

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕТОДЫ
В ИССЛЕДОВАНИИ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ
РОДА *ACTINIDIA* LINDL.****Мацькив А.О., Маляровская В.И.**

Федеральный исследовательский центр
«Субтропический научный центр Российской академии наук»,
г. Сочи, Россия, e-mail: matskiv_a@mail.ru

В предлагаемом литературном обзоре проанализированы результаты по различным аспектам биотехнологических и молекулярно-генетических направлений исследований представителей рода *Actinidia* Lindl. Показано, что несмотря на генетическое разнообразие актинидии, обеспечивающее огромный потенциал для улучшения хозяйственно-биологических показателей сортов, существуют биологические особенности (включая сильный характер роста побегов, 3–5-летний ювенильный период, раздельнополая природа и полиплоидная структура), которые часто являются препятствием для достижения определённых селекционных целей по сравнению со многими другими сельскохозяйственными культурами. Поскольку двудомность и полиплоидия актинидии часто ограничивают возможность размножения, то соматическая гибридизация может помочь обеспечить преодоление межвидовой несовместимости для получения ценного материала с желательными признаками от двух видов. Также приведены данные о разработанных методах выделения протопластов из каллуса, суспензионных культур, мезофилла листа и семян различных генотипов *Actinidia*. Особое внимание уделяется культуре клеток, тканей и органов *in vitro*, которое является важным методом биотехнологии растений, и эффективно применяется для клонального микроразмножения сортов и видов актинидии. Показано определяющее значение видовых особенностей в реализации морфогенетического потенциала и приведены оптимальные питательные среды и концентрации регуляторов роста на всех этапах микроразмножения. Проанализированы также результаты об использовании молекулярных маркеров для изучения генетической характеристики представителей рода *Actinidia*. Приведены данные о том, что большая часть ранних разработок молекулярных маркеров была направлена в первую очередь на изучение филогении видов *Actinidia*, что в целом соответствует традиционной классификации, основанной на морфологии. Первоначальные исследования ещё были направлены на детерминацию пола, и молекулярные маркеры подтвердили, что раздельнополая природа актинидии есть следствие определяющих пол генов, локализованных на паре хромосом. Также молекулярные маркеры позволили улучшить зародышевую плазму путём систематического скрещивания растений, отобранных на основе их внутри- и межвидовых филогенетических отношений и типов аллельного разнообразия, и отбора родительских растений с желательными аллелями.

Ключевые слова: *Actinidia deliciosa*, культура *in vitro*, регуляторы роста, микроразмножение, молекулярные маркеры, полимеразная цепная реакция.

Актуальной задачей для обеспечения продовольственной безопасности является интенсификация производства плодово-ягодной продукции, привлечение перспективных культур и расширение их сортимента.

Среди плодово-ягодных культур высокой пищевой ценностью обладают плоды актинидии деликатесной *Actinidia deliciosa* (A. Chevalier) Liang. et. Ferg., они являются отличным источником витаминов С и Е, фолиевой кислоты, калия, катехинов, пектинов, дубильных и красящих веществ, флавоноидов, алкалоидов и других соединений, а также отличаются высокими антиоксидантными свойствами, оказывающими благоприятное воздействие на организм человека [1,2].

Род актинидия (*Actinidia* Lindl.) относится к семейству Актинидиевых – Actinidiaceae Hutch. Род *Actinidia* Lindl включает 110 таксонов и 60 видов [16]. Согласно учению академика Н.И. Вавилова, представители рода *Actinidia* Lindl. относятся к юго-восточному азиатскому центру. Из литературных источников известно, что на территории России актинидии в диком виде произрастают в Приморском и Хабаровском краях, на Сахалине и южных островах Курильской гряды. Перечисленные районы составляют ареал наиболее зимостойкого вида актинидии коломикта (*A. kolomicta* (Maxim.) Baill.). Более теплолюбивый вид – актинидия аргутова (*A. arguta* (Sieb. et Zucc.) Planch.), встречается в Приморском крае, на юге Сахалина и Кунашире. Актинидия полигама (*A. polygama* (Sieb. et Zucc.) Maxim. и актинидия Джиральди (*A. giraldi* (Sieb. et Zucc.) лишь на самом юге Приморья. Особо теплолюбивыми, произрастающими в Юго-Восточной Азии, считаются: актинидия пурпурная (*A. purpurea* (Maxim.)), актинидия китайская (*A. chinensis* (var. *nispida*) Planch.), актинидия деликатесная (*A. deliciosa* (A. Chevalier) Liang. et. Ferg.). Род Актинидии насчитывает около 36 видов и более 50 разновидностей [9]. Более десяти видов рода *Actinidia* Lindley характеризуются съедобными плодами.

По мнению некоторых авторов, субтропики России, благодаря сочетанию природно-климатических факторов, уникальный и единственный регион промышленного выращивания *A. deliciosa* [1,2]. Растения этой культуры завезены в Россию в 1987 году, что вызвало большой интерес у садоводов. Выращивание актинидии деликатесной даёт возможность получать высококачественные и экологически чистые плоды, так как они не повреждаются вредителями и болезнями в данном регионе, что исключает целесообразность применения пестицидов [7, 9].

С целью увеличения производства плодовой продукции для закладки плантаций необходимо применять оздоровленный высококачественный посадочный материал, выращенный с использованием современных биотехнологических методов.

Размножение *in vitro* является наиболее распространенным методом пролиферации для многих видов плодовых культур, таких как виноград, фисташковые, *Actinidia* [29] и другие. Расширение производства *Actinidia* в мире привело к растущему спросу на посадочный материал. Традиционные методы размножения (черенки и прививки) были дополнены микроразмножением *in vitro* [29].

Разработка и оптимизация биотехнологических приёмов тесно связана с биологическими особенностями растений различных таксономических групп. Как российские, так и зарубежные учёные активно проводят исследования по изучению влияния генетических особенностей, компонентов в питательной среде на регенерационную способность представителей рода *Actinidia* [5].

Эти методы позволяют за относительно короткий промежуток времени получать большее количество растений генетически идентичных исходной форме, чем при использовании стандартных способов вегетативного размножения, а также минимизировать потери материала и повысить экономическую эффективность. Технология клонального микроразмножения позволяет выращивать посадочный материал круглый год, тем самым, обеспечивая непрерывность процесса производства [4, 48].

Микроразмножение актинидии было впервые описано Harada (1975) [19] и в дальнейшем работы в этом направлении продолжены другими авторами [36, 42]. В процессе микроразмножения актинидии применяют общепринятые приёмы работы с культурами изолированных тканей и органов растений.

Одной из актуальных проблем клонального микроразмножения является получение стерильных жизнеспособных культур. При этом немаловажно определить оптимальный период введения эксплантов в культуру. Так, некоторыми авторами установлено, что оптимальным для получения максимального количества жизнеспособных регенерантов актинидии является отбор первичных эксплантов в период начала активного роста побегов (апрель – начало мая). Частота регенерации при этом составляла 70...80 %, в зависимости от генотипа [5]. Также успех введения в культуру *in vitro* растительного материала во многом определяется качеством стерилизации. Выбор стерилизатора зависит от особенностей экспланта. Чем нежнее растительная ткань, тем меньше должна быть концентрация стерилизующего агента, чтобы сохранить её жизнеспособность. Размножение растений *in vitro* – развитое

направление биотехнологии, однако для многих культур, в первую очередь для сортов древесных, до сих пор не разработаны эффективные протоколы микроразмножения. Основные причины этого заключаются в низком выходе стерильных эксплантов на этапе введения в культуру и низких коэффициентах размножения и укоренения микропобегов в пассажах. Поверхностная стерилизация эксплантов и обработки антибиотиками не освобождают ткани растений от эндофитной микрофлоры, но часто провоцируют вирулентность обитающих в них латентных микроорганизмов. В процессе культивирования бактерии и грибы могут проявиться в первом или, что происходит чаще, после нескольких пассажей (так называемая вторичная инфекция) [3]. Часто внутреннее заражение исходных эксплантов бывает намного сильнее, чем поверхностное. Известно, что при введении растительных эксплантов в стерильную культуру они подвергаются стрессовому воздействию из-за повреждения тканей и обработки агрессивными стерилизующими веществами, антибиотиками и др. Это может быть причиной внезапного возникновения вредоносных эндофитов в процессе последующего пассирования. Какой фактор изменяет характер взаимодействия эндофита и его хозяина, приводя к развитию патологического процесса вместо мутуалистических взаимоотношений, пока неясно. Единственным способом контролировать процессы в таких системах остается выбор оптимального времени пассирования, условий культивирования и состава питательной среды для поддержания мутуалистического симбиоза, выгодного как для растения-хозяина, так и для его эндофитов [8]. Вместе с тем, часто для предотвращения заражения в культуре эксплантов, растительный материал предварительно обрабатывают фунгицидами и антибиотиками против грибной и бактериальной инфекций [6].

Подбор дезинфицирующих веществ при стерилизации первичных эксплантов проводят с учётом их эффективности и минимальной фитотоксичности. Кроме того, в зависимости от типа тканей представителей рода *Actinidia* применяют различные протоколы стерилизации. Так, У Revilla с соавторами (1992) отмечена особая эффективность при использовании протокола стерилизации узловых сегментов и апикальных частей побегов *A. deliciosa* путем обеззараживания гипохлоритом натрия (до 1,5 % по массе) с небольшим количеством детергента.

Исследователями W. Zhong с соавторами (2021) выявлено, что увеличение времени стерилизации 70 % спиртом и 15 % гипохлорита натрия (NaClO) до 60 с приводило к снижению степени контаминации эксплантов, в то время как скорость некротических процессов постепенно увеличивалась, а выживаемость сначала увеличилась, а затем снижалась. В результате, оптимальный результат стерилизации авторами достигнут

при обработке сегментов побегов актинидии сорта «Гуйчан» 70%-ным спиртом в течение 30–60 с и 15%-ным NaClO в течение 15 мин соответственно, где контаминация и некроз составил ниже 20 %, при этом выживаемость эксплантов превысила 70 % [48].

При культивировании эксплантов актинидии часто применяют питательную среду на основе МС, дополненную различными комбинациями регуляторов роста. Кроме того, используют и другие составы питательных сред: Гамборга В5 или среду Quoirin с модификациями Standardi (1981). Так, Молкановой О.И. с соавторами (2018) для культивирования регенерантов разных видов актинидии: *A. arguta*, *A. kolomikta*, *A. polygama* на этапе собственно микроразмножения успешно применялась питательная среда с минеральной основой QL и с добавлением 6-бензиламинопурина (6-БАП) в концентрации 0,3, 0,5 и 1,0 мг/л [4]. Другие исследователи для пролиферации эксплантов *A. deliciosa* применяли питательную среду по прописи Мурасиге и Скуга (МС) без содержания в ней регуляторов роста [48].

Однако регуляторы роста имеют немаловажное значение на этапе введения эксплантов в культуру. Так, известно, что для индукции пролиферации эксплантов в питательные среды часто добавляют зеатин, поскольку считают, что применение бензиладенина (БА) вызывает гипергидроз листьев. При этом Moncalean et al., (2001) приведены данные, в которых действие БА на культуры апикальных побегов актинидии не приводило к гипергидратации эксплантов [25].

Имеются также сведения о положительном эффекте регулятора роста 6-БАП в концентрации 0,3-1,0 мг/л на пролиферацию эксплантов *A. arguta*, *A. kolomikta*, *A. Polygama*. Исследователи при этом отмечали различия в регенерационной способности видов *Actinidia* в культуре *in vitro*. Так, ими выявлено, что экспланты *A. kolomikta* на этапе собственно микроразмножения при использовании различных концентраций 6-БАП характеризовались меньшим коэффициентом размножения по сравнению с *A. arguta* и *A. polygama*, что коррелирует с особенностями развития этих видов в природных условиях [5]. Авторы считают, что на этапе собственно микроразмножения при культивировании *A. arguta* и *A. kolomikta* наиболее эффективно использовать питательную среду QL с 6-БАП в концентрации 0,5 мг/л, для *A. polygama* – 1,0 мг/л [5]. Также с повышением концентрации 6-БАП от 0,3 до 1,0 мг/л у исследуемых видов наблюдали увеличение числа микропобегов и коэффициента размножения. Так некоторые авторы отмечают наилучший показатель пролиферации у актинидии, составлявший в среднем пять побегов на эксплант. По литературным данным также известно, что для микроразмножения

сортов мужских форм актинидии применяют питательные среды, дополненные цитокинином тидиазуроном (TDZ) и m-topolin.

