

猕猴桃的组织培养和遗传转化研究进展

秦永华, 张上隆*, 朱道圩

(浙江大学园艺系, 杭州 310029; 河南农业大学林学院园艺学院, 郑州 450002)

摘要: 综述了国内外猕猴桃组织培养和遗传转化研究进展, 内容包括花药培养、胚培养、胚乳培养、子叶、叶、茎段等器官培养、原生质体培养以及遗传转化等, 并对生物技术在猕猴桃研究中存在的问题以及今后在猕猴桃中的应用前景进行了讨论。

关键词: 猕猴桃; 组织培养; 遗传转化

中图分类号: S662 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-9977(2004)01-57-05

猕猴桃是20世纪人工驯化栽培野生果树最有成就的四大树种之一(猕猴桃、美洲鳄梨、美国东部越桔以及澳洲坚果)^[1], 全世界最近统计已公开发表命名的有66个种、约118个种下分类单位(变种、变型)^[2]。猕猴桃果实风味独特, 富含营养, Vc含量高, 且含有钙、镁、磷、铁等多种矿质营养及17种氨基酸, 此外还具有药用价值, 有“水果之王”之美誉。另一方面, 猕猴桃属雌雄异株, 倍性复杂, 雌雄株间花期不遇使种间杂交困难, 育种周期长, 且有不稳定性, 给育种工作者带来了难度, 因此需要引进新的手段和方法进行育种。近年来随着重要农艺性状基因的鉴定和分离、重组DNA以及离体培养再生植株等技术的改进, 为解决猕猴桃育种所面临的困难提供了新的机遇。生物技术在植物中的运用是随组织培养的发展而兴起的。猕猴桃的组织培养开展较早, 近年来在原生质体培养、遗传转化等方面也取得了重大进展, 将成为猕猴桃品种改良的重要手段。本文就生物技术在猕猴桃研究中的进展作一综述。

1 花药培养

植物花药培养是获得单倍体植株的重要途径, 而单倍体植株经染色体加倍以后可得到纯合二倍体, 缩短育种周期, 是育种和研究遗传规律的好材料。花药培养能否成功诱导出再生植株及诱导频率高低受供试材料、培养基组成、培养方式以及培养条件等多种因素影响。通过花药培养产生植株一般有两种途径: 一是通过胚状体阶段直接发育成小植株; 二是先生成愈伤组织, 再诱导其分化植株。1980年Tripathi等^[3]用中华猕猴桃的花丝在含有2mg/L IAA的

液体MS培养基上培养产生了根, 这些根经进一步诱导长出了芽, 并得到再生植株。1986年, Fraser和Harvey^[4]对猕猴桃两个种的花药进行培养, 获得胚状体和小植株。由于单倍体植株生长发育较弱, 雌、雄配子都严重败育, 因此培育单倍体猕猴桃植株一般没有直接应用价值。但通过培育出的单倍体株系形成的相关技术, 在猕猴桃生物技术研究中, 具有重要意义。它既可以用于研究花粉细胞分化条件和胚胎发生机理, 也可为深入开展猕猴桃遗传工程和发育分子生物学的研究提供技术基础, 从而提高选择效果, 缩短育种周期。

2 离体胚培养

植物离体胚培养能够解决远缘杂交的败育问题, 那些不能形成具有生活力种子的杂交组合可通过离体胚的培养获得杂种植株。1990年, 母锡金等^[5]利用胚拯救技术成功地得到美味猕猴桃×毛花猕猴桃的种间杂种植株。经检测, 杂种实生苗根尖细胞近半数含有近4倍性染色体数(4x=16), 另半数为其他倍性。1991年, Mu等也利用胚拯救技术成功地得到猕猴桃的种间杂种^[6]。2001年, Hirsch^[7]等对不同猕猴桃属的种和品种进行了广泛的杂交实验, 通过杂种胚的培养, 得到了狗枣猕猴桃×中华猕猴桃、狗枣猕猴桃×美味猕猴桃、软枣猕猴桃×葛枣猕猴桃和葛枣猕猴桃×对萼猕猴桃的再生植株, 并对亲本和子代的多倍性进行了细胞学鉴定。远缘杂交所得的种子常表现为发芽率低, 而结合离

胚培养可增加杂种植株的数量,进而为提高变异率提供了可能。胚培养技术也可用来打破休眠,从而缩短猕猴桃的育种周期。

3 胚乳培养

猕猴桃果实小,且有大量的种子,如果能获得无籽或少籽的大果型猕猴桃,对提高品质有重要的意义。胚乳是双受精的产物,是三倍体组织,通过胚乳培养可以获得三倍体植株。由于三倍体一般表现巨大型和高度不育性,从而有助于培育出无籽或少籽猕猴桃优良品种。我国在这方面的研究居世界领先地位。早在1982年,黄贞光等^[8]报道了从中华猕猴桃的胚乳获得三倍体植株,并运用细胞学方法对胚乳胚状体的根尖和完整植株根尖的染色体进行观察,结果表明:通过胚状体途径获得的胚乳植株三倍体占较大比例,其次是四倍体和二倍体,还有少数六倍体、非整倍体和混倍体,在猕猴桃育种中这些都是很宝贵的材料。据报道,至今已经对美味猕猴桃(*A. deliciosa*)^[9,10]、中华猕猴桃(*A. chinensis*)^[8,9]、软枣猕猴桃(*A. arguta*)^[10]、狗枣猕猴桃(*A. kolomikta*)^[10]等基因型种质资源进行了胚乳培养,获得了再生植株。胚乳培养得到的植株与亲本相比,可分为正常组、超亲组和矮化组,为育种工作提供了多种变异材料^[11]。

4 子叶、叶、茎段等器官培养

自从1975年Harada最早报道了硬毛猕猴桃的茎和根切块的离体培养,形成芽、根和球形胚以来,猕猴桃的组织培养研究取得了较大的进展(见表1)。适宜的外植体包括茎段、茎尖、叶片、叶柄、子叶等,但主要以叶片和茎段为外植体,通过脱分化和再分化得到再生植株。常用的培养基为MS培养基,也有采用N₆、MT、B₅等其他培养基。在细

胞分化过程中附加的激素有:ZT、KT、2,4-D、2ip、6-BA、CPPU等。其中ZT、2,4-D最常用。猕猴桃的组织培养对于无性系快速繁殖、品种改良和基础理论研究具有重要的实用价值,建立高效、可重复的再生体系对于遗传转化及无性系变异的筛选具有重要意义。

5 原生质体培养及融合

植物原生质体由于没有细胞壁,是基础研究及作物改良的理想材料之一。它既可以直接摄入外源DNA,又可以进行不同种属,甚至亲缘更远的体细胞融合而获得体细胞杂种,直接应用于植物的遗传改良,因而倍受育种者的青睐。自1971年Takebe首次报道烟草原生质体经离体培养得到再生植株以来,植物原生质体培养取得了可喜的进展,从原生质体培养得到再生植株的例证逐年增加。据统计,到1993年有分属于49个科,146个属的320多种植物经原生质体培养得到了再生植株^[23]。猕猴桃原生质体培养从1983年开始,当时Cassio等^[24]从中华猕猴桃叶片和愈伤组织分离原生质体获得成功,此后猕猴桃属植物原生质体培养的研究取得了较大的进展。至今已经对中华猕猴桃、毛花猕猴桃、美味猕猴桃、软枣猕猴桃等基因型种质资源进行了原生质体分离、培养研究,其中中华猕猴桃、毛花猕猴桃和美味猕猴桃3个种获得了再生植株,并对美味猕猴桃再生植株无性系变异进行了细胞遗传学研究(见表2)。随着原生质体培养技术的不断完善,利用原生质体融合技术改良猕猴桃也取得了一定进展。肖尊安等^[25,26]通过PEG融合法,进行了中华猕猴桃、美味猕猴桃以及狗枣猕猴桃种间的原生质体融合,获得了再生植株,经鉴定证明得到了猕猴桃属种间体细胞杂种。原生质体融合可以转移细胞核中的染色体组、染色体、染色体片段,或者是细

表1 利用猕猴桃不同外植体培养再生植株进展

种类	外植体	参考文献
美味猕猴桃(<i>A. deliciosa</i>)	叶柄	Oliveira, 1991 ^[12]
	叶切块	Marino 等, 1998 ^[13]
	茎尖, 茎段, 根尖	Souad 等, 1998 ^[14]
	叶切块	Chamail 等, 1999 ^[15]
	无菌苗的根	Kumar 等, 2001 ^[16]
中华猕猴桃(<i>A. chinensis</i>)	茎段	Kamenicka, 1990 ^[17]
	叶切块	Ludvova, 1998 ^[18]
软枣猕猴桃(<i>A. arguta</i>)	叶片和茎段	张远记等, 1996 ^[19]
	叶片愈伤组织	朱道圩, 1997 ^[20]
狗枣猕猴桃(<i>A. kolomikta</i>)	茎段	Kovac, 1993 ^[21]
葛枣猕猴桃(<i>A. polygama</i>)	试管苗叶片、叶柄和茎段	Sugawara, 1994 ^[22]

