



园林植物育种学实验原理与技术

YUANLIN ZHIWU YUZHONGXUE SHIYAN YUANLI YU JISHU

● 主编 吴建慧



东北林业大学 出版社

园林植物育种学实验原理与技术

主编 吴建慧

东北林业大学出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

园林植物育种学实验原理与技术/吴建慧主编. —哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2006.4

ISBN 7-81076-853-0

I. 园… II. 吴… III. 园林植物-植物育种-实验 IV. S680.3-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 031882 号

责任编辑: 付 佳

封面设计: 彭 宇



NEFUP

园林植物育种学实验原理与技术

Yuanlin Zhiwu Yuzhongxue Shiyuan Yuanli Yu Jishu

主编 吴建慧

东北林业大学出版社出版发行

(哈尔滨市和兴路 26 号)

黑龙江省地质测绘印制中心印刷厂印装

开本 787 × 1092 1/16 印张 7.25 字数 167 千字

2006 年 4 月第 1 版 2006 年 4 月第 1 次印刷

印数 1—2 000 册

ISBN 7-81076-853-0

Q·126 定价: 12.50 元

《园林植物育种学实验原理与技术》编委会

主编 吴建慧
参编 王占斌 赵秋雁 汪春蕾
程玉祥 金淑梅
主审 岳 桦

前 言

《园林植物育种学实验原理与技术》是为了适应调整后的园林、园艺专业要求而编写的，是同《园林植物育种学》配套的教材。由于没有正式出版的教材，多年来我们一直沿用自编教材，因此本书的出版将填补这一空白。

园林植物育种学实验是掌握园林植物育种的基本原理、基本知识和基本操作技能的重要环节。改革和加强实验、实践教学，对培养学生创新精神、动手能力有着至关重要的作用。

本书内容和结构安排，既面向 21 世纪，又考虑了目前我国各农业高校的实际。该书由有关教师结合多年的教学经验与科研成果精心编写而成。本书从编写指导思想与内容来看，有以下两个特点：

一是实验原理讲解清晰，实验操作步骤叙述详细，便于学习，易于掌握。

二是以传统的育种学实验为主线，渗入现代分子育种学的实验内容，覆盖面广，实用性强。

本书将对我国各农业高校的园林、园艺等专业的本科和专科大学生及相关科研人员均有参考价值。

由于本书是由遗传学、育种学的有关实验整合而成的，又涉及生物技术等多学科知识，加之我们编写人员水平所限和时间仓促等原因，因此某些实验的安排、设计和编写可能不妥，甚至有错误之处，恳请使用本教材的师生和读者提出宝贵意见，以便修订。

编 者

2005 年 9 月于哈尔滨

目 录

实验一	植物有丝分裂及染色体行为的观察	(1)
实验二	植物减数分裂及染色体行为的观察	(7)
实验三	花粉管生殖细胞有丝分裂的观察	(11)
实验四	园林植物遗传力的估计	(13)
实验五	植物基因组 DNA 的提取	(16)
实验六	琼脂糖凝胶电泳检测 DNA	(20)
实验七	质粒 DNA 的提取、酶切和纯化	(23)
实验八	园林植物种质资源调查	(29)
实验九	园林植物品种识别与分类	(35)
实验十	园林植物的引种计划制定	(38)
实验十一	花粉贮藏	(41)
实验十二	花粉生活力的测定	(44)
实验十三	植物花器官观察	(48)
实验十四	种子发芽率的快速测定	(54)
实验十五	单株选择法	(56)
实验十六	两性花植物有性杂交技术	(58)
实验十七	园林植物自交不亲和性的鉴定	(62)
实验十八	园林植物雄性不育材料的鉴定和选择	(65)
实验十九	园林植物多倍体的诱导与鉴定	(69)
实验二十	辐射对植物的作用及在育种上的应用	(74)
实验二十一	花药培养诱导单倍体植株	(77)
实验二十二	良种繁育	(86)
实验二十三	园林植物的体细胞融合技术	(90)
实验二十四	园林植物的品种比较试验设计与数据处理	(94)
实验二十五	林木航天育种的初步实验研究	(99)
附 录		(102)
参考文献		(108)

