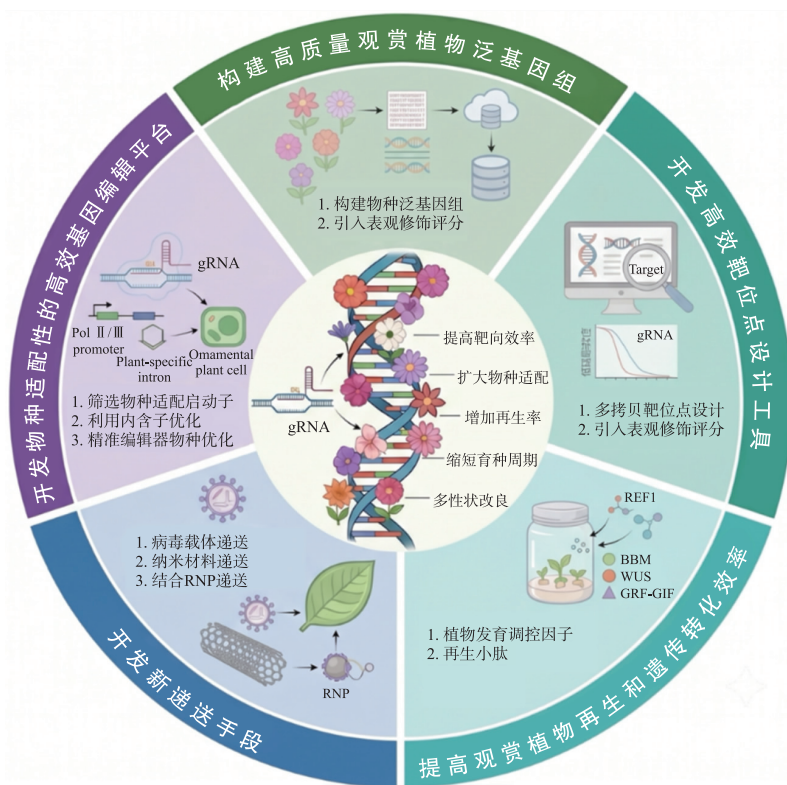


图1 观赏植物基因编辑多维度优化策略

Fig. 1 Multi-dimensional optimization strategies for gene editing in ornamental plants

2.2.1 构建高质量观赏植物泛基因组 高质量的基因组信息是开展精准基因编辑的先决条件。在棉花中的研究表明,不同亚基因组间的 PAM 识别位点及高质量 sgRNA 数量显著波动,基于目标品种特异性基因组进行靶点设计,不仅能识别更多精准靶点,还能有效规避在单一参考基因组中被遗漏的潜在脱靶风险^[65]。因此,在观赏植物中构建高精度的泛基因组图谱具有重要的科学意义和应用价值。

鉴于商业化观赏品种间普遍存在广泛的遗传多样性,包括大量品种特异性的 SNP 和 SV,单一参考基因组难以全面反映群体内的等位变异全景。泛基因组通过整合多个代表性栽培品种的完整基因组序列,不仅系统捕获了核心基因集与可变基因组组分,更精准刻画了不同品种间在编码区与调控区域的序列差异。这不仅为挖掘潜在的性状改良靶基因提供了丰富的遗传资源库,更从根本上克服了依赖单一参考基因组所导致的等位变异覆盖不足问题。在此基础上构建的全景式遗传变异图谱,可为基因编辑育种前期的 gRNA 靶点特异性设计(尤其是多拷贝同源基因的等位特异性识别)以及后期编辑突变体的精准分子鉴定,提供不可或缺的底层数据支撑。

2.2.2 开发高效靶位点设计工具 在丰富的高质量基因组数据基础上,亟须针对观赏植物复杂的多倍体背景开发专属的靶位点设计工具,以有效克服现有工具主要基于二倍体植物开发的局限性。首先,实现多基因协同靶向的组合优化,通过算法升级同时兼顾多个靶基因(特别是高度同源的多拷贝家族基因)的编辑效率与特异性,为多性状复合调控提供最优 gRNA 组合;其次,嵌入基于品种特异性变异的高灵敏度脱靶预测模块,通过整合特定栽培品种的全基因组 SNP 与 SV 注释信息,实现脱靶风险的精准评估与规避;最后,引入表观遗传特征以优化 gRNA 活性打分模型,将染色质可及性及组蛋白修饰数据作为靶点筛选的关键权重指标,从而显著提升靶位点设计工具在靶点选择的预测准确率。

2.2.3 提高观赏植物再生和遗传转化效率 近年来,随着对植物发育调控网络的深入解析与再生信号机制研究的突破,植物发育调控因子[如 BBM (BABY BOOM)、WUS (WUSCHEL)、GRF-GIF (GROWTH-REGULATING FACTOR-GRF-INTERACTING FACTOR)]及再生小肽[如 REF1 (REGENERATION FACTOR 1)]的应用为克服基因型限制提供了系统性解决方案,通过重塑细胞全能性、调控胚胎发生程序及激活再生信号通路,实现了跨物种遗传转化效率的提升。