表 2 猕猴桃原生质体培养研究进展

种	品种 / 品系	结果	参考文献
美味猕猴桃 (<i>A. deliciosa</i>)	株系 26 号	微嫁接加速原生质体再生植株生长和结果	Ke 等, 1993 ^[27]
		再生植株	Tsai, 1988 ^[28]
	Abbott	再生植株	Cai 等, 1993 ^[29]
		再生植株	Mii 等, 1988 ^[30]
	Hayward	再生植株	Oliveira 等, 1991 ^[12]
	Matsua 和 M59	小孢子原生质体培养再生壁	Fraser 等, 1988 ^[31]
		形成体胚	Oliveira 等, 1992 ^[32]
	Hayward	再生植株	Raquel 等, 1996 ^[33]
	实生后代	再生植株	肖尊安等, 1992 ^[34]
		愈伤组织生理特性影响原生质体生长和分化 原生质体再生植株细胞遗传学研究	肖尊安等, 1992 ^[35] 何子灿等, 1995, 1997 ^[36, 37]
中华猕猴桃 (<i>A. chinensis</i>)	实生后代	愈伤组织生理特性影响原生质体生长和分化 叶片和愈伤组织的原生质体分离	肖尊安等, 1992 ^[35] Cassio, 1983 ^[23]
		再生植株	肖尊安等, 1992 ^[34]
毛花猕猴桃 (<i>A. eriantha</i>)	实生后代	再生植株	张远记等, 1995 ^[38]
软枣猕猴桃 (<i>A. arguta</i>)	实生后代	形成细胞团	朱道圩等, 2001 ^[39]

胞质中的叶绿体 DNA 及线粒体 DNA。这一手段配合常规育种技术, 可望选育到优良的品种, 丰富猕猴桃属植物资源。

6 遗传转化

遗传转化是利用重组 DNA、组织培养或种质系统转化等技术, 采用生物、物理、化学等方法, 将外源基因转移到受体植物细胞中去, 并通过组织培养形成完整的含有外源基因的植株, 以期达到改良其遗传性状的目的。猕猴桃的遗传转化研究起步较晚, 始于 20 世纪 90 年代初期, 而研究进展较为迅速。猕猴桃遗传转化主要采用叶盘共培养法和 DNA 直接摄入法, 转化材料主要是美味猕猴桃。1990 年, Gonzalez^[40] 等用海沃德的叶柄、叶片与根癌农杆菌 G746 共培养 48h, 然后将外植体进行培养, 诱导出愈伤组织与类似胚状体的瘤状物。Uematsu 等^[41] 用海沃德的下胚轴为材料, 通过根癌农杆菌 EHA101 介导, 获得了表达 NPT II 和 GUS 的猕猴桃转化体。Yamakawa 等^[42] 以猕猴桃的叶片为外植体, 通过与根癌农杆菌共培养, 获得了“Hayward”、“Matsua”、“Abbott”和“Bruno”的转基因植株。近几年, 猕猴桃品质改良的基因工程得到发展。郭卫东等^[43] 利用 Lfy cDNA 转化猕猴桃, 以期提高其早实性。Kusaba 等^[44] 向猕猴桃中转入可以改变形态特性的同源水稻基因 OSH1, 其转化植株表现出小叶、矮化、叶缘开裂和无顶端优势等特征, RNA 杂交试验表明该基因型的 OSH1 表达量明显超过

野生型的转化植株。如果将该成果应用于生产, 将会大大减轻劳动量。Makamura 等^[45] 将大豆 β -1, 3- 内切葡聚糖酶基因转入猕猴桃, 其转化植株的抗病性高于对照。樊军锋等^[46] 在建立秦美猕猴桃叶片最佳再生系统的基础上, 利用叶盘法和基因枪相结合的方法进行了秦美猕猴桃双价耐盐基因 *mtlD/gutD* 的转化研究, 经诱导得到抗性转化植株。PCR 及耐盐试验初步证明耐盐基因转化获得成功。遗传转化研究将对猕猴桃品种改良起到积极推动作用, 在改良猕猴桃某些性状选育新品种方面具有广阔的应用前景。它可以有目的、有计划地向猕猴桃引入优良性状而不需要改变它原有的其它特性, 使猕猴桃品种改良具有定向性和预见性; 应用遗传转化可以在猕猴桃幼苗期对转化植株进行筛选和鉴定, 从而大大缩短得到稳定遗传的新品种所需要的时间。

