

芹菜遗传育种研究进展

王武台^{1,2}, 吴 锋², 高国训^{1,2}, 黄亚杰², 郎 朗²

(1. 天津市蔬菜研究中心, 天津 300384; 2. 天津科润蔬菜研究所, 天津 300384)

摘 要:芹菜是喜冷凉的蔬菜作物, 在冬春季栽培中易受环境条件及自身遗传因素影响产生未熟抽薹现象, 导致品质下降。现从未熟抽薹、雄性不育、分子标记、生物技术、抗病育种及新品种选育等方面对芹菜遗传育种进行综述, 并对今后研究进行展望。

关键词:芹菜; 未熟抽薹; 雄性不育; 分子标记; 生物技术; 抗病; 品种选育

中图分类号:S 636. 303 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)01-0177-04

芹菜原产地中海沿岸地区, 汉代传入我国, 距今已有 2 000 多年栽培历史^[1]。芹菜富含维生素、矿物质、蛋白质等多种营养成分, 而且茎叶中还含有芹菜甙、佛手甙内酯、挥发油等药用成分, 具有降压利尿、增进食欲、健胃、防癌等多种药理功效^[2], 随着人们生活水平的提高和保健意识的不断增强, 芹菜越来越受到广大消费者的青睐。根据近年来国内外科研人员在芹菜未熟抽薹、雄性不育、分子及细胞学、新品种选育等有关芹菜遗传育种方面的研究成果做以综述, 以期今后芹菜育种及科研工作提供理论参考和技术指导。

1 未熟抽薹

芹菜是喜冷凉的蔬菜作物, 在冬春季栽培中易受环境条件及自身遗传因素影响产生未熟抽薹现象, 导致品质下降。预防未熟抽薹可以采取以下栽培措施: 选用冬性强、品质好、不易未熟抽薹的优良品种; 适期播种; 加强苗床温度管理; 适量喷施赤霉素; 适时收获等。芹菜分苗后的温度条件是决定能否提早抽薹的重要因素, 在育苗期间严格避免夜间低温是降低未熟抽薹率的有效措施^[3]。

芹菜不同品系的抽薹进程复杂多样。Quiros 等^[4]研究了 1、2 a 生芹菜及其 F₂ 代群体的抽薹情况, 经 10℃ 处理 7 d 的植株比对照植株早抽薹 2 周。对 F₂ 和回交群体的遗传分析表明, 1 a 生芹菜相对于 2 a 生芹菜呈部分显性, 受单基因 Hb 控制。

Booij 等^[5]研究了光周期对芹菜花茎伸长的影响。当植株顶生花序显露时, 进行 8~24 h、16℃ 低温处理, 花

茎长度会随光周期增长而增长。在顶生花序出现之前、成花热诱导之后进行 8~10 h 光周期处理, 芹菜植株正常开花不形成花茎。只有在光周期处理之前进行低温处理或延长光周期, 才能导致花茎的伸长。初级伞形花序的开花时间不受光周期长度的影响, 短光周期处理可以延迟二级伞形花序的开花时间。综上所述, 芹菜开花与抽薹需要的条件不同, 花茎伸长比开花需要更长时间的低温处理, 而较长的光周期可以替代低温。

为了探索降低未熟抽薹的途径, 一些学者开展了有关芹菜塑料覆盖栽培技术方面的研究。Jenni 等^[6]的研究结果表明, 单层聚酯纤维覆盖可以产生最稳定的效益, 既可抑制抽薹又可增加芹菜的市场化产量。

