

高等农业院校教材

热带植物育种学 实验实习指导

莫 饶 等编著

REDAIZHIWUYUZHONGXUE
SHIYANSHIXIZHIDAO

中国农业大学出版社

高等农业院校教材

热带植物育种学实验实习指导

莫 饶 等 编著

中国农业大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

热带植物育种学实验实习指导/莫饶等编著. —北京:中国农业大学出版社,2006.12

ISBN 7-81117-108-2

I. 热… II. 莫… III. 热带植物-植物育种-实验-高等学校-教学参考资料 IV. S33-33.

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 135473 号

书 名 热带植物育种学实验实习指导
作 者 莫 饶等 编著

策划编辑	潘晓丽 司建新	责任编辑	李丽君
封面设计	郑 川	责任校对	李 藉
出版发行	中国农业大学出版社	邮政编码	100094
社 址	北京市海淀区圆明园西路 2 号	读者服务部	010-62732336
电 话	发行部 010-62731190,2620	出 版 部	010-62733440
	编辑部 010-62732617,2618	E-mail	caup@public.bta.net.cn
网 址	http://www.cau.edu.cn/caup		
经 销	新华书店		
印 刷	涿州市星河印刷有限公司		
版 次	2006 年 12 月第 1 版		2006 年 12 月第 1 次印刷
规 格	787×1 092 16 开本 4.75 印张 113 千字		
印 数	1~1 050		
定 价	10.00 元		

图书如有质量问题本社发行部负责调换

编著者： 莫 饶

朱 稳

莫庭辉

赖杭桂

前 言

华南热带农业大学组织相关学科点的研究、教学人员系统编写特色教材,编者承担编写热带植物育种学实验实习指导教材的任务。本教材是热带植物育种学课程实践教学的配套教材,以热带植物为实验材料,突出“热带”特色。其设计思想一是加深理解热带植物育种学课程的重点和难点;二是掌握热带植物育种的基本操作技术;三是培养学生综合应用知识的能力以及创新思维能力。

实践教学由实验和实习两部分内容构成。实验内容突出设计性、综合性和探索性,培养学生的基本操作技能、综合应用知识的能力以及创新思维能力。实习内容突出综合性和拓展性,有助于丰富感性认知、开阔视野,进一步培养学生综合应用知识的能力。限于作者的水平,且时间紧迫,书中难免错漏,恳请读者批评指正。本书可作为我校本科和专科农学、园艺、生物技术、草业等专业育种学课程的配套教材,也可作为其他农林院校育种学课程的参考书。

本书包含 17 个实验和 10 个实习内容。各专业可根据本专业的特点及课程教学要求选取其中的实验和实习内容。

编 者
2006 年 8 月

目 录

实验一	植物营养繁殖体的识别	(1)
实验二	植物花粉保存与花粉生活力测定	(3)
实验三	兰花人工授粉技术	(7)
实验四	胡椒人工授粉技术	(10)
实验五	巴西橡胶树人工杂交技术	(12)
实验六	巴西橡胶产量的苗期预测	(15)
实验七	巴西橡胶成龄实生树高产单株的田间选择	(18)
实验八	植物杂种优势的表现及测定	(20)
实验九	Co ⁶⁰ 辐射诱导花生干种子的生物学效应	(24)
实验十	巴西橡胶树多倍体的人工诱导及形态观察	(26)
实验十一	巴西橡胶树多倍体的解剖学与细胞学鉴定	(28)
实验十二	咖啡同源多倍体形态和解剖学观察	(30)
实验十三	种子生活力快速测定	(32)
实验十四	咖啡种子检验	(34)
实验十五	咖啡良种繁育方法	(36)
实验十六	咖啡树种间形态鉴定	(39)
实验十七	芒果不同品种的鉴别及优良种苗的鉴定	(42)
实习一	食用蕉类主要类群的描述与鉴定	(45)
实习二	植物组织培养实验室和组培工厂参观学习	(47)
实习三	香蕉微繁殖操作技术	(49)
实习四	香蕉试管苗变异类型识别	(51)
实习五	热带兰快繁技术研究项目申报报告	(54)
实习六	热带植物芽变的选择、鉴定和纯化	(58)
实习七	中粒种咖啡优良母树选择及其无性系的建立	(61)
实习八	橡胶优良种子采种区的划分	(64)
实习九	柑橘品种比较试验设计及设计说明书的编写	(65)
实习十	育种基地参观学习	(67)
参考文献		(68)