实验一 植物有丝分裂及染色体行为的观察

【实验目的】

1. 观察并熟悉体细胞在有丝分裂过程中的细胞学特征，了解染色体在这一过程中所表现的动态变化。
2. 学习并掌握植物染色体玻片标本的制作方法，为进行细胞遗传学研究奠定基础。

【实验原理】

生长发育是通过细胞的分裂、繁殖来实现的。有丝分裂是植物体细胞增殖的主要方式。真核生物的体细胞分裂可以分成两个过程：核分裂与细胞质分裂。核分裂即通常所说的有丝分裂。

有丝分裂是一个连续过程，为了便于研究和描述，一般把它分为间期、前期、中期和末期。

① 间期（Interphase）是分裂前的准备时期，核内发生着一系列的生化变化，主要是DNA复制和能量的积累，以保证分裂的进行。在分裂间期，细胞核具有明显的核膜、核仁及染色质或染色质丝。

② 前期（Prophase）：核内染色质粒或染色质丝逐渐汇合并缩短形成染色体。每一染色体纵裂为二，着丝点不分开。核仁、核膜消失，两极出现纺锤丝。

③ 中期（Metaphase）：染色体向赤道移动，最终有规律地排列在细胞中部的赤道面上，由两极伸出的纺锤丝与染色体上的着丝点相连形成纺锤体。

④ 后期（Anaphase）：每条染色体的着丝粒分裂为二。每条染色单体都具有自己的着丝点。纵裂的染色体单体被纺锤丝拉向两极，呈I型和丁型。

⑤ 末期（Telophase）：两组子染色体到达两极，染色体螺旋结构消失，核仁、核膜重新出现，纺锤体消失。

⑥ 胞质分割（Cytokinesis）：位于赤道板的纺锤丝逐渐收缩增厚形成细胞板，最后成为细胞膜，一个细胞被分隔成两个子细胞。有丝分裂结束。

在有丝分裂过程中，染色体不仅复制繁殖了自己，而且通过一系列规律性变化保证了子细胞和母细胞具有同样数目和形态结构的染色体。从理论上说，凡是处于活跃的分裂状态的动植物组织，如动物的红骨髓、外周血细胞，植物的根尖、茎尖以及通过组织培养得到的愈伤组织等都可以用于有丝分裂的制片。通过对供试材料进行一定的处理，制成临时玻片，可以在显微镜下观察染色体的变化特点和染色体的形态特征，进行染色体的计数。由于在有丝分裂过程的中期染色体具有典型的形态特征，并易于计数，因此，为获得更多的中期染色体图像，可以采用冰冻处理等方法，阻止纺锤丝的形成，使细胞分裂停止在中期。同时，通过处理还可以使染色体缩短，易于分散，便于进行观察。

