

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202502016

朱荣香, 刘玉红, 李洁维, 等, 2025. 基于 CRISPR/Cas9 的猕猴桃性状改良: 精准育种策略与挑战 [J]. 广西植物, 45(3): 438–449.

ZHU RX, LIU YH, LI JW, et al., 2025. Kiwifruit trait improvement via CRISPR/Cas9: Precision breeding strategies and challenges [J]. *Guihaia*, 45(3): 438–449.

基于 CRISPR/Cas9 的猕猴桃性状改良: 精准育种策略与挑战

朱荣香¹, 刘玉红², 李洁维¹, 叶开玉¹, 刘翠霞¹, 夏黎明¹,
龚弘娟¹, 齐贝贝¹, 高建有¹, 蒋桥生¹, 王发明^{1*}

(1. 广西壮族自治区 广西植物研究所, 广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室, 广西 桂林 541006;
中国科学院
2. 桂林市农业科学研究中心, 广西 桂林 541006)

摘要: 基因编辑技术的快速发展为猕猴桃 (*Actinidia* spp.) 的精准育种提供了革命性工具。该文系统综述了 CRISPR/Cas9 技术在猕猴桃性状改良中的多维应用及其策略与挑战。基于高质量基因组资源 (如中华猕猴桃端粒到端粒无间隙参考基因组) 与高效遗传转化体系 (如无标记农杆菌转化系统), 研究者在果实品质、抗病性及株型调控等领域取得了突破性进展: 通过靶向编辑 *AcNAC1*、*bZIP* 及 *MYB/bHLH* 复合体等关键基因, 实现了柠檬酸含量降低、维生素 C 合成增强与花青素积累优化; 采用宿主-病原体双向策略, 强化 *AcCBL3* 介导的草酸钙屏障, 并干扰病原菌 *hopA1* 毒力基因, 显著提升抗病效率; 通过敲除 *CEN-like*、*AcFLC-like* 基因, 创制出紧凑株型与非冷依赖萌芽新种质。采后生理研究揭示了乙烯信号通路 with 细胞壁降解酶系的协同调控网络, 为延长货架期提供分子靶标。尽管多倍体编辑复杂性及转基因监管争议仍然存在挑战, 但多组学整合与合成生物学工具的介入, 正推动着猕猴桃育种从单基因操作向代谢通路重编程跨越。随着全球对无外源 DNA 编辑品种的政策松绑, 基于 CRISPR/Cas9 的猕猴桃分子设计育种将迎来产业化发展的重要机遇期。此外, 该文还进一步探讨了技术优化路径与未来研究方向, 为加速猕猴桃突破性品种选育提供了理论框架。

关键词: 猕猴桃育种, CRISPR/Cas9 基因编辑, 全基因组测序, 分子设计育种, 果实品质改良

中图分类号: Q943 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2025)03-0438-12

Kiwifruit trait improvement via CRISPR/Cas9: Precision breeding strategies and challenges

ZHU Rongxiang¹, LIU Yuhong², LI Jiewei¹, YE Kaiyu¹, LIU Cuixia¹, XIA Liming¹,
GONG Hongjuan¹, QI Beibei¹, GAO Jianyou¹, JIANG Qiaosheng¹, WANG Faming^{1*}

收稿日期: 2025-02-17 接受日期: 2025-03-05

基金项目: 广西科技重大专项 (桂科 AA23023008); 国家现代农业产业技术体系“广西落叶果树产业创新团队”项目 (nyctxgxcxtd-2023-13-01); 广西植物研究所基本业务费项目 (桂植业 24007); 广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室项目 (ZRJJ2023-3)。

第一作者: 朱荣香 (1993—), 博士, 主要从事园艺植物 CRISPR 基因编辑育种研究, (E-mail) zrx@gxib.cn。

***通信作者:** 王发明, 博士, 研究员, 主要从事园艺植物分子育种研究, (E-mail) wfm_rz@163.com。

- (1. Guangxi Key Laboratory of Plant Functional Phytochemicals and Sustainable Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, Guangxi, China;
2. Guilin Agricultural Science Research Center, Guilin 541006, Guangxi, China)

Abstract: The rapid advancement of gene editing technologies has revolutionized precision breeding in kiwifruit (*Actinidia* spp.). This review systematically summarizes the multidimensional applications, strategies, and challenges of CRISPR/Cas9 technology in kiwifruit trait improvement. Leveraging high-quality genomic resources, such as the telomere-to-telomere gapless reference genome of *A. chinensis*, and efficient genetic transformation systems like marker-free *Agrobacterium*-mediated methods, researchers have achieved breakthroughs in fruit quality, disease resistance, and plant architecture regulation. Key advancements include: targeted editing of *AcNAC1*, *bZIP* and *MYB/bHLH* complexes to reduce citrate content, enhance vitamin C biosynthesis, and optimize anthocyanin accumulation; a host-pathogen dual-targeting strategy that strengthens the *AcCBL3*-mediated calcium oxalate barrier and disrupts the *hopAI1* virulence gene in pathogens, significantly improving disease resistance; and knockout of *CEN-like* and *AcFLC-like* genes to develop compact plant architecture and non-cold-independent budbreak germplasms. Postharvest studies have elucidated synergistic regulatory networks between ethylene signaling and cell wall hydrolases, offering molecular targets for shelf-life extension. Despite challenges such as polyploid editing complexity and transgenic regulatory controversies, the integration of multi-omics and synthetic biology tools is advancing kiwifruit breeding from single-gene manipulation to metabolic pathway reprogramming. With global regulatory relaxation for foreign DNA-free edited varieties, CRISPR/Cas9-based molecular design breeding will usher in an important opportunity period of industrial development. In addition, this review further outlines technical optimization pathways and future research priorities, providing a theoretical framework for accelerating the breakthrough breeding of kiwifruit cultivars.

Key words: kiwifruit breeding, CRISPR/Cas9 gene editing, whole genome sequencing, molecular design breeding, fruit quality improvement

猕猴桃 (*Actinidia* spp.) 作为典型的多年生藤本果树, 其果实因独特的风味特征和突出的营养价值而成为全球重要的商品化水果。然而, 猕猴桃的遗传改良长期面临多种生物学挑战: 其一, 高度杂合的基因组特性 (染色体基数 $x = 29$, 存在二倍体至十倍体种质) 导致性状遗传规律复杂 (Han et al., 2023; Yu et al., 2025); 其二, 童期长达 3 年至 6 年, 显著延缓育种进程 (Ferguson & Huang, 2007); 其三, 溃疡病等生物胁迫与气候变化导致的非生物胁迫交互影响, 威胁产业可持续发展 (Gao et al., 2025)。虽然传统杂交育种已取得系列成果, 但由于种质资源匮乏和表型选择效率低下, 因此难以满足市场对果实品质、抗逆性和栽培适应性的多维需求。基因编辑技术的突破为果树育种提供了跨越式发展机遇。CRISPR/Cas9 系统凭借其精准性、高效性和多靶点编辑能力, 在本作物中展现出独特优势: 通过靶向关键功能基因可实现性状的定向改良, 同时避免外源基因插入引发的生物安全争议。全球主要农业国家加速建立基因编辑作物的分类管理制度, 其中日本、巴

