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:秋水仙素诱导波斯菊多倍体的研究 |
| 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 |
| 杨睿 | 20140294 | 园艺 | 男 | 2014 |
| 姚蕾 | 20140295 | 园艺 | 女 | 2014 |
| 廖思 | 20150110 | 林学 | 女 | 2015 |
| 石美 | 20150087 | 林学 | 女 | 2015 |
|  |  |  |  |  |
| 指导教师 | 曾艳玲 | 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课内研究：（1）植物组织培养基本操作实验。（2）微生物学基本操作实验。（3）生物化学操作实验。（4）植物种子育种实验。（5）植物茎段扦插实验等。课外实验：（1）2016.5-2016.6 为期一个月的重楼扦插育苗实验。（2）2016.12 不同品牌矿泉水中微生物的检测实验。（3）2016.9.10至今 锥栗无土栽培及养护管理实验。（4）2016.11.20至今 植物组织培养实验，探究“活性炭浓度对油菜种子萌发及生根的影响”、“不同浓度秋水仙素处理油菜种子后进行组织培养的研究”、“不同植物激素配比对诱导油菜不定芽生根的实验”、“不同生长素浓度与细胞分裂素浓度配比对波斯菊种子组织培养的影响”。（5）2017.3-2017.4 为期一个月的“粉色波斯菊秋水仙素多倍体诱导及养护管理实验”。 |
| 指导教师承担科研课题情况曾艳玲副教授先后主持过国家自然科学基金青年项目1项、湖南省自然科学基金项目1项、湖南省教育厅项目3项，参与“十二五”农村领域国家科技计划、 “十一五”国家科技支撑、自然科学基金、国家公益林、教育部科技计划等项目共12项。 近年来，主要开展油茶分子育种和细胞育种等方面的研究，“油茶诱变育种及其良种离体快繁研究”项目的顺利执行，为本项目的设计及实施提供了科学依据和技术支撑。 |
| 项目研究和实验的目的、内容和要解决的主要问题1. 目的：

 通过不同浓度的秋水仙素溶液对波斯菊种子进行不同时数的浸泡处理后，在同样且适宜的环境中播种管理，通过各组间的相互对照，选择存活的植株进行流式细胞分析和根尖染色体压片实验，确定染色体倍性，结合表型观察，确立秋水仙素诱导波斯菊多倍体的最佳方案。该研究一方面为获得多倍体波斯菊苗木提供高新技术支持，另一方面为波斯菊育种提供材料来源。1. 内容：

（1）浸泡法处理波斯菊种子的研究：用0.1%、0.2%的秋水仙素溶液及去离子水分别处理波斯菊种子，每组浓度的秋水仙素溶液或去离子水分别处理波斯菊种子12h、24h、36h，每组120粒种子，分装三个培养皿。该过程需在无菌工作台上进行，且用于浸泡的培养皿和滤纸必须经过灭菌处理，种子在接种前先以酒精处理。（2）波斯菊的播种及养护管理研究：采用穴盘播种法栽培波斯菊，通过人工气候室为波斯菊生长提供适宜的环境条件。当植株长出数片真叶后移栽至露天土地上。（3）波斯菊染色体倍性分析：取各组波斯菊叶片采用流式细胞仪对比分析，同时采用根尖压片显微观察法鉴定波斯菊细胞染色体倍性。（4）波斯菊表型及细胞学研究:自播种后即开始记录各组种子萌发状况、芽的长势。待其长到一定高度后，开始观测记录植株株型、高矮。植株开花后，开始观察记录花形、大小等指标。观赏价值和抗逆性分析采用层次分析法。通过显微镜观察各组波斯菊叶肉细胞，比较气孔大小。（5）叶绿体含量检测：采用乙醇丙酮等量混合液法。三、要解决的主要问题：（1）通过秋水仙素处理获得染色体加倍的波斯菊植株。（2）因湖南地区春季温度波动较大，故在波斯菊幼苗的培育过程中需要较好的育苗环境。且波斯菊容易患蚜虫和红蜘蛛等病虫害，需要精心护理。 |
| 国内外研究现状和发展动态波斯菊（*Cosmos bipinnatus*）是菊科一年生草本植物,又名格桑花、秋英,是一种来自高原的美丽花卉,在西藏、四川、云南有广泛的分布,藏族同胞称为格桑花。目前波斯菊已经有规模化的制种。主要研发出了白、黄、粉、红等不同花色的品种，其中高杆花色艳丽，多为混色，亦有较多的其他颜色，极具观赏性，是一种优良的园林绿化植物，此外，波斯菊希腊文原意有宇宙、和谐、秩序、名誉、善行等正面意义，可见人们对它是喜爱有加，因而波斯菊具有良好的生态效益和社会效益。化学诱变研究始于20世纪初，此后化学诱变在全世界得到广泛应用。秋水仙素是植物秋水仙中提纯的一种生物碱，可诱导植物染色体数目同源加倍，且加倍后的多倍体植物往往营养器官增大、生长速度加快，生产品质优良，对不良环境抗性增强等，到目前为止秋水仙素是植物体细胞染色体加倍最为有效的化学诱变剂，通过秋水仙素诱变获得的优良品种已经在农业生产中广泛应用。在1937年Blackeslee和Avery利用秋水仙素诱导曼陀罗四倍体获得成功后，已在1000多个植物种中获得了人工多倍体。为植物的遗传改良做出了重大贡献。波斯菊在我国属于引进物种，虽然在栽培管理、良种培育等研究方面取得了不少的经验和成果，但在多倍体诱导方面进展缓慢，技术很不成熟。秋水仙素诱导波斯菊多倍体不仅可以培育观赏价值更高，抗逆性更强的优良新品种，而且对于波斯菊优良种质资源和性状的保存有着深远而重大的意义。此外，有的报道对波斯菊栽培管理方法、播种期、盐渍胁迫等进行了研究，但尚未看到对诱导波斯菊多倍体的研究，波斯菊多倍体的培育对该方面基础研究能提供研究材料，具有重大意义。参考文献：[1]赵学燕,曹帮华,秦永建,曹玉翠,管其德. 秋水仙素诱导园林植物组培多倍体的初步研究[J]. 山东农业大学学报(自然科学版),2009,(04):535-540.[2]宋平,王学凤,蔡明,任翔翔,潘会堂,张启翔. 秋水仙素诱导观赏植物多倍体研究进展[J]. 湖北农业科学,2009,(06):1510-1513.[3]韩超,徐建民.一种桉树染色体的压片方法[P]. 广东：CN105699141A,2016-06-22.[4]张潇,周素清,汪莹. 波斯菊穴盘播种栽培技术[J]. 四川林业科技,2014,(06):127-129.[5]陈少萍. 波斯菊的繁殖与病虫害防治[J]. 中国花卉园艺,2008,(10):34-36.[6]刘明宇,于辉,张凤海,刘东英. 波斯菊的栽培和管理技术[J]. 林业勘查设计,2005,(01):84.[7]日云. 家庭组合盆栽实例[J]. 园林,2003,(04):48.[8]魏望,施富超,王东玮,彭丽,葛刚,孙宝腾. 多倍体植物抗逆性研究进展[J]. 西北植物学报,2016,(04):846-856.[9]雷家军,王冲. 观赏植物多倍体诱导研究进展[J]. 东北农业大学学报,2012,(01):18-24.[10]蒋淑磊,李志斌,徐立军,李国松. 观赏植物多倍体育种研究进展[J]. 河北林业科技,2015,(06):82-85.[11]张志良，瞿伟菁.植物生理学实验指导[M].高等教育出版社,2005[12]廖美兰，王华新，周修任，龙定建，黄欣.广西二十种金花茶观赏价值综合评价[J]. 北方园艺,2015,(09):67-70. |
| 本项目学生有关的研究积累和已取得的成绩1. 本组成员已具备观赏植物栽培管理及植物育种等学科的基本知识和实验操作技术，并系统的学习了观赏植物栽培与育种方面的知识为本项目的顺利实施打下了基础。
2. 本实验依托经济林培育与保护教育部重点实验室进行试验研究，该实验室具备植物栽培实验室、人工气候室、组织培养实验室、露天大田、显微观察室，拥有完善的植物接种、栽培、育种、显微观察等实验平台。

