

引用格式:

苑平, 杨莉颖, 汤佳乐, 徐海, 何科佳, 沈婉琪, 杨博智, 卜范文. 猕猴桃突变体库的构建及表型变异分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2024, 50(6): 62–70.

YUAN P, YANG L Y, TANG J L, XU H, HE K J, SHEN W Q, YANG B Z, BU F W. Construction of a kiwifruit mutant library and analysis of phenotypic variations[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2024, 50(6): 62–70.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



猕猴桃突变体库的构建及表型变异分析

苑平^{1,2}, 杨莉颖¹, 汤佳乐¹, 徐海¹, 何科佳¹, 沈婉琪¹, 杨博智³, 卜范文^{1*}

(1.湖南省园艺研究所, 湖南 长沙 410125; 2.湖南农业大学农学院, 湖南 长沙 410128; 3.湖南农业大学园艺学院, 湖南 长沙 410128)

摘要:为促进猕猴桃功能基因组学的研究,以‘红阳’猕猴桃愈伤组织为试验材料,用10、25、50、75、100、150、200、300、400、500 Gy共10个不同辐射剂量的⁶⁰Co- γ 射线处理愈伤组织,以0 Gy为对照,对诱变后代的表型变异特征进行分析。结果表明:经100 Gy剂量诱变处理后,‘红阳’猕猴桃愈伤组织的致变率已提升至35.9%,同时分化率亦达到77.8%;基于此,筛选出100 Gy为该品种愈伤组织的适当诱变条件;用100 Gy诱变条件处理1 680块‘红阳’猕猴桃愈伤组织,构建了由1 026株再生苗组成的‘红阳’猕猴桃突变体库,该突变体库在叶片、株型等性状上均存在丰富的变异,总变异频率达35.9%。

关键词:猕猴桃; ⁶⁰Co- γ ; 突变体库; 表型分析

中图分类号: S663.4

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2024)06-0062-09

Construction of a kiwifruit mutant library and analysis of phenotypic variations

YUAN Ping^{1,2}, YANG Liying¹, TANG Jiale¹, XU Hai¹, HE Kejia¹, SHEN Wanqi¹, YANG Bozhi³, BU Fanwen^{1*}

(1.Hunan Horticultural Research Institute, Changsha, Hunan 410125, China; 2.College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 3.College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)

Abstract: To accelerate the development of functional genomic research, the mutant library of ‘Hongyang’ kiwifruit was constructed. The callus of ‘Hongyang’ kiwifruit were treated with ⁶⁰Co- γ rays at 10 distinct radiation doses: 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400, and 500 Gy, with 0 Gy serving as the control, and the phenotypic variation characteristics of the mutagenic progeny were analyzed. The results indicated that after mutagenic treatment with a dose of 100 Gy, the mutation rate of callus tissue from ‘Hongyang’ kiwifruit increased to 35.9%, while the differentiation rate reached 77.8%. Based on these findings, a radiation dose of 100 Gy was selected as the further studied condition. After treating 1 680 ‘Hongyang’ kiwifruit callus under optimal mutagenesis conditions, a kiwifruit mutant library contained 1 026 regenerated seedlings of ‘Hongyang’ kiwifruit was constructed. The mutant library had rich variation in leaf, plant type and other characters, with a total variation frequency of 35.9%.

Keywords: kiwifruit; ⁶⁰Co- γ ; mutant library; phenotypic analysis

收稿日期: 2023-12-25

修回日期: 2024-10-05

基金项目: 长沙市自然科学基金项目(KQ2202351); 湖南省农业科技创新资金项目(2024CX66); 国家柑橘产业技术体系猕猴桃长沙综合试验站(CARS-26); 湖南省现代农业(水果)产业技术体系猕猴桃育种与栽培岗位专家(HARS-09)

作者简介: 苑平(1986—), 男, 湖南邵阳人, 硕士, 副研究员, 主要从事猕猴桃遗传育种研究, yuanping@hunaas.cn; *通信作者, 卜范文, 硕士, 研究员, 主要从事猕猴桃遗传育种研究, bufanwen@hunaas.cn

猕猴桃(*Actinidia Lindl.*)原产于中国,因其营养价值高,被誉为“水果之王”,深受国内外消费者的青睐^[1-3]。目前猕猴桃品种选育主要通过野生选优、实生育种、杂交育种及芽变选种等方式^[4-6]进行。其中野生选优最快,但缺乏矮化、雌雄同株的资源,且不良性状较难改良,难以培育出具有创新性的新品种;杂交育种和实生育种由于面临雌雄异株、童期长、后代中雄株比例较高以及基因高度杂合等挑战,导致其应用受到限制。自然芽变育种受限于冬季修剪工作量大、变异难以观测以及变异率低等问题,育种效率较低^[7-8]。相比之下,人工诱变技术可增加变异的频率和幅度,显著提升育种效率。

构建突变体库并分离鉴定突变基因是研究基因功能的重要手段,目前已在水稻^[9]、南瓜^[10]、辣椒^[11]、谷子^[12]以及番茄^[13]等多种作物中得到广泛运用。大规模的突变材料,不仅可以用于品种选育,也适用于基础研究^[14-15]。

在中国,猕猴桃诱变育种始于 20 世纪 90 年代^[16],采用物理、化学等多种手段^[17-19]进行诱变育种均取得了不错的效果。但诱变材料多以枝条、种子为主,诱变目标主要为选育耐盐突变体^[16-17]、耐寒突变体^[20]、多倍体^[21]、大果型突变体^[22]等单一目标,少见以愈伤组织为材料进行大规模突变体库构建的报道。诱变技术的应用在猕猴桃的品种选育中仍然是一个较为薄弱的环节。诱变育种可以加快品种选育的进程,而组织培养则有利于突变体的分离及突变性状的观察,因此,以愈伤组织为材料,将诱变与组织培养技术相结合能够有效提高诱变效率^[23-24]。随着猕猴桃基因组测序相继完成^[25-27],突变体库的构建将在其功能基因组学研究及品种选育上发挥重要的作用。

本研究采用不同剂量的⁶⁰Co- γ 射线,对‘红阳’猕猴桃愈伤组织进行辐射处理,统计分析辐射后愈伤组织的成活率及分化出苗的差异,以确定适宜的诱变剂量,并基于此建立‘红阳’猕猴桃突变体库,以期对猕猴桃辐射育种及功能基因的研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

‘红阳’猕猴桃一年生枝条由湖南省园艺研究

所落叶果树室提供。

1.2 试剂

MS 培养基、卡拉胶、6-苄氨基嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)、玉米素(ZT)购自北京酷来搏科技有限公司,蔗糖、琼脂粉购于国药集团化学试剂有限公司。

1.3 培养基

诱导培养基: MS 培养基+ 6-BA(0.25 mg/L) + NAA(1 mg/L)+蔗糖(30 g/L)+琼脂粉(8 g/L), pH 5.8。

继代培养基: MS 培养基+ 6-BA(0.25 mg/L) + NAA(1 mg/L)+蔗糖(30 g/L)+琼脂粉(8 g/L), pH 5.8。

分化培养基: MS 培养基+ZT(1 mg/L)+蔗糖(30 g/L)+琼脂粉(8 g/L), pH 5.8。

生根培养基: 1/2 MS 培养基+蔗糖(15 g/L)+卡拉胶(10 g/L), pH 5.8。

1.4 方法

1.4.1 ⁶⁰Co- γ 最佳诱变条件的筛选

取‘红阳’猕猴桃一年生未木质化枝条,剪成 5 cm 左右的带芽茎段,75%乙醇表面消毒 30 s,无菌水洗 3 次;1%的次氯酸钠处理 12 min,无菌水洗 3~5 次,然后接种于诱导培养基进行愈伤组织诱导,并通过继代培养基进行继代培养,扩大愈伤组织数量。将准备好的愈伤组织切成 0.3 cm×0.3 cm 左右的小方块,在继代培养基上继续培养。培养条件为: 25 °C, 16 h 光照, 8 h 黑暗, 光照度 5 000 lx; 培养 7~10 d 后取 2 张滤纸置于培养皿中,将预培养后的愈伤组织置于培养皿中,用封口膜封好,送至湖南省核农学与航天育种研究所进行辐射处理。设 10、25、50、75、100、150、200、300、400、500 Gy 共 10 个不同辐射剂量,以 0 Gy 为对照,用 5 Gy/min 的剂量率照射猕猴桃愈伤组织。每个剂量处理 80 块愈伤组织,重复 3 次。辐射完成以后,将愈伤组织分别在继代培养基上培养 20 d,统计致死率。

将存活的愈伤组织在继代培养基上进行继代培养,每 20 d 继代 1 次,连续继代 2 次以后,转移至分化培养基进行分化培养,每 20 d 更换 1 次培养基。分化培养 60 d 后统计各处理的分化率及幼苗生长情况,综合评估以确定‘红阳’猕猴桃愈伤组织⁶⁰Co- γ 辐射诱变的最佳处理条件。

1.4.2 突变体的表型统计及分子标记检测

2019年底,取部分苗期性状明显的单株,高接于3年生砧木上。2020年至2021年,参照《植物新品种DUS测试指南(猕猴桃属)》,以‘红阳’猕猴桃为对照,观察记录各变异单株的节间距、叶色、叶形、叶片大小、果实大小、果实形状等性状。

为提高突变率统计的准确性,通过分子标记结合表型观察对突变体进行检测,初步验证变异的产生并统计突变率。其中,表型观察主要统计叶片形

态的变化、节间距的变化等。分子标记所用的引物如表1所示,上、下游引物各10条。PCR反应体系(25 μ L): 2 \times M5 HiPer plus Taq HiFi PCR Mix 12.5 μ L、正向引物(2.5 μ mol/L)2 μ L、反向引物(2.5 μ mol/L)2 μ L、DNA(35 ng/ μ L)1 μ L、ddH₂O 7.5 μ L。PCR反应程序:95 $^{\circ}$ C预变性5 min;94 $^{\circ}$ C变性1 min,35 $^{\circ}$ C退火1 min,72 $^{\circ}$ C延伸2 min,5个循环;94 $^{\circ}$ C变性1 min,55 $^{\circ}$ C退火1 min,72 $^{\circ}$ C延伸2 min,35个循环;72 $^{\circ}$ C延伸6 min;PCR产物用3%的琼脂糖凝胶电泳进行分离。