7 存在问题与应用前景

十几年来, 生物技术在猕猴桃遗传育种、品质改良上已取得了重大进展, 尤其是最近几年, 进展很快。特别是 Lfy cDNA、OSH1、 β -1, 3- 内切葡聚糖酶、双价耐盐 *mtlD/gutD* 等基因的导入, 以及转基因植株的获得, 给猕猴桃育种带来了新的希望。目前猕猴桃遗传转化存在的主要问题有: 1) 猕猴桃遗传背景复杂, 重要性状常受多基因控制, 不易分离到有价值的目的基因。目前遗传转化中所应用的外源基因皆不是来自猕猴桃基因组本身; 2) 猕猴桃的遗传转化主要采用根癌农杆菌介导和 DNA 直接摄

入法,这两种方法均要求外植体能够再生植株,需要很长时间才能得到转化植株。若转入有实用价值的目的基因,经检测确定为转基因植株后,还需进行大田试验和有用性状的遗传性鉴定才能应用于生产,这又需要很长时间,且转化效率不高;3)转基因可能产生一些潜在的负面影响,比如转基因猕猴桃植株生产的果实的食用安全性以及可能带来生态灾难等,还需要法定的安全检测程序加以评估。

不过,猕猴桃多采用无性繁殖,不存在后代基因分离问题,外源基因易于保持;再加上目前猕猴桃生物技术研究已有一定基础,已经建立起了较为完善的再生体系,有些品种已获得导入有价值的目的基因的转化植株,因此生物技术在猕猴桃品种改良上具有巨大的应用潜力。未来的研究应从下列几个方面着手:首先,进一步完善猕猴桃外植体的再生系统,建立高效、稳定而且对基因型可较广泛应用的转化和再生体系;其次,积极开发或创新更有效的遗传转化方法,并广泛收集不同基因型的猕猴桃种质资源,以便筛选出容易再生的基因型进行遗传转化,提高遗传转化效率;最后,加强猕猴桃目的基因的分离与克隆研究,现在猕猴桃目的基因的转化研究还比较少,如果将猕猴桃上的一些优良功能基因分离和克隆出来,将会极大地促进猕猴桃转基因技术的发展和应

