湖南省大学生研究性学习和创新性实验计划

项　 目　 申　 报　 表

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 项目名称:接种外生菌根对锥栗幼苗生长的影响 | | | | | | |
| 学校名称 | 中南林业科技大学 | | | | | |
| 学生姓名 | 学 号 | 专 业 | | 性 别 | 入 学 年 份 | |
| 黄紫晴 | 20150080 | 林学 | | 女 | 2015年 | |
| 姚 敏 | 20150094 | 林学 | | 女 | 2015年 | |
|  |  |  | |  |  | |
|  |  |  | |  |  | |
|  |  |  | |  |  | |
| 指导教师 | 邹 锋 | | 职称 | 副教授 | | |
| 项目所属  一级学科 | 林学 | | 项目科类(理科/文科) | | | 理科 |
| 学生曾经参与科研的情况  在指导教师的指导下，先后参与锥栗种子播种、消毒、配比基质等部分的试验工作，同时较为熟练掌握了分光光度计、原子吸收分光光度计等的仪器使用，对试验设计、实施等积累了一定的经验，为开展本课题研究奠定了基础。 | | | | | | |

|  |
| --- |
| 指导教师承担科研课题情况  目前，主持国家自然科学青年基金1项，湖南省教育厅创新平台开放基金1项，参与国家“十二五”科技支撑计划、国家林业局公益性行业专项等科研课题。已发表论文50余篇，其中第一作者（通讯作者）SCI收录5篇，EI收录10篇，参编《中国翅荚木》一部，参与申请国家发明专利6项，参加湖南省科学技术成果鉴定5项，参与选育板栗新品种‘檀桥板栗’1个和锥栗新品种‘华栗1号’、‘华栗2号’、‘华栗3号’、‘华栗4号’4个。“檀桥板栗良种选育及高效栽培技术研究”获衡阳市科技进步奖（排名第四），“一种油茶保果素及其应用方法”获湖南省专利二等奖（排名第二）。 |
| 项目研究和实验的目的、内容和要解决的主要问题   1. **项目研究和实验的目的**   锥栗（*Castanea herryi*）属壳斗科栗属植物，是我国南方特有的重要木本粮食树种，俗称“铁杆庄稼”、“木本粮食”，在调整农业经济结构、发展丘陵山区经济、绿化美化环境和促进新农村建设等方面具有重要的意义。锥栗果实富含淀粉、维生素C以及多种氨基酸等营养成分，与板栗相比，肉质细嫩、香甜，风味好，耐贮藏，产品深受人们喜爱。发展锥栗生产，不仅紧跟国家大力发展木本粮油的产业战略，而且能够缓解我国粮食供需矛盾的问题。  目前锥栗育苗主要采用大田实生苗嫁接良种的繁殖方式，育苗周期长，苗木质量低。在移栽定植的过程中，极易损伤苗木根系导致缓苗期长，成活率低，抗逆性差。然而锥栗的菌根化育苗，可以缩短苗木繁育周期，提高苗木质量，培育出优质苗木，提高造林成活率，有利于锥栗在湖南丘陵山区的推广种植。  因此，本课题在前期研究的基础上，通过对比研究两种外生菌根真菌对锥栗幼苗生长的影响，比较单一接种与混合接种的效果，从而为锥栗菌根化育苗应用于生产实践提供科学的依据。  **二、实验内容**  实验在前期研究的10余种外生菌根基础上，选取已知的两种与栗共生良好的优势外生菌，一是灰树花（与板栗共生菌）、二是橙黄硬皮马勃（与锥栗共生菌）作为试验接种菌剂。以锥栗幼苗为研究对象，采用根系扫描仪、光合作用仪等，测定和分析两种菌根对锥栗幼苗生长特性、光合特征以及养分的含量，最后阐明接种外生菌根对锥栗幼苗生长的影响。  本课题设4个处理：   1. 对锥栗幼苗只接种灰树花（与板栗共生菌） 2. 对锥栗幼苗只接种橙黄硬皮马勃（与锥栗共生菌）   （3）混合接种灰树花、橙黄硬皮马勃菌根  （4）不接种CK  2.1外生菌根菌种及培养和锥栗幼苗培养及接种处理  用 MMN 琼脂培养基对所用菌种进行平板培养, 获得生活力旺盛的菌种后，以泥炭：蛭石(体积比3∶1)为基质，加入MMN液体培养基培养二级菌种。培养温度为 25 ℃，2 周后用于接种。  选择饱满无病害的锥栗种子用 0.5%的 KMnO4消毒20min, 然后用清水洗净，播入 121 ℃灭菌 1 h 的基质中。当幼苗开始长出侧根时 , 移入口径 20 cm 、深 20 cm 的花盆中 , 盆中基质为泥炭：蛭石混合物(体积比 3∶1 , 混合后 121 ℃灭菌 1 h)。