

T/SAASS

团 体 标 准

T/SAASS 282—2025

秋水仙素诱导大蒜四倍体技术规程

Technical code of practice for tetraploid induced by colchicine in garlic

2025 - 11 - 28 发布

2025 - 11 - 28 实施

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。

本文件由山东省农业科学院提出。

本文件由山东农学会归口。

本文件起草单位：山东省农业科学院。

本文件主要起草人：孔素萍、刘泽洲、段乃彬、王清华、岳丽昕、高莉敏。

全国团体标准信息平台

秋水仙素诱导大蒜四倍体技术规程

1 范围

本文件规定了诱导大蒜四倍体茎尖材料准备、秋水仙素处理大蒜茎尖、秋水仙素处理后茎尖成苗、生根培养、倍性鉴定、炼苗与移栽等秋水仙素诱导大蒜四倍体的基本要求。

本文件适用于秋水仙素处理大蒜茎尖创制四倍体新种质。

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。

GB/T 31190 实验室废弃化学品收集技术规范

NY/T 2118 蔬菜育苗基质

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 诱导大蒜四倍体茎尖材料准备

4.1 培养基配制

基本培养基宜选用B5培养基，其中蔗糖含量为30 g/L，琼脂粉为6 g/L，并添加6-苄氨基嘌呤(6-BA) 1.0 mg/L~1.5 mg/L、萘乙酸(NAA) 0.3 mg/L~0.6 mg/L，调节pH至5.8~6.0。配制完成后分装于培养瓶中，经121℃高压灭菌18 min~20 min。

4.2 鳞芽选择

大蒜鳞茎经自然晾干并完成休眠破除后，选取健壮鳞芽。

4.3 鳞芽消毒

将健康的大蒜鳞芽去皮后，用自来水冲洗0.5 h~1 h。在无菌条件下，将鳞芽依次使用75%乙醇消毒1 min、0.1%次氯酸钠溶液消毒3 min，最后以无菌水冲洗3次。

4.4 茎尖剥离

在无菌条件下，于解剖镜下从消毒鳞芽中剥离出直径约0.2 mm、带1个~3个叶原基的茎尖作为外植体，接种于制备好的培养基中，接种完盖上封口膜或瓶盖。

4.5 培养条件

将接种后的茎尖置于培养室内培养，培养条件为：温度 $23.0^{\circ}\text{C} \pm 2.0^{\circ}\text{C}$ 、光照强度 $25 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ~ $31 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、光周期12 h/d~16 h/d。

5 秋水仙素处理大蒜茎尖

5.1 秋水仙素溶液配制

秋水仙素试剂纯度应不低于98%，配制浓度为0.5%~0.6%的溶液。配制完成后应装入棕色瓶，并于4℃条件下保存。

5.2 诱变处理方法

配制的秋水仙素溶液过滤灭菌后，无菌的条件下取0.5 ml左右滴在刚刚萌动的大蒜茎尖上，处理72 h~120 h，待处理结束后，将茎尖用无菌水冲洗2次~3次后，随后转接至无秋水仙素的培养基上继续培养。

5.3 秋水仙素安全操作

秋水仙素配制时应佩戴手套和口罩，避免接触皮肤和眼睛，若沾到立即用大量自来水冲洗。秋水仙素废液处理按照GB/T 31190的要求执行。

6 秋水仙素处理后茎尖成苗

将茎尖转接至未添加秋水仙素的培养基中，在4.5规定的培养条件下培养15 d~20 d，茎尖开始萌芽并成苗。

7 生根培养

7.1 培养基配制

生根培养基以B5为基本培养基，含蔗糖30 g/L、琼脂粉6 g/L，并添加6-苄氨基嘌呤（6-BA）0.01 mg/L~0.03 mg/L、萘乙酸（NAA）0.1 mg/L~0.5 mg/L，pH调至5.8~6.0。配制完成后分装于培养瓶中，经121℃高压灭菌18 min~20 min。

7.2 培养条件

试管苗生长至4 cm~5 cm时，转接至生根培养基中进行培养，转接完盖上封口膜或瓶盖，培养条件按4.5执行。

8 倍性鉴定

可采用染色体计数法进行倍性鉴定，待试管苗生根后，取其根尖进行染色体制片，于显微镜下观察、拍照，并统计染色体数目。也可取叶片采用流式细胞仪鉴定倍性。

9 炼苗与移栽

当试管苗根系生长到2 cm~3 cm时，将培养瓶封口膜破孔或瓶盖掀开缝隙，2 d~3 d后完全去除封口膜或打开瓶盖，再培养2 d~3 d后即可移栽。移栽时，将幼苗栽植于盛装育苗基质的穴盘中，每株单独编号，并于温室内继续培养。所用育苗基质应符合NY/T 2118的要求。