西、澳大利亚等 14 个国家已明确对无外源 DNA 的编辑植株实施与传统育种品种等同的监管政策 (Entine et al., 2021), 这为猕猴桃分子设计育种的产业化提供了制度保障。

当前研究急需解决的核心科学问题在于: 建立适配猕猴桃生物学特性的基因编辑技术体系, 解析复杂农艺性状的分子调控网络, 以及实现多性状协同改良的精准设计。本文系统综述 CRISPR/Cas9 技术在猕猴桃育种中的最新研究进展, 重点探讨基因组资源建设、性状改良策略和技术转化路径之间的协同关系。通过整合多组学数据与合成生物学工具, 揭示从基因编辑到表型输出的调控规律, 为加速猕猴桃突破性品种选育提供理论框架和技术路线。

1 CRISPR/Cas9 技术演进及其在果树中的适用性

CRISPR/Cas9 技术起源于细菌和古细菌的适

应性免疫系统,其技术成熟与应用拓展经历了多个关键发展阶段(图1)。1987年,科学家首次发现CRISPR(规律成簇间隔短回文重复序列),但其功能直至2005—2007年才被揭示:CRISPR包含病毒序列,并依赖Cas基因实现免疫防御;CRISPR-Cas被证实为细菌的适应性免疫机制,为后续基因编辑技术奠定理论基础(Barrangou et al., 2007)。Jinek等(2012)研究确认CRISPR-Cas9是RNA引导的DNA核酸内切酶,通过crRNA:tracrRNA双链引导实现靶向DNA双链断裂,标志着其正式成为高效基因编辑工具,这一机制如图2所示(Wang T et al., 2019)。2013年,该技术首次成功应用于人类细胞(Cong et al., 2013),开启了精准基因组编辑的新纪元。此后,技术持续迭代:2013—2015年,开发碱基编辑(BE)(Komor et al., 2016);2016—2018年,推进先导编辑(PE)及CRISPR-Cas13系统(Anzalone et al., 2019);2019—2020年,CRISPR-Cas9获诺贝尔化学奖(Doudna & Charpentier, 2014);2022年后,更聚焦于递送系统优化和植物基因编辑应用(Javaid et al. 2022)。

CRISPR/Cas9技术在果树中的适用性得益于其精准性、多靶点编辑能力以及对复杂基因组的适应性,该技术已成功应用于柑橘、葡萄、苹果、猕猴桃等果树。例如,通过编辑柑橘*CsLOB1*基因,显著增强其对溃疡病的抗性(Zhou et al., 2020; Ma et al., 2023);在葡萄中靶向*MLO*基因,提高霉菌抗性,并优化分枝结构(Wan et al., 2020);而苹果*MdTFL1*基因的编辑使开花时间提前,缩短育种周期(Charrier et al., 2019)。在猕猴桃中,基因编辑体系的建立得益于其遗传转化技术的突破。例如,Li PW等(2024)通过农杆菌介导的无标记转化系统,成功编辑了与钙草酸晶体形成相关的*AeCBL3*基因,为猕猴桃基因功能研究提供了高效工具。在技术优化方面,基于CRISPR的碱基编辑器(base editor)和先导编辑器(prime editor)已在苹果、柑橘中实现单核苷酸精准替换。例如,通过胞嘧啶脱氨酶融合Cas9n(D10A)在苹果*MdPG1*位点引入无痕突变,降低果实软化速率(Ma et al., 2023);此外,Wang等(2018)通过优化双sgRNA/Cas9表达盒,显著提高了猕猴桃多基因编辑效率,为复杂性状的协同改良奠定了基础。

2 猕猴桃基因组资源与CRISPR/Cas9应用的基础

猕猴桃基因组的解析是CRISPR/Cas9技术精准应用的前提。近年来,随着测序技术的突破和组学数据的积累,猕猴桃基因组资源已形成多层次、多物种的完整体系,为基因功能研究和编辑靶点挖掘提供了坚实基础。

Huang等(2013)首次报道了猕猴桃的基因组草图,为后续研究奠定了基础;Wu等(2019)利用PacBio HiFi测序技术和Hi-C技术对中华猕猴桃进行重新测序和组装,获得了高质量的基因组序列。随后,Xia等(2023)对自然二倍体美味猕猴桃(*Actinidia chinensis* var. *deliciosa*)进行了染色体尺度组装,发现与果实硬度相关的果胶代谢基因簇(如PME和PG)的拷贝数变异,为果实质地改良提供了靶点。Yue等(2023)进一步完成了中华猕猴桃的端粒到端粒(T2T)无间隙组装,解决了着丝粒和端粒等复杂区域的序列空缺问题,显著提升CRISPR/Cas9靶向设计的准确性。Yao等(2022)对毛花猕猴桃(*A. eriantha*)的全基因组测序发现,其特有的抗溃疡病相关基因(如NBS-LRR家族)在驯化过程中部分丢失,提示可通过CRISPR/Cas9重新引入这些基因,以增强栽培品种的抗性。Yu等(2023)通过全基因组测序研究了两个猕猴桃物种毛花猕猴桃(*A. eriantha*)和长叶猕猴桃(*A. hemsleyana*)之间的生殖隔离机制,包括染色体倒位和基因家族的变化,为利用基因编辑打破生殖隔离、拓宽遗传多样性提供了理论依据。

此外,还有多种其他猕猴桃种类或品种完成了高水平全基因组测序,如‘Red5’猕猴桃(*A. chinensis*)(Pilkington et al., 2018)、毛花猕猴桃(*A. eriantha*)(Tang et al., 2019; Yao et al., 2022; Liao et al., 2023; Wang et al., 2023)、六倍体美味猕猴桃(*A. deliciosa*)(Liu YB et al., 2024)、“东红”猕猴桃(*A. chinensis*)(Han et al., 2023)、阔叶猕猴桃(*A. latifolia*)(Han et al., 2023)、软枣猕猴桃(*A. arguta*)(Lu et al., 2024; Zhang et al., 2024)、长叶猕猴桃(*A. hemsleyana*)(Yu et al., 2023)、浙江猕猴桃(*A. zhejiangensis*)(Yu et al., 2023)、山梨猕猴桃(*A. rufa*)(Akagi et al., 2023; Li

