

# 牧草种质资源数据质量控制规范

## 1 范围

本规范规定了牧草种质资源数据采集过程中质量控制内容和方法。

本规范适用于牧草种质资源的整理、整合和共享。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本规范的引用而成为本规范的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本规范，但是，鼓励根据本规范达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本规范。

ISO 3166 Codes for the Representation of Names of Countries

GB/T 2659 世界各国和地区名称代码

GB/T 2260 中华人民共和国行政区划代码

GB/T 12404 单位隶属关系代码

GB 3543 农作物种子检验规程

ISTA 国际种子检验规程

GB/T 2930.1~2930.11-2001 牧草种子检验规程

GB 4407 经济作物种子

GB 7415 主要农作物种子贮藏

## 3 数据质量控制的基本方法

### 3.1 形态特征和生物学特性观测试验设计

#### 3.1.1 试验地点

试验地点的环境条件应能够满足牧草的正常生长及其性状的正常表达。

#### 3.1.2 田间设计

确定播期主要取决于气温、土壤墒情、牧草生物学特性及其利用目的，以及田间杂草发生规律和为害程度等因素。在干旱或半干旱地区，多年生牧草以夏季

(6月)播种为宜,其他地区,按当地生产习惯适期播种。

试验小区为 $10\text{m}^2$ ( $2\text{m}\times 5\text{m}$ ),随机区组排列,条播,根据不同的牧草类型采用适宜行距,3次重复。试验地周围应设保护行或保护区。

### 3.1.3 田间管理

试验地土质应具有当地代表性,肥力均匀,要远离污染、无人畜侵扰。采用相同水肥管理,及时防治病虫害和防除杂草,保证幼苗和植株的正常生长。

## 3.2 数据采集

形态特征和生物学特性观测试验原始数据的采集应在种质正常生长情况下获得。如遇自然灾害等因素严重影响植株正常生长,应重新进行观测试验和数据采集。

## 3.3 试验数据统计分析和校验

每份种质的形态特征和生物学特性观测数据依据对照品种进行校验。根据2年度以上的观测校验值,计算每份种质性状的平均值、变异系数和标准差,并进行方差分析,判断试验结果的稳定性和可靠性。取校验值的平均值作为该种质的性状值。

# 4 基本信息

## 4.1 全国统一编号

全国统一编号由“CF”加6位顺序号组成的8位字符串,如“CF000888”。其中“CF”代表China Forage,后6位数字代表具体牧草种质的编号。全国统一编号具有惟一性。

## 4.2 种质库编号

种质库编号是由“I7B”加5位顺序号组成的8位字符串,如“I7B00216”。其中“I7B”代表国家农作物种质资源长期库中的牧草种质,后五位为顺序号,从“00001”到“99999”,代表具体牧草种质的编号。只有已进入国家农作物种质资源长期库保存的种质才有种质库编号。每份种质具有惟一的种质库编号。

## 4.3 种质圃编号

种质在国家多年生和无性繁殖圃中的编号。牧草圃编号为8位字符串,如

“GPMC0152”，前4位“GPMC”为国家牧草圃代号，后4位为顺序号，代表具体牧草种质的编号。每份种质具有惟一的圃编号。

#### 4.4 引种号

引种号是由年份加4位顺序号组成的8位字符串，如“19990026”，前4位表示种质从境外引进年份，后4位为顺序号。每份引进种质具有惟一的引种号。

#### 4.5 采集号

牧草种质在野外采集时赋予的编号，一般由年份加2位省份代码加顺序号组成。

#### 4.6 种质名称

种质名称系指每份牧草种质资源的中文名称，如果有两个以上名称，可以放在英文括号内，用英文逗号分隔，如“种质名称1(种质名称2,种质名称3)；国外引进种质如果没有中文译名，可以直接填写种质的外文名。

#### 4.7 种质外文名

国外引进种质的外文名和国内种质的汉语拼音名。每个汉字的汉语拼音之间空一格，每个汉字汉语拼音的首字母大写，如“Yang Cao”。国外引进种质的外文名应注意大小写和空格。

#### 4.8 科名

种质资源在植物分类学上的科名。由拉丁名加英文括号内的中文名组成，如“Leguminosae(豆科)”。如没有中文名，直接填写拉丁名。

#### 4.9 属名

种质资源在植物分类学上的属名。由拉丁名加英文括号内的中文名组成，如“Medicago(苜蓿属)”。如没有中文名，直接填写拉丁名。

#### 4.10 学名

牧草种质在植物分类学上的种(Species)的学名(Latin name 或 Scientific name)。由拉丁名加英文括号内的中文名组成，如“Medicago falcate L.(黄花苜蓿)”。如没有中文名，直接填写拉丁名。