表1 SRAP分子标记引物序列

Table 1 SRAP molecular marker primer sequence

引物编号	上游引物(5'-3')	引物编号	下游引物(5'-3')
P-F1	TGAGTCCAAACCGGTGT	P-R1	GACTGCGTACGAATTCG
P-F2	TGAGTCCAAACCGGTCA	P-R2	GACTGCGTACGAATTCTA
P-F3	TGAGTCCAAACCGGTTG	P-R3	GACTGCGTACGAATTCTC
P-F4	TGAGTCCAAACCGGTAG	P-R4	GACTGCGTACGAATTCGA
P-F5	TGAGTCCAAACCGGAGC	P-R5	GACTGCGTACGAATTAGC
P-F6	TGAGTCCAAACCGGAAG	P-R6	GACTGCGTACGAATTCAA
P-F7	TGAGTCCAAACCGGTGC	P-R7	GACTGCGTACGAATTGAG
P-F8	TGAGTCCAAACCGGAAT	P-R8	GACTGCGTACGAATTAAT
P-F9	TGAGTCCAAACCGGAGG	P-R9	GACTGCGTACGAATTGAC
P-F10	TGAGTCCAAACCGGAAC	P-R10	TGACTGCGTACGAATTGG

1.4.3 ‘红阳’猕猴桃突变体库的构建

2021年底,将一定数量的‘红阳’猕猴桃愈伤组织采用最佳诱变条件进行诱变处理,构建突变体库。将处理后的愈伤组织在继代培养基上进行继代培养,每20 d继代1次,连续继代5次以后,转移至分化培养基进行分化培养,每20 d更换1次培养基。待分化出芽且芽长高于3 cm后,进行生根培养及炼苗,最终得到再生苗。再生苗定植于湖南省园艺研究所基地,构成‘红阳’猕猴桃突变体库M₀代群体,并按照田间定植顺序依次命名为H1至Hn。

2 结果与分析

2.1 ‘红阳’猕猴桃愈伤组织最佳诱变条件的筛选

2.1.1 不同剂量⁶⁰Co- γ 射线对猕猴桃愈伤组织致死率、分化率的影响

对不同辐射剂量下猕猴桃愈伤组织的致死率及分化率进行分析,结果(表2、图1)显示:辐射剂

量与致死率呈正相关,低剂量的辐射对其影响较小,随着辐射剂量的增加致死率提高,200 Gy的致死率为33.3%,300 Gy的致死率为57.5%。利用线性回归方程($y=0.0017x-0.0094$, $R^2=0.99$)计算得到半致死剂量(LD₅₀)为299.64 Gy。辐射剂量与分化率则呈负相关($y=-0.0017x+0.9885$, $R^2=0.992$),随着辐射剂量的增加分化率逐步降低,100 Gy时分化率为77.8%,200 Gy时分化率为61.1%,300 Gy以上分化率则相对较低,且剂量越高,得到的畸形苗也较多。

