

菊芋耐性胁迫及种质保存研究进展

韩 丽^{1,2}, 张金梅², 卢新雄², 王 玲¹, 陈晓玲²

(¹东北林业大学园林学院, 哈尔滨 150040; ²中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

摘要: 菊芋 (*Helianthus tuberosus* L.) 属菊科向日葵属多年生草本植物, 是重要的作物种质资源。国内外对菊芋已开展了生态、经济、能源及育种栽培等研究, 近年来胁迫条件对菊芋的影响研究成为新的热点。菊芋是无性繁殖作物, 目前对菊芋种质资源的保存主要采取田间圃位的形式, 国外已经开展了试管苗保存和超低温保存等研究, 而我国尚存在空白。本文着重从菊芋的胁迫耐性响应研究, 包括干旱、盐碱及低温 3 个不同胁迫条件对田间性状、生理生化、蛋白、分子水平的研究, 以及常规保存和离体保存等种质保存研究 2 个方面进行阐述, 并指出目前存在的问题, 为菊芋超低温保存和开发利用提供理论依据。

关键词: 菊芋; 利用; 胁迫; 田间保存; 离体保存; 超低温保存

Research Progress on Stress Response and Conservation of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) Germplasm

HAN Li^{1,2}, ZHANG Jin-mei², LU Xin-xiong², WANG Ling¹, CHEN Xiao-ling²

(¹The College of Landscape, Northeast Forestry University, Harbin 150040;

²Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) belonging to Asteraceae family, is a perennial herb. Jerusalem artichoke is an important crop germplasm resource. The researches on its ecology, economy, energy, cultivation, and breeding have been conducted for many years. Stress responses has become the focus of study in recent years. Jerusalem artichoke is one of asexually propagated crops, and mainly conserved in the field nursery. The *in vitro* conservation and cryopreservation methods were tried abroad. However, the relevant conservation research was not started in China. In this paper, we summarized the research progress of Jerusalem artichoke germplasm resource and paid more attention to the study of stress response, including the research of drought, salinity, and low temperature stresses on field properties, physiology and biochemistry, protein, and molecular level. We also set forth the general conservation and *in vitro* conservation states of Jerusalem artichoke and its problems. This would be benefit for the future utilization and cryopreservation.

Key words: Jerusalem artichoke; utilization; stress responses; field nursery; *in vitro* conservation; cryopreservation

菊芋 (*Helianthus tuberosus* L.) 又名洋姜、鬼子姜, 为菊科向日葵属多年生草本植物, 因其地上似菊, 地下似芋而得名。原产北美洲, 在美国、加拿大、墨西哥等国均有广泛分布。17 世纪经欧洲传入我国, 目前在东北三省、内蒙古、北京、河北、河南、湖北、湖南、甘肃、青海、浙江、陕西、新疆、安徽、宁夏、

收稿日期: 2014-02-13 修回日期: 2014-03-20 网络出版日期: 2014-06-18

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20140618.1115.003.html>

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (2011006); 农业部农作物种质资源保护利用专项项目 (2130135); 中央高校基本科研业务费专项资金 (DL13EA07)

第一作者研究方向为园林植物种质资源。E-mail: hanli1101@163.com

通信作者: 王玲, 研究方向为园林植物种质资源。E-mail: wanglinghlj@126.com

陈晓玲, 研究方向为作物种质资源保存。E-mail: chenxiaoling@caas.cn

江苏、山东、山西等省(市、自治区)均有分布^[1]。菊芋有很强的抗逆性,生态适应性很广;无性繁殖作物,其繁殖能力很强,地下块茎繁殖速度可达每年 20 倍以上。西北地区菊芋已成规模化生产,宁夏回族自治区固原市菊芋种植面积达 200 hm²,平均产量达 1740 kg/667m²^[2]。菊芋是一种不可多得的生态经济型植物,喜温暖、耐严寒^[3]、耐盐碱^[4-6],其块茎在黑龙江地区可耐 -47 ℃ 的低温,第 2 年仍可正常发芽生长^[3],其耐盐临界值可达 24.65 ds/m,相当于海水浓度的 45%^[6],在含盐量 20 g/kg 的盐碱地已试种成功^[7]。

菊芋还具有很高的经济、药用、观赏和生态价值^[8],在工业上应用广泛,利用其块茎转化成乙醇和生物燃料等生物能源应用于化工、生物制药、航天等领域^[9-12],如孙丽慧等^[13]利用微生物菌种 *Klebsiella pneumoniae* 发酵菊芋生产 2,3-丁二醇。菊芋块茎中还含有丰富的菊粉,是理想的功能性食品配料,用作甜味增味剂,营养价值高。菊芋地上部分生物量很大,茎叶可直接用于家畜的青饲料^[14-15],被联合国粮农组织称为“21 世纪人畜共用作物”^[16]。菊芋可入药,性甘味凉,有清热解毒之功效,提取的菊糖对血糖具有双向调节的作用,对糖尿病具有很好的防治作用^[17]。菊芋含有的菊粉及低聚果糖还具有超强增殖人体双歧杆菌的作用^[18-20]。

菊芋生态适应性很广,具有很强的耐寒、耐旱、耐盐碱等抗逆境胁迫能力,国内外已相继开展了有关胁迫响应机理研究,这对解决沿海滩涂地带、盐碱地及沙化草原人工植被问题具有重要意义。因此,对菊芋种质进行保存迫在眉睫,目前菊芋种质保存主要采取田间圃位的形式,但其易受环境的影响而导致种质消失,试管苗保存和超低温保存作为有益的补充可以提高种质保存的安全性,而且超低温保存过程中也涉及多个胁迫响应,将菊芋逆境胁迫响应和超低温保存相结合进行研究,不仅有利于其种质保存研究,而且可以推动超低温保存机理的研究。

菊芋是非常重要的作物种质资源,目前国内外对菊芋的研究主要集中于生态、经济、能源及育种栽培等方面,近年来对环境胁迫响应的研究也正逐步开展。本文将从菊芋对胁迫耐性研究及种质保存 2 个方面,即干旱、盐碱及低温 3 种胁迫对菊芋的田间性状、生理生化影响,以及分子层面相关机理的研究,对菊芋种质资源的常规保存和离体保存等方面进行详细的综述,旨在为菊芋超低温保存和开发利用提供理论依据。

1 菊芋的胁迫响应研究

1.1 干旱胁迫响应研究

菊芋抗旱性极强,在我国西北干旱半干旱地区,如科尔沁沙漠和松嫩沙地等地种植菊芋是未来菊芋发展的必然趋势^[21]。干旱是一个长期存在的世界性难题,全球干旱、半干旱地区约占陆地面积的 35%,遍及世界 60 多个国家和地区^[22]。

干旱胁迫影响菊芋地上生物量及块茎的产量,不同干旱程度对菊芋生长的影响不同。R. Ruttanachira 等^[23]研究了 40 个菊芋品种在 2010-2011 年 2 年间不同干旱胁迫对植株的生物量和块茎收获量的影响,发现菊芋经重度干旱胁迫后其生物量、块茎干重等指标下降幅度大于轻度和中度干旱胁迫,在轻、中、重度干旱胁迫下,2 年间每公顷收获菊芋块茎干重比分别为 9:6:4 和 7:5:3,生物量比分别为 7:5:3 和 9:7:4,2010 年块茎干重和生物量的产量是 2011 年的 1.3~1.4 倍,可能是由于 2011 年日最低温度持续时间较 2010 年长,而低温不利于菊芋生长和块茎营养物质的积累。胁迫处理后植株出苗率可以作为胁迫响应指标,如李屹等^[24]研究发现青芋 2 号和青芋 3 号在轻度和中度干旱胁迫下,出苗率可保持 93%,而重度干旱胁迫则严重影响出苗率,仅为 26%。在不同干旱程度胁迫下,株高、茎粗、最大叶面积变化等指标均发生变化,而轻度胁迫下变化较小,中度胁迫和重度胁迫对青芋 2 号株高的影响较大,随着胁迫时间的延长,重度胁迫 28 d 后株高比对照降低 11.6 cm,中度胁迫对茎粗影响不明显,重度胁迫下茎粗比对照降低 0.24 cm,青芋 3 号在中度胁迫下变化较小,重度胁迫 28 d 后株高比对照降低 13.6 cm,茎粗变化与青芋 2 号相似,二者可适应轻度和中度干旱胁迫,在重度干旱胁迫下植株可生存但无法正常生长。总之,在轻度和中度干旱胁迫下,菊芋可正常生长,生物量和块茎干重略有降低;而重度干旱胁迫下,生物量和块茎干重明显降低,严重影响其正常生长。

干旱胁迫下可溶性总糖、酶系统等生理生化可发生胁迫响应,研究表明干旱胁迫下可溶性总糖、果聚糖、蔗糖、葡萄糖的含量均显著增加。钟启文等^[25]通过盆栽、人工控水的方法模拟干旱条件,进行菊芋苗期糖代谢的响应研究发现,随着胁迫的逐渐加重,时间逐渐延长,各类糖含量呈现先增加后趋于稳定甚至略有降低的趋势。菊芋对干旱胁迫也通过保护酶系统进行响应,黄高峰等^[26]和 M. D. Zhang

等^[27]研究表明,在轻度胁迫下保护酶活性的提高能有效清除体内自由基,降低膜脂过氧化程度和丙二醛含量;中度胁迫下保护酶活性持续上升,保护细胞免受更大的伤害,丙二醛含量明显升高;重度胁迫下保护酶活性先升高后降低,酶保护系统遭到破坏,活性氧积累,膜脂过氧化加剧,丙二醛含量升高。这与豌豆^[28-29]、小麦^[30-31]、烟草^[32]、橄榄^[33]、卷心菜^[34]等在受到干旱胁迫时保护酶活性增强的研究结果相似。菊芋对干旱的胁迫不仅从生理生化指标上发生响应,从蛋白水平也可发生响应。张美德^[35]从蛋白质组学方面研究了干旱胁迫下 2 个耐寒性不同的品种岫岩和榆林幼苗体内相关蛋白的变化,发现 2 个品种在干旱条件下,通过调控不同蛋白水平的变化发生胁迫响应,二者在干旱胁迫下虽然部分与光合作用相关的蛋白表达量下调,但是同时也诱导了多个光合作用相关的蛋白表达上调。如在干旱胁迫下,榆林 Rubisco 大亚基表达下调,而岫岩 Rubisco 大亚基表达上调,以此来增加光合速率应对干旱胁迫,此外,二者还启动了如疾病抵抗蛋白、Peroxiredoxin-2F 蛋白等抗逆性相关蛋白,且岫岩中的大部分抗逆蛋白的表达量均增加。2 个品种在信号转导、碳代谢等方面的蛋白表达也存在差异,可见受到干旱胁迫后,岫岩更为积极地启动了蛋白调控来适应逆境胁迫,这也是其抗旱性高于榆林的重要原因。

1.2 盐碱胁迫研究

菊芋有很高的耐盐碱能力,种植耐盐碱植物是高效、快速改善盐碱地的重要方法。据联合国教科文组织(UNESCO, United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization)和粮农组织(FAO, The Food and Agriculture Organization of the United Nations)的不完全统计,全世界盐渍土地面积约 10 亿 hm^2 ^[36],大面积的盐碱地和日益严重的土壤盐渍化是干旱和半干旱地区限制植物生长、降低作物产量的主要原因^[37]。我国盐渍土地总面积约 3600 万 hm^2 ,并以每年 1.33 万~2.00 万 hm^2 的速度逐年扩大^[38],通过种植耐盐碱植物可以有效改良盐碱地,成本低见效快。

菊芋对盐碱有很强的耐性,但不同程度的盐碱胁迫对菊芋正常生长影响很大,盐碱胁迫下菊芋生长特性及产量也发生了变化。董洁等^[39]研究发现盐碱胁迫下,生物量在不同器官的分配为根系>叶片>茎,现蕾期菊芋茎生物量比和叶生物量比相对于其他生育期高,根系生物量比和根冠比与其他生育期相比较低。随着盐碱浓度的增加,叶片生物量比下降,而茎生物量比和根系生物量比增加,菊芋块

茎产量降低,单株块茎数和单薯芽眼数减少,且轻度和中度胁迫差异显著。盐胁迫处理也可改变菊芋干物质的分配格局和糖分的分布,如李辉等^[40]研究发现经盐胁迫处理后,地上部干物质分配比例增大而地下部干物质分配比例减小,茎中总可溶性糖含量降低,盐胁迫对菊芋块茎中果聚糖积累的限制作用明显,延缓了高聚合度果糖在体内(尤其是茎中)的积累。

盐碱胁迫下菊芋体内的离子浓度也发生了变化,吴成龙等^[41-42]通过沙培法研究了菊芋品种南芋 8 号和南芋 1 号幼苗在盐碱胁迫下生物量的改变和对离子运输的影响,发现低浓度的 NaCl 处理促进了耐盐品种南芋 8 号根干物质积累和根冠比的增加;而高浓度 NaCl 处理后二者总干物质重及根干物质重均显著降低,且南芋 1 号降低幅度高于南芋 8 号。菊芋品种间耐碱性的差异与其生物量和可溶性渗透物质在不同器官的分配积累有关,南芋 8 号在低碱胁迫时叶片中保持了较高的 K^+ 含量,根系积累了较多的干物质;在较高的碱胁迫时叶片和根系积累了较多的可溶性糖,根系保持了较高的 K^+ 含量和较低的 Na^+ 含量,这也是南芋 8 号耐碱性高于南芋 1 号的重要原因之一。

通过不同浓度海水对菊芋幼苗生长及生理生化特性的影响研究发现,随着处理时间的延长、海水浓度的增加,菊芋幼苗叶片抗氧化保护酶 SOD、POD、CAT 的活性上升,脯氨酸和可溶性糖含量随海水浓度升高而显著增加^[43], K^+ 、 Na^+ 等离子变化趋势与吴成龙等^[42]研究一致。其中,脯氨酸对调节菊芋体内的渗透压起重要作用,Z. R. Huang^[43]和隆小华等^[44]认为菊芋在盐胁迫下脯氨酸积累是调节渗透压的重要机制,通过调节脯氨酸的合成与降解来激励脯氨酸积累,如菊芋苗经 100 mmol/L NaCl 处理 72 h 后,根、茎、叶中脯氨酸含量均增加,分别达到 28.42 $\mu\text{g/g}$ 、38.39 $\mu\text{g/g}$ 、45.10 $\mu\text{g/g}$,盐胁迫下合成脯氨酸的 HtP5CS 酶活性增强,分解脯氨酸的 HtOAT 和 HtPDH 的酶活性被抑制,盐胁迫 24 h 后茎中的 HtP5CS 酶活性显著增强,根中的 HtOAT 和 HtPDH 酶活性显著下降。HtP5CS2 基因在脯氨酸合成中起重要作用,HtPDH1 和 HtPDH2 基因主要是控制脯氨酸的降解,菊芋在盐胁迫 4 h 后,与对照相比根中 HtP5CS1 基因表达发生变化,茎和叶片未发生明显变化,HtP5CS2 基因表达趋势与脯氨酸在根、茎、叶中含量变化一致,盐胁迫 12 h 后菊芋根中 HtOAT 基因

