

我国植物外源 DNA 直接导入技术研究进展及问题与思考

崔晓睿¹, 周静¹, 姬汉轩², 丰柳春¹, 桑世飞¹, 常英英¹, 杨志莹¹,
袁金红¹, 王书玉³, 姬生栋^{1*}, 李俊华^{1*}

¹河南省作物遗传改良与种质创新工程研究中心/河南师范大学生命科学学院, 新乡 453007; ²河南医药大学, 新乡 453000; ³新乡市农业科学院水稻研究所, 新乡 453002

摘要 有性杂交育种受遗传基础狭窄的制约日益突出。20 世纪 70 年代以来, 为突破远缘有性杂交障碍、破解早期基因工程技术应用门槛高的瓶颈, 我国自主建立了植物外源 DNA 直接导入技术, 并提出 DNA 片段杂交假说等理论解释。其中花粉管通道法、浸胚法等技术体系趋于成熟, 具有无需植物组织培养、设备要求低、生态安全性好等优势, 育种应用覆盖棉花(*Gossypium hirsutum*)、水稻(*Oryza sativa*)、小麦(*Triticum aestivum*)、玉米(*Zea mays*)、大豆(*Glycine max*)、果蔬、林木、药用植物等作物。经同位素示踪、分子杂交、分子标记、报告基因、高通量测序等多层次验证, 外源 DNA 导入受体后, 除实现异源 DNA 片段跨物种整合外, 还可以作为生物诱变源引发基因组大范围变异。作者团队依托该技术, 创制数百份特色作物种质, 培育玉稻 518 等水稻新品种。目前该技术已与重组载体转化、农杆菌介导转化、纳米载体递送等技术融合发展, 成为植物基础研究与种质创新的重要工具。

关键词 外源 DNA, 花粉管通道法, 浸胚法, 作物遗传改良

崔晓睿, 周静, 姬汉轩, 丰柳春, 桑世飞, 常英英, 杨志莹, 袁金红, 王书玉, 姬生栋, 李俊华 (2026). 我国植物外源 DNA 直接导入技术研究进展及问题与思考. 植物学报 61, 1–12.

有性杂交育种依赖物种内基因的重组与筛选, 在作物品种改良中发挥了关键作用, 但受遗传基础狭窄的固有缺陷制约——仅能在种内或部分近缘物种间实现基因交流, 难以突破远缘有性杂交的生殖隔离障碍, 无法充分利用自然界广泛的遗传资源, 难以满足日益增长的对高产、优质、抗逆、高效等综合育种目标的迫切需求。

20 世纪 60–70 年代, 随着分子生物学理论与技术的发展, 基因工程技术崭露头角。该技术通过将携带遗传信息的 DNA 导入受体生物细胞并使之表达, 诱发可遗传的变异, 进而选育目的性状优良品种(即分子育种技术), 为跨物种基因转移提供了新路径(Ledoux and Huart, 1969)。然而, 早期基因工程技术存在操作复杂、依赖昂贵设备与专业技术、对受体物种遗传背景要求严苛等难题, 且受限技术成熟度, 难以快速落地于育种实践。在此背景下, 我国科学家与育种工作者另辟蹊径, 开展了植物外源 DNA 直接导入技术的系统探索, 构建了支撑该技术的理论体系, 为作物育种开辟了新路径, 成功培育出抗枯萎病棉花、优质高产水稻、高蛋白大豆等一系列优良品种。

植物外源 DNA 直接导入技术无需依赖载体与农杆菌介导, 通过物理、化学或利用植物自身结构等途径, 将外源基因组 DNA 或目的基因 DNA 片段直接导入正常生长的受体植物种质细胞, 引发遗传变异, 进而创制新材料、新种质、新品种。该技术可打破物种间遗传壁垒, 实现跨科属甚至跨界的基因资源利用。与直接导入法相对的为 DNA 间接导入技术, 即利用生物载体为媒介, 将外源基因带入植物细胞, 如目前应用最广的农杆菌介导法。与间接导入技术相比, 外源 DNA 直接导入技术更易在基层育种单位推广应用。现有的基因操作策略, 如反义 RNA 技术(马晓莉, 1999)、转座子标签技术(杨琳和王金发, 2000)、T-DNA 插入技术(张梅芳和张景六, 2002)、RNA 干扰技术(RNA interference, RNAi) (王雷等, 2003)及基因编辑技术(如 CRISPR/Cas9) (何晓玲等, 2022)等, 也可与 DNA 直接导入法结合使用。

尽管植物外源 DNA 直接导入技术在应用层面已展现出巨大潜力, 但其理论基础与技术机理仍存在诸多未解之谜。同时, 随着现代分子生物学技术的飞速发展, 该技术的定位与独特价值需在新的技术背景下重新审视与评估。基于此, 本文系统回顾植物外源 DNA 直接导

收稿日期: 2026-05-14; 接受日期: 2026-06-22

基金项目: 国家自然科学基金(No.31970380)、河南省自然科学基金(No.252300420202)和河南省高端外国专家引进计划(No.HNGD2025017)。

* 通讯作者。E-mail: jjsd99@126.com; lijh@htu.cn

入技术的发展历程, 探讨其在突破物种壁垒、简化育种流程、创制非常规变异等方面的价值, 为该技术的理论深化、技术优化及在作物遗传改良中的进一步应用提供参考与启示。

1 外源 DNA 直接导入植物技术的理论基础

20 世纪 70 年代, 我国生物化学家周光宇先生在调查玉米稻、高粱稻等远缘杂交成功的粮食作物时, 发现了与传统遗传学预期不符的现象: 这些杂交子代的表型变异可遗传, 但其染色体数目、大小和形状均与母本一致。传统遗传学认为, 远缘亲本间因染色体结构整体不亲和, 杂交难以成功; 但从进化角度分析, 远缘亲本的部分基因结构可能仍具有一定亲和性。基于上述发现, 周光宇从分子生物学角度提出了“DNA 片段杂交”假说(周光宇, 1978; 周光宇等, 1979): 远缘花粉基因组进入母体(受体)后, 部分会降解为包含基因或调控序列的 DNA 片段; 其中部分片段有可能整合到受体染色体中, 引起子代遗传变异。该假说解释了远缘杂交后代染色体与表型与预期不符的现象: 由于整合的外源 DNA 片段较小, 普通光学显微镜下无法观察到染色体形态结构变化, 故染色体形态不变; 同时, 仅极少数外源 DNA 片段能成功整合, 因此子代表型基本与受体母本一致, 仅少数性状发生变异。这一理论揭示了远缘杂交成功的分子机制, 突破了传统遗传学的认知局限, 为外源 DNA 直接导入技术奠定了理论基础(龚蓁蓁, 2007)。

基于对当时国内外相关研究的总结, 万文举等(1992)推测外源 DNA 导入具有双重作用: 基因转移作用与生物诱变作用。外源 DNA 片段可直接整合到受体基因组中, 实现目的基因的跨物种转移。同时, 外源 DNA 插入受体 DNA 可引发基因突变或调控变异, 导致后代出现广幅性状分离(如株高、生育期、品质的极端变异), 以及激活受体“潜在性状”(如重现祖先的紫鞘、长芒等特征)。

2 外源 DNA 导入方法研究

科学家在长期实践中建立了多种外源 DNA 直接导入技术。按导入途径可分为滴注引进、浸渍吸收、培养基中添加、射击穿入(基因枪、电击)、嫁接等; 按受体部位可分为种子、幼苗、植株、生殖器官等。各类技术体系的作用模式与主要特征详见表 1。本文重点介绍应用广泛的花粉管通道法(针对生殖器官)与浸胚法(针对营养器官)。