Молкановой О.И. и Крахмалевой И.Л. (2021) выявлены общие закономерности в реализации морфогенетического потенциала мужской, женской и обоеполой форм, принадлежащих к разным видам актинидии в условиях *in vitro*. Сорты женских растений *A. kolomikta* имели наибольшее значение коэффициента размножения (от 5,2 до 9,0 шт./экспл. в зависимости от сорта), чем мужские (6,3) и обоеполая форма (4,3). В тоже время у *A. polygama* получены другие результаты, так один из сортов женской формы отличался наименьшим значением коэффициента размножения (6,6) по сравнению с мужской формой (7,4) и одной из женских (7,5) [5].

Многими зарубежными исследователями также отмечен характерный органогенный потенциал у различных эксплантов родственных видов актинидии в зависимости от используемых типов эксплантов и уровня комбинации регуляторов роста [34, 42]. Как известно, цитокинины имеют решающее значение для индукции органогенеза культуры. Так, некоторыми авторами эффективная индукция органогенеза была получена при использовании в питательной среде зеатина, бензиладенина и тидиазурона (ТДЗ). Rey с соавторами (1992) показали, что при уменьшении концентрации минеральной основы в питательной среде и концентрации цитокининов повышалась индукция микропобегов в эксплантах сорта 'Hayward' [35]. Наряду с цитокининами ауксины также имеют важное значение в индукции органогенных процессов. Так, низкие концентрации ауксина, индолилуксусной кислоты (ИУК), повышали индукцию органогенеза актинидии [35]. В то же время другими авторами отмечено, что органогенный ответ улучшался при повышенных концентрациях другого ауксина нафталинуксусной кислоты (НУК), тогда как 2,4-дихлорфеноксиуксусная (2,4-Д) оказывала на эти процессы отрицательное действие [29].

Ким и другие (2007) описали эффективный протокол регенерации при использовании поперечных срезов побегов (толщиной 800 мкм) в качестве эксплантатов, при котором увеличена скорость и коэффициент размножения с одного экспланта. При этом отмечено, что тип образовавшегося каллуса имеет решающее значение для индукции органогенеза [35]. Органогенный потенциал эксплантатов мужских и женских тканей растений актинидии различается и связано это с различными уровнями эндогенных цитокининов и ауксинов [29]. Экспланты женских растений *A. deliciosa* показали более высокий органогенный потенциал, чем мужские экспланты. При этом показан различный морфогенный потенциал, так экспланты из мужских растений продуцируют каллус и побеги, а

женские индуцировали ризогенез [15]. Hirsch и Bigny-Fortune (1979) сообщили о потере хлорофилла в клеточных суспензиях, содержащих 2,4-Д, полученных из стеблевых сегментов женских генотипов, тогда как с мужскими генотипами этого не происходило. Есть также данные, что на черешках сорта 'Hayward' образование органогенного каллуса ограничено срезанной частью экспланта, соприкасающегося с индукционной средой, в тоже время черешки мужских сортов реагировали с образованием каллуса по всей поверхности экспланта [32]. На индукцию органогенеза могут влиять и другие факторы, например, уровень сахара в культуральной среде и качество света.

Интересные также результаты приведены Arigita с соавторами (2003), показывающие ингибирование этилена в апикальных сегментах с помощью аминоэтоксивинилглицина (AVG), 1-метилциклопропена (1-МСП) или его снижение в культуральной атмосфере с применением проветриваемых колб, при этом увеличивается количество и длина микропобегов, образующихся на эксплантах [11,12].

Известно, что *Actinidia* относится к легко укореняемым культурам, поэтому уже через 45 дней культивирования процент спонтанного корнеобразования может составлять в среднем 96 %, а с применением ауксинов ИУК и ИМК экспланты укоренялись уже на 10–14 день. При этом, авторами выявлена эффективность действия ИУК (97 %) на процент укоренившихся растений по сравнению с ИМК (76 %) [5].

Укоренение микропобегов достигается кратковременным погружением (15–20 с) в раствор с высокой концентрацией индол-3-масляной кислоты (ИМК) (до 5 мМ) с последующим переводом на половинную концентрацию Cheng (1975) культуральной среды или в стерильную субстратную смесь для укоренения *ex vitro*. Некоторыми авторами отмечено, что микропобеги актинидии укоренялись при низких концентрациях ИМК, но в течение более длительного периода, поэтому их переносили на питательную среду с добавлением активированного угля [33].

Этап акклиматизации растений актинидии к условиям *ex vitro* обеспечивается путём постепенного снижения относительной влажности. Уменьшение света во время акклиматизации способствует улучшению выживаемости. Ряд авторов отмечает, что при обогащении углекислым газом (до 600 мкмоль/моль) атмосферы при культивировании эксплантов также повышается адаптационный потенциал актинидии [10].

Известно, что растения актинидии успешно адаптируются к условиям *ex vitro* на питательном субстрате, состоящем из торфа и мха сфагнума (90...100 % адаптированных растений). По данным Молкановой О.И. и соавторов (2021) высаженные на коллекционно-производственный

участок адаптированные в течение 4–5 месяцев растения *A. kolomikta* впервые начинали цветение и плодоношение на третий год выращивания [5]. Есть мнение, что микроразмноженные в условиях *in vitro* растения показывают задержку цветения на один год и более низкую эффективность в поглощении энергии и разделении фотоассимилятов [29], что предположительно можно отнести к индукции ювенильности ткани.

В научной литературе в настоящее время много работ посвящено индукции мутаций и соматоклональным вариациям растений *Actinidia*. Так Prado и другие (2005, 2007) выяснили, что сорт ‘Томури’, и Клон А после многочисленного цикла культивирований *in vitro* показали на основе AFLP анализа повышенную генетическую изменчивость по сравнению с полевыми растениями [31, 32]. Chiariotti с соавторами (1991) обнаружена изоферментная изменчивость среди растений сорта ‘Томури’, регенерированных из *in vitro*. Voase и Hopping (1995) получили из культуры пазушных почек гексаплоидных растений додекаплоидные растения. Marino и Bertazza (1998) регенерировали из сегментов листьев соматклоны *A. deliciosa* при различных вариациях pH. Они показали, что высокий уровень pH делает растения более устойчивыми к повышенному pH уровню среды. Культура протопластов также может вызывать генетическую изменчивость (протоклональную изменчивость) по различным признакам регенерированных растений, например, цитология, морфология и резистентность [22]. Liu и другие (2003) сообщили, что числа хромосом растений, регенерированных из протопластов варьировали от 59 до 310, с разными уровнями плоидности: как анеуплоиды, диплоиды, тетраплоиды или гексаплоиды. В той же самой работе сообщалось об изменении пола, так как треть регенерированных из женских растений *A. deliciosa* были получены мужскими растениями [22]. Также есть сообщение о морфологических различиях: в длине междоузлий, длине и ширине листа, и длине черешка среди растений-регенерантов, полученных из протопластов *A. deliciosa* [22]. Некоторые авторы пытались провести мутационную селекцию с помощью гамма-облучения пазушных и придаточных почек актинидии, однако этим методом улучшенных генотипов получено не было. Fraser с соавторами (1991) и Harvey с другими исследователями (1995) проводили удвоение хромосом с помощью обработок колхицином, однако идентифицировано было очень мало удвоенных проростков. Wu и другие (2011) выделили тетраплоидные растения из пяти разных генотипов *A. chinensis* при обработке колхицином. В этой работе, небольшие экспланты, индуцированные из черешков, погружали в раствор колхицина (0,05 или 0,1%-ный) на 4 ч, промывали стерильной водой и по-

