园艺植物遗传学实验指导

编写说明

课程编码：1306104040

课程教学总学时：54

课程实验总学时：18

总学分：3

适用专业：园艺

先修课程：植物学；基础生物化学

一、目的与任务

理论联系实际，使学生掌握研究生物遗传规律的相关实验技术，培养学生的实验操作能力和分析问题解决问题的能力。

二、实验教学的基本要求

通过《园艺植物遗传学》实验教学，使学生能够理论联系实际，加强实验能力培养，掌握遗传学实验的基本方法，为以后的学习和研究打下基础。

三、实验教学的时数安排

总学时 18 学时，各实验学时数分配见下表：

序号	实验内容	学时
实验一	植物细胞有丝分裂的观察	2
实验二	植物细胞减数分裂的观察	2
实验三	临时涂抹压碎制片法	2
实验四	玉米一对性状的遗传分析	2
实验五	玉米两对性状的遗传分析	2
实验六	玉米性状的连锁和交换	2
实验七	植物染色体组型分析	2
实验八	染色体数目的变异和染色体结构变异	2
实验九	数量性状的遗传分析	2

实验一 植物细胞有丝分裂的观察

一、实验目的

通过对植物细胞有丝分裂制片的观察，熟悉有丝分裂的全过程，以及各个分裂时期染色体的形态特征。

二、实验材料

蚕豆(*Vicia faba*)、玉米(*Zea mays*)、大麦(*Hordeum sativum*)、豌豆(*Pisum sativum*)等作物的细胞有丝分裂永久制片。

三、实验用具

普通生物显微镜、计数器、实验报告纸、铅笔、橡皮等。

四、实验说明

细胞有丝分裂是生物细胞最主要最普通和最基本的一种分裂方式，也是生物体增殖的重要方式。它包括细胞核分裂和细胞质分裂。有丝分裂是一个连续的过程，为研究方便起见，人们依据不同时期细胞核及其内部染色体的变化特征，划分为前期((prophase)、中期(metaphase)、后期(anaphase)、末期(telophase)。在细胞两次分裂之前还有一个间期(interphase)。详见教材。现简要说明镜检下各个时期细胞核及染色体的变化特征。

1.间期：为两次分裂之间的时期，这个时期的主要特征是细胞质均匀一致，细胞核在染料的作用下核质呈均匀致密状态，有明显的核仁，染色体细长呈丝状散布于核内，一般制片在低倍镜下不可见，良好制片在高倍油镜下可以观察到一些染色较深的细小颗粒。一般认为是染色线上染色质螺旋卷曲而成的染色粒。核与质之间有核膜分开。但核膜和核质在普通生物显微镜下不能明显区分。

2.前期这个时期又可分为三个时间：

(1) 早前期 染色质开始螺旋卷曲形成细丝状，分布于核内，核仁清楚。

(2) 中前期 染色体继续收缩，由于染色体周围基质不断增加，染色加深加粗，染色体呈连续的线状。此时染色体仍扭曲很长，并互相缠绕，故整个核内的染色体犹似一团搅乱的粗麻线，这时尚有核膜核仁，但在普通生物显微镜下核膜一般不易见到，核仁隐约可见。

(3) 晚前期 染色体进一步螺旋变粗变短，呈明显的双股性，即两条染色单体由一个着丝粒相连，可见端点，染色体渐趋中央赤道面处集结，但彼此仍然缠绕，核膜、核仁逐渐消失。

3.中期染色体着丝粒均处于赤道面上，染色体的两臂自由伸展在细胞质内，纺锤丝与着丝粒相连形成纺锤体，着丝粒未分裂，纺锤丝在一般制片中看不到，良好的制片根据细胞质着色

微粒的排列可隐约见到曳引丝状分布。着丝粒位置非常清楚，其形状是一条双股性连续的染色体，突然在某个地方出现不着色的透明点，好象整个染色体分成两段。中期极面观染色体排列图像形似车轮辐条状，故此期通过特殊制片方法可观察染色体的个体性。

4.后期染色体的着丝粒分裂，两个染色单体互相排斥分开，并由纺锤丝的曳引逐渐移向两极。

5.末期以分开的两组染色体到达细胞的两极为末期的开始，然后染色体重新聚集起来平行排列，染色体解螺旋化；核仁、核膜再现，形成两个新的子核。细胞质随着核的形成不均等分裂最终形成两个新的细胞。

五、观察方法

将制片先放在低倍镜视野下，寻找典型的各时期的分裂相细胞，然后转换于高倍镜下仔细观察染色体的形态并描绘下来。

六、作业

- 1.绘出你所看到的细胞有丝分裂各个时期的典型图象，并简要说明各时期染色体的行为和变化。
- 2.在高倍镜下观察统计 5 个视野内的分裂相细胞填入下表：

视 野	间期	前期	中期	后期	末期	合计
1						
2						
3						
4						
5						
合 计						
百分比%						

观察中所见何种分裂相细胞最少？为什么？

实验二 植物细胞减数分裂的观察

一、实验目的

通过对植物花粉母细胞减数分裂制片的观察、熟悉细胞减数分裂的全过程以及各个分裂时期染色体的特征，掌握减数分裂的遗传学意义。

二、实验材料

蚕豆(*Vicia faba*)、玉米(*Zen mays*)、大麦(*Hordeum sativum*)、豌豆(*Pisumsativum*)等花粉母细胞减数分裂永久制片。

三、实验用具

普通生物显微镜、实验报告纸、铅笔、橡皮等。

四、实验说明

高等生物的繁殖及遗传信息上下代之间的传递则通过减数分裂和受精过程得以实现。减数分裂(又称成熟分裂)是一种特殊的有丝分裂。它包括两次细胞分裂，在第一次分裂中，复制的姊妹染色单体并不分离，而同源染色体之间则分离，随机进入不同的细胞，形成二分体。因此染色体数目由 $2n$ 变成 n 。第二次分裂时，单分的二分体细胞再进行一次分裂，姊妹染色单体彼此分离分别进入不同的子细胞，结果形成四个单倍体(n)的子细胞，即四分体。而成熟的雌雄配子结合，使后代的染色体数目恢复到 $2n$ ，从而保证上下代之间染色体数目的恒定及遗传物质的相对稳定。减数第一次分裂前期，同源染色体非姊妹染色单体的交换和后期 I 非同源染色体随机组合进入二分体子细胞中，这对生物的多样性具有重要意义。

减数分裂的过程被人为地划分为减数第一次分裂和减数第二次分裂。对于大多数植物，在两次分裂之间存在一个短暂的中间期。每一次分裂又可分为前、中、后、末若干时期。详见教材，现简要介绍镜检时各个时期的主要特征。

减数分裂 I

前期 I 这个时期经历最长，变化也较复杂，故根据染色体的变化又细分为五个时期。

细线期(leptotene)，染色体在核中以细长的丝状出现，彼此互相缠绕盘旋，紧靠核仁一侧，细线上出现着色较深大小不等的染色粒，明显可见圆形的核仁，此时有核膜，染色体已复制为两，但这两点在一般光学显微镜下均难看到。

偶线期(zygotene)，与细线期相比这时染色体要粗些，染色也深些，这时来自父母双方的各同源染色体均两两配对(pairing)或称联会(synapsis)。染色体配对后，形成二价联会复合体，看上去是一个整体。染色体仍互相缠绕在一起。

粗线期(pachytene), 染色体纵向继续收缩, 横向加粗, 与偶线期相比染色体要粗短得多, 扭曲缠绕要放松些, 但仍互相缠绕, 故染色体此时计数较困难, 此时每对同源染色体有四条染色单体, 称为四合体(tetrad)。此时同源非姊妹染色单体间生发生交换, 但交换的形态特征在一般光学显微镜下均难见到。

双线期(diplotene)此时染色体进一步浓缩变短, 非同源染色体彼此分开, 并且扩散于细胞核中。两条同源染色体开始相互排斥。但是彼此交换的地方仍连在一起, 形成明显的交叉结(chiasmata)及交叉染色体图形, 有的呈“8”字形, 有的呈“X”形等。染色体清晰可见, 可进行计数。

终变期(diakinesis)染色体更加浓缩粗短, 分布在细胞中, 同时交叉点向染色体两端移动, 即出现端化现象(terminalization)呈“O”, 核仁、核膜逐渐消失, 至中期完全消失, 染色体向赤道面靠拢, 这时染色体计数比双线期更方便。

中期 I 染色体浓缩达到最大限度, 成点状集结于中央赤道面处, 两极纺锤丝出现, 并与染色体着丝点相连形成纺锤体, 良好制片可见细胞质中有似曳引状纺锤体, 中期极面观进行染色体计数最理想。

后期 I 同源染色体分离, 分别向细胞两极移动, 染色体减半就发生在此时, 但每条染色体的两条染色单体仍连在一起。

末期 I 两组染色体到达两极, 又互相粘结, 然后慢慢解螺旋化, 核仁、核膜重新出现, 在中央赤道面形成膜体, 进而形成两个子细胞。

中间期: 此期持续时间非常短, DNA 不复制, 而且染色体不完全解螺旋化。

减数分裂 II

前期 II 染色体又逐渐分散缩短, 而其两条姐妹染色单体彼此排斥, 由一着丝粒相连清晰可见, 核仁、核膜逐渐消失。

中期 II 每个染色体整齐排列于二分体的赤道面上。

后期 II 每个染色体的着丝粒纵裂, 姊妹染色体分别移向细胞两极。

末期 II 染色体到达两极, 聚集。然后解螺旋化, 新的核仁、核膜出现, 每个细胞的细胞质又一分为二, 最终形成四个子细胞, 即四分体。

五、观察方法

先将制片置低倍镜下, 首先区别花粉母细胞、二分体、四分体、花粉粒、花粉囊残渣等。一般花粉母细胞为圆形或椭圆形(压片所致)的大型细胞、细胞质呈均匀致密状态, 对醋酸洋红一类染剂稍为着色, 其中有一个着色鲜红的圆形细胞核。至于其它细胞或残余物, 除形状不同外, 体积要明显小于花粉母细胞(相差约近十倍)。二分体细胞为肾形(或半圆形), 大小约为花粉

