

全国中等农业学校试用教材

遗传及果树育种学 实验实习指导

辽宁省熊岳农业学校主编

果树专业用



农业出版社



全国中等农业学校试用教材

遗传及果树育种学 实验实习指导

辽宁省熊岳农业学校主编

果树专业用

农业出版社

(京)新登字060号

全国中等农业学校试用教材
遗传及果树育种学实验实习指导
辽宁省熊岳农业学校主编

农业出版社出版 (北京市朝阳区农展馆北路2号)
新华书店北京发行所发行 农业出版社印刷厂印刷

787×1092毫米32开本 3.5印张 70千字
1983年12月第1版 1992年12月北京第10次印刷
印数 69,501—77,300册 定价 0.90元
ISBN 7-109-00845-2/S·644
统一书号 16144·2779

主 编 辽宁省熊岳农校 张维昌

副主编 福建省龙溪地区农校 黄幼雄

浙江省台州地区农校 翁迈东

审 稿 河北省承德地区农校 陈志远

河北省唐山地区农校 刘桂森

山东省昌潍地区农校 王巧荣

四川省永川地区农校 郭兴弟

山西省运城地区农校 介 冰

前 言

本实验实习指导书是依据一九八一年农业部教育局颁发的全国中等农业学校果树专业《遗传及果树育种学教学大纲》编写的。它是遗传及果树育种教材的组成部分，其目的是通过实验实习实践验证课堂理论教学，进一步培养学生掌握遗传及果树育种的基本知识和实际操作技能。

本书主要包括两个方面的内容：一是遗传学基本规律的验证；二是果树育种技术的应用。各校在使用本实验实习指导书时应注意如下问题：（一）凡属《教学大纲》规定的实验实习内容，各校都要积极创造条件完成；（二）本书只编写供教学实习用的部分内容，如组织培养、芽变选种等。各校在教学过程中，可按《教学大纲》要求，根据本地条件和教学实习需要增补内容；（三）由于我国地域辽阔，果树种类繁多和各校教学条件不同，本书对实验材料和实验方法无法概全。各校在教学过程中，可按《教学大纲》要求，因地制宜选择适宜试材和实验方法进行实验实习，以达到实验实习要求为目的；（四）本书除编写《教学大纲》规定的实验实习内容外，还根据教学需要增编了几个实验实习内容，供教师教学参考用，也可作为实验实习内容。

在编写本书时有关高等院校、科研单位和兄弟学校给提供了资料，并提出了修改意见。浙江农业大学沈德绪教授，

沈阳农学院景士西副教授和华南农学院杨子安副教授对本书初稿作了审阅，在此，一并致谢。

由于编写时间仓促和编者业务水平限制，本书定会有某些缺点，望各校在使用时提出意见，以便今后改进和修订。

1982年7月

目 录

实验一	植物花粉母细胞染色体的压片观察	1
实验二	遗传基因分离现象的观察	5
实验三	遗传基因独立分配现象的观察	9
实验四	遗传基因连锁交换现象的观察与定位*	11
实验五	柑桔芽变选种*	14
实验六	果树花粉生活力的测定	23
实验七	诱变材料性状的观察	28
实验八	果树多倍体的诱变与鉴定	31
实验九	果树胚乳或花药培养	36
实验十	果树杂种的预先选择*	44
实验十一	果树抗逆性的鉴定*	47
	果树抗病性的鉴定	47
	果树抗寒性的鉴定	49
实验十二	果树种质资源的分类	53
	梨种质资源的分类	53
	柑桔种质资源的分类	55
	荔枝种质资源的分类与描述	59
	食用蕉类主要类群的描述与鉴别	64
实验十三	果树有性杂交技术	68

• 为增编的实验实习内容。

苹果、梨有性杂交技术.....	68
桃有性杂交技术.....	70
桃种胚培养.....	73
葡萄有性杂交技术.....	75
柑桔有性杂交技术.....	77
菠萝有性杂交技术.....	80
实验十四 果树果实性状鉴定.....	83
苹果果实性状鉴定.....	83
梨果实性状鉴定.....	87
桃果实性状鉴定.....	91
葡萄果实性状鉴定.....	95
柑桔果实性状鉴定.....	99
实验十五 菠萝育种材料的加速繁殖.....	102