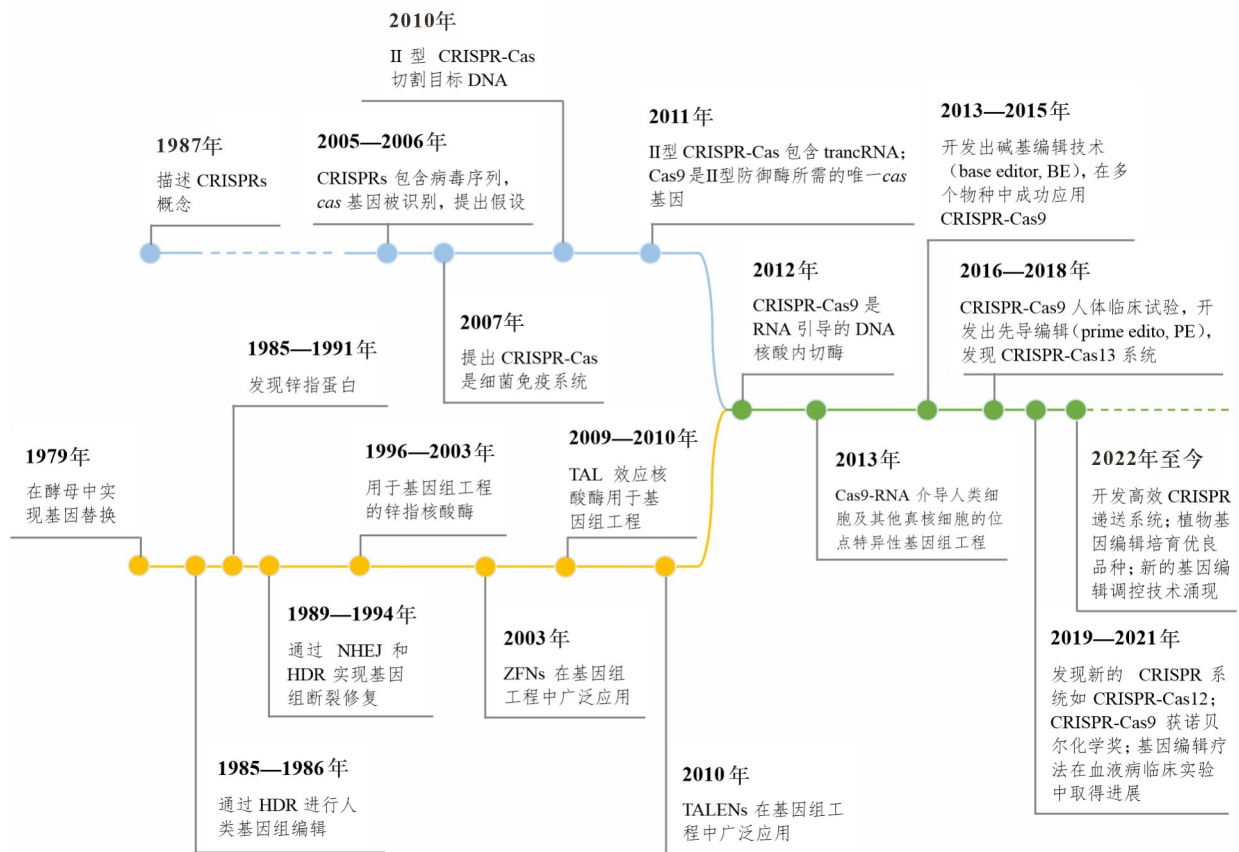


图 1 CRISPR 技术的发展历程 (部分内容引自 Doudna & Charpentier, 2014)

Fig. 1 Timeline of CRISPR technology development (partially adapted from Doudna & Charpentier, 2014)

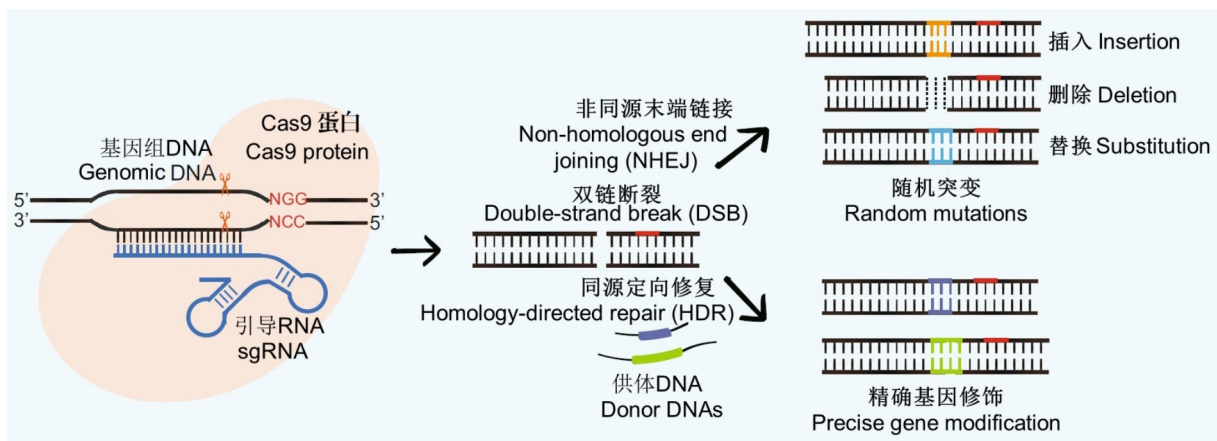


图 2 CRISPR/Cas9 介导的基因组编辑示意图

Fig. 2 Schematic illustration of CRISPR/Cas9-mediated genome editing (Wang T et al., 2019)

XL et al., 2024)、葛枣猕猴桃 (*A. polygama*) (Akagi et al., 2023; Li XL et al., 2024)、长果猕猴桃 (*A. longicarpa*) (Li XL et al., 2024)、大籽猕猴桃 (*A. macrosperma*) (Li XL et al., 2024)、网脉猕猴桃 (*A. reticulata*) (Li XL et al., 2024) 和黑蕊猕猴桃 (*A. melanandra*) (Hemara et al., 2025) 等。此外, Yu 等 (2025) 利用 8 个猕猴桃物种的 15 个高质量基因组组装生成了猕猴桃泛基因组。越来越多的高质量猕猴桃全基因组测序的完成及其功能基因挖掘为 CRISPR/Cas9 基因编辑提供了丰富的靶点信息。各品种/种类的相关信息详如表 1 所示。

基因组资源的丰富性需与高效的遗传转化技术结合才能实现编辑应用。Li PW 等 (2024) 开发的农杆菌介导无标记转化系统, 通过利用发根农杆菌 (*Agrobacterium rhizogenes*) 的 Ri 质粒替代传统双元载体, 成功实现了猕猴桃根系的稳定编辑, 并且无需抗生素筛选标记。这一技术尤其适用于编辑与根系发育或抗逆性相关的基因 (如 *AeCBL3*)。另外, 通过优化双 sgRNA/Cas9 克隆策略和表达盒, 显著提高了突变频率和多靶点编辑效率 (Wang et al., 2018)。这些技术突破使得猕猴桃成为少数可实现高效多靶点编辑的多年生果树之一。

综上所述, 猕猴桃基因组资源的系统化建设与编辑技术的协同创新, 为 CRISPR/Cas9 驱动的分

3 CRISPR 技术在猕猴桃果实品质改良中的应用

3.1 有机酸代谢调控

果实风味是猕猴桃商品化的重要指标, 其中柠檬酸含量直接影响果实的酸甜平衡。通过 CRISPR/Cas9 靶向敲除 NAC 转录因子基因 *AcNAC1*, 发现突变体果实中柠檬酸含量显著降低, 同时伴随乙烯合成相关基因的上调。Fu 等 (2023) 的研究不仅揭示了 *AcNAC1* 在柠檬酸代谢中的核心作用, 而且还为通过基因编辑定向调控果实风味提供了范例。此外, Fu 等 (2021) 研究发现, *AcNAC1* 通过调控甲硫氨酸磺氧化物还原酶 (MSR) 影响乙烯合成, 表明 CRISPR/Cas9 技术可用于解析复杂代谢网络的级联调控机制。

3.2 维生素 C (抗坏血酸) 合成增强

猕猴桃是维生素 C 含量最高的水果之一, 其合成途径受多个转录因子调控。Liu 等 (2022)、Liu X 等 (2023) 利用 CRISPR/Cas9 技术揭示了 bZIP 转录因子 *AcePosF21* 和 MYBS1-like/GBF3 复合体在冷胁迫下激活 GDP-L-半乳糖磷酸化酶 (*GGP3*) 表达的分子机制。通过编辑这些调控因子, 可显著提高果实中维生素 C 的积累量, 为培育高营养品种提供了新策略。

3.3 花青素合成与果肉色泽改良

红心猕猴桃 (如‘红阳’品种) 因其独特的果肉色泽而备受市场青睐。Wang LH 等 (2019) 研究发现, MYB/bHLH 转录因子复合体通过激活花青素合成基因 (如 *AcANS* 和 *AcF3GT1*) 调控果肉红色形成。利用 CRISPR/Cas9 靶向编辑这些转录因子的启动子区域, 可进一步强化花青素合成, 甚至实现非红色品种的色泽改良。此类研究为猕猴桃外观品质的精准设计奠定了基础。

4 抗病性改良: 从宿主到病原体的双向策略

4.1 宿主抗病基因的强化

猕猴桃溃疡病由丁香假单胞杆菌猕猴桃致病变种 (*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, *Psa*) 引起, 是威胁全球猕猴桃产业的毁灭性病害。传统育种中抗病基因的挖掘受限于种质资源的匮乏, 而 CRISPR/Cas9 技术为宿主抗病性的快速改良提供了新思路。Li PW 等 (2024) 通过编辑 *AeCBL3* 基因, 发现其调控的钙草酸晶体在细胞壁中形成物理屏障, 可显著抑制病原菌侵染。这一发现揭示了植物次生代谢产物在抗病中的潜在作用, 为通过基因编辑增强猕猴桃先天免疫提供了新靶点。此外, 在红心猕猴桃中鉴定的 MYB/bHLH 复合体不仅调控花青素合成, 而且还参与苯丙烷代谢途径, 可能通过增强细胞壁木质化间接提升抗病性 (Chezem & Clay, 2016; Wang et al., 2022)。

4.2 病原体毒力基因的精准干扰

除了改良宿主, 直接靶向病原体基因是抗病策略的另一突破。Ho (2019) 首次将 CRISPR/Cas9 系统引入 *Psa* 病原体, 并成功构建了携带活性 CRISPR-Cas9 系统的穿梭质粒。随后, 利用该系统

表 1 完成全基因组测序的猕猴桃品种/种类及其对 CRISPR/Cas9 基因编辑的贡献

Table 1 Kiwifruit cultivars/species with completed whole genome sequencing and their contribution to CRISPR/Cas9 gene editing

品种/种类 Cultivar/Species	基因组测序研究（参考文献） Genome sequencing research (Reference)	CRISPR/Cas9 编辑应用基础 CRISPR/Cas9 editing fundamental
‘红阳’猕猴桃 <i>A. chinensis</i>	Huang et al., 2013; Wu et al., 2019; Yue et al., 2023	柠檬酸代谢和乙烯通路研究 Supporting research on citric acid metabolism and ethylene pathway
二倍体美味猕猴桃 <i>A. chinensis</i> var. <i>deliciosa</i>	Xia et al., 2023	为果实质地改良提供靶点,支持 PG 和 PME 基因编辑 Providing targets for fruit texture improvement and supporting PG and PME gene editing
毛花猕猴桃 <i>A. eriantha</i>	Tang et al., 2019; Yao et al., 2022; Liao et al., 2023; Wang et al., 2023; Yu et al., 2023	支持通过 CRISPR 重新引入抗性基因;提供维生素 C 代谢靶点 Supporting the reintroduction of resistance genes through CRISPR; providing vitamin C metabolic targets
‘Red5’猕猴桃 <i>A. chinensis</i>	Pilkington et al., 2018	为基因功能注释提供基础,支持靶点筛选 Providing a foundation for gene function annotation and supporting target screening
六倍体美味猕猴桃 <i>A. deliciosa</i>	Liu YB et al., 2024	解析多倍体编辑复杂性,为多靶点协同编辑提供参考 Analyzing the complexity of polyploid editing and providing reference for multi-target collaborative editing
‘东红’猕猴桃 <i>A. chinensis</i>	Han et al., 2023	提供代谢通路基因靶点,支持高营养品种设计 Providing metabolic pathway gene targets and supporting the design of high nutrient varieties
阔叶猕猴桃 <i>A. latifolia</i>	Han et al., 2023	为跨品种编辑提供依据 Providing a basis for cross variety editing
软枣猕猴桃 <i>A. arguta</i>	Zhang et al., 2024; Lu et al., 2024	提供抗逆性相关基因靶点 Providing stress resistance related gene targets
黑蕊猕猴桃 <i>A. melanandra</i>	Hemara et al., 2025	提供抗性基因靶点 Providing resistance gene targets
长叶猕猴桃 <i>A. hemsleyana</i>	Yu et al., 2023	为打破生殖隔离、拓宽遗传多样性提供理论依据 Providing theoretical basis for breaking reproductive isolation and expanding genetic diversity
浙江猕猴桃 <i>A. zhejiangensis</i>	Yu et al., 2023	为靶点设计提供基因组资源 Providing genomic resources for target design
山梨猕猴桃 <i>A. rufa</i>	Akagi et al., 2023; Li XL et al., 2024	提供维生素 C 代谢靶点 Providing vitamin C metabolic targets
葛枣猕猴桃 <i>A. polygama</i>	Akagi et al., 2023; Li XL et al., 2024	支持香气或药用成分的合成生物学设计 Support synthetic biology design of aroma or medicinal ingredients
长果猕猴桃 <i>A. longicarpa</i>	Li XL et al., 2024	加深基因组进化、遗传多样性和功能基因组学的理解 Deepening the understanding of genome evolution, genetic diversity, and functional genomics
大籽猕猴桃 <i>A. macrosperma</i>	Li XL et al., 2024	提供果皮多毛性状的靶点 Providing targets for the fruit hairiness
网脉猕猴桃 <i>A. reticulata</i>	Li XL et al., 2024	为精确育种提供坚实的基础 Providing a solid foundation for precision breeding
泛基因组 Pan genome	Yu et al., 2025	提供多物种靶点库,支持多维性状整合设计 Providing a multi-species target library that supports multidimensional trait integration design

成功消除了 *Psa* 中的质粒 p18708 和整合性共轭元件 *Pac_ICE1*, 实现了对 *Psa* 染色体基因的靶向编辑 (Ho et al., 2020), 为研究 *Psa* 的致病机制和开发新的防治策略提供了基础。Liu B 等 (2023) 进一步优化了这一策略, 利用 dCas9-BE3 和 dCas12a-BE3 碱基编辑系统, 在不切断 DNA 双链的情况下, 精准突变 *Psa* 的 *hopAI1* (毒性效应因子) 基因, 使 70% 以上的病原菌毒力降低。这种基于病原体自身基因的靶向抑制策略为开发基于 CRISPR/Cas9 的微生物杀菌剂提供了理论依据。

5 株型与生长周期的精准调控

5.1 童期缩短与开花诱导

猕猴桃为多年生藤本植物, 其长达 3 年至 5 年的童期严重制约育种效率。Varkonyi-Gasic 等 (2019) 通过 CRISPR/Cas9 敲除 *CENTRORADIALIS-like* (*CEN-like*) 基因, 成功将攀援型猕猴桃转化为紧凑型植株, 并诱导其提前开花。这一研究揭示了 *CEN-like* 基因在维持顶端优势中的关键作用, 为缩短育种周期提供了革命性工具。然而, Wang 等 (2021) 研究发现, 虽然 *CEN* 基因编辑改变株型, 但对果实成熟和采后生理无显著影响, 表明基因功能的模块化特性可被选择性利用。最新研究通过 CRISPR-Cas9 编辑 *CEN/CEN4* 基因, 在多个猕猴桃物种中实现了快速开花表型。例如, 双等位基因编辑毛花猕猴桃 (*A. eriantha*) 的 *CEN* 或 *CEN4* 后, 植株在组织培养阶段或移栽后即开花, 花朵与果实形态正常; 而通过靶向四倍体软枣猕猴桃 (*A. arguta*) 所有 4 个等位基因, 获得了极端早花表型, 其中完全突变株表现为极度矮化并在主枝末端开花 (Herath et al., 2023)。

5.2 休眠与萌芽的冷响应调控

温带果树的休眠解除依赖低温积累, 而气候变化导致的暖冬可能扰乱这一过程。Voogd 等 (2022) 鉴定到一个与拟南芥 *FLC* 同源的 *MADS-box* 的基因 *AcFLC-like*, 其表达受低温诱导, 并通过表观遗传修饰 (如组蛋白 H3K27me3 去甲基化) 调控萌芽时间。通过 CRISPR/Cas9 编辑该基因的启动子区域, 可打破其低温依赖性, 使猕猴桃在非最适气候下仍能正常萌芽, 为应对气候变化提供了适应性解决方案。同时, 研究表明猕猴桃的 *BFT* 基因在调控生长停止和休眠方面具有重要作用。

通过 CRISPR/Cas9 介导的 *BFT* 基因诱变, 产生了植株呈现出持续生长的表型, 这些植株延迟了生长停止和落叶时间, 并在落叶后提前萌芽, 揭示了 *BFT* 基因在猕猴桃休眠和萌芽调控中的重要作用 (Herath et al., 2022), 为进一步理解猕猴桃的生长发育机制提供了重要的依据。

6 果实成熟与采后贮藏的分子设计

6.1 乙烯合成与信号通路的调控

猕猴桃为典型的呼吸跃变型果实, 乙烯是调控其成熟的核心因子。NAC 转录因子通过激活甲硫氨酸磺氧化物还原酶 (*AcMSR*) 调控甲硫氨酸代谢, 进而影响乙烯合成。通过 CRISPR/Cas9 敲低 *AcMSR*, 可延缓果实软化, 并延长货架期 (Fu et al., 2021)。此外, Wang 等 (2021) 证实, 即使在高效率的 *CEN* 基因编辑株系中, 乙烯通路的关键基因 (如 *ACS* 和 *ACO*) 表达未受干扰, 表明成熟调控网络的独立性。

6.2 细胞壁降解酶的靶向编辑

果实质地软化与多聚半乳糖醛酸酶 (*PG*) 和纤维素酶 (*Cel*) 活性密切相关。Zhou 等 (2020) 综述了在番茄等作物中利用 CRISPR/Cas9 沉默 *PG* 基因以改善耐贮性的案例, 这一策略可直接迁移至猕猴桃。Ma 等 (2023) 进一步提出, 通过多重编辑同时靶向 *PG*、*Cel* 和果胶甲酯酶 (*PME*) 基因, 可能实现果实质地的“可编程化”设计。

CRISPR 技术正在驱动猕猴桃育种的系统性革新。CRISPR/Cas9 技术推动了猕猴桃育种从单一性状改良向多维度系统设计转型。如表 2 所示, 当前研究已建立覆盖果实品质、抗病性、株型调控等关键农艺性状的基因编辑技术矩阵, 并逐步揭示跨模块调控网络的互作规律。通过整合基因组学、表观遗传调控及合成生物学工具, 研究者能够精准预测多基因叠加效应, 构建“编辑-验证-优化”的闭环设计框架。这一技术体系不仅将传统育种的线性迭代模式升级为并行式性状组装, 而且还通过“编辑元件模块化”“递送系统通用化”等策略显著提升了本作物种的育种效率。然而, 多基因协同编辑的剂量效应与生态适应性仍是亟待突破的瓶颈, 这为后续的技术优化指明了方向。

表 2 CRISPR/Cas9 基因编辑在猕猴桃育种中的应用效果

Table 2 Application effect ofCRISPR/Cas9 gene editing in kiwifruit breeding

编辑基因 Edit gene	目标性状 Target trait	编辑效果 Edit effect	参考文献 Reference
<i>AcNAC1</i>	柠檬酸含量 Citric acid content	敲除 <i>AcNAC1</i> 基因,显著降低柠檬酸含量,提升果实风味 Knocking out the <i>AcNAC1</i> gene significantly reduces citric acid content and enhances fruit flavor	Fu et al. , 2023
<i>AcePosF21</i>	维生素 C 含量 Vitamin C content	编辑 bZIP 转录因子 <i>AcePosF21</i> ,显著提高维生素 C 合成,增强果实营养价值 Editing the bZIP transcription factor <i>AcePosF21</i> significantly increases vitamin C synthesis, and enhances the nutritional value of the fruit	Liu X et al. , 2023
<i>MYBS1-like/GBF3</i>	维生素 C 含量 Vitamin C content	编辑 <i>MYBS1-like/GBF3</i> 复合体,激活 <i>GPP3</i> 表达,提升维生素 C 积累 Editing the <i>MYBS1-like/GBF3</i> complex activates <i>GPP3</i> expression , thereby increasing vitamin C accumulation	Liu et al. , 2022
<i>MYB/bHLH</i>	花青素积累 Anthocyanin accumulation	编辑 MYB/bHLH 复合体,激活花青素合成基因(<i>AcANS</i> 和 <i>AcF3GT1</i>),增强果肉红色 Editing the MYB/bHLH complex activates anthocyanin synthesis genes (<i>AcANS</i> and <i>AcF3GT1</i>) and enhances the red color of the fruit flesh	Wang LH et al. , 2019
<i>AeCBL3</i>	抗病性 Disease resistance	编辑 <i>AeCBL3</i> 基因,增强钙草酸晶体形成,抑制病原菌侵染 Editing the <i>AeCBL3</i> gene enhances calcium oxalate crystal formation and inhibits pathogen infection	Li PW et al. , 2024
<i>hopA11</i>	抗病性 Disease resistance	编辑 <i>Psa</i> 病原体的 <i>hopA11</i> 基因,降低病原菌毒力 70% 以上 Editing the <i>hopA11</i> gene of the <i>Psa</i> pathogen reduces the virulence of the pathogen by more than 70%	Liu B et al. , 2023
<i>CEN-like</i>	株型与开花时间 Plant type and flowering time	敲除 <i>CEN-like</i> 基因,将攀援型植株转化为紧凑型,并诱导提前开花 Knocking out the <i>CEN-like</i> gene transforms climbing plants into compact types and induces early flowering	Varkonyi-Gasic et al. , 2019
<i>AcFLC-like</i>	萌芽时间 Sprout time	编辑 <i>AcFLC-like</i> 基因,打破低温依赖性,使猕猴桃在非最适气候下正常萌芽 Editing the <i>AcFLC-like</i> gene breaks the low-temperature dependency and allows kiwifruit to sprout normally in non-optimal climates	Voogd et al. , 2022
<i>BFT</i>	休眠与萌芽 Dormancy and budding	编辑 <i>BFT</i> 基因,延迟生长停止和落叶时间,提前萌芽 Editing the <i>BFT</i> gene delays growth cessation and leaf fall time and promotes early sprouting	Herath et al. , 2022
<i>AcMSR</i>	乙烯合成与果实成熟 Ethylene biosynthesis and fruit ripening	敲低 <i>AcMSR</i> 基因,延缓果实软化并延长货架期 Knocking down the <i>AcMSR</i> gene slows fruit softening and extends shelf life	Fu et al. , 2021
<i>PG、Cel、PME</i>	果实质地 Fruit texture	多重编辑 <i>PG、Cel</i> 和 <i>PME</i> 基因,延缓果实质地软化,延长贮藏期 Multiple edits of <i>PG</i> , <i>Cel</i> , and <i>PME</i> genes delay fruit texture softening and extend storage period	Ma et al. , 2023

7 技术挑战与未来展望

7.1 编辑效率与脱靶效应

尽管 Wang 等(2018)通过优化 sgRNA 设计及 Cas9 表达系统,将猕猴桃的编辑效率提升超 80%,但在实际应用中,仍面临诸多挑战。二倍体与多倍体猕猴桃的等位基因复杂性,使得编辑后表型不均一成为突出问题。多倍体猕猴桃拥有多套染色体和多个等位基因,在进行基因编辑时,难以保证所有等位基因都被精准修饰。例如,在编辑与果实甜度相关基因时,部分等位基因编辑成功可能提升甜度,而未编辑或编辑效果不佳的等位基因则会导致果实甜度参差不齐,从而影响商品价值。此外,脱靶效应也不容忽视。CRISPR/Cas9 系统可能会在非预期位点进行切割,造成非靶向基因的突变,引发一系列未知的生物学效应,干扰实验结果和育种进程。单倍体诱导与基因编辑结合,或许是突破这些瓶颈的有效途径(Yao et al., 2018; Liu CL et al., 2024; Nazir et al., 2024)。以利用 MTL 基因编辑创建单倍体为例(MTL 基因编码花粉特异性磷脂酶),单倍体仅含一套染色体,能简化基因编辑过程,避免等位基因干扰,使编辑效果更易预测和分析,有助于筛选出稳定优良性状的植株,从而提高育种效率。

7.2 非转基因编辑体系的建立

目前,多数猕猴桃基因编辑研究依赖农杆菌介导的稳定转化技术,而这一方法会导致转基因争议。消费者对转基因产品的安全性存在疑虑,监管政策也较为严格,这限制了基因编辑猕猴桃的商业化进程。因此,开发无标记转化系统及瞬时表达 CRISPR 组分(如 RNP 递送)成为迈向商业化应用的关键(Chandran et al., 2023; Li PW et al., 2024)。无标记转化系统可减少筛选标记基因在编辑植株中的残留,从而降低生物安全风险;而 RNP 递送技术则是将 CRISPR/Cas9 蛋白和 sgRNA 直接导入细胞,避免了外源 DNA 整合到基因组中,有望打破转基因争议的壁垒,从而推动基因编辑猕猴桃走向市场。

7.3 合成生物学与多维性状整合

未来猕猴桃育种有望结合 CRISPR/Cas9 与合成生物学工具,实现多维性状的整合调控。例如,将酵母的萜类合成通路引入猕猴桃,可增强果实

香气(Taratynova et al., 2024),提升其市场竞争力。同时,借鉴 Keul 等(2022)提出的“智能作物”概念,设计可响应环境信号(如温度、光照)自动调控性状的基因回路,能够让猕猴桃更好地适应环境变化。在高温时,启动耐热基因表达;光照不足时,增强光合作用相关基因活性,从而提高产量和品质,为培育多功能、适应性强的猕猴桃新品种提供新方向。

虽然基因编辑技术在猕猴桃育种领域面临挑战,但也充满希望。随着技术的不断创新与升级,编辑效率与脱靶效应、非转基因编辑体系建立等问题逐步被攻克,合成生物学带来了更多育种新思路(图 3)。猕猴桃育种将更精准、更高效,有望培育出更多满足市场需求的优质品种,从而推动猕猴桃产业的可持续发展,为全球水果市场注入可持续发展的潜力。

8 结语

CRISPR/Cas9 技术正在系统性重构猕猴桃育种的科学范式,推动其从单一性状改良向多维度精准设计跃迁。在基础研究层面,技术革新与基因组学突破形成双向驱动:一方面,多顺反子 tRNA-sgRNA 体系(PTG/Cas9)通过优化 sgRNA 加工效率,将靶标突变率提升近 10 倍(Wang et al., 2018);另一方面,多层次基因组数据库(如 KGD)和端粒到端粒参考基因组的构建(Yue et al., 2020, 2023),为跨物种调控网络解析提供了分子导航图。值得关注的是,CEN/CEN4 基因编辑系统在二倍体至四倍体猕猴桃中实现持续开花表型(Herath et al., 2023),将传统 5 年童期压缩至 2 个月(Herath et al., 2023),为表型关联研究奠定了基础。目前,CEN4 基因编辑系统在二倍体和四倍体猕猴桃中均实现持续开花(Herath et al., 2023),为加速纯合系创制提供了可能;而 *FT* 基因过表达与 HA 标签融合技术初步实现开花时间调控(Herath et al., 2023)。这些进展为木本果树速效育种树立了新标杆。在技术应用层面,猕猴桃基因编辑已进入产业化前夕:通过 *CEN4* 编辑创制的速生种质可实现多世代性状叠加,配合监管政策对无外源 DNA 编辑作物的分类管理,显著缩短品种选育周期。而机器学习驱动的 sgRNA 脱靶预测、光控 CRISPR 开关等前瞻性技术,为进一步提

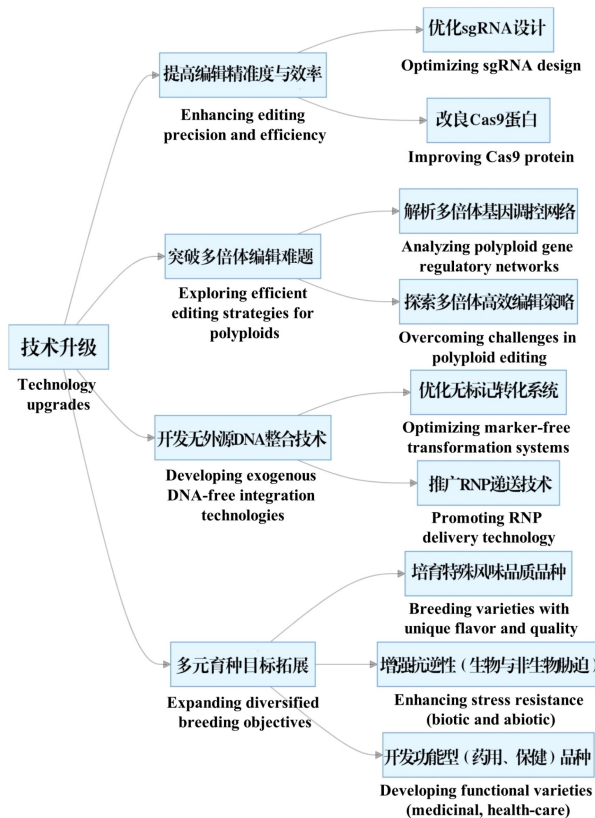


图 3 猕猴桃 CRISPR/Cas9 精准育种技术展望

Fig. 3 Prospects of CRISPR/Cas9-based precision breeding in kiwifruit

升编辑精准性和时空可控性储备了创新势能。

尽管目前仍需应对基因流生态风险、公众认知差异等挑战,但在我国基因编辑生物安全评价体系逐步完善的政策红利下(农业农村部,2023),CRISPR 驱动的猕猴桃精准育种必将重塑全球水果产业格局——从气候适应性品种的快速迭代到功能性营养成分的定向强化,这一技术体系正在为果树产业的可持续发展注入强劲的科技动能。

参考文献:

- AKGI T, VARKONYI-GASIC E, SHIRASAWA K, et al., 2023. Recurrent neo-sex chromosome evolution in kiwifruit [J]. *Nature Plants*, 9(4): 393–402.
- ANZALONE AV, RANDOLPH PB, DAVIS JR, et al., 2019. Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA [J]. *Nature*, 576(7785): 149–157.

- BARRANGOU R, FREMAUX C, DEVEAU H, et al., 2007. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes [J]. *Science*, 315(5819): 1709–1712.
- CHANDRAN S, MUTHU V, UMAPATHY T, et al., 2023. CRISPR/Cas9 assisted genome editing technology for the improvement of horticultural crops [J]. *Journal of Phytopharmacology*, 12(2): 127–134.
- CHARRIER A, VERGNE E, DOUSSET N, et al., 2019. Efficient targeted mutagenesis in apple and first time edition of pear using the CRISPR-Cas9 system [J]. *Frontiers in Plant Science*, 10: 40.
- CHEZEM WR, CLAY NK, 2016. Regulation of plant secondary metabolism and associated specialized cell development by MYBs and bHLHs [J]. *Phytochemistry*, 131: 26–43.
- CONG L, RAN FA, COX D, et al., 2013. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems [J]. *Science*, 339(6121): 819–823.
- DOUDNA JA, CHARPENTIER E, 2014. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9 [J]. *Science*, 346(6213): 1258096.
- ENTINE J, FELIPE MSS, GROENEWALD JH, et al., 2021. Regulatory approaches for genome edited agricultural plants in select countries and jurisdictions around the world [J]. *Transgenic Research*, 30: 551–584.
- FERGUSON AR, HUANG H, 2007. Genetic resources of kiwifruit: Domestication and breeding [J]. *Horticultural Reviews*, 33: 1–121.
- FU BL, WANG WQ, LIU XF, et al., 2023. A dramatic decline in fruit citrate induced by mutagenesis of a NAC transcription factor, AcNAC1 [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 21(10): 1695–1706.
- FU BL, WANG WQ, LIU XF, et al., 2021. An ethylene-hypersensitive methionine sulfoxide reductase regulated by NAC transcription factors increases methionine pool size and ethylene production during kiwifruit ripening [J]. *New Phytologist*, 232(2): 237–251.
- GAO JY, LI JW, LIU CX, et al., 2025. Application of trichloroisocyanuric acid in controlling kiwifruit bacterial canker disease demonstrates its promising potential as an eco-friendly bactericide [J]. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 12: 3.
- HAN X, ZHANG YL, ZHANG Q, et al., 2023. Two haplotype-resolved, gap-free genome assemblies for *Actinidia latifolia* and *Actinidia chinensis* shed light on the regulatory mechanisms of vitamin C and sucrose metabolism in kiwifruit [J]. *Molecular Plant*, 16(3): 452–470.
- HEMARA LM, CHATTERJEE A, YEY SM, et al., 2025. Identification and characterization of innate immunity in

