

# 分子标记在葡萄遗传育种研究中的应用

张 娜, 李 群

(新疆大学 生命科学与技术学院, 新疆 乌鲁木齐 830046)

**摘要:**分子标记是随着分子生物学技术的发展出现的一类重要的遗传标记,近年来发展迅速。分子标记技术是研究葡萄起源和新品种选育的重要工具,目前已在葡萄遗传育种等方面的研究中得到广泛应用。该文综述了近年来分子标记在葡萄种质资源鉴定、分子遗传图谱构建以及分子标记辅助育种等方面的应用,评述了分子标记在葡萄遗传育种等方面的应用前景以及目前存在的问题,以期为优质葡萄种质资源的挖掘和分子标记辅助育种提供一定的理论依据。

**关键词:**葡萄;分子标记;遗传育种;种质资源

**中图分类号:**S 663.1   **文献标识码:**A   **文章编号:**1001-0009(2014)16-0194-06

葡萄属葡萄科(Vitaceae)葡萄属(*Vitis*)多年生藤本植物,在世界各地广泛栽培。葡萄的种植历史非常悠久,可追溯至8 000 年前<sup>[1-2]</sup>。葡萄可鲜食、制干、制汁、酿酒,是一种重要的经济作物。目前,全世界保存的葡萄资源有5 000~15 000 个品种<sup>[3-5]</sup>。由于葡萄树体较大、童期较长、高度杂合的特性限制了对其进行遗传学研究,在遗传育种中需要耗费大量的人力、物力及时间。分子标记辅助选择(marker-assisted select, MAS)可以极大地提高育种选择效率。MAS 就是通过分析与目标基因紧密连锁的分子标记来判断目标基因是否存在,以及目标基因附近的基因型背景,其检测不受基因表达与否的影响,也不受其它基因的作用和环境因素的影响,因而结果可靠,同时还可在早期进行,MAS 辅助育种大大缩短了育种周期<sup>[6]</sup>。现对近年来DNA 分子标记在葡萄种质资源研究、分子遗传图谱构建及分子标记辅助选择等方面的应用进行综述,以期为葡萄种质资源研究和分子标记辅助选择育种提供理论依据。

## 1 种质资源研究

### 1.1 遗传多样性研究

遗传多样性一般是指种内的差异水平,反映一个物种适应环境的能力及其被改造、利用的潜力。遗传多样性的评价可以快速、准确选配亲本,提高育种效率<sup>[7]</sup>。

**第一作者简介:**张娜(1989-),女,硕士研究生,研究方向为植物生理与分子生物学。E-mail:747821023@qq.com。

**责任作者:**李群(1971-),女,博士,副教授,硕士生导师,现主要从事植物逆境生理与分子机制等研究工作。E-mail:liqun\_007@126.com。

**基金项目:**新疆维吾尔自治区重大科技专项资助项目(201130102-1-3)。

**收稿日期:**2014-04-20

随着分子生物学的迅猛发展,DNA 分子标记技术已广泛应用于葡萄遗传多样性研究。研究者们已经对意大利<sup>[8]</sup>、土耳其<sup>[9]</sup>、中国<sup>[10]</sup>、巴西<sup>[11]</sup>、摩洛哥<sup>[12]</sup>等地栽培葡萄品种和野生葡萄品种进行了遗传多样性研究,表明世界葡萄种质资源丰富,为葡萄遗传育种提供了丰富的亲本资源。Jahnke 等<sup>[13]</sup>利用 SSR 标记研究了砧木品种遗传相似度的多态性,发现砧木品种中有较高的遗传多态性,Teleki 5C 与 Teleki -Kober 5BB 的遗传距离最大,证明这 2 个样本是表型相似的不同基因型个体。Meneghetti 等<sup>[14]</sup>利用 AFLP、SAMPL 和 M-AFLP 分子标记研究了分别从意大利、法国、西班牙收集到的酿酒品种“歌海娜”53 份无性繁殖后代的遗传多样性,发现意大利样本遗传多样性水平最高,西班牙样本的遗传多样性水平最低;Jing 等<sup>[15]</sup>用 ISSR 标记对中国野生葡萄与美洲、欧洲葡萄的遗传关系进行了聚类分析,结果表明 70 份葡萄材料的遗传相似系数为 0.08~0.93,主要分为中国野生葡萄类群和欧美葡萄类群两大类群;张萌等<sup>[16]</sup>利用 SSR 分子标记引物分析了安徽黄山地区 40 份野生刺葡萄资源的遗传多样性,依据地理位置将黄山地区刺葡萄资源分为 3 个群体(POP1、POP2、POP3),3 个群体之间遗传相似度为 0.829~0.912,遗传距离为 0.093~0.188,表明黄山地区刺葡萄资源的遗传差异较少。现有葡萄遗传多样性的准确鉴定,为葡萄杂交育种亲本选择和选配提供了理论依据。现在国外研究者更倾向于多种分子标记联合使用,而这一做法在国内较为少见。

