

# 葡萄无核基因及无核育种研究进展

李莎莎, 王跃进\*

(西北农林科技大学园艺学院, 旱区作物逆境生物学国家重点实验室, 农业部西北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 陕西杨凌 712100)

**摘要:** 无核葡萄是世界葡萄生产与消费的重要发展趋势, 也是主要的育种目标。从无核葡萄的分类、无核性状的形成、无核形成的分子机制、内源激素调控、遗传与育种现状等几个方面进行论述。以基因组学和基因编辑等生物技术的快速发展为背景, 对今后葡萄无核机理研究的展开和无核葡萄的育种进行展望, 以期为无核葡萄的育种提供一定的理论参考依据。

**关键词:** 葡萄; 无核基因; 遗传机理; 育种

**中图分类号:** S 663.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2019) 09-1711-16

## Advances in Seedless Gene Researches and Seedless Breeding in Grapevine

LI Shasha and WANG Yuejin\*

(College of Horticulture, Northwest A & F University, State Key Laboratory of Crop Stress Biology in Arid Areas, Ministry of Agriculture Key Laboratory of Horticultural Plant Biology and Germplasm Innovation in Northwest, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** Seedlessness is one of the most important quality traits in grapevine production and breeding of novel seedless grapevine cultivars is one of the main goals in breeding programs worldwide. The present review provides comprehensive information on recent advances in the type and the development of seedless grapevines, and discusses mechanisms behind the formation of seedless grapevines in aspects of molecular biology, endogenous hormone levels and genetics. Recent developments in technologies including genomics and gene editing provide alternative strategies for further breeding of seedless grapevines.

**Keywords:** grape; seedless; genetics mechanism; breeding

欧洲葡萄 (*Vitis vinifera* L.) 起源于黑海和里海等区域, 葡萄的栽培始于地中海地区, 随后沿着腓尼基航海贸易路线蔓延到亚洲和北非, 目前葡萄主要种植于温带和热带地区 (Ledbetter & Ramming, 1989)。2017 年世界葡萄总种植面积约为 693 万  $\text{hm}^2$ , 生产量约 7 428 万 t (FAO, 2017)。中国葡萄种植面积为世界第二, 其中鲜食葡萄多于酿酒葡萄。在鲜食葡萄中, 人们普遍青睐于无核葡萄。美国鲜食和制干葡萄以 ‘Thompson Seedless’ 为主, 在澳大利亚和欧洲这个品种分别被称为 ‘Sultana’ 和 ‘Sultanina’ (Dangi et al., 2001)。无核葡萄的主要生产地有中国、澳大利亚、土耳其、叙利亚、

**收稿日期:** 2019-04-02; **修回日期:** 2019-08-12

**基金项目:** 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-29-yc-3)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: wangyj@nwsuaf.edu.cn)

致谢: 西北农林科技大学园艺学院王乔春教授对本文英文摘要进行了修改, 特致谢意。

伊朗、希腊、美国等(刘崇怀, 2003)。但目前为止, 无核葡萄的育种进度很慢, 在中国无核葡萄品种更少, 主要原因是由于葡萄的无核机理与遗传规律不清楚, 育种工作难以高效开展。本文中对葡萄无核机理研究与无核育种进展进行总结, 以期对葡萄无核育种提供一定的理论参考, 也为无核葡萄的生产调控提供科学指导。

## 1 无核葡萄的类型

被子植物的繁殖大多依赖种子, 葡萄按照种子的有无与形成过程分为单性结实型无核(Parthenocarpy)和假单性结实型无核(Pseudo-parthenocarpy)即种子败育型(Stenospermacarpy)(Stout, 1936)。

单性结实型无核葡萄, 果实生长发育不经过授粉受精, 形成的果实较小, 完全没有种子。最近的研究表明单性结实葡萄是因为雌配子在减数分裂过程受到了影响, 导致不能正常受精(Royo et al., 2016), 这种类型形成的无核是真正意义上的无核, 在其他水果中也比较常见。

假单性结实型无核(种子败育型)葡萄, 经过授粉受精后形成的合子胚在后期生长发育过程中停止, 合子胚败育(Stout, 1936; Ledbetter & Ramming, 1989), 在浆果中留下种子痕迹, 形成无核果。这种类型的无核果实比单性结实的大(Loomis & Weinberger, 1979; Bouquet & Danglot, 1996), 常被用于鲜食葡萄育种, 由于其种子或种痕的存在而促进果实生长, 其果实大小不会因为无核而受影响(Stout, 1936), 常见的品种有‘无核白’和‘无核紫’, 是比较古老且无核性状传递力比较强的无核材料(刘崇怀, 2003)。

## 2 葡萄无核性状形成的分子机制

### 2.1 葡萄无核性状遗传的假说

关于葡萄无核性状遗传规律, 前人提出了很多假说, Stout (1939) 认为无核性状受 1 个显性基因控制, Weinberger (1964) 提出无核性状可能受几个隐性基因控制, 一些学者认为无核性状受单隐性基因控制(Constantinescu & Pena, 1972; Dudnik & Moliver, 1976); 后来 Sandhu 等 (1984) 认为无核性状的遗传是数量性状; Spiegel-Roy 等 (1990) 提出了两个隐性基因控制葡萄无核的假说。随后 Ledbetter & Burgos (1994) 认为无核性状遗传可能受 3 个互补的显性基因控制。研究认为, 种皮的软硬程度以及胚乳发育的多少可以作为无核性状的亚性状, 并认为这些性状是可以遗传的, 受到至少 7 个基因的控制, 属数量性状 (Striem et al., 1992, 1994; 张文颖 等, 2018)。后来又有观点认为葡萄无核性状由 1 个显性基因和 3 个隐性基因相互作用 (Bouquet & Danglot, 1996; 田莉莉, 2007; 崔梦杰 等, 2017)。Lahogue 等 (1998) 将控制无核性状遗传的这个显性基因位点命名为 SDI (SEED DEVELOPMENT INHIBITOR)。之后又有学者提出葡萄无核性状是由 1 个主效基因和 3 个微效基因控制 (Doligez et al., 2002; 张朝红, 2007)。

### 2.2 葡萄无核基因功能的研究

MADS-box 家族基因在调控开花、胚珠和种子发育以及果实发育过程中有重要作用, 大多数 MADS-box 家族基因在拟南芥和葡萄中具有相同的功能 (Díaz-Riquelme et al., 2009)。Boss 等 (2002) 首次从葡萄花和未成熟的果实中克隆出 4 个 MADS 基因, 其中 *VvMADS2* 和 *VvMADS4* 与拟南芥中

的 *SEP* (*SEPALLATA*) 同源, *VvMADS3* 与 *AGAMOUS-LIKE6* (*AGL6*) 及 *AGAMOUS-LIKE13* (*AGL13*) 同源, *VvMADS5* 与 *AGL11* 同源, *AGL11* 在成熟的心皮、正在发育的种子和果实中表达, 在控制种子、胚珠和果实发育中有重要作用; 在葡萄中进行组织表达分析表明, *VvMADS5* 仅在心皮和雌花中表达 (Boss et al., 2002; Pinyopich et al., 2003; Mizzotti et al., 2014)。后来将 *VvMADS5* 命名为 *VvAGL11*, 定位在第 18 号染色体 SDI 位点, 该位点与无核性状相关的分子标记 VMC7F2 的遗传距离最近 (Cabezas et al., 2006; Costantini et al., 2008; Mejía et al., 2011; Doligez et al., 2013), 并且在 SDI 位点上继续开发出了可以鉴定无核性状的分子标记。Mejía 等 (2011) 通过建立无核葡萄 × 无核葡萄的杂交后代群体和有核葡萄 ‘赤霞珠’ 的物理图谱, 筛选出 *VvAGL11* 为主要控制葡萄无核性状的候选基因。

在番茄中沉默 *SlyAGL11* 后, 引起果实无籽, 通过基因互作研究发现 *SlyVPE1* 和 *SlyVPE2* 受到 *SlyAGL11* 调控, *VviVPE* 受到 *VviAGL11* 调控 (Ocares & Mejía, 2016)。Malabarba 等 (2017, 2018) 认为 *VviAGL11* 等位基因在 ‘霞多丽’ 葡萄坐果 14、28、42 d 时的 RNA 表达量明显高于 ‘无核白’ 葡萄, 通过原位杂交验证了其在 ‘霞多丽’ 葡萄的内种皮中表达量增多, 内种皮为种子生长时细胞增殖和增大所必需, 而这种现象在 ‘无核白’ 葡萄中并没有出现, 因此解释了 *VviAGL11* 在种子形成过程起重要作用。Royo 等 (2018) 进一步通过基因组精准测序后发现无核葡萄中 *VviAGL11* 的氨基酸的第 197 的位置由精氨酸变成了亮氨酸, 推测无核的产生是由 *VviAGL11* 编码的氨基酸替换引起的。

*ch-Cpn21* 为叶绿体上的伴侣蛋白。研究表明, 伴侣蛋白在植物生长和种子发育过程中起到关键作用 (Zimmerman et al., 1989)。在拟南芥中, 伴侣蛋白 - 60α (*Cpn60*) 发生 T-DNA 插入突变会对胚发育产生影响, 在心形期前导致胚发育中止 (Apuya et al., 2001)。在叶绿体的结构上含有两种不同的伴侣蛋白 *ch-Cpn10* 和 *ch-Cpn21*, 两者具有独立的功能。*ch-Cpn10* 与细菌的 *Cpn10* 相似, *ch-Cpn21* 由两个 *ch-Cpn10* 结构域组成 (Koumoto et al., 2001)。研究发现, 在葡萄胚珠发育进程中, *ch-Cpn21* 在有核葡萄和无核葡萄中差异表达; 在烟草中将 *ch-Cpn21* 沉默后导致叶片萎缩变黄, 子房坏死, 引起种子败育; 在番茄中将 *ch-Cpn21* 沉默后导致果实无核; 因此推测 *ch-Cpn21* 在葡萄种子发育中有重要作用 (Hanania et al., 2007; Costantini et al., 2008)。

*S27a* 为泛素蛋白, 泛素化在无核葡萄种子败育过程中也起到重要的作用。Hanania 等 (2009) 在 ‘Thompson’ 无核和有核的花发育过程中建立的抑制消减文库中分离到差异表达的泛素蛋白 *S27a*, 通过原位杂交分析 *S27a* 在 ‘Thompson’ 无核的心皮和子房中的表达高于 ‘Thompson’ 有核的, 过表达该基因转入葡萄愈伤组织中, 阻止细胞正常分化, 再生植株不能正常生长; 沉默该基因后愈伤组织细胞坏死、死亡; 在无核葡萄的花中由于过表达 *S27a* 干扰心皮和珠被的正常发育, 而导致花器官结构异常, 引起种子败育。

*VvMADS39* 基因表达量在无核葡萄的胚珠中比有核葡萄中高, 将该基因转入番茄中, 得到的转基因果实显著变小, 种子败育, 初步验证 *VvMADS39* 与无核性状相关 (王莉, 2017)。

*VvCBP* 为 EF 手性钙离子结合蛋白, 在葡萄的胚发育过程中有重要的作用。*VvCBP* 在 ‘无核白’ 葡萄开花后 30 d 的相对表达量最高, 40 d 最低, 50 d 基本没有表达, 在有核的 ‘黑比诺’ 葡萄中相对表达量基本稳定。在番茄中沉默 *LeCBP1*, 种子数量减少, 且部分种子发育不良 (Wang et al., 2011), 判定 *CBP* 基因在调控种子发育过程中有重要的作用。

HD-zip 类家族转录因子在 ‘无核白’ 葡萄胚败育过程中有重要作用, 其中 *VvHDZ28* 与拟南芥中 *AtHB12* 同源, 在葡萄花和叶片中高表达, 可能在无核葡萄胚败育过程中存在重要作用 (Li et al., 2017)。

### 2.3 葡萄无核基因的基因组学研究

通过全基因组关联分析 (Gene-wide association study, GWAS), 根据正向遗传方法开发分子标记, 利用新一代基因组测序技术, 寻找葡萄基因组中单核苷酸多态性 (SNP) 位点和表型变异的相关性, 能更加直接有效、大量和精确地挖掘控制无核性状的分子标记 (梁振昌, 2018)。全基因组选择 (Genetic selection, GS) 通过全基因组测序的标记进行辅助选择, 已知群体的标记和表型信息, 建立标记与表型之间的关联, 能够更加准确地预测育种值, 降低近交系数 (王欣 等, 2018)。通过 GAWS 与 GS 结合, 利用基因组数据对葡萄无核性状进行预测和评估, 为提高葡萄育种效率提供重要的参考依据 (Carrier et al., 2012; Fodor et al., 2014; Chialva et al., 2016)。

Zhang 等 (2017) 通过 SLAF-seq (Specific locus amplified fragment sequencing) 技术和全基因组关联作图研究了葡萄无核性状遗传机理, 通过对 199 个葡萄品种的基因组精细测序, 发现了 294 个 SNP 位点与无核性状显著相关, 推测出这些 SNP 位点上的候选基因包括了泛素蛋白、ABA 醛氧化酶、乙烯响应转录因子、锌指蛋白和 MADs-box 基因等。王莉 (2017) 通过对无核葡萄 ‘森田尼无核’、有核葡萄 ‘红地球’ 以及杂交的混合叶片进行基因组测序, 同时将有核、无核后代的胚珠进行转录组测序, 分析其中 SNP 位点的差异基因, 将这些基因与转录组结果对比后, 最终筛选到 9 个候选基因。

## 3 激素调控葡萄无核性状

外源赤霉素、生长素和细胞分裂素等植物生长调节剂导致花粉发育不良, 花粉管不能伸长等, 从而阻止授粉受精, 使有核葡萄单性结实; 种子败育型无核葡萄胚珠在败育过程中内源激素不是单一作用, 而是相互交叉, 共同调控葡萄种子败育。

赤霉素 (Gibberellin, GA) 在果实和种子 (特别是胚珠) 中的含量比营养器官多, 诱导开花和第 1 个峰出现在胚细胞分化期, 促进细胞的生长和膨大, 第 2 个峰出现在胚成熟后期 (Locascio et al., 2014)。Wevaer (1958) 报道了赤霉素可以提高葡萄的坐果, 并可以使果实膨大。Lavee (1960) 认为赤霉素对有核葡萄的种子发育有影响, 可促进有核葡萄无核化, 形成单性结实。之后, Okamoto (2005) 在开花前对 ‘Delaware’ 葡萄喷施赤霉素, 发现其影响花粉管的生长而阻止授粉受精, 导致无核。Cheng 等 (2013) 在开花前喷施赤霉素, 发现赤霉素诱导种子停止发育的原因之一是花或浆果中的氧化还原系统被破坏, 导致种子的氧化受损, 影响了胚发育相关基因表达。Chai 等 (2014) 通过对外源 GA<sub>3</sub> 处理前后的葡萄进行转录组测序发现, 影响葡萄无核的除了赤霉素外, 还包括生长素以及其他激素间的交互作用。

生长素 (Auxin, IAA) 在植物生长发育过程中对种子胚的形态和大小具有决定性的作用 (Petrášek & Frim, 2009; Mironova et al., 2017)。有研究表明, 有核葡萄和无核葡萄中生长素和赤霉素的含量有显著差异 (Cain & Emershad, 1983)。生长素合成基因 *iaaM* 与胚珠特异基因 *DefH9* 的启动子结合形成 *iaaM-DefH9* 嵌合基因, 该基因转入烟草和茄子中可以诱导单性结实, 并且果实大小与有核果实基本一致 (Rotino et al., 1997; Mezzetti et al., 2004; Tiziana, 2009)。在番茄中构建 *IAA9* 反义突变, 导致果实发生单性结实以及叶片形态改变 (Hua et al., 2005; Mignolli et al., 2015); *SHIAA9* 和 *SIAGL6* 经过 CRISPR/Cas9 系统进行编辑后的突变植株发生单性结实, 形成无籽番茄 (Klap et al., 2017; Ueta et al., 2017)。IAA 和 GA 的相互作用可以诱导果实形成单性结实 (Tiziana, 2009)。在番茄坐果时分别用 IAA 和 GA 处理, 生长素通过上调 *GA20ox1* 和下调 *KNOX* 来调控赤霉素合成,

赤霉素通过介导 *ARF2* 和 *IAA9* 下调来调控生长素的合成从而影响果实发育, 因此单性结实取决于生长素和赤霉素之间的相互作用 (Tang et al., 2015)。*‘Tamnara’* 葡萄开花前 14 d 喷施赤霉素, 分别取喷施后 0 ~ 19 d 的花序, 在单性果实形成过程中检测到 *VvIAA9* 和 *VvARF7* 的相对表达量下调, *VvDELLA*、*VvGH3.2* 和 *VvGH3.3* 上调 (Jung et al., 2014)。

脱落酸 (Abscisic acid, ABA) 在植物种子成熟和休眠过程中有重要的作用 (Marion-Poll, 1997)。在种子发育过程中脱落酸与赤霉素起拮抗作用 (Durbak et al., 2012; Locascio et al., 2014)。在拟南芥种子中, 有两次脱落酸的积累高峰, 在发育的胚中也可以检测到脱落酸合成相关基因的表达 (Finkelstein et al., 2002)。通过转录组比较有核葡萄与无核葡萄的胚珠发育不同时期基因差异表达发现, 脱落酸合成转导途径相关基因在‘无核白’葡萄中上调表达 (王莉, 2017)。

水杨酸 (Salicylic acid, SA) 作为内源信号调节植物的系统抗性反应。在盐胁迫下, 水杨酸可以显著提高拟南芥种子萌发率; 蛋白质组学分析种子的活力取决于脱落酸与水杨酸信号间的相互作用 (Rajjou et al., 2006)。研究推测在无核葡萄中由于种皮不分化, 诱导水杨酸系统激活, 下游的相关基因表达, 引起胚乳降解, 胚发育停止, 进而种子败育 (Royo et al., 2018)。

micRNA 可响应赤霉素信号途径中的基因调控植物花药和胚珠发育导致单性结实 (Curaba et al., 2014)。*MYB33* 和 *MYB65* 在拟南芥中与 *GAMYB* 类似, 均是 *micRNA159* 的靶基因, 其在赤霉素信号途径中起到调节作用。在番茄中, 过表达 *micRNA159* 导致胚珠发育停止, 产生无核果实 (Silva et al., 2017)。研究发现, GA-DELLA (SLR1) -VvmiR159c-VvGAMYB 在葡萄中是 1 个很关键的信号调控模型, 该模型在外源赤霉素诱导葡萄单性结实机理方面有重要的调节作用 (Wang et al., 2018)。

## 4 葡萄无核性状形成机理

根据已有的研究, 综合无核性状基因与无核类型, 葡萄无核的形成机理可能是: 基因调控种子败育, 激素诱导种子发育中途败育, 外源植物生长调节剂诱导内源激素平衡紊乱导致的授粉受精受阻等不同途径。

种子败育型无核葡萄和单性结实型无核葡萄的形成机理不同。种子败育型无核葡萄中受到激素间的交叉作用, 可能主要是水杨酸、脱落酸、生长素和赤霉素等影响 (图 1, A)。种子败育型无核葡萄内水杨酸、脱落酸和赤霉素等含量变化, 导致下游基因变化, 引起种子败育 (王莉, 2017; Royo et al., 2018)。*MADS-box* 转录因子在花发育 ABCDE 模型中有重要作用, 其中 D 类基因主要参与胚珠发育。*VviAGL11* 是目前研究报道的调控无核的基因, 有可能是葡萄中唯一的 D 类基因, 其如何调控下游基因引起胚乳降解胚败育的路径并不清楚, 推测可能调控 *WRKY*、*HD*、*NAC* 等转录因子的表达引起胚乳降解和细胞程序性死亡。今后将有核葡萄中的无核基因 (如 *VviAGL11* 和 *VvMADS39* 等) 通过基因编辑技术可能获得无核新材料。基因互作方面, 无核葡萄中 *VviAGL11* 下游基因与 *VPE* 基因间可能也存在相互关系, 引起胚败育。

有核葡萄在植物生长调节剂处理下可以形成无核果实, 在外源喷施生长素、赤霉素和细胞分裂素的情况下, 可能引起调控赤霉素和生长素合成相关基因的表达, 内源激素水平受到影响, 赤霉素调控花发育的相关基因表达受到抑制, 影响花器官发育, 授粉受精受阻, 形成单性结实果实 (图 1, B)。赤霉素诱导单性结实是一条重要途径, *MADS-box* 类转录因子在花器官形成和胚珠发育中有重要作用, 在单性结实过程中可能也发挥作用, 其与赤霉素调控途径的相关基因间可能存在联系, 如 *AGL6* 基因在番茄中可以诱导单性结实 (Klap et al., 2017; Ueta et al., 2017), 推测其在葡萄中可能

也引起单性结实。在激素调控单性结实途径中,激素间的调控有交联作用,DELLA和AUX/IAA之间可能存在相互联系。在细胞分裂素诱导下,也可能引起体内生长素和赤霉素水平变化,诱导单性结实。

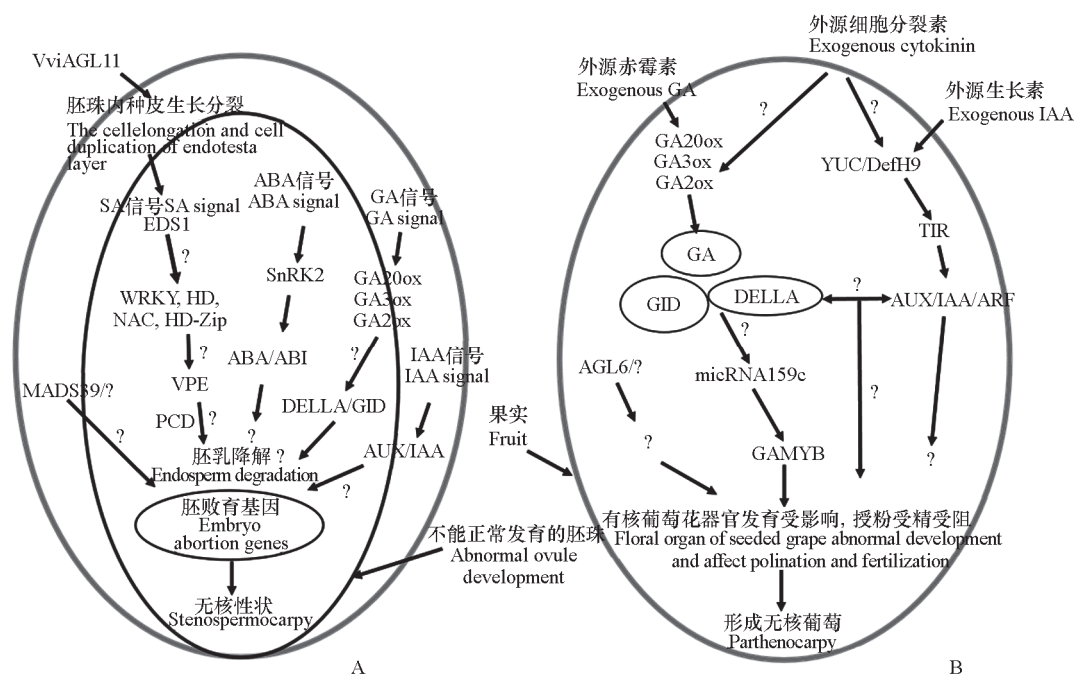


图1 葡萄无核性状形成可能的机理示意图

A: 种子败育型无核葡萄形成机理; B: 花前对有核葡萄进行激素处理后形成的无核葡萄。?: 尚不清楚可能存在的通路。

Fig. 1 The schematic diagram of possible mechanism of grapevine seedlessness

A: The mechanism of stenospermocarpic seedlessness in grapevine; B: Induction of seedless berries in the seeded grape by the use of hormone before flowering. ?: Represent the mechanisms predicted are unclear.

## 5 葡萄无核育种研究与应用

### 5.1 利用常规育种培育无核葡萄

无核葡萄育种主要途径之一是以有核葡萄作母本,无核葡萄作父本进行常规杂交,这种方法获得的后代无核概率比较低,为10%~30%,并且依赖于杂交双亲的基因型和无核性状传递力(Loomis & Weinberger, 1979; Bouquet & Danglot, 1996);目前的无核葡萄育种仍以常规杂交育种为主。

鲜食葡萄育种一直以红色、香味、无核、大粒和早熟等为主要方向(顾模和沈德绪, 1987),其中以‘玫瑰香’和‘沙巴珍珠’等为骨干亲本,培育出性状优良的早熟品种(崔腾飞等, 2018)。美国是培育无核葡萄比较早的国家,后来各国利用常规手段培育了许多无核新品种。樊秀彩等(2012)已经对20年来国外通过杂交培育的有核和无核葡萄品种进行了汇总,表1中主要列出我国近些年通过常规杂交培育的28个无核葡萄品种。其中有的已经大量生产和推广,有的可以作为育种材料培育新品种(杨亚蒙等, 2018)。

**表 1 国内利用常规杂交获得的无核葡萄品种**  
**Table 1 The seedless grape varieties obtained by conventional hybridization in China**

育种单位 Breeding institution	品种名称 Cultivar name	母本 Female parent	父本 Male parent
中国科学院植物研究所 Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences	京早晶	葡萄园皇后	无核白
	Jingzaojing	Queen of Vineyard	Thompson Seedless
	京可晶	葡萄园皇后	无核白
北京市林业果树科学研究所 Beijing Academy of Forestry and Pomology Sciences	Jingkejing	Queen of Vineyard	Thompson Seedless
	爱神玫瑰	玫瑰香	京早晶
	Aishen Meigui	Muscat Hamburg	Jingzaojing
河北省农林科学院昌黎果树研究所 Changli Fruit Research Institute, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences	瑞都无核怡	香妃	红宝石无核
	Ruidu Wuheyi	Xiangfei	Ruby Seedless
	8611	巨峰	郑州早红
		Kyoho	Zhengzhou Zaohong
	8612	巨峰	郑州早红
		Kyoho	Zhengzhou Zaohong
河北科技师范学院 Hebei Normal University of Science and Technology	月光无核	玫瑰香	巨峰
	Yueguang Wuhe	Muscat Hamburg	Kyoho
	金田皇家无核	牛奶	皇家秋天
石河子葡萄研究所 Shihezi Grape Research Institute	Jintian Huangjia Wuhe	Niunai	Autumn Royal
	新葡 1 号	葡萄园皇后	底莱特
	Xinpu 1	Queen of Vineyard	Dlight
	新葡 2 号	葡萄园皇后	康耐诺
	Xinpu 2	Queen of Vineyard	Kangnainuo
	新葡 3 号	葡萄园皇后	康耐诺
	Xinpu 3	Queen of Vineyard	Kangnainuo
	新葡 4 号	玫瑰香	无核紫
	Xinpu 4	Muscat Hamburg	Monukka
新疆维吾尔自治区葡萄瓜果研究所 Research Institute of Grape and Melon of Xinjiang Uygur Autonomous Region	火洲黑玉	红地球	火焰无核
	Huozhou Heiyu	Red Globe	Flame Seedless
	火洲红玉	红地球	火焰无核
中国农业科学院郑州果树研究所 Zhengzhou Fruit Research Institute, the Chinese Academy of Agricultural Sciences	Huozhou Hongyu	Red Globe	Flame Seedless
	郑艳无核	京秀	布朗无核
	Zhengyan Seedless	Jingxiu	Bronx Seedless
浙江省农业科学院园艺研究所 Institute of Horticulture, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences	红艳无核	红地球	森田尼无核
	Hongyang Seedless	Red Globe	Centennial Seedless
	天工翡翠	金手指	鄞红
上海市葡萄研究所 Shanghai Grape Research Institute	Tiangong Feicui	Gold Finger	Yinhong
	天工玉柱	白香蕉	红亚历山大
	Tiangong Yuzhu	Triumph	Muscat of Alexandria
焦作市农林科学研究院 Jiaozuo Agriculture and Forestry Research Institute	申华	京亚	86-179
	Shenhua	Jingya	
	朝霞无核	京秀	布朗无核
辽宁省果树科学研究所 Liaoning Fruit Science Institute	Zhaoxia Seedless	Jingxiu	Bronx Seedless
	岳红无核	晚红	无核白鸡心
	Yuehong Seedless	Wanhong	Centennial Seedless
山西省农业科学院果树研究所 Institute of Fruit Research, Shanxi Academy of Agricultural Sciences	晶红宝	瑰宝	无核白鸡心
	Jinghongbao	Guibao	Centennial Seedless
	无核翠宝	瑰宝	无核白鸡心
	Wuhe Cuibao	Guibao	Centennial Seedless
	丽红宝	瑰宝	无核白鸡心
	Lihongbao	Guibao	Centennial Seedless
沈阳农业大学 Shenyang Agricultural University	早康宝	瑰宝	无核白鸡心
	Zaokangbao	Guibao	Centennial Seedless
	沈香无核	87-1 自交	
深泽县林业局 Shenze County Forestry Bureau	Shenxiang Seedless	87-1 self cross	
	紫脆无核	牛奶	皇家秋天
	Zicui Seedless	Niunai	Autumn Royal
西北农林科技大学 Northwest A & F University	秦秀	京秀	郑果大无核
	Qinxu	Jingxiu	Zhengguoda Seedless

## 5.2 利用胚挽救技术培育无核葡萄

无核葡萄（表 2）育种的另一种途径为胚挽救技术，杂交的父母本均为无核葡萄，通过离体胚培养获得的杂交后代的无核率为 85%以上（Cain & Emershad, 1983; Emershad & Ramming, 1984; Goldy, 1987; Emershad et al., 1989）。

表 2 国内外利用胚挽救技术获得的无核葡萄  
Table 2 The seedless grape varieties obtained by embryo rescue technology domestic and overseas

育种国家 Breeding country	品种名称 Cultivar name	母本 Female parent	父本 Male parent
中国 China	沪培 3 号 Hupei 3	喜乐 Himrod Seedless	藤稔 Fujiminori
	沪培 2 号 Hupei 2	杨格尔 Yanggeer	紫珍香 Zizhenxiang
	沪培 1 号 Hupei 1	喜乐 Himrod Seedless	巨峰 Kyoho
	秦红无核 Qin hong Seedless	爱莫无核 Olmo Seedless	蓼莫葡萄 <i>V. adstricta</i>
	秦翠无核 Qincui Seedless	底莱特 Dlight	爱莫无核 Olmo Seedless
	秦红 1 号 Qin hong 1	底莱特 Dlight	红宝石无核 Ruby Seedless
美国 United States	紫丰 Zifeng	红宝石无核 Ruby Seedless	黑爱莫无核 Black Olmo Seedless
	Autumn Crisp	97148-027-365	99080-126-251
	Adora Seedless	91171-094-492	92167-052-375
	Sugra Thirteen	17-138 (Italia × Sugraone)	Fantasy Seedless
	Princess (Melissa)	Crimson Seedless	B40-208
	Sugra Fifteen	Dawn Seedless	Flame Seedless
	Sugra Sixteen	Black Monukka	Sugrafive
	Sugra Twentyone	90089-165-268	90227-127-008
	Sugra Twentytwo	89152-064-236	89134-202-189
	Sugra Twentythree	89339-089-291	89098-194-167
	Sugra Seventeen	Emperor	Ruby Seedless
	Sugra Nineteen	89345-090-144	89361-091-364
	Thomcord	Thompson Seedless	Concord
	Sweet Scarlet	C33-30	C103-41
	Sugra Twentyeight	89145-062-244	89014-019-280
	Sugra Twentysix	86005-098-073	85022-079-636
	Scarlet Royal	C33-30	C51-63
	Sugra Thirtyone	92147-050-238	92187-055-030
	Sugra Thirtytwo	88124-037-243	88047-004-226
	IFG 104-253	Princess	Regal
	IFG 31-077	Summer Royal	Regal
	Valley Pearl	A60-42	C77-79
	ARRA1	V25/3	FLR47/63-229
	ARRA 2	GAW1	GZW5
	ARRA 3	S.R.43/25	FLR47/63-229
	ARRA 6	GAW3	Thompson Seedless
	ARRA11	GAW2	GRAPAES
	ARRA 15	GAW5	GZW4
	ARRA 16	GV-45	Thompson Seedless
	ARRA 27	A.R.	GAW 6
	ARRA 28	A.3.	E.Z.
	ARRA 30	C.R.	GRAPES
	ARRA 31	A.3.	G-16
	ARRA 32	BAR1	35-22+4
	ARRA 141	GZR1	GAR5
巴西 Brazil	BRS Morena	Marroo Seedless	Centennial Seedless
	BRS Clara	CNPUV 154-147(SV 12327×CG 87746)	Centennial Seedless
	BRS Linda	CNPUV 154-90 (SV 12327×CG87746)	Saturn
以色列 Israel	Early Sugar	Yantar	Novomuscato Seedless
南非 South Africa	G1-6819	Bellevue	Centennial Seedless
日本 Japan	Nagano Purple	Kyoho	Rosario Bianco



自 Tukey (1933) 首次将胚挽救育种运用到樱桃幼胚培养中, 该技术在果树育种中得到快速发展。1983 年, 美国育种家 Cain 和 Emershad (1983) 通过胚挽救方法对葡萄进行无核育种, 获得 2 株胚挽救苗。研究报道显示, 葡萄通过胚挽救育种可将后代的无核比率提高到 82%, 与传统方法相比, 育种周期可至少缩短 5 年 (Ramming, 1990; 潘学军, 2005; 张剑侠和牛茹萱, 2013)。随着胚挽救技术的成熟, 通过胚挽救手段已经成功培育出无核葡萄新品种 (Emershad et al., 1989; Ramming, 1990; Emershad & Ramming, 1994; Magdalita, 1996; Ramming et al., 2000; Singh, 2011; Ji et al., 2013; Li et al., 2014, 2015, 2018; Liu et al., 2015)。本文结合樊秀彩等 (2012) 文献列出的国内外通过胚挽救技术获得的无核葡萄品种, 进行汇总补充, 共搜集到 47 个无核品种 (表 2), 美国通过胚挽救技术培育了一系列无核品种, 如 Melissa、Thorncord、Autumncrisp、Midnight 和 Adora 等 (Vial et al., 2005; 田莉莉, 2007; 樊秀彩 等, 2012, 2017; 张剑侠和牛如萱, 2013; 蒋爱丽, 2016), 是世界无核葡萄育种的典型代表。

### 5.3 利用分子标记辅助选育无核葡萄新品种

目前普遍用于无核葡萄育种与杂交后代分子标记辅助选择的标记有: SCAR (Sequence-characterized amplified region) 标记 SCC8 和 SCF27、通过 RAPD (Random amplified polymorphic DNA) 标记测序后获得无核基因探针 1 号 (GLSP1) 和 SSR 标记 VMC7F2 和 P3\_VvAGL11。

SCAR 标记 SCC8 是从 RAPD 标记 opP18 转化来的 (Lahogue et al., 1998; 唐冬梅, 2010)。SCC8 检测无核性状更适应于双亲均为无核的情况, 该标记可靠性高、适用性广, 是目前应用较多的标记。如利用 SCC8 对无核抗病葡萄的杂交后代进行无核性状鉴定 (Adam-Blondo et al., 2001; 王刚, 2014)。