实验一 植物营养繁殖体的识别

1 实验目的

了解植物营养繁殖体的各种特化器官。

2 实验原理

很多植物在生产中采用无性繁殖法,包括利用它们本身形成的营养繁殖体如鳞茎、匍匐茎、块根等。这是一些营养储存集中,具备繁殖功能的特化了的营养器官,也包括利用它们的根、茎、叶等一般营养器官进行人为的扦插、压条、嫁接乃至通过组织培养的办法进行微繁殖。尽管繁殖材料多种多样,但是它们共同的特点是在繁殖过程中都不经过基因重组,使遗传上杂合程度很大的营养系品种不发生分离,遗传变异几乎来自体系胞突变。在长期无性繁殖的影响下,常常造成它们的有性繁殖器官发生不同程度的退化,有些种类甚至完全丧失了有性繁殖能力。热带植物中常见的营养繁殖体有块根(如花叶芋等)、球茎(如魔芋、唐菖蒲等)、鳞茎(如蒜、百合等)、根状茎(如姜、竹、莲藕等)、匍匐茎(如草莓、地毯草等)、分蘖(如兰花、凤梨等)、块根(如番薯、大丽花等)、根蘖(如石榴等)、珠芽(如落地生根、剑麻等)、吸芽(如芦荟、香蕉等)等。

3 实验材料

野外生长的各种热带植物。

4 实验方法

3~5人一组,到田间去识别、采集植物营养繁殖体。进行室内整理。每种材料挂上标签,标上编号。

5 实验结果

按植物营养繁殖体特化器官识别表(表1)记录相关信息。

表1 植物营养繁殖体特化器官的识别

植物种类			营养繁殖体 名称	自然状态下常进行的 繁殖方式	采集地
编号	学名	中文名及别名			

续表 1

植物种类			营养繁殖体 名称	自然状态下常进行的 繁殖方式	采集地
编号	学名	中文名及别名			

采集者：

采集时间：

6 作业

提交植物营养繁殖体特化器官识别表并对实验结果进行讨论。

实验二 植物花粉保存与花粉生活力测定

1 实验目的

了解植物花粉保存技术,掌握花粉生活力测定的一般操作技术。

2 实验原理

不同的植物成熟花粉的生命力长短不一,在自然状态下,成熟花粉有些存活仅数小时,有的可长达1个多月。通过在干燥、低温、密封等的条件下保存,花粉的呼吸作用被抑制,生活力得以延长。

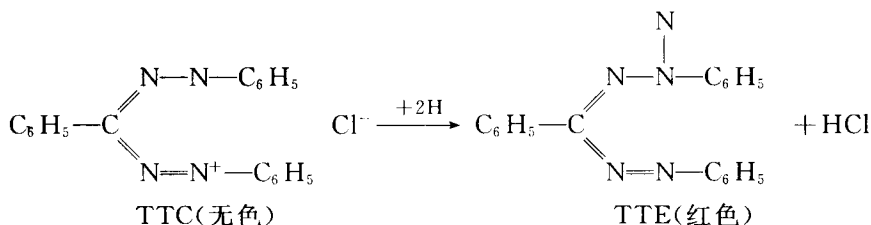
进行杂交人工授粉前,常对父本花粉尤其是经过保存的花粉进行生活力测定。其方法有培养基培养法、染色法等。

(1) 培养法。

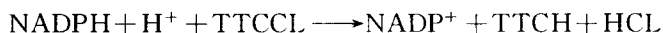
将花粉置于适合的培养基上进行培养,花粉即可萌发出花粉管(俗称发芽),发芽率可作为花粉生活力的检测指标。

(2) TTC 染色法。

脱氢辅酶(NADH 或 NADPH)存在于活的细胞内,当氯化三苯基四氮唑(简称 TTC 或四唑)渗透进入细胞内作为受体被脱氢辅酶(NADH 或 NADPH)上的氢还原时,便由无色的 TTC 变为红色的三苯基甲(TTE)。当细胞死亡后,NADH 会迅速被降解,不会发生相应的颜色反应,故 TTC 染色法可显示细胞是否存活。



脱氢酶



TTC(无色)

TTE(红色)

