

DB1402

大同市地方标准

DB1402/T9—2023

黄花菜幼叶组培再生系统技术规程

地方标准信息服务平台

2023-8-21 发布

2023-11-21 实施

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 试验材料	1
4.1 材料	1
4.2 试剂	1
4.3 仪器设备	2
5 操作流程	2
5.1 外植体的处理	2
5.2 培养基配置	2
5.3 灭菌	2
5.4 接种	2
5.5 转接	2
5.6 生根培养	2
6 生产档案	2

地方标准信息服务平台

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由大同市农业农村局提出、组织实施和监督检查。

本文件由大同市农业标准化技术委员会（DTS/TC 01）归口。

本文件起草单位：山西农业大学高寒区作物研究所。

本文件主要起草人：李小玉、邢宝龙、沈日敏、卢瑶、岳新丽、王慧、马涛、孟璐、张知、王力、冯婧。

地方标准信息服务平台

黄花菜幼叶组培再生系统技术规程

1 范围

本文件规定了黄花菜幼叶组培再生系统的术语和定义、试验材料、操作流程及生产档案。
本文件适用于黄花菜幼叶组培再生系统生产。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

- LY/T 1882-2010 林木组织培养育苗技术规程
- NY/T 1606-2008 马铃薯种薯生产技术操作规程
- NY/T 2306-2013 花卉种苗组培快繁技术规程

3 术语和定义

LY/T 1882-2010、NY/T 2306-2013等界定的以及下列术语和定义适用于本文件。为便于使用，以下重复列出了LY/T 1882-2010、NY/T 2306-2013中的某些术语和定义。

3.1

黄花菜

黄花菜 (*Hemerocallis citrina* Bar.) 学名萱草，又名金针菜，属阿福花科萱草属宿根草本植物。

3.2

植物组织培养

在无菌条件下，将离体的植物器官、组织、细胞以及原生质体，在人工培养基和人工控制的环境中，使其再生新植株的过程和技术。

[来源：LY/T 1882-2010，3.2]

3.3

幼叶培养

以植物叶片为外植体，通过植物组织培养的方式获得完整植株的一种生物技术。

[来源：NY/T 2306-2013，3.4]

4 试验材料

4.1 材料

应以黄花菜幼叶为外植体。

4.2 试剂

MS、1/2MS 培养基（不含琼脂和糖）、生长素类的 2,4-二氯苯氧乙酸（2,4-D）、萘乙酸（NAA）、吲哚乙酸（IAA）、吲哚丁酸（IBA）、细胞分裂素类 6-苄氨基腺嘌呤（6-BA）、3%蔗糖、粉末琼脂（5

g/L)、氢氧化钠(NaOH)。

4.3 仪器设备

万分之一分析电子天平、立式压力蒸汽灭菌锅、移液枪、精度0.1 g的天平、超净工作台。

5 操作流程

5.1 外植体的处理

5.1.1 外植体剥离

将刚发芽的黄花菜幼苗剪去老根，根冠表皮切除，剥离叶片直至露出黄绿色嫩叶，用洗洁精清洗，纱布包裹在流水下冲洗12 h。经上述处理后，将幼叶放进超净工作台，待用。

5.1.2 幼叶的消毒

在超净工作台上，先用75%的酒精对幼叶处理30 s；再用0.1%的升汞溶液对幼叶灭菌8 min，无菌水浸洗5次，每次1 min~2 min；消毒后用滤纸将幼叶表面的水分吸干，然后放到培养基上进行诱导愈伤培养。

5.2 培养基配置

以MS(诱导培养和继代培养)作基本培养基附加不同激素组合：

a) 诱导幼叶愈伤组织最适培养基：MS+2,4-D(2.0mg/L)+6-BA(0.1 mg/L)；

b) 幼叶愈伤组织分化培养基：MS+6-BA(2.0mg/L)+IBA(0.5 mg/L)；

c) 生根培养基：MS+NAA(0.5mg/L)。

5.3 灭菌

将分装好的培养基放入灭菌锅内消毒。消毒过程应按灭菌锅的使用技术规程操作，灭菌气压采用0.1 MPa，温度采用121℃，消毒时间20 min。

5.4 接种

在超净工作台中完成接种，接种于诱导幼叶愈伤组织中，叶片需背面朝上放置。每瓶接种4个幼叶外植体，接种后置于培养室内暗培养7 d~10 d，培养温度为22℃~26℃，光照强度为2000 lx~2500 lx。

5.5 转接

诱导培养25 d~30 d后，转接到幼叶愈伤组织分化培养基中进行培养。

5.6 生根培养

愈伤组织分化培养25 d~30 d后，转接到生根培养基，长成完整植株可移栽。

6 生产档案

应建立生产档案，内容包括：外植体的处理、培养基配制、灭菌、接种、转接及生根培育。

地方标准信息服务平台