表达明显下降,*HtPDH1* 基因表达在根、茎、叶中均未发生变化,*HtPDH2* 基因表达均降低。

1.3 低温胁迫研究

菊芋具有极强的耐寒性,其块茎在 $-47\text{ }^{\circ}\text{C}$ 仍能安全越冬^[3]。温度是影响植物生长发育的重要环境因子,在应对环境低温时,植物可通过自身的代谢途径和信号通路抵御寒冷。研究表明,在低温条件下植物体内可溶性糖、可溶性蛋白含量增加,膜系统的抵御能力增强^[45-46]。王丽娜等^[47]以品种青芋 1 号和神芋的块茎为材料,通过自然状态的低温锻炼,进行营养物质积累的抗寒性影响研究表明,随着温度的降低,抗寒品种青芋 1 号的总糖含量、还原糖含量、可溶性糖含量均升高,淀粉含量降低;而非抗寒品种神芋的总糖含量、可溶性糖含量都降低,还原糖含量略升高,淀粉含量显著降低。通过细胞超微结构观察发现,抗寒品种青芋 1 号在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时液泡破碎,线粒体数量增多、变形及解体;非抗寒品种神芋在 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时就出现类似现象,这与简令成等^[48]冷害会引起各类细胞器结构的变化,其破坏程度取决于植物品种抗寒性的观点一致。

菊芋在受到不同逆境胁迫时,其生物量、茎高株粗、可溶性糖及保护酶活性等生理指标变化趋势一致。轻度胁迫对菊芋的生长状态和生理指标无显著影响。随着胁迫的加重,生物量显著降低,株高、茎粗的增长严重受阻,可溶性糖和脯氨酸含量在中度胁迫下先升高然后趋于稳定,达到重度胁迫时含量降低。在轻中度胁迫下保护酶活性增强,丙二醛含量略有升高;重度胁迫时酶保护系统被破坏,加剧了膜脂质过氧化反应,保护酶活性降低,丙二醛含量升高。可见菊芋在轻中度胁迫下可以正常生长,重度胁迫下可以生存但无法正常生长。

目前关于低温、干旱、盐碱胁迫对菊芋生长的影响,国内外学者主要是从生理代谢、生理生化响应等方面进行研究,很少有学者从蛋白、分子水平分析其相关机理。菊芋在受到不同胁迫时,其体内相关基因是否起到重要调节作用,一些抗性蛋白是否参与其中,应对胁迫时其抗性机理等更深层次的相关研究并未见报道。

2 菊芋种质保存

菊芋作为重要的能源作物,具有很强的耐寒、耐旱、耐盐碱的能力,目前主要通过田间圃位保存进行种质资源保存,并采用离体保存进行备份保存。菊芋为无性繁殖作物,主要通过块茎繁殖,但地下块茎

容易受到病毒的侵害,使病毒大量积累,导致品种退化,产量降低,甚至导致种质灭绝。土地开发、环境恶化也可能使菊芋种质资源面临丢失,因此有必要对菊芋种质资源进行保存。目前,全世界已保存了几百份菊芋种质,包括野生、半野生种,地方品种及栽培品种^[49]。

2.1 田间保存

田间保存可以安全、有效地保存植物遗传多样性,保存植物的优良特性和品质,但在受到病虫害、恶劣的自然环境变化、病毒侵染以及人为因素的威胁后,极易导致物种的丢失甚至灭绝,多年连续种植也可能导致病毒侵染种质,致使种质退化和消失^[50-51]。目前,加拿大植物种质基因资源中心已保存了 165 份菊芋块茎^[52],美国国家植物保存体系保存了 42 份^[53],德国植物遗传和作物研究所田间保存了 80 份,中国农业科学院蔬菜花卉研究所田间保存菊芋种质 48 份,国内最大的菊芋种质资源库—青海农林科学院菊芋技术研发中心田间保存菊芋种质 320 份^[54]。其中,德国植物遗传和作物研究所最初在田间保存了 100 份种质资源,但由于 2007 年发生鼠害而丢失了 20 份,目前仅剩 80 份。

2.2 试管苗离体保存

很多无性繁殖作物通过试管苗离体保存进行备份保存,保证种质的安全保存^[51],但经过多次继代培养后可能会出现退化现象,如玻璃化、苗生长缓慢、苗徒长等现象,甚至发生表观遗传学变化^[55]。国外对菊芋的离体组织培养研究较早,1969 年 R. J. Gauthre^[56]就开始了菊芋组织培养的初步研究,而国内的离体保存技术体系研究较晚。研究发现,可进行组织培养用的菊芋外植体类型较多,如块茎、不定芽、枝条顶芽、枝条腋芽、叶片以及花药果实等。国内外学者通过摸索生根、继代、诱导组织培养技术条件,建立了菊芋组织培养的快繁技术体系(表 1)。培养条件一般为光照强度 $2000\sim 3000\text{ lx}$,光照时间 $14\sim 16\text{ h/d}$,温度为 $25\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$,基本培养基为 MS, pH 5.8^[57]。

限制组织培养可以延长继代周期,减少工作量。目前延长试管苗继代周期主要通过降低保存温度^[52]、添加延缓生长调节剂(如 ABA 可以抑制猕猴桃试管苗的生长^[62])、减少光照等方式进行。菊芋采用切取带节的茎段进行无菌微繁殖,一般 1~2 个月就需要继代 1 次。G. M. Volk 等^[52]研究发现 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 或 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下保存 3 个月,菊芋试管苗可保持较高活力(95% 以上健康苗),6 个月后 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存条件下可保持 52% 健康苗。