表 1 植物外源 DNA 直接导入技术体系对比

Table 1 Comparison of direct introduction technologies for exogenous DNA in plants

导入途径分类	技术名称	作用模式	适用受体部位	主要特征
滴注引进类	花粉管通道法	利用植物授粉后珠孔至珠心间形成的花粉管通道, 将外源 DNA 涂抹于柱头截面或注射入子房, 沿花粉管通道进入胚囊, 整合至无细胞壁的卵、合子或早期胚细胞	生殖器官(柱头、子房、胚囊)	不依赖组培、设备要求低、生态安全性好、供/受体适用范围广、变异类型丰富
	子房注射法	通过显微注射将外源 DNA 直接注入受体植物的子房中, 使外源 DNA 接触胚珠并进入胚囊细胞实现转化	生殖器官(子房)	可直接将外源 DNA 递送至胚珠附近, 转化靶向性较强; 需显微操作设备, 对操作技术要求较高
浸渍吸收类	浸胚法	以含外源 DNA 的溶液浸泡受体干种子胚或萌动种子, 利用胚生长点细胞的胞间壁通道, 使外源 DNA 进入受体细胞实现转化	营养器官(种子胚、萌动种子)	操作门槛极低、成本低廉、可批量处理、无组培依赖、生态风险小
	浸种苗法	将外源 DNA 溶液浸泡植物幼苗的根、茎、叶等营养器官, 通过植物自身的吸收作用使外源 DNA 进入体细胞实现转化	营养器官(幼苗的根、茎、叶)	可直接处理成苗, 无需等待种子萌发阶段, 适配无性繁殖作物
培养基添加类	培养基添加法	将外源 DNA 直接添加到植物离体组织、细胞或原生质体的培养基中, 通过细胞的内吞作用使外源 DNA 进入细胞实现转化	离体组织、细胞、原生质体	可精确控制转化环境, 转化体系可重复性强; 需无菌操作与组织培养体系
射击穿入类	基因枪法(微弹轰击法)	将外源 DNA 包裹在金/钨等重金属微弹表面, 通过高压气体加速使微弹高速穿透植物细胞壁与细胞膜, 将外源 DNA 送入细胞内实现转化	离体组织、愈伤组织、花粉粒、种子胚	无物种基因型限制, 可直接转化完整组织, 无需原生质体制备; 需基因枪设备, 操作成本较高
	电击法(电穿孔法)	利用高压电脉冲在植物细胞膜上形成瞬时微孔, 使外源 DNA 通过微孔进入细胞内实现转化	原生质体、悬浮细胞、花	转化过程快速, 可批量处理细胞, 无载体依赖, 生物安全性好; 需电击设

			粉粒	备, 对操作参数要求严格, 需无菌操作环境
嫁接介导类	嫁接转化法	将携带外源 DNA 的供体组织与受体植株进行嫁接, 通过嫁接部位的胞间连丝与物质交流, 使外源 DNA 从供体转移到受体细胞实现转化	植株茎秆、枝条、芽	操作简便, 可实现整株转化, 无需组织培养与复杂设备, 适配多年生木本作物
其它类	离子束辐照介导法	利用低能离子束辐照受体种子, 在细胞表面形成纳米级微通道并积累正电荷, 助力带负电的外源 DNA 进入细胞, 同时离子束辐照引发的 DNA 损伤修复可提升外源 DNA 整合效率, 实现物理-生物协同诱变	种子胚、萌动种子	兼具物理诱变与生物转化双重效应, 变异谱宽、可重复性强; 需离子束辐照设备, 操作流程可标准化, 可批量处理种子
	纳米载体递送法	以磁性纳米颗粒等作为载体吸附外源 DNA, 形成纳米颗粒-基因复合物, 突破植物细胞壁屏障, 将外源 DNA 精准递送至细胞核或特定亚细胞器, 实现稳定转化	花粉粒、种子胚、离体组织	转化靶向性强、细胞毒性低、可实现亚细胞精准递送, 无抗生素筛选依赖; 需制备纳米材料, 操作技术要求较高
	农杆菌介导融合法	将农杆菌介导转化与外源 DNA 直接导入技术融合, 通过花粉管注射、浸胚等方式将携带目的基因的农杆菌导入受体, 利用农杆菌的 T-DNA 转移能力提升转化效率与稳定性	子房、种子胚、花粉粒	兼具直接导入法的便捷性与农杆菌介导法的高稳定性、高转化效率

2.1 花粉管通道法

该方法是周光宇等基于“DNA 片段杂交”理论设计的典型生殖器官导入技术(Zhou et al., 1983; 周光宇等, 1988)。其原理为: 利用植物授粉后自珠孔至珠心间形成的花粉管通道, 将外源基因组 DNA 或目的基因 DNA 片段涂抹于柱头截面或注射入子房, 使其沿花粉管通道进入胚囊, 进而整合至无正常细胞壁的卵、合子或早期胚细胞。此阶段受体细胞类似原生质体, 易于接受外源 DNA; 且受精后细胞 DNA 复制活跃, 利于外源 DNA 的整合。转化后的细胞可自然发育为种子, 因此该法具有不依赖植物组织培养与抗生素筛选、操作简便、转化频率高、变异类型丰富、供/受体植物适用范围广等优势。

同期国外也有类似工作。例如, 在矮牵牛(*Petunia hybrida*)中利用花粉萌发过程吸附 DNA 并导入胚珠, 使子代出现花色与叶型变异(Hess, 1980); 将外源 DNA 与玉米花粉混合授粉, 实现了高频率的胚乳基因转移(Ohta, 1986)。与花粉管通道法不同, 这些方法属于受精前的遗传操纵。

外源 DNA 直接导入技术及其理论在发展初期曾受到质疑, 研究者通过多种技术手段从不同层面进行了系统性验证, 为该技术的理论基础与应用实践提供了坚实证据。为明确外源 DNA 进入胚囊的路径, 周光宇团队采用缺口翻译法, 将³H 标记的棉花 DNA 在自花授粉后 24 小时注入子房, 放射自显影结果显示, 2–4 小时内 80%以上胚囊中出现放射性信号, 且信号仅存在于珠孔至胚囊的花粉管通道中, 珠心其它部位及花粉管内均无同位素积累, 明确了外源 DNA 通过花粉管通道进入胚囊的特异性路径(Gong et al., 1988)。

为证实外源 DNA 的整合, 翁坚等(1984)将 M13 (mp7)为载体的海岛棉(*Gossypium barbadense*)重复序列导入陆地棉(*Gossypium hirsutum*), 通过³²P 标记的 M13 (mp7) DNA 为探针进行 Southern 印迹杂交, 在受体后代中检测到特异性杂交带, 证实外源 DNA 片段的整合, 该整合与枯萎病抗性转移相关。张茂银等(2000)以地高辛标记的大麦(*Hordeum vulgare*)重复序列为探针, 对新疆大赖草(*Leymus racemosus*) DNA 导入小麦的后代进行杂交检测, 发现供体特异序列, 证实远缘 DNA 片段的跨物种整合。肖军等(2008)通过花粉管通道技术将碱蓬(*Suaeda salsa*)总 DNA 导入不耐盐番茄(*Solanum lycopersicum*), 以碱蓬基因组为探针进行荧光原位杂交, 在 13 株抗盐后代中检测到杂交信号, 直观证实外源 DNA 片段在受体染色体上的整合位点。