2.1.2 突变体的分子标记检测

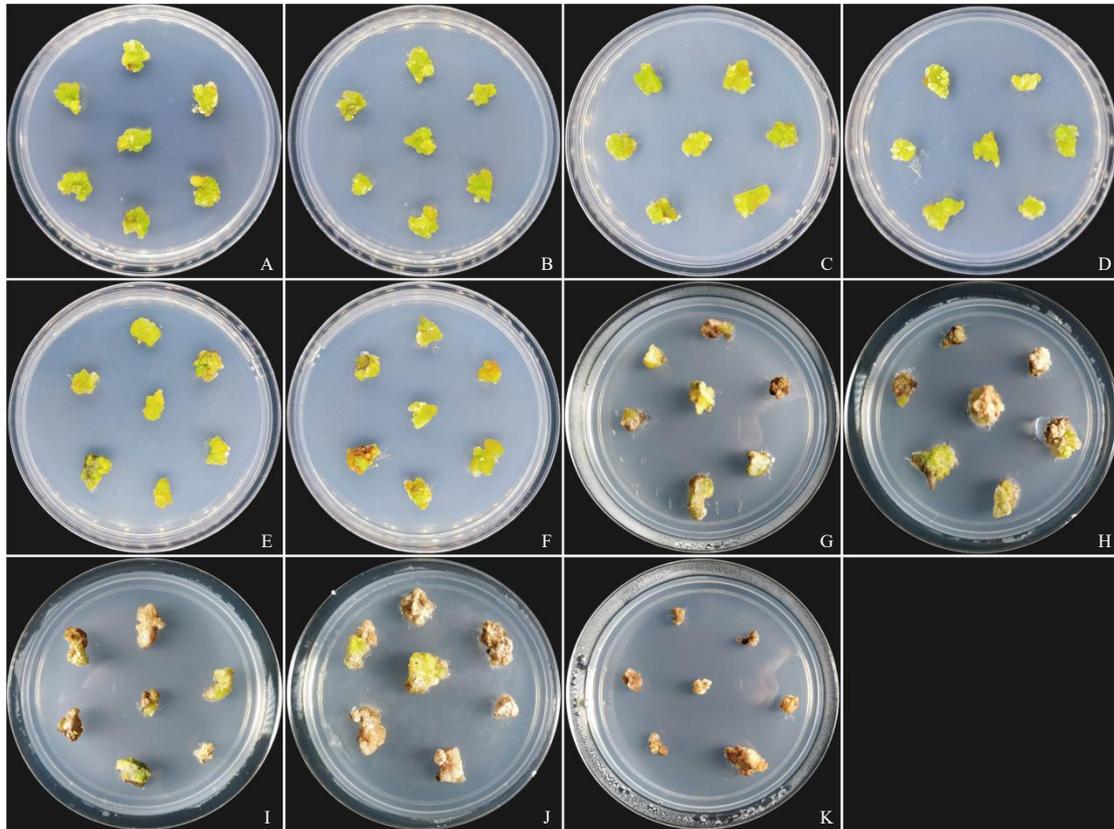
因表型观察可能会遗漏部分突变类型,故通过分子标记对突变体进行进一步检测,结合表型观察初步验证变异的产生并统计致死率(表2)。通过SRAP分子标记,在各突变体与‘红阳’猕猴桃之间扩增出差异常带(图2),证明采用分子标记可以有效地检测突变发生的情况。结合表型变化及SRAP的结果(图2)可知,100 Gy时致死率为35.9%,200 Gy

时致变率达 78.2%。

表 2 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐射处理后猕猴桃愈伤组织的致死率、分化率和致变率

Table 2 The mortality, differentiation rate, and mutation rate of kiwifruit callus after $^{60}\text{Co}-\gamma$ radiation treatment

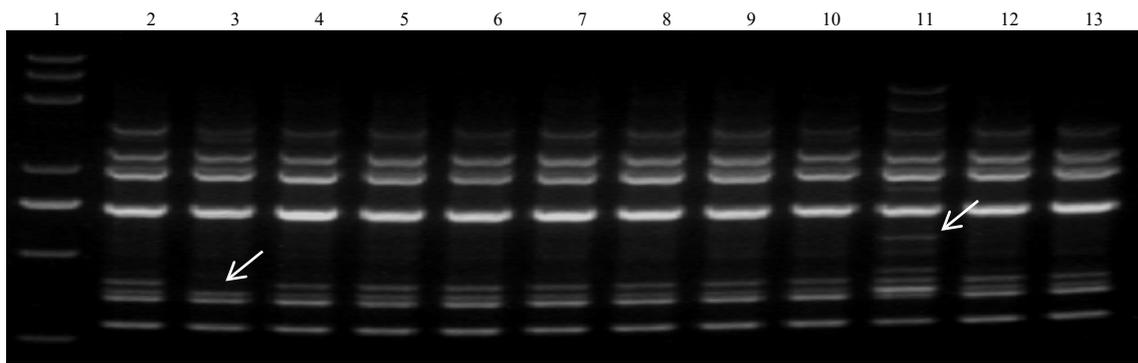
辐射剂量/Gy	处理数	致死率/%	分化率/%	致变率/%
0	240	0.0	100.0	0.0
10	240	0.4	96.7	4.9
25	240	2.1	95.7	15.7
50	240	3.8	91.8	25.4
75	240	12.1	89.6	30.3
100	240	17.5	77.8	35.9
150	240	25.4	70.9	49.8
200	240	33.3	61.1	78.2
300	240	57.5	47.1	100.0
400	240	68.3	26.4	100.0
500	240	80.8	15.8	100.0



A 0 Gy; B 10 Gy; C 25 Gy; D 50 Gy; E 75 Gy; F 100 Gy; G 150 Gy; H 200 Gy; I 300 Gy; J 400 Gy; K 500 Gy。