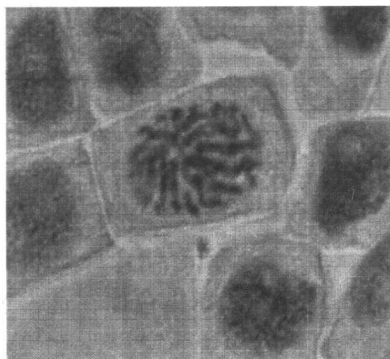


图 1-1 有丝分裂的前期



图 1-2 有丝分裂的中期

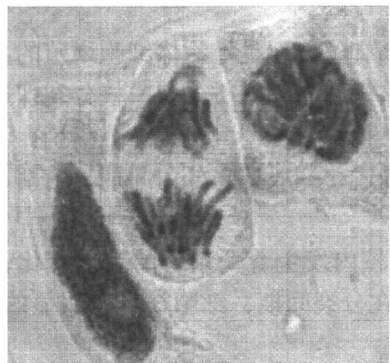


图 1-3 有丝分裂的后期

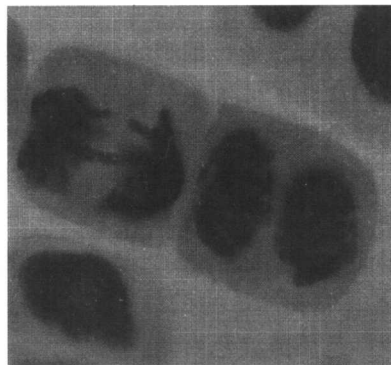


图 1-4 有丝分裂的末期

(引自《细胞生物学实验原理与技术》姜静, 2004)

和研究。另外, 通过对组织细胞进行酸性水解或酶处理, 可以分解细胞之间的果胶层并使细胞壁软化, 细胞容易彼此散开, 有利于染色和压片。

【实验材料、主要仪器及试剂】

1. 实验材料。

中国水仙、风信子、圆葱、大蒜等。

2. 主要仪器。

显微镜、载玻片、盖玻片、镊子、培养皿、酒精灯、火柴、烧杯、吸水纸、冰箱、解剖针、剪子、标签、带橡皮头的铅笔、吸管、单刃刀片、分析天平、擦镜纸、胶水、纱布等。

3. 主要试剂及配制。

对氯苯饱和溶液、1NHCl、卡诺固定液、2%醋酸洋红染色液、95%乙醇、70%乙醇、蒸馏水、无水乙醇、二甲苯、冰醋酸、醋酸钠、苯酚、甲醛、碱性品红、山梨醇、秋水仙素或对二氯苯或 0.002 mol/L 的 8-羟基喹啉、中性树胶 (或油派胶)、45%醋酸、1%龙胆紫、4%铁矾水溶液、2.5%纤维素酶和 2.5%果胶酶混合液、0.075 mol/L KCl。

(1) 对二氯苯饱和水溶液: 称取 5 g 结晶放入棕色试剂瓶中, 加入 100 ml 已加温至 40~45 °C 的蒸馏水, 振荡 5 min, 静置冷却 (约 1 h) 后即可使用。该溶液在 10~20 °C 条件下存放和处理为宜。溶液用完后, 可重新加入温热蒸馏水, 如上法配制。

(2) 卡诺固定液: (Carnoy I): 纯酒精 3 份, 冰醋酸 1 份, 随用随配, 不宜久放。

(3) 1N 盐酸: 取浓盐酸 83 ml (比重为 1.19), 加蒸馏水 1 000 ml。

(4) 卡宝品红 (石碳酸品红):

原液 A: 3 g 碱性品红溶于 100 ml 70% 酒精中 (可长期保存)。

原液 B: 取原液 A 10 ml, 加入 90 ml 5% 的石碳酸 (苯酚) 水溶液中 (限 2 周内使用, 如果呈浑浊状不可再用)。

原液 C: 取原液 B 55 ml, 加入冰乙酸和甲醛各 6 ml (可长期保存)。

染色液: 取原液 10~20 ml, 加入 45% 乙酸 80%~90% ml, 再加入 1 g 山梨醇, 室温下存放, 1~2 周后即可使用, 一般可保存 2 年。

(5) 醋酸地衣红: 先将 100 ml 45% 乙酸放入短颈平底烧瓶 (200 ml 容积) 中煮沸, 移去火苗, 缓缓加入 2 g 地衣红, 再煮沸 1~2 min, 冷却、过滤, 配成 2% 地衣红母液 (可长期保存)。染色时配成 1% 醋酸地衣红染色液即可使用。

【实验方法与步骤】

1. 取材。

实验前将鳞茎在室内水培, 置于盛有清水的小烧杯杯口上, 使根尖部与水接触, 待根长出 1~1.5 cm 时, 选健壮根尖, 自尖端约 1 cm 处剪下备预处理时用。剪取根尖的时间以上午 10 时左右为好。在制片过程中, 如发现染色体后期的分裂相较多时, 说明预处理时间不够。

2. 预处理。

为了阻止纺锤丝的活动, 获得更多的中期分裂相, 同时使染色体相对缩短, 便于染色体分散和计数, 可对根尖进行预处理。如果只是为了观察有丝分裂各个时期的染色体动态变化而不进行染色体计数, 可以不进行预处理。预处理的方法有药物和冰冻预处理两种。

(1) 药物处理。将材料放在培养皿中, 加 0.05%~0.2% 秋水仙素水溶液室温下处理 2~4 h。也可用对二氯苯饱和水溶液或 0.002 mol/L 的 8-羟基喹啉水溶液室温下处理 3~4 h。这些药物都能使染色体缩短, 对染色体有破坏作用。使用时应注意处理的时间, 小麦、黑麦、大麦、圆葱和大蒜等处理 2~4 h 为宜, 棉花和水稻等处理 2 h 左右为宜。处理时间长短与温度也有很大的关系。

(2) 冰冻处理。将根尖浸泡在蒸馏水中, 置于 1~4 °C 冰箱内或盛有冰块的保温瓶中冰冻 24 h。这种方法对染色体无破坏作用, 染色体缩短均匀, 效果良好, 简便易行, 各种作物都适用。

3. 固定。

固定的目的是借助于物理方法或化学药剂的作用, 迅速透入组织和细胞将之杀死, 并且使其结构和内含物, 如蛋白质、脂肪、糖类以及核物质与细胞器等, 在形态结构上

尽可能保持生活时的完整和真实状态,同时更易于染色,可以较清楚地显现细胞在有生命时不易看清的结构。

比较常用的固定液是卡诺固定液。固定时,将经过预处理和未经预处理的材料(用于和经预处理的根尖进行对比)用蒸馏水冲洗2次,然后转移到卡诺固定液(3份无水乙醇、1份冰醋酸,现用现配)中,室温下固定3~24 h。或者将根尖放入0.075 mol/L KCl溶液中低渗处理20 min,然后再用蒸馏水冲洗2~3次。注意,如果固定后的材料不立即使用,可放在70%乙醇中,置冰箱中或阴暗处保存。用时再用固定液重新固定一下(30 min~3 h)效果会较好。

4. 解离。

解离即水解分离,它的作用是使胞间层的果胶类物质以及部分细胞质分解,使细胞分散而便于观察,也可使细胞壁适度软化而易于压片。水解分离所需时间的长短,依材料和解离液的成分而不同,时间短则细胞不易压散,时间过长细胞则容易被压碎并影响染色。

常用的解离方法有3种。

(1) 将根尖用蒸馏水冲洗2次,放入已经在60℃水浴锅中预热的1 mol/L盐酸中,在60℃恒温条件下处理5~10 min,当根尖的伸长区变透明而分生区呈米黄或乳白色时即可取出。