#### 4.11 原产国

牧草种质资源原产国家名称、地区名称或国际组织名称。国家和地区名称参照 ISO 3166 和 GB/T 2659，如该国已不存在，应在原国家名称前加“原”，如

“原苏联”。国际组织名称用该组织的外文名缩写，如“IPGRI”。

#### 4.12 原产省

牧草种质资源原产省份，省份名称参照 GB/T 2260。国外引进种质原产省用原产国家一级行政区的名称。

#### 4.13 原产地

牧草种质资源的原产县（县级市、区）、乡（镇）、村名称。县（县级市）名参照 GB/T 2260。

#### 4.14 海拔

牧草种质资源原产地具体生长地点的海拔高度。单位为 m。

#### 4.15 经度

牧草种质资源原产地的经度，单位为度和分，格式为 DDDFF，其中 DDD 为度，FF 为分。东经为正值，西经为负值，例如，“12125”代表东经 121 °25’，“-10209”代表西经 102 °9’。

#### 4.16 纬度

牧草种质资源原产地的纬度，单位为度和分，格式为 DDFF，其中 DD 为度，FF 为分。北纬为正值，南纬为负值，例如，“3208”代表北纬 32 °8’，“-2542”代表南纬 25 °42’。

#### 4.17 来源地

国内牧草种质资源的来源省和县名称，国外引进种质的来源国家、地区名称或国际组织名称。国家、地区和国际组织名称同 4.11，省和县名称参照 GB /T 2260。

#### 4.18 保存单位

牧草种质资源提交国家作物种质资源长期保存库（圃）保存前的单位名称。单位名称应写全称，例如“中国农业科学院草原研究所”。

#### 4.19 保存单位编号

牧草种质在原保存单位中的种质编号。保存单位编号在同一保存单位应具有惟一性。

#### 4.20 系谱

牧草选育品种（系）的亲缘关系。

#### 4.21 选育单位

选育牧草品种（系）的单位名称或个人。单位名称应写全称，例如“中国农业科学院草原研究所”。

#### 4.22 育成年份

牧草品种（系）培育成功的年份。例如“1980”、“2002”等。

#### 4.23 选育方法

牧草品种（系）的育种方法。例如“系选”、“杂交”、“辐射”等。

#### 4.24 种质类型

牧草种质资源的类型，分为：

- 1 野生资源
- 2 地方品种
- 3 育成品种
- 4 品系
- 5 遗传材料
- 6 其他

#### 4.25 图像

牧草种质的图像文件名，图像格式为.jpg。图像文件名由统一编号加半连号“-”加序号加“.jpg”组成。如有多个图像文件，图像文件名用英文分号分隔，如“CF000289-1.jpg; CF000289-2.jpg”。图像对象主要包括植株、花、果实、特异性状等。图像要清晰，对象要突出。

#### 4.26 观测地点

牧草种质形态特征和生物学特性的观测地点，记录到省和县名，如“内蒙古商都县”。

## 5 形态特征和生物学特性

### 5.1 根系类型

在植株的开花期，以整个试验小区的植株为观测对象，随机选择 3 个植株的根系，观测其根系类型，根据模式图及下列说明确定根系类型。

- 1 直根系（主根明显粗长，垂直向下生长，各级侧根小于主根，斜

伸向四周的根系)

- 2 须根系(主根不发达,由茎基部生出许多较长,粗细相似的不定根,呈须毛状的根系)

## 5.2 茎

在植株的开花期,以整个试验小区的植株为观测对象,采用目测法观察茎的类型。参照模式图及下列说明确定地上茎的类型。

- 1 直立茎(垂直于地面)
- 2 斜生茎(最初偏斜,后变直立)
- 3 斜倚茎(基部斜倚地上)
- 4 平卧茎(平卧地上)
- 5 匍匐茎(平卧地上,但节上生不定根)
- 6 攀缘茎(用小根、叶柄或卷须等其他特有的变态器官攀缘他物上升的茎)
- 7 缠绕茎(缠绕他物上升的茎)