图 1 经 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐射处理的猕猴桃愈伤组织

Fig.1 Kiwifruit callus treated with $^{60}\text{Co}-\gamma$ radiation



泳道1为DL2000 Marker; 泳道2为‘红阳’猕猴桃; 泳道3~13为部分突变体样品; 箭头所指为得到的特异片段位置。

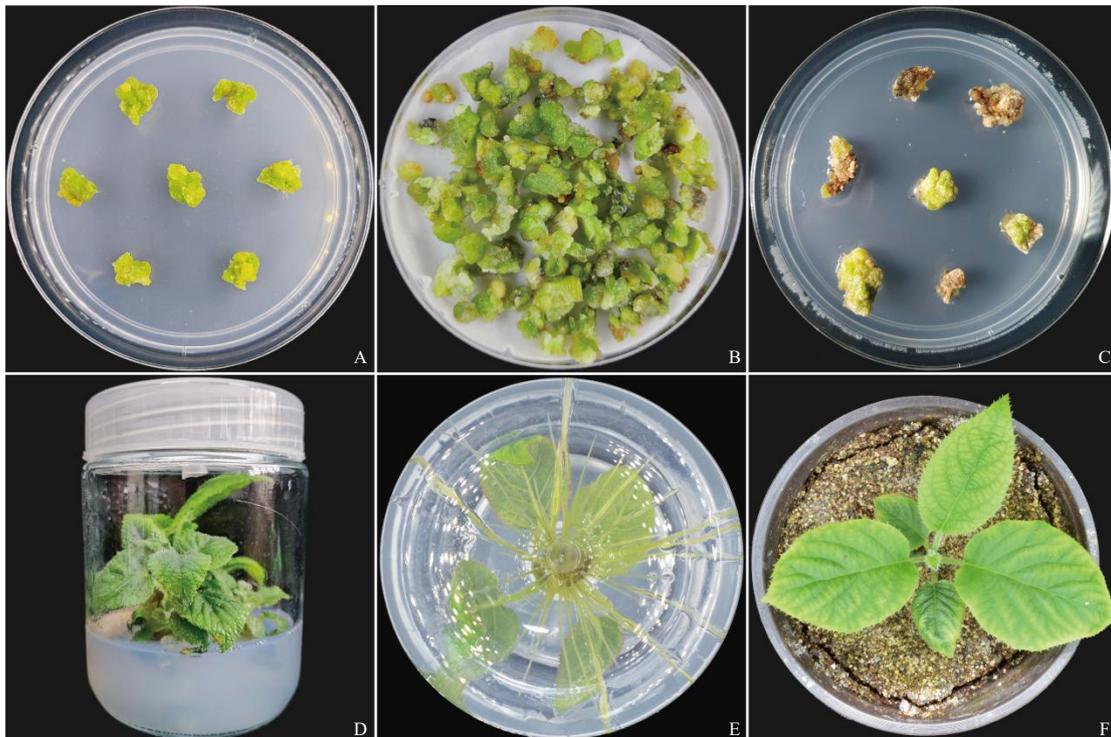
图2 SRAP部分引物的扩增图谱

Fig.2 Amplification profile of SRAP partial primers

2.2 猕猴桃突变体库的构建

在获得充足变异的前提下,为尽可能获得可用于生产应用的猕猴桃突变体,结合致死率和分化率,以100~200 Gy的辐射剂量对猕猴桃愈伤组织进行处理。结果表明,当处理剂量在150 Gy时,致变率过高(49.8%),而分化率较低(70.9%),不利于突变体库的构建,且得到畸形苗的概率也较大,

虽可用于基础研究,但无生产利用价值,因此,选择以100 Gy为辐射剂量进行突变体库的构建。使用100 Gy处理1680块‘红阳’猕猴桃愈伤组织,经组培再生,共得到1026个单株,再生苗定植于湖南省园艺研究所基地,构成‘红阳’猕猴桃突变体库M₀代群体(图3)。



A 愈伤组织继代培养; B 愈伤组织辐射处理; C 诱变后继代培养; D 芽的分化; E 生根培养; F 炼苗。

图3 ‘红阳’猕猴桃愈伤组织的诱变及植株再生

Fig.3 Mutation induction and plant regeneration of ‘Hongyang’ kiwifruit callus tissue

2.3 ‘红阳’猕猴桃突变体库的表型变异

因‘红阳’猕猴桃为高度杂合的二倍体植株,部

分隐性突变性状可能在M₀代显现,因此在M₀代便开始统计诱变表型。从表3可以看出,在M₀代群体中的表型变异主要分为4个类别,其中,叶片形

表 3 猕猴桃突变体库 M₀ 群体表型变异情况

Table 3 Statistic of mutant type of M₀ generation in kiwifruit mutation library

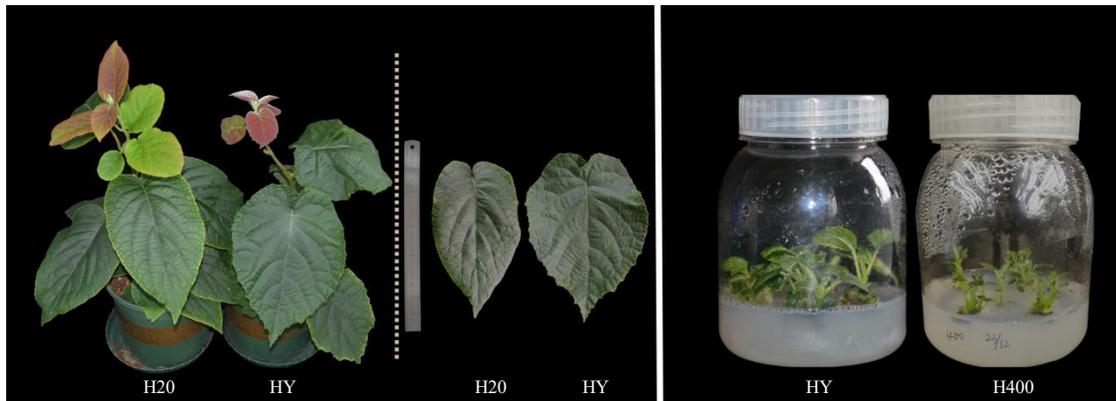
突变表型	突变单株数	突变频率/%
叶片形态	230	22.4
叶片颜色	88	8.6
植株矮化	42	4.1
果实变异	8	0.8
总数	368	35.9