вторно культивировали для индукции побегов. При этом для получения тетраплоидных побегов оптимальной была обработка 0,05%-ным колхицином. Есть данные, что плоды автотетраплоидов индуцированных из трёх женских сортов актинидии с красной мякотью были на 50–60 % больше, чем плоды их диплоидных родителей, и эта характеристика оставалась стабильной в течение четырех лет [44].

Роль молекулярных маркеров в современной генетике трудно переоценить. Использование молекулярных маркеров позволяет значительно ускорять процесс селекции. В настоящее время молекулярные маркеры широко используются для характеристики генетического разнообразия видов актинидии. Для генетической характеристики чаще всего используются молекулярные маркеры полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLPs), случайно амплифицированные полиморфные ДНК (RAPD) и полиморфизм длины амплифицированного фрагмента (AFLP), проводится оценка соматоклональной изменчивости регенерированных *in vitro* растений [32], дается прогноз сроков цветения мужских растений и характеристика генетического и эпигенетического разнообразия с относительным уровнем ploидности у *A. chinensis* [23]. Генетическое разнообразие также анализируют с использованием повторов коротких последовательностей (микросателлитов или SSR) и SSR маркеры используют для создания генетических карт [39]. Однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) ценны для характеристики генетического разнообразия в эволюционных и экологических исследованиях природных популяций разных видов актинидии. Настоящие работы позволяют по-новому взглянуть на использование ДНК маркеров в исследованиях филогенетических, биогеографических и интрогрессии актинидии. Melo с соавторами (2017) сообщили, что Североамериканская коллекция морозостойких растений актинидии была подвергнута деконволюции путем секвенирования (GBS) [24]. Некоторые из этих молекулярных маркеров можно использовать для вспомогательной селекции (MAS), особенно для ранней идентификации пола. Некоторые исследователи Gill et al. (1998) трансформировали два сцепленных с полом маркера RAPD в маркеры амплифицированных областей с характерной последовательностью (SCAR), которые в настоящее время обычно используются для идентификации и выбраковки мужских растений на стадии рассады в программах селекции в Новой Зеландии. Маркеры SSR также были применены для идентификации различий мужских и женских растений в потомстве и для молекулярных исследований гермафродитизма и самосовместимости [37].

Молекулярные исследования видов *Actinidia* изначально были сосредоточены на клонировании нескольких представляющих интерес генов, особенно тех, которые экспрессируются в тканях плодов. Есть сообщение о характеристике новых генов, во многих случаях, клонированных из базы данных меток экспрессируемых последовательностей плодов актинидии (EST) и участвующих в различных аспектах развития плодов. Они включают шесть генов фермента липоксигеназы (LOX), связанных с ароматом, две ликопиновые бета-циклазы (LCY-β), гены, связанные с накоплением каротиноидов, 14 ксилоглюкан-эндотрансглюкозилаза/гены гидролазы (XTH), участвующие в созревании плодов [13] и ген L-галактозогуанилтрансферазы, кодирующий фермент, участвующий в биосинтезе аскорбата [21].

Идентифицированы два гена гликозилтрансферазы, F3GT1 и F3GGT1, которые вовлечены в пути биосинтеза антоцианов и флавоноидов растений актинидии с красной мякотью, из *Actinidia latifolia* клонирован ген l-галактозодегидрогеназы (AlGalDH) [38]. Новые знания профилирования транскриптома во время развития плодов и их созревания будут стимулировать дальнейшие исследования в этом направлении.

Также вызывает интерес аспект цветения растений, так как для актинидии это критический процесс развития. Некоторыми исследователями выявлены фрагменты с гомологией генов идентичности меристемы цветков LFY и AP1, а также идентифицированы и функционально охарактеризованы девять генов MADS-box (FUL-подобные, FUL, AP3-1, AP3-2, PI, AG, SEP1, SEP3 и SEP4) которые требуются для развития цветочной меристемы и спецификации органов цветка [41]. Кроме того, были обнаружены гены, подобные SVP (короткая вегетативная фаза), и идентифицированы, с потенциально различными ролями в состоянии покоя почек и цветения [43]. Также были идентифицированы и охарактеризованы гены, кодирующие SOC1 и FT, интеграторы эндогенных и экологических сигналов, способствующие процессам цветения. Другие аспекты развития цветка, которые рассмотрены в литературе, включают характеристики двух терпенсинтаз, которые могут составлять основные цветочные летучие сесквитерпены, наблюдаемые как в мужских, так и женских цветках *A. deliciosa* [28] и ген (S)-линалоолсинтазы, кодирующий терпенсинтазу, связанную с цветочным ароматом у *A. arguta*.

Одной из первых целей для исследователей была идентификация генов, участвующих в определении пола. Ввиду многочисленных накопившихся генетических данных об определении пола у растений актинидии, позволяют предположить, что активная Y-система функций у *Actinidia* с принадлежностью к мужским растениям, определяется

двумя сцепленными и доминантными локусами, картированные в субтеломерной области размером 1 млн п.н. хромосомы 25 [47]. Гены, содержащиеся в этой области, неизвестны, хотя Kim с соавторами (2010) идентифицировали среди 15 дифференциально экспрессируемых генов в мужских и женских цветках, два с известными функциями. Они кодируют пектинметилэстеразу, участвующую в развитии пыльцы, и аденозиндифосфат (АДФ)-рибозилирование, фактор, играющий важную роль в транспортировке везикул. Ранние молекулярные исследования сообщали об экспрессии ограниченного количества генов, которые по-разному экспрессировались во время определенных процессов или этапов развития.