表 1 菊芋组织培养外植体种类及快繁技术体系

Table 1 Explant types in tissue culture and rapid propagation techniques of Jerusalem artichoke

外植体种类	生根培养基	继代培养基	诱导培养基	参考文献
Explant types	Rooting medium	Subculture medium	Inducing medium	Reference
切成块状的块茎	MS + 0.5 mg/L NAA + 3 mg/L 6-BA	MS	—	[58]
块茎催生的幼茎	—	MS + 2.0 mg/L 6-BA	—	[56]
块茎和叶片	MS + 0.5 mg/L IAA + 1 mg/L 6-BA	MS	MS + 200 mg/L Glutamate	[59]
薯盘上不定芽	MS + 0.5 mg/L IAA + 4 mg/L 6-BA	MS	—	[60]
薯盘芽和茎段	—	MS + 2.0 mg/L 6-BA	MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L IBA	[61]
幼嫩枝条腋芽	1/2 MS + 0.2 mg/L IBA	MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.01 mg/L NAA	—	[57]
花药	MS + 0.1 mg/L NAA + 0.2 mg/L 6-BA	MS	MS + 0.2 mg/L NAA + 0.4 mg/L 6-BA	[60]

2.3 超低温保存

国内外众多学者认为超低温保存是无性繁殖作物长期安全保存的重要途径^[63-65]。菊芋的超低温保存技术研究相对于马铃薯来说开展较晚。1999年 T. W. Swan 等^[66]利用程序降温法对菊芋的悬浮细胞进行超低温保存,这是关于菊芋超低温保存的首例报道。随着玻璃化法和基于玻璃化法发展的小滴玻璃化法、包埋玻璃化法等广泛应用到植物的超低温保存,2006年 G. M. Volk 等^[52]首次报道了菊芋茎尖的玻璃化法超低温保存和小滴玻璃化法,分别获得了 20% 和 34% 的再生率。玻璃化法技术流程为:菊芋茎尖剥离后在 MS 固体培养基上培养 3 d,或剥下长 1 mm 腋芽,22 ℃ 下在含 0.3 mol/L 蔗糖 1/2 MS 的液体培养基中暗培养 24 h,然后将茎尖和腋芽转入含 2 mol/L 甘油和 0.6 mol/L 蔗糖的 1/2 MS 中装载 20 min,22 ℃ 下 PVS3^[67]处理 2 h 后,投入液氮。经 40 ℃ 水浴化冻 2 min 后转入恢复培养基培养(MS + 0.1 mg/L GA₃ + 15 g/L 蔗糖);小滴玻璃化法技术流程与玻璃化法前期预培养处理相同,脱水采用 1/2 MS 的 PVS 20 ℃ 处理 15 min 或 30 min 后投入液氮,经含 1.2 mol/L 蔗糖的 1/2 MS 溶液化冻(22 ℃)20 min 后,转入恢复培养基中培养。PVS3 超低温保存处理后菊芋成活率降低,这与其他耐寒性植物种类,如大蒜茎尖^[68-69]、丁香茎尖^[70]超低温保存研究结果不同,可能与其品种基因型或技术方法待优化有关。与 PVS3 玻璃化法相比,菊芋的小滴玻璃化法具有较高的存活率和再生率,但 5 个品种的平均再生率仅为 34%。

植物种质超低温保存可以实现种质的长期保存,并且能避免田间保存和继代培养过程中产生的遗传变异和突变的风险,可以实现植物种质资源长期安全保存^[71-72]。对于无性繁殖作物、短寿命种子

和顽拗性种子植物超低温保存是实现其种质资源长期稳定保存的重要方法^[73]。国内外对菊芋种质超低温保存研究较少,目前仅 T. W. Swan 等^[66]和 G. M. Volk 等^[52]对菊芋悬浮细胞和离体茎尖成功地进行了超低温保存,但其超低温保存体系得到的存活率和再生率均较低,而我国有关菊芋种质超低温保存未见相关报道。另外,对于菊芋超低温保存机理研究也较少,仅 2004 年 W. Harris 等^[74]研究了菊芋的悬浮细胞超低温保存过程中预培养对细胞骨架蛋白和转谷氨酰胺酶活性的影响。

3 问题与展望

国外菊芋的研究和利用较早,主要集中在食品加工、工业能源开发利用、医药保健及育种等方面,并且取得了重大成果。我国菊芋的开发利用研究较晚,目前主要集中于菊芋作为生物能源的研究,菊芋耐胁迫的生理响应研究。鉴于菊芋是重要的种质资源,有必要对菊芋种质创新、开发利用、种质保存方面进行深入研究。

在种质保存方面,虽然目前我国已经采取田间保存和试管苗离体保存,但尚未开展超低温保存技术研究。国外已有关于菊芋悬浮细胞和茎尖超低温保存的相关报道,但超低温保存后存活率和再生率较低,需要进一步优化完善超低温保存技术体系。同时,菊芋品种间差异较大,超低温保存后其存活率和再生率可能也有很大差别,也给优化技术体系带来很大困难。另外,超低温保存相关机理研究也尚未开展。菊芋具有很强的耐寒、耐旱、耐盐碱的特性,国内外已经开展了相关胁迫响应机理研究。而超低温保存过程也涉及多个胁迫响应,因此结合胁迫响应及超低温保存开展研究,将不仅有利于菊芋超低温的成功保存,而且更能推动其机理研究。