母细胞的一半，并且两个子细胞靠在一起不分开。四分体在单子叶植物中呈等双二面排列，犹如一个饼，互相垂直切了两刀一样。双子叶植物四分体则呈等四面体排列，为三个在下面一个在上面的立体构形。四分体的大小仅为花粉母细胞的四分之一还不到。未充实的花粉粒多呈不规则形状，发育完善的花粉粒一般为圆形，并有明显的发芽孔可见。找到正在分裂的花粉母细胞后，置于高倍镜下仔细观察，鉴别各分裂时期。

六、作业

1. 绘出你所看到的减数分裂各分裂时期的典型图象，并简单说明其特征。
2. 观察 50 个以上花粉母细胞，完成下表并说明何种分裂相最多？

分裂时期	观察细胞数	占总观察数的 (%)
未 分 裂		
细 线 期		
偶 线 期		
粗 线 期		
双 线 期		
终 变 期		
中 期 I		
后 期 I		
末 期 I		
前 期 II		
中 期 II		
后 期 II		
末 期 II		

实验三 临时涂抹压碎制片法

一、实验目的

学习植物细胞减数分裂制片方法。

二、实验材料

大麦(*Hordeum sativum*)幼穗、玉米(*Zea mays*)幼嫩雄花序和蚕豆(*Vicia faba*)花蕾等。

三、实验用具、药品

普通生物显微镜、载玻片、盖玻片、解剖针、镊子、小酒杯、醋酸洋红、石碳酸品红、卡尔诺氏固定液、45%醋酸、酒精灯、石蜡等。

四、实验说明

临时涂抹压碎制片法是观察植物细胞减数分裂最简单最有效的方法。是细胞学和细胞遗传学研究最基本技能之一。也是育种实践中鉴定染色体的基本方法。它不仅以经济简便而优于其他方法，并且由于他能在显微镜视野内完整无遗的展现细胞的全部染色体，而胜于其他方法。

减数分裂都发生在性细胞形成过程中。观察减数分裂无论植物或者动物均以雄性为方便。植物是取正在成熟过程中的幼嫩雄蕊的花药。其内部的花粉母细胞应处于减数分裂过程中。玉米选择正在孕穗的植株，手摸植株中上稍微膨大部分有柔软之感，即表示内部正在孕穗。小麦、水稻、大麦、元麦可取剑叶环与下一叶叶环相平或为负值时的幼穗。各种作物的具体外部形态指标，因每年的气温、水肥等条件而变化，需要先加以观察才能得出具体指标。固定材料取样的时间一般可在上午 9-11 时，夏熟作物可略为推迟 1-2 小时。

临时涂抹压制切片法是观察植物细胞减数分裂最简单、最有效的方法。

五、实验步骤

1. 固定根据有关作物的取样标准和时间剥取或采取幼嫩之花序或花蕾投入卡尔诺氏固定液中，固定液用量约为固定材料的 10 倍左右，一般固定 2-24 小时即可取出用 95%酒精、85%酒精、70%酒精依次洗涤，最后置 70%酒精中保存备用，如置冰箱内冷藏可供数年应用不坏，材料亦可不经固定，直接制片。
2. 制片根据染色方法不同在具体操作上可有两种方法。

(1) 非整体染色制片法 用镊子或解剖针取出花药数枚，置洁净载玻片上，先以圆玻璃棒头或解剖针沾少许醋酸洋红等染色剂，连续挤压或轻击花药壁，使花粉母细胞游离出来然后用镊子夹去囊壁残渣，再加染色液一小滴，以刚好溢满盖玻片范围为度，(如加得过多，则花粉母细胞会随多余之染色液被吸水纸一起吸去)。加盖玻片静置 4-5 分钟或者随即把载玻片放在酒精灯的火焰上缓缓来回微热，让其充分着色，最后用吸水纸复盖于盖玻片上，以大拇指稍压，吸去多余的染色液，这样的片子就可以置于显微镜下镜检。

(2) 整体染色制片法材料从 70%酒精中取出用洁净滤纸吸去酒精，置于载玻片上，滴一滴 45%醋酸或醋酸洋红液，用解剖针和镊子分离花瓣(颖片)取出花药，收集多量花药后将其移入盛有醋酸洋红的小酒杯中染色，当花粉囊被染成深红或紫红色时即可以取出，然后按(1)法涂片。依上述方法制片后并镜检，如需保持几天，则可用烧热之解剖针挑取少量石蜡(或矿烛屑)沿盖玻片四周将其封固起来，如作永久制片，操作步骤参见实验四。

实验四 玉米一对性状的遗传分析

一、实验目的

通过玉米一对相对性状的杂交试验，观察和分析杂种后代的性状表现，加深分离规律的理解。

二、实验材料

玉米(*Zea mays*)籽粒胚乳非糯性(Wx)和糯性(wx)杂交 F1 代的花粉，玉米籽粒淀粉层黄色和白色杂交 F1 自交果穗，或玉米籽粒糊粉层紫色和无色杂交 F1 自交果穗。

三、实验用具、药品

普通生物显微镜、1%I-KI 溶液，载玻片，盖玻片，镊子，算盘等。

四、实验说明

玉米籽粒胚乳非糯性和糯性由一对等位基因(Wx 和 wx)控制，且非糯(Wx)对糯(wx)为显性，由非糯和糯亲本杂交的 F1 植株能形成 Wx 和 wx 两类配子，由于带有 Wx 和 wx 基因的花粉对 I-KI 液有不同的颜色反应，可通过测定得出 1:1 之比。同样，玉米籽粒淀粉黄色(Y)和白色(y)，糊粉层紫色(现假设为 A)和无色(a)也是由一对等位基因所控制，且黄色(Y)对白色(y)、紫色(A)对无色(a)为完全显性，所以从 F1 自交果穗可得出 3:1。

为了检验实际值与理论值是否相符，还必须对观察资料进行统计分析，一般用 χ^2 (卡平方)检验进行，计算公式如下：

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

式中 O 表示实际观察值，E 为理论值， Σ 为积加符号，由于按此式计算的 χ^2 值有偏大的趋势，需作适当的矫正才能反映 χ^2 的理论分布，帮需用以下公式来进行矫正。

$$\chi_c^2 = \sum \frac{(|O - E| - \frac{1}{2})^2}{E}$$

实际计算时可不经计算理论值，而直接从观察值计算，如 3:1 的检验，可由下式计算：

$$\chi^2_c = \frac{(|A - 3a| - 2)^2}{3n}$$

式中 A 和 a 分别表示显性组织和隐性组实际观察值， $n = A + a$ ，1: 1 的检验则由下式计算：

$$\chi^2_c = \frac{(|A - a| - 1)^2}{n}$$

求得 χ^2 和 χ^2_c 后，根据自由度 $n-1$ (即分离类型数减 1) 查 χ^2 值表，求得这种 χ^2 的概率(P)，如 P 大于 0.05，则表明观察值与理论值相符，如 P 小于 0.05 则表明观察值与理论值有差异显著，而表现不符合理论比例。

五、实验步骤

1. 取糯性与非糯性杂交 F1 花粉，用 1% I-KI 溶液染色，低倍显微镜下观察，计数蓝黑色(非糯)和红褐色(糯性)花粉粒数目。

2. 取黄色与白色或紫色与无色杂交 F1 自交果穗一个，目测统计黄粒和白粒或紫粒和无色粒的数目(一个果穗统计完，可交换统计第二个)。

六、作业

将上述各性状统计数据全班汇总填入下表，每人进行 χ^2 测验或仅检验自己的结果是否符合。

项目 \ 表现值													
观察值 O													
理论值 E													
偏差平方(O-E) ²													
$\chi^2 = \sum (O-E)^2/E$													

附表 χ^2

自 由 度	概 率 值 (P)											
	0.995	0.99	0.975	0.95	0.900	0.750	0.500	0.250	0.100	0.05	0.025	0.01
1					0.02	0.10	0.45	1.32	2.71	3.84	5.02	6.63
2	0.01	0.02	0.05	0.10	0.21	0.58	1.39	2.77	4.61	5.99	7.83	9.21
3	0.07	0.11	0.22	0.35	0.58	1.21	2.37	4.11	6.25	7.81	9.35	11.34
4	0.21	0.30	0.48	0.71	1.06	1.92	3.36	5.39	7.78	9.49	11.14	13.28
5	0.41	0.35	0.83	1.15	1.61	2.67	4.35	6.63	9.24	11.07	12.83	15.09

实验五 玉米两对性状的遗传分析

一、实验目的

通过玉米两对相对性状的杂交，观察和分析杂种后代的性状表现及分离比例，加深理解独立分配规律。

二、实验材料

玉米(*zea mays*)籽粒胚乳非甜、黄色与胚乳甜、白色杂交的 F1 自交果穗，或糊粉层紫色、非甜与白色、甜杂交的 F1 自交果穗。

三、实验说明

玉米籽粒胚乳非甜性和甜性，黄色和白色的两对相对性状，分别由位于两对非同源染色体上的基因所控制。已知甜粒性状是由隐性基因(su)控制，位于第六染色体上，而决定色泽的基因(C)位于第九染色体上，因此当这些纯合亲本杂交产生的 F1 植株，在形成配子时自由组合，F2 则出现 9:3:3:1 的分离比例。

统计出实际观察值，也需要进行 χ^2 测验，检验是否与理论比例相符，如同一对相对性状结果的检验一样，可用以下公式：

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

式中 O 表示实际观察值，E 为理论值， Σ 为积加符号，求得 χ^2 值后，查 χ^2 值表，求得这种 χ^2 值的概率(P)，如 P 大于 0.05，则表明观察结果与理论值相符，如小于 0.05，则表明观察结果与理论值不相符。

四、实验步骤

取一个白色、甜粒 $\times$ 黄色、非甜粒 F1 自交果穗分别观察统计黄色、非甜粒，黄色、甜粒，白色、非甜粒和白色、甜粒的数目，如取紫色、非甜 $\times$ 白色、甜杂交的 F1 自交果穗则统计紫色、非甜粒、紫色、甜粒，白色、非甜粒，白色、甜粒数目。

五、作业

将上述资料汇总列于下表，进行 χ^2 测验，得出结论。

项目	表现值
观察值 O	
理论值 E	
偏差平方(O-E) ²	
$\chi^2 = \Sigma (O-E)^2/E$	

实验六 玉米性状的连锁和交换

一、实验目的

通过观察玉米籽粒性状间连锁材料的测交和自交后代，验证连锁遗传规律。

二、实验材料

玉米(*Zea mays*)籽粒有色，饱满与籽粒无色、凹陷的纯合品系杂交，F1 自交或与无色、凹陷测交的果穗。

三、实验说明

位于同一染色体上的基因，在形成配子时随整个染色体移动，故表现为基因间的连锁，两对基因连锁时，杂种 F2 代分离比例明显与独立分配不同，表现为亲本性状的个体数明显大于理论数，而重组型的个体数也明显小于理论数，可见重组的产生并非同源染色体自由组合的结果，而是同源染色体的基因产生交换而重组的结果。玉米籽粒有色、饱满是位于第 9 染色体的基因 C、Sh 控制的(控制紫色的基因有若干个，此处取其中之一基因)，相应的无色、凹陷是第 9 染色体上的隐性基因 c、sh 控制的，将此两个纯合品系杂交(正交或反交)，F1 再与纯合隐性亲本测交。因测交基因全部都是隐性的，故测交后代所反映的全为被测个体的配子类型，这样，通过测交结果可直接求出交换值，试验过程可图示如下：

P 有色、饱满 × 无色、凹陷
 CCShSh ↓ ccshsh
F1 有色、饱满 × 无色、凹陷
 CcShsh ccshsh
F2 有色、饱满 有色、凹陷 无色、饱满 无色、凹陷
 C_Sh_ C_shsh cc_Sh_ ccshsh

如果是自交，则按自交后代计算交换值的方法估计 c—sh 间的距离。

四、实验步骤

取测交果穗观察，分别统计有色饱满、有色凹陷、无色饱满、无色凹陷的籽粒数。统计数目越大，就越能代表这两对基因之间的真实图距。

五、作业

将上述统计资料填入下表，并计算 c 与 sh 之间的距。

表现型	基因型	观察值	总数	交换值(%)

实验七 植物染色体组型分析

一、实验目的

学习植物染色体组型分析的基本方法和技能。

二、实验材料

蚕豆、黑麦、玉米等植物有丝分裂永久制片或其中期染色体图象的放大照片。

三、实验工具

普通生物显微镜、接目测微尺、接物测微尺、显微摄影全套设备、镊子、毫米尺、细铜丝等。

四、实验说明

染色体组型分析是细胞遗传学研究的基本方法，是研究物种演化、分类以及染色体结构、型态与功能之间的关系所不可缺少的重要手段。染色体组是指二倍体生物配子中所含的染色体总称，常以“X”表示。同一物种的同一染色体组内各染色体的形态、结构和连锁群是彼此不同的，但它们却相互协调，共同决定生物性状的发育。

研究染色体组型的方法，一是靠有丝分裂时染色体的形态特征，另一是靠减数分裂时染色体的形态和特征。本实验着重介绍有丝分裂的染色体组型分析。细胞有丝分裂中期是识别染色体个性特征的最佳时期，而染色体组型分析就是进行染色体特征的鉴别和描述，其形态的鉴别主要依据染色体的长度、着丝粒位置、付缢痕的有无和位置、随体的有无、形状和大小等资料进行分析。现分别介绍如下：

1.染色体长度，同一染色体组内各染色体的长度是不一致的，其绝对长度可在显微镜上测量，或用放大照片测量后换算。由于染色体制片过程中使用的药剂及方法不同，另外供观察的细胞分裂不可能保证同一时期，故染色体的收缩有差异而导致绝对长度在同一物种或个体不同细胞间发生差异，针对这种情况，在分析中常用染色体的相对长度来表示。

在染色体长度测量中，对染色体的两条臂要分别测量，一般随体不计入染色体度内。

2.着丝粒的位置：每条染色体都有一着丝粒，其位置可因不同染色体而异。由于着丝粒把染色体分为两个染色体臂：长臂和短臂，它们的比率（即臂比）便可确定着丝粒的位置。臂率为1.0-1.7，称中部着丝粒染色体(m)，臂率为1.71-3.0，称近中部着丝粒染色体(sm)，臂率为3.01-7.0，称近端部着丝粒染色体(st)，臂率超过7.0称端部着丝粒染色体(t)。

3.副缢痕的有无和位置：有些染色体上除着丝粒，还另有一不着色或缢缩变细的区域称副缢痕。

4.随体的有无、形状和大小：有些染色体在短臂的末端有一棒状小体称为随体，随体染色体臂之间常以付缢痕相隔，具随体的染色体称 SAT 染色体。

五、实验步骤

1. 制片方法基本同实验四永久制片法，不同处是要进行前处理，即在固定前将离体根尖用物理或化学方法处理，使染色体收缩正常，分散良好，缢痕清晰，中期细胞分裂图象增多，常用的方法有下列几种：

(1) 低温法将离体根尖置于 0℃-4℃左右的蒸馏水中 24-48 小时。

(2) 药剂法将离体根尖置于 0.05%-0.1%秋水仙碱溶液或 $0.002\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ 8-羟基喹啉中，室温下保存 2-3 小时。前处理后的材料经固定、解离、染色等过程制成临时片或永久片。

2. 观察制片，选择理想的中期分裂相细胞进行显微摄影，冲洗放大照片，并求出照片放大倍数。

3. 用细铜丝随染色体自然弯曲而延伸的方法测量放大照片上各染色体长、短臂的长度，根据放大倍数可求出单一染色体的绝对长度。并计算各染色体的相对长度和臂率，所获数据填入染色体组型分析表。

4. 根据染色体的四项形态指标，将每条染色体从照片上剪下，进行同源染色体的配对和分类。根据各染色体的不同长度，由长至短将各对同源染色体粘贴在纸上，短臂向上，长臂向下，着丝粒的位置在同一直线上，具随体染色体排在最后。

5. 翻拍，剪贴排好的染色体组型图，可进行翻拍。

6. 绘制染色体组型模式图。

7. 进行综合描述（略）。

六、作业

完成以下大麦染色体组型分析表，并剪贴一张染色体组型图，绘制染色体组型模式图。单位： μm ，%

编号	绝对长度	相对长度	短臂长度	长臂长度	臂率	随体长度	类型	备注
I								
II								
III								
IV								
V								
VI								
VII								
总长								

*实验步骤的2-6 均可由数码显微系统完成。

实验八 染色体数目的变异和染色体结构变异

一、实验目的

观察和鉴别植物染色体数目各种变异在有丝分裂和减数分裂过程中的细胞学特征及染色体结构变异在减数分裂过程中的细胞学特征。

二、实验原理

1.植物染色体数目一般均为二倍体(2n)，其染色体数目变异分为两类 ①凡按整套的染色体基数(X)为变化，称为整倍体变异，如一倍体(X)，二倍体(2X)，三倍体(3X)，四倍体(4X)等，对于三倍体的整倍体叫多倍体[按其来源分，可分为同源多倍体和异源多倍体]。

②凡正常的二倍体的染色体(2n)减少可增加一个或几个染色体的，称为非整倍体变异，如单体($2n-1=(n-1)II+I$)，双单体($2n-1-1=(n-2)II+2I$)，缺体($2n-2=(n-1)II$)，三体($2n+1=(n-1)II+III$)，双三体($2n+1+1=(n-1)II+2III$)，四体($2n+2=(n-1)II+IV$)等，其中染色体数少于2n者，称为亚倍体；其中染色体数多于2n者，称为超倍体。

2.植物染色体结构变异：缺失、重复、倒位、易位。对于缺失杂合体及重复杂合体，及倒位杂合体来说均可在偶线期联会后，在粗线期可观察到环状结构：缺失环、重复环、倒位环、这三者之间有本质区别，前两者的仅由一条染色体构成，而后者由2条染色体构成，而且臂内倒位杂合体在分裂后期出现染色体桥；易位杂合体可见到十字形联会，或在其终变期出现四体环或四体链等特殊的细胞学特征。

总之，染色体结构变异其发生过程一般是同源染色体或非同源染色体之间在断裂后重接时发生差错的结果，在减数分裂过程中，染色体结构变异的杂合体常表现出不正常的细胞学行为，从而导致特殊的细胞学特征。

3.染色体结构变异的结果，一般可导致花粉粒的半不育或部分不育，胚珠的育性降低，产生性状改变，严重的可造成个体死亡。通过对染色体的观察，同时结合植株育性的异常表现，可以鉴定和鉴别染色体结构变异的类型。

染色体数目变异导致有丝分裂和减数分裂过程中出现一些不正常的细胞学行为，进一步影响雌雄配子的正常发育和受精，对其后代个体也将产生不同的遗传效应。因此对于染色体数目变异的植株，除根据形态变异进行间接鉴别外，最可靠方法，就是通过根尖细胞或花粉母细胞染色体制片观察，根据染色体的行为直接鉴别染色体数目的变异类型。

三、实验材料

- 1.有丝分裂、减数分裂幻灯片(玉米、蚕豆等)
- 2.染色体数目变异及结构变异幻灯片(玉米、蚕豆等)

四、实验步骤

观看幻灯片后，了解各种染色体数目变异及结构变异的细胞学特征。

实验九 数量性状的遗传分析

一、实验目的

学习统计分析数量性状遗传分析的几种基本方法，通过估算其遗传率和杂种优势表现的程度，进一步了解数量性状遗传的特点。

二、实验原理

生物界遗传性状的变异有连续的和连续的两种。表现不连续的变异，称为质量性状。质量性状在杂种后代的分离群体中，对于各个体所具相对性的差异，可以采用经典遗传学的分析方法，通过对群体中各个体分组并求不同组间的比例，研究它们的遗传动态。表现连续变异的性状，称为数量性状。数量性状是生物界广泛存在的重要性状，例如，人的身高、牲畜的体重、植株的生育期、果实的大小，以及种子产量的多少等。这类性状在自然群体或杂种后代群体内，很难对不同个体的性状进行明确的分组，不能采用质量性状的分析方法，通过对表现型变异的分析推断群体的遗传变异，借助于数理统计的分析方法，可以有效地分析数量性状的遗传规律。

数量性状受多基因控制，且各基因间的关系复杂，因此进行数量性状遗传分析时，往往从一对基因的遗传模型及其基因效应分析着手。设一对基因(A,a)构成的三个基因型 AA,Aa, aa。d 为纯合型 AA、aa 的加性效应值，一正一负，平均为 0(即中亲值)。h 为杂合型 Aa 的显性效应值，是加性效应基础上偏离平均值的增量，其值可正可负也可等于 0，主要依显性作用的大小，方向而定。当无显性时，杂合型为加性效应 (h=0)，据此,可作出一对基因的模式如下。

aa c AA

以此一对基因的模式为基础，提出若干假定，推广到多对基因。多基因作用有二种：(1) 加性效应（多基因作用累加起来的）；(2) 非加性效应包括显性作用（等位基因间互作）及上位效应（非等位基因间的互作）。多基因的作用形式仍可表达如下：

纯合型(AA 和 aa),其加性效应值分别为 d 和 -d

加性效应等位基因间无显性 h=0) 部分显性(-d<h<d) 杂合型(Aa) 完全显性 h=d 或 h=-d)

非加性效应超显性(h>d 或 h<-d) 非等位基因间……上位性

在对数量性状进行遗传分析时，一般常用方差 (V) 来度量群体内的变异程度。

由于性状的发育不仅由基因型决定，同时也受到环境条件的影响，故群体表型方差 (V_p) 应为基因型方差 (V_g) 和环境方差 (V_e) 所组成。

假定基因型与环境之间没有相关和互作，则： $V_P=V_G+V_E$

因为基因型方差是由加性方差 (V_d)，显性方差 (V_h) 和非等位基因间的上位性方差(V_i) 所组成，故上式可进一步列为： $V_P=V_d+V_h+V_i+V_E$

根据 F₂、BC₁ (F₁×P₁)、BC₂ (F₁×P₂) 群体的方差组成分析为：

$$VF_2 = D + H + VE \quad (1)$$

$$VB_1 + VB_2 = D + H + 2VE \quad (2)$$

2×(1)-(2)得:

$$F_2 \text{ 的基因加性方差为: } V_d = D = 2VF_2 - (VBC_1 + VBC_2)$$

式中 $D = \sum d^2$ 是各基因加性效应方差的总和; $H = \sum h^2$ 是各基因显性偏差方差的总和。

根据上述群体方差的组成分析,要统计分析数量性状遗传试验的数据,并按公式分别估算遗传率、杂种优势、优势指数、势能比值、平均显性度及控制所测性状的最少基因对数。

三、实验材料

水稻不同穗长品种间杂交组合的亲本 P1 与 P2, F1, F2 回交子代 B1 和 (F1×P1) 和 B2 (F1×P2) 的试验考种资料(数据附后)(水稻穗长这性状是由多基因控制数量性状。分析数量性状的遗传点常常通过考查基因的显性程度,控制该数量性状的最小基因数以及遗传率等指标来描述。

四、实验用具

电子计算器

五、实验步骤

分析数量性状遗传重点常常通过考查基因的显性程度、控制该数量性状的最小基因数以及遗传率等指标来描述。

1.基本参数的计算

(1) 计算各世代的平均数 ($\bar{x}$)、方差 (V) 及标准差 (S)

$$S = \sum X / N \quad (1)$$

$$V = \sum (S - X)^2 / (N-1) = (\sum X^2 - (\sum X)^2) / (N-1) \quad (2)$$

$$= (\sum fx^2 - (\sum fx)^2 / N) / (N-1)$$

或 S 为平均数, N 为总个体数, $\sum (X - S)^2$ 为各个小区个体值与该小区平均数之差的平方和, f 指分组的各组次数)

(2) 计算环境方差 (VE)

F2 的环境方差一般可根据不同情况采用下列估算

$$VE = 1/3 (VP_1 + VP_2 + VF_1) \quad (\text{水稻自花授粉作物})$$

$$= 1/2 (VP_1 + VP_2) \quad (\text{适用于无 } F_1 \text{ 的数据})$$

$$= VF_1 \quad (\text{适用于异花授粉作物})$$

2.遗传率的估算

遗传率是指一个群体内某数量性状由于遗传原因引起的变异在表现型变异中所占的比值。广义遗传率 (h^2_B) 指基因型方差占表现型方差的比值; 狭义遗传率 (h^2_N) 指加性方差表现型方差的比值。

$$\textcircled{1} \text{ 广义遗传率 } (h^2_B) = VG/VP \times 100\% = (VF_2 - VE) / VF_2 \times 100\% \\ = [VF_2 - (VP_1 + VP_2 + VF_1)] / VF_2 \times 100\%$$

$$\textcircled{2} \text{ 狭义遗传率 } (h^2_N) = VD/VP \times 100\% = [2VF_2 - (VB_1 + VB_2)] / VF_2 \times 100\%$$

3. 杂种优势和显性程度的估算

杂种优势是指杂种一代 (F_1) 在产量、生活力、生长势、抗逆性及适应性等方面优于双亲的现象, 一般用杂种优势率 (RH), 即平均优势、超亲优势、或杂种优势指数 (IH) 进行度量, 并可用势能比值和平均显性程度表示杂种一代与亲本数量性状之间的相互关系。

(1) 优势率(RH) F_1 平均值同双亲的平均值比较, 用百分比表示。

$$\text{平均优势} = 1/2 \cdot (P_1 + P_2) \times 100\%$$

超亲优势: F_1 平均值同较好的一个亲本(HP)平均值比较, 用百分比表示。

$$\text{超亲优势} = (F_1 - HP) / HP \times 100\%$$

(2) 优势指数 (IH) F_1 平均值与双亲平均值之比为优势指数, 用下式估算:

$$F_1 IH = 1/2 (P_1 + P_2)$$

(3) 势能比值: 在多基因系统下, 假定①基因均朝同一方向 (d 或 $-d$) 分布, 且作用相等; ②所有 h 增量均有同等符号, 且效应相等, 而且双亲均为纯合体, 具有 k 对基因, 则中亲值离 F_1 的差数为:

$$F_1 - 1/2 (P_1 + P_2) = \sum h \text{ (显性效应总和)}$$

$$\text{两亲本的差数平均为: } 1/2 (P_1 - P_2) = \sum d \text{ (加性效应)}$$

由于上述两个假定不能证实, 所以一般将 F_1 离中亲值的差数与其两亲本差数平均的比值, 称为势能比例比值, 用下式估算:

$$F_1 - 1/2 (P_1 + P_2)$$

$$\text{势能比值 } (Hp) = 1/2 (P_1 - P_2) = \sum h / \sum d \text{ ⑨}$$

实际应用上, 令 $hp = \pm 0.05$ 无显性

$$hp = \pm 0.06 - \pm 0.95$$

$$hp = \pm 0.96 - \pm 1.05$$

$hp > +1.05$ 时或 < -1.05 时正向(或负向)超亲优势

4. 资料分析

三人为一组, 统计计算所给资料各世代的穗长平均数, 表现型方差, 环境方差, 利用公式①②③将所求得有关各值

- a. 代入④⑤式分别求出广义遗传率、狭义遗传率
- b. 代入⑥⑦⑧⑨式中分别求出平均优势、超亲优势、势能比值
- c. 代入⑩求平均显性度
- d. 代入⑪求控制水稻果穗长度的这一性状的最少基因对数。

六、实验作业

根据实验统计分析结果写成报告，说明水稻穗长这一性状的遗传特点及各世代的表型特点。