3 实验材料、药品和器具

实验材料:咖啡、洋金凤和猪屎豆等正在开放的花。

花粉保存实验药品和器具:广口保温瓶、小广口瓶、子形管、温度计、冰块、塑料泡沫(或其他的缓冲材料)、CaCl₂等。

生活力测定实验药品和器具:显微镜、载玻片、盖玻片、镊子、解剖针、烧杯、量筒、天平、酒

精灯、三脚架、石棉网、熔蜡器、标签纸、剪刀、厚纸片、琼脂、蔗糖、硼酸、滴瓶、滴管、石蜡、凡士林、蒸馏水、氯化三苯基四氮唑(TTC)、刀片、吸水纸、培养皿等。

4 实验方法

4.1 花粉保存

(1) 低温干燥条件保存法。此法只能保持花粉生命力 3~5 d。

在保温瓶底部放一层约 2 cm 厚的塑料泡沫,作缓冲用。接着放入冰块至半瓶,再盖上一层约 2 cm 厚的塑料泡沫。

将成熟而含苞欲放的雄花用镊子逐个摘下装入指形管中(其数量看授粉需要量而定),管口塞上棉花,然后稳置于底部放有 CaCl_2 (干燥剂)的小广口瓶中。瓶口加盖后,放入前面已准备好的保温瓶内。最后在小广口瓶的四周再添加适量冰块,最上层加上塑料泡沫等填充物,随即加盖密封,并插入温度计即可(图 1)。如长途运输要经 2~3 d 者,需随时检查温度,如温度高于 $2\sim 3^\circ\text{C}$,就要换装冰块。如无温度计者,则每天换冰块 1 次。

(2) 干燥低温保存法。此法可保持花粉生命力 300 d 左右。

采集成熟健壮的未开裂的花药,放入装有足够干燥剂 CaCl_2 的干燥器中,干燥 36 h 后(不同材料干燥时间长短不同),花朵的自由水含量降至 1% 以下时,迅速装入试管中密封。

将上述干燥处理的花药置于普通冰箱(-5°C 左右)储藏。

干燥低温保存法具有保持花粉生命力长、方法简单、操作方便、实用等优点。

4.2 花粉萌发

(1) 培养基的配制。

固体培养基(琼脂蔗糖培养基)的配制:琼脂、蔗糖、蒸馏水按 1:7.5:100 的比例(如天气高温干燥或阴凉潮湿则需相应地适当降低或提高其浓度)盛入烧杯内加热溶解后倒入培养皿,摇平(约 2 mm 厚为宜),冷却待用。

液体培养基(蔗糖硼酸悬浮培养基)的配制:蔗糖、硼酸、蒸馏水按 15:0.01:75 的比例配制混合溶液,盛入滴瓶中保存待用。

(2) 威氏小室的制作。

剪好(0.5~0.8)cm×4 cm 硬纸条,卷成小圆圈,用镊子夹住接合处放入已溶的石蜡中,立即取出置于载玻片的中央(图 2),再用熔蜡将小纸圈与载玻片的接合处密封,并在纸圈上口涂一层凡士林。

(3) 花粉发芽处理。

固体培养基用法:用镊子轻轻夹住盖玻片,插入培养基直至皿底,向前推进,至培养基布满盖玻片时取出置于黑色桌面上。用镊子剥去花瓣,取出花药将其花粉振落在盖玻片的培养基

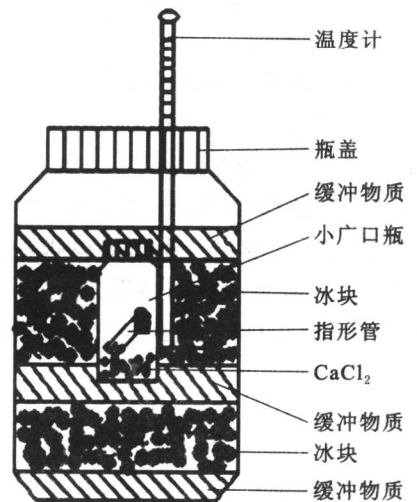


图 1 低温干燥条件保存

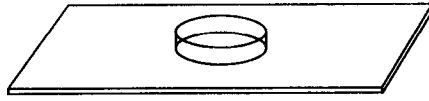


图 2 威氏小室

上,以肉眼能见一薄层鲜黄微粒(即花粉粒)为度。将培养基修成略小于威氏小室的圆形后,立即把盖玻片倒置于威氏小室上进行培养。

液体培养基用法(悬垂培养法):用滴管滴 1 小滴蔗糖、硼酸混合液于盖玻片上。将雄花花粉粒振落在混合液的表面后,迅速将盖玻片倒置于威氏小室上进行“悬浮培养”。

为防止混乱,务必在载玻片左端贴上标签,标签内容包括花粉亲本名称,采集地点、时间、实验人。室温在 25~30℃ 的正常天气下,约 0.5~1 h 花粉就可发芽,此时可开始镜检。