我国拥有较多菊芋种质资源,需要进一步加快种质保存及其研究进程。目前国家作物种质库已通过“948”项目引进和国内收集,试管苗离体保存了来自美国、加拿大、匈牙利等国以及我国的 14 份菊芋种质材料,目前正在开展超低温保存技术和机理初步探索研究,为构建新国家种质库超低温保存库提供重要的技术支撑。

参考文献

- [1] 黄相国,葛菊梅,沈裕虎,等. 青海高原菊芋 (*Helianthus tuberosus* L.) 开发研究述评[J]. 西北农业学报,2004,13(2): 35-38
- [2] 胥九兵,王乃强,刘宗利,等. 菊芋资源开发利用研究进展[J]. 精细与专用化学品,2012,20(11):18-20
- [3] 田东荣,王秋明. 菊芋生态习性及其栽培[J]. 青海农林科技,2000(3):5
- [4] 赵耕毛,刘赵普,汪辉,等. 滨海盐渍区利用异源海水养殖废水灌溉耐盐能源植物(菊芋)研究[J]. 干旱地区农业研究,2009,27(3):107-111
- [5] 杨君,姜吉禹. 海水灌溉条件下菊芋种植密度对土壤无机盐及产量的影响[J]. 吉林师范大学学报:自然科学版,2009,5(2):17-18
- [6] Zhao G M, Zhao P, Chen M D, et al. Soil properties and yield of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) with seawater irrigation in north China plain [J]. Pedosphere, 2008, 18 (2): 195-202
- [7] 刘丹梅,姜吉禹,杨君. 菊芋的生态功能研究[J]. 北方园艺,2009(10):140-142
- [8] 闫海霞. 菊芋的离体培养与十二倍体新种质选育[D]. 重庆:西南大学,2009
- [9] Kosaric M, Wiczeorek A, Cosentino G P, et al. Industrial processing and products from the Jerusalem Artichoke[J]. Biochem Eng J, 1998, 32:1-23
- [10] Subhash C, Minocha, Pen Nissen. Uptake of benzyladenine by tuber slices of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) over a wild concentration range[J]. Plant Physiol, 1982, 70:528-531
- [11] Schorr G S, Ghommidh C, Guiraud J P. Influence of yeast flocculation on the rate of Jerusalem Artichoke extract fermentation[J]. Curr Microbiol, 2000, 41:89-95
- [12] Ongen B G, Suha S S. Production of inulinase by mixed culture of *Aspergillus niger* and *Kluyveromyces marxianus* [J]. Biotechnol Lett, 1996, 18(12):1431-1434
- [13] 孙丽慧,王旭东,戴建英,等. *Klebsiella pneumoniae* 发酵菊芋生产 2,3-丁二醇的初步研究[J]. 过程工程学报,2009,9(1):161-164
- [14] McLaurin W J, Somda Z C, Kays S J. Jerusalem artichoke growth, development, and field storage. I. Numerical assessment of plant part development and dry matter acquisition and allocation[J]. Plant Nut, 1999, 22(8):1303-1313
- [15] Siler G J. Forage and tuber yields and digestibility of selected wild and cultivated genotypes of Jerusalem artichoke[J]. Agron J, 1993, 85:29-33
- [16] 郑延平. 猪青饲料作物的种植技术[J]. 当代畜禽养殖业, 2009(3):46
- [17] 王凤,高华援,刘峰,等. 功能性植物菊芋开发利用前景[J]. 中国蔬菜,2008(9):8-9
- [18] Toyohiko N, Yasuko O, Shigeyuki H, et al. Ethanol production from Jerusalem Artichoke tubers by *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae* [J]. J Ferment Bioeng, 1996, 81(6):564-566
- [19] Molina L D, Martinez M N, Melgarejo R F, et al. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.) [J]. Phytochemistry, 2005, 66(12):1476-1484
- [20] 黄高峰. 干旱胁迫下菊芋生理生化响应与主栽品种抗旱性比较[D]. 西宁:青海大学,2011
- [21] 马玉明,龙峰. 我国东部沙地菊芋生长的调查研究[J]. 中国草地,2001(6):43-45
- [22] 张木青,陈如凯. 作物抗旱分子生理与遗传改良[M]. 北京:科学出版社,2005:127-129
- [23] Ruttanachira R, Poramate B, Sanun J, et al. Genotypic variability for tuber yield, biomass and drought tolerance in Jerusalem artichoke germplasm [J/OL]. [2014-01-05] (2014-03-15). <http://online.journals.tubitak.gov.tr/open-Accepted-Documents.htm>
- [24] 李屹,黄高峰,孙雪梅. 干旱胁迫对苗期生长的影响[J]. 江苏农业科学,2012,40(10):75-77
- [25] 钟启文,李屹,孙雪梅. 干旱胁迫下菊芋苗期糖代谢响应研究[J]. 西南农业学报,2012,25(4):1238-1241
- [26] 黄高峰,王丽慧,方云花. 干旱胁迫对菊芋苗期叶片保护酶活性及膜脂过氧化作用的影响[J]. 西南农业学报,2011,24(2):552-555
- [27] Zhang M D, Chen Q, Shen S H. Physiological responses of two Jerusalem artichoke cultivars to drought stress induced by polyethylene glycol [J]. Acta Physiol Plant, 2011, 33:313-318
- [28] Moran J F, Becana M, Iturbe-Ormaetxe I, et al. Drought induces oxidative stress in pea plants [J]. Planta, 1994, 194:346-352
- [29] De Ronde J A, Cress W A, Kruger G H J, et al. Photosynthetic response of transgenic soybean plants, containing an *Arabidopsis P5CR* gene, during heat and drought stress [J]. Plant Physiol, 2004, 59:309-314
- [30] Zhang J X, Kirkham M B. Drought-stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase and peroxidase in wheat species [J]. Plant Cell Physiol, 1994, 35:785-791
- [31] Lyudmila S S, Kimentina D, Tatyana P, et al. Antioxidative protection and proteolytic activity in tolerant and sensitive wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties subjected to long-term field drought [J]. Plant Growth Regul, 2009, 58:107-117
- [32] Van Rensburg L, Kruger G H J. Evaluation of components of oxidative stress metabolism for oxidative stress metabolism for use in selection of drought tolerant cultivars of *Nicotiana tabacum* L. [J]. Plant Physiol, 1994, 143:730-737
- [33] Ahmed C B, Rouina B B, Sensory S, et al. Change in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes [J]. Envir Exp Bot, 2009, 67:345-352
- [34] Singh B K, Sharma S R, Singh B. Antioxidant enzymes in cabbage: variability and inheritance of superoxide dismutase, peroxidase and catalase [J]. Sci Hortic, 2010, 124:9-13
- [35] 张美德. 菊芋幼苗叶片干旱胁迫的生理响应和蛋白质组学研究[D]. 北京:中国科学院,2010
- [36] 王遵亲. 中国盐渍土[M]. 北京:科学出版社,1993:325-344
- [37] Qadir M, Ghafoor A, Murtaza G. Amelioration strategies for saline soils: A review [J]. Land Degrad Devel, 2000, 11:501-521
- [38] 张国新,杨扬,薛志忠. 菊芋应用价值及其在河北滨海盐碱区的发展前景[J]. 河北农业科学,2011,1(8):72-74
- [39] 董洁,董秋丽,夏方山. 不同盐碱化草地对菊芋生长特性及产量的影响[J]. 草原与草坪,2012,32(1):46-49
- [40] 李辉,康健,赵耕毛. 盐胁迫对菊芋干物质和糖分积累分配的影响[J/OL]. [2013-04-01] (2014-03-15). <http://www.paper.edu.cn>
- [41] 吴成龙,周春霖,尹金来. NaCl 胁迫对菊芋幼苗生长及离子吸收运输的影响[J]. 西北植物学报,2006,26(11):2289-2296
- [42] 吴成龙,周春霖,尹金来. 碱胁迫对不同菊芋幼苗生物量分配和可溶性渗透物质含量的影响[J]. 中国农业科学,2008,41(3):901-909
- [43] Huang Z R, Zhao L, Chen D D, et al. Salt stress encourages proline accumulation by regulation proline biosynthesis and degradation