2 雄性不育

美国加州大学 Quiros 等^[7]在野生芹菜中首次发现芹菜雄性不育材料, 其不育性由一对隐性核基因控制, 但其结籽率比正常植株低 30%, 育种价值也随之降低。高国训等^[8]在 1 个西芹高代自交系 01-3 中发现了雄性不育材料 01-3A, 其小花颜色偏暗、花丝较短, 花药瘦小不散粉, 且后期颜色变褐、干瘪, 不能自交结籽, 表现出典型的雄性不育特征, 这一性状可稳定遗传。陆子梅等^[9]对 01-3A 芹菜花药发育过程进行细胞学观察, 发现其花粉母细胞减数分裂正常, 可以形成单核小孢子并从四分体中释放, 但由于绒毡层细胞提前解体, 导致小孢子营养不足而发生败育。在随后几年里, 高国训等^[10]对 01-3A 不育性的遗传规律进行了系统研究, 结果表明, 01-3A 不育性受细胞核内一对隐性基因控制, 与细胞质无关, 符合隐性核不育遗传模式, 不存在复等位基因或其它互作基因效应, 其不育性不受季节性温度变化的影响。在此基础上, 他们选育出世界首例芹菜雄性不育两用系 01-3AB, 并将其成功应用于芹菜杂交育种, 育成了一代杂交芹菜品种“津奇 1 号”和“津奇 2 号”^[11]。

由于利用两用系进行杂交制种需要拔除 50% 的可育株, 其工作效率较低, 生产成本较高, 制种规模受到很

第一作者简介:王武台(1966-), 男, 本科, 副研究员, 现主要从事蔬菜遗传育种及种子加工研究工作。

基金项目:农业科技成果转化资助项目(2011GB2A100004); 天津市科技支撑计划资助项目(11ZCKFNC01100); 天津市农业科技成果转化与推广资助项目(201101011)。

收稿日期:2011-10-27

大限制。高国训等^[12]利用 2 个芹菜变种间杂交得到了胞质型不育源材料,并进一步选育获得了芹菜胞质型雄性不育系 0863A,利用此材料已经杂交得到多个一代杂交种。为了获得芹菜胞质型雄性不育系,谭芳等^[13]对芹菜与 CMS 胡萝卜原生质体非对称性融合进行了初步研究,得到了完整的再生植株,检测证明其中有 11 株再生植株成功转入了胡萝卜瓣化型雄性不育基因。

3 生物技术

3.1 分子标记

由于芹菜生长期长、品种间形态差异小、种质资源命名混乱,所以芹菜优良性状早期鉴定及品种间亲缘关系研究十分重要。为了解中国芹菜栽培品种的亲缘关系,鞠剑锋等^[14]利用 AFLP 技术对 24 份芹菜种质资源进行了遗传多样性分析。结果表明,根芹菜与芹菜的亲缘关系较近;中国栽培的芹菜品种从遗传组成上差异小,遗传多样性差;聚类结果与地域来源和形态特征有一定对应关系。王武台等^[15]采用 ISSR 分子标记技术,利用 5 对优选引物,分析了 105 份芹菜资源的遗传多样性。分析结果表明,我国芹菜资源大体上包括了西芹类和本芹类 2 个大的类别。在本芹类中,实心白芹与实心本芹的亲缘关系较紧密,可能是由实心本芹变异而来。西芹类可分为两大类:一类为生育期长、直立性强且耐抽薹的类型,另一类为生育期短、直立性弱且不抽薹的类型。利用分子标记技术可以更加精确地区分基因型相似的品种。Domblides 等^[16]获得了在栽培种间呈明显多态性的 6 对 RAPD 引物。根据 RAPD 标记信息,栽培种被聚为三大类:芹菜(var. *dulce*)、根芹菜(var. *rapaceum*)、叶芹菜(var. *secalinum*)。芹菜和根芹菜基因型之间的相似性为 0.73,根芹菜和叶芹菜基因型之间的相似性为 0.68。尽管只分析了 12 个芹菜栽培种,但是由 OPX1 扩增而来的多态性产物在芹菜的 3 个栽培类型中都能观察到。

遗传多样性对作物改良意义重大。但是,分子标记的缺乏限制了对芹菜遗传多样性及相关物种的了解。Wang 等^[17]利用 SRAP 和 SSR 评价 68 种芹菜品系及相关物种的遗传多样性。利用 40 对 SRAP 引物获得 888 个扩增条带,利用 8 对 SSR 引物获得 32 个扩增条带。在获得的全部 920 个条带中,95.1%的条带在芹菜和相关物种间呈现多态性,49.2%的条带可以区分本芹、西芹和相关物种。结果表明,SRAP 和 SSR 技术对鉴定芹菜的遗传多样性及分析相关物种的遗传关系非常有效。Huestis 等^[18]基于 RFLP 遗传标记,研究了芹菜 34 对引物的连锁关系,其中包括 21 对 RFLP 引物、11 对同工酶引物和 2 对形态学性状引物。利用栽培种芹菜与 1 a 生芹菜杂交获得的 136 株 F_2 代分离群体作图,图谱包括 8 个连锁群,覆盖了全基因组 318 cM 长度。Acquadro