(4) 镜检。

将整个片子放显微镜下进行镜检,观察其发芽情况。取其具有代表性的 2 个视野计算出花粉发芽率,填入发芽试验记录表。

$$\text{花粉发芽率} = (\text{发芽花粉粒数} / \text{视野内花粉总数}) \times 100\%$$

4.3 染色法测定花粉生活力(四唑染色法)

取适量花粉放入玻片小孔中,加入 0.2% 氯化三苯基四氮唑试剂适量,盖上盖玻片并用蒸馏水密封,30℃ 下处理 30~60 min 后涂片观察,镜检呈红色者为有生活力的花粉,染色越深生活力越强。观察 2 个视野并计算生活力。

$$\text{生活力} = (\text{视野内红色花粉细胞数} / \text{同一视野内花粉细胞总数}) \times 100\%$$

5 实验结果

将试验结果填入花粉生活力测定实验记录表(表 1),并就所发生的问题提出看法。

表 1 花粉生活力测定实验记录

处理	重复	视野 I				视野 II				合计			
		花粉粒数	发芽粒数	破裂粒数	发芽率 / %	花粉粒数	发芽粒数	破裂粒数	发芽率 / %	花粉粒数	发芽粒数	破裂粒数	发芽率 / %
固体培养基	重复 I												
	重复 II												
	合计												
液体培养基	重复 I												
	重复 II												
	合计												

续表 1

处理	重复	视野 I				视野 II				合计			
		花粉 粒数	发芽 粒数	破裂 粒数	发芽率 /%	花粉 粒数	发芽 粒数	破裂 粒数	发芽率 /%	花粉 粒数	发芽 粒数	破裂 粒数	发芽率 /%
染色法	重复	总粒 数	着色 粒数	生活力		总粒 数	着色 粒数	生活力		总粒 数	着色 粒数	生活 力	发芽率
	重复 I												
	重复 II												
	合计												

时间： 年 月 日

6 作业

提交植物花粉生活力测定实验报告。

比较培养基培养法与染色法检测生活力的高低,试分析原因。

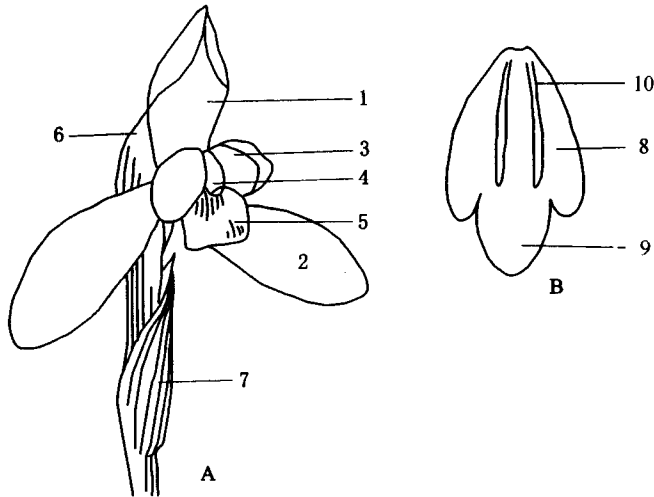
实验三 兰花人工授粉技术

1 实验目的

了解兰花的花器官结构。通过实际操作掌握兰花人工授粉技术,在操作过程中,要求做到轻、准、好,即塞入花粉时动作要轻,挂线位置要准确,所选花粉及雌蕊的成熟度要好。

2 实验原理

兰科植物的花都由7个主要部分组成(图1),其中有3枚萼片、3枚花瓣及1枚蕊柱。在兰科植物中,萼片已瓣化,形似花瓣,处于花的外轮。其中中间的一枚称为中萼片,旁边的两枚称侧萼片。花瓣处于花的内轮,3枚花瓣中有1枚高度特化的花瓣称为唇瓣,在多数情况下唇瓣是花瓣中最华丽的、最有观赏价值的一枚。兰花的唇瓣形状各异,有的像舞女穿着裙子(文心兰);有的像拖鞋(如兜兰属);有的像翩翩起舞的凤凰(玉凤花)。某些兰花唇瓣散发出芳香的甜蜜味,并富有鲜艳的颜色,借以引诱昆虫前来帮忙传粉。