### 1.2 亲本鉴定

葡萄存在着许多天然杂种类型,还有一些品种则是实生选种或采用混合花粉杂交选育而成,这些品种无法判断其亲本<sup>[17]</sup>。DNA 分子标记技术则为葡萄的亲本鉴定提供了有效的手段。巴西科学家通过 SSR 标记研究

了 60 个巴西葡萄品种, UPGMA 分析基因杂合度为 81.8%~88.1%, 鉴定了 5 个品种(“Dominga”、“Isaura”、“CG26916”、“CG28467”和“Roni Redi”)的亲缘关系<sup>[18]</sup>; Schuck 等<sup>[19]</sup>用 SSR 标记成功检测到了 *V. labruscana* 与 *M. rotundifolia* 的杂交后代亲本, 确定了 *V. labruscana* 栽培品种“Isabel”与 *M. rotundifolia* 栽培品种“Bountiful”, “Carlos”, “Magnolia”, “Regale”和“Roanoke”可以杂交成功; *V. labruscana* 栽培品种“Bordo”与 *M. rotundifolia* 栽培品种“Carlos”, “Magnolia”, “Regale”和“Roanoke”可以杂交成功; Nishimura 等<sup>[20]</sup>使用 SNP 标记分析了突尼斯栽培葡萄品种与野生葡萄品种的种群遗传特性, 发现当地栽培品种和野生品种之间很少有基因交流, 表明当地栽培葡萄品种大多从外地引进, 而非当地野生葡萄演化而来; 冷翔鹏等<sup>[21]</sup>利用 RAPD 和 SSR 2 标记分别对系谱关系明确的 22 个巨峰系葡萄品种进行聚类分析, 证明 2 种分子标记聚类结果基本一致, 并且都能有效地将品种区分开来以及正确反映 22 个葡萄品种的亲缘关系。温景辉<sup>[22]</sup>采用 SSR 分子标记技术对我国现有的山葡萄种质资源进行聚类分析, 结果表明, 山葡萄与欧亚种、美洲杂种的亲缘关系较远, 欧亚种与美洲杂种之间亲缘关系较近。在我国南方葡萄资源中, 华东葡萄又与其它亲缘关系相对较远。山欧杂种与山葡萄和欧亚种群的亲缘关系, 与其选育时采用的多代回交亲本选择有关。近年来 SSR 标记逐渐已成为在亲本鉴定中应用最广泛的分子标记。

### 1.3 品种鉴别

葡萄在全世界分布广泛, 易发生芽变等突变, 多为无性繁殖, 导致种类和品种众多, 同物异名及同名异物的现象比较普遍<sup>[23]</sup>。对葡萄进行可靠准确的品种鉴定, 对于保护各国名、优、特种质及育种者的知识产权具有重要的作用, 因此品种鉴别已成为葡萄研究和生产实践的重要环节之一。Garcia-Munoz 等<sup>[7]</sup>利用 SSR 标记研究了西班牙 66 个葡萄品种, 区分了 5 对同物异名品种(“Batista”与“Canari”, “Excursach”与“Murescu”, “Manse’s de Capedell”与“Mancens”, “Pampolat girat”与“Cruixent”, “Giro’ Ros”与“Giro sardo”)。Beslic 等<sup>[24]</sup>利用 SSR 对塞尔维亚本地葡萄品种进行了种质鉴定, 发现同物异名品种: “Muskat Krokan”与“Muscat fleurd”, “Oranger”, 2 个“Tamjanika”栽培品种与“Moscato Giallo”和“Moscato Rosa”。Lorenzisa 等<sup>[25]</sup>用 SSR 标记确定了意大利品种“Ribolla Gialla”和斯洛文尼亚品种“Rebula”是同物异名品种。DNA 标记技术可以对近缘作物品种甚至芽变品种(系)进行分子鉴定, 提供了一种有效的品种鉴定方法, 其中, SSR 标记被证明是最有效的品种鉴定的分子标记类型之一。