等^[19]报道了来源于数据库表达序列标签的 11 对芹菜微卫星标记,这些标记对生态学、遗传学、进化学研究及芹菜育种都非常有益,它们在 16 个芹菜商业品种间的多态性及其在 3 个根芹品系间的标记可转移。

3.2 原生质体培养

原生质体培养、融合和转化是利用细胞改良创造植物新种质的途径之一。有关芹菜原生质体培养获得再生植株的报道并不多。韩清霞等^[20]研究了芹菜胚性愈伤的诱导条件,建立了芹菜高频植株的再生体系。研究表明,芹菜苗期下胚轴最适于诱导愈伤组织;基因型对芹菜愈伤组织的形成和分化影响较大;60%的愈伤组织在继代培养基上可以从非胚性状态向半胚性和胚性状态转化。之后又利用胚性细胞悬浮系成功分离得到大量原生质体和完整的再生植株,获得芹菜大量原生质体的最佳反应体系^[21]。Williams 等^[22]将 3 个月左右的芹菜植株叶柄外植体在改良 MS 培养基中继代培养,6 个月过后获得一批分化的愈伤组织,随后培养下一批。将第一批培养了 15 个月的愈伤组织和下一批培养了 9 个月的愈伤组织同时放置于无激素的培养基上,使其长成小植株,同时以正常播种的芹菜为对照。当组培小植株长到足够大时,将小植株和正常播种的芹菜幼苗同时转移到育苗钵,在温室种植成熟。生长数据和细胞学数据表明组培获得的植株不受预培养期限的影响,各项指标均接近于对照植株。Huang 等^[23]研究了在控制气体组分及其它自然条件下,芹菜体细胞胚的诱导发生情况。结果表明,在高氧气、低乙烯含量的条件下,胚胎发生频率增加。Yeo 等^[24]研究了芹菜体细胞胚胎发生发育时期细胞壁多糖的转化情况,结果表明,在胚胎发生时期阿拉伯半乳糖多糖交换率较高,在已分化细胞的细胞壁中有木聚糖积累。

组培过程中产生的体细胞突变可以作为一种变异来源,应用到作物改良育种中。再生植株首先表现出突变特征后,需继续利用其后代验证此突变性状的遗传力。如果这种突变能够在体外表达且易于观察,则能够节省大量人力物力。Donovan 等^[25]为了将外植体变异、新分化愈伤组织的形态学特征与再生植株的某些重要特征(例如抗芹菜晚疫病)相关联,分离了 564 份芹菜茎外植体,评价了愈伤组织的形态学和颜色特征。培养 8 周过后,将愈伤组织转移到再生培养基上,随后分化产生小植株,转移至温室。当 276 株存活的再生植株成熟后,测量其叶形、叶数量、精油组分及晚疫病抗性。分析发现新分化愈伤组织的特征指标与成熟再生植株的各项特征之间没有明显相关性。

3.3 花药和小孢子培养

目前,通过花药和小孢子培养产生双单倍体已经被成功应用于许多作物,但是在芹菜中应用较少。Dohya

等^[26]报道了芹菜花药培养产生小植株及小孢子培养产生双单倍体胚胎和愈伤组织的过程。在花药培养中,将3个不同发育阶段的未成熟花药培养在8种不同的培养基中培养2个月,培养基分别为含有2,4-D、BA、NAA和玉米素的1/2MS培养基和B5培养基。结果表明,Cornell 19的四分小孢子在含2,4-D的1/2MS培养基和B5培养基上分化产生了愈伤组织。而Cornell 619的四分小孢子和早期单核小孢子在含2,4-D的B5培养基上分化产生了愈伤组织。愈伤组织再生出不定胚后,转移到不含NAA和BA的MS培养基上,培养40~60 d出现小植株。在小孢子培养中,将不同发育时期的小孢子培养在液体B5、NLN和1/2MS培养基上,培养基分别含有2,4-D和BA,或者添加谷氨酰胺或者不添加。在Cornell 619中,单核期的小孢子在B5、NLN和1/2MS培养基上发育成孢子群;在B5和1/2MS培养基上的孢子群发育成心形胚;在添加了2,4-D和BA的改良1/2MS培养基上发育成孢子群和愈伤组织。