参 考 文 献

- [1] WARRINGTON I J, WESTON G C. Kiwifruit, Science and Management [M]. Ray Richards Publisher, 1990, 193 — 204.
- [2] 黄宏文主编. 猕猴桃研究进展[M]. 科学出版社, 2000, 65 — 79.
- [3] TRIPATHI B K, SAUSSAY R. Sur la multiplication vegetative de l' *Actinidia chinensis* planchon, "Chinese gooseberry" par culture de raciness issue de filets staminaux [J]. *Comptes Rendus Hebdomadaires des se'ances de l'Academic des Sciences, D*, 1980, **291**(13): 1067 — 1069.
- [4] FRASER L G, HARVEY C F. Somatic embryogenesis from anther-derived callus in two *Actinidia* species [J]. *Sci Hort*, 1986, **29**: 335 — 346.
- [5] 母锡金, 王文玲, 蔡达荣等. 猕猴桃属美味猕猴桃和毛花猕猴桃种间杂交的胚胎学和胚拯救[J]. *植物学报*, 1990, **32** (6): 425 — 431.
- [6] MU X J, TSAI D R, AN H X, WANG W L. Embryology and embryo rescue of interspecific hybrids in *Actinidia* [J]. *Acta Hort*, 1991, **297**: 93 — 98.
- [7] HIRSCH A M, TESTOLIN R. Embryo rescue from interspecific crosses in the genus *Actinidia* (kiwifruit) [J]. *Plant Cell Reports*, 2001, **20**(6): 508 — 516.
- [8] 黄贞光, 皇甫幼丽, 徐乐茵. 猕猴桃胚乳培养获得三倍体植株[J]. *科学通报*, 1982, (4): 248 — 250.
- [9] 桂耀林, 徐延玉, 母锡金. 猕猴桃胚乳培养中的胚胎发生[J]. *武汉植物学研究*, 1988, **6**(4): 395 — 397.
- [10] MACHNO DOROTA, PRZYWARA LESLAW. Endosperm culture of *Actinidia* species [J]. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 1997, **39**(1): 55 — 61.
- [11] GUI Y, HONG S, KE S, *et al.* Fruit and vegetative characteristics of endosperm-derived kiwifruit (*Actinidia chinensis*) [J]. *Euphytica*, 1993, **71**(1/2): 57 — 62.
- [12] OLIVEIRA M M, PAIS M S. Plant regeneration from protoplasts of long-term callus cultures of *Actinidia deliciosa* cv. Hayward (kiwi fruit)[J]. *Plant Cell Rep*, 1991, (10): 643 — 646.
- [13] MARINO Grazia, BERTAZZA GIANPAOLO. Selection-pressure effects of medium pH during regeneration on successive performances of leaf-derived "Tomuri" and "Hayward" kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) somaclones cultured on proliferation culture media with variable pH[J]. *J Hort Sci Biotech*, 1998, **73**(5): 664 — 669.
- [14] SOUAD B, LIONAKIS S M, GERASOPOULOS D. Effect of explant type on proliferation and rooting of kiwifruit *in vitro* [J]. *Advance in Hort Sci*, 1998, **12**(3): 123 — 126.
- [15] CHAMAIL A, KUMAR S. Regeneration of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) cv. "Hayward" from leaf callus [J]. *Indian Journal of Hort*, 1999, **56**(4): 279 — 285.
- [16] KUMAR S, SHARMA D R. Micro propagation from *in vitro* roots of kiwifruit [J]. *Indian Journal of Plant Physiology*, 2001, **6**(1): 95 — 97.
- [17] KAMENICKA A, KYPAK M. The regeneration of *Actinidia chinensis* planch. Cultured *in vitro* [J]. *Plant Breeding Abstract*, 1990, **60**: 5643.
- [18] LUDVOVA A, OSTROLUCKA M G. Morphogenic processes in callus tissue cultures and de novo regeneration of planlets of *Actinidia chinensis* Planch [J]. *Acta Soci Botanicorum Poloniae*, 1998, **67**(3/4): 217 — 222.
- [19] 张远记, 钱迎倩. 软枣猕猴桃试管苗叶片和茎段的愈伤组织诱导及植株再生[J]. *西北植物学报*, 1996, **16**(2): 137 — 141.
- [20] 朱道圩. 软枣猕猴桃叶片愈伤组织分化再生植株[J]. *植物生理学通讯*, 1997, **33**(2): 127 — 128.
- [21] KOVAC J. Micro propagation of *Actinidia kolomikta* [J]. *Plant cell, tissue and Organ cult.*, 1993, **35**(3): 301-305.
- [22] SUGAWARA F, YAMAMOTO N, TANAKA O. Plant regeneration *in vitro* culture of leaf, stem and petiole segment of *Actinidia polygama* Miq [J]. *Plant Tissue Cult Lett*, 1994, **11**(1): 14 — 18.
- [23] 余叔文, 汤章城. 植物生理与分子生物学(M). 科学出版社, 1998, 30 — 53.
- [24] CASSIO F, MARION G. Ortoflorofruit[J]. *Ital*, 1983, **67**: 455 — 464.
- [25] 肖尊安, 韩碧文. 猕猴桃原生质体融合和植株再生. *细胞生物学杂志*, 1995, (增刊): 24 — 25.
- [26] 肖尊安, 沈德绪, 林伯年. 中华猕猴桃原生质体再生植株[J]. *植物学报*, 1992a, **34**(10): 736 — 742.
- [27] KE S Q, CAI Q, Skirvin R M, *et al.* Micrografting speeds growth and fruiting of protoplast-derived clones of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) [J]. *Hort Sci*, 1993, **68**(6): 837 — 840.