Mejía 和 Hinrichsen (2003) 从 336 个 RAPD 引物中筛选到 6 个与无核性状相关, 1 个与有核性状相关, 将其中 1 个 RAPD 标记转化为 SCAR 标记, 命名为 SCF27, 片段大小 2 kb, 用该标记对 127 个 ‘红宝石’ × ‘无核白’ 的杂交后代进行无核性状鉴定, 无核和有核性状分离比为 3:1, 与两个亲本为双杂合子的这一性状相吻合, 并且分子标记鉴定的无核率与田间测定的实际无核率的相关性达 81%; SCF27 更适用于无核 × 无核杂交的葡萄育种中无核性状的鉴定 (Akkurt et al., 2012; Li et al., 2015, 2018)。

王跃进等 (1996, 1997, 2002) 以 B72-216 × B45-187 杂交的 61 个后代群体为材料, 筛选到 RAPD 标记引物 UBC-269, 在此基础上获得了 1 个长 18 bp 的葡萄无核基因探针 GLSP1。王勇 (2010) 通过无核基因探针 GLSP1、抗黑痘病分子标记 OPS03-1354 和抗霜霉病分子标记 S416-1224 对 239 株胚挽救苗进行分子鉴定, 同时筛选出既含无核基因又含抗病基因的杂交单株。纪薇等 (2013) 利用 GLSP1 对 8 个杂交组合的 115 个株系进行无核性状鉴定, 共鉴定出 11 个株系。在杂交后代无核抗寒研究方面, 利用无核标记 GLSP1、SCC8 和抗寒分子标记 S241-717, 共检测了 6 个杂交组合的 83 个杂种株系, 其中携带无核分子标记的杂种株系 49 个, 抗寒分子标记的杂种株系 5 个, 同时具有无核和抗寒标记的杂种株系 35 个 (赵雅楠和王跃进, 2018)。后来在无核葡萄杂交后代无核性状分子检测过程中发现, GLSP1 标记尤其是检测 ‘无核白’ 的后代的准确性更高 (Ji & Wang, 2013; Li et al., 2015; 屈田田 等, 2017)。

Pellerone 等 (2001) 开发了 SSR 标记 VMC7F2, 并利用该标记鉴定了意大利南部葡萄种质的基因型。Cabezas 等 (2006) 为了研究控制鲜食葡萄中无核和果实大小性状的基因, 以有核葡萄 ‘Dominga’ 和无核葡萄 ‘Autumn Seedless’ 进行杂交, 通过单个果粒中种子干、鲜质量和数量等指标评价无核性状, 并利用 VMC7F2 标记将种子干、鲜质量和数量这 3 个性状进行 QTL 分析, 将其定位在第 18 号染色体上, 该标记在辅助选择无核性状过程中有很高的应用价值, 且因其准确性高

及稳定, 被广泛用于无核葡萄育种中 (Akkurt et al., 2012; Bergamini et al., 2013)。

Mejía 等 (2011) 通过 QTL 分析筛选到候选的无核基因 *VvAGL11*, 并在其启动子调控区域设计了 1 个含有 (GAGA)<sub>n</sub> 区域的 SSR 标记 P3\_VvAGL11, 并连续 3 年在 Ruby Seedless × Sultanina 葡萄的杂交后代中验证出该标记对无核性状的选育效率最高。Bergamini 等 (2013) 在有核 × 无核葡萄杂交的 475 个 F<sub>1</sub> 代中, 通过 p3\_VvAGL11 检测无核性状, 其中无核葡萄都能检测出与无核相关的等位基因, 8 个有核葡萄也检测出与无核相关的等位基因, 该标记在检测葡萄无核性状上是很有效的标记; 近几年该标记在鉴定葡萄无核性状方面得到广泛的使用和认可 (Conner et al., 2018)。

## 6 展望

根据目前的葡萄无核机理与无核基因功能研究, 笔者认为今后葡萄无核基因研究与无核葡萄育种的路径可以从以下几个方面开展。

(1) 功能基因与基因组学研究: 目前报道的葡萄无核基因较少, 且无核基因的具体功能和调控途径并不十分清楚, 通过基因编辑方法定向改良优质的有核葡萄可为获得无核葡萄新种质提供重要的途径, 通过基因组学分析无核基因, 利用转基因技术验证基因功能, 为分子育种提供重要参考。

(2) 研究开发适用于无核育种的无核基因分子标记: 目前已报道的无核基因相关分子标记并不适宜于所有无核葡萄品种, 稳定性不高, 未来开发和无核性状紧密连锁的分子标记是重要方向。

(3) 无核葡萄胚挽救育种与分子标记辅助选择结合: 目前利用胚挽救技术在无核葡萄育种中已有 30 多年, 今后的育种方向将无核葡萄胚挽救育种与分子标记辅助选择聚合, 可以提高无核葡萄育种效率, 缩短育种时间。

(4) 常规育种研究与分子标记辅助选择聚合: 传统的育种方式也是选育无核葡萄的重要途径, 今后的常规育种与无核分子标记相结合, 可以减少育种时间。

(5) 合理应用植物生长调节剂: 在葡萄开花前喷施赤霉素等激素可以诱导有核葡萄产生单性结实, 并提高果实品质, 是未来无核葡萄商品化的重要途径。植物激素可以促进花芽形成, 提高坐果率, 改善果实品质, 增强果实的抗性, 合理使用可促进高品质、高产的无核葡萄生产。

## References

- Achard P, Genschik P. 2009. Releasing the brakes of plant growth: how GAs shutdown DELLA proteins. *Journal of Experimental Botany*, 60 (4): 1085 - 1092.
- Adam-Blondo A F, Lahogue-Esnault F, Bouquet A, Boursiquot J M, This P. 2001. Usefulness of two SCAR markers for marker-assisted selection of seedless. *Vitis*, 40 (3): 147 - 155.
- Akkurt M, Çakir A, Shidfar M, Çelikkol B P, Soylemezoglu G. 2012. Using SCC8, SCF27 and VMC7f2 markers in grapevine breeding for seedlessness via marker assisted selection. *Genetics Molecular Research*, 11 (3): 2288 - 2294.
- Apuya N R, Yadegari R, Fischer R L, Harada J J, Zimmerman J L, Goldberg R B. 2001. The *Arabidopsis* embryo mutant *schlepperless* has a defect in the *chaperonin-60a* gene. *Plant Physiology*, 126 (2): 717 - 730.
- Bergamini C, Cardone M F, Anaclerio A, Perniola R, Pichierrri A, Genghi R, Alba V, Forleo L R, Caputo A R, Montemurro C, Blanco A, Antonacci D. 2013. Validation assay of p3\_VvAGL11 marker in a wide range of genetic background for early selection of stenospermocarpy in *Vitis vinifera* L. *Molecular Biotechnology*, 54 (3): 1021 - 1030.
- Boss P K, Sensi E C, Davies C, Thomas M R. 2002. Cloning and characterisation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) MADS-box genes expressed during