- Actinidia melanandra* in response to *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* [J]. *Plant Cell and Environment*, 48(2): 1037–1050.
- HERATH D, VOOGD C, MAYO-SMITH M, et al., 2022. CRISPR-Cas9-mediated mutagenesis of kiwifruit *BFT* genes results in an evergrowing but not early flowering phenotype [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 20(11): 2064–2076.
- HERATH D, WANG TC, VOOGD C, et al., 2023. Strategies for fast breeding and improvement of *Actinidia* species [J]. *Horticulture Research*, 10(3): uhad016.
- HO J, 2019. Introducing CRISPR/Cas9 into the kiwifruit pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa) [D]. Dunedin: University of Otago.
- HO J, ZHAO M, WOJCIK S, et al., 2020. The application of the CRISPR-Cas9 system in *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* [J]. *Journal of Medical Microbiology*, 69(4): 478–486.
- HUANG SX, DING J, DENG DJ, et al., 2013. Draft genome of the kiwifruit *Actinidia chinensis* [J]. *Nature Communications*, 4: 2640.
- JAVAID D, GANIE SY, HAJAM YA, et al., 2022. CRISPR/Cas9 system: A reliable and facile genome editing tool in modern biology [J]. *Molecular Biology Reports*, 49(12): 12133–12150.
- JINEK M, CHYLINSKI K, FONFARA I, et al., 2012. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity [J]. *Science*, 337(6096): 816–821.
- KEUL AB, FARKAS A, CARPA R, et al., 2022. Development of smart fruit crops by genome editing [J]. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 46(2): 129–140.
- KOMOR AC, KIM YB, PACKER MS, et al., 2016. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage [J]. *Nature*, 533(7603): 420–424.
- LI PW, ZHANG YL, LIANG J, et al., 2024. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated marker-free transformation and gene editing system revealed that AeCBL3 mediates the formation of calcium oxalate crystal in kiwifruit [J]. *Molecular Horticulture*, 4(1): 1.
- LI XL, HUO LQ, LI XY, et al., 2024. Genomes of diverse *Actinidia* species provide insights into cis-regulatory motifs and genes associated with critical traits [J]. *BMC Biology*, 22(1): 200.
- LIAO GL, HUANG CH, XU XB, et al., 2023. A high-quality genome of *Actinidia eriantha* provides new insight into ascorbic acid regulation [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 22(11): 3244–3255.
- LIU B, SONG WP, WANG LC, et al., 2023. dCas9-BE3 and dCas12a-BE3 systems mediated base editing in kiwifruit canker causal agent *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5): 4597.
- LIU CL, YAN S, MAO FM, et al., 2024. Large-scale production of rice haploids by combining superior haploid inducer with PTGMS lines [J]. *Plant Communications*, 5(1): 101067.
- LIU X, WU R, BULLEY SM, et al., 2023. Kiwifruit bZIP transcription factor AcePosF21 elicits ascorbic acid biosynthesis during cold stress [J]. *Plant Physiology*, 192(2): 982–999.
- LIU X, WU R, BULLEY SM, et al., 2022. Kiwifruit MYBS1-like and GBF3 transcription factors influence L-ascorbic acid biosynthesis by activating transcription of GDP-L-galactose phosphorylase 3 [J]. *New Phytologist*, 234(5): 1782–1800.
- LIU YB, ZHOU Y, CHENG F, et al., 2024. Chromosome-level genome of putative autohexaploid *Actinidia deliciosa* provides insights into polyploidisation and evolution [J]. *Plant Journal*, 118(1): 73–89.
- LU XM, YU XF, LI GQ, et al., 2024. Genome assembly of autotetraploid *Actinidia arguta* highlights adaptive evolution and enables dissection of important economic traits [J]. *Plant Communications*, 5(1): 100856.
- MA ZM, MA LJ, ZHOU JH, 2023. Applications of CRISPR/Cas genome editing in economically important fruit crops: Recent advances and future directions [J]. *Molecular Horticulture*, 3(1): 1–29.
- Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China, 2023. Safety assessment and management measures for agricultural genetically modified organisms (2023 Revision) [Z]. Beijing: China Agriculture Press. [农业农村部, 2023. 农业转基因生物安全评价管理办法(2023年修订) [Z]. 北京: 中国农业出版社.]
- NAZIR MF, LOU J, WANG Y, et al., 2024. Kiwifruit in the omics age: Advances in genomics, breeding, and beyond [J]. *Plants*, 13(15): 2156.
- PILKINGTON SM, CROWHURST R, HILARIO E, et al., 2018. A manually annotated *Actinidia chinensis* var. *chinensis* (kiwifruit) genome highlights the challenges associated with draft genomes and gene prediction in plants [J]. *BMC Genomics*, 19(1): 257.
- TANG W, SUN XP, YUE JY, et al., 2019. Chromosome-scale genome assembly of kiwifruit *Actinidia eriantha* with single-molecule sequencing and chromatin interaction mapping [J]. *Gigascience*, 8(1): giz027.

- TARATYNOVA MO, TIKHONOVA EE, FEDYAEVA IM, et al., 2024. Boosting geranyl diphosphate synthesis for linalool production in engineered *Yarrowia lipolytica* [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 196(10): 1304–1315.
- VARCONYI-GASIC E, WANG T, VOOGD C, et al., 2019. Mutagenesis of kiwifruit *CENTRORADIALIS-like* genes transforms a climbing woody perennial with long juvenility and axillary flowering into a compact plant with rapid terminal flowering [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 17(5): 869–880.
- VOOGD C, BRIAN LA, WANG T, et al., 2022. A MADS-box gene with similarity to FLC is induced by cold and correlated with epigenetic changes to control budbreak in kiwifruit [J]. *New Phytologist*, 233(4): 2111–2126.
- WAN DY, GUO Y, CHENG Y, et al., 2020. CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of *VvMLO3* results in enhanced resistance to powdery mildew in grapevine (*Vitis vinifera*) [J]. *Horticulture Research*, 7(1): 116.
- WANG LH, TANG W, HU YW, et al., 2019. A MYB/bHLH complex regulates tissue-specific anthocyanin biosynthesis in the inner pericarp of red-centered kiwifruit *Actinidia chinensis* cv. Hongyang [J]. *Plant Journal*, 99(2): 359–378.
- WANG R, NARDOZZA S, NIEUWENHUIZEN NJ, et al., 2021. Kiwifruit maturation, ripening and environmental response is not affected by *CENTRORADIALIS* (*CEN*) gene-editing [J]. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 49(4): 277–293.
- WANG T, ZHANG HY, ZHU HL, 2019. CRISPR technology is revolutionizing the improvement of tomato and other fruit crops [J]. *Horticulture Research*, 6(1): 77.
- WANG WQ, MOSS SMA, ZENG L, et al., 2022. The red flesh of kiwifruit is differentially controlled by specific activation-repression systems [J]. *New Phytologist*, 235(2): 630–645.
- WANG ZP, WANG SB, LI DW, et al., 2018. Optimized paired-sgRNA/Cas9 cloning and expression cassette triggers high-efficiency multiplex genome editing in kiwifruit [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 16(8): 1424–1433.
- WANG YZ, DONG MH, WU Y, et al., 2023. Telomere-to-telomere and haplotype-resolved genome of the kiwifruit *Actinidia eriantha* [J]. *Molecular Horticulture*, 3(1): 4.
- WU HL, MA T, KANG MH, et al., 2019. A high-quality *Actinidia chinensis* (kiwifruit) genome [J]. *Horticulture Research*, 6(1): 117.
- XIA H, DENG HH, LI MZ, et al., 2023. Chromosome-scale genome assembly of a natural diploid kiwifruit (*Actinidia chinensis* var. *deliciosa*) [J]. *Scientific Data*, 10(1): 92.
- YAO L, ZHANG Y, LIU CX, et al., 2018. OsMATL mutation induces haploid seed formation in indica rice [J]. *Nature Plants*, 4(8): 530–533.
- YAO XH, WANG SB, WANG ZP, et al., 2022. The genome sequencing and comparative analysis of a wild kiwifruit *Actinidia eriantha* [J]. *Molecular Horticulture*, 2(1): 13.
- YU XF, QIN MY, QU MH, et al., 2023. Genomic analyses reveal dead-end hybridization between two deeply divergent kiwifruit species rather than homoploid hybrid speciation [J]. *Plant Journal*, 115(6): 1528–1543.
- YU XF, QU MH, WU P, et al., 2025. Super pan-genome reveals extensive genomic variations associated with phenotypic divergence in *Actinidia* [J]. *Molecular Horticulture*, 5(1): 4.
- YUE JY, LIU JC, TANG W, et al., 2020. Kiwifruit Genome Database (KGD): A comprehensive resource for kiwifruit genomics [J]. *Horticulture Research*, 7(1): 117.
- YUE JY, CHEN QY, WANG YZ, et al., 2023. Telomere-to-telomere and gap-free reference genome assembly of the kiwifruit *Actinidia chinensis* [J]. *Horticulture Research*, 10(1): uhac264.
- ZHANG F, WANG YZ, LIN YZ, et al., 2024. Haplotype-resolved genome assembly provides insights into evolutionary history of the *Actinidia arguta* tetraploid [J]. *Molecular Horticulture*, 4(1): 4.
- ZHOU JH, LI DD, WANG GM, et al., 2020. Application and future perspective of CRISPR/Cas9 genome editing in fruit crops [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 62(3): 269–286.

(责任编辑 蒋巧媛 王登惠)