A 兰花花器官;B 唇瓣正面。

1. 中萼片;2. 侧萼片;3. 花瓣;4. 蕊柱;5. 唇瓣;6. 苞片;7. 萼柄;8. 侧裂片;9. 中裂片;10. 褶片。

图1 兰花花器官结构

合蕊柱是兰花的繁殖器官,并且是区别兰科植物与所有其他科植物的主要特点。合蕊柱常位于花中间,附生在唇瓣上,由1枚雄蕊、1个柱头和1个蕊喙组成,因为雌雄蕊还没有分开,所以兰花多数品种为不完全花。雌蕊部分是蕊柱的上部一个有黏性的凹陷部位(有时是突起的),称为柱头区。雄蕊部分位于蕊柱顶端或靠近顶端,只有1枚雄蕊生有花粉块(包括花粉团、花粉团柄、黏盘柄、黏盘),花粉块外面有花粉囊盖罩在上面。而位于花药和柱头之间的舌

6 作业

提交兰花人工授粉实验报告。

描述兰花花器官的结构。

实验四 胡椒人工授粉技术

1 实验目的

熟练胡椒花粉的形态构造与开花习性,掌握人工授粉技术。

2 实验原理

野生胡椒大多数是雌雄异株的,而栽培种胡椒大多数是雌雄同株(两性花),只有个别无性系出现单性雌花。

胡椒的花形很小,无柄、无花被、一个花稔上着生 50~150 个小花,每个突出柱头两侧各有 1 个雄蕊,柱头 3~5 裂,1 mm 长,单胚珠,子房上位,柱头分泌出黏液就表示可开始受精,其感受期可延续 3~5 d,雄蕊一般比雌蕊晚开 3~8 d(随天气条件、品种和花在穗的部位而变化),雄蕊为白色卵状体(2 个)出现在一条很短(小于 1 mm)而厚的花丝顶上,成对花药通常不是同时开裂。当温度 35℃、晴天、湿度 60%左右情况下,花药开放通常在 12:00~15:00 时,花粉粒极小,直径为 10 μm ,但量多,据估计每个花穗的花粉粒在 $(1\sim5)\times 10^5$ 个。一个总状花穗上,以基部小花先开,逐渐向尾端扩展。胡椒是同株异花授粉的,主要靠重力作用将高部位的花粉沿着花穗向下传递给低部位的柱头以便受精。水滴也是传粉的媒介物,因为胡椒花粉在水中的生活力可保持 3d。风、虫传粉是极少的。

3 实验材料、药品和器具

田间正在开花的胡椒,解剖针、尖头镊子、酒精、蒸馏水、培养皿、胶头滴管或毛笔、隔离袋(5 cm×20 cm 聚乙烯薄膜袋)、标志牌、回旋针、显微镜。

4 实验方法

(1) 套袋、去雄。

在授粉前 4 d,在生长良好,花穗多的向阳果枝上挑选发育健壮估计 2~3 d 后才开花的花穗,用 5 cm×(15~20)cm 的塑料薄膜袋套上,并让花穗稍上仰,以防止高部位花粉随着水滴而污染即将授粉的花穗。

在授粉前 4 d 要进行去雄工作。即用解剖针挑除将要授粉的雌蕊周围的雄蕊。在挑除雄蕊时,须防止上部位花枝上的花粉掉下污染。去雄后重套上隔离袋。

(2) 采雄。

在授粉当天或前四天 12:00~13:00 时,用少量蒸馏水冲洗父本花穗(每人至少冲洗 10 个花穗),收集含花粉的冲洗液保存于干净的培养皿(或广口瓶)中,或用解剖针挑取父本花药放入盛有适量蒸馏水的器皿中研磨,让其花粉逸出悬浮于水中,带回室内经过镜检,证明溶液中具有足够的花粉粒悬浮时,这种悬浮液就可用于授粉。如果需长途运送花粉,需储藏在 0℃ 和干燥条件下,这样可保存 21 d。

(3) 授粉。

在正常天气的 13:00~16:00 时进行。基部开始露出卵圆形雌蕊且具有白色柱头的花穗就可行人工授粉,先用尖头镜子将非授粉的花朵或花穗部分切除,用胶头滴管(或毛笔)将花粉悬浮液滴淋于花穗上(最好重复授粉,即每天 1 次,连续 2~3 d),挂上标志,再套上隔离袋,10~15 d 后解除。

(4) 稔实率检查。

授粉后 1 个月检查稔实率,2 个月后检查坐果率。一般情况下,在两性花品种中人工授粉的坐果率为 6%~21%,但在以雌花为主的品种中则高达 50%。

5 实验结果

观测统计稔实率、坐果率。

6 作业

将实验结果(包括授粉朵数、稔实数、坐果率)连同有关问题的分析写成报告。