

园艺植物育种学实验实习指导

前 言

一、实验课的性质与任务

本课程是高校园艺专业本科生的专业基础课。本课程从加强基础、培养能力、提高素质的教学目标出发，建立一个科学、合理的园艺植物遗传育种学实验教学课程体系。使学生通过本课程实验教学，不只是加深理解和巩固所学理论知识，而是更能切实掌握园艺植物遗传育种学基本实验技能，正确使用常规仪器，学会正确记录，分析讨论实验结果，初步综合运用已学实验技术方法设计简单实验。在实验教学中，同时加强对学生进行科学素质和良好的实验室工作习惯的训练，为继续培养具有创新精神和实践能力的高素质人才奠定良好的基础。

二、实验课程目的与要求

1.实验目的

(1) 以园艺植物遗传育种学实验的基本操作、基本技能和基本理论为基础，精选重组验证性实验，增加综合性实验及知识范围，操作难度适宜的自选实验的比例，引导、指导学生初步设计实验。建立一个既与理论课有一定互补作用，又具有相对独立性的科学、合理、实用性强的实验教学课程体系。

(2) 在切实培养提高学生实践能力的同时，理论联系实际地培养学生独立思考、综合分析、推理判断的能力，科学思维能力和创新意识，以及科学求实的态度，相互协作的团队精神。

2.实验要求

(1) 实验内容的安排循序渐进，由简单到综合，由基本到提高到开放实验，激发学生的学习兴趣，调动学生的学习主动性。

(2) 强调学生课前预习，教师课堂讲授简明扼要，重点讲授实验原理，操作要点和实验方法的应用及意义，演示关键操作方法。

(3) 切实指导学生进行操作与观察，启发学生手脑并用，培养学生通过实验独立获取知识和技能的能力，严格要求和指导学生如实进行原始记录和分析实验结果，强调科学求实精神；重视随堂考查，讲评学生实验和实验报告，提高学生的实践能力。

三、考核方式、方法及实验成绩评定方法

1.考核内容应包括两个主要方面：

(1) 实验记录、实验报告、实验课程总结记录书写情况；

(2) 平时作业（实验过程）的认真程度；仪器设备操作使用情况；遵守实验室工作规章制度情况等。

2.成绩考核采用百分制记分制。

实验一 园艺植物开花习性调查

一、实验目的

通过各种园艺植物开花习性的调查，了解园艺植物开花习性的主要特点，熟悉园艺植物开花习性调查的主要观察项目和观察方法。

二、实验原理

不同园艺植物因自身发育特点不同其开花习性也不相同。此项调查可作为识别品种、制定杂交计划的主要依据。主要调查的项目是花期。

三、材料

选取桃树、玉兰、木瓜、梨花、紫薇等各一株作为观察材料。

四、用具

挂牌、铅笔、记录本、温度计等。

五、方法步骤

- 1.每组在选定的植株上进行开花物候期的观察。每组同学可轮流每天对植株进行观察，记载当天开放的花朵数以及天气和温度。
- 2.从早上 7 时 30 分到晚上 5 时 30 分，每隔 5 小时观察一次开放的花朵数和温度。
- 3.每组选定一种园艺植物一株挂牌标记，分别在其花朵开放时，观察其花蕾（已充分膨大）和花朵的不同形态，加以记载，并分别绘出写生图或照片，明显表示出花蕾、花朵、花萼、花瓣、雌蕊、雄蕊的形状及着生状态。

六、作业

- 1.观察不同植物的始花期（5%的开放）、盛花期（75%的花开放）、终花期（75%的花谢落）的具体日期记载下表中。

表 1 不同园艺植物开花物候期记载表

类型	始花期	盛花期	终花期

- 2.绘图表示花的开放过程。
- 3.根据观察结果，你认为一天内什么时间是开花最适期？开花时间与温度有什么关系？
- 4.开花情况观察。自制表格：一天内不同时间开花情况统计表。

实验二 不同园艺植物花器构造观察及其描述

一、实验目的

1.花是有性杂交的主要材料，了解不同园艺植物花器结构的特点，是准确选择杂交用的花朵和决定采集花粉，去雄、授粉时间的主要依据。

2.掌握园艺植物花器结构的主要观察项目和观察方法。

二、实验原理

不同园艺植物因自身的发育特点不同其花器结构也不相同。此项调查是准确选择杂交用的花朵和决定采集花粉，去雄、授粉时间的主要依据。主要包括花梗、花托、萼片、花朵、雄蕊以及雌蕊等调查项目，如花梗的长短、花托的形状、萼筒的颜色和形状、花瓣的颜色、大小、形状、雄蕊的数量和形状以及雌蕊的数量和形状等，同时还可以根据花器特征来确定其传媒类型。

三、材料

桃花、紫叶李、紫荆、紫薇、黄刺玫、木瓜、杜梨、梨树等。

四、用具

放大镜、镊子、卷尺、记录本等。

五、方法步骤

1.每组选取 10 种不同园艺植物的花作为材料进行观察描述。

2.观察项目主要包括：

- (1) 花梗的长短
- (2) 花托的形状
- (3) 萼筒的有无、颜色、形状、绒毛的有无等
- (4) 花瓣的颜色、数量、花冠的形状等
- (5) 雄蕊的数量和形状等
- (6) 雌蕊的数量和形状等

六、作业

- 1.一朵完全花包括哪些部分，各自的作用是什么？
- 2.自制表格进行花器构造观察描述记载。

实验三 园艺植物的有性杂交技术之一

——花粉采集和贮藏

一、实验目的

- 1.学习花粉采集的方法。
- 2.掌握花粉贮藏的方法。

二、实验原理

常规杂交育种，是通过有性杂交技术，即人工去雄授粉受精，将不同亲本的优良性状组合到杂种后代中，并对其杂种后代进行培育选择，以获得符合人类需要或育种目标的新品种的一种育种途径。其中花粉的获得是授粉工作的前提和基础，采用贮藏的花粉更是解决有性杂交过程中异地授粉或花期不遇的重要手段。

三、材料

桃花、紫叶李、紫荆、紫薇、黄刺玫、木瓜、杜梨、梨树等。

四、用具

镊子、培养皿、标签、铅笔、小瓶等。

五、方法步骤

- 1.选取采粉株——标记
- 2.选取去雄花朵——采花——取花药置于培养皿中散粉——观察散粉情况——收集花粉置于花粉瓶中——标记——贮藏——待用

六、作业

如何贮藏花粉才能保证花粉的生活力下降慢，保持最高的花粉生活力？

实验四 园艺植物的有性杂交技术之二

——去雄授粉杂交

一、实验目的

了解去雄、杂交的原理，要求学生熟练掌握其去雄授粉杂交技术。

二、实验原理

杂交是基因重组的过程。通过杂交可以把亲本双方控制不同性状的有利基因综合到杂种个体上，使杂种个体不仅双亲的优良性状，而且在生长势、抗逆性、生产力等方面超越其亲本，从而获得某些性状都更符合要求的新品种。

三、材料

桃花、紫叶李、紫荆、紫薇、黄刺玫、木瓜、杜梨、梨树等。

四、用具

镊子、消毒酒精、酒精喷壶、授粉工具、隔离纸袋、曲别针、标签、铅笔、记录本等。

五、方法步骤

（一）隔离袋的制备

（二）去雄授粉杂交

1. 育种目标的确定；

2. 亲本选配：根据育种目标和亲本选配的原则选配亲本；

3. 杂交母株的选择：

选择生长健壮、开花结实正常的优良单株作为母株。在母株数量较多时，一般不要在路旁或人流来往较多的地方选择，以确保杂交工作的安全。去雄的花朵以选择植株中上部和向阳的花为好。每株（或每株）保留 3-5 朵花较好，种子和果实小的可适当多留一些，多余的摘去，以保证杂种种子的营养。

4. 花期调整：

杂交育种时，有时选择的两个杂交亲本开花时间不一致，使得难于进行杂交，在这种情况下，就需对开花期进行调整或收集父本花粉贮藏等。植物开花与温度、光照等因素有关。掌握了植物生长发育规律，就可通过采取适当的栽培措施，调节温度、光照或采用植物生长调节剂等手段对植物进行处理，使开花时期能满足杂交要求。调整花期前，首先应弄清楚影响植物花期的主要因子是什么，然后再采用相应的措施调整开花期。

5. 授粉：待柱头分泌粘液或发亮时，即可授粉。

(1) 授粉的时间选择：在晴朗无风的上午 8-9 点，花将开时进行。

(2) 授粉步骤：

①去除花丝：用镊子小心剥去待开花瓣，去除花柱周围的花丝，注意不要伤及柱头和花柱；

②消毒：用喷壶向花柱周围喷水，冲去母本上残留的花药，再用滴管滴 3-4 滴酒精，除残余花粉粒的活性；

③授粉：用棉棒先在盛花粉的器皿中点一下，使花粉附着于棉棒上，再把其轻轻点在母本柱头上；为确保授粉成功，最后两三天内重复授粉 2~3 次，授粉工具授完一种花粉后，必须用酒精消毒，才能授另一种花粉。

④套袋挂牌：授粉后立即封好套袋，把与母本花朵大小相当的纸袋套在母本花茎上，用别针别口固定，再挂上标签，上标明父母本品种或种的类型、授粉人及所在单位、授粉日期等；

⑤授后检查：7 天后，小心去除纸袋，观察父母本结合情况，未结合的及时补授。

6.果实发育期的养护管理；

杂交后要细心管理，创造良好的、有利于杂种种子发育的条件。有的花灌木要随时摘心、去蘖，以增加杂交种子的饱满度。同时注意观察记录，及时防治病虫害和人为伤害。

7.杂种种子的采收：

由于不同植物、不同品种种子成熟期有一定差异，须注意适时采种。对于种子细小而又易飞落的植物，或幼果易为鸟兽危害的植物，在种子成熟前应用纱布袋套袋隔离。杂种成熟后，采收时连同挂牌放入牛皮纸袋中，注明收获时期，分别脱粒、贮藏。

8 杂种后代分析。

六、作业

1.详细记录杂交过程。填写杂交结果记录表

2.分析影响杂交结果的因素有哪些？

3.根据你对园艺植物某种类型花器结构的观察，认为在杂交时何时去雄、采集花粉和授粉最合适，为什么？

实验五 不同园艺植物品种鉴定的方法之一

——根皮率的测定

一、实验目的

园艺植物育种的主要目的是创造新品种或新类型。园艺植物根皮率的测定是鉴定新品种或新类型的手段之一。要求掌握根皮率测定的方法。

二、实验原理

种质资源是育种的原始材料和物质基础，要对原始材料进行正确合理利用，就必须对所调查的资源进行全面的相关鉴定和研究，做出科学的评价，主要包括形态特征、生物学特性和品质性状等方面的鉴定。

三、材料

桃树。

四、用具

铁锹、修枝剪刀、游标卡尺等。

五、方法步骤

确定采根单株，按四个方向分别挖取取 0.5-1cm 的根段，每方向取三段（3 个重复），在每根段的一端用游标卡尺测定根直径 A，然后把根段旋转 90°，再测得根的直径 B。然后在已测过的部位距切面处环状剥皮，露出木质部，再用同样的方法测出木质部直径 a，b 将数据记录在下表中，用下表公式计算平均根皮率。

根皮率= $(100-100ab/AB)$ %

六、作业

自制表格计算根皮率。

实验六 不同园艺植物品种鉴定的方法之一

——透明方格板法测定单叶面积

一、实验目的

叶片是光合作用的物质基础，是制造营养物质的“绿色工厂”，是蒸腾作用的媒介，它不仅是植物的生长发育、产量形成的重要基础，而且是鉴定品种特性的重要指标，园艺植物育种的主要目的是创造新品种或新类型。园艺植物叶面积的测定是鉴定新品种或新类型的手段之一。要求掌握叶面积测定的方法。

二、实验原理

种质资源是育种的原始材料和物质基础，要对原始材料进行正确合理利用，就必须对所调查的资源进行全面的相关鉴定和研究，做出科学的评价，主要包括形态特征、生物学特性和品质性状等方面的鉴定。

三、材料

桃树。

四、用具

透明方格板，计算器。

五、方法步骤

确定取叶单株，每株四个方向各取叶 3 片（3 个重复），将叶面压平展，叶片上放置透明方格板，计算叶片所占的方格数。叶片边缘凡超过半格计算为 1，不足半格不计，也可用估算法。为了提高读数的效率，可以将方格数中央的一些方格组成一些常数，如 10，20，30，40cm² 等，事先在透明方格板上做出记号，读数时只要读方格组以外的方格，然后再加方格组常数，得出单叶面积。

六、作业

自制表格计算单叶面积。

实验七 不同园艺植物品种鉴定的方法之一

——园艺植物性状描述及其性状评定

一、实验目的

学习园艺植物性状鉴定的内容及方法，注意搜集优良的种质资源。

二、实验原理

种质资源是育种的原始材料和物质基础，要对原始材料进行正确合理利用，就必须对所调查的资源进行全面的相关鉴定和研究，做出科学的评价，主要包括形态特征、生物学特性和品质性状等方面的鉴定。

三、材料

园艺植物如月季、石榴等。

四、用具

放大镜、尺子、纸笔等。

五、方法步骤

1.确定描述识别对象；

2.选择具有本品种典型性状的植株 10 株左右，按株形、枝、叶、茎、花等项目进行细致的观察描述记录，突出主要特点。

六、作业

记载描述内容。

实验八 园艺植物果实品质的鉴定及其评价

一、实验目的

果实品质的好坏，是我们进行果树生产的目的所在，也是我们进行育种工作所必需了解的内容。在育种时可根据不同的果实品质选育新品种，在实生选种中，从实生后代群体中选择果实品质好的果实种子作为预选材料，在杂交育种中选择不同品种中的优良品质作为杂交亲本，从而有目的地培育新品种。我们本次试验的目的就是学习掌握园艺植物果实品质的外观形态特征和内部质地、风味及有关营养成分的评比鉴定。

二、实验原理

种质资源是育种的原始材料和物质基础，要对原始材料进行正确合理利用，就必须对所调查的资源进行全面的相关鉴定和研究，做出科学的评价，主要包括形态特征、生物学特性和品质性状等方面的鉴定。

三、材料

园艺植物果实如苹果、梨等的果实等。

四、用具

水果刀、天平、硬度计、手持测糖仪、游标卡尺、尺子等。

五、方法步骤

对于果实性状的记载鉴定，可以采用感官评定等方法，对种质材料的产品外观、质地、风味及其它品质性状进行客观评价。外观品质鉴定主要是对果品的色泽、大小、形状及整齐度进行鉴定，色泽感官评述，如深绿、绿、浅绿、黄绿等。大小及形状等主要用度量方法，重量可以采用天平来称量，形状可以用“形状指数”（高度 / 宽度）来表示。整齐度可以通过对产品形状、色泽等性状的综合评价得出结论。质地鉴定包括硬度、脆嫩程度、可溶性固形物等，可以采用硬度计测定果肉硬度，手持测糖仪测定糖度等。

六、作业

对各个品种的品质从外观到质地逐一进行考察描述记载。

实验九 园艺植物花粉单核期观察

一、实验目的

在单倍体育种技术花药培养中，花药的发育时期与花药组织培养的成功有很大关系，本实验的目的就是学习掌握鉴定园艺植物花粉单核期的方法。了解花粉发育与花芽外部形态发育的对应时期，为花药培养适期采样接种提供依据。

二、实验原理

园艺植物被子植物的花粉发育过程可以分为四个阶段，10 个时期。

（一）四分孢子阶段的四分孢子期：

1.花粉母细胞经过减数分裂形成四个小细胞，这四个小细胞在显微镜下呈四角体连接在一起——花芽稍膨大。

（二）单核阶段：

这个阶段指从四分孢子分开至小孢子第一次有丝分裂为止

1.单核早期：细胞圆球形，核居正中，细胞质浓度均匀，颜色浅，无液泡——花芽继续膨大

2.单核中期：小孢子壁出现发芽沟，逐渐出现孔沟。细胞核居中，出现小的液泡，细胞质浓度不均匀，染色较深——花芽膨大。

3.单核后期：中小液泡合并成大液泡，将细胞核压至靠近细胞壁的边缘——花芽膨大。

4.单核末期：大液泡小时或缩小，核逐渐移至中央，但此时细胞核比单核早期明显增大——淀粉含量增多。

（三）有丝分裂阶段的有丝分裂期

细胞核进行有丝分裂，经历前中后期，分裂成两个细胞，一大一小。——萼片

（四）雄配子体形成阶段

1.二核期：有丝分裂结束，形成两个细胞核，生殖核较小而靠边，营养核较大而居中，二者处于共同的细胞室中——花瓣

2.二胞期：在两个细胞核之间出现弧形细胞壁，分成两个大小不等的细胞，营养细胞呈球缺形，细胞质多。生殖细胞大而细胞质少，呈纺锤形——花冠

3.胞中胞球形期：弧形细胞壁消失，生殖细胞发生位移和变形。

4.胞中胞三角球形期：花粉粒出现三个突起，形成三角球形。

至此以后，花药散开，花粉落到柱头上，形成一个营养核和两个精核。

三、材料

园艺植物如月季花蕾。

四、用具

显微镜，盖玻片，载玻片，镊子，滤纸，碘—碘化钾溶液等。

五、方法步骤

1.选取发育程度不同的花蕾，先记录其外表形态特征；

2.从中剥出花药，放置载玻片上，滴一小滴染色液，捣碎盖上盖玻片，使之染色1~2min，然后用滤纸将过多的染色液从边缘吸干，即可镜检，先用低倍镜看，然后在用40×10倍高镜观察。

六、作业

1.描述花蕾大小形状与相对应花粉发育时期。

2.绘制你所看到的花粉各个发育时期图。

实验十 园艺植物种质资源调查

一、实验目的

- 1.学习在进行园艺植物种质资源调查时，制定调查项目和记载标准的方法。
- 2.学习园艺植物性状鉴定的内容和方法。

二、实验原理

园艺植物种质资源是园艺植物品种选育工作中所利用的原始材料、资源的数量的质量以及对它们研究的深度和广度，与生产上的利用和育种的进展及成效有密切关系。通过对园艺植物种质资源的调查工作，可以从现有的资源中发掘优良的地方品种和类型以及野生种质资源，以便为生产提供有直接经济栽培价值的材料，或为育种及利用作砧木等提供有价值的原始材料。

在进行资源调查工作前，必须拟定调查记载的项目和标准，确定被调查资源的主要项目和记载内容，以使调查工作有的放矢，进行的卓有成效。园艺植物种质资源调查记载的项目应力求简要，并便于掌握。主要抓住品种的主要特征、特性及经济性状。

三、材料

园艺植物

四、实验内容及作业

参考有关的书籍和资料以及资料调查手册等，确定相关园艺植物的调查项目和记载标准，并设计出调查记载表格，进行调查记载。

实验十一 杂交计划书的制定

一、实验目的

学习园艺植物的有性杂交育种计划书的制定方法，初步掌握园艺植物新品种选育的技术，结合本地园艺资源适应性状况，找出需要加以改进的某些性状作为育种选育的目标，设计出切实可行的实验计划，并逐步实施，依次验证所制定育种计划的可行性及正确性。

二、育种计划制定的内容

（一）育种目标的制定及其意义

- 1.抗病性强
- 2.早熟性
- 3.短蔓紧凑型
- 4.耐贮运性
- 5.抗逆性

（二）确定杂交亲本及杂交方式及其组合

- 1.至少列出十五个与目标相关的亲本，列表说明
- 2.选出至少 5 个作为亲本
- 3.确定杂交方式
- 4.确定父母本，说明原因

（三）确定各个杂交组合的杂交花朵数

- 1.生长特点
- 2.按照育种规模的大小，设计花朵数

组合号	杂交组合	杂交花朵数	杂交结实率	平均单果种子数	期望获得种子数

（四）制定杂交操作规程

- 1.选择母本株
- 2.母本花的选择
- 3.父本花的处理：花期调整以及花粉的采集、贮存
- 4.去雄、隔离以及授粉
- 5.检查座果率：7 天检查子房是否膨大；1 个月是否座果。

（五）杂交育种具体进程表

内容	去雄	授粉	去袋和第一次检查座果率	第二次检查座果率	第三次检查座果率	采种	播种	杂种选择
时间								

（六）杂交育种物资计划

- 1.用具的名称以及数量
- 2.人力以及天数：人的具体分工
- 3.土地的使用面积以及用途
- 4.资金预算：用具、药品、人力资源：每人每天 20 元；土地租用费：每年每亩 200 元，交通费、资料费等。

三、作业

- 1.制定某个具体的园艺植物育种的有性杂交计划
- 2.写出在育种实施过程中应注意的问题

实验十二 园艺植物多倍体诱导方法的研究

一、实验目的

了解秋水仙素诱变多倍体的原理；学习掌握多倍体诱变的技术和方法。

二、实验原理

秋水仙碱是从秋水仙植物提炼出来的一种植物碱。其分子式为 $C_{22}H_{25}O_6N_2$ 溶于酒精、氯仿和冷水中。在热水中反而不溶解，溶于水后。宜放黑暗处，如暴露于日光下即变暗色，一般放于棕色瓶内保存。秋水仙碱诱导多倍体的机制在其阻止细胞分裂中纺锤丝的形成，使已分裂的染色体不能分配到两个子细胞中去，从而形成一个加倍的细胞核，进而发育成为一个多倍体的植株。

三、实验材料

蔬菜种子等。

四、用具

秋水仙碱溶液、各种玻璃器皿、营养钵等。

五、方法步骤

1.取材

2.实验设计：处理材料方法、秋水仙素溶液浓度、处理时间以及处理温度的确定。

（1）处理材料方法：干种子、浸泡种子、发芽种子

（2）秋水仙素溶液的配制：称取 1g 秋水仙素纯结晶体，先溶于少量酒精中，然后加冷水定容为一定浓度梯度的溶液进行处理

（3）处理时间：设置一定的处理时间梯度

（4）处理温度：设置一定的处理温度梯度

3.诱变效果的调查和分析。

六、作业

自制表格统计不同处理处理方法、不同药液浓度、不同处理时间和不同温度处理后植株的诱变率。

实验十三 引种计划书的制定

一、实验目的

通过制定园艺植物引种计划，加深对理论知识的理解，熟悉引种工作的各项环节，提高组织、领导开展引种工作的实践能力，达到能独立设计园艺植物的引种方案，科学有效地进行引种试验的目的。

二、实验原理

不同园艺植物种类或品种，对自然条件都有一定的要求，如果得不到满足，生长发育将会受到影响。引种时，要考虑生长地的气候条件，尽可能从纬度、海拔高度、土质条件相似地区引种。同时还要考虑植物种类地适应性大小以及引入地的栽培管理条件和人地主观能动性等因素。植物适应性地大小，不仅与目前分布区的生态条件有关，而且与系统发育历史上的生态条件有关。

三、选题与资料来源

1. 题目：自定

2. 资料来源：图书馆或实地调查

四、实验内容

收集、分析引种材料原产地及引入地的具体资料，进一步审定选题地正确性与引种的可行性，最后根据查阅的相关资料，制定出引种计划。

五、方法步骤

（一）收集（或调查）并整理以下方面的资料

1. 收集有关的园艺植物的分布、经济栽培意义、生物学特性及系统发育历史等方面的相关资料。
2. 收集有关的园艺植物原产地的地理、气候、土壤、植被组成等资料。
3. 收集引入地的地理、气候、土壤、植被组成等资料。
4. 收集有关的园艺植物引种成功的经验，总结报告。

（二）根据掌握资料，分析对比原产地和引入地各种因素地相似程度，提高引种地限制因子

1. 纬度
2. 海拔
3. 气候（光照、温度、雨量和湿度）。
4. 土壤
5. 植被组成
6. 栽培历史及栽培管理及经济发展水平

六、引种计划制定地要求和基本内容

（一）要求

- 1.本实验为模拟练习，可以到图书馆和资料室查阅有关资料，有条件可结合资源调查进行实地调查并收集第一手资料，选择一定地引种实验报告作为模仿素材，按照课堂讲授的引种理论及模式，收集资料，分类整理，阐述在引入地引入相关园艺植物的必要性。
- 2.针对园艺植物的生物学特性、原产地（自然分布区）与引进地地理、生态因子地对比分析，提出园艺植物引种的论点，论证引种的可行性。
- 3.根据引入地的经济发展及栽培管理水平，拟定出相应的引种（驯化）栽培技术或使可能性成为显示的关键措施。

（二）引种计划的内容

- 1.引种的必要性阐述引种植物本身的食用价值，或观赏价值、生态作用等，预测未来社会发展需要的迫切程度和经济、社会、环境效益。
- 2.引种的可能性
 - （1）阐述引种植物的生物学特性、系统发育历史和本身可能潜在的适应性。
 - （2）阐述引进地与引种植物自然分布区、栽培区、引种成功地区的地理、气候、土壤条件及植被组成等。还应该注意到引进地多年一次的灾害性天气。
 - （3）在对比分析的基础上，找出引种的限制因子，论证引种成功的可能性。
- 3.确定十一的采引地、采种方式、引种材料、引种数量、引种的时间。
- 4.制定出相应的引种栽培措施。
- 5.对引种计划中暂时还没有收集到的资料加以说明，并对引种以后可能出现的问题加以讨论。

七、作业

根据当地生产需要或育种需要，选择一种引种计划园艺植物，制定一份引种计划。

实习部分

实习一 园艺植物花粉生活力的测定

一、实验目的

- 1.学习并掌握花粉生活力与发芽率的测定方法。
- 2.了解花粉的主要贮藏方法。

二、材料与用具

1.材料：园艺植物花粉

2.用具：（1）花粉发芽试验：显微镜，天平，载玻片，盖玻片，量缸，烧杯，电炉，玻璃棒，冰箱，量筒，滴瓶等器具；琼脂，蔗糖，蒸馏水等化学试剂。

（2）化学测定法：联苯胺， α -萘酚，无水碳酸钠，酒精，过氧化氢，蒸馏水等化学试剂；显微镜，天平，载玻片，盖玻片，滴瓶等器具。

三、方法与步骤

（一）授粉法：把花粉授于生活力最强的柱头上，通过调查结实率和结籽率测定花粉生活力，比较客观直接。

（二）形态观察法：不同的花粉具有一定的形状和大小：（1）把具有品种典型性的花粉粒作为具有生活力的花粉；（2）把小的、皱缩的、畸形的以及没有内含物的作为没有生活力或具有较弱生活力的花粉，在低倍镜下观察，花粉置于载玻片上，滴上水，盖上盖玻片观察，然后自制表格进行记载。

（三）夏尔达考夫染色法测定花粉生活力（BBC）

1.实验原理

（1）具有生活力的花粉粒都具有活跃的E的活动系统，其中过氧化物E，它能使过氧化物放出活性氧，这种氧是在花粉萌发时，进行许多综合反应时所必需的，它使多酚及芳香胺发生氧化而产生特定颜色，因此，通过对氧化物E的测定，根据花粉粒的呈色反应，即可间接地判断花粉是否具有生活力。

（2） $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + [\text{O}]$ 联苯胺 + α -萘酚同时被氧化成紫红色，发生变色，因此，凡是有生活力的花粉因含有过氧化物后，使水释放出氧分子，氧分子再氧化联苯胺及 α -萘酚，从而使花粉染成紫红色或红色。①生活力愈强的花粉染色愈深。②生活力较弱的染成淡约色。

2.溶液的配制：

（1）0.20g 联苯胺溶于 100ml 的 50%酒精。

（2）0.15g 无水碳酸溶于 100ml 的 50%酒精中。

（3）0.25g 无水碳酸钠溶于 100ml 的蒸馏水中。

以上三溶液分别装入棕色瓶中贮藏备用，使用时将上述三种溶液等量混合，配成混合液甲，装入棕色滴瓶中备用。

(4)配制 0.3%的过氧化氢溶液，装入棕色滴瓶中作为乙液备用。

3.操作步骤:

(1)在载玻片上放有少量测定花粉，然后在花粉上先滴一小滴过氧化氢溶液，然后再滴一小滴混合液，用玻璃棒把花粉和溶液充分混合后，盖上盖玻片呈 45 度角。下放赶走气泡。(注意不要把气泡误认为花粉)。

(2)经过 5~10min 后在显微镜下计算染色和未染色的花粉粒数。

4.观察和测定结果

每次观察三个视野，移动 3~5 次载玻片计数，每次统计出具有生活力花粉的百分数，记录于自制表格中。

(四) 碘——碘化钾法 (碘量法)

1.实验原理

(1) I_2 遇淀粉变兰色，正常的花粉淀粉含量高而不正常的花粉含量少，正常的染成兰色颜色较深；生活力弱的染成淡兰色；无生活力的染色呈黄褐色

(2) I_2 易挥发 I^- 易被空气污染，为了防止 I_2 的挥发

①在配制碘液时可加入过量 KI 使其形成 I_3^- 络离子同时也提高 I_2 在水中的溶解度

②反应温度不可过高一般在室温下进行

2.溶液的配制：称量 0.3g I_2 ，1.3g KI 溶于 100ml 蒸馏水中放于棕色瓶中备用

3.操作步骤

在载玻片上放有少量测定花粉，然后在花粉上滴一滴混合液，用玻棒将之混匀后，在显微镜下镜检

4.观察和测定结果

每片观察 5 个视野移动载玻片 5 次，统计出具有生活力的花粉的百分率，记录于自制表格中。

(五) 氯化三苯四氮唑法 (TTC)

1.实验原理

凡具有生活力的花粉其呼吸作用过程中都有氧化还原反应，当 TTC 渗入有生活力的花粉时其过氧化氢酶在催化去氢过程中与 TTC 结合，使无色的 TTC 变成三苯基甲 (TTE) 而呈红色，没有生活力的无色

2.溶液的配制

(1) 磷酸盐缓冲液：在 100ml 水中溶 0.83g Na_2PO_3 ，0.272g KH_2PO_4 ，并调整 PH 值为 7.17。

(2) TTC 液：0.2~0.5g TTC 溶在 100ml 的磷酸盐缓冲液中，配好后置于棕色瓶中。

3.操作步骤

(1)先取少量花粉放入凹玻片槽内滴 1 滴 TTC 液，盖上盖玻片

(2)置于 35~40℃ 的恒温箱内 15~20min 后镜检

4.观察和测定结果

每片观察 5 个视野移动载玻片 5 次，统计出具有生活力的花粉的百分率，记录于自制表格中。

（六）丙酸洋红染色法

1.实验原理

具有生活力的花粉不能染色，无生活力的花粉能染色

2.溶液的配制

1ml50%丙酸中加入 1g 洋红，再加水至 100ml

3.操作步骤

取少量花粉于载玻片上，滴此混液，盖上盖玻片，镜检

4.观察和测定结果

每片观察 5 个视野移动载玻片 5 次，统计出具有生活力的花粉的百分率，记录于自制表格中。

（七）花粉发芽率的测定方法

1.培养基的配制：培养基是用琼脂，蔗糖和蒸馏水制成的一种与柱头相类似的基质

(1)先称量琼脂 7.5g/L、蔗糖 15g/L 配培养基

(2)量缸，电炉玻棒，先溶琼脂，融化后加入糖定容到 500ml，再次煮沸，然后调 PH 值到 5.8，用 1NNaOH，1NHCL 溶液进行调节。

2.发芽床的设置

(1)将载玻片、盖玻片、凹玻片、玻璃棒洗净

(2)在凹玻片的凹畦处用玻璃棒滴 1~2 滴培养基，待凝固后可播种

(3)在盖玻片的四周涂上一层凡士林，播种后盖上盖玻片

(4)将做好的发芽床放在垫有滤纸的培养皿中，盖上盖子，以免干燥

(5)放在 25℃的恒温箱中促使发芽。

3 播种

(1)播种时用头发沾取少量花粉播在发芽床上

(2)播种后在低倍镜下观察，如发现太密难以计算或太少应重做，直到 50~100 个时为止

(3)贴上标签，放在恒温箱 25℃中发芽

4.观察和测定结果

在播种 3 小时后开始检查发芽情况，以后，每隔 2 小时检查一次，在 5 个视野内进行统计，统计总的发芽数得出发芽百分率，算出平均百分率记入自制表中。

实习二 园艺植物多倍体鉴定的方法——气孔观察法

一、实习目的

- 1.气孔是一个稳定的遗传的性状中，在遗传育种中可以作为分类的重要微观标志，但是气孔密度比大小的变异更具有规律性中，所以，一般以密度为主，大小为参考。
- 2.在种质资源评价中，气孔可以作为主要植物学性状评价指标之一。
- 3.植物的气孔密度、大小对研究植物的适应性的关系密切。
- 4.气孔观察法是鉴定多倍体的指标之一，学习掌握该鉴定技术的不同方法。

二、原理

叶片气孔分布多，这与叶片光合作用时气体交换和进行蒸腾作用相适应，叶表皮上的气孔的数目形态结构和分布因植物及生态条件有关大多数植物每平方毫米的下表皮平均有 100~300 个气孔同一叶片近叶尖和中脉部分的气孔较叶缘和叶基的多。气孔由两个保卫细胞和它们间的开口共同组成。保卫细胞是具叶绿体的生活的细胞，一般呈肾形或哑铃型，并且有特殊的，不均匀增厚的细胞壁，使保卫形状改变时，能导致孔口的开放或关闭从而调节气体的出入和水分的蒸腾。

三、材料

园艺植物的叶片。

四、用具

显微镜、目镜测微尺、台尺、镊子、载玻片、盖玻片、清水、透明胶、I-KI、解离液、卡诺氏固定液、番红、培养皿、刀、滤纸、擦镜纸等。

五、具体步骤

(一) 在秋季取新梢部成龄叶片

(二) 具体方法

1.实验方法设计

- (1)直接观察：用镊子挑取叶片下表皮，置于载玻片上，然后用显微镜观察。
- (2)物理方法观察：用透明胶带粘取叶片下表皮，置于载玻片上，然后用显微镜观察。
- (3)化学方法观察
 - ①火棉胶印迹法：用玻棒蘸取 1~2 滴火棉胶涂在叶片背面，停 1~2min，用为棉胶涂在叶片背面，叶片茸毛较多的品种先用火棉胶去毛，然后再涂胶，待火棉胶干后，从叶片中部叶脉两旁 1 处用镊子取下火棉胶薄膜，放在载玻片上，滴上清水，盖上盖玻片，然后用显微镜观察。
 - ②解离观察：对于叶背面有绒毛的材料，可先用火棉胶涂在叶背上沾去绒毛，再将叶片剪成长方形小块，放入解离液（铬酸 2g、浓硫酸 8ml、硝酸 3ml、蒸馏水 89ml）中浸泡，至表皮边缘与叶肉脱离微翘，即可放入清水中漂洗，后揭下下表皮，用 I-KI 染色，镜检。

③固定观察：将叶片摘下放入“卡诺氏固定液”（纯酒精：冰醋酸=3：1）固定 1h，撕取叶片的下表皮，置于载玻片下，滴下 1%的番红染色剂(1%番红+50%的酒精)1~2 滴。染色 1~2min，盖上盖玻片观察。（观察速度要快，否则印迹会变的模糊不清）

2.观察统计气孔大小

(1)测微尺的使用

在使用显微镜进行观察测量气孔大小时需要使用显微测微尺。显微测微尺有目镜测微尺和镜台测微尺两种。目镜测微尺一块可放在目镜内的圆形小玻片，在它的中央刻有精确的刻度，一般分 50 小格或 10 小格，每 5 个小格之间有一长线隔开。用台尺标定目尺每一格的长度，标定时每一格所代表的实际长度随放大倍数不同而不同。台尺中央圆圈内刻有 1mm 长的小尺，小尺划分为 10 个大格，100 个小格，因此，台尺的每 1 小格为 0.01mm(10um)，使用时首先要对目镜测微尺进行标定，标定的方法是将镜台测微尺置于显微镜的载物台下，使刻度面朝上，取出目镜，旋开透镜，将目测微尺放在目镜的隔板上，使刻度向下，然后旋下目镜透镜，将目镜放回镜筒内，然后在低镜下看清镜台测微尺，转动目镜，使目镜测微尺的刻度平行于镜台的测微尺的刻度，移动镜台测微尺使两种测微尺在某一区间内的两对刻度完全重合，计算出两对重合线间各自所占的格数，重复观察 3 次，按下式计算目尺每 1 格的长度=

(2)用测微尺进行显微测量：测量孔口的大小，在装有目镜测微尺的显微镜下观察并测量 10 个气孔开张的双径大小。求出平均值，以此来代表供试植物在当时条件下的气孔开张度。

六、作业

1.测量记录气孔保卫细胞的长度和宽度。

2.气孔保卫细胞的密度（个/mm²）

实习三 植物细胞膜电导率的测定

一、实习目的

- 1.学会测定植物细胞膜透性的具体技术和方法
- 2 学习用电解率来衡量不同品种之间在不同温度下的抗寒性强弱的方法。

二、实验原理

细胞膜由磷脂双分子层和镶嵌的蛋白质组成，磷脂分子间以一定的距离排列，当植物受到冷害或者冻害时，磷脂分子间的距离加大，原生质外渗，导致浸泡植物的溶液浓度增大，溶液中的离子增多，溶液电解值增大。通过测定几个时间点的电解值，来求得溶液的相对电导率，以此来表示细胞膜透性的大小。

三、材料

园艺植物的枝条和叶片。

材料处理：常温（25℃）、-5℃、-15℃

每处理选取的量分别为，枝（木质化程度高、充实）2g，剪成每段 0.5cm 长，叶片（发育成熟的功能叶）15 片（1cm 的打孔器打出的叶片），各重复 3 次。

四、用具

烧杯、注射器、电导仪、电炉等。

五、方法步骤

- 1.将材料放进烧杯中，用蒸馏水冲洗 3 次
- 2.每份材料浸泡在 20ml 去离子水中，然后用注射器抽真空 5~10 次，水倒入烧杯中，用去离子水冲洗。保持烧杯中水 50ml，每隔一小时测定电导率一次，共测定 5 次，然后再煮沸 20min，其间不断补充加水，使其一直维持在 50ml，20min 后，等待溶液冷却后再测定电导率。（所有的测定值减去去离子水的电导率才为样品的电导率）

$$\text{材料在某一低温处理后的电解度}\% = \frac{B - A}{C - A} \times 100\%$$

3.数据处理：

计算电解度

B 为样品低温处理后的稳定电导率；

A 为未受低温处理的稳定电导率；

C 为样品煮沸后的总电导率的平均值（包括各种温度下处理材料煮沸后的总电导率）。

六、作业

自制表格记录电导率值。

实习四 实习五园艺植物不同品种营养成分比较试验设计

一、实习目的

- 1.了解园艺植物品种比较实验的意义，学习品种比较实验的基本内容以及基本方法和设计原理。
- 2.学习掌握几种不同营养指标的测定的方法以及手段。

二、实验原理

品种比较实验是新品种选育工作最后的鉴定环节，一般由育种者进行单点试验，将选育出的新品种或新品系进行种植，并参照标准品种对其产量、品质、抗病性、抗虫性、抗逆性及其他经济性状进行系统、全面的鉴定，是下一步进行品种区域试验及生产试验的前提。

对品质的鉴定主要有感官评定和营养品质鉴定，其中营养品质鉴定包括对果品中维生素、矿质元素、纤维素以及碳水化合物进行测定，多采用常规分析方法，如可溶性糖用斐林试剂法等。

三、材料

各种园艺植物果实

四、用具

榨汁机、离心机、分光光度计、水浴锅、电炉以及各种玻璃器皿等。

五、方法步骤

- 1.取材处理
- 2.确定测量的营养指标已经选用的方法，进行设计处理。

六、作业

自制表格统计各个营养指标的测定数据。