## 5.3 地下茎

在植株的开花期,以整个试验小区的植株为观测对象,随机选择3个植株,观测其地下茎,根据模式图及下列说明确定地下茎类型。

- 1 根状茎(匍匐生长于土壤中,多少变态的地下茎。有明显的节和节间,叶退化为膜质鳞片状,顶芽和腋芽明显并可发育成地上枝,节上产生不定根)
- 2 块茎(指短缩肥大的地下茎。顶端有顶芽,侧部有螺旋状排列的芽眼,幼时可见退化的膜质叶)
- 3 球茎(肥大、短而扁圆的地下茎。顶端有粗壮的顶芽,有明显的节和节间,节上有干膜质的鳞片叶和腋芽,下部有多数不定根)
- 4 鳞茎(由多数肉质鳞叶包被短缩茎而成的球状地下茎。常外被膜质鳞片叶、肉质鳞叶贮有丰富的营养物质,鳞茎盘下部生有多数不定根)

## 5.4 叶的类型

在植株的开花期,以整个试验小区的植株为观测对象,采用目测法观察叶的



类型。参照模式图及下列说明确定叶的类型。

- 1 单叶(在一个叶柄上只生一个叶片)
- 2 单数羽状复叶(多个小叶排列于总叶柄两侧呈羽毛状。总叶柄顶端着生一个小叶，小叶的数目为单数者)
- 3 双数羽状复叶(多个小叶排列于总叶柄两侧呈羽毛状。总叶柄顶端着生两片小叶，小叶的数目为双数者)
- 4 掌状复叶(数个小叶集生于总叶柄的顶端，展开如掌状)
- 5 三出复叶(仅有三个小叶集生于总叶柄的顶端的复叶)

### 5.5 叶序

在植株的开花期，以整个试验小区的植株为观测对象，采用目测法观察叶在茎或枝上排列的方式。参照模式图及下列说明确定叶序。

- 1 互生(每节上只着生一片叶，叶交互出现在相邻的节上)
- 2 对生(每节上相对着生二叶片)
- 3 轮生(每节上着生三片或三片以上的叶)
- 4 簇生(一片或二片以上的叶，着生在极度缩短的侧生短枝上，呈丛簇状)

### 5.6 脉序

在植株的开花期，以整个试验小区的植株为观测对象，采用目测法观察叶片叶脉分枝的方式。参照模式图及下列说明确定脉序。

- 1 羽状脉(指叶具一条明显的主脉，两侧生羽状排列的侧脉)
- 2 掌状脉(指几条较粗的，由叶片基部射出的叶脉)
- 3 掌状三出脉(具三条自叶基发出的主脉)
- 4 离基三出脉(三条主脉稍离叶基发出)
- 5 平行脉(多数大小相似的显著的叶脉呈平行排列，由基部至顶端或由中脉至边缘，没有明显的分枝，但最后一次分枝的细脉梢是汇合在一起的)
- 6 弧形脉(叶片较阔短，叶脉自叶基发出汇合于叶尖，但中部脉间距离较远)

### 5.7 叶片形状

在植株的开花期，以整个试验小区的植株为观测对象，采用目测法观察叶片形状。参照模式图及下列说明确定叶形。

- 1 针形(十分细长而先端尖，形如针)
- 2 条形(短而狭，长约为宽的5倍以上，且全部叶片近等宽)
- 3 剑形(长而稍宽，先端尖，常稍厚而强壮，形似剑)
- 4 钻形(长而细狭，自基部至顶端渐变细尖，叶常革质)
- 5 鳞形(状如鳞片)
- 6 披针形(长均为宽的3~4倍，中部以下最宽，向上渐尖)
- 7 矩圆形(长约为宽的2~3倍，两边近平行，两端均圆)
- 8 椭圆形(长约为宽的3~4倍，中部最宽，两端均圆)
- 9 卵形(长约为宽的2倍或更少，中部以下最宽，向上渐狭)
- 10 圆形(形如圆盘，长宽近相等)
- 11 心形(长宽比例如卵形，但基部宽圆而微凹，先端渐尖)
- 12 菱形(呈等边的斜方形)
- 13 匙形(全形狭长，上端宽而圆，向基部渐狭)
- 14 扇形(顶端宽而圆，向基部渐狭)
- 15 肾形(横径较长，宽较大于长，基部有缺口凹入)
- 16 镰形(多少弯曲呈镰状)
- 17 三角形(基部宽呈平截状，三边近等长)
- 18 管形(长超宽许多倍，圆管状、中空、常多汁)
- 19 带形(宽阔而特别长的条状叶)

## 5.8 叶尖

在植株的开花期，以整个试验小区的植株为观测对象，采用目测法观察中部完整叶片的叶尖形状。参照模式图及下列说明确定叶尖形状。

- 1 急尖(叶端尖头成一锐角，而有直边)
- 2 渐尖(叶端尖头稍延长，渐尖而有内弯的边)
- 3 钝形(叶端钝或狭圆形)
- 4 尖凹(叶端微凹入)
- 5 微凹(叶端有一稍显著的缺刻)