(2) 将根尖放入2.5%纤维素酶和2.5%果胶酶的等量混合液中(pH值为5.0~5.5),室温下处理3 h左右。

(3) 将根尖放入95%乙醇和浓盐酸(1:1)混合液中处理2~10 min,或将根尖放入5 mol/L盐酸中处理5~10 min。

解离后用蒸馏水反复冲洗4~5次,目的是洗去材料中的酸以利于染色。适度的水解分离使材料呈白色微透明,状似豆腐,以解剖针能轻轻压碎为好。

5. 染色与压片。

染色的方法很多。通常采用醋酸洋红染色法。常用的染色方法有4种。

(1) 醋酸洋红染色法。取一根尖放在吸水纸上吸去多余的保存液,然后放在一张干净的载玻片中央。用刀片将根尖分生组织切下,将其切成薄片,滴一滴2%醋酸洋红染色液,即可加上盖玻片。加盖玻片时,先使盖玻片的一边放在载玻片上,待染液布满整个边缘时,左手握镊子顶住盖玻片,右手握解剖针托住盖玻片轻轻放下。加上盖玻片后,如有多余染色液,可用吸水纸吸去;如染色液不能布满盖玻片,则在盖玻片一边稍加染色液,然后在酒精灯上方来回移动,并经常将片子放在手背上试温,以片子不烫手为宜,可反复进行多次。烤片是制片过程中的一项重要步骤。通过烤片可使细胞质颜色变浅,而染色体能得到充分鲜明的着色。烤片后可在盖玻片上加一小块吸水纸,以拇指或用带橡皮头的铅笔轻压盖玻片。应注意不要使盖玻片移动。如果镜检发现染色体染色太浅,可在盖玻片周围稍加染色液再烤;如果染色太深,可从盖玻片一边滴加45%冰醋酸,在另一边用吸水纸吸,让冰醋酸在盖玻片下流过直至细胞质颜色较浅而染色体着色明显清晰为止。

(2) 铁矾—苏木精染色法。将上述处理过的根尖放入新配制的4%铁矾水溶液中媒

染 20~30 min, 流水冲洗 10~20 min, 洗净附着的铁矾后转入 0.5% 苏木精液中染色 30~120 min, 使染色稍深, 染后经自来水洗几次, 水中可加几滴氨水, 以使着色蓝化。这时材料变得较硬且脆, 因此需要放在 45% 醋酸中进行软化及分色, 据材料的大小、染色深浅和软硬程度一般需 1~4h, 应随时镜检。取染色适度的根尖置于载玻片上, 如前切取分生组织并移到几张载玻片上, 各加 1 滴 45% 的醋酸, 用解剖针切压弄碎, 加盖玻片, 覆以吸水纸, 用上述方法压片镜检。

(3) 卡宝品红染色法。固定好的材料经解离用蒸馏水洗过后, 将材料转置载玻片上, 用刀片将根冠和伸长区切除, 只留分生区部分, 然后加 1 滴染液 (切不可多加染色液, 否则, 细胞易在压片操作时随多余的染色液逸出盖玻片), 染色 5~10 min 即可。注意用卡宝品红染色时一定要把握好盐酸解离的时间, 解离时间过长或过短都不利于染色。染色结束后进行常规压片。

(4) Schiff 试剂染色法。固定好的材料用蒸馏水洗过后, 将材料放入已预热至 60℃ 的 1 mol/L HCl 中保温 10 min, 然后用冷 1 mol/L HCl 洗 1 次, 最后把材料转入 Schiff 试剂中, 在 10℃ 黑暗条件下染色 1~5 h。染色结束后将材料转到蒸馏水中或 45% 的醋酸中。

6. 镜检。

压好的片子先在低倍镜下镜检, 找到分裂细胞后转换高倍镜观察。如果染色体分散良好, 图像清晰, 就可以脱水封片, 制成永久片。

7. 永久制片。

将较好的临时压片材料做成永久玻片标本, 制作的方法很多, 下面列举 3 种主要方法:

(1) 叔丁醇法。

① 选取临时压片反转, 使盖玻片向下放入盛有 45% 醋酸 + 95% 酒精 (1:1) 的培养皿中。一端垫上一玻璃棒, 使玻片稍微倾斜, 过 5~10 min, 可见盖玻片和载玻片分离。用小镊子轻轻取出载玻片和盖玻片, 用吸水纸吸去多余的醋酸酒精溶液。

② 有材料的一面向上, 放入盛有 95% 酒精 + 叔丁醇 (1:1) 的培养皿中 3 min。

③ 换入纯叔丁醇中 3 min, 最后用加拿大胶 (溶于叔丁醇) 封片。

若用苏木精染色的标本, 直接从②开始, 不能放入①中, 以免褪色。为避免材料收缩, 也可在①~②两步骤之间经过 95% 酒精 + 叔丁醇 (2:1) 和②~③两步骤之间加入 95% 酒精 + 叔丁醇 (1:2), 不过步骤加多也增加了材料脱落的机会, 因此, 动作要细心轻巧。