BBM 作为 AP2/ERF 家族转录因子,可诱导体细胞胚胎发生,与 WUS 共表达时能协同维持干细胞特性^[68]。BBM 和 WUS 的联合表达促进了玉米叶片原位转化;经过启动子优化后的表达系统,在高粱、水稻、甘蔗等 8 个单子叶物种中实现了直接叶片转化,诱导形成荧光标记的体细胞胚胎并再生为正常植株^[69]。GRF-GIF 融合蛋白通过激活细胞增殖相关基因,显著增强细胞全能性,在大豆^[70]、番茄^[71]、小麦^[72]等物种中得到了应用,并成功融合到基因编辑体系中。近年来,植物再生调控因子在园艺及观赏植物遗传转化体系的构建中已获得初步试验验证。研究表明,在向日葵 (*Helianthus annuus*) 中,过表达 *AtGRF5* 的同源基因 *HaGRF5-like*,可以显著增加转基因芽的再生频率^[73]。在金鱼草 (*Antirrhinum majus*) 中,异源表达 *AtPLT5* (*PLETHORA 5*) 可显著提高地上茎外植体伤口部位愈伤组织的诱导效率及不定芽的再生频率^[74]。在矮牵牛中,*PLT5* 与 *GRF4-GIF1* 的协同表达策略被证实可大幅提高植株再生效率^[75]。然而,目前关于再生调控因子在观赏植物中的系统性应用研究仍相对匮乏,其长期表达对植物生长发育的潜在副作用及分子机制尚待深入阐明,这在一定程度上限制了该技术在观赏植物遗传改良中的广泛应用。

此外,再生小肽 REF1 通过短肽信号激活再生程序,展现出广泛的物种适用性,几乎在所有双子叶和单子叶植物中都能发现对应的 REF1 小肽及其受体^[76]。外施 REF1 不仅可以显著提高番茄的再生能力和遗传转化效率,对辣椒^[77]等公认难以转化的作物也有极大的促进作用。再生小肽的应用摆脱了对稳定遗传转化的依赖,通过外源添加即可显著提高转化效率,可以避免传统再生因子持续表达带来的植株畸形问题,且不受基因型限制。然而,尽管 REF1 在多种农作物中已展现出广泛的物种适用性,其在观赏植物遗传转化与再生体系中的应用目前仍鲜有报道。观赏植物的离体再生长期受制于高度的基因型依赖性、漫长的器官发生周期以及外植体褐化等技术瓶颈。既往研究多尝试引入发育调控基因(如 *PLT5*)以克服上述障碍^[74],但此类基因的持续表达常导致再生植株形态畸形。鉴于观赏植物的核心经济价值高度依赖于株型、花型等特定表型特征,再生植株的形态变异严重限制了该类再生因子的实际应用。相比之下,REF1 小肽具备外源添加、无需基因组整合且可避免形态发生异常等显著优势,为克服观赏植物再生障碍提供了新的解决思路。更为重要的是,外源添加 REF1 小肽的递送策略,有助于规避相关生物安全法规对转基因植株的监管限制,从而为观赏植物的基因编辑及分子设计育种提供一种极具应用潜力的技术策略。

2.2.4 开发新递送手段 基因编辑工具的高效递送是决定其应用效果的关键环节,鉴于传统农杆菌介导法在观赏植物中面临的基因型依赖性强、组织培养周期长以及外源转基因成分残留等技术瓶颈,未来研究亟须拓展非农杆菌依赖的新型递送手段。通过引入并优化植物病毒与纳米生物材料递送手段,构建高效、无组培以及 DNA-free 的递送系统,是推动观赏植物精准分子育种向产业化应用迈进的重要战略方向。

病毒载体凭借其天然的系统性感染能力和高水平的异源基因表达效率,在植物基因编辑递送中展现出独特潜力。近年来,病毒介导基因编辑(virus-induced genome editing, VIGE)系统在多种作物中得到了探索与应用。在早期的 VIGE 体系中,研究主要利用负荷量较小的病毒载体,如烟草脆裂病毒(tobacco rattle virus, TRV)^[78]、大麦条纹花叶病毒(barley stripe mosaic virus, BSMV)^[79]和狐尾草花叶病毒(foxtail mosaic virus, FoMV)^[80]等定向递送 sgRNA。通过真空浸润或机械摩擦等方式,将携带 sgRNA 的病毒载体接种至稳定表达 Cas 蛋白的转基因受体植株,可促进 sgRNA 在植株体内的系统性扩散,并在一定程度上绕过耗时的愈伤组织诱导与再生过程。然而,该策略高度依赖预先构建的 Cas 蛋白组成型表达植株,限制了其在缺乏相应转基因体系的观赏植物中的广泛应用。为了摆脱对 Cas 转基因底盘的依赖并实现完全的 DNA-free 编辑,研究人员近期开发了具备更大基因载量的负链 RNA 病毒系统,如番茄斑萎病毒(tomato spotted wilt virus, TSWV)^[81]。该系统能够将 gRNA 与核酸酶(如 Cas9、Cas12a)或衍生碱基编辑器(如 ABE、CBE)以全病毒组分的形式进行一体化直接递送^[81]。鉴于不同植物科属间存在病毒宿主范围限制,未来需要加速挖掘与分离观赏植物内源性的低致病性潜在病毒骨架。针对菊花、月季和百合等主要商业花卉,应在大田或栽培群体中广泛筛查并鉴定具有高侵染效率、强系统性运动能力且对宿主本身表型破坏较小的内源性病毒(如潜隐性病毒),为构建 VIGE 系统提供关键的底盘资源。在此基础上,结合小体量核酸酶,进一步构建能同时负荷 Cas 核酸酶与 gRNA 的大载量全病毒递送系统。

此外,纳米材料(如碳纳米管、介孔二氧化硅、聚合物纳米颗粒等)凭借其优异的表面可修饰性、高载荷能力以及穿透完整植物细胞壁的物理特性,是递送编辑工具的理想载体。经化学修饰的单壁碳纳米管(SWNT)能够包裹并保护质粒 DNA 或 mRNA,通过渗透方式直接输送至完整植物的成熟叶片细胞中。该策略成功实现了异源蛋白在本氏烟草(*Nicotiana benthamiana*)叶绿体及细胞质中的高水平瞬时表达^[82]。磁性纳米颗粒(MNP)也为基因递送提供了创新策略。例如,在枇杷(*Eriobotrya japonica*)的遗传转化研究中,研究者通过筛选确定了适用于花粉磁转染系统的最佳纳米颗粒尺寸,将其与外源 DNA 构建复合物后负载于花粉表面,最终借助授粉过程成功获得了基因编辑植株^[83]。尽管纳米载体在植物基因递送领域展现出广阔前景,但其广泛应用仍面临不可忽视的局限性。纳米颗粒的穿透与递送效率高度依赖于其理化性质(如粒径、表面电荷)与特定植物物种及其细胞壁结构的匹配度,存在显著的物种特异性,需针对不同靶植物进行定制化的参数优化。更为关键的是,现有纳米递送系统主要负载质粒 DNA,外源 DNA 进入植物细胞后仍存在随机整合至宿主基因组的风险^[83-84],从而难以从根本上摆脱转基因植物的监管限制。因此,未来的研究亟须将纳米递送平台与核糖核蛋白(RNP)复合体相结合。鉴于 RNP 在靶细胞内完成基因组编辑后会迅速降解,且整个递送过程不涉及外源核酸序列的引入,该策略可有效阻断外源基因的基因组整合,从而为创制无转基因成分的基因编辑植株提供更为安全和合规的技术路径。

2.2.5 开发物种适配性的高效基因编辑平台 当前已报道的植物基因编辑体系与核心工具大多基于水稻、烟草和拟南芥等模式植物开发,存在显著的物种依赖性。然而,植物物种间在调控元件、遗传转化体系等方面存在显著差异,直接将外源模式植物中开发的工具移植至观赏植物时,常因基因编辑元件表达效率低下而面临技术瓶颈,严重制约了编辑技术在观赏植物中的应用。为此,亟须构建物种适配性的基因编辑平台,从以下 2 个方面突破技术壁垒:

1) 挖掘物种适配性的基因编辑调控元件,提升编辑体系表达效率。基因编辑元件的表达效率是决定基因编辑效率的核心要素,而启动子、终止子等调控元件具有物种特异性。尽管基于模式植物开发的基因编辑工具在近缘物种中展现出了良好兼容性,但在远缘物种中常因物种特异性导致编辑效率骤降。因此,需通过整合多组学(基因组学、表观组学、转录组学)数据,系统挖掘并验证目标物种及其近缘种中的内源强效 Pol II 与 Pol III 启动子及高效终止子,构建物种适配性的基因编辑元件工具箱,从根源上破解表达元件不适配导致的基因编辑效率低下问题。

2) 对前沿精准编辑器进行深度的物种适配性优化,突破碱基编辑和引导编辑在观赏植物中的应用空白。当前,绝大多数观赏植物尚未建立高效的常规基因编辑体系,直接应用结构更为复杂的精准编辑工具

面临极大挑战。在配备物种适配性调控元件的前提下,必须进一步对编辑器内部的编码序列进行深度优化,以提升其与宿主细胞翻译及折叠环境的适配度。BE 和 PE 系统在 Cas 蛋白变体的基础上融合了脱氨酶、逆转录酶等多种蛋白,其原始序列的密码子偏好性往往与观赏植物差异显著,直接使用极易导致翻译效率低下或蛋白错误折叠。因此,亟须针对目标物种的密码子使用频率,对编辑器进行全局密码子优化;同时,可引入植物特异性内含子通过内含子介导的增强效应来增加 mRNA 的转录后加工与表达水平,并优化核定位信号(nuclear localization signal, NLS)以提升大分子编辑蛋白的入核效率。对编辑器编码序列的定制化改造,可提升精准编辑工具在观赏植物细胞内的蛋白表达丰度与催化活性,从而推动前沿基因编辑技术的实质性移植与应用。

3 结论与展望

CRISPR/Cas 介导的基因组编辑技术正深刻重塑观赏植物分子育种的格局。随着底层工具的不断迭代与多组学数据的爆发式增长,观赏植物基因编辑正加速从“单一基因功能验证”向“复杂商业性状的精准分子设计”跨越。面向未来,研究重心的战略性转移与产业化路径的创新,将成为推动该领域高质量发展的核心引擎。

3.1 未来研究重点:向多维调控与智能化设计演进

面对观赏植物复杂性状解析与商业化育种的更高需求,未来的基因编辑研究亟须突破传统单基因敲除与随机突变的底层局限,向系统性、精准化与智能化方向推进。具体而言,研究重心需从单一靶点向多基因协同与代谢网络重塑拓展,从依赖 DNA 双链断裂的编辑向精准的碱基编辑与引导编辑升级,并深度融合人工智能技术,推动育种策略从经验性向理性转变。未来,应重点聚焦以下 3 个核心维度:

1) 多基因协同编辑与代谢网络重塑。观赏植物的核心商业性状(如花色、花型、花香及抗逆性等)多属复杂的数量性状,通常由复杂的代谢网络或多基因家族协同控制,且观赏植物普遍存在的多倍化特征进一步加剧了基因冗余。传统的单基因编辑往往因代谢途径的代偿效应或同源基因的功能冗余,难以产生显著的表型变异。因此,未来亟须针对目标物种的基因组特征深度开发高效的多重基因编辑系统。在技术层面,可利用 tRNA-sgRNA 多顺反子系统、核酶(Ribozyme)加工系统或 Csy4 加工系统,实现单载体上多个 sgRNA 的高效表达与精准加工。在应用层面,通过对花青素合成途径的关键分支节点进行多重敲除以重定向代谢流,或对花器官发育 ABCDE 模型基因簇及启动子顺式调控元件进行同步编辑,从而创制具有突破性商业价值的新优种质。

2) 精准编辑技术的深度开发与应用。传统的 CRISPR/Cas9 系统主要依赖 DNA 双链断裂及后续的非同源末端连接(NHEJ)修复路径来产生基因敲除,这种随机插入或缺失往往难以满足对某些关键基因微调的需求。碱基编辑与引导编辑等新型精准编辑技术的引入,彻底突破了这一局限。碱基编辑能够在不产生 DSB 且不依赖 HDR 修复路径的前提下,实现 C-to-T 或 A-to-G 的高效精准转换^[85-86],而引导编辑能够在不产生 DSB 的情况下,实现所有 12 种单碱基替换以及小片段的精准插入与删除^[87]。在观赏植物育种中,这些精准编辑技术将展现出无可替代的应用潜力。例如,通过精准替换花青素合成途径或花香代谢关键酶的特定氨基酸位点,可实现花色的定向优化;通过对启动子区域顺式作用元件的精准微调,可精细调控基因表达量,从而实现对花型大小或花期长短的定量控制。此外,精准编辑技术由于不产生随机的 DNA 双链断裂,极大地降低了观赏植物基因组发生不可控大片缺失或染色体重组的风险,为创制具有突破性且遗传稳定的商业新品种提供了精准手段。

3) AI 驱动的智能靶点设计与蛋白质理性改造。人工智能与深度学习的深度融合为观赏植物精准育种带来了机遇。在靶点设计层面,通过整合特定品种的全基因组 SNP、SV 图谱,可开发物种专属的智能化 gRNA 设计算法。这不仅能提升多倍体背景下等位基因特异性编辑的精准度,更能规避脱靶风险。在蛋白质改造层面,借助 AlphaFold 等结构预测模型与 RFdiffusion 等生成式 AI,可对决定核心商业性状的植物内源关键酶(如花青素修饰酶、花香代谢酶)或核心转录因子(如 MADS-box 家族)进行高精度三维建模与从头设计。通过 AI 计算预测关键氨基酸位点的突变效应,并结合碱基编辑或引导编辑技术进行精准的定点改造,可实现高效的“计算预测-试验验证”的逻辑闭环。这种 AI 辅助的蛋白质理性设计,能够突破天然蛋白质的功能极限,例如改变关键酶的底物特异性以合成自然界罕见的花青苷衍生物,或重塑转录因子的 DNA 结合亲和力以精细调控花型与花期,从而为观赏植物关键性状的突破提供强大的底层技术支撑。

3.2 产业化路径:突破转化壁垒与加速商业迭代

观赏植物具有非食用和市场迭代需求快等显著特征,这为其基因编辑技术的产业化落地提供了得天独厚的优势。未来的产业化路径应聚焦于以下几个方面:

1) 创制无外源 DNA 编辑植株以跨越监管门槛。获得无外源 DNA 残留的编辑植株,这是观赏植物编辑品种走向市场的先决条件。未来的产业化研发应大力推广基于核糖核蛋白(RNP)递送、不整合基因组的病毒载体介导递送以及纳米材料介导递送等 DNA-free 递送策略。确保最终商业化品种中不残留任何外源 DNA,从而在最大程度上契合全球日益宽松的基因编辑产品监管趋势,大幅缩短商业化审批周期。

2) 构建不依赖于基因型的遗传转化体系。针对观赏植物面临的“一品种一策略”的转化瓶颈,未来的产业化研发需将对生长发育影响较小的发育调控因子(如 WUS、GRF-GIF)或再生小肽(如 REF1)整合至基因编辑育种改良流程中。通过建立广谱、高效的通用型再生与转化平台,将原本需要数月的组织培养与遗传转化周期大幅压缩,实现优良商业品种的快速迭代。

观赏植物基因编辑正处于从底层技术突破向产业化应用跨越的关键节点。随着高质量基因组解析、新型精准编辑工具的开发、AI 辅助的蛋白质理性设计,以及无外源 DNA 递送系统的日益成熟,制约观赏植物基因编辑育种商业化的技术壁垒将被逐步打破。更为重要的是,观赏植物作为非食用经济作物,在公众接受度与全球生物安全监管层面具备天然的优势,这为其基因编辑品种的快速商业化落地提供了重要契机。未来,通过多学科深度交叉与产学研协同创新,基因编辑技术必将成为观赏植物分子设计育种的核心引擎。这不仅将加速高附加值花卉新品种的创制与产业化应用,有效破解产业同质化瓶颈,更将推动观赏园艺产业向高质高效方向转型升级,为现代农业的提质增效与乡村产业振兴注入强劲的创新动能。