选择长势一致的锥栗幼苗，分为4组进行接种处理，每处理15盆，3次重复。  2.2外生菌根感染率及菌根比例的统计  随机选取锥栗幼苗细根根段，以形成外生菌根的根段数占观察的总根段数的百分比作为菌根感染率。在同时接种灰树花和橙黄硬皮马勃两种外生菌根真菌的锥栗幼苗上 , 进一步统计每种菌根所占的比例。外生菌根的比例为锥栗幼苗根段上形成的该种外生菌根的数目占所形成的全部外生菌根数目的百分比。  2.3锥栗幼苗生长状况测定  （1）光合参数测定：在7、8月选择晴好天气。利用 Li-6400便携式光合仪测定各处理锥栗幼苗的光合速率等指标。  （2）测定幼苗氮、磷、钾含量：采用化学间断分析仪测定幼苗的全氮含量，采用硫酸-高氯酸酸溶-钼锑抗比色法测定幼苗的全磷含量，采用原子吸收分光光度计测定全钾含量。  （3）测定苗高、地径、根冠比：定期测量株高、地径，并将锥栗幼苗从容器盆中取出, 小心洗去根际泥土, 按根、茎、叶分开，采用根系扫描仪测定主根长、侧根长、侧根数等指标；同时称取叶片鲜重后于80 ℃烘箱中烘干至恒重，计算生物量(幼苗总干重)、根冠比(根干重/地上部干重)、叶片含水量等。  **三、本研究主要解决的问题**  1.进一步确定灰树花和橙花硬皮马勃外生菌根与锥栗幼苗的生长关系。  2.比较单一菌种与混合菌种对锥栗幼苗生长的影响。  3.外生菌根接种后，对锥栗幼苗光合作用、养分吸收是否有促进作用。 |
| 国内外研究现状和发展动态  国际上对与板栗外生菌根真菌的研究较为深入。E.pereira等（2012）研究发现板栗根部腐生菌的出现时间对外生菌根真菌侵染效果有极大影响。A.Martins等（2011）研究表明，板栗园内种植多种可食用的外生菌根真菌。J.M.Palmer等（2008）研究了美国板栗外生菌根真菌种群的组成，并鉴定出46种菌根真菌。而我国关于栗属外生菌根真菌的研究不多。秦岭等（1998）调查发现29种能与板栗共生的外生菌根真菌，这29种外生菌根真菌与板栗共生关系的强弱主要由真菌种类决定；且板栗外生菌根真菌的分布受温度、土壤湿度、土壤类型、树木年龄等诸多因素的影响。柴迪迪等（2010）从 野生板栗根部分离３株菌种并进行了回接试验，得到１种可以极大促进板栗苗木地径和生物量生长的菌根真菌。目前关于锥栗外生菌根菌的相关报道较少。因此，本试验通过选取已知的两种与栗共生良好的优势外生菌，作为试验接种菌剂，阐明接种外生菌根对锥栗幼苗生长的影响。 |
| 本项目学生有关的研究积累和已取得的成绩  第一，收集、查阅、积累了很多相关文献资料。  第二，先后参与锥栗种子播种、消毒、配比基质等部分的试验工作，同时较为熟练掌握了气相色谱仪、原子吸收分光光度计等的仪器使用，对试验设计、实施等积累了一定的经验，有相关老师、研究生提供技术指导，为开展本课题研究提供了基础。  第三，能够熟练分析数据和撰写报告。 |
| 项目的创新点和特色  **项目创新点：**探明锥栗幼苗生长与外生菌根的关系。  **特 色：**  1、锥栗作为湖南省主要木本粮食树种之一，在丘陵山区种植，不仅能促进山区百姓经济收入，而且绿化荒山、涵养水源，这对于建设美丽乡村、精准扶贫具有重要的意义。  2、锥栗接种外生菌根后，不仅能提高其造林成活率，而且增强锥栗苗木的抗逆性，为锥栗菌根化育苗生实践提供参考。 |
| 项目的技术路线及预期成果  **技术路线**  **接种外生菌根对锥栗幼苗生长的影响**  灰树花、橙黄硬皮马勃混合接种至锥栗幼苗  锥栗幼苗不接种CK  灰树花（与板栗共生菌）接种至锥栗幼苗  橙黄硬皮马勃（与锥栗共生菌）接种至锥栗幼苗  温室  定期观察和测量数据  通过实验数据分析苗高、地径、光合速率、养分含量等  养分含量等  养分含量等  阐明外生菌根对锥栗幼苗的生长的影响。    **预期成果**   1. 明确两种优势外生菌根（灰树花）、（橙黄硬皮马勃）与锥栗幼苗生长的关系。   2.撰写核心期刊论文1篇，并提交总结报告1份。 |
| 年度目标和工作内容（分年度写）  2017年5月，完成锥栗幼苗播种及菌剂制作；  2017年6月，完成锥栗幼苗接种试验；  2017年7月-12月，完成两种外生菌根对于锥栗幼苗生长以及光合作用的测定；  2018年1月-2月，完成两种外生菌根对锥栗幼苗生长的相关数据统计与分析；  2018年3月，总结和综合分析，撰写结题报告。 |
| 指导教师意见  签字： 日期： |

注：本表栏空不够可另附纸张