(2) 冰冻脱片封片法。制成的临时玻片可以直接放在液氮或冰冻制冷器中进行冷冻, 然后用刀片插入盖玻片和载玻片之间的一角, 轻轻将盖玻片揭开, 将载玻片和盖玻片同时放入 37℃ 的温箱中烘干。然后取出放在二甲苯中浸泡 10~20 min, 用中性树胶封片即可。

(3) 封蜡封片法。

① 用玻棒蘸一点甘油蛋白 (甘油 1 份 + 新鲜蛋清 1 份) 在载玻片上, 用手指涂匀。将载玻片在酒精灯上烘一下 (1~3 s)。

② 挑取 1 条已染色的材料, 加 1 滴染液在载玻片上, 加盖玻片压片。

- ③ 压片后在酒精灯上烘一下，很快掠过，5~6次即可。
- ④ 用封蜡封片。

【思考题】

1. 预处理、固定、解离的作用分别是什么？
2. 绘出在显微镜下观察到的各期有丝分裂图像。
3. 在你观察的细胞分裂过程中，哪些分裂时期最多？
4. 经过处理和未经处理的片子有何不同？为什么？

实验二 植物减数分裂及染色体行为的观察

【实验目的】

1. 了解植物花粉形成中的减数分裂过程，观察此过程中染色体的动态变化。
2. 学习并掌握制备减数分裂玻片标本的方法和技术。

【实验原理】

减数分裂是指在配子形成过程中发生的一种特殊的细胞分裂形式。其特点是细胞连续进行两次分裂，而染色体只在减数分裂第一次分裂前复制一次，形成的性细胞只含有体细胞染色体数的一半。

高等植物性细胞形成过程中，都是先由有性组织（如花药和胚珠）中的某些细胞分化为孢母细胞（ $2n$ ），进一步由这些细胞进行连续二次的分裂，即减数第一次分裂和第二次分裂，最终各自产生4个小孢子和卵细胞与3个退化的极体（ n ）。

1. 减数第一次分裂（减数分裂Ⅰ）。

减数第一次分裂包括前期、中期、后期、末期。前期经历时间长而变化复杂，又分为五个时期。

（1）前期Ⅰ。

① 细线期（leptotene）：染色体在核内出现，成极细的线状。

② 偶线期（Zygotene）：同源染色体配对，在两端先行靠拢配对，最后扩展到染色体的全长。此期较短不易观察到。

③ 粗线期（Pachytene）：染色体继续短缩变粗。可以数单倍体数目的染色体。到粗线期末了，每条染色体纵裂为二，着丝点依然相连，每一染色体有两条染色单体。

④ 双线期（Diplotene）：两条同源染色体开始分开，但其间仍有若干处发生交叉而相互连接，这是染色单体发生交换的结果。

⑤ 终变期（Diakinesis）：染色体为粗短，核仁、核膜消失，染色体开始向赤道移动，纺锤体开始形成。

（2）中期Ⅰ。染色体排列在赤道面上，纺锤体形成。纺锤丝把着丝粒连向两极。两个同源染色体上的着丝粒逐渐远离。

（3）后期Ⅰ。同源染色体对的两个染色体分别向两极移动，着丝粒不分开，移向两极的染色体数为母细胞的一半。由于每条染色体含有两个分离的染色单体，因此在纺锤丝的牵引下，染色体呈双“V”或双“T”等形状。

（4）末期Ⅰ。染色体到达两极后解螺旋，核仁、核膜重新形成，并进行胞质分裂，成为两个子细胞。每个细胞染色体数目为母细胞的一半。

减数第一次分裂的浓缩期，中期Ⅰ染色体最清晰，常用处于这一时期的花粉母细胞

来计数植物的染色体数。

2. 减数第二次分裂（减数分裂Ⅱ）。

第一次分裂后，经短暂的间期进入第二次分裂。每一次分裂为减数分裂，染色体数由 $2n$ 变为 n ，第二次分裂是等数分裂，姐妹染色体不分开，数目仍然是 n 。

减数第二次分裂，实际上就是一般的有丝分裂，也分四个时期，是前期Ⅱ，中期Ⅱ，后期Ⅱ，末期Ⅱ。前期Ⅱ时间较短。中期Ⅱ染色体排在赤道面上形成纺锤体，后期Ⅱ着丝点彼此分开，两个染色单体分别向两极移动，末期Ⅱ染色体消失，核膜出现，细胞板出现，形成4个结合在一起的子细胞，叫做四分体，每个子细胞染色体数为 n 。