## 2 分子标记辅助育种

### 2.1 遗传作图

遗传图谱是通过遗传重组交换结果进行连锁分析所得到的基因在染色体上相对位置的排列图, 是研究质量性状和数量性状遗传的基础, 对标记辅助选择<sup>[26]</sup>、图位克隆<sup>[27]</sup>以及将标记整合到物理图和基因组序列<sup>[28]</sup>上具有重要意义。遗传图不仅能帮助育种者检测紧密连锁或共遗传的性状, 而且能够确定控制数量性状的遗传因子数量和所处的位置, 有助于优良农艺性状基因的选择<sup>[29]</sup>。Imamichi 等<sup>[30]</sup>以 *V. amurensis* 的 S<sub>1</sub> 代为材料, 利用 SSR 标记建立了 *V. amurensis* 的遗传图谱, 长度为 975 cM 覆盖 19 个连锁群; Moreira 等<sup>[31]</sup>以“Moscato Bianco”(感病品种 *V. vinifera*) × *V. riparia* (抗病父本品种“Wr63”)的 F<sub>1</sub> 代群体为材料 1 利用 SSR 构建了双亲的连锁图和整合图, 整合图由 21 个连锁群构成, 长度为 1 037.2 cM; 以“VRH3082 1-42”(*V. vinifera* × *V. rotundifolia*) × “SK77 5/3”(*V. vinifera* × *V. amurensis*) 的 F<sub>1</sub> 代群体为材料 2, 利用 SSR 构建了双亲的连锁图和整合图, 整合图由 18 个连锁群构成, 长度为 651 cM; Blanc 等<sup>[32]</sup>以圆叶葡萄“Regale”的 S<sub>1</sub> 代为材料, 利用 SSR 标记构建了“Regale”的连锁图, 长度为 948 cM 覆盖了 20 个连锁群; Mejia 等<sup>[33]</sup>以无核品种“Ruby”×“Thompson” F<sub>1</sub> 代为材料, 利用 SSR、AFLP、ISSR、RAPD、SCAR 标记构建遗传图谱, 长度为 1 340 cM 覆盖了 19 个连锁群(表 1)。

### 2.2 抗性育种

白粉病、霜霉病、炭疽病、冠瘿病等是世界葡萄生产上的重要病害, 化学防治不仅增加了生产成本, 还造成环境污染和果实残毒, 也降低了葡萄和葡萄酒质量。因而利用野生葡萄的抗病性进行抗病育种乃是解决问题的最佳途径。培育抗病葡萄品种是控制葡萄病害的一种很有前景的策略, 但是其在实际生产中的应用却很少<sup>[34]</sup>。科研工作者们已将 RAPD、AFLP、SSR、RGA、SRAP 等分子标记技术应用到葡萄抗病性研究中, 并取得了一定进展。在圆叶葡萄“Trayshed”中已鉴定抗霜霉病 QTL 位于 LG12 的 *Rpv1*(Resistance to *Plasmopara viticola*) 和 LG18 的 *Rpv2*<sup>[35-36]</sup>。Blasi 等<sup>[37]</sup>以 *V. amurensis* 的 S<sub>1</sub> 代为试材, 利用 SSR 标记在 *V. amurensis* 通过 QTL 分析在 LG14 上定位了一个抗霜霉病位点, 命名为 *Rpv8*(Resistance to *Plasmopara viticola* 8)。Mahanil 等<sup>[38]</sup>将主效抗白粉病基因 *Ren4*(resistance to *Erysiphe necator*) 定位于 LG18, 并发现 1 个 SSR 标记 VMC7f2 与抗白粉病基因 *Ren4* 和无核基因 *SdI*(Seed Development Inhibitor) 同时连锁, Philippe 等<sup>[39]</sup>从亚洲葡萄品种 *V. romanetti* 中也鉴别到主效抗白粉病基因 *Ren4*(表 1)。

表 1

葡萄遗传图谱及基因定位

作图群体	标记类型	图谱长度 (连锁群数)/cM	连锁的与农艺性状 相关的基因	定位位点	参考文献
“Moscatto Bianco”× <i>V. riparia</i>	SSR	1 037. 2(21)	抗霜霉病 QTL 位点	LG7	[31]
“VRH3082 1-42”×“SK77 5/3”	SSR	651 (18)	抗霜霉病 QTL 位点	LG1、LG6、LG7	[31]
<i>V. amurensis</i> 自交 S1 代	SSR	975 (19)	抗霜霉病 QTL 位点 <i>Rpt8</i>	LG14	[37]
Gf. Ga-52-42×“Solaris”	SSR	—	抗霜霉病 QTL 位点 <i>Rpt3</i>	LG18	[40]
VRH3082-1-42 ×“Cabernet Sauvignon”	AFLP, SSR	—	抗霜霉病 QTL 位点 <i>Rpv10</i>	LG9	[41-43]
“Kishmish vatkana”×“Nimrang”;	SSR	—	抗白粉病 QTL 位点 <i>Run1</i>	LG12	[44]
(“Dzhandzhal kara”×“Lasta”) × (“Katta kurgan”×“Perlette”)	SSR	—	抗白粉病 QTL 位点 <i>Ren1</i>	LG13	[44]
“Chardonnay”×“Bianca”	SSR	—	抗白粉病 QTL 位点 <i>Ren3</i>	LG15	[45]
“Regent”×“Lemberger”	SCAR	1 631 (19)	抗白粉病 QTL 位点 <i>Run2</i>	LG18	[46]
C87-41 × B70-57	AFLP, SSR, SNP	—	抗白粉病 QTL 位点 <i>Ren4</i>	LG18	[38-39, 47]
JB81-107-11×“Tokay”; A90-71×“Flame seedless”	SSR	—	抗白粉病 QTL 位点 <i>Run2. 1</i>	LG18	[48]
e2-9×“Malaga Rosada”	SSR	—	抗白粉病 QTL 位点 <i>Run2. 2</i>	LG18	[48]
<i>M. rotundifolia</i> cv. S1 代	SSR	948 (20)	抗白粉病 QTL 位点 <i>Ren5</i>	LG14	[32]
“Kunbara’t”×“Sa’rfehe’t”	RAPD, SSR, SCAR	—	抗冠瘿病 QTL 位点 <i>Rcg1</i>	LG15	[49]
“Ruby”×“Thompson”	SSR, AFLP, ISSR, RAPD, SCAR	1 340 (19)	无核 QTL 位点	LG18	[38]

注：“—”表示该部分文献中未提及。

由于已构建的葡萄遗传图有很多标记部分重叠,因此不同遗传图上的标记排列可以进行相互比较。同时,采用不同作图群体定位的 QTL 在遗传图和连锁群上的排列也相对一致。Riaz 等<sup>[48]</sup>发现抗白粉病主效位点 *Ren4*、*Run2. 1* 和 *Run2. 2* 三个抗白粉病 QTL 位点都位于在 LG18。Mahanil 等<sup>[38]</sup>发现 SSR 标记 VMC7f2 与抗白粉病基因 *Ren4* 和无核基因 *SdI* 同时连锁。研究还发现,抗白粉病基因 *Run1*(resistance to *U. necator* 1)和抗霜霉病基因 *Rpv1* 在 *V. rotundifolia* 中位于 12 号连锁群相同的集群<sup>[45, 50]</sup>;在 *V. vinifera* 的 LG13 上抗白粉病基因 *Ren1* 区域相对应的还有未知功能的 NBS-LRR 区域和几个额外的 RGA(resistance gene analogue)推测基因<sup>[44]</sup>;位于 LG18 的抗霜霉病基因 *Rpv2* 和 *Rpv3* 区域也有 RGA 簇<sup>[45]</sup>。研究者们发现在 *M. rotundifolia* 中的 *Run1* 基因和 *Ren1* 基因是紧密连锁的<sup>[6]</sup>,并且将抗白粉病基因 *MrRUN1* 和抗霜霉病基因 *MrRPV1* 定位于 LG12 的同一个位点,这个位点还包含了 7 个 TIR-NB-LRR 基因家族<sup>[51-52]</sup>。张剑侠等<sup>[53]</sup>以抗寒性存在差异的 83 份葡萄种质及 3 个杂交组合“玫瑰香”×“黑龙江实生”、“北醇自交”、“燕山-1”×“河岸-3”的 F<sub>1</sub> 代为试材,进行了中国野生葡萄抗寒基因 RAPD 标记的研究,获得了 2 个与中国野生山葡萄抗寒基因相连锁的 RAPD 标记,‘S241-717’和‘S238-854’。利用与目标性状紧密连锁的分子标记,对杂种进行早期抗性选择,降低杂种群体数量和育种成本,缩短育种周期,提高育种效率。分子标记辅助育种在葡萄遗传育种领域会发挥越来越大的作用。

### 2.3 无核育种

无核是鲜食、制干、制罐葡萄的优良农艺性状,所以葡萄育种的重要目标之一是培育无核葡萄新品种。与

无核相关的分子标记可以为葡萄育种提供帮助,便于目标性状的早期筛选,同时有助于阐明种子败育的分子机制<sup>[54]</sup>。很多 QTL 绘图已经证实了 SDI(Seed Development Inhibitor)位点的存在,并且发现浆果大小 QTL 位点、浆果成熟期 QTL 位点与无核 QTL 位点相重叠<sup>[35, 55-57]</sup>。然而 SDI 位点并不能解释大部分浆果大小的变异,因此还有待发现与种子和浆果发育有关的新基因<sup>[58]</sup>。Mejia 等<sup>[33]</sup>利用 SSR、AFLP、ISSR、RAPD、SCAR 标记将主效无核基因的 QTL 位点定位于 LG18。SSR 标记 VMC7f2<sup>[58-59]</sup>和 p3\_VvAGL11<sup>[60]</sup>与位于 LG18 的主效葡萄无核 QTL 位点紧密连锁,Bergamini 等<sup>[60]</sup>建议将 VvAGL11 作为与无核相关的候选基因。Roscher 等<sup>[61]</sup>获得了与无核品种“Manjari Naveen”无核基因相连锁的 AFLP 标记: E-AGG; M-CAC 和 E-ACC; M-CAG。Akkurt 等<sup>[62]</sup>用分子标记 SCC8, SCF27 和 VMC7f2 筛选“Alphonse Lavallée”×“Sultani”的 F<sub>1</sub> 代的无核幼苗,并证明 SSR 标记 VMC7f2 与无核基因紧密相关。张剑侠等<sup>[63]</sup>使用葡萄无核基因 SCAR 标记 GSLPI-569,葡萄抗黑痘病基因 RAPD 标记 OPS03-1354 和抗霜霉病基因 RAPD 标记 S416-1224,对欧洲葡萄无核品种×中国野生葡萄、无核品种自交共 6 个组合的 127 株胚挽救苗进行了无核、抗病的分子标记辅助选择,检测出拥有无核基因 SCAR 标记 GSLPI-569 的杂种 27 株,其中 4 株杂种同时拥有无核基因 SCAR 标记 GSLPI-569 和抗黑痘病基因 RAPD 标记 OPS03-1354;拥有抗黑痘病基因 RAPD 标记 OPS03-1354 的杂种 28 株,拥有抗霜霉病基因 RAPD 标记 S416-1224 的杂种 19 株,其中 10 株杂种同时拥有 OPS03-1354 和 S416-1224,获得的无核、抗病葡萄杂种将进一步选育出新品系奠定基础。分子标记的应用极大地加速了无核葡萄的选育进程。

### 3 问题与展望

分子标记在葡萄遗传育种的研究中已取得了一定成果,现已获得大量的与葡萄农艺性状相关连的分子标记,对今后的葡萄杂交育种的亲本选择、辅助筛选、基因克隆、遗传图谱构建和定向基因改良提供了良好的分子基础。葡萄丰富的种质资源分布在世界各地,需要组合多种遗传标记,这将有助于对葡萄资源遗传多样性进行较全面的评价。目前,分子标记因其显著的优势在葡萄遗传多样性分析上已有较多应用,如种质资源鉴定、系谱分析和遗传关系等研究。但是由于每种分子标记都有各自的局限,因此开发稳定可靠、信息丰富、区分能力较强的DNA遗传标记,对葡萄资源的遗传育种及品种鉴定、保护、开发和利用是非常必要的。在今后的葡萄遗传育种的研究中,分子标记辅助技术将有更大的发展空间。

### 参考文献

- [1] Fischer B M, Salakhutdinov I, Akkurt M, et al. Quantitative trait locus analysis of fungal disease resistance factors on a molecular map of grapevine [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 108(3): 501-515.
- [2] Zhang W W, Pan J S, He H L, et al. Construction of a high density integrated genetic map for cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2012, 124(2): 249-259.
- [3] Lopes M S, Sefc K M, Dias E E, et al. The use of microsatellites for germplasm management in a portuguese grapevine collection [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1999, 99(3-4): 733-739.
- [4] Santana J C, Heuertz M, Arranz C, et al. Genetic structure, origins, and relationships of grapevine cultivars from the castilian plateau of spain [J]. American Journal of Enology and Viticulture, 2010, 61(2): 214-224.
- [5] 李玉玲,白实践,骆强伟,等.葡萄种质资源的 RAPD 分析[J].北方园艺,2011,34(24):133-137.
- [6] Katula-Debrezeni D, Lencses A K, Szoke A, et al. Marker-assisted selection for two dominant powdery mildew resistance genes introgressed into a hybrid grape population [J]. Scientia Horticulturae, 2010, 126(4): 448-453.
- [7] Garcia-Munoz S, Lacombe T, de Andres M T, et al. Grape varieties (*Vitis vinifera* L.) from the Balearic Islands; genetic characterization and relationship with Iberian Peninsula and Mediterranean Basin [J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2012, 59(4): 589-605.
- [8] Meneghetti S, Costacurta A, Morreale G, et al. Study of intra-varietal genetic variability in grapevine cultivars by PCR-derived molecular markers and correlations with the geographic origins [J]. Molecular Biotechnology, 2012, 50(1): 72-85.
- [9] Karatas H, Agaoglu Y S. RAPD analysis of selected local Turkish grape cultivars (*Vitis vinifera*) [J]. Genetics and Molecular Research, 2010, 9(4): 1980-1986.
- [10] Bomcke E, Gengler N, Cothran E G. Genetic variability in the Skyros pony and its relationship with other Greek and foreign horse breeds [J]. Genetics and Molecular Biology, 2011, 34(1): 68-76.
- [11] Leao P, Motoike S Y. Genetic diversity in table grapes based on RAPD and microsatellite markers [J]. Pesquisa Ageropeucaria Brasileira, 2011, 46(9): 1035-1044.
- [12] El Oualkadi A, Ater M, Messaoudi Z, et al. Genetic diversity of Moroc-
- can grape accessions conserved ex situ compared to Maghreb and European gene pools [J]. Tree Genetics and Genomes, 2011, 7(6): 1287-1298.
- [13] Jahnke G, Molnar G K, Majer J, et al. Analysis of grape rootstocks by SSR markers [J]. Journal International Des Sciences De La Vigne Et Du Vin, 2011, 45(4): 199-210.
- [14] Meneghetti S, Costacurta A, Frare E, et al. Clones identification and genetic characterization of garnacha grapevine by means of different PCR-derived marker systems [J]. Molecular Biotechnology, 2011, 48(3): 244-254.
- [15] Jing Z B, Wang X P. Genetic relationship between Chinese wild *Vitis* species and American and European Cultivars based on ISSR markers [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2013, 46: 120-126.
- [16] 张萌,练春兰,松木悠,等.基于 SSR 分子标记的安徽黄山地区野生刺葡萄的遗传多样性分析[J].江西农业学报,2012,24(6):9-12.
- [17] Leão P C D S, Motoike S Y. Genetic diversity in table grapes based on RAPD and microsatellite markers [J]. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 2011, 46(9): 1035-1044.
- [18] Leao P, Cruz C D, Motoike S Y. Diversity and genetic relatedness among genotypes of *vitis* spp. using microsatellite molecular markers [J]. Revista Brasileira De Fruticultura, 2013, 35(3): 799-808.
- [19] Schuck M R, Biasi L A, Mariano A M, et al. Obtaining interspecific hybrids, and molecular analysis by microsatellite markers in grapevine [J]. Pesquisa Agerpecuaria Brasileira, 2011, 46(11): 1480-1488.
- [20] Nishimura R, Takita J, Sato-Otsubo A, et al. Characterization of genetic lesions in rhabdomyosarcoma using a high-density single nucleotide polymorphism array [J]. Cancer Science, 2013, 104(7): 856-864.
- [21] 冷翔鹏,刘崇怀,房经贵,等.巨峰葡萄系谱的 SSR 与 RAPD 分析 [J].西北植物学报,2011,31(8):1560-1566.
- [22] 温景辉.基于 SSR 分子标记的山葡萄种质遗传多样性研究与核心种质构建[D].长春:吉林农业大学,2011.
- [23] Emanuelli F, Lorenzi S, Grzeskowiak L, et al. Assessment of diversity and genetic structure is an essential step for effective use of grape germplasm collections [C]. III International Symposium on Molecular Markers in Horticulture, 2013.
- [24] Beslic Z, Todic S, Korac N, et al. Genetic characterization and relationships of traditional grape cultivars from Serbia [J]. Vitis, 2012, 51(4): 183-189.
- [25] Lorenzisa G, Imazio S, Rusjan D, et al. Genetic investigation of grapevine varieties 'Ribolla Gialla' (Italy), 'Rebula' (Slovenia) and 'Robola' (Ionian Islands) [J]. Scientia Horticulturae, 2013, 150: 425-431.
- [26] Typhonievich J, Wangchu L, Barry C, et al. Utilizing wild species for marker-assisted selection of crop timing and quality traits in Petunia [C]. VII International Symposium on New Floricultural Crops 1000, 2011.
- [27] Philippe R, Paux E, Bertin I, et al. A high density physical map of chromosome 1BL supports evolutionary studies, map-based cloning and sequencing in wheat [J]. Genome Biol, 2013, 14: 64.
- [28] 郭香,李琪,孔令锋,等.基于微卫星标记整合长牡蛎遗传图谱[J].水产学报,2013,37(6):823-829.
- [29] 赵玉辉,郭印山,胡又厘,等.应用 RAPD、SRAP 及 AFLP 标记构建荔枝高密度复合遗传图谱[J].园艺学报,2010,37(5):697-704.
- [30] Imamichi Y, Yokoyama Y. Purification and characterization of a lectin from the starfish *Asterias amurensis* [J]. Fisheries Science, 2013, 79 (6): 1007-1013.
- [31] Moreira F M, Madini A, Marino R, et al. Genetic linkage maps of two interspecific grape crosses (*Vitis* spp.) used to localize quantitative trait loci for downy mildew resistance [J]. Tree Genetics and Genomes, 2011, 7(1):

153-167.

[32] Blanc S,Wiedemann-Merdinoglu S,Dumas V,et al. A reference genetic map of *Muscadinia rotundifolia* and identification of Ren5, a new major locus for resistance to grapevine powdery mildew[J]. Theoretical and Applied Genetics,2012,125(8):1663-1675.

[33] Mejia N,Gebauer M,Muñoz L,et al. Identification of QTLs for seedlessness, berry size, and ripening date in a seedless x seedless table grape progeny[J]. American Journal of Enology and Viticulture,2007,58(4):499-507.

[34] Peressotti E,Wiedemann-Merdinoglu S,Delmotte F,et al. Breakdown of resistance to grapevine downy mildew upon limited deployment of a resistant variety[J]. BMC Plant Biology,2010,10(147).

[35] Merdinoglu D,Wiedemann-Merdinoglu S,Coste P,et al. Genetic analysis of downy mildew resistance derived from *Muscadinia rotundifolia*[J]. Acta Horticultae,2003,1:451-456.

[36] Wiedemann-Merdinoglu S,Prado E,Coste P,et al. Genetic analysis of resistance to downy mildew derived from *Muscadinia rotundifolia*[Z]. 2006-2-6.

[37] Blasi P,Blanc S,Wiedemann-Merdinoglu S,et al. Construction of a reference linkage map of *Vitis amurensis* and genetic mapping of RpV8, a locus conferring resistance to grapevine downy mildew[J]. Theoretical and Applied Genetics,2011,123(1):43-53.

[38] Mahanil S,Ramming D,Cadle-Davidson M,et al. Development of marker sets useful in the early selection of Ren4 powdery mildew resistance and seedlessness for table and raisin grape breeding[J]. Theoretical and Applied Genetics,2012,124(1):23-33.

[39] Philippe R,Paux E,Bertin I,et al. A high density physical map of chromosome 1BL supports evolutionary studies, map-based cloning and sequencing in wheat[J]. Genome Biol,2013,14:64.

[40] Schwander F,Eibach R,Fechter I,et al. RpV10: a new locus from the Asian *Vitis* gene pool for pyramiding downy mildew resistance loci in grapevine[J]. Theoretical and Applied Genetics,2012,124(1):163-176.

[41] Pauquet J,Bouquet A,This P,et al. Establishment of a local map of AFLP markers around the powdery mildew resistance gene Run1 in grapevine and assessment of their usefulness for marker assisted selection[J]. Theoretical and Applied Genetics,2001,103(8):1201-1210.

[42] Barker C L,Donald T,Pauquet J,et al. Genetic and physical mapping of the grapevine powdery mildew resistance gene, Run1, using a bacterial artificial chromosome library[J]. Theoretical and Applied Genetics,2005,111(2):370-377.

[43] Donald T M,Pellerone F,Adam-Blondon A F,et al. Identification of resistance gene analogs linked to a powdery mildew resistance locus in grapevine[J]. Theoretical and Applied Genetics,2002,104(4):610-618.

[44] Coleman C,Copetti D,Cipriani G,et al. The powdery mildew resistance gene REN1 co-segregates with an NBS-LRR gene cluster in two Central Asian grapevines[J]. BMC Genetics,2009,10:89.

[45] Bellin D,Peressotti E,Merdinoglu D,et al. Resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine ‘Bianca’ is controlled by a major dominant gene causing localised necrosis at the infection site[J]. Theoretical and Applied Genetics,2009,120(1):163-176.

[46] Welter L J,Gokturk-Baydar N,Akkurt M,et al. Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera* L.)[J]. Molecular Breeding,2007,20(4):359-374.

[47] Murali M,Sudisha J,Amruthesh K N,et al. Rhizosphere fungus Penicil-

lium chrysogenum promotes growth and induces defence-related genes and downy mildew disease resistance in pearl millet[J]. Plant Biology,2013,15(1):111-118.

[48] Riaz S,Tenscher A C,Ramming D W,et al. Using a limited mapping strategy to identify major QTLs for resistance to grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*) and their use in marker-assisted breeding[J]. Theoretical and Applied Genetics,2011,122(6):1059-1073.

[49] Kuczmog A, Galambos A, Horvath S, et al. Mapping of crown gall resistance locus Rcg1 in grapevine[J]. Theoretical and Applied Genetics,2012,125(7):1565-1574.

[50] Donald T M,Pellerone F,Adam-Blondon A F,et al. Identification of resistance gene analogs linked to a powdery mildew resistance locus in grapevine[J]. Theoretical and Applied Genetics,2002,104(4):610-618.

[51] Anderson C,Choisne N,Adam-Blondon A,et al. Positional cloning of disease resistance genes in grapevine[J]. Genetics,Genomics, and Breeding of Grapes,2011:186-210.

[52] Feechan A,Anderson C,Torregrosa L,et al. Genetic dissection of a TIR-NB-LRR locus from the wild North American grapevine species *Muscadinia rotundifolia* identifies paralogous genes conferring resistance to major fungal and oomycete pathogens in cultivated grapevine[J]. Plant Journal,2013,76(4):661-674.

[53] 张剑侠,熊燕,王跃进,等.中国野生葡萄抗寒基因的RAPD标记及其序列分析[J].中国农学通报,2010,26(10):30-37.

[54] Li Z T,Dhekney S A,Gray D J. Molecular characterization of a SCAR marker purportedly linked to seedlessness in grapevine (*Vitis*)[J]. Molecular Breeding,2010,25(4):637-644.

[55] Costantini L,Battilana J,Lamaj F,et al. Berry and phenology-related traits in grapevine (*Vitis vinifera* L.): From Quantitative Trait Loci to underlying genes[J]. BMC Plant Biology,2008,8(38):1-17.

[56] Doligez A,Bouquet A,Danglot Y,et al. Genetic mapping of grapevine (*Vitis vinifera* L.) applied to the detection of QTLs for seedlessness and berry weight[J]. Theoretical and Applied Genetics,2002,105(5):780-795.

[57] Cabezas J A,Cervera M T,Ruiz-Garcia L,et al. A genetic analysis of seed and berry weight in grapevine [J]. Genome,2006,52(2):215.

[58] Mejia N,Soto B,Guerrero M,et al. Molecular,genetic and transcriptional evidence for a role of VvAGL11 in stenospermocarpic seedlessness in grapevine[J]. BMC Plant Biology,2011,11(1):1-19.

[59] Karaagac E,Vargas A M,de Andres M T,et al. Marker assisted selection for seedlessness in table grape breeding[J]. Tree Genetics and Genome,2012,8(5):1003-1015.