实验一 植物花粉母细胞染色体的 压片观察

一、目的要求

学习花粉母细胞染色体的压片镜检技术，熟悉植物花粉母细胞的减数分裂过程。

二、材料用具

材料：用已固定的正处于减数分裂时期具有不同形态指标的桃、杏、苹果、梨、葡萄、柑桔的花芽或花蕾；小麦、黑麦的幼穗；玉米的雄花或蚕豆、豌豆的花蕾。

用具：显微镜、尖头镊子、解剖针、载玻片、盖玻片、试剂瓶、酒精灯、吸水纸。

药品：醋酸洋红染色液（或丙酸—铁—洋红—水合三氯乙醛染色液）；卡诺（Carnogis）固定液。

三、实验说明

花粉母细胞染色体压片，方法简便省时间，而且效果好。因此，在研究植物花粉母细胞减数分裂、检查染色体数目和观察染色体变异情况时，一般都采用这种方法。

四、步骤方法

（一）取样 植物花粉母细胞减数分裂时期，与某些外部形态有一定相关性。因此，可按这些形态指标来判断植物花粉母细胞所处的分裂时期，并以此作为取样依据。

1.桃、杏：在花芽鳞片略松动，即在花芽顶部出现不明显裂缝或有小白点时取样固定为宜。桃花花粉母细胞减数分裂的高峰是在下午4时左右。

2.苹果：从花芽鳞片开绽到莲座叶展开直至花蕾即将分离的上午取样固定为宜。

3.梨：在花芽拔黄时，即在芽鳞片明显伸长的上午取样固定为宜。

4.葡萄：在结果枝花穗上展开3片叶左右时，于下午2—4时取样固定为宜。

5.柑桔：一般在花蕾直径长到4毫米左右时取样固定为宜。

6.小麦、黑麦：它们的花粉母细胞减数分裂时期一般都在抽穗前一周左右，即当剑叶与倒二叶的叶枕距为2—5厘米时，于上午8—11时取穗立即固定为宜。

7.玉米：在喇叭口时期，用刀片纵向切开叶鞘取出雄花，此时雄花分枝先端的小穗长度为3—4毫米，可透过颖片看到小花里的花药为白色，于上午7—9时取样固定为宜。

8.豌豆、蚕豆：当花蕾长到4毫米左右时，于上午8—10时取样固定为宜。

(二)固定 为尽快将细胞杀死，使细胞结构尽可能保持接近于活着状态。

1.固定方法，按取样的形态指标和时间，及时地将果树花芽（或小花蕾）和作物的幼穗（或花蕾）取下，立即放到固定液瓶子里，轻轻地加以摇动，使药液迅速浸入试材，置放于阴凉处。

2.固定时间，卡诺固定液穿透力强，一般固定0.5—1

小时即可，最长不得超过一天。

3. 材料保存：经固定的材料若需保存，可用梯度酒精法浸洗（经 95% 酒精一次，85% 和 70% 酒精各一次，每次 10 分钟），最后保存在 70% 酒精里并置于 0—5℃ 的冰箱中备用。

（三）制片 选用固定好的 1—2 种试材，置于 70% 酒精培养皿中。用解剖针从中取出 2—3 个花药于载玻片上。加一滴醋酸洋红或丙酸—铁—洋红—水合三氯乙醛染色液，同时用尖头镊子从花药里将花粉母细胞挤压出来（或将载有花药玻片与另一载玻片交叉呈十字形进行挤压，压后再加一滴染色液）。

（四）镜检 将压好的载片置于低倍镜下观察，当发现所需分裂时期的细胞时就迅速盖上盖玻片，在高倍镜下观察（注意花粉母细胞与其它细胞的区别）。若染色体染色过度，可将该载片放在酒精灯的火焰上来回烘烤，但勿使烤沸。经低倍镜检查，若细胞质染色仍然较深，可再次烘烤，直到细胞质染色较淡而染色体染色较深时为止；若细胞质染色过深且难以褪掉时，可在盖玻片的一侧加一滴 45% 醋酸，再从另一侧用吸水纸将醋酸吸到盖片下，有助于细胞质迅速褪色。相反，若染色体着色过浅，可在载片上滴一滴染色液重染，以加深材料的着色。最后再作细致地镜检和绘图。