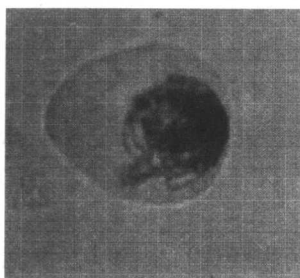


图 2-1 减数分裂的细线期

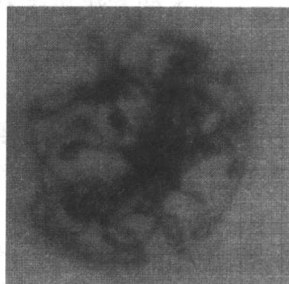


图 2-2 减数分裂的偶线期

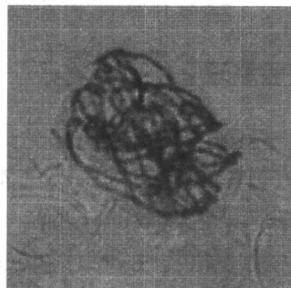


图 2-3 减数分裂的粗线期

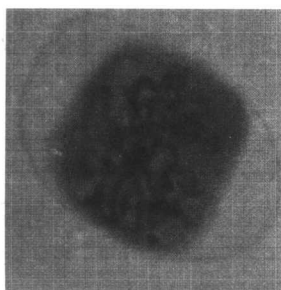


图 2-4 减数分裂的双线期

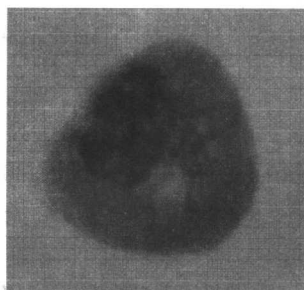


图 2-5 减数分裂的终变期

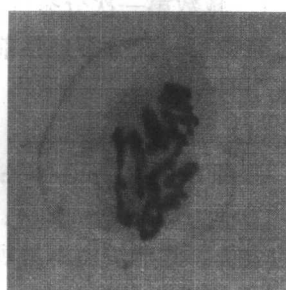


图 2-6 减数分裂的中期Ⅰ

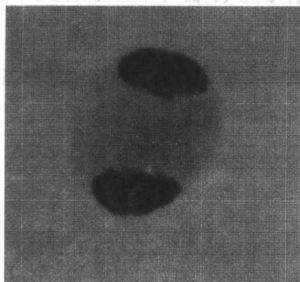


图 2-7 减数分裂的后期Ⅰ

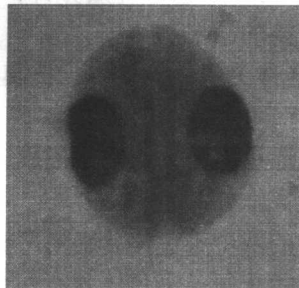


图 2-8 减数分裂的末期Ⅰ

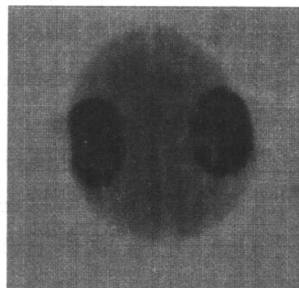


图 2-9 减数分裂的前期Ⅱ

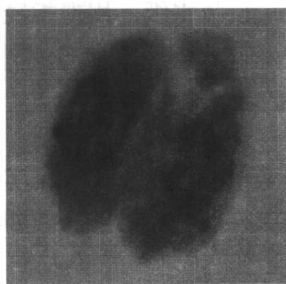


图 2-10 减数分裂的中期 II

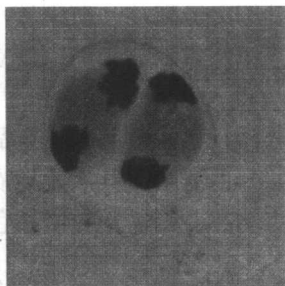


图 2-11 减数分裂的后期 II

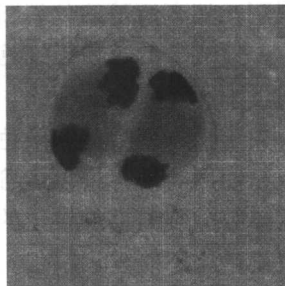


图 2-12 减数分裂的末期 II

(引自《遗传学实验原理与技术》

刘桂丰, 2004)

在适当的时机采集植物的花蕾(花序), 进行固定、染色、压片, 可以在显微镜下观察到小孢子母细胞减数分裂的过程和染色体的动态变化。可以辨认染色体的形态和数量上的变化, 从而为遗传学研究中远缘杂种的分析, 常规的组型分析, 以及三个基本规律的验证提供直接或间接的依据。

【实验材料、主要仪器及试剂】

1. 实验材料。