分子标记检测结果进一步证明了外源 DNA 的整合及其引起的遗传变异。雷勃钧等(1994)将野生大豆(*Glycine soja*) DNA 导入栽培大豆后, 随机扩增多态性 DNA (random amplified polymorphic DNA, RAPD)分析显示 24 个多态性引物扩增出供体特异带, 推测外源 DNA 片段通过同源重组引发受体基因组变异。杨景成等(2000)对 λ DNA 导入小麦获得的雄性不育系进行叶绿体 DNA 与核 DNA 的 RAPD 分析, 发现不育系中存在供体特异带, 证明外源 DNA 可整合至叶绿体基因组并调控基因表达。刘萍等(2006)将燕麦(*Avena sativa*)DNA 导入小麦

后, RAPD 检测显示变异后代中存在供体特有 DNA 片段, 证实外源 DNA 的整合及稳定遗传。宋伟等(2004)对高粱(*Sorghum bicolor*) DNA 导入小麦的有色籽粒后代进行 RAPD 与醇溶蛋白电泳, 发现丰富条带变异, 进一步证实外源遗传物质的整合。罗洪发等(2005)利用 60 对简单序列重复(simple sequence repeats, SSR)引物分析高粱 DNA 导入水稻的 34 个稳定品系, 筛选出 17 对多态性引物, 发现后代基因组中存在供体特异位点, 且外源 DNA 片段的导入量与后代变异程度具有相关性。

报告基因的表达在功能层面验证了花粉管通道技术的有效性。曾君祉等(1993)通过花粉管通道法将含 GUS 标记基因的质粒 pBI121 导入小麦, 经荧光法与组织染色检测到 β -葡萄糖苷酸酶的表达, 证实 GUS 基因已整合至小麦基因组并实现功能表达。以色列特拉维夫大学植物系与西德马普植物育种研究所采用花粉管通道技术, 将 NPTII 和 Bar 基因转化 12 个春小麦, 转化率达 6% (龚蓁蓁, 2007)。黄国存等(1998)以绿色荧光蛋白基因(GFP)为标记, 通过花粉管通道导入植物, 荧光观察显示 GFP 在胚囊细胞中表达, 进一步佐证外源基因可通过该通道进入靶细胞并发挥作用。

为明确外源 DNA 的精确整合位点及诱变机制, 作者团队对玉米基因组 DNA 片段经花粉管通道法导入水稻产生的 T4 代变异株进行全基因组测序(宋刘敏, 2019)。结果显示, 共有 3 条玉米 DNA 片段整合到受体基因组中, 同时检测到单核苷酸多态性(SNP)和插入缺失(InDel)突变合计达 42.2 万处。这表明外源 DNA 导入后, 除发生直接转移外, 还存在直接诱变效应。该效应不同于以往认为的生物诱变源于外源 DNA 片段“整合(插入)到受体 DNA 中而引起的基因突变”(万文举等, 1992), 而是一种新型生物诱变方式, 且其诱变概率远高于基因转移效应。进一步分析证实, 部分 SNP 突变可导致受体相关基因调控元件突变、反义突变。通过对变异材料细胞减数分裂过程中染色体行为研究(郭丹丹, 2014), 发现其在减数分裂阶段存在多种染色体畸变类型, 例如前期出现染色体环, 中期可见棒状染色、落后染色体及染色体散乱排列, 后期出现典型的染色体桥和染色体分离不同步等特征。这些结果证实, 外源 DNA 能够诱导受体水稻产生有效的遗传变异。

综上, 花粉管通道法的有效性已通过多层面证据得以充分证实, 包括导入路径追踪(同位素标记)、外源片段整合检测(分子杂交、分子标记)、基因功能验证(报告基因)和整合位点的精确定位(高通量测序)等。随着新技术的应用, 外源 DNA 在受体基因组中的整合机制、规律及其对目标性状的调控机理有望得到更精细解析, 为该技术的优化及在作物遗传改良中的广泛应用提供支撑。

2.2 浸胚法

自授粉后外源 DNA 导入植物技术创立后, 研究者进一步发展出浸胚法、浸种苗法、DNA 直接涂抹柱头法等更便捷的导入技术。浸胚法是指以含目的性状的供体 DNA 溶液为处理剂, 通过浸泡受体植物的干种子胚或萌动种子, 使外源 DNA 进入受体细胞并实现转化的育种方法。该方法操作简便、无需特殊设备, 尤其适用于水稻、小麦等单子叶作物(杨前进, 2006)。

浸胚法中外源 DNA 的导入与转化机制涉及多个生理与分子过程。在结构基础方面, 研究发现水稻等植物胚生长点细胞间存在胞间壁通道, 该通道区别于胞间连丝, 可允许 DNA 等大分子物质包括在细胞间运输, 为外源 DNA 传递提供了结构基础。王联芳等(1995)在水稻胚细胞研究中证实, 胞间壁通道多形成于胞间连丝所在部位, 在种子萌发阶段对大分子物质的快速运输发挥重要作用。小麦原胚细胞可通过外连丝型胞间连丝和开放孔道实现外源大分子的非跨膜摄取, 进一步佐证了特定通道在 DNA 导入中的关键作用(张伟成等, 1992)。外源 DNA 浸泡可诱导受体胚生长点细胞发生显微及亚显微结构改变。刘春林等(1999)以质粒 pBI121 为外源 DNA 处理水稻种子, 发现胚生长点表层细胞表面会形成孔洞结构。受体胚细胞可主动降解外源 DNA。以鲤鱼精液 DNA 处理水稻发现, 24 小时后大部分 DNA 被完全降解, 48 小时后降解为小分子片段、核苷酸甚至无机成分, 且降解过程伴随 220–240 nm 紫外吸收的增色效应(张学文等, 1994b)。更重要的是, 降解产物具有生物诱变作用——经 DNA 酶完全酶解的外源 DNA 仍能诱导水稻当代产生性状变异, 表明降解成分可通过影响受体基因表达或引发基因突变参与变异形成(张学文等, 1994a)。该结论与作者团队基于全基因组测序分析提出的直接诱变效应推论高度吻合。

和花粉管通道法相似, 浸胚法的有效性已得到多层次验证。刘春林等(1994)通过酯酶同工酶分析 DNA 浸泡处理的水稻优良变异株系, 发现与供体一致的酶带或新的非亲本酶带, 推测其源于外源结构基因的整合或调控序列对受体基因表达的重塑; 邢永忠(1996)对玉米

DNA 浸泡水稻获得的新品系 GER 进行酯酶同工酶分析及 RAPD 标记、限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)标记分析,证实供体玉米 DNA 片段已整合至受体基因组。

3 外源 DNA 直接导入技术在作物改良中的应用

外源 DNA 直接导入技术在作物改良中应用广泛,已成功培育出多个优良品种,育种应用覆盖棉花、水稻、小麦、玉米、大豆、果蔬、林木、药用植物等作物。

周光宇团队开发花粉管通道导入技术后,将海岛棉 DNA 导入陆地棉,培育出高抗枯萎病和黄萎病的新品系(黄骏麒等, 1981, 1982)。苏云金芽孢杆菌(Bt)杀虫晶体蛋白基因等高效抗虫基因经修饰后,通过花粉管通道技术导入我国多个棉花主栽品种,获得抗病虫棉花新种质(谢道昕等, 1991),并选育出 GK 系列国抗棉等新品种。该转基因技术体系不受品种基因型限制,具有独立自主知识产权(倪万潮等, 1998; 张继余和郭三堆, 1998)。在棉花中,花粉管通道法、基因枪法等直接导入技术仍是农杆菌介导法之外常用的遗传转化途径之一(Aluko et al., 2025)。