态变异频率为 22.4%，主要包含叶片变长、叶片变小等；叶片颜色变异频率为 8.6%，主要包含幼叶遇冷不变红、叶片颜色变深等；植株矮化变异频率为

4.1%，主要包含节间距离缩短等；果实变异频率为 0.8%，主要包含果心变红、果实变长等。

2.3.1 叶片形态变异

‘红阳’猕猴桃的叶片为心脏形，叶基重叠。突变体中出现叶片形态变异的频率为 22.4%，占总突变频率的 62.5%。突变体中叶片形态变异分为叶片变长(披针型)、叶片变小、叶基形态变化(深度重叠或不重叠)等。其中，H20 叶片显著长于野生型的，而 H400 的叶片则显著变小，已影响其正常生长(图 4)。



HY 为‘红阳’猕猴桃；H20、H400 为叶片形态变异突变体。

图 4 ‘红阳’猕猴桃与部分叶片形态变异突变体

Fig.4 ‘Hongyang’kiwifruit and some leaf morphological variation mutants

2.3.2 叶片颜色变异

‘红阳’猕猴桃的叶片颜色为绿色，新叶遇低温会变成深红色。突变体中出现叶片颜色变异的频率为 8.6%，占总突变频率的 23.9%。叶片颜色变异分为新叶遇冷不变红、老叶变墨绿色等。其中，H30

表现为其新叶在低温环境下仍然表现为嫩绿色，可能是色素合成途径相关的基因发生了突变。在正常培养情况下，H22 的成熟叶片相对‘红阳’猕猴桃颜色变为墨绿色，且该突变体表现出显著的耐热性；而 H950 则表现出所有叶片均为红绿相间的颜色(图 5)。



HY 为‘红阳’猕猴桃；H30、H22、H950 为叶色突变体。

图 5 ‘红阳’猕猴桃与部分叶色变异突变体

Fig.5 ‘Hongyang’ kiwifruit and some leaf color variation mutants

2.3.3 植株矮化

‘红阳’猕猴桃的平均节间距为 11 cm。本研究中,将突变体库中节间距低于 11 cm 的植株定义为矮化突变体。‘红阳’猕猴桃辐射诱变中,出现矮化变异的频率为 4.1%,占总突变频率的 11.4%。矮化

突变体的平均节间距为 2.5 cm。其中, H38 和 H100 在矮化的同时其他性状未受影响(图 6),是表现较好的矮化株系,但其他株系出现极度矮化或生长过慢,影响正常生长,使用价值不大。



HY 为‘红阳’猕猴桃; H38、H300、H10、H75、H100 为矮化突变体。

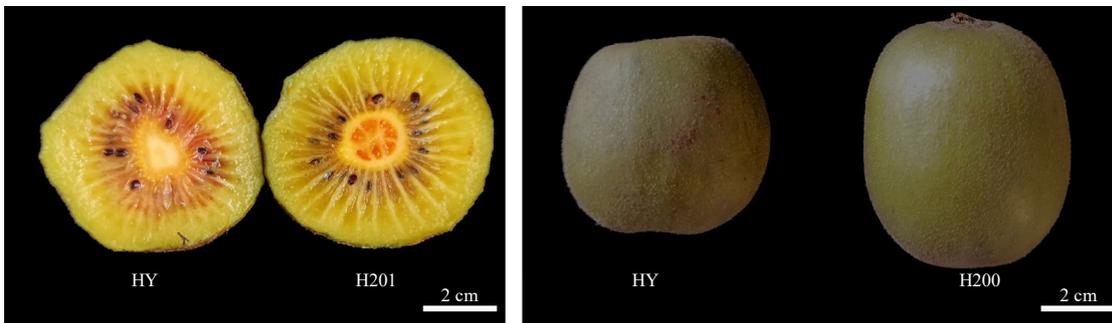
图 6 ‘红阳’猕猴桃与部分矮化突变体

Fig.6 ‘Hongyang’kiwifruit and partial dwarf mutants

2.3.4 果实变异

‘红阳’猕猴桃平均单果质量为 65 g,果心为黄白色,沿果心呈放射状红色条纹。突变体中出现果实变异的频率为 0.8%,占总突变频率的 2.2%。果

实变异分为果心变成红色、果实变长、果实变大等(图 7)。H201 的果心部位表现出明显的红色; H200 的平均单果质量为 86 g,为‘红阳’猕猴桃的 1.32 倍。这些变异在生产上都是比较重要的农艺性状。