Доступные геномные инструменты, т. е. обширная база данных EST по актинидии и первый проект последовательности генома этой культуры, начали генерировать больше данных. В связи с этим, в 2015 г. был создан Международный консорциум для исследований в этом направлении и получения новой информации. Другие геномные ресурсы включают ДНК, ассоциированную с сайтом рестрикции (RAD), основанную на картах сцепления, сравнительную базу данных для геномики актинидии и первую полную последовательность генома хлоропластов в этом семействе [45], эволюция которого была недавно проанализирована. В. Avsar и D.E. Aliabadi (2015) выявили предполагаемые микроРНК и Y. Li с соавторами (2015) установили профили экспрессии генов биосинтеза и накопления антоцианов [14, 23]. Важной частью функциональных геномных исследований является использование количественного анализа полимеразной цепной реакции (qPCR) для определения экспрессии на уровне транскрипции этих генов, которые идентифицированы с помощью геномных инструментов. Для получения точных относительных данные экспрессии в qPCR, необходимо использовать соответствующие эталонные гены для нормализации. М. Petriccione и др. (2015) оценили девять референтных генов-кандидатов в листьях *A. deliciosa* в течение первого периода взаимодействия (13 дней после прививки) с *Psa* [30]. Y. Ferradás с соавторами (2016) провели систематическое исследование восьми пар праймеров соответствующих четырем референтным генам-кандидатам в пяти растительных наборах образцов (зрелые листья, пазушные почки, рыльца пестика, мякоть плода и семена), обычно используемые в анализе экспрессии генов актинидии. Но наиболее масштабные исследования функциональной геномики были связаны с развитием и созреванием плодов, т. е. ролью этилена во время созревания. Синтез и передача сигналов этилена в отношении к этим процессам (в частности, к созреванию плодов)

рассмотрено многими учёными [27, 46]. Из последовательности генома *Actinidia* было идентифицировано 105 новых генов ERF, принадлежащие к разным подсемействам, но все они отображали один домен AP2/ERF. Выявлено в результате анализа экспрессии генов восемь генов AdERF тесно связанных с созревaniem и размягчением плодов актинидии, включая четыре предполагаемых активатора и четыре предполагаемых репрессора. Есть сообщение, что гены α -экспансина при воздействии этилена экспрессируются во время смягчения плодов. С другой стороны, изучение профилей экспрессии нескольких генов, связанных с лигнином, показали, что лигнин накапливается при хранении плодов актинидии в холодильнике, что снижает съедобные качества плодов. Х. Ну и другие (2016) идентифицировали и охарактеризовали пять генов как потенциально участвующих в деградации крахмала во время употребления плодов актинидии при послеуборочном созревании [20]. Вкус, цвет и содержание витаминов являются важными характеристиками, связанными с созреванием плодов. Günther и др. (2011) изучили изменения в стационарных уровнях транскриптов ацилтрансфераз актинидии (AT) для выбора последовательностей, потенциально кодирующих спиртовые AT, которые могут участвовать в биосинтезе сложных эфиров. Они оценили их участие в формировании фруктовых эфиров, связанных со вкусом, идентифицировав повышенные уровни транскриптов, характерные для спелых плодов фруктов, регулируемых этиленом. Эти авторы также обнаружили, что синтез сложных эфиров, связанных с ароматом, уменьшался в ответ на хранение в холодильной камере, однако со временем их восстанавливали обработкой этиленом [18]. Известно, что терпены и их производные связаны с ароматом актинидии. N.J. Nieuwenhuizen и др. (2015) показали, что синтез терпинолена в спелых плодах *A. arguta* коррелирует с экспрессией терпенсинтазы1 (AaTPS1). Сравнительный анализ промоторов позволил им идентифицировать факторы транскрипции как ключ для выражения TPS [27]. Сообщалось также о С6-альдегидах, как об активных вкусовых нотах в плодах актинидии, их продукция опосредована по LOX. Zhang и др. (2006) описали, как несколько LOX кодирующие гены, связанные с созреванием и чувствительные к этилену связаны с высвобождением из созревших плодов ароматических соединений.

Интродуцированные новые сорта и сорта с красной мякотью плодов, в настоящее время представляют наибольший интерес. Антоцианы, каротиноиды и хлорофиллы отвечают за разный цвет плодов. М. Montefiori и др. (2011) идентифицировали две гликозилтрансферазы (F3GT1 и F3GGT1) которые отвечают за большую часть разнообразия

антоцианов. В то время как F3GGT1 отвечает за конечный продукт пути, F3GT1 является ключевым ферментом, регулирующим накопление антоцианов у сортов с красной мякотью плодов [26]. Li и другими (2015) проведён филогенетический анализ генома актинидии с последующим исследованием транскриптов уровней предполагаемого антоцианина генов, находя дифференциальные уровни их экспрессии [23]. Они также использовали филогенетический анализ для идентификации девяти факторов транскрипции, потенциально вовлеченных в метаболизм антоцианинов по данным транскриптома. Было показано, что хранение при низкой температуре стимулирует накопление антоцианов в плодах, регулируя структурные и регуляторные гены участвующие в биосинтезе антоцианов.

Изучение регуляции цветения чрезвычайно важно у актинидии из-за зависимости от опыления. E.F. Walton с соавторами (2001) идентифицировали гомологи цветочной меристемы арабидопсиса идентичных генов LEAFY и APETALA1, при этом анализ гибридизации *in situ* показал, что цветение происходит через два года [41]. Позднее Varkonyi-Gasic и соавторы (2011) описали цветочное развитие актинидии на молекулярном уровне, выявив девять генов MADS-box *Actinidia* в качестве генетических маркеров развития соцветий и цветков, потенциально влияющих на рост, изменение фазы и время цветения растений [40]. Описана роль FT актинидии, известная у других видов как цветочный интегратор, но также Varkonyi-Gasic с соавторами (2013) и Voogd с другими учеными (2017) исследовали гены CEN, BFT или FD, играющие роль в интеграции сигналов развития в окружающей среде, которые влияют на покой, распускание почек и цветение. Однако предположительно, функциональный анализ и анализ экспрессии SOC1-подобных генов культуры, также описанный как цветочный интегратор, может не играть роли в процессе перехода к цветению, но может влиять на продолжительность покоя. Другие гены MADS-box с гомологией с SVP *Arabidopsis* были идентифицированы Wu и другими (2012), которые предположительно, играют различную роль в период покоя почек и цветения [43]. Также были идентифицированы белки плода актинидии, которые обратно коррелируют с весенним распусканием почек.