- inflorescence and berry development. *Plant Science*, 162 (6): 887 - 895.
- Bouquet A. 1996. Inheritance of seedlessness in grapevine (*Vitis vinifera* L.) . *Vitis*, 35: 35 - 42.
- Cabezas J A, Cervera M T, Ruiz-Garcia L, Carreno J, Martinez-Zapater J M. 2006. A genetic analysis of seed and berry weight in grapevine. *Genome*, 49 (12): 1572 - 1585.
- Cain D W, Emershad R L. 1983. In-ovulo embryo culture and seedling development of seeded and seedless grapes (*Vitis vinifera* L.) . *Vitis*, 22: 9 - 14.
- Carrier G, Cunff L, Dereeper A, Legrand D, Sabot F, Bouchez O, Audeguin L, Boursiquot J M, This P. 2012. Transposable elements are a major cause of somatic polymorphism in *Vitis vinifera* L. *PLoS ONE*, 7 (3): e32973.
- Chai L J, Li Y, Chen S, Perl A, Zhao F, Ma H. 2014. RNA sequencing reveals high resolution expression change of major plant hormone pathway genes after young seedless grape berries treated with gibberellin. *Plant Science*, 229: 215 - 224.
- Cheng C, Xu X, Singer S D, Li J, Zhang H, Gao M, Wang L, Song J, Wang X. 2013. Effect of GA<sub>3</sub> treatment on seed development and seed-related gene expression in grape. *PLoS ONE*, 8 (11): e80044.
- Chialva C, Eichler E, Muñoz C, Lijavetzky D. 2016. Development and use of biotechnology tool for grape functional analysis//Grape and wine biotechnology. Rijeka: InteshOpen.
- Conner P J, Gunawan G, Clark J R. 2018. Characterization of the p3-VvAGL11 marker for stenopermocarpic seedlessness in Euvitis × Muscadinia grape hybrid progenies. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 143 (3): 167 - 172.
- Constantinescu G, Pena Aé. 1972. Inheritance of some qualitative and quantitative characters in the progeny of crosses between functionally female (gynodynamic) and apyrene (androdynamic) varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 7: 213 - 241.
- Costantini L, Battilana J, Lamaj F, Fanizza G, Grando M S. 2008. Berry and phenology-related traits in grapevine (*Vitis vinifera* L.): from quantitative trait loci to underlying genes. *BMC Plant Biology*, 8 (1): 38.
- Cui Mengjie, Wang Chen, Zhang Wenying, Tang Wei, Zhu Xudong, Li Xiaopeng, Fang Jinggui. 2017. Reasearch progress of seedless grape. *Journal of Plant Physiology*, 53 (3): 317 - 330. (in Chinese)
- 崔梦杰, 王 晨, 张文颖, 汤 巍, 朱旭东, 李晓鹏, 房经贵. 2017. 无核葡萄研究进展. *植物生理学报*, 53 (3): 317 - 330.
- Cui Teng-fei, Wang Chen, Wu Wei-min, Jiu Song-tao, Xiang Dian-fang, Tang Wei, Fang Jing-gui. 2018. Current status and developmental trend of grape new varieties in China in last decade. *Jiangxi Agricultural Journal*, 30 (3): 41 - 48. (in Chinese)
- 崔腾飞, 王 晨, 吴伟民, 纠松涛, 项殿芳, 汤 巍, 房经贵. 2018. 近 10 年来中国葡萄新品种概况及其育种发展趋势分析. *江西农业学报*, 30 (3): 41 - 48.
- Curaba J, Singh M B, Bhalla P L. 2014. miRNAs in the crosstalk between phytohormone signalling pathways. *Journal of Experimental Botany*, 65 (6): 1425 - 1438.
- Dangi G S, Mendum M L, Prins B H, Walker M A, Meredith C P, Simon C J. 2001. Simple sequence repeat analysis of a clonally propagated species: a tool for managing a grape germplasm collection. *Genome*, 44 (3): 432 - 438.
- Diaz-Riquelme J, Lijavetzky D, Martínez-Zapater J M, Carmona M J. 2009. Genome-wide analysis of MIKCC-type MADS Box genes in grapevine. *Plant Physiology*, 149 (1): 354 - 369.
- Doligez A, Bertrand Y, Farnos M, Grolier M, Romieu C, Esnault F, Dias S, Berger G, François P, Pons T, Ortigosa P, Roux C, Houel C, Laucou V, Bacilieri R, Péros J P, This P. 2013. New stable QTLs for berry weight do not colocalize with QTLs for seed traits in cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L.) . *BMC Plant Biology*, 13 (1): 217.
- Doligez A, Bouquet A, Danglot Y, Lahogue F, Riaz S, Meredith C, Edwards K, This P. 2002. Genetic mapping of grapevine (*Vitis vinifera* L.) applied to the detection of QTLs for seedlessness and berry weight. *Theoretical & Applied Genetics*, 105 (5): 780 - 795.
- Dudnik A N, Moliver G M. 1976. Inheritance of seedlessness in grape in the south of the Ukrainian SSR. *Referativnyi Zhurnal*, 5 (118): 105 - 113.

- Durbak A, Yao H, Mcsteen P. 2012. Hormone signaling in plant development. *Current Opinion in Plant Biology*, 15 (1): 92 - 96.
- Emershad R L, Ramming D W. 1984. In-ovulo embryo culture of *Vitis vinifera* L. 'Thompson seedless'. *American Journal of Botany*, 71 (6): 873 - 877.
- Emershad R L, Ramming D W. 1994. Somatic embryogenesis and plant development from immature zygotic embryos of seedless grapes (*Vitis vinifera* L.). *Plant Cell Report*, 14 (1): 6 - 12.
- Emershad R L, Ramming D W, Serpe M D. 1989. In ovulo embryo development and plant formation from stenospemic genotypes of *Vitis vinifera*. *American Journal of Botany*, 76 (3): 397 - 402.
- Fan Xiu-cai, Zhang Ying, Jiang Jian-fu, Sun Hai-sheng, Li Min, Liu Chong-huai. 2012. Progress in breeding of fresh grape varieties in recent 20 years. *Sino-overseas Grapevine & Wine*, (2): 53 - 59. (in Chinese)
- 樊秀彩, 张颖, 姜建福, 孙海生, 李民, 刘崇怀. 2012. 近20年来国外鲜食葡萄品种选育进展. *中外葡萄与葡萄酒*, (2): 53 - 59.
- Fan Xiu-cai, Li Min, Sun Hai-sheng, Zhang Ying, Jiang Jian-fu, Liu Chong-huai. 2017. Two promising new varieties of seedless grapes. *Northwest Horticulture (Fruit Tree)*, (6): 37 - 39. (in Chinese)
- 樊秀彩, 李民, 孙海生, 张颖, 姜建福, 刘崇怀. 2017. 两个有发展前景的无核葡萄新品种. *西北园艺 (果树)*, (6): 37 - 39.
- FAO. 2017. FAO-OIV Focus 2017 Table and dried grapes: non-alcoholic products of the Vitivinicultural sector intended for human consumption. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/>.
- Finkelstein R R, Gampala S S L, Rock C D. 2002. Absciscic acid signaling in seeds and seedlings. *Plant Cell*, 14 (Supplement 1): 15 - 45.
- Fodor A, Segura V, Denis M, Neuenschwander S, Fournier-Level A, Chatelet P, Homa FAA, Lacombe T, This P, Le Cunff L. 2014. Genome-wide prediction methods in highly diverse and heterozygous species: proof-of-concept through simulation in grapevine. *PLoS ONE*, 9 (11): e110436.
- Goldy G R. 1987. *In vitro* culturability of ovules from 10 seedless grape clones. *HortScience*, 22: 952.
- Gu Mo, Shen De-xu. 1987. Several main fruit tree breeding and variety improvement in China. *Jilin Agricultural Science*, (3): 68 - 75, 78. (in Chinese)
- 顾模, 沈德绪. 1987. 我国的几种主要果树育种与品种改良. *吉林农业科学*, (3): 68 - 75, 78.
- Hanania U, Velcheva M, Flaishman M, Sahar N, Perl A. 2007. Silencing of chaperonin 21, that was differentially expressed in inflorescence of seedless and seeded grapes, promoted seed abortion in tobacco and tomato fruits. *Transgenic Research*, 16 (4): 515 - 525.
- Hanania U, Velcheva M, Sahar N, Flaishman M, Or E, Degani O, Perl A. 2009. The ubiquitin extension protein *S27a* is differentially expressed in developing flower organs of Thompson seedless versus Thompson seeded grape isogenic clones. *Plant Cell Reports*, 28 (7): 1033 - 1042.
- Hua W, Brian J, Zhengguo L, Pierre F, Corinne D, Farid R, Salma C, Alain L, Jean-Claude P, Mondher B. 2005. The tomato Aux/IAA transcription factor *IAA9* is involved in fruit development and leaf morphogenesis. *The Plant Cell*, 17 (10): 2676 - 2692.
- Ji W, Li Z Q, Zhou Q, Yao W K, Wang Y J. 2013. Breeding new seedless grape by means of *in vitro* embryo rescue. *Genetics Molecular Research*, 12 (1): 859 - 869.
- Ji W, Wang Y. 2013. Breeding for seedless grapes using Chinese wild *Vitis* spp. II. *In vitro* embryo rescue and plant development. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 93 (15): 3870 - 3875.
- Ji Wei. 2013. Breeding for new germplasms of seedless grape using embryo rescue and remedy of abnormal seedlings [Ph. D. Dissertation]. Yangling: Northwest A & F University. (in Chinese)
- 纪薇. 2013. 无核葡萄胚挽救种质创新及畸形苗转化利用研究[博士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- Jiang Ai-li. 2016. New seedless grape variety - Hupei No. 3. *China Fruit Industry Information*, 33 (1): 66. (in Chinese)
- 蒋爱丽. 2016. 无核葡萄新品种——沪培3号. *中国果业信息*, 33 (1): 66.
- Jung C J, Hur Y Y, Yu H J, Noh J H, Park K S, Lee H J. 2014. Gibberellin application at pre-bloom in grapevines down-regulates the expressions of *VvIAA9* and *VvARF7*, negative regulators of fruit set initiation, during parthenocarpic fruit development. *PLoS ONE*, 9 (4): e95634.