4 抗病育种

芹菜枯萎病是由芹菜尖镰孢菌引起,Orton等^[27]通过研究认为根芹中可以找到这种病害的抗性基因,抗性呈部分显性,可能由2个基因决定,将抗性根芹与目标芹菜材料进行回交,可把抗性基因导入芹菜品种中,利用这种方法培育成功第1个抗枯萎病品系。芹菜斑枯病是另一种为害芹菜生产的重要病害,由病原体芹菜生壳针孢引起,Honma等^[28]用3种芹菜与2种香芹栽培种进行了抗斑枯病田间鉴定,发现2种香芹表现无病,而芹菜发病率很高;Ochoa等^[29]在野生芹菜*Apium chilense*和*Apium nodiflorum*中也发现有抗性,通过回交收到种子,进一步育种研究仍在进行。

自然侵染芹菜的病毒种类很多,其中黄瓜花叶病毒和芹菜花叶病毒为世界性分布。王述彬等^[30]对侵染西芹的黄瓜花叶病毒品种及抗病性进行了测定,发现在参试的全部品种中,没有对黄瓜花叶病毒免疫的高抗品种,只有西芹品系84-3和84-6比较耐病,意大利冬芹较抗病。李省印等^[31]对芹菜病毒病症状与毒原种类进行了鉴定,结果表明,芹菜花叶病毒和黄瓜花叶病毒的典型鉴别寄主为胡萝卜和千日;芹菜花叶病毒致死温度为50~60℃,形态为线状粒体,属马铃薯Y病毒组;病毒传播方式为汁液摩擦传毒和蚜虫引起的非持久性传毒。

5 新品种选育

在芹菜遗传育种与品种利用方面,美国长期处于世界领先地位,在20世纪,美国先后育成近百个品种,其中一些品种还推广到其它国家,在我国得到大面积种植的“文图拉”就是美国1983年推出的1个优良品种^[32]。我国芹菜育种起步较晚,以往的主要研究工作集中在地方

资源的收集、纯化利用,育种手段多局限于国外品种的引进、驯化,和非目的性的群体自然杂交选育。彭文山等^[33]利用从国内外引进的41份材料,通过品种比较试验,筛选出4个耐热品种。李永忠等^[34]对引进的5个美国西芹品种进行了比较试验,结果表明,“文图拉”、“加州王”产量高、抗性强、商品性好,可在我国各西芹主产区推广种植。田宗城等^[35]对野生芹菜进行了引种栽培,并观察研究了其植物学、生物学及农艺学特征。

“津南实芹”和“玻璃脆”是20世纪80年代我国育成的最早一批芹菜品种,“四季西芹”是天津培育成功的我国第1个西芹品种,曾获得天津市科技进步奖;20世纪90年代以后,我国芹菜育种步伐有所加快,天津在这一领域的优势逐渐显现出来,十几年间,育成10余个优良品种并投放市场,收到很好的社会效益和经济效益。“赛星”、“赛莹”、“优文图斯”、“西雅图”、“旭日”、“赛美”、“赛丽”、“赛雪”、“赛晶”等一系列配套品种的育成标志着天津芹菜已经领先全国,一代杂交品种“津奇1号”和“津奇2号”的问世说明天津的芹菜育种技术水平已经跻身世界先进行列。

6 展望

目前芹菜耐抽薹方面的研究并不深入,多数研究仅停留在探索减轻未熟抽薹的环境条件上,并没有找到控制早期抽薹和晚抽薹的分子标记。选育晚抽薹材料对于芹菜育种者具有较大吸引力,因此利用生物技术结合常规育种,掌握抽薹性状的遗传机理及调控基因将成为未来芹菜育种研究的重要手段。