Известно, что SVP3 снижает накопление антоцианина в лепестках трансгенной *A. eriantha*. По мнению некоторых исследователей, в основе лежат механизмы снижения экспрессии ключевого структурного гена F3GT1 [26] и транскрипции регуляторных факторов MYB, т. е. MYB110a, необходимого ключевого гена для пигментации лепестков актинидии. Регулирование сроков цветения необходимо для гарантии того, чтобы половое размножение происходило в подходящее время для обеспечения перекрестного опыления культуры. У многих видов

растений сроки цветения зависят от сезонных признаков, т. е. фотопериода и температуры. Актинидия подвержена воздействию зимних температур необходимых для синхронного распускания почек и эффективного цветения, но менее ясно, играет ли роль фотопериод в цветении. Ferradás и др. (2017) идентифицировали гены, кодирующие фитохромы и криптохромы актинидии, и определили их суточный и годовой характер экспрессии, показав, что они были значительно выражены от позднего цветочного развития до полного цветения и соответствовали цветочному развитию, близко совпадающему с пиками экспрессии AcFT- и AcCO-подобных генов [17].

У актинидии обычно более 1 000 семян в каждом плоде. Исследования по взаимодействию пыльца-пестик определили, что программируемая клеточная гибель (PCD) происходит в женских тканях после цветения и ускоряется опылением. При этом, некоторые гены, связанные с биосинтезом и передачей сигналов этилена, обнаруживают корреляцию с признаками PCD у неопылённых и опылённых цветков.

В обзоре нами показано, что молекулярные карты, базы данных и изучение генома актинидии накопили обширную информацию, которая может быть подтверждена другими методами, в основном генетической трансформацией. Этот набор инструментов позволяет проводить детальный анализ многих и очень разных аспектов биологии *Actinidia*. Молекулярно-генетические методы могут эффективно применяться в систематике, филогении, биологии, изучении качества плодов, получении новых сортов, а также устойчивости культуры к новым сложным патогенам. Новые и перспективные технологии геномного редактирования, такие как TALEN или CRISPR Cas, несомненно, будут стимулировать новые исследования и открытия в области регенерации растений из протопластов и каллусной культуры. Вместе с тем некоторые аспекты биотехнологии этой культуры еще предстоит изучать и совершенствовать. В том числе критические технологии, такие как соматический эмбриогенез актинидии остаётся пока малоизученным.

*Публикация подготовлена в рамках реализации
государственного задания ФИЦ ШЦ РАН FGWR-2021-0008,
№ госрегистрации 122032300347-3*

Список литературы/References

1. Беседина Т.Д., Тутберидзе Ц.В., Добежина С.В. Экологическая характеристика интродуцированных сортов *A. deliciosa* в условиях влажных субтропиков России, Науч. журнал КубГАУ. 2014; 100(06) : 79-86. [Besedina T.D., Tutberidze Ts.V., Dobezhina S.V. Ecological characteristics of introduced varieties of *A. deliciosa* in the humid subtropics of Russia, Scientific journal of the KubGAU. 2014; 100(06) : 79-86. (In Rus)].

2. Беседина Т.Д., Тутберидзе Ц.В., Киселёва Н.С. Научно обоснованный сортимент актинидии деликатесной для возделывания во влажных субтропиках России, Плодоводство и ягодоводство России. 2019; 59 : 108-118. [Besedina T.D., Tutberidze Ts.V., Kiseleva N.S. Scientifically based assortment of actinidia delicatessen for cultivation in the humid subtropics of Russia, Pomiculture and small fruits culture in Russia. 2019; 59 : 108-118. (In Rus)]. DOI: 10.31676/2073-4948-2019-59-108-118.
3. Маляровская В.И. Особенности получения стерильной культуры камелии японской (*Camelia japonica* L.), Субтропическое и декоративное садоводство. 2012; 47(2) : 161-167. [Malyarovskaya V.I. Features of obtaining a sterile culture of Japanese camellia (*Camelia japonica* L.), Subtropical and ornamental horticulture. 2012; 47(2) : 161-167. (In Rus)].
4. Молканова О.И., Королева О.В., Стахеева Т.С., Крахмалева И.Л., Мелешук Е.А. Совершенствование технологии клонального микроразмножения ценных плодовых и ягодных культур для производственных условий, Достижения науки и техники АПК. 2018; 32 (9) : 66-69. [Molkanova O.I., Koroleva O.V., Stakheeva T.S., Krakhmaleva I.L., Meleshchuk E.A. Improving the technology of clonal micro-reproduction of valuable fruit and berry kultour for production conditions, Achievements of Science and Technology of AIC. 2018; 32 (9) : 66-69. (In Rus)]. DOI: 10.24411/0235-2451-2018-10915.
5. Молканова О.И., Крахмалева И.Л. Сохранение и размножение представителей рода *Actinidia* Lindl. в культуре *in vitro*. Биологическое разнообразие и интродукция растений, 2021; 1 : 122-126. [Molkanova O.I., Krakhmaleva I.L. Conservation and reproduction of representatives of the genus *Actinidia* Lindl. in *in vitro*-culture. Biological diversity and Plant Introduction, 2021; 1 : 122-126. (In Rus)]. DOI: 10.24412/cl-36598-2021-1-122-126.
6. Рахмангулов Р.С., Маляровская В.И., Самарина Л.С. Влияние предобработки побегов фундука на эффективность введения эксплантов *in vitro*, Субтропическое и декоративное садоводство. 2018; 65 : 118-125. [Rakhmangulov R.S., Malyarovskaya V.I., Samarina L.S. Influence of hazelnut shoot pretreatment on the effectiveness of *in vitro* explant administration, Subtropical and ornamental horticulture. 2018; 65 : 118-125. (In Rus)].
7. Рындин А.В., Тутберидзе Ц.В., Гребенюков С.Н., Грязев В.А. Вегетативное размножение *Actinidia deliciosa* в условиях субтропиков России при применении стимуляторов роста, Сельскохозяйственная биология. 2014; 3 : 59-64. [Ryndin A.V., Tutberidze Ts.V., Grebenyukov S.N., Gryazev V.A. Vegetative reproduction of *Actinidia deliciosa* in the subtropics of Russia with the use of growth stimulants, Agricultural biology. 2014; 3 : 59-64. (In Rus)].
8. Самарина Л.С., Маляровская В.И., Рогожина Е.В., Малокова Л.С. Эндофитные микроорганизмы как промоутеры роста растений в культуре *in vitro*, Сельскохозяйственная биология. 2017; 52(5) : 917-927. [Samarina L.S., Malyarovskaya V.I., Rogozhina E.V., Malyukova L.S. Endophytic microorganisms as promoters of plant growth in culture *in vitro*, Agricultural biology. 2017; 52(5): 917-927. (In Rus)]. DOI: 10.15389/agrobiology.2017.5.917eng.
9. Тутберидзе Ц.В. Новые сорта актинидии во влажных субтропиках России, Субтропическое и декоративное садоводство. 2018; 67 : 113-118 [Tutberidze Ts.V. New varieties of actinidia in the humid subtropics of Russia, Subtropical and ornamental horticulture. 2018; 67 : 113-118. (In Rus)]. DOI: 10.31360/2225-3068-2018-67-113-118.
10. Arigita L., Gonzalez A., Tames R.S. Influence of CO₂ and sucrose on photosynthesis and transpiration of *Actinidia deliciosa* explants cultured *in vitro*, *Physiologia Plantarum*. 2002; 115 : 166-173.
11. Arigita L., Tames S.R., Gonzalez A. 1-Methylcyclopropene and ethylene as regulators of *in vitro* organogenesis in kiwi explants, *Plant Growth Regulation*. 2003; 4 : 59-64.
12. Arigita L., Tames S.R., Gonzalez A. Ethylene biosynthesis and endogenous polyamines in relation to development of *in vitro* cultured kiwifruit explants, *Functional Plant Biology*. 2004; 31 : 603-609.