五、作业

1. 根据实验提供的试材，每人绘制一张在减数分裂时期所看到的分裂相简图。

2. 通过实验你认为怎样操作才能制出比较好的临时片？

〔附〕几种染色液的配制方法

1. 卡诺固定液（有两种配方）

(1) 无水酒精 3 份、冰醋酸 1 份。

(2) 无水酒精 6 份、冰醋酸 1 份、氯仿 3 份。

2. 醋酸洋红染色液：取 45% 的醋酸溶液 100 毫升，加入洋红 1—2 克，煮沸约 30 秒钟，冷却后进行过滤，然后加入 1—2% 铁明矾水溶液数滴，直到该染色液变为暗红色而不发生沉淀时为止。

3. 丙酸—铁—洋红—水合三氯乙醛染色液配制方法分 两步：

(1) 丙酸洋红：先将 0.5 克的洋红粉溶于煮沸的 100 毫升 45% 丙酸溶液的三角瓶里，回流 3—4 小时，冷却后过滤。

(2) 染色液：染色时在每 5 毫升丙酸洋红染液里，加入 2 克水合三氯乙醛，使其充分溶解后，再滴 1 至数滴氢氧化铁的 45% 丙酸饱和液，以滴后不发生沉淀为准。

实验二 遗传基因分离现象的观察

一、目的要求

观察杂种 F_2 一对相对性状的分离，加深对分离规律的理解。

二、材料用具

材料：糊粉层紫粒 (CC) 与白粒 (cc) 玉米杂交 F_1 的自交和测交果穗；非糯 ($WxWx$) 和糯性 ($wxwx$) 玉米杂种 F_1 的花粉。

用具：计数器、显微镜、载玻片、解剖针、镊子、碘液等。

三、实验说明

生物的相对性状受相对遗传基因控制。在细胞里成对的遗传基因，一个来自父方，一个来自母方。在杂种形成配子时，成对基因彼此分离，每个配子只含有相对基因的一个，杂种产生不同类型配子的数目是相等的，而异性配子相互结合的机会是均等的。因此，通常由 F_1 产生的配子类型比例为 $1:1$ ；由 F_1 自交产生 F_2 的表现型比例为 $3:1$ 。

如本实验用纯合紫粒玉米与白粒玉米杂交（正、反交均可）其当代 (F_0) 果穗种粒 (F_1) 全为紫色。第二年将该杂种植种后，在开花时进行套袋自交。自交的玉米穗 (F_2) 就出现了紫色和白色两种表现型的种粒，其比例 $3:1$ 。这是由于紫色性状受显性基因C和白色性状受隐性基因c控制的结果。

若将上述杂种玉米 (Cc) 授以白粒玉米 (cc) 花粉, 则在测交当代玉米果穗上就出现紫色与白色种粒比例近 1:1。这是由于杂种玉米杂合基因 C 与 c 之间互不发生影响的结果。

再如, 由纯合非糯性玉米 (WxWx) 产生的种粒和花粉, 其淀粉大部分为直链淀粉, 与碘液作用呈蓝黑色反应; 由纯合糯性玉米 (wxwx) 产生的种粒和花粉, 其淀粉全为枝链淀粉, 与碘液作用呈棕红色反应。而非糯性杂种玉米 (Wxwx) 由于杂合基因 Wx 与 wx 相互分离, 产生了数量相等而含有不同淀粉链的两种花粉, 故当其 与碘液作用有 1/2 呈蓝黑色反应, 另 1/2 呈棕红色反应。

四、步骤方法

(一) 性状分离的观察 用计数器查计上述杂种玉米自交和测交果穗紫粒和白粒种子数。但由于每穗玉米种子数量不多, 观察的结果不一定都符合理论期望值, 为检验实际观察数是否符合理论数, 通常用 χ^2 (卡平方) 检验法。其公式如下:

$$\chi^2 = \sum \frac{(O - C)^2}{C}$$

公式中 O 为实际观察数;

C 为理论值;

Σ 为各项总和。

例 1: 现已查得紫色种粒为 310 粒, 白色种粒为 90 粒, 试问 310:90 是否符合 3:1 比例? 按上述公式可将观察结果列表如下:

表现型 项目	紫粒数	白粒数	总数
观察数 (O)	310	90	400
理论数 (C)	300	100	400
O - C	10	-10	
(O - C) ²	100	100	
$\frac{(O - C)^2}{C}$	0.33	1.00	

$$\chi^2 = \sum \frac{(O - C)^2}{C} = 0.33 + 1.00 = 1.33$$

※根据计算出的 χ^2 值和自由度 π 查 χ^2 值表（见附表）。

其机率P值在0.30—0.20间 >0.05 ;

∴310 : 90 是符合3 : 1。

（二）配子分离的观察

1. 碘—碘化钾溶液的配制：先将3克碘化钾溶在5毫升热蒸馏水中，然后将碘溶于前述碘化钾溶液里，加蒸馏水至300毫升，装入茶色细口瓶里，置于暗处备用。

2. 取非糯与糯性玉米杂交 F_1 ($Wxwx$) 花药2—3粒于载玻片上，在其上加一滴碘化钾溶液。然后用镊子和解剖针将花药刺破并挤出花粉，除去杂物，盖上盖片，于低倍镜下观察，可看到花粉有1/2呈现蓝黑色反应，另1/2呈现棕红色反应。重复观察3—4次。

例2：经过镜检染成蓝黑色的花粉为320粒，染成棕红色的花粉为280粒，试问320 : 280是否符合1 : 1比例？按上述公式可将观察结果列表如下页上表。

※根据计算出的 χ^2 值和自由度 π 查 χ^2 值表（见附表）。

其机率P值在0.2—0.1间 >0.05 ;

∴320 : 280 是符合1 : 1。

表现型 项目	蓝黑粒数	棕红粒数	总粒数
观察数(O)	320	280	600
理论数(C)	300	300	600
$O - C$	20	-20	
$(O - C)^2$	400	400	
$\frac{(O - C)^2}{C}$	1.33	1.33	

$$\chi^2 = \sum \frac{(O - C)^2}{C} = 1.33 + 1.33 = 2.66$$

五、作业

1. 用观察所得的实际数据进行卡平方 (χ^2) 检验。

2. 通常分离现象要在 F_2 植株才能看到, 而本实验观察材料却用玉米 F_1 的自交和测交果穗是为什么?

【附表】

卡平方 (χ^2) 表

P χ^2	0.99	0.95	0.50	0.30	0.20	0.10	0.05	0.01	0.005
n-1									
1	0.0002	0.004	0.46	1.07	1.64	2.71	3.84	6.64	10.83
2	0.020	0.103	1.39	2.41	3.22	4.60	5.99	9.21	13.82
3	0.115	0.35	2.37	3.66	4.64	6.25	7.82	11.34	16.27
4	0.30	0.71	3.36	4.88	5.99	7.78	9.49	13.28	18.70
5	0.55	1.14	4.35	6.06	7.29	9.24	11.07	15.09	20.52

实验三 遗传基因独立分配现象的观察

一、目的要求

观察杂交 F_2 两对相对性状的分离,加深对独立分配规律的理解。

二、材料用具

材料:黄色非甜(YYSuSu)与白色甜(yysusu)玉米杂交 F_1 的自交和测交果穗。

用具:计数器等。

三、实验说明

本实验的两对相对性状受两对相对遗传基因控制。黄色非甜与白色甜玉米杂交得到的果穗全为黄色非甜型种粒,而以 F_1 自交得到的果穗种粒性状,则分离为黄色非甜、黄甜、白色非甜、白甜四种表现型,其比例为 $9:3:3:1$, F_1 能产生数量相等的四种配子,其比例为 $1:1:1:1$ 。

若将上述杂种玉米(YySusu)授以白甜玉米(yysusu)花粉,则在测交当代玉米果穗上就会出现黄非甜、黄甜、白非甜、白甜四种数量相等的种粒,即比例为 $1:1:1:1$ 。

四、步骤方法

(一) 性状分离的观察 用计数器查计杂交玉米自交和测交果穗的黄非甜、黄甜、白非甜、白甜种粒数。

(二) χ^2 检验

1. 代入公式: