|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 65.020.20 |
| CCS | |  | | --- | | D:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T.pngD:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T后面的反斜杠.png GXAS |   B 47 |

团体标准

T/GXAS XXXX—XXXX

桑树幼叶染色体制片技术规程

Technical code of practice for chromosome preparation of mulberry young leaves

（本草案完成时间：）

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

广西标准化协会  发布

1. 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。

本文件由广西壮族自治区蚕业技术推广站提出并宣贯。

本文件起草单位：广西壮族自治区蚕业技术推广站、广西平果县惠民蚕业科技有限责任公司、靖西市农业农村局。

本文件主要起草人：陆晓媚、邱长玉、林强、黄胜、刘丹、莫荣利、赵潇、朱光书、曾燕蓉、韩翼飞、张朝华、于永霞、何国玲、廖健村、冉艳萍。

桑树幼叶染色体制片技术规程

* 1. 范围

本文件界定了桑树幼叶染色体制片所涉及的术语和定义，规定了桑树幼叶染色体玻片标本制备的仪器、试剂配制和制备方法。

本文件适用于桑树幼叶染色体玻片标本的制备。

* 1. 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

二叶一芯 two leaves and one core

桑枝顶端的嫩芽、未完全展开的两片嫩叶及未木质化的嫩茎。

有丝分裂中期 mitotic metaphase

每条染色体的着丝点排列在细胞中央的赤道板上，染色体高度螺旋化，缩短变粗，形态稳定且数目清晰。

* 1. 仪器

4.1 冰箱。

4.2 电子分析天平：精度0.001g。

4.3 光学显微镜。

* 1. 试剂配制
     1. 酸解去壁固定液

浓盐酸：45%冰醋酸：纯乙醇=2:1:1（体积比）。

* + 1. 改良苯酚品红溶液

A液：将150mg碱性品红溶解在5mL 70%酒精里，此液可长期保存；

B液：5mL A液加入到45mL 5%苯酚水溶液中；

C液：取45mL B液，加入6mL冰醋酸和6mL 37%福尔马林，即为苯酚品红染色液；

D液：取C液10mL，加入90mL冰醋酸和1g山梨醇，即为改良苯酚品红染色液，可长期保存，配制两周后使用效果更佳。

* 1. 玻片标本制备
     1. 材料选择与保存

在广西3月～10月宜摘取桑树二叶一芯，放于自封袋中，编号后放于冰箱中冷藏保存，并在2d内使用。

* + 1. 解离与固定

用尖头镊子分离出嫩芽的幼叶和茎尖，放于酸解去壁固定液中浸泡5min～15min，直至幼叶变褐色且软烂。酸解去壁固定液可反复使用，直至溶液变成浅绿色。

* + 1. 后低渗

取出，放于蒸馏水中，冲洗2次～3次，最后一次浸泡10min。

* + 1. 染色

夹出，放于滤纸上吸去水分，夹取少量材料置于载玻片上，加1滴改良苯酚品红溶液，用尖头镊子将材料夹成糊状，并将残渣夹出丢弃。

* + 1. 压片

盖上盖玻片，覆盖滤纸，用拇指按压盖玻片，滤纸吸去多余改良苯酚品红溶液，手握铅笔，用铅笔带橡皮的一端均匀用力垂直敲打盖玻片，制成临时玻片。

* + 1. 镜检

光学显微镜低倍镜下观察玻片，找到染色体处于有丝分裂中期的细胞，高倍镜下观察染色体的形态与数目。