13. Atkinson R.G., Johnston S.L., Yauk Y., Sharma N.N., Schröder R. Analysis of xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase (XTH) gene families in kiwifruit and apple, *Postharvest Biology and Technology*. 2009; 51 : 149-157.
14. Avsar B. Aliabadi D.E. Putative microRNA analysis of the kiwifruit *Actinidia chinensis* through genomic data. *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*. 2015; 4 : 96-99.
15. Ferguson A.R., Seal A.G., McNeilage M.A., Fraser L.G. Harvey C.F., Beatson R.A. Kiwifruit. In: Janick, J. and Moore, J.N. (eds) *Fruit Breeding, Vol. II: Vine and Small Fruits*. Wiley, New York, 1996, 371-417.
16. Ferguson A.R. Kiwifruit (*Actinidia*), *Acta Horticulturae*. 1990; 290 : 603-653.
17. Ferradás Y., Martínez O., Rey M., González M.V. Identification and expression analysis of photoreceptor genes in kiwifruit leaves under natural daylength conditions and their relationship with other genes that regulate photoperiodic flowering, *Journal of Plant Physiology*. 2017; 213 : 108-121.
18. Günther C.S., Marsh K.B., Winz R.A., Harker R.F., Wohlers M.W., et al. The impact of cold storage and ethylene on volatile ester production and aroma perception in 'Hort16A' kiwifruit, *Food Chemistry*. 2015; 169 : 5-12. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.07.070.
19. Harada H. In vitro organ culture of *Actinidia chinensis* PL as a technique for vegetative multiplication. *Journal of Horticultural Science* 1975; 50 : 81-83.
20. Hu X., Kuang S., Zhang A.D., Zhang W.S., Chen M.J., et al. Characterization of starch degradation related genes in postharvest kiwifruit. *International Journal of Molecular Sciences* 2016; 17(12) : 2112. DOI: 10.3390 /ijms17122112.
21. Laing W.A., Wright M.A., Cooney J., Bulley S.M. The missing step of the l-galactose pathway of ascorbate biosynthesis in plants, an l-galactose guanyltransferase, increases leaf ascorbate content. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007; 104 : 9534-9539.
22. Liu J., Xu X., Deng X. Protoplast isolation, culture and application to genetic improvement of woody plants. *Food, Agriculture and Environment*. 2003; 1 : 112-120.
23. Liu Y., Li D., Yan L., Huang H. The microgeographical patterns of morphological and molecular variation of a mixed ploidy population in the species complex *Actinidia chinensis*. *PLOS ONE*. 2015; 10. e0117596.
24. Melo A., Guthrie R.S., Hale I. GBS-based deconvolution of the surviving North American. DOI: 10.1371/journal.pone.0170580.
25. Moncalean P., Rodriguez A., Fernandez B. In vitro response of *Actinidia deliciosa* explants to different BA incubation periods. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2001; 67 : 257-266.
26. Montefiori M., Espley R.V., Stevenson D., Cooney J., Datson P.M., et al. Identification and characterisation of F3GT1 and F3GGT1, two glycosyltransferases responsible for anthocyanin biosynthesis in red-fleshed kiwifruit (*Actinidia chinensis*), *Plant Journal*. 2011; 65(1) : 106-118. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2010.04409.x.
27. Nieuwenhuizen N.J., Chen X., Wang M.Y., Matich A.J., Lopez R., et al. Natural variation in monoterpene synthesis in kiwifruit: transcriptional regulation of terpene synthases by NAC and ethylene-insensitive3-like transcription factors, *Plant Physiology*. 2015; 167(4) : 1243-1258. DOI: 10.1104/pp.114.254367.
28. Nieuwenhuizen N.J., Wang M.Y., Matich A.J., Green S.A., Chen X., et al. Two terpene synthases are responsible for the major sesquiterpenes emitted from the flowers of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*), *Journal of Experimental Botany*. 2009; 60(11) : 3203-3219. DOI: 10.1093/jxb/erp162.
29. Oliveira M.M., Fraser L.G. *Actinidia* spp. kiwifruit. In: Litz, R.E. (ed.) *Biotechnology of Fruit and Nut Crops*. CAB International, Wallingford, UK, 2005, 2-27.