参考文献 References:

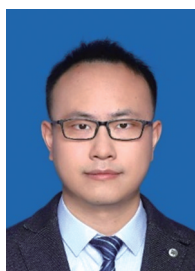
- [1] 苏江硕,贾棣文,王思悦,等. 中国菊花遗传育种 60 年回顾与展望[J]. 园艺学报,2022,49(10):2143-2162.
Su J S, Jia D W, Wang S Y, et al. Retrospection and prospect of chrysanthemum genetic breeding for last six decades in China[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2022, 49(10): 2143-2162 (in Chinese with English abstract).
- [2] Zhang X N, Lan L, Yang Y X, et al. Pangenomic analyses of rose uncover widespread structure variation and empower genomics-directed breeding[J]. Nature Genetics, 2026, 58(5): 1164-1175.
- [3] Tuncel A, Pan C T, Clem J S, et al. CRISPR-Cas applications in agriculture and plant research[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2025, 26(6): 419-441.
- [4] Li B S, Sun C, Li J Y, et al. Targeted genome-modification tools and their advanced applications in crop breeding[J]. Nature Reviews Genetics, 2024, 25(9): 603-622.
- [5] Zhao Y D, Liang Y B, Ni Z F, et al. Advances and prospects of large DNA fragment editing in plants[J]. Nature Plants, 2025, 11(12): 2461-2475.
- [6] Gao C X. Genome engineering for crop improvement and future agriculture[J]. Cell, 2021, 184(6): 1621-1635.
- [7] Tang J, Ye J X, Liu P X, et al. Ornamental plant gene editing: past, present and future[J]. Ornamental Plant Research, 2023, 3(1): 1-6.
- [8] Xu S J, Chen R Z, Zhang X Q, et al. The evolutionary tale of lilies: giant genomes derived from transposon insertions and polyploidization[J]. The Innovation, 2024, 5(6): 100726.
- [9] Song A P, Su J S, Wang H B, et al. Analyses of a chromosome-scale genome assembly reveal the origin and evolution of cultivated chrysanthemum[J]. Nature Communications, 2023, 14(1): 2021.
- [10] Shibuya K, Nomizu T, Morimoto H, et al. CRISPR/Cas9-mediated *LhNAP* mutagenesis extends flower longevity in lily[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2025, 229: 110551.
- [11] Wang C P, Li Y, Wang N, et al. An efficient CRISPR/Cas9 platform for targeted genome editing in rose (*Rosa hybrida*) [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2023, 65(4): 895-899.
- [12] Xue Y S, Wang C, Ge R, et al. Efficient creation of decorative double-flowered petunia through CRISPR/Cas9-mediated simultaneous editing of *PMADS3* and *FBP6* genes[J]. Plant Biotechnology Journal, 2025, 23(10): 4350-4352.
- [13] Xiao N, Lyu Q W, Zhang T H, et al. *BLADE-ON-PETIOLE* genes enable genetic bottleneck mitigation through cross-species repurposing of floral persistence traits[J]. Advanced Science, 2026, 13(32): e17112.
- [14] Hsieh M H, Pan Z J, Lai P H, et al. Virus-induced gene silencing unravels multiple transcription factors involved in floral growth and development in *Phalaenopsis* orchids[J]. Journal of Experimental Botany, 2013, 64(12): 3869-3884.
- [15] Choppy M, Cavallini-Speisser Q, Chambrier P, et al. Cell layer-specific expression of the homeotic MADS-box transcription factor *PhDEF* contributes to modular petal morphogenesis in petunia[J]. The Plant Cell, 2024, 36(2): 324-345.
- [16] Juntheikki-Palovaara I, Tähtiharju S, Lan T Y, et al. Functional diversification of duplicated *CYC2* clade genes in regulation of inflorescence development in *Gerbera hybrida* (Asteraceae) [J]. The Plant Journal, 2014, 79(5): 783-796.