（3）项目指导老师曾艳玲副教授长期从事植物育种领域的科研及教学工作，对梨、波斯菊、油菜、油茶等植物栽培育种进行过较为系统的研究，并取得较多的可推广的科研成果。本项目有多名研究生提供技术支持，为本项目奠定了技术基础。 |
| 项目的创新点和特色波斯菊是一种极具观赏价值的草本花卉，原产于墨西哥。在湖南地区种植则需采取一定的设施栽培以确保其生长良好。本项目展开波斯菊多倍体育种，填补该方面研究的空白，获得较原种抗逆性更强的植株，为在非自然生长地区种植波斯菊降低设施成本，并为波斯菊育种研究提供科学依据。 |
| 项目的技术路线及预期成果1. 技术路线：

 以波斯菊种子为研究对象，采用不同浓度秋水仙素浸泡处理不同时数后，播种观察，检测分析以获得多倍体植株。1. 预期成果：

 经过一系列实验分析，获得波斯菊多倍体植株及种质； 撰写学术论文1篇。 |
| 年度目标和工作内容（分年度写）2017年4月-2017年7月：秋水仙素处理诱导波斯菊多倍体植株。收集相关文献资料，设计试验方案；根据试验方案，采用不同浓度秋水仙素处理波斯菊种子后常规播种，在相同生长环境下培育至开花。期间对不同试验组波斯菊植株生长状况进行详细记录。并对各试验组波斯菊进行观赏价值评估。2017年7月-2017年10月：细胞学观察及倍性分析。采用显微观察法、植物生理学实验法及借助仪器分析，明确不同试验组波斯菊细胞染色体倍性。收集染色体加倍植株种子及未加倍对照组种子备用。2017年11月-2018年2月：抗性分析。将收集的种子进行二代播种，设置逆境对照培养，观察分析染色体加倍组和对照组生长状况，并进行观赏价值评估比较。2018年3月-2018年4月：整理数据和综合分析，撰写学术论文及项目结题报告 |
| 指导教师意见波斯菊是极具观赏价值的园林绿化植物，主要生长在阳光充足低温的地区，湖南地区虽有引种，但因有高温天气所以生长状况不好。多倍体植物通常有较二倍体植物更强的抗性和更优的观赏价值。该项目拟采用秋水仙素处理波斯菊种子，培育更具抗性和观赏价值的多倍体波斯菊。方法可行，前景可观，具有重要的实际生产意义和推广价值。签字： 日期： |

注：本表栏空不够可另附纸张