- [28] TSAI C K. Plant regeneration from leaf callus protoplasts of *Actinidia chinensis* Planch var. *chinensis* [J]. *Plant Sci.*, 1988, **54**: 231 - 235.
- [29] CAI Q K, QAN Y Q, KE S Q, *et al.* Regeneration of plants from protoplasts (*Actinidia deliciosa*) in: Bajaj Y.P S eds, *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Berlin Heidelberg spring - verlay(C). 1993, (23): 3 - 17.
- [30] MII M, OHASHI H. Plantlet regeneration from protoplasts of Kiwifruit *Actinidia chinensis* Planch [J]. *Acta Hort*, 1988, **230**: 167 - 170.
- [31] Fraser L G, Harvey C F. Preparation of protoplasts microspore tetrads of kiwifruit, *Actinidia deliciosa* (*Actinidiaceae*) [J]. *Sci Hort*, 1988, **37**: 117 - 121.
- [32] OLIVEIRA M M, PAIS M S S. Somatic embryogenesis in leaves and leaf-derived protoplasts of *Actinidia deliciosa* var. *deliciosa* cv. Hayward (kiwi) [J]. *Plant Cell Rep*, 1992, **11**: 314 - 317.
- [33] RAQUEL M HELENA, OLIVEIRA M, MARGARIDA. Kiwifruit leaf protoplasts competent for plant regeneration and direct DNA transfer [J]. *Plant Sci (Shannon)*, 1996, **121** (1): 107 - 114.
- [34] 肖尊安, 沈德绪, 林伯年. 中华猕猴桃原生质体再生植株 [J]. *植物学报*, 1992a, **34**(10): 736 - 742.
- [35] 肖尊安, 沈德绪, 林伯年. 猕猴桃愈伤组织的生理差异与原生质体生长和分化的关系. *植物生理学报*, 1992, **18** (4): 369 - 375.
- [36] 何子灿, 蔡起贵, 柯善强等. 美味猕猴桃原生质体再生植株细胞遗传学研究 I [J]. 体细胞染色体数的变化. *武汉植物学研究*, 1995, **13**(2): 97 - 101.
- [37] 何子灿, 蔡起贵, 柯善强等. 美味猕猴桃原生质体再生植株细胞遗传学研究 II [J]. 性别性状变异和小孢子发育及其发育命运. *武汉植物学研究*, 1997, **15**(3): 199 - 207.
- [38] 张远记, 母锡金, 蔡起贵等. 毛花猕猴桃原生质体再生植株 [J]. *植物学报*, 1995, **37**(1): 48 - 52.
- [39] 朱道圩, 秦永华, 鄧玉保等. 软枣猕猴桃原生质体培养与细胞团再生的初步研究 [J]. *河南农业大学学报*, 2001, **35** (3): 221 - 223.
- [40] GONZALEZ M V. Morphogenetic patterns in kiwi tissue culture and after *Agrobacterium* co-culture [J]. *Acta Hort*, 1990, **282**: 358 - 364.
- [41] UEMASTSU C, MURASE M, ICHIKAWA H, *et al.* *Agrobacterium*-mediated transformation and regeneration of kiwifruit [J]. *Plant Cell Reports*, 1991, **10**(6/7): 286 - 290.
- [42] YAMAKAWA Y, CHEN LI-HUNG. *Agrobacterium rhizogenes* mediated transformation of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) by direct formation of adventitious buds [J]. *Journal of the Japanese Society for Hort Sci*, 1996, **64**(4): 741-747.
- [43] 郭卫东, 沈向, 李嘉瑞等. 利用 Lfy cDNA 转化猕猴桃的研究 [J]. *园艺学报*, 1999, **26**(2): 116 - 117.
- [44] KUSABA S, YURIKO K M, MAKOTO M, *et al.* Expression of the rice homeobox gene, OSH1, causes morphological changes in transgenic kiwifruit [J]. *Journal of the Japanese Society for Hort Sci*, 1999, **68**(3): 482 - 486.
- [45] NAKAMURA Y, SAWADA H, KOBAYASHI S, *et al.* Expression of soybean beta-1, 3-endoglucanase cDNA and effect on disease tolerance in kiwifruit plants [J]. *Plant Cell Reports*, 1999, **18**(7-8): 527 - 532.
- [46] 樊军锋, 李嘉瑞, 韩一凡等. MtlD/gutD 双价耐盐基因转化秦美猕猴桃的研究 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2002, **30**(3): 53 - 58.

Advances of Research in Tissue Culture and Genetic Transformation on Kiwifruit

QIN Yong Hua¹, ZHANG Shang Long*, ZHU Dao Yu

(¹Department of Horticulture, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; ²College of Forestry and Horticulture, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The paper reviewed the advances of research in tissue culture and genetic transformation on kiwifruit, including anther culture, *in vitro* embryo culture, endosperm culture, cotyledon, leaf and stem culture, protoplast culture and genetic transformation. Suggestion was given to the future research work of those fields.

Key words: kiwifruit; tissue culture; genetic transformation

*Author for correspondence, E-mail: shlzhang@zju.edu.cn