ICS

点击此处添加中国标准文献分类号

DB

内 蒙 自 治 区 地 方 标 准

DB 15/ XXXXX—XXXX

蓖麻组织培养技术规程

Technical code of practice for tissue culture of Ricinus communis

点击此处添加与国际标准一致性程度的标识

（征求意见稿）

XXXX－XX－XX 发布　　XXXX－XX－XX 实施

内蒙古自治区市场监督管理局　　发 布

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。

本文件由内蒙古自治区农牧厅提出。

本文件由内蒙古自治区农业标准化技术委员会（SAM/TC 20）归口。

本文件起草单位：通辽市农牧科学研究所、内蒙古民族大学。

本文件主要起草人：韩雯毓、黄凤兰、何智彪、贾娟霞、李国瑞、乔文杰、莫德乐吐、罗蕊、刘鹏、曹文强、曲毅鹏、周祎、邓志兰、王丹、刘涵淼、贾兴田、张超。

蓖麻组织培养技术规程

1 范围

本文件规定了蓖麻组织培养的术语和定义，培养基的配制、组织培养、炼苗与移栽等基本内容及技术要求。

本文件适用于蓖麻组织培养育苗。

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。

DB15/T 1940 西部沙樱组织培养技术规程

3 术语和定义

3.1 蓖麻

蓖麻（*Ricinus communis*），大戟科蓖麻属一年或多年生草本植物。

4 环境及器具消毒灭菌

参照DB15/T 1940执行。

5 培养基

5.1 基本培养基

以1/8MS为基本培养基（培养基见附录A）。

5.2 母液和激素配制

5.2.1 配置

择将常用试剂配制成50～100 倍的母液，按照GB/T 603规定方法配制。所用激素均配制浓度为1 mg/mL。

5.2.2 保存

母液配制好分别贴上标签，注明溶液名称、配制倍数、配制日期、配制者。母液贮存在4 ℃的冰箱中。贮藏时间在3个月之内，有霉菌和沉淀产生，则不得使用。

5.3 基本培养基配制

5.3.1 配置

以配置1 L培养基为例，先加蒸馏水700 ml，30 g蔗糖，搅拌溶解后再分别加入母液，充分搅拌，加蒸馏水定容至1 L。

5.3.2 pH值调节

充分搅拌后，用0.1 mol/L的HCl或0.1 mol/L的NaOH将基本培养基pH值调节至5.8。

5.3.3 分装与灭菌

使用240 mL规格的培养瓶定量分装后，封好瓶口。进行高温高压灭菌，蒸气压力102.9 kPa(1.05 kg/cm^2) ，温度121 ℃，时间20 min。冷却后备用。

5.3.4 贮存

标明培养基编号、种类、配制日期，在4℃无菌条件下贮藏备用，贮存时间不应超过1个月。

6 组织培养

6.1 接种

6.1.1 接种培养基的配制

在700 ml自来水中加入30 g蔗糖与5.7 g琼脂，自来水定容至1 L。

6.1.2 接种培养基的分装与灭菌

搅拌均匀后分装到100 ml的三角瓶中，每瓶分装至50 ml，封好瓶口后高温高压灭菌，蒸气压力102.9 kPa(1.05 kg/cm^2) ，温度121 ℃，时间20 min。冷却后备用。

6.1.3 材料选择与无菌播种

选择饱满的种子去壳后放入无菌的大烧杯中，在超净工作台中进行灭菌处理。先用75 %的酒精浸泡45 s，然后用升汞消毒4 min30 s，最后用无菌水洗4 次以上。将处理后的蓖麻种子接种到播种培养基上。置入温度为25 ℃培养室内诱导种子萌发，培养10 d左右开始萌发。

6.2 外植体制备

当子叶未从胚乳中抽出前，胚根和胚轴总长约为3～5 cm时，切取子叶节并一分为二，置于1/8MS培养基上进行预培养，作为组织培养的外植体。

6.3 诱导及分化

6.3.1 子叶节不定芽诱导培养基

子叶节不定芽诱导培养基为1/8MS + ZT 8.0 mg/L+30 g/L蔗糖+7.5 g/L琼脂粉，灭菌前调pH值5.7。

6.3.2 子叶节芽诱导

从预培养1 周的胚上剥离的子叶垂直接种（切面插入培养基中）在不定芽诱导培养基上进行芽诱导培养，先进行7 d的黑暗培养，然后转入正常光照（光照时间16 h/d）条件培养。

6.4 生根培养

6.4.1 子叶节生根培养基

子叶节生根培养基为1/8MS + NAA 1.0 mg/L+30 g/L蔗糖+7.5 g/L琼脂粉，灭菌前调pH值5.7。

6.4.2 子叶节生根培养

将已再生健壮的不定芽转移到生根培养基上诱导根的再生，进行生根培养。

7 炼苗移栽

根芽发育良好的小植株打开三角瓶，在培养室内炼苗3 d～5 d后，取出植株，小心洗净根部培养基，移栽到蛭石、草炭土和田园土（1:1:1）的混合基质中培养。培养室温度25±1 ℃、光照强度约2000 Lx，光照时间16 h/d。

附　录　A
（规范性）
MS 培养基成分表

表 A. MS 培养基成分表

成分		含量（mg/L）
大量元素	硝酸钾（KNO_3）	1900
	硝酸铵（NH_4PO_4）	1650
	磷酸二氢钾(KH_2PO_4)	170
	硫酸镁($MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370
	氯化钙（$CaCl_2 \cdot 2H_2O$)	440
微量元素	碘化钾(KI)	0.83
	硼酸(H_3BO_3)	6.2
	硫酸锰($MnSO_4 \cdot 4H_2O$)	22.3
	硫酸锌($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$)	8.6
	钼酸钠（$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$)	0.25
	硫酸铜($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)	0.025
	氯化钴($CoCl_2 \cdot 6H_2O$)	0.025
铁盐	乙二胺四乙酸二钠(Na_2-EDTA)	37.25
	硫酸亚铁($FeSO_4 \cdot 7H_2O$)	27.85
有机	肌醇	100
	甘氨酸	2
	盐酸硫胺素(VB_1)	0.1
	牙酸吡哆醇(VB_6)	0.5
	烟酸(VB_5)	0.5