水仙、紫露草等。

2. 主要仪器。

显微镜、载玻片、盖玻片、镊子、吸管、酒精灯、火柴、烧杯、量筒、立式染缸、吸水纸、纱布等。

3. 主要试剂。

无水乙醇、卡诺固定液、卡宝品红染色溶液、冰醋酸、甘油、松香、中性树胶(或油派胶)、45%醋酸等。

【实验方法与步骤】

1. 取材。

选取发育到适当时期的花蕾是观察花粉母细胞减数分裂的关键性步骤。减数分裂的植株形态和花蕾大小, 依植物种类和品种而不同, 须经过实践记录, 以备参考, 通常应从最小的花蕾起试行观察。水仙减数分裂一般在球茎未萌动前进行。

2. 固定。

剖开球茎, 用镊子取出小花序, 用卡诺固定 2~24 h, 然后保存在 70% 酒精中, 放在冰箱内保存备用。

3. 染色压片。

取固定好的花蕾置于载玻片上, 吸去多余的保存液, 用解剖针将花药横切, 滴上一滴卡宝品红染色溶液, 用针头轻压花药, 挤出花粉母细胞, 去除空壳, 立刻置于低倍镜

下观察，如有清楚的分裂图像，可加上盖玻片，在盖玻片上覆一层吸水纸。用拇指轻压盖片，使成堆的花粉母细胞散开，勿使盖玻片错动。注意观察减数分裂不同时期典型的花粉母细胞及其动态变化。

关于植物减数分裂染色剂的选择，实验表明，卡宝品红是首选的最好的染色剂，其优点是使用简便，染色体着色深，分色清晰。其次是地衣红和孚尔根染色。如需真实的显示减数分裂前期的核仁的数目和动态，则需用洋红染色或地衣红染色。卡宝品红和孚尔根染色均不能显示核仁。

4. 封片。

上述压片所得到的片子，要长期保存，可做永久片，具体做法参见实验一。

【思考题】

1. 绘制你所看到的图像，并说明是减数分裂的哪一时期？
2. 试说明减数分裂与有丝分裂有何不同，其遗传学意义何在？
3. 减数分裂中哪些时期染色体倍数为 $2n$ ，哪些时期染色体倍数为 n ？

实验三 花粉管生殖细胞有丝分裂的观察

【实验目的】

学习观察植物花粉管生殖细胞的有丝分裂的技术。

【实验原理】

单倍体的花粉粒萌发后进行两次有丝分裂，第一次形成花粉管细胞和生殖细胞，生

【实验目的】

技术。

学习观察植物花粉管生殖细胞的有丝分裂的

【实验原理】