- [17] Wang J J, Guan Y X, Ding L, et al. The *CmTCP20* gene regulates petal elongation growth in *Chrysanthemum morifolium* [J]. *Plant Science*, 2019, 280: 248–257.
- [18] Ren G P, Li L F, Patra B, et al. The transcription factor GhTCP7 suppresses petal expansion by interacting with the WIP-type zinc finger protein GhWIP2 in *Gerbera hybrida* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2023, 74(14): 4093–4109.
- [19] Chen C X, Hussain N, Ma Y X, et al. The ARF2-MYB6 module mediates auxin-regulated petal expansion in rose [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2023, 74(15): 4489–4502.
- [20] Xu Y, Xing Y X, Wei T T, et al. Transcription factor *RrANTI* of *Rosa rugosa* positively regulates flower organ size in *Petunia hybrida* [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(3): 1236.
- [21] Watanabe K, Kobayashi A, Endo M, et al. CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of the *dihydroflavonol-4-reductase-B* (*DFR-B*) locus in the Japanese morning glory *Ipomoea* (*Pharbitis*) *nil* [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 10028.
- [22] Watanabe K, Oda-Yamamizo C, Sage-Ono K, et al. Alteration of flower colour in *Ipomoea nil* through CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of *carotenoid cleavage dioxygenase 4* [J]. *Transgenic Research*, 2018, 27(1): 25–38.
- [23] Nishihara M, Higuchi A, Watanabe A, et al. Application of the CRISPR/Cas9 system for modification of flower color in *Torenia fournieri* [J]. *BMC Plant Biology*, 2018, 18(1): 331.
- [24] Tasaki K, Yoshida M, Nakajima M, et al. Molecular characterization of an anthocyanin-related glutathione S-transferase gene in Japanese gentian with the CRISPR/Cas9 system [J]. *BMC Plant Biology*, 2020, 20(1): 370.
- [25] Yu J H, Tu L H, Subburaj S, et al. Simultaneous targeting of duplicated genes in *Petunia protoplasts* for flower color modification via CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins [J]. *Plant Cell Reports*, 2021, 40(6): 1037–1045.
- [26] Nitarska D, Boehm R, Debener T, et al. First genome edited poinsettias; targeted mutagenesis of flavonoid 3'-hydroxylase using CRISPR/Cas9 results in a colour shift [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2021, 147(1): 49–60.
- [27] Zhang B, Xu X J, Huang R W, et al. CRISPR/Cas9-mediated targeted mutation reveals a role for *AN4* rather than *DPL* in regulating venation formation in the corolla tube of *Petunia hybrida* [J]. *Horticulture Research*, 2021, 8: 116.
- [28] 桑利娜. 矮牵牛 PhRSs 和 PhTRMs 在花色形成中的功能研究 [D]. 广州: 华南农业大学, 2022: 1–20.
Sang L N. Study on the function of PhRSs and PhTRMs in *Petunia* in flower color formation [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2022: 1–20 (in Chinese with English abstract).
- [29] Li X Q, Bu F Q, Zhang M, et al. Enhancing nature's palette through the epigenetic breeding of flower color in chrysanthemum [J]. *New Phytologist*, 2025, 245(5): 2117–2132.
- [30] Li Y Q, Gao R F, Zhang J, et al. The biochemical and molecular investigation of flower color and scent sheds lights on further genetic modification of ornamental traits in *Clivia miniata* [J]. *Horticulture Research*, 2022, 9: uhac114.
- [31] Deng J, Su M Y, Zhang X Y, et al. Proteomic and metabolomic analyses showing the differentially accumulation of *NnUGT2* is involved in the petal red-white bicolor pigmentation in lotus (*Nelumbo nucifera*) [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2023, 198: 107675.
- [32] Zhu Z Q, Xing S T, Zan W X, et al. An O-methyltransferase gene, *RrCCoAOMT1*, participates in the red flower color formation of *Rosa rugosa* [J]. *Scientia Horticulturae*, 2024, 336: 113402.
- [33] Geng Z Q, Zhou L J, Wang Y G, et al. AU-box E3 ubiquitin ligase CmPUB15 targets CmMYB73 to regulate anthocyanin biosynthesis in response to low temperatures in *Chrysanthemum* [J]. *New Phytologist*, 2025, 248(3): 1304–1320.
- [34] Zhou L J, Wang Y X, Wang Y G, et al. Transcription factor CmbHLH16 regulates petal anthocyanin homeostasis under different lights in *Chrysanthemum* [J]. *Plant Physiology*, 2022, 190(2): 1134–1152.
- [35] 路双. 基因编辑技术在矮牵牛定向精准育种中的应用 [D]. 上海: 上海师范大学, 2023: 1–35.
Lu S. Application of gene editing technology in targeted precision breeding of petunia [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2023: 1–35 (in Chinese with English abstract).
- [36] Liu L, Xue Y J, Luo J Y, et al. Developing a UV-visible reporter-assisted CRISPR/Cas9 gene editing system to alter flowering time in *Chrysanthemum indicum* [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2023, 21(8): 1519–1521.
- [37] Gao X K, Liu L, Wang T L, et al. Aging-dependent temporal regulation of *MIR156* epigenetic silencing by CiDL1 and CiNF-YB8 in *Chrysanthemum* [J]. *New Phytologist*, 2025, 245(5): 2309–2321.
- [38] Xue W J, Shi J X, Li Z Z, et al. *CmFda*-mediated epigenetic regulation of flowering in chrysanthemum [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2025, 23(7): 2720–2733.
- [39] Huang X, Ma Z M, He D X, et al. Molecular condensation of the CO/NF-YB/NF-YC/FT complex gates floral transition in *Arabidopsis* [J]. *The EMBO Journal*, 2025, 44(1): 225–250.
- [40] Zhang T L, Chen M, Wan Y H, et al. GIGANTEA-LATE ELONGATED HYPOCOTYL complex regulates citrus drought tolerance and drought induced flowering [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2025, 67(9): 2366–2387.
- [41] Zeng S Y, Qin Z R. The FKF1-ELF3-PRC2 module regulates flowering time in response to light in temperate grasses [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2025, 122(42): e2508103122.
- [42] Lee J, Lee I. Regulation and function of *SOC1*, a flowering pathway integrator [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2010, 61(9): 2247–2254.
- [43] Su Y, Yi Y, Ge S C, et al. Circular RNAs derived from *MIR156D* promote rice heading by repressing transcription elongation of pri-miR156d through R-loop formation [J]. *Nature Plants*, 2025, 11(4): 709–716.

- [44] Debernardi J M, Woods D P, Li K, et al. MiR172-*APETALA2-like* genes integrate vernalization and plant age to control flowering time in wheat [J]. *PLoS Genetics*, 2022, 18(4): e1010157.
- [45] Shibuya K, Watanabe K, Ono M. CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of the *EPHEMERAL1* locus that regulates petal senescence in Japanese morning glory [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, 131: 53–57.
- [46] Xu J P, Kang B C, Naing A H, et al. CRISPR/Cas9-mediated editing of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase1 enhances *Petunia* flower longevity [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2020, 18(1): 287–297.
- [47] Song J, Zhang Y M, Hu X Y, et al. Spongy mesophyll cell death is induced by jasmonic acid during leaf senescence in chrysanthemum [J]. *The Plant Cell*, 2026, 38(4): koag095.
- [48] Wang T, Sun Z, Wang S Q, et al. *DcWRKY33* promotes petal senescence in carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) by activating genes involved in the biosynthesis of ethylene and abscisic acid and accumulation of reactive oxygen species [J]. *The Plant Journal*, 2023, 113(4): 698–715.
- [49] Ji X T, Mao Y X, Yuan Y P, et al. *PhERF71* regulates petunia flower senescence by modulating ethylene biosynthesis [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2024, 216: 113070.
- [50] Zhao Y J, Li Y X, Shi J X, et al. An efficient transformation and gene editing system for *Lilium* species [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2026, 68(9): 3283–3285.
- [51] Luo C, Luo J Y, Han M Z, et al. Identification and knockout of rhamnose synthase *CiRHM1* enhances accumulation of flavone aglycones in chrysanthemum flower [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2025, 23(3): 1002–1004.
- [52] Liu H Y, Huang X Y, Zhang Y Q, et al. Visual marker-assisted gene editing of *MLO* confers powdery mildew resistance in *Nicotiana glauca* [J]. *aBIOTECH*, 2026, 7(2): 100024.
- [53] Fu Y F, He X M, Wang W W, et al. A simple and efficient *Agrobacterium rhizogenes*-mediated CRISPR/Cas9 gene editing system in *Lathyrus odoratus* [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2025, 162(2): 22.
- [54] Zhang T, Liu K, Chen J, et al. An efficient hairy root transformation system for protein interaction and gene editing analysis in roses [J]. *Horticultural Plant Journal*, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2025.03.013>.
- [55] Zhu Q, Lu Y C, Yang Y H, et al. Efficient genetic transformation and gene editing in *Erigeron breviscapus* using developmental regulators [J]. *The Crop Journal*, 2026, 14(1): 296–301.
- [56] Liu Q C, Yang S H, Qiu M Z, et al. Establishment of an efficient CRISPR/Cas9-mediated editing in marigold (*Tagetes erecta*) [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2026, 165(1): 21.
- [57] Wei Y L, Lin Z Y, Xie Q, et al. OrchidMD: an integrated and user-interactive orchid multi-omics database for mining genes and biological research [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2026, 24(3): 1885–1897.
- [58] Kishi-Kaboshi M, Aida R, Sasaki K. Generation of gene-edited *Chrysanthemum morifolium* using multicopy transgenes as targets and markers [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2017, 58(2): 216–226.
- [59] Mori K, Tanase K, Sasaki K. Novel electroporation-based genome editing of carnation plant tissues using RNPs targeting the anthocyanidin synthase gene [J]. *Planta*, 2024, 259(4): 84.
- [60] Sun H Q, Jiao W B, Krause K, et al. Chromosome-scale and haplotype-resolved genome assembly of a tetraploid potato cultivar [J]. *Nature Genetics*, 2022, 54(3): 342–348.
- [61] Ramírez-González R H, Borrill P, Lang D, et al. The transcriptional landscape of polyploid wheat [J]. *Science*, 2018, 361(6403): eaar6089.
- [62] Liu H, Ding Y D, Zhou Y Q, et al. CRISPR-P 2.0: an improved CRISPR-Cas9 tool for genome editing in plants [J]. *Molecular Plant*, 2017, 10(3): 530–532.
- [63] Sun J M, Liu H, Liu J X, et al. CRISPR-Local: a local single-guide RNA (sgRNA) design tool for non-reference plant genomes [J]. *Bioinformatics*, 2019, 35(14): 2501–2503.
- [64] Labun K, Montague T G, Krause M, et al. CHOPCHOP v3: expanding the CRISPR web toolbox beyond genome editing [J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(W1): W171–W174.
- [65] Xu Z P, Wang G Y, Zhu X Q, et al. Genome assembly of two allotetraploid cotton germplasms reveals mechanisms of somatic embryogenesis and enables precise genome editing [J]. *Nature Genetics*, 2025, 57(8): 2028–2039.
- [66] Buggs R J A, Chamala S, Wu W, et al. Rapid, repeated, and clustered loss of duplicate genes in allopolyploid plant populations of independent origin [J]. *Current Biology*, 2012, 22(3): 248–252.
- [67] Cao S, Chen Z J. Transgenerational epigenetic inheritance during plant evolution and breeding [J]. *Trends in Plant Science*, 2024, 29(11): 1203–1223.
- [68] Youngstrom C, Wang K, Lee K. Unlocking regeneration potential: harnessing morphogenic regulators and small peptides for enhanced plant engineering [J]. *The Plant Journal*, 2025, 121(2): e17193.
- [69] Wang N, Ryan L, Sardesai N, et al. Leaf transformation for efficient random integration and targeted genome modification in maize and sorghum [J]. *Nature Plants*, 2023, 9(2): 255–270.
- [70] Zhao Y, Cheng P, Liu Y, et al. A highly efficient soybean transformation system using GRF3-GIF1 chimeric protein [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2025, 67(1): 3–6.
- [71] Swinnen G, Lizé E, Loera Sánchez M, et al. Application of a GRF-GIF chimera enhances plant regeneration for genome editing in tomato [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2025, 23(9): 4044–4056.

- [72] Hayta S, Smedley M A, Bayraktar M, et al. Controlling GRF4-GIF1 expression for efficient, genotype-independent transformation across wheat cultivars[J]. The Plant Journal, 2026, 125(6): e70799.
- [73] Kong J X, Martin-Ortigosa S, Finer J, et al. Overexpression of the transcription factor GROWTH-REGULATING FACTOR5 improves transformation of dicot and monocot species[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 572319.
- [74] Lian Z Y, Nguyen C D, Liu L, et al. Application of developmental regulators to improve *in planta* or *in vitro* transformation in plants[J]. Plant Biotechnology Journal, 2022, 20(8): 1622–1635.
- [75] Huo H, Jiang T, Lian Z, et al. Synergistic developmental regulators enable efficient plant regeneration and transformation across species[EB/OL]. (2026-02-02) [2026-06-13]. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-8622129/v1>.
- [76] Yang W T, Zhai H W, Wu F M, et al. Peptide REF1 is a local wound signal promoting plant regeneration[J]. Cell, 2024, 187(12): 3024–3038.
- [77] Naeem B, Shams S, Ma L L, et al. An optimized regeneration protocol for chili peppers (*Capsicum annuum* L.) through genotype-specific explant and growth regulator combinations[J]. Seed Biology, 2025, 4(1): e012.
- [78] Nagalakshmi U, Meier N, Liu J Y, et al. High-efficiency multiplex biallelic heritable editing in *Arabidopsis* using an RNA virus[J]. Plant Physiology, 2022, 189(3): 1241–1245.
- [79] Tamilselvan-Nattar-Amutha S, Hiekel S, Hartmann F, et al. Barley stripe mosaic virus-mediated somatic and heritable gene editing in barley (*Hordeum vulgare* L.)[J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 14: 1201446.
- [80] Baysal C, Kausch A P, Cody J P, et al. Rapid and efficient *in planta* genome editing in sorghum using foxtail mosaic virus-mediated sgRNA delivery[J]. The Plant Journal, 2025, 121(2): e17196.
- [81] Liu Q, Zhao C L, Sun K, et al. Engineered biocontainable RNA virus vectors for non-transgenic genome editing across crop species and genotypes[J]. Molecular Plant, 2023, 16(3): 616–631.
- [82] Demirer G S, Zhang H, Matos J L, et al. High aspect ratio nanomaterials enable delivery of functional genetic material without DNA integration in mature plants[J]. Nature Nanotechnology, 2019, 14(5): 456–464.
- [83] Suo X D, Wang H Y, Meng T T, et al. Magnetic nanoparticle-mediated genetic transformation and gene editing system in loquat (*Eriobotrya japonica*) [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2026, 1: jipb.70307.
- [84] Zhao X, Meng Z G, Wang Y, et al. Pollen magnetofection for genetic modification with magnetic nanoparticles as gene carriers[J]. Nature Plants, 2017, 3(12): 956–964.
- [85] Komor A C, Kim Y B, Packer M S, et al. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage[J]. Nature, 2016, 533(7603): 420–424.
- [86] Gaudelli N M, Komor A C, Rees H A, et al. Programmable base editing of A·T to G·C in genomic DNA without DNA cleavage[J]. Nature, 2017, 551(7681): 464–471.
- [87] Anzalone A V, Randolph P B, Davis J R, et al. Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA[J]. Nature, 2019, 576(7785): 149–157.

责任编辑: 范雪梅



宋爱萍, 南京农业大学教授, 博士生导师, 国家级青年人才, 长期从事菊花遗传育种与分子生物学研究。以第一或通信(含共同)作者在 *Nature Communications*、*Molecular Plant*、*Plant Physiology*、*Plant Journal* 等国际主流学术期刊发表论文 40 余篇, ESI 高被引论文 2 篇; 获批国家发明专利 10 余件, 植物新品种权 10 余个。



陈发棣, 南京农业大学教授, 博士生导师, 现任南京农业大学校长。长期从事菊花遗传育种研究, 先后主持国家自然科学基金(杰青、重点、面上等)、国家重点研发计划、公益性行业(农业)科研专项等项目 40 余项, 带领团队建成中国菊花种质资源保存中心, 收集保存资源 5 000 余份, 选育不同类型菊花新品种 300 余个, 获国家植物新品种权 148 个, 国家发明专利 70 件, 发表论文 600 余篇(SCI 收录 300 余篇), 是爱思唯尔高被引学者。以第一完成人获国家技术发明奖二等奖 1 项, 省部级一等奖 3 项、创新团队奖 1 项、二等奖 4 项, 以第三完成人获国家科技进步奖二等奖 1 项。主编规划教材 3 本, 获国家教学成果奖二等奖和省级教学成果一等奖各 1 项。