- Klap C, Yeshayahou E, Bolger A M, Arazi T, Gupta S K, Shabtai S, Usadel B, Salts Y, Barg R. 2017. Tomato facultative parthenocarpy results from *SIAGAMOUS-LIKE 6* loss of function. *Plant Biotechnol Journal*, 15 (5): 634 – 647.
- Koumoto Y, Shimada T, Kondo M, Hara-Nishimura I, Nishimura M. 2001. Chloroplasts have a novel Cpn10 in addition to Cpn20 as co-chaperonins in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Biological Chemistry*, 276 (32): 29688 – 29694.
- Lahogue F, This P, Bouquet A. 1998. Identification of a codominant scar marker linked to the seedlessness character in grapevine. *Theoretical and Applied Genetics*, 97 (5 – 6): 950 – 959.
- Lavee S. 1960. Effect of gibberellic acid on seeded grapes. *Nature*, 185 (4710): 395.
- Ledbetter C A, Burgos L. 1994. Inheritance of stenopermocarpy seedlessness in *Vitis vinifera* L. *Journal of Heredity*, 85 (2): 157 – 160.
- Ledbetter C A, Ramming D W. 1989. Seedlessness in grapes. *Horticultural Reviews*, 11: 159 – 184.
- Li G R, Ji W, Wang G, Zhang J X, Wang Y J. 2014. An improved embryo-rescue protocol for hybrid progeny from seedless *Vitis vinifera* grapes × wild Chinese *Vitis* species. *In Vitro Cell Development and Biology Plant*, 50 (1): 110 – 120.
- Li T M, Li Z Q, Yin X, Guo Y R, Wang Y J, Xu Y. 2018. Improved *in vitro* *Vitis vinifera* L. embryo development of F<sub>1</sub> progeny of ‘Delight’ × ‘Ruby Seedless’ using putrescine and marker-assisted selection. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 54 (3): 291 – 301.
- Li Z Q, Li T M, Wang Y J, Xu Y. 2015. Breeding new seedless grapes using in ovulo embryo rescue and marker-assisted selection. *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 51 (3): 241 – 248.
- Li Z Q, Zhang C, Guo Y R, Niu W L, Wang Y J, Xu Y. 2017. Evolution and expression analysis reveal the potential role of the HD-Zip gene family in regulation of embryo abortion in grapes (*Vitis vinifera* L.). *BMC Genomics*, 18 (1): 744.
- Liang Zhen-chang. 2018. New weapon for grape breeding research. *Life World*, (4): 26 – 27. (in Chinese)
- 梁振昌. 2018. 葡萄育种研究的新武器. *生命世界*, (4): 26 – 27.
- Liu Chong-huai. 2003. Analysis on seedless sources of seedless grape breeding. *Journal of Plant Genetic Resources*, 4 (1): 58 – 62. (in Chinese)
- 刘崇怀. 2003. 无核葡萄品种的无核性来源分析. *植物遗传资源学报*, 4 (1): 58 – 62.
- Liu Q, Zhang J, Wang Y, Yu D, Xia H. 2015. Breeding for cold-resistant, seedless grapes from Chinese wild using embryo rescue. *New Zealand Journal of Crop & Horticultural Science*, 44 (2): 1 – 16.
- Locascio A, Roig-Villanova I, Bernardi J, Varotto S. 2014. Current perspectives on the hormonal control of seed development in *Arabidopsis* and maize: a focus on auxin. *Frontiers in Plant Science*, 5: 412.
- Loomis N H, Weinberger J H. 1979. Inheritance studies of seedlessness in grapes. *Journal American Society for Horticultural Science*, 104: 181 – 184.
- Magdalita P M. 1996. An improved embryo-rescue protocol for a carica interspecific hybrid. *Australia Journal of Botany*, 44 (3): 343 – 353.
- Malabarba J, Buffon V, Mariath J E A, Gaeta M L, Dornelas M C, Margis-Pinheiro M, Pasquali G, Revers L F. 2017. The MADS-box gene *Agamous-like 11* is essential for seed morphogenesis in grapevine. *Journal of Experiment Botany*, 68 (7): 1493 – 1506.
- Malabarba J, Buffon V, Mariath J E A, Maraschin F S, Margis-Pinheiro M, Pasquali G, Revers L F. 2018. Manipulation of *VvAGL11* expression changes the seed content in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Plant Science*, 269: 126 – 135.
- Marion-Poll A. 1997. ABA and seed development. *Trends in Plant Science*, 2 (12): 447 – 448.
- Mejía N, Hinrichsen P. 2003. New, highly assertive scar marker potentially useful to assist selection for seedlessness in table grape breeding. *Acta Horticulturae*, 603: 559 – 564.
- Mejía N, Soto B, Guerrero M, Casanueva X, Houel C, Miccono M de los Á, Ramos R, Cunff L L, Boursiquot J M, Hinrichsen P, Adam-Blondon A. 2011. Molecular, genetic and transcriptional evidence for a role of *VvAGL11* in stenopermocarpy seedlessness in grapevine. *BMC Plant Biology*, 11 (1): 57.
- Mezzetti B, Landi L, Pandolfini T, Spena A. 2004. The *defH9-iaaM* auxin-synthesizing gene increases plant fecundity and fruit production in strawberry and raspberry. *BMC biotechnology*, 4 (1): 4.
- Mignolli F, Vidoz M L, Mariotti L, Lombardi L, Picciarelli P. 2015. Induction of gibberellin 20-oxidases and repression of gibberellin 2β-oxidases in unfertilized ovaries of entire tomato mutant, leads to accumulation of active gibberellins and parthenocarpic fruit formation. *Plant Growth Regulation*, 75 (2): 415 – 425.

- Mironova V, Teale W, Shahriari M, Dawson J, Palme K. 2017. The systems biology of auxin in developing embryos. Trends in Plant Science, 22 (3): 225 – 235.
- Mizzotti C, Ezquer I, Paolo D, Rueda-Romero P, Guerra R F, Battaglia R, Rogachev I, Aharoni A, Kater M M, Caporali E, Colombo L. 2014. *SEEDSTICK* is a master regulator of development and metabolism in the *Arabidopsis* seed coat. PLoS Genetics, 10 (12): e1004856.
- Ocares N, Mejía N. 2016. Suppression of the D-class MADS-box *AGLII* gene triggers seedlessness in fleshy fruits. Plant Cell Reports, 35 (1): 239 – 254.
- Okamoto G. 2005. Effect of pre-bloom GA application on pollen tube growth in cv. Delaware grape pistils. Vitis, 44 (4): 157 – 159.
- Pan Xue-jun. 2005. Innovating in the technique system of embryo rescue of stenospermocarpic grape and breeding new cultivars of both seedless and disease-resistance traits [Ph. D. Dissertation]. Yangling: Northwest A & F University. (in Chinese)
- 潘学军. 2005. 无核抗病葡萄胚挽救技术体系优化及新品系培育[博士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- Pellerone F I, Edwards K j, Thomas M R. 2001. Grapevine microsatellite repeats: isolation, characterisation and use for genotyping of grape germplasm from Southern Italy. Vitis, 40 (4): 179 – 186.
- Petrášek J, Friml J. 2009. Auxin transport routes in plant development. Development, 136 (16): 2675 – 2688.
- Pinyopich A, Ditta G S, Savidge B, Liljegren S J, Baumann E, Wisman E, Yanofsky M F. 2003. Assessing the redundancy of MADS-box genes during carpel and ovule development. Nature, 424 (6944): 85 – 88.
- Qu Tian-tian, Zhang Jian-xia, Luo Qiang-wei, Wang Yue-jin. 2017. A study on the application of seedless grapevine breeding for cold-hardness and disease-resistance. Journal of Fruit Science, 34 (2): 157 – 165. (in chinese)
- 屈田田, 张剑侠, 骆强伟, 王跃进. 2017. 无核葡萄抗寒抗病胚挽救育种应用研究. 果树学报, 34 (2): 157 – 165.
- Rajjou L, Belghazi M, Huguet R, Robin C, Moreau A, Job C, Job D. 2006. Proteomic investigation of the effect of salicylic acid on *Arabidopsis* seed germination and establishment of early defense mechanisms. Plant Physiology, 141 (3): 910 – 923.
- Ramming D W. 1990. Hybridization of seedless grapes. Vitis, 29 (Special Issue): 439 – 444.
- Ramming D W, Emershad R L, Tarailn R. 2000. A stenospermocarpic, seedless *Vitis vinifera* × *Vitis rotundifolia* hybrid developed by embryo rescue. HortScience, 35 (4): 732 – 734.
- Rotino G L, Perri E, Zottini M, Sommer H, Spena A. 1997. Genetic engineering of parthenocarpic plants. Nature Biotechnology, 15 (13): 1398.
- Royo C, Carbonell-Bejerano P, Torres-Perez R, Nebish A, Martíneð, Rey M, Aroutiounian R, IbáñezJ, Martínez-Zápatar J M. 2016. Developmental, transcriptome, and genetic alterations associated with parthenocarp in the grapevine seedless somatic variant Corinto blanco. Journal of Experimental Botany, 67 (1): 259 – 273.
- Royo C, Torres-Pérez R, Mauri N, Diestro N, Cabezas J A, Marchal C, Lacombe T, IbáñezJ, Tornel M, Carreno J, Martinez-Zapater J M, Carbonell-Bejerano P. 2018. The major origin of seedless grapes is associated with a missense mutation in the MADS-box gene *VviAGLII*. Plant Physiol, 177 (3): 1234 – 1253.
- Sandhu A S, Jawanda J S, Uppal D K. 1984. Inheritance of seed characters in hybrid populations of intercultural crosses of grapes (*Vitis vinifera* L.). Journal of Research-Punjab Agricultural University (India), 21: 39 – 44.
- Singh N V. 2011. Standardization of embryo rescue technique and bio-hardening of grape hybrids (*Vitis vinifera* L.) using Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) under sub-tropical conditions. Vitis, 50 (3): 115 – 118.
- Silva E M, Silva G F F, Bidoia D B, Da Silva A M, de Jesus F A, Pino L E, Peres Lep P, Carrera E, López-Díaz I, Nogueira F T S. 2017. microRNA159-targeted SIGAMYB transcription factors are required for fruit set in tomato. Plant Journal, 92 (1): 95 – 109.
- Spiegel-Roy P, Baron Y, Sahar N. 1990. Inheritance of seedlessness in seeded × seedless progeny of *Vitis vinifera* L. Vitis, 29: 79 – 83.
- Stout A B. 1936. Seedlessness in grapes. Technology Bulletin, 238: 159 – 184.
- Stout A B. 1939. Progress in breeding for seedless grapes. Proceeding American Society for Horticultural Science, 37: 627 – 629.
- Striem M J, Spiegel-Roy P, Baron I. 1992. The degrees of development of the seed-coat and the endosperm as separate subtraits of stenospermocarpic seedlessness in grapes. Vitis, 31 (3): 149 – 155.
- Striem M J, Ben-Hayyim G, Spiegel-Roy P. 1994. Developing molecular genetic markers for grape breeding, using polymerase chain reaction procedures. Vitis, 33 (1): 53 – 54.