在禾本科主要粮食作物改良中,外源 DNA 直接导入技术同样得到落地应用。在水稻方面,早在 1966 年,吉林农民李贞生以水稻为母本、玉米为父本进行远缘杂交,成功培育玉米稻,其形态和染色体仍与水稻一致(杨大翔, 1995),本质上属于通过花粉介导将玉米 DNA 直接导入水稻。段晓岚等(1985)报道通过花粉管通道法将紫色稻总 DNA 导入绿色水稻,后代中出现具紫色性状的植株。广西农科院将野生稻 DNA 导入栽培稻,选育出耐旱、耐瘠、抗早衰、高产的糯稻新品种桂 D1 号,已实现大面积推广(冯世康等, 1992)。作者团队利用花粉管通道法、离子束辐照介导外源 DNA 导入技术,创制出一系列具有优质、抗病、茎秆粗壮、气生根发达、生长势强、抗鸟害、超大穗、特早熟、超小粒或超大粒等特异表型的水稻新种质(图 1),并选育出玉稻 518、宏稻 59、玉粳 3 和菡香 9 等 10 余个水稻新品种(周静等, 2020; 李俊华等, 2025)。在小麦中,于元杰等(1992)将小牛胸腺 DNA 导入普通小麦,培育出高产优质新品系 D041,累计推广面积超过 $2 \times 10^5 \text{ hm}^2$ 。在玉米方面,雷勃钧等(1990)等采用柱头涂抹法将大豆 DNA 导入玉米,提高了籽粒中粗蛋白和赖氨酸含量。

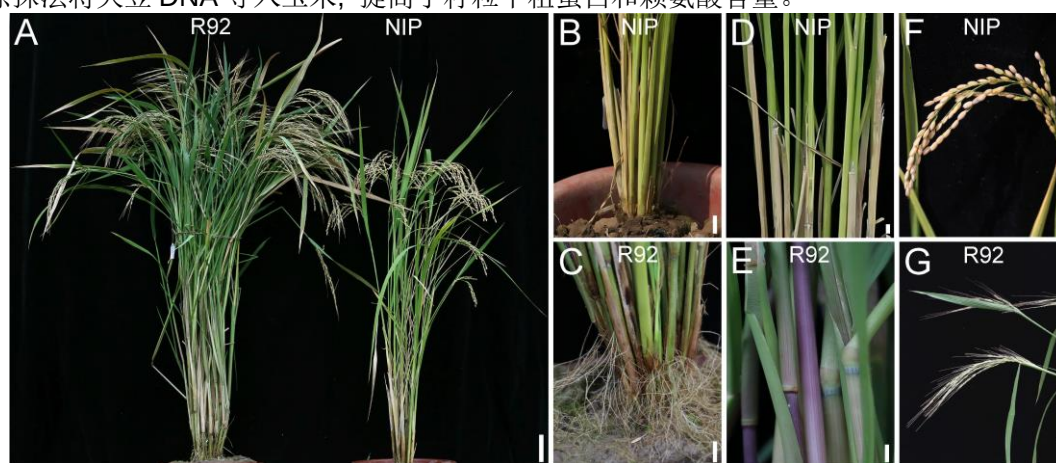


图 1 花粉管通道法介导玉米基因组 DNA 导入水稻获得的代表性突变体 R92 (周静, 2021)

(A) 株型对比(左: R92, 右: 受体日本晴(*Oryza sativa* ssp. *japonica* (cv. Nipponbare), NIP); (B), (C) 对照与 R92 的茎基部, R92 具有发达气生根; (D), (E) 对照与 R92 的茎秆, R92 呈紫色, 对照为绿色; (F), (G) 对照与 R92 的穗部, R92 具有长芒。(A) Bar=10 cm; (B)–(F) Bars=1 cm (G) Bar=5 cm

Figure 1 Representative mutant R92 generated by introducing maize genomic DNA into rice via the pollen-tube pathway method

(A) Comparison of plant architecture (left: R92; right: wild-type recipient rice *Oryza sativa* ssp. *japonica* cv. Nipponbare, NIP); (B), (C) Basal stems of control and R92. R92 exhibits more prominent adventitious roots; (D), (E) Stems of control and R92. R92 exhibited purple coloration, while the control was green; (F), (G) Panicles of control and R92. R92 had long awns. (A) Bar=10 cm; (B)–(F) Bars=1 cm (G) Bar=5 cm

在大豆遗传改良中,吉林省农科院(1990)将野生豆、半野生茶秣食豆和栽培豆的 DNA 导入栽培大豆,获得株高、结荚习性和花色等方面的变异类型。雷勃钧等(2000)通过花粉管通道法将野生大豆 DNA 直接导入栽培大豆品种 6296-3,育成蛋白质含量超过 45%、产量较标准品种提高 9.8%的新品种黑生 101。

为系统梳理外源 DNA 直接导入技术的应用现状,本文以“外源 DNA 导入”和“花粉

管导入”为关键词,在中国知网(CNKI)检索学术论文,筛选出利用外源 DNA 直接导入技术使受体物种变异的相关研究,并按受体物种类型和发表年度对论文数量进行统计(表 2,表 3)。统计结果显示,该技术自棉花和水稻中建立以来,已广泛应用于小麦、大豆、玉米等主要作物,并逐步延伸至蔬菜、水果、林木、花卉和药材等多类型植物。在供体 DNA 的来源方面,该技术的操作限制极小,来源选择具有高度灵活性。以小麦为例,已见报道的外源 DNA 除小麦本物种外,还涵盖野生一粒小麦(*Triticum monococcum*)、野生二粒小麦(*Triticum turgidum*)、提莫菲维小麦(*Triticum timopheevii*)、波兰小麦(*Triticum turgidum* subsp. *polonicum*)、硬粒小麦(*Triticum turgidum* subsp. *durum*)等近缘物种,燕麦、谷子(*Setaria italica*)、高粱、长穗偃麦草(*Elytrigia elongata*)、珍珠粟(*Pennisetum glaucum*)、玉米、稗草(*Echinochloa crus-galli*)、新疆大赖草等其它禾本科植物,豌豆(*Pisum sativum*)、紫鸭跖草(*Tradescantia pallida*)、银杏(*Ginkgo biloba*)等非禾本科植物,以及牛等动物来源 DNA 和 λ 噬菌体等微生物来源 DNA。综上,生物诱变技术的适用物种广泛,已出现跨植物、动物和微生物界应用的报道。值得肯定的是,该技术体系在我国的建立与发展过程中形成了鲜明的应用特色。

表 2 我国外源 DNA 直接导入技术研发及应用文献统计——以“外源 DNA 导入”为篇名检索词
Table 2 Research and application of direct exogenous DNA delivery technology in China: a literature survey using "exogenous DNA introduction" as title query

受体物种	1975–1980	1981–1985	1986–1990	1991–1995	1996–2000	2001–2005	2006–2010	2011–2015	2016–2025	总计
棉花	1	1	2	2	6	1	1			14
稻		1	3	21	13	5	5	1		49
大豆			3	15	10	7		1		36
小麦			2	10	16	16	6	1		51
花生			1	2	1	1	2			7
黄瓜				3		1	1			5
烟草				2	8	10				20
高粱				2	3	2	1			8
玉米				1	1	3	12	1		18
茄子				1						1
油菜				1						1
甜椒				1						1
亚麻					3			1		4
番茄					2	3	1	1		7
西瓜					2					2
人参					2					2
马铃薯					1					1
青菜					1					1
甘蔗					1					1
向日葵						1				1
燕麦						1				1
芝麻						1				1
冬瓜							1			1
总计	1	2	11	61	70	52	30	6	0	233

数据来源于中国知网,统计发表于学术期刊的外源 DNA 直接导入类论文数量。

表 3 我国外源 DNA 直接导入技术研发及应用文献统计——以“花粉管通道”为篇名检索词
Table 3 Research and application of direct exogenous DNA delivery technology in China: a literature survey using "pollen-tube pathway" as title query

受体物种	1986–1990	1991–1995	1996–2000	2001–2005	2006–2010	2011–2015	2016–2020	2021–2025	总计
稻	1	1	2	6	4				14
棉花		1	6	8	8	2			25
黄瓜		1			2				3
青椒		1							1
小麦			3	15	9	4	2		33
烟草			1	2					3
青菜			1						1

大豆	5	6						11
玉米	4	8	8	2	2			24
燕麦	2							2
高粱	2							2
番茄	1	2	1					4
花生	1		1					2
仙客来	1							1
甜瓜		3						3
番木瓜		2						2
大白菜		1	1					2
紫苜蓿		1	1					2
茶树		1						1
苹果		1						1
韭菜		1						1
野罂粟		1						1
拟南芥		1						1
杨树			1	1				2
蓖麻			1					1
百合			1					1
紫薇			1					1
核桃			1					1
亚麻			1					1
桑树			1					1
西瓜			1					1
铁皮石斛				1				1
芝麻				1				1
荔枝				1				1
萱草				1				1
石榴						1		1
狼尾草(						1		1
总计	1	4	13	47	51	26	9	155

数据来源于中国知网, 统计发表于学术期刊的花粉管通道转化相关论文数量。

4 外源 DNA 直接导入技术的迭代与发展

为强化外源 DNA 导入效果, 作者团队自 2000 年起开展了低能离子束辐照介导外源 DNA 通过浸胚法导入水稻、小麦的研究。离子束辐照对生物体具有质量、能量和电荷三种作用势, 引起生物体基因组 DNA 损伤, 诱导细胞对损伤 DNA 的修复, 产生物理诱变效应(余增亮等, 1991); 同时, 离子束辐照使细胞表面形成纳米级微通道, 并在微通道内积累正电荷, 助力带负电荷的外源 DNA 片段进入细胞, 并与受体基因组互作, 产生生物诱变效应。研究确定氮离子束(N^+)为离子源, 优化出协同诱变技术适宜参数: 种子接受 N^+ 脉冲照射, 能量为 25–30 keV, 剂量范围为 1×10^{17} – 3×10^{17} ions/cm²; 外源基因组 DNA 经超声破碎(400 W, 1 秒脉冲, 4 秒间隔, 500 次循环)处理; 将 N^+ 注入后的种子在含外源 DNA 的转化液中处理 24–36 小时, 转化液 DNA 浓度为 200–300 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 处理过程保持恒温 26°C。该参数组合可在细胞壁和细胞膜上产生足够通道, 促进外源遗传物质进入, 同时保证细胞具备足够的生存能力进行 DNA 重组、变异与修复, 相较于单因素诱变, 效率更高, 变异类型更丰富, 诱变效果更显著。通过蛋白质指纹图谱分析和同工酶标记技术, 在变异株系中检测到蛋白图谱变化、新酶带或酶带缺失, 从功能水平证实 DNA 变异可引发蛋白质表达谱改变(姬生栋等, 2001, 2003, 2009b, 2010b, 2010c); 对突变株后代进行 AFLP 分子标记和基因组高通量测序分析, 发现变异株基因组存在大量 SNP、InDel 突变及玉米 DNA 小片段插入(姬生栋等, 2009a, 2010a)。基于上述发现, 提出了离子束辐照水稻、小麦种子幼胚并介导外源 DNA 的物理-生物协同诱变效应理论(图 2), 建立了一套操作难度低、突变率高的生物诱变技术体系。

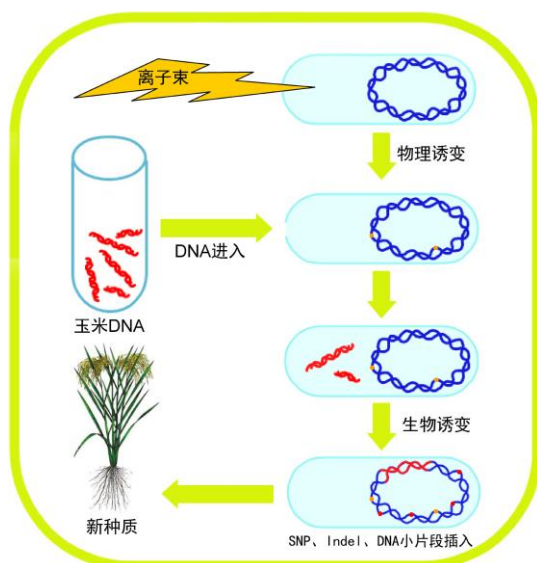


图2 离子束介导外源 DNA 直接导入细胞的作用模式。单一离子束诱变损伤大、正向突变率低；降低辐照剂量则诱变效果不佳。低辐照剂量结合介导外源 DNA 可产生物理-生物协同诱变效应，变异谱宽且类型丰富。

Figure 2 Pattern of ion beam-mediated direct delivery of exogenous DNA into cells

Single ion-beam mutagenesis causes severe damage and results in low positive mutation rates; reducing the irradiation dose leads to poor mutagenic effects. Combining low-dose irradiation with exogenous DNA-mediated delivery can produce physical-biological synergistic mutagenic effects, featuring a wide mutation spectrum and diverse mutation types.

随着现代基因工程及遗传转化技术的不断发展，外源 DNA 直接导入、重组载体转化与农杆菌介导转化等技术已呈现交叉融合的趋势。一方面，供体 DNA 类型已由早期以基因组 DNA 为主，迭代为现阶段以基因载体为主要形式。例如，通过花粉管通道法将春化相关基因 *ver203* 反义 RNA 载体导入小麦(Chong et al., 1998)，以及对新型抗虫基因 *Cry5Aa* 开展棉花中的遗传转化与功能鉴定(Zhao et al., 2021)。借助 DNA 直接导入技术将基因表达载体导入植物，有效弥补了传统基因组 DNA 直接导入技术重复性低、转基因后代表型预期性差等不足。另一方面，供体 DNA 的递送方式愈发多元化，既可采用裸露 DNA 直接导入，也可借助农杆菌介导实现转化。如为解决花生遗传转化效率低、重复性不佳的难题，有研究将携带报告基因表达载体的农杆菌通过花粉管注射法导入，获得 2.6% 的后代转化阳性率(Huang et al., 2024)。花粉管注射与农杆菌介导技术的融合应用，还可规避繁琐耗时的植物组织培养与植株再生程序(Alam, 2026)。近年来，纳米载体技术已成功地应用于植物遗传转化领域。该技术以磁性纳米颗粒等作为载体吸附外源目的 DNA，形成纳米颗粒-基因复合物，可突破植物细胞壁屏障，将外源 DNA 准确递送至细胞核或特定亚细胞器中，实现基因的瞬时或稳定转化(Kandhol et al., 2025)。花粉磁转染(pollen magnetofection)是该技术的典型应用策略，已在棉花中实现稳定转化(Zhao et al., 2017)：以磁性纳米粒子为 DNA 载体，在磁场辅助下将外源基因导入花粉，再利用这些花粉进行人工授粉，可直接获得转基因种子而无需经过组织培养环节。目前，该类技术的稳定性及适用作物范围仍在进一步优化与拓展中。

近 10–15 年间，围绕外源 DNA 直接导入的技术改良与体系构建方向的发文量整体呈下降趋势(表 2, 表 3)。我们认为其原因主要有两方面：其一，国内分子生物学实验条件日趋完备，研究热点逐步转向转化结果更为明确的载体介导遗传转化技术，外源 DNA 导入技术在此发展过程中获得了迭代升级；其二，随着植物遗传转化技术体系日渐成熟，研究重心由早期的方法摸索、体系建立，逐步过渡到机制解析与产业化落地研究。因此，相关研究发文量回落并非代表外源 DNA 直接导入技术被淘汰，而是随着其工具化属性的增强，其技术原理、操作流程已日趋成熟，同时与生物载体介导、纳米载体递送等技术交叉融合、协同发展。综上，外源 DNA 直接导入技术已融入现代分子生物学技术体系，成为植物基础研究及作物遗传改良的重要手段。

5 外源 DNA 直接导入技术的问题与思考

本文从理论与应用两方面，探讨外源 DNA 直接导入技术的特点，并分析其中的关键问题。在理论层面，尽管外源 DNA 直接导入技术自 20 世纪 70 年代建立以来已应用多年，但在转化机理方面仍存在诸多未解之谜。其一，外源 DNA 如何穿越受体的细胞壁、细胞膜、细胞质与核膜，最终进入细胞核？其二，外源 DNA 片段进入细胞核后，究竟是通过何种机制整合至受体基因组？其三，除已知的基因转移与生物诱变效应，是否还存在其它因素(如基因组扰动现象)引发受体生物性状变异(Song et al., 2026)？其四，供体生物中被转移的 DNA 序列、受体生物基因组中被整合或发生诱变的位点，其分布是完全随机的，还是存在特定偏

好性(如特定碱基序列或染色体区域)? 针对上述问题, 前人虽提出过多种假说, 如 DNA 片段杂交假说、基因转移与生物诱变双重作用假说, 以及外源 DNA 在胞内形成 B 染色体假说等, 同时作者团队也提出了“DNA 直接诱变”假说(即以异源基因组 DNA 为诱变源, 经特定生物递送方法导入受体引发可遗传变异), 但这些理论均缺乏系统、深入的机理验证及理论支撑。厘清这些机理问题不仅具有重要的研究价值——有助于进一步揭示 DNA 水平转移等关键生命科学问题的本质, 还能为其应用提供指导, 助力高效种质创制新技术的研发与优化。

在应用层面, 外源 DNA 直接导入技术凭借其独特优势, 在生物育种等领域展现出广泛的应用潜力, 该技术具有 4 个核心特点。(1) 可实现跨物种分子杂交, 使遗传物质能够在植物、动物和微生物之间交流, 突破传统育种技术的物种壁垒, 突破常规育种的性状边界, 产生超出预期的全新变异类型。(2) 以植株内的卵、合子、早期胚细胞或生长点组织为受体材料, 转化后可自然发育再生为新个体, 无需经历复杂的组织培养流程, 可大幅降低实验成本, 有效解决部分再生困难物种的转化难题。尤其针对研究基础薄弱、缺乏成熟遗传转化体系的“孤儿”作物, 是一种简便的备选方案; 统计数据显示, 近年来该技术的应用范围正逐渐向小众经济作物或特色作物扩展(表 2, 表 3)。(3) 可导入供体总 DNA, 转移其有利性状, 无需对目标性状基因进行筛选与克隆; 同时, 仅部分 DNA 片段发生转移, 便于在改造现有品种个别目标性状的同时, 最大程度保留其原有优良性状。(4) 总 DNA 导入技术的突出缺点为后代变异重复性差、转化效率不稳定, 且对操作条件较敏感。随着现代分子生物学技术的快速发展, 该技术常与生物法介导的 DNA 导入技术联合应用, 以提高性状变异的预期性并改善转化效率, 现已成为植物基础理论与应用研究的重要工具之一。

作者贡献声明

崔晓睿: 收集、整理和统计结果, 参与撰写和修改; 周静, 姬汉轩, 杨志莹: 收集、整理和统计结果; 丰柳春, 桑世飞, 常英英, 袁金红, 王书玉: 参与修改; 姬生栋: 构思、指导撰写及修改; 李俊华: 构思、撰写初稿和修改, 提供资金支持。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突

Conflict of Interests: The authors declare that there is no conflict of interests

©The author(s) 2026. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

参考文献

- 段晓岚, 陈善葆 (1985). 外源 DNA 导入水稻引起性状变异. 中国农业科学 **18**(03), 6–11.
- 冯世康, 陈成斌, 黄勇, 李道远, 陶美贞 (1992). 特异稻种桂 D1 号的高光效特性. 广西农业科学 (04), 151–152.
- 龚蓁蓁 (2007). 植物“分子育种”的创始人——周光宇. 生命科学 **19**, 254–256.
- 郭丹丹 (2014). 玉米 DNA 诱导的水稻变异材料生殖细胞遗传分析. 硕士论文. 新乡: 河南师范大学. pp. 25.
- 何晓玲, 刘鹏程, 马伯军, 陈析丰 (2022). 基于 CRISPR/Cas9 的基因编辑技术研究进展及其在植物中的应用. 植物学报 **57**, 508–531.
- 黄国存, 董越梅, 孙敬三 (1998). 以 GFP 为标记用花粉管通道途径导入外源 DNA. 科学通报 **43**, 2531–2533, 2533.
- 黄骏麒, 钱思颖, 刘桂玲, 翁坚, 曾以申, 周光宇 (1981). 外源海岛棉 DNA 导致陆地棉性状的变异. 遗传学报 **8**, 56–62, 103.
- 黄骏麒, 钱思颖, 刘桂玲, 翁坚, 曾以申, 周光宇 (1982). 外源海岛棉 DNA 诱导中棉性状的变异. 江苏农业科学 (11), 18–20, 49.
- 吉林省农科院大豆所生物技术室 (1990). 外源 DNA 导入栽培大豆引起性状变异简报. 吉林农业科学 (02), 29.
- 姬生栋, 陈鹏, 王加传, 袁召, 岳春辉, 王知丰 (2009a). 离子束介导玉米 DNA 的水稻变异后代 AFLP 分析. 核农学报 **23**, 197–202.
- 姬生栋, 李吉学, 赵俊杰, 徐存拴, 秦广雍, 王卫东, 霍裕平 (2001). 低能离子束介导转基因小麦叶片蛋白指纹分析. 麦类作物学报 **21**(04), 52–55.
- 姬生栋, 秦广雍, 耿飒, 夏民, 朱晓鹏, 徐存拴, 霍裕平 (2003). 低能离子束介导大豆 DNA 的小麦雄性不育变异体蛋白水解酶分析. 作物学报 **29**, 797–800.

- 姬生栋, 王加传, 岳春辉, 陈鹏, 袁召 (2009b). 离子束介导大豆 DNA 的小麦变异株系蛋白水解酶谱分析. 中国种业 (02), 47–49.
- 姬生栋, 王知丰, 王聪睿, 岳春晖, 陈鹏, 朱德来, 王海莎, 侯磊磊 (2010a). 离子束介导的水稻早熟变异株系 AFLP 分析. 核农学报 24, 895–900.
- 姬生栋, 袁召, 王书玉, 薛应征, 岳春晖, 王知丰, 陈鹏, 王海莎, 侯磊磊, 朱德来 (2010b). 离子束介导玉米 DNA 影响水稻幼苗根系蛋白水解酶的表达. 中国生物化学与分子生物学报 26, 442–447.
- 姬生栋, 袁召, 岳春晖, 陈鹏, 王加传, 王知丰, 王海莎, 朱德来, 侯磊磊 (2010c). N⁺介导对水稻幼苗中性蛋白水解酶表达的影响. 河南农业科学 39(05), 23–25, 29.
- 雷勃钧, 李希臣, 卢翠华, 钱华, 周思君, 谢纬武, 王斌 (1994). 外源野生大豆 DNA 导入栽培大豆及 RAPD 分子验证. 中国科学(B 辑 化学 生命科学 地学) 24, 596–601.
- 雷勃钧, 钱华, 李希臣, 卢翠华, 周思君, 韩玉琴, 刘昭军, 刘广阳, 杨兴勇, 董全中, 赵凯, 赫世涛 (2000). 通过直接引入外源 DNA 育成高产、优质、高蛋白大豆新品种黑生 101. 作物学报 26, 725–730.
- 雷勃钧, 尹光初, 钱华, 卢翠华, 张开旺, 周思君 (1990). 大豆 DNA 直接导入茄子和玉米实验简报. 大豆科学 9, 262–263.
- 李俊华, 姬汉轩, 关世丽, 桑世飞, 朱红彩, 王思维, 王棋文, 丰柳春, 袁金红, 郑阳阳, 王书玉, 姬生栋 (2025). 水稻物理-生物协同诱变联合分子标记辅助育种技术体系的构建与应用. 种业导刊 (02), 33–37.
- 刘春林, 洪亚辉, 赵燕, 任春梅, 董延瑜 (1994). DNA 浸泡法所获水稻优良株系酯酶同工酶分析. 湖南农学院学报 20, 527–529.
- 刘春林, 阮颖, 董延瑜 (1999). DNA 浸泡水稻种子的分子和亚显微水平研究. 中国水稻科学 13, 54–56.
- 刘萍, 康振生 (2006). 燕麦 DNA 导入普通小麦变异观察及 RAPD 分子验证. 干旱地区农业研究 24(03), 100–103.
- 罗洪发, 杨正林, 钟秉强, 李云峰, 何光华 (2005). 外源 DNA 导入水稻后代变异性的 SSR 分析. 中国农学通报 21(07), 28–30, 381.
- 马晓莉 (1999). 反义 RNA 及其应用研究进展. 安徽教育学院学报(自然科学版) 86(02), 75–78.
- 倪万潮, 张震林, 郭三堆 (1998). 转基因抗虫棉的培育. 中国农业科学 31(02), 8–13.
- 宋刘敏 (2019). 玉米 DNA 诱导水稻变异机理研究. 硕士学位论文. 新乡: 河南师范大学. pp. 17–31.
- 宋伟, 孙兰珍, 赵爱红, 刘青 (2004). 外源 DNA 导入普通小麦变异后代有色小麦的营养品质分析和验证. 西北植物学报 24, 966–970.
- 万文举, 邹冬生, 彭克勤 (1992). 论生物诱变——外源 DNA 导入的双重作用. 湖南农学院学报 18, 886–891.
- 王雷, 种康, 许智宏 (2003). 植物功能基因组学研究的有效工具——RNAi 技术. 植物生理学通讯 39, 705–710.
- 王联芳, 傅荣昭, 赵世绪 (1995). 水稻成熟种子萌发过程中胚细胞壁通道的形成. 北京农业大学学报 21, 17–18.
- 翁坚, 沈慰芳, 王自芬, 陈克勤, 杨晚霞, 龚蓁蓁, 曾以申, 周光宇, 黄骏麒, 钱思颖, 刘桂玲 (1984). 外源 DNA 导入棉花的分子验证. 生物化学与生物物理学报 16, 325–327.
- 肖军, 张立军, 任志莹, 陈珣, 肇莹 (2008). 通过花粉管通道导入外源 DNA 获得抗盐番茄新品系. 沈阳农业大学学报 39, 362–364.
- 谢道昕, 范云六, 倪万潮, 黄骏麒 (1991). 苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)杀虫晶体蛋白基因导入棉花获得转基因植株. 中国科学: B 辑 (4), 7.
- 邢永忠 (1996). 遗传工程水稻的分子遗传研究. 硕士学位论文. 长沙: 湖南农业大学. pp. 1.
- 杨大翔 (1995). 植物分子育种漫谈. 福建农业科技 (02), 24–25.
- 杨景成, 于元杰, 齐延芳, 沈法富, 刘凤珍 (2000). 小麦 D 型细胞质雄性不育系与保持系叶绿体 DNA 的 RAPD 分析. 核农学报 14, 264–267.
- 杨琳, 王金发 (2000). 植物基因工程中的转座子标签. 生物技术 10, 22–27.

- 杨前进 (2006). 用浸胚法将外源 DNA 导入水稻的研究进展. 安徽农业科学 **34**, 6452–6454.
- 于元杰, 尹承侑, 杨欣同, 程立, 张德水 (1992). 牛胸腺 DNA 引入普通小麦(*T. aestivum*)导致性状变异的研究及细胞学观察. 山东农业大学学报 **23**, 213–220.
- 余增亮, 邱励俭, 霍裕平 (1991). 离子注入生物效应及育种研究进展. 安徽农学院学报 **4**, 251–257.
- 曾君祉, 王东江, 吴有强, 张健, 周文娟, 朱小平, 徐乃正 (1993). 用花粉管途径获得小麦转基因植株. 中国科学(B辑 化学 生命科学 地学) **23**, 256–262.
- 张继余, 郭三堆 (1998) “863”计划转基因抗虫棉 GK-12 的选育与应用. 北京: 中国农业出版社.
- 张茂银, 刘庆昌, 王子霞, 赵明安, 缪军, 海热古丽, 杨克锐, 杨松杰, 顾爱星 (2000). 用花粉管通道法将新疆大赖草 DNA 导入普通小麦的研究. 农业生物技术学报 **8**, 165–168.
- 张梅芳, 张景六 (2002). 插入含 Ds 因子的 T-DNA 产生的水稻脆秆突变株的遗传和分子分析. 植物生理与分子生物学学报 **28**, 111–116.
- 张伟成, 严文梅, 单双健, 高小彦 (1992). 小麦原胚对外源大分子与不透膜物质的摄入. 植物学报 **34**, 325–328, 405.
- 张学文, 唐湘如, 董延瑜 (1994a). 外源 DNA 完全酶解成分在水稻浸胚法导入中的诱变作用. 湖南农学院学报 **20**, 535–537, 556.
- 张学文, 赵燕, 董延瑜, 洪亚辉, 任春梅 (1994b). 水稻浸胚法外源 DNA 导入过程中 DNA 分子降解研究. 湖南农学院学报 **20**, 407–411.
- 周光宇 (1978). 从生物化学的角度探讨远缘杂交的理论. 中国农业科学 **11**(02), 16–20.
- 周光宇, 龚蓁蓁, 王自芬 (1979). 远缘杂交的分子基础——DNA 片段杂交假设的一个论证. 遗传学报 **6**(04), 405–413.
- 周光宇, 翁坚, 龚蓁蓁, 曾以申, 杨晚霞, 沈慰芳, 王自芬, 陶全洲, 黄骏麒, 钱思颖, 刘桂玲, 应苗成, 薛达元, 洪爱华, 徐英俊, 陈善葆, 段晓岚 (1988). 农业分子育种授粉后外源 DNA 导入植物的技术. 中国农业科学 **21**(03), 1–6.
- 周静 (2021) 水稻突变体“RMIM92”遗传变异分析. 硕士论文. 新乡: 河南师范大学. pp. 17.
- 周静, 姬汉轩, 王君怡, 王思媛, 曹梦雨, 王亚男, 闻健, 李万昌, 桑世飞, 姬生栋 (2020). 优质抗病水稻新品种宏稻 59 选育与应用. 种子 **39**(11), 133–136, 167.
- Alam T (2026). Advances in tissue culture-free genetic engineering and genome editing of peanut. *Mol Biotechnol* **68**, 1684–1698.
- Aluko OO, Ninkuu V, Liu Z, Qin A, Liu H, Yang J, Hu M, Ma X, Sun X (2025). Recent advances in cotton transformation and genome editing techniques: The prospects and challenges. *Modern Agric* **3**, e70014.
- Chong K, Bao SL, Xu T, Tan KH, Liang TB, Zeng JZ, Huang HL, Xu J, Xu ZH (1998). Functional analysis of the *ver* gene using antisense transgenic wheat. *Physiol Plant* **102**, 87–92.
- Gong Z, Shen W, Zhou G, Huang J, Qian S (1988). Introducing exogenous DNA into plants after pollination——DNA traverse pathway of pollen tube to reach embryonic sac. *Sci China Ser B* **31**, 1080–1084, 1153–1155.
- Hess D (1980). Investigations on the intra- and interspecific transfer of anthocyanin genes using pollen as vectors. *Int J Plant Physiol* **98**, 321–337.
- Huang C, Yang C, Yang H, Gong Y, Li X, Li L, Li L, Liu X, Li X (2024). Systematic investigation and validation of peanut genetic transformation via the pollen tube injection method. *Plant Methods* **20**, 190.
- Kandhol N, Dash PK, Singh VP, Deshmukh R, Dhankher OP, Tran LP, White JC, Tripathi DK (2025). Nanomaterial-based gene delivery in plants: an upcoming genetic revolution? *Trends Plant Sci* **30**, 1251–1261.
- Ledoux L, Huart R (1969). Fate of exogenous bacterial deoxyribonucleic acids in barley seedlings. *J Mol Biol* **43**, 243–262.
- Ohta Y (1986). High-efficiency genetic transformation of maize by a mixture of pollen and exogenous DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* **83**, 715–719.
- Song B, Choi S, Kong L, Kim SI, Fliegmann J, Li X, Gao Y, DeFalco TA, Hu M, Li M, Zhao Y, Wang H, Ma S, Shan L, Nürnberger T, He P, Zipfel C, Zhou JM (2026). New

- alleles of *Arabidopsis BIK1* reinforce its predominant role in pattern-triggered immunity and caution interpretations of other reported functions. *Nat Plants* **12**, 284–293.
- Zhao S, Wang F, Zhang Q, Zou J, Xie Z, Li K, Li J, Li B, He W, Chen J, He Y, Zhou Z (2021). Transformation and functional verification of *Cry5Aa* in cotton. *Sci Rep* **11**, 2805.
- Zhao X, Meng Z, Wang Y, Chen W, Sun C, Cui B, Cui J, Yu M, Zeng Z, Guo S, Luo D, Cheng JQ, Zhang R, Cui H (2017). Pollen magnetofection for genetic modification with magnetic nanoparticles as gene carriers. *Nat Plants* **3**, 956–964.
- Zhou G, Weng J, Zeng Y, Huang J, Qian S, Liu G (1983). Introduction of exogenous DNA into cotton embryos. *Methods Enzymol* **101**, 433–481.

Research Advances, Challenges, and Reflections on Direct Introduction Technology of Exogenous DNA into Plants in China

Xiaorui Cui¹, Jing Zhou¹, Hanxuan Ji², Liuchun Feng¹, Shifei Sang¹, Yingying Chang¹, Zhiying Yang¹, Jinhong Yuan¹, Shuyu Wang³, Shengdong Ji^{1*}, Junhua Li^{1*}

¹Engineering Research Center of Crop Genetic Improvement and Germplasm Innovation in Henan Province / College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China; ²Henan Medical University, Xinxiang 453000; ³Rice Research Institute of Xinxiang Academy of Agricultural Sciences, Xinxiang 453002

Abstract Sexual cross breeding is increasingly restricted by narrow genetic bases. Since the 1970s, to break the barriers of distant sexual hybridization and overcome the high technical threshold of early genetic engineering, Chinese researchers have independently developed the technology for direct introduction of exogenous DNA into plants and put forward theoretical explanations including the DNA fragment hybridization hypothesis. Among relevant techniques, the pollen-tube pathway method and embryo soaking method have become well-established. They feature no requirement for plant tissue culture, low equipment demand and high ecological safety, and have been applied to the genetic improvement of cotton, rice, wheat, maize, soybean, fruits and vegetables, forest trees, medicinal plants and other crops. Verified by multiple approaches such as isotope tracing, molecular hybridization, molecular markers, reporter gene detection and high-throughput sequencing, exogenous DNA can not only achieve the interspecific integration of heterologous DNA fragments after entering recipient cells, but also act as a biological mutagen to induce extensive genomic variations. Relying on this technology, our research team has created hundreds of distinctive crop germplasms and developed new rice varieties including Yudao 518. At present, this technology has been integrated with recombinant vector transformation, *Agrobacterium*-mediated transformation, nanocarrier delivery and other techniques, and has become an important tool for fundamental plant research and germplasm innovation.

Key words exogenous DNA, pollen-tube pathway, embryo-soaking method, crop genetic improvement

Cui XR, Zhou J, Ji HX, Feng LC, Sang SF, Chang YY, Yang ZY, Yuan JH, Wang SY, Ji SD, Li JH (2026). Research advances, challenges, and reflections on direct introduction technology of exogenous DNA into plants in China. *Chin Bull Bot* **61**, 1–12.

* Authors for correspondence. E-mail: jisd99@126.com; lijh@htu.cn

(责任编辑: 白羽红)

通讯作者/团队简介

姬生栋, 教授级高级实验师, 硕士生导师, 河南省作物遗传改良与种质创新工程研究中心主任。主持国家重大专项子课题、国家重点研发计划子课题等项目; 选育通过国审及省审水稻新品种 4 个, 获国家植物新品种授权 16 项, 荣获河南省科技进步一等奖、二等奖共计 5 项。

李俊华, 教授, 博士生导师, 《植物学报》青年编委。主持国家自然科学基金、人社部留学人员科技活动项目择优资助、教育部留学回国人员科研启动基金等项目, 发表论文 40 余篇。团队主要研究方向: 水稻远缘分子杂交新种质创制技术; 作物生殖、逆境响应等重要农艺性状的遗传机理解析。