30. Petriccione M., Mastrobuoni F., Zampella L., Scortichini M. Reference gene selection for normalization of RT-qPCR gene expression data from *Actinidia deliciosa* leaves infected with *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, *Scientific Reports*. 2015; 5 : 16961. DOI: 10.1038/srep16961.
31. Prado M.J., Herrera M.T., Vazquez R.A., Romo S., Gonzalez M.V. Micropropagation of two selected male kiwifruit and analysis of genetic variation with AFLP markers, *HortScience*. 2005; 40 : 740-746.
32. Prado M.J., Gonzalez M.V., Romo S., Herrera M.T. Adventitious plant regeneration on leaf explants from adult male kiwifruit and AFLP analysis of genetic variation, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2007; 88 : 1-10.
33. Revilla M.A., Power J.B. Morphogenetic potential of long-term callus cultures of *Actinidia deliciosa*, *Journal of Horticultural Science*. 1988; 63 : 541-545.
34. Revilla M.A., Rey M.A., Gonzalez-Rio F., González M.V., Díaz-Sala C., Rodriguez R. Micropropagation of kiwi (*Actinidia* spp.). In: Bajaj, Y.P.S. (ed.) *High-Tech and Micropropagation II, Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Springer, Berlin. 1992; 18 : 399-423.
35. Rey M., Fernandez T., Gonzalez M.V., Rodriguez R. Kiwifruit micropropagation through callus shoot-bud induction, *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 1992; 28 : 148-152.
36. Rugini E., Gutierrez-Pesce P. Micropropagation of kiwifruit (*Actinidia* spp.). In: Jain, S.M. and Ishii, K. (eds) *Micropropagation of Woody Trees and Fruits*. Springer, Dordrecht, the Netherlands. 2003; 647-669.
37. Sakellariou M.A., Mavromatis A.G., Adimargono S., Nakabayashi K., Nakas C. Agronomic, cytogenetic and molecular studies on hermaphroditism and self-compatibility in the Greek kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) cultivar ‘Tsechelidis’, *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 2016; 91: 2-13. DOI: 10.1080/14620316.2015.1108542.
38. Shang Z., Wang X., Ma F., Liang D. Cloning of l-galactose dehydrogenase gene from *Actinidia latifolia* Merr. and its expression in *E. coli*, *Acta Horticulturae Sinica*. 2009; 36(12) : 1741-1748. ISSN: 0513-353X.
39. Testolin R., Huang W.G., Lain O., Messina R., Vecchione A., Cipriani G. A kiwifruit (*Actinidia* spp.) linkage map based on microsatellites and integrated with AFLP markers, *Theoretical and Applied Genetics*. 2001; 103 : 30-36.
40. Varkonyi-Gasic E., Moss S.M.A., Voogd C., Wu R., Lough R.H., et al. Identification and characterization of flowering genes in kiwifruit: sequence conservation and role in kiwifruit flower development, *BMC Plant Biology*. 2011; 11-72. DOI: 10.1186/1471-2229-11-72.
41. Walton E.F., Podivinsky E., Wu R.-M. Bimodal patterns of floral gene expression over the two seasons that kiwifruit flowers develop, *Physiologia Plantarum*. 2001; 111 : 396-404.
42. Wang T., Gleave A.P. Applications of biotechnology in kiwifruit (*Actinidia*). In: Agbo, E.C. (ed.) *Innovations in Biotechnology*. InTech, Rijeka, Croatia, 2012, 3-30.
43. Wu R.-M., Walton E.F., Richardson A.C., Wood M., Hellens R.P., Varkonyi-Gasic E. Conservation and divergence of four kiwifruit SVP-like MADS-box genes suggest distinct roles in kiwifruit bud dormancy and flowering, *Journal of Experimental Botany*. 2012; 63 : 797-807. DOI: 10.1093/jxb/err304.
44. Wu J.H., Ferguson A.R., Murray B.G., Jia Y., Datson P.M., Zhang J. Induced polyploidy dramatically increases the size and alters the shape of fruit in *Actinidia chinensis*, *Annals of Botany*. 2012; 109 : 169-179. DOI: 10.1093 / aob / mcr256.
45. Yao X., Tang P., Li Z., Li D., Liu Y., Huang H. The first complete chloroplast genome sequences in Actinidiaceae: genome structure and comparative analysis, *PLOS ONE*. 2015; 10 : e0129347. DOI: 10.1371/journal.pone.0129347.
46. Yin X.-R., Chen K.-S., Allan A.C., Wu R.-M., Zhang B., et al. Ethylene-induced modulation of genes associated with the ethylene signaling pathway in ripening kiwifruit, *Journal of Experimental Botany*. 2008; 59 : 2097-2108. DOI: 10.1093/jxb/ern067.
47. Zhang Q., Liu C., Liu Y., Van Buren R., Yao X., et al. High-density interspecific genetic

maps of kiwifruit and the identification of sex-specific markers, DNA Research. 2015; 22 : 367-375. DOI: 10.1093/dnares/dsv019.

48. Zhou J., Liu Y., Huang H. Characterization of 15 novel single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *Actinidia chinensis* species complex (Actinidiaceae), American Journal of Botany. 2011; 98 : e100-e102.

BIOTECHNOLOGICAL AND MOLECULAR METHODS IN THE STUDY OF THE GENUS *ACTINIDIA* LINDL. REPRESENTATIVES

Matskiv A.O., Malyarovskaya V.I.

Federal Research Centre
the Subtropical Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences,
Russia, Sochi, e-mail: matskiv_a@mail.ru

The proposed literature review analyzes various aspects of biotechnological and molecular genetic research directions for the genus *Actinidia* Lindl. representatives. It is shown that despite the genetic diversity of actinidia, which provides a huge potential for improving the economic and biological indicators in cultivars, there are certain biological features (including a strong shoot growth, 3–5-year juvenile period, diclinous nature and polyploid structure), which are often an obstacle to achieving certain breeding goals compared to many other agricultural crops. Since the dioecism and polyploidy in actinidia often limit the possibility of reproduction, somatic hybridization can help to overcome interspecific incompatibility in order to obtain valuable material with desirable traits from two species. Data on the developed methods for isolation of protoplasts from callus, suspension cultures, leaf mesophyll and cotyledons of various *Actinidia* genotypes are also presented. Special attention is paid to cell culture, tissues and organs *in vitro*, which is an important method in plant biotechnology, and is effectively used for clonal micro-propagation of actinidia cultivars and species. The paper shows a determining value of species features in the realization of morphogenetic potential and presents optimal nutrient media and concentrations of growth regulators at all stages of micro-reproduction. The results on molecular markers used to study the genetic characteristics of the genus *Actinidia* representatives have also been analyzed. The data shows that most of the early studies in molecular marking were primarily aimed at researching the phylogeny of *Actinidia* species, which generally corresponds to the traditional classification based on morphology. Initial studies were still focused on sex determination, and therefore, molecular markers confirmed that the diclinous nature of actinidia is a consequence of sex-determining genes localized on a pair of chromosomes. Also, molecular markers have made it possible to improve germplasm, systematically crossing plants selected based on their intra- and interspecific phylogenetic relationships and types of allelic diversity, and selecting parent plants with desirable alleles.

Key words: *Actinidia deliciosa*, *in vitro* culture, growth regulators, micropropagation, molecular markers, polymerase chain reaction.