有关芹菜雄性不育的研究刚刚开展,花粉败育规律和遗传机理及基因工程方面研究尚少。我国在雄性不育杂交育种技术方面,不仅选育出首例芹菜雄性不育两用系,而且已经成功应用于芹菜杂种优势育种,获得了优良的一代杂交品种。随着分子生物学的不断发展和完善,生物技术在芹菜雄性不育研究中将具有广阔应用前景。

在分子标记研究方面,利用的主要标记包括AFLP、ISSR、RAPD、SRAP、SSR等,以后应大力发展SSR、SNP等相对操作简易的特异标记。值得注意的是,在芹菜分子育种方面,我国有自主知识产权的标记和基因尚少。

芹菜组织培养虽取得一定进展,但是探索不同基因型芹菜之间的分化和转化条件的研究仍待深入,从而从根本上提高各种基因型芹菜的分化和再生频率。

在今后的研究中,常规育种仍将是芹菜的主要育种手段,同时需要结合生物技术、组培技术、基因工程等高新技术手段,以实现材料创新、加快育种进程。

参考文献

- [1] 张德纯. 蔬菜史话·芹菜[J]. 中国蔬菜, 2010(1):15.
- [2] 李振琼. 药用蔬菜—芹菜[J]. 家庭医药, 2005(10):54.

- [3] 鞠剑锋. 芹菜苗期温度与早期抽薹[J]. 北方园艺, 2002(3): 38-40.
- [4] Quiros C F, Douches O, Antonio V O. Inheritance of annual habit in celery: cosegregation with isozyme and anthocyanin markers [J]. Theor Appl Genet, 1987, 74: 203-208.
- [5] Boonij R, Mews E J J. Effect of photoperiod on flower stalk elongation in celeriac *Apium graveolens* L. var. *rapaceum* (Mill.) DC. [J]. Scientia Horticulturae, 1995, 63: 143-154.
- [6] Jenni S, Gamache I C, John C S, et al. Plastic mulches and low tunnels to reduce bolting and increase marketable yield of early celery [J]. Journal of Vegetable Science, 2006, 12(2): 57-73.
- [7] Quiros C F, Rugama A, Dong Y Y, et al. Cytological and genetical studies of a male sterile celery [J]. Euphytica, 1986, 35(3): 867-875.
- [8] 高国训, 靳力争, 陆子梅, 等. 芹菜雄性不育株的发现及其植物学特征[J]. 天津农业科学, 2006, 12(4): 9-11.
- [9] 陆子梅, 高国训, 靳力争, 等. 芹菜雄性不育花药发育的细胞学观察[J]. 华北农学报, 2007, 22(1): 120-122.
- [10] 高国训, 靳力争, 鲁福成, 等. 01-3A 芹菜雄性不育材料的遗传特点研究[J]. 长江蔬菜, 2009(14): 21-23.
- [11] 高国训, 靳力争, 鲁福成, 等. 芹菜雄性不育两用系 01-3AB 的选育与利用[J]. 中国农学通报, 2009, 25(4): 202-204.
- [12] 高国训, 朱鑫, 靳力争. 芹菜细胞质雄性不育系选育及其杂交制种的方法[P]. 中国发明专利, 公开号: CN 101999311A.
- [13] 谭芳, 沈火林, 王帅, 等. 芹菜与 CMS 胡萝卜原生质体非对称性融合的初步研究[J]. 园艺学报, 2009, 36(8): 1169-1176.
- [14] 鞠剑锋. 芹菜 AFLP 遗传多样性分析[J]. 农业生物技术科学, 2007, 23(7): 120-123.
- [15] 王武台, 古瑜, 韩启厚, 等. 芹菜种质资源亲缘关系的 ISSR 分析[J]. 中国蔬菜, 2011(8): 22-27.
- [16] Domblides A, Domblides H, Kharchenko V. Discrimination between celery cultivars with the use of RAPD markers [J]. Proceedings of the Latvian Academy of Sciences, 2009, 62(6): 219-222.
- [17] Wang S, Yang W, Shen H. Genetic diversity in *Apium graveolens* and related species revealed by SRAP and SSR markers[J]. Scientia Horticulturae, 2011, 129: 1-8.
- [18] Huestis G M, McGrath J M, Quiros C F. Development of genetic markers in celery based on restriction fragment length polymorphisms[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1993, 85(6-7): 889-896.
- [19] Acquadro A, Magurno F, Portis E, et al. dbEST-derived microsatellite markers in celery (*Apium graveolens* L. var. *dulce*) [J]. Molecular Ecology Notes, 2006, 6(4): 1080-1082.
- [20] 韩清霞, 沈火林, 张振贤. 芹菜胚性细胞悬浮系原生质体分离及再生植株[J]. 园艺学报, 2007, 34(3): 665-670.
- [21] 韩清霞, 沈火林, 朱鑫, 等. 芹菜胚性愈伤的诱导及高频植株再生体系的建立[J]. 中国蔬菜, 2006(11): 6-9.
- [22] Williams L, Collin H A. Growth and cytology of celery plants derived from tissue cultures[J]. Annals of Botany, 1975, 40(2): 333-338.
- [23] Huang S Y, Chan H S, Wang T T. Induction of somatic embryos of celery by control of gaseous compositions and other physical conditions[J]. Plant Growth Regul, 2006, 49: 219-227.
- [24] Yeo U D, Han J Y, Choi Y E, et al. Turnover of cell-wall polysaccharides during somatic embryogenesis and development of celery (*Apium graveolens* L.) [J]. Journal of Plant Biology, 1999, 42(1): 8-15.
- [25] Donovan A, Collin H A, Isaac S, et al. Analysis of potential sources of variation in tissue culture derived celery plants [J]. Annals of Applied Biology, 1994, 124(2): 383-398.
- [26] Dohya N, Matsubara S, Murakami K. Callus formation and regeneration of adventitious embryos from celery microspores by anther and isolated microspore cultures [J]. J. Japan. Soc. Hort. Sci., 1997, 65(4): 747-752.
- [27] Orton T J, Hulbert S H, Durgan M E, et al. UC1, fusarium yellows-resistant celery breeding line[J]. Hortscience, 1984, 19: 594.
- [28] Honma S, Lacy M L. Hybridization between pascal celery and parsley [J]. Euphytica, 1980, 29: 801-805.
- [29] Ochoa O, Quiros C F. *Apium* wild species: Novel sources for resistance to late blight in celery [J]. Plant breeding, 1989, 102: 317-321.
- [30] 王述彬, 濮祖芹. 侵染西洋芹菜的黄瓜花叶病毒及品种抗病性测定[J]. 南京农业大学学报, 1991, 14(3): 63-67.
- [31] 李省印, 常杨生, 常宗堂. 芹菜病毒病症状分析与毒原种类鉴定[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2004(7): 85-88.
- [32] Wehner T C. Vegetable cultivar descriptions for North America [J]. HortScience 2002, 37: 15-78.
- [33] 彭文山, 麦申增, 杨忠诚. 芹菜耐热品种选择[J]. 上海农学院学报, 1998, 16(1): 32-35.
- [34] 李永忠, 刘群良, 周林恩, 等. 美国西芹品种比较试验[J]. 广东农业科学, 2001(3): 23-24.
- [35] 田宗城, 王云, 彭友林, 等. 野生芹菜引种栽培试验初报[J]. 蔬菜, 2005(3): 16-17.

Research Progress on Genetic and Breeding of Celery

WANG Wu-tai^{1,2}, WU Feng², GAO Guo-xun^{1,2}, HUANG Ya-jie², LANG Lang²

(1. Tianjin Vegetable Research Center, Tianjin 300384; 2. Tianjin Kernal Vegetable Research Institute, Tianjin 300384)

Abstract: Celery is a kind of vegetable that prefers cold condition. Premature bolting can be caused by environment or genetics in spring and winter, which can lead to quality decrease. Premature bolting, male sterility, molecular makers, biotechnology, disease resistance breeding and variety breeding were reviewed regarding celery breeding and future studies were also discussed.

Key words: celery; premature bolting; male sterility; molecular makers; biotechnology; disease resistance; breeding