HY 为‘红阳’猕猴桃; H201、H200 为果实变异突变体。

图 7 ‘红阳’猕猴桃与部分果实变异突变体

Fig.7 ‘Hongyang’kiwifruit and some fruit mutant mutants

3 结论与讨论

在植物诱变过程中,通常以 LD₅₀ 为依据构建突

变体库^[28]。前人^[8]研究发现 ⁶⁰Co- γ 辐射诱变后猕猴桃枝条的 LD₅₀ 为 50~75 Gy。胡延吉等^[29]认为,当剂量为 50 Gy 时对猕猴桃幼芽的生长有抑制作用,

最终选择 25~50 Gy 为合适的诱变剂量。通常情况下, 致变率与辐射剂量成正比, 但剂量过高, 畸变率及死亡率都会相应增加^[7-8]。本研究中, 猕猴桃愈伤组织 LD₅₀ 为 299.64 Gy, 显著高于前人^[8]在枝条诱变中得到的数据。但 LD₅₀ 受多方面因素的影响, 组培体系、试验操作等因素均会影响 LD₅₀ 的统计。在以猕猴桃枝条为材料的诱变试验中^[8], 辐射造成的生理损伤会导致嫁接存活率偏低, 经体细胞选择, 使部分诱变性状无法显现, 从而造成致变率偏低。本研究中, LD₅₀ 高于前人^[8]在枝条辐射诱变时所得到的数据, 但在相同辐射剂量下, 猕猴桃愈伤组织的致变率却提高了, 因此, 不能简单地以 LD₅₀ 作为依据, 应结合致死率、分化率甚至生产需求等多方面因素来确定构建突变体库应当采取的诱变剂量, 这与胡延吉等^[29]的结论一致。

本研究中, ‘红阳’猕猴桃愈伤组织在 100 Gy 的辐射剂量下, 分化率为 77.8%, 致变率为 35.9%, 此时分化率较高, 有利于突变体库的建立且畸形苗较少, 故利用 100 Gy 的辐射剂量对试验材料进行诱变, 构建了‘红阳’猕猴桃的突变体库, 以该诱变条件为筛选标准, 在保证较高致变率的同时, 又可保障突变体库具有一定的规模且有较高的育种价值。

猕猴桃生产应用中主要通过无性繁殖进行育苗, 诱变产生的突变性状可以直接利用, 故对 M₀ 代群体进行全生育期性状观察。结果显示, 变异主要出现在叶片形态、叶片颜色、植株矮化以及果实特征等 4 个表型特征。其中, 叶片形态变异最为常见, 占总变异的 62.5%, 而果实特征的变异最少, 仅占 2.2%。这一发现与前人^[29]的研究结果基本一致。

在检测猕猴桃突变体的方法上, 前人已经尝试使用分子标记技术。刘平平等^[30]利用 ISSR 分子标记分析, 证实了辐射诱变能引起猕猴桃的变异, ISSR 可准确检测样本是否为突变体。陈树丰等^[7]在对猕猴桃进行辐射处理后进行 SSR 扩增, 发现随着辐射剂量的提高, 多态性也显著增加。本研究中, 利用 SRAP 分子标记技术, 在各突变体与‘红阳’猕猴桃之间成功地扩增出差异条带, 也证明分子标记技术能有效检测突变情况。然而, 分子标记技术可能无法覆盖所有变异情况, 建议在使用分子标记的同时, 结合表型分析以更精确地统计突变率。为了提升猕猴桃辐射诱变育种的效率, 建议通过基因组

重测序等高通量的分子手段进行快速检测^[12], 以便在苗期就能确定遗传变异大、更容易出现表型变异的植株; 通过分子手段对特定性状进行定向选择, 也是未来发展的方向。

参考文献:

- [1] 黄宏文. 猕猴桃属 分类 资源 驯化 栽培[M]. 北京: 科学出版社, 2013.
- [2] TESTOLIN R, HUANG H W, FERGUSON A R. The Kiwifruit Genome[M]. Switzerland: Springer International Publishing, 2016: 15–36.
- [3] WANG R C, SHU P, ZHANG C, et al. Integrative analyses of metabolome and genome-wide transcriptome reveal the regulatory network governing flavor formation in kiwifruit(*Actinidia chinensis*)[J]. *New Phytologist*, 2022, 233(1): 373–389.
- [4] 陈兴涛, 岁立云, 刘晓敏, 等. 我国猕猴桃育种现状及发展趋势[J]. *四川农业科技*, 2016(8): 48–49.
- [5] 夏文娟, 郑丽, 孙雷明, 等. 中国猕猴桃杂交育种现状与展望[J]. *湖北农业科学*, 2021, 60(21): 12–15.
- [6] 方金豹, 钟彩虹. 新中国果树科学研究 70 年: 猕猴桃[J]. *果树学报*, 2019, 36(10): 1352–1359.
- [7] 陈树丰, 刘文, 杨妙贤, 等. ⁶⁰Co- γ 射线诱变猕猴桃枝条变异的 SSR 研究[J]. *安徽农业科学*, 2008, 36(27): 11679–11681.
- [8] 叶开玉, 李洁维, 蒋桥生, 等. 猕猴桃 ⁶⁰Co- γ 射线辐射诱变育种适宜剂量的研究[J]. *广西植物*, 2012, 32(5): 694–697.
- [9] KUBO T, YAMAGATA Y, MATSUSAKA H, et al. Whole-genome sequencing of rice mutant library members induced by N-methyl-N-nitrosourea mutagenesis of fertilized egg cells[J]. *Rice*, 2022, 15(1): 38.
- [10] 闵子扬, 韩小霞, 李勇奇, 等. 中国南瓜突变体库构建及表型变异的初步分析[J]. *核农学报*, 2021, 35(4): 761–768.
- [11] 周书栋, 杨博智, 欧立军, 等. 辣椒突变体库的构建及突变群体表型变异分析[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2017, 43(1): 31–36.
- [12] SUN J, LUU N S, CHEN Z H, et al. Generation and characterization of a foxtail millet(*Setaria italica*) mutant library[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 369.
- [13] BI M X, WANG Z J, CHENG K Y, et al. Construction of transcription factor mutagenesis population in tomato using a pooled CRISPR/Cas9 plasmid library[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2023, 205: 108094.
- [14] 王驰, 黄伟, 龚玲, 等. 辐射诱变冰糖橙早熟突变体的遗传鉴定与品种特性[J]. *核农学报*, 2023, 37(11): 2117–2125.

- [15] 周丹蓉, 叶新福, 方智振, 等. ^{60}Co - γ 辐射诱变李新品种福红的差异性状及果实品质分析[J]. 核农学报, 2023, 37(12): 2317-2326.
- [16] 王存喜, 程炳嵩, 李雅志, 等. 中华猕猴桃耐盐变异体筛选[J]. 核农学报, 1990, 4(4): 206-212.
- [17] 周立名, 王飞, 王佳. EMS 诱变处理定向筛选猕猴桃耐盐突变体研究[J]. 西北农业学报, 2009, 18(5): 330-335.
- [18] WU J H, FERGUSON A R, MURRAY B G. Manipulation of ploidy for kiwifruit breeding: chromosome doubling in diploid *Actinidia chinensis* Planch.[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2011, 106(3): 503-511.
- [19] 杨爱红, 刘腾云, 周利斌, 等. 猕猴桃种子高能碳离子束辐射诱变育种适宜剂量的研究[J]. 江西科学, 2019, 37(6): 839-845.
- [20] 杨娜, 叶琴霞, 魏卓, 等. EMS 诱导红阳猕猴桃耐寒突变体的筛选及转录组分析[J]. 广西植物, 2023, 43(9): 1700-1709.
- [21] 刘丽, 高登涛, 魏志峰, 等. “红阳”猕猴桃同源多倍体诱导及其初期表型差异分析[J]. 中国南方果树, 2023, 52(1): 118-120.
- [22] WU J H, FERGUSON A R, MURRAY B G, et al. Induced polyploidy dramatically increases the size and alters the shape of fruit in *Actinidia chinensis*[J]. Annals of Botany, 2012, 109(1): 169-179.
- [23] PREDIERI S. Mutation induction and tissue culture in improving fruits[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2001, 64(2): 185-210.
- [24] 曾升坚. 多年生黑麦草再生体系的建立及农杆菌介导的小鼠金属硫蛋白(MT)基因遗传转化体系的研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2010.
- [25] HAN X, ZHANG Y L, ZHANG Q, et al. 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, 2023, 16(2): 452-470.
- [26] YU X F, QIN M Y, QU M H, et al. Genomic analyses reveal dead-end hybridization between two deeply divergent kiwifruit species rather than homoploid hybrid speciation[J]. The Plant Journal, 2023, 115(6): 1528-1543.
- [27] YUE J Y, LIU J C, TANG W, et al. Kiwifruit Genome Database(KGD): a comprehensive resource for kiwifruit genomics[J]. Horticulture Research, 2020, 7: 117.
- [28] TALEBI A B, TALEBI A B, SHAHROKHIFAR B. Ethyl methane sulphonate(EMS) induced mutagenesis in Malaysian rice(cv. MR219) for lethal dose determination[J]. American Journal of Plant Sciences, 2012, 3(12): 1661-1665.
- [29] 胡延吉, 梁红, 刘文. 猕猴桃辐射诱变育种研究初报[J]. 中国农学通报, 2012, 28(19): 146-151.
- [30] 刘平平, 叶开玉, 龚弘娟, 等. 猕猴桃 ^{60}Co - γ 射线辐射诱变植株变异的 ISSR 分子标记研究[J]. 西南农业学报, 2016, 29(10): 2457-2462.

责任编辑: 毛友纯
英文编辑: 柳 正