- tion in Jerusalem artichoke plantlets[J]. PloS ONE, 2013, 8(4): 1-10
- [44] 隆小华, 刘赵普, 郑青松. 不同浓度海水对菊芋幼苗生长及生理生化特性的影响[J]. 生态学报, 2005, 25(8): 1881-1889
- [45] Pitel G, Sueldo R. Plasmalemma fluidity in parenchyma cells from Jerusalem artichoke tubers during the break of dormancy[J]. Biol Plantar, 1992, 34(5): 373-380
- [46] Donatua S F, Nello B, Pier G C. Polyamines and Nucleic acid during the first cell cycle of *Helianthus tuberosus* tissues after the dormancy break[J]. Planta, 1980, 148(4): 332-337
- [47] 王丽娜, 殷奎德, 金勋, 等. 低温锻炼对不同菊芋品种块茎内含物和细胞超微结构的影响[J]. 北方园艺, 2013(9): 19-22
- [48] 简令成, 孙龙华. 抗冻植物避免细胞内结冰机制的探讨 - 液泡内吞作用和水外排通道的发现[J]. 植物学集刊, 1991(5): 107-113
- [49] Preeya P W, Sudarat K. Assessing genetic structure and relatedness of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) germplasm with RAPD, ISSR and SRAP markers[J]. Am J Plant Sci, 2011, 2: 753-764
- [50] 陈辉. 百合种质离体保存技术研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2002
- [51] 刘丽芳. 甘薯种质遗传稳定性及超低温保存研究[D]. 重庆: 西南大学, 2009
- [52] Volk G M, Richards K. Preservation methods for Jerusalem Artichoke cultivars[J]. Hort Sci, 2006, 41(1): 80-83
- [53] Swish-e. Search NPGS/GRIN Accessions[EB/OL]. [2013-12-27] (2014-03-15). <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/swish/acboth?query=Jerusalem+Artichoke>
- [54] 青海农林科学院. 菊芋技术研发中心成果[EB/OL]. [2014-03-07] (2014-04-15). <http://www.qhny.com>
- [55] 白建明. 马铃薯种质资源保存及遗传稳定性研究[D]. 昆明: 云南农业大学, 2010
- [56] Gautheret R J. Investigations on the formation in the tissues of *Helianthus Tuberosus* culture in vitro[J]. Am J Bot, 1969, 56: 702-711
- [57] 闫海霞, 王卫星, 向素琼. 菊芋的组织培养与快繁技术研究[J]. 南方农业, 2009, 3(3): 58-61
- [58] Taha H S, El-sawy A M, Bekheet S A. In vitro studies on Jerusalem artichoke (*Helianthus Tuberosus*) and enhancement of inulin production[J]. J Appl Sci Res, 2007, 3(9): 853-858
- [59] Witzens B, Scowcroft W R, Downes R W, et al. Tissue culture and plant regeneration from sunflower (*Helianthus annuus*) and interspecific hybrids (*H. tuberosus* × *H. annuus*) [J]. Plant Cell Tiss Org, 1988, 13: 61-76
- [60] Pugliesi C, Megaie P, Cecconi F, et al. Organogenesis and embryogenesis in *Helianthus tuberosus* and in the interspecific hybrid *Helianthus annuus* × *Helianthus tuberosus* [J]. Plant Cell Tiss Org, 1993, 33: 187-193
- [61] 陆杰, 宋洋, 王珣. 菊芋组织培养快繁技术的建立[J]. 植物生理学通讯, 2010, 46(5): 459-465
- [62] 郭延平, 李家瑞. ABA 对泥猴桃种质离体保存的生理效应[J]. 西北农业学报, 1995(1): 84-87
- [63] 肖洁凝, 黄学林. 茎尖和芽的超低温保存[J]. 生物工程进展, 1999, 19(5): 46-51
- [64] Engelmann F. Plant cryopreservation: Progress and prospects[J]. In Vitro Cell Dev Biol Plant, 2004, 40(5): 427-433
- [65] Li D Z, Pritchard H W. The science and economics of ex situ plant conservation[J]. Cell Trends Plant Sci, 2009, 14(11): 614-621
- [66] Swan T W, Hare D O, Gill R A, et al. Influence of preculture conditions on the post-thaw recovery of suspension cultures of Jerusalem Artichoke[J]. Cryo Letters, 1999, 20: 325-336
- [67] Nishizawa S, Sskai A, Amano Y, et al. Cryopreservation of asparagus (*Asparagus officinalis* L.) embryogenic suspension cells and subsequent plant-regeneration by vitrification [J]. Plant Sci, 1993, 91: 67-73
- [68] Baek H H, Kim E, Cho G, et al. Importance of explant size and origin and of preconditioning treatments for cryopreservation of garlic shoot apices by vitrification[J]. CryoLetters, 2003, 24: 381-388
- [69] Kim H H, Cho E G, Baek H J, et al. Cryopreservation of garlic shoot tips by vitrification: Effects of dehydration, rewarming, unloading and regrowth conditions [J]. CryoLetters, 2004, 25: 59-70
- [70] Makowska Z, Keller J, Engelmann F. Cryopreservation of apices isolated from garlic bulbis and cloves [J]. CryoLetters, 1999, 20: 175-182
- [71] Mix W G, Schumacher H M, Cross R J. Recovery of potato apices after several years of storage in liquid nitrogen [J]. CryoLetters, 2002, 24: 33-41
- [72] Niion T, Shirata K, Oka S. Viability of mulberry winter buds cryopreserved for 5 years at -135 °C [J]. J Seric Sci Jpn, 1995, 64: 370-374
- [73] 陈晓玲, 张金梅, 辛霞, 等. 植物种质资源超低温保存现状及其研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(3): 414-427
- [74] Harris W, Lynch P T, Hargreaves A J, et al. Cryopreservation of *Helianthus tuberosus* cell suspension cultures: The effect of preculture treatment on cytoskeletal proteins and transglutaminase activity [J]. CryoLetters, 2004, 25: 213-217

欢迎订阅 2015 年《中国野生植物资源》

《中国野生植物资源》是中华全国供销合作总社主管、南京野生植物综合利用研究院主办的国家级学术性科技期刊。其办刊宗旨是报道野生经济植物最新科研成果, 介绍野生植物资源研究与开发、综合利用、栽培技术, 以普及与提高相结合的方式, 加强从事野生经济植物开发利用者的相互交流, 为我国经济建设服务。先后入选 RCCSE 中国核心学术期刊、中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、中国期刊全文数据库来源期刊、中文科技期刊数据库来源期刊和中国核心期刊(遴选)数据库来源期刊。

主要栏目包括研究报告、综述、资源研究、应用开发、栽培技术、信息报道等。主要读者对象为农林、食品、医药、土特产、轻化工等部门科研、教学及生产人员。

双月刊, 双月底出版, 大 16 开。每册定价 10 元, 全年 60 元, 面向国内外公开发售, 各地邮局均可订阅, 邮发代号: 28-245。

地址: (210042) 南京蒋王庙街 4 号

电话: 025-85472153

E-mail: yszw2009@163.com