[60] Bergamini C,Cardone M F,Anacleto A,et al. Validation Assay of p3-VvAGL11 Marker in a Wide Range of Genetic Background for Early Selection of Stenospermocarpic in *Vitis vinifera* L.[J]. Molecular Biotechnology,2013,54(3):1021-1030.

[61] Roscher R,Herzog K,Kunkel A,et al. Automated image analysis framework for high-throughput determination of grapevine berry sizes using conditional random fields[J]. Computers and Electronics in Agriculture,2014,100:148-158.

[62] Akkurt M,Cakir A,Shidfar M,et al. Using SCC8,SCF27 and VMC7f2 markers in grapevine breeding for seedlessness via marker assisted selection [J]. Genetics and Molecular Research,2012,11(3):2288-2294.

[63] 张剑侠,王勇,王跃进,等.利用分子标记对无核抗病葡萄杂交后代的辅助选择[J].东北农业大学学报,2010,41(6):55-63.

# 基于 Web of Science 世界葡萄研究态势分析

冯立娟<sup>1</sup>, 尹燕雷<sup>1</sup>, 招雪晴<sup>1</sup>, 杨雪梅<sup>1</sup>, 程云<sup>2</sup>

(1. 山东省果树研究所, 山东泰安 271000; 2. 聊城市林业局, 山东聊城 252000)

**摘要:** 基于 Web of Science 数据库, 采用文献计量学方法, 分析了 2000~2013 年世界葡萄研究文献趋势、排名前 20 位国家、研究机构、核心作者、期刊、学科和研究热点等情况。结果表明: 2000~2013 年世界葡萄研究论文数量共 5 360 篇; 文献产出量逐年增加, 2012 年文献数量最高; 美国、西班牙、意大利、法国和中国葡萄文献数量居世界前 5 位, 美国文献数量最多, 为 952 篇; 法国农业科学研究院、西班牙国家科学理事会、美国加州大学戴维斯分校、法国波尔多大学和美国农业部农业服务中心葡萄文献数量较多, 中国农业大学和中国科学院分别位居第 6 位和第 13 位; 最有学术影响力的核心作者来自中国, 主要核心期刊是《Journal of Agricultural and Food Chemistry》、《Vitis》、《American Journal of Enology and Viticulture》、《Food Chemistry》和《Journal International Des Sciences De La Vigne Et Du Vin》; 主要学科是食品科学技术、园艺、植物科学、应用化学和农业综合学; 花青素、基因表达、白藜芦醇、香气物质和酚类物质(不包括花青素)是其研究重点领域。

**关键词:** 葡萄; 文献计量学; Web of Science; 研究态势

**中图分类号:** S 663.1   **文献标识码:** A   **文章编号:** 1001-0009(2014)16-0199-06

葡萄(*Vitis vinifera* L.)属葡萄科(Vitaceae)葡萄属(*Vitis*)多年生藤本植物, 是世界上产量最高的浆果类水

**第一作者简介:** 冯立娟(1982-), 女, 博士研究生, 助理研究员, 现主要从事果树遗传资源评价与育种等研究工作。E-mail: flj\_19820227@163.com.

**基金项目:** 国家科技部科技基础性工作专项子课题资助项目(2012 FY110100-4)。

**收稿日期:** 2014-04-29

果, 具有色泽鲜艳、酸甜可口、风味浓郁、营养丰富和抗氧化性强等优良特征, 加工和消费需求极为旺盛<sup>[1]</sup>。2012 年世界葡萄栽培总面积约为 696.94 万 hm<sup>2</sup>, 总产量为 6 707 万 t, 平均每公顷生产葡萄约 9.623 t<sup>[2]</sup>。目前, 国内外学者主要在葡萄果实品质<sup>[3-4]</sup>、抗氧化性<sup>[5-6]</sup>、基因表达与调控<sup>[7-8]</sup>、抗性机理<sup>[9-10]</sup> 和营养保健<sup>[11-12]</sup> 等方面进行了相关研究, 取得了一定进展。

文献计量学忠实于文献事实揭示理论、技术、学科

## Application of Molecular Markers on Grapevine Genetics and Breeding

ZHANG Na, LI Qun

(College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi, Xinjiang 830046)

**Abstract:** Molecular marker has been widely used on various aspects of grapevine breeding, which is one of important genetic markers developed from molecular biology. Molecular markers facilitated the research on investigation the origin of existed grapevine cultivars and provided a powerful tool for creating of new grapevine cultivars. The application of molecular markers, genetic mapping and molecular marker-assisted breeding in grapevine germplasm in recent years were summarized and the application prospects of molecular markers in grapevine breeding were evaluated in this paper. What's more, the existed problems in grapevine breeding were pointed out to provide foundations for molecular markers application in germplasm resource research and marker-assisted breeding grapevine.

**Key words:** grapevine cultivars; molecular markers; genetics and breeding; germplasm resources