- Tang N, Deng W, Hu G, Hu N, Li Z. 2015. Transcriptome profiling reveals the regulatory mechanism underlying pollination dependent and parthenocarpic fruit set mainly mediated by auxin and gibberellin. *PLoS ONE*, 10: e0125355.
- Tang Dong-mei. 2010. Novel germplasm innovation of seedless grapes by embryo rescue and technique improvement [Ph. D. Dissertation]. Yangling: Northwest A & F University. (in Chinese)
- 唐冬梅. 2010. 无核葡萄杂交胚挽救新种质创建与技术完善[博士学位]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- Tian Li-li. 2007. Breeding for the disease-resistant seedless grape novel varieties and innovating of new germplasms using embryo rescue [Ph. D. Dissertation]. Yangling: Northwest A & F University. (in Chinese)
- 田莉莉. 2007. 抗病无核葡萄胚挽救育种及种质创新[博士学位]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- Tiziana P. 2009. Seedless fruit production by hormonal regulation of fruit set. *Nutrients*, 1 (2): 168 - 177.
- Tukey H B. 1933. Artificial culture of sweet cherry embryos. *Journal of Heredity*, 24 (1): 7 - 12.
- Ueta R, Abe C, Watanabe T, Sugano S S, Ishihara R, Ezura H, Osakabe Y, Osakabe K. 2017. Rapid breeding of parthenocarpic tomato plants using CRISPR/Cas9. *Scientific Report*, 7 (1): 507.
- Vial P M, Crisosto C H, Crisosto G M. 2005. Early harvest delays berry skin browning of 'Princess' table grapes. *California Agriculture*, 59 (2): 103 - 108.
- Wang C, Jogaiah S, Zhang W, Abdelrahman M, Fang J G. 2018. Spatio-temporal expression of miRNA159 family members and their GAMYB target gene during the modulation of gibberellin-induced grapevine parthenocarpy. *Journal of Experimental Botany*, 69 (15): 3639 - 3650.
- Wang Gang. 2014. Novel resistant downy mildew germplasm innovation of seedless grapes by embryo rescue and technique improvement [M. D. Dissertation]. Yangling: Northwest A & F University. (in Chinese)
- 王 刚. 2014. 抗霜霉病无核葡萄种质创制与胚挽救体系优化[硕士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- Wang Li. 2017. Mechanism study of grape seedlessness based on transcriptome and genome analysis and functional analysis of putative seedlessness-related genes [Ph. D. Dissertation]. Yangling: Northwest A & F University. (in Chinese)
- 王 莉. 2017. 基于转录组和基因组的葡萄无核分子机制及无核相关基因功能研究[博士学位]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- Wang S, Yu Y, Zhang C, Xu W, Wang Y. 2011. Molecular cloning and characterization of a novel gene encoding an EF-hand calcium-binding protein related to fruit seedlessness of grapevine. *Scientia Horticulturae*, 130 (4): 708 - 714.
- Wang Xin, Sun Hui, Hu Zhong-li, Xu Chen-wu. 2018. The research progress of genomic selection methods. *Journal of Yangzhou University (Agriculture and Life Sciences)*, 39 (1): 61 - 67. (in Chinese)
- 王 欣, 孙 辉, 胡中立, 徐辰武. 2018. 基因组选择方法研究进展. 扬州大学学报 (农业与生命科学版), 39 (1): 61 - 67.
- Wang Yong. 2010. The new and excellent grape plants of seedless and disea-resistance by molecular marker-assisted selection [M. D. Dissertation]. Yangling: Northwest A & F University. (in Chinese)
- 王 勇. 2010. 利用分子标记辅助选择抗病无核葡萄新优系[硕士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- Wang Yue-jin, Lamikanra O, Lu Jiang, Ramming D. 1996. Identification of genetic marker linked to seedless genes in grapes using RAPD. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry*, 24 (5): 2 - 10. (in Chinese)
- 王跃进, Lamikanra Olusola, 卢 江, Ramming D. 1996. 葡萄无核基因的 RAPD 遗传标记. 西北农业大学学报, 24 (5): 2 - 10.
- Wang Yue-jin, Lamikanra O. 1997. Analysis of sequencing the RAPD mraker linked to seedless genes in grapes. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry*, 25 (4): 1 - 5. (in Chinese)
- 王跃进, Lamikanra Olusola. 1997. 葡萄无核基因 RAPD 标记的序列分析. 西北农业大学学报, 25 (4): 1 - 5.
- Wang Yue-jin, Lamikanra O. 2002. Application and synthesis on the DNA probe for detecting seedless genes in grapevine. *Journal of Northwest A & F University of Natural Science Edition*, 30 (3): 42 - 46. (in Chinese)
- 王跃进, Lamikanra Olusola. 2002. 检测葡萄无核基因 DNA 探针的合成与应用. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 30 (3): 42 - 46.
- Weinberger J H. 1964. Seedlessness in vinifera grapes. *Proceedings of the American Society for Horticultryal Science*, 85: 270 - 274.
- Wevaer R. 1958. Effect of gibberellic acid on fruit set and berry enlargement in seedless grapes of *Vitis vinifera* L. *Nature*, 181 (4612): 851 - 852.
- Yang Ya-meng, Jiang Jian-fu, Fan Xiu-cai, Zhang Ying, Sun Hai-sheng, Li Min, Liu Chong-huai. 2018. Introduction of foreign introduction of grape in China since 2000. *Sino-overseas Grapevine & Wine*, (2): 54 - 59. (in Chinese)

- 杨亚蒙, 姜建福, 樊秀彩, 张 颖, 孙海生, 李 民, 刘崇怀. 2018. 2000 年以来我国葡萄国外引种概况. *中外葡萄与葡萄酒*, (2): 54 - 59.
- Zhang Chao-hong. 2007. Cloning of the genes involved in abortion based on the ESTs sequence in the seedless grape cultivar Thomson Seedless [Ph. D. Dissertation]. Yangling: Northwest A & F University. (in Chinese)
- 张朝红. 2007. 无核葡萄胚珠发育进程中 EST 的分析及败育相关基因的克隆[博士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- Zhang H, Fan X, Zhang Y, Jiang J, Liu C H. 2017. Identification of favorable SNP alleles and candidate genes for seedlessness in *Vitis vinifera* L. using genome-wide association mapping. *Euphytica*, 213 (7): 136.
- Zhang Jian-xia, Niu Ru-xuan. 2013. The present situation and prospect of embryo rescue technique research in seedless grape breeding. *Acta Horticulturae Sinica*, 40 (9): 1645 - 1655. (in Chinese)
- 张剑侠, 牛茹萱. 2013. 无核葡萄胚挽救技术的研究现状与展望. *园艺学报*, 40 (9): 1645 - 1655.
- Zhang Wen-ying, Wang Chen, Tang Wei, Cui Meng-jie, Zhu Xu-dong, Li Xiao-peng, Fang Jing-gui. 2018. Advances study on embryo abortion of fruit trees. *Molecular Plant Breeding*, 16 (12): 4043 - 4054. (in Chinese)
- 张文颖, 王 晨, 汤 巍, 崔梦杰, 朱旭东, 李晓鹏, 房经贵. 2018. 果树果实胚败育研究进展. *分子植物育种*, 16 (12): 4043 - 4054.
- Zhao Ya-nan, Wang Yue-jin. 2018. Breeding for grape germplasm involved in seedlessness with cold-resistant using embryo rescue. *Scientia Agricultura Sinica*, 51 (21): 4119 - 4130. (in Chinese)
- 赵雅楠, 王跃进. 2018. 利用胚挽救技术创制无核抗寒葡萄新种质. *中国农业科学*, 51 (21): 4119 - 4130.
- Zimmerman J L, Apuya N, Darwish K, Carroll C. 1989. Novel regulation of heat shock genes during carrot somatic embryo development. *Plant Cell*, 1 (12): 1137 - 1146.