- 6 倒心形（叶端凹入，形成倒心形）
- 7 硬尖（叶端有一利尖头）
- 8 凸尖（叶端中脉延伸于外而成一短锐角）
- 9 芒尖（凸尖延长，成一多少呈芒状的附属物）
- 10 尾状（叶端渐狭长成长尾状附属物）
- 11 圆形（叶端宽而半圆形）
- 12 截形（叶端平截，而多少呈一直线）

### 5.9 叶基

在植株的开花盛期，以试验小区的植株为观测对象，采用目测法观察中部完整叶片的叶基，参照模式图及下列说明确定叶基形状。

- 1 心形（叶基圆形而中央微凹成一缺口，两侧各有一圆裂片，呈心形）
- 2 耳形（叶基两侧小裂片呈耳垂状）
- 3 箭形（叶基两侧小裂片尖锐，向下，形似箭头）
- 4 戟形（叶基两侧小裂片向外，呈戟形）
- 5 楔形（叶片中部以下向基部两边均逐渐变狭，形如楔子）
- 6 渐狭（叶片向基逐渐变狭，形态与叶尖的渐尖相似）
- 7 截形（叶基平截，而多少成一直线）
- 8 偏斜（叶基部两侧不对称）
- 9 抱茎（叶基部抱茎）
- 10 穿茎（叶基部深凹入，两侧裂片相合生，而包围茎，茎贯穿叶片中）
- 11 下延（叶基向下延长，而着生在茎上成翅状）
- 12 圆形（叶基呈半圆形）

### 5.10 叶缘

在植株的开花盛期，以试验小区的植株为观测对象，采用目测法观察中部完整叶片的叶缘，参照模式图及下列说明确定叶缘形状。

- 1 全缘（叶缘成一连续的平线，不具任何齿缺）
- 2 锯齿状（叶缘有尖锐的锯齿，齿尖向前）

- 3 细锯齿缘（锯齿较细小）
- 4 重锯齿缘（大锯齿上复生小锯齿）
- 5 牙齿状（叶缘齿尖锐，两侧近等边，齿直而尖向外）
- 6 钝齿状（叶缘具钝头的齿）
- 7 波状缘（叶缘边缘起伏如波浪状）
- 8 深波状缘（叶缘边缘起伏大）
- 9 睫毛状（叶缘有稀疏的长毛）

### 5.11 叶裂

在植株的开花盛期，以试验小区的植株为观测对象，采用目测法观察中部完整叶片的叶缘，参照模式图及下列说明确定裂叶形状。

- 1 羽状浅裂（叶片分裂深度距离为叶缘至中脉的 1/3 左右）
- 2 羽状半裂（叶片分裂深度为由叶缘至主脉的 1/2 左右）
- 3 羽状全裂（叶片的裂片彼此完全分裂，很象复叶，但各裂片叶肉相互连贯，没有形成小叶柄）
- 4 掌状半裂（叶片分裂深度为由叶缘至主脉的 1/2 左右，形似掌状）
- 5 倒向羽裂（指裂片弯向叶基的羽状裂叶）
- 6 大头羽裂（指顶端裂片远较侧裂大而宽）

### 5.12 花序类型

在植株的开花期，以整个试验小区的植株为观测对象，采用目测法观察花序。参照模式图及下列说明确定花序类型。

- 1 总状花序（花序轴不分枝而较长，花多数有近等长的梗，随开花而花序轴不断伸长）
- 2 穗状花序（与总状花序相似，但花无梗或极短）
- 3 葇荑花序（与穗状花序相似，但一个花序全是单性花，常无花被，而苞片明显，开花或结果后，整个花序脱落）
- 4 肉穗花序（与穗状花序相似，但花序轴肥厚而肉质，为一佛焰苞所包围）

- 5 圆锥花序(花序轴上形成总状分枝的花序梗, 花在花序梗上再组成总状花序)
- 6 伞房花序(与总状花序相似, 但花梗不等长, 下部的花梗长, 上部的花梗短, 使整个花序的花几乎排列成一平面)
- 7 伞形花序(花梗近等长, 花梗集生于花序轴的顶端, 状如伞)
- 8 头状花序(花无梗或近无梗, 多数花集生于一短而宽, 平坦或隆起的花序轴顶端上, 形成一头状体)
- 9 单歧聚伞花序(顶芽首先发育成花之后, 仅有一个侧芽发育成侧枝, 其长度超过主枝后, 顶芽又形成一朵花)
- 10 二歧聚伞花序(顶芽形成花后, 在花下面地一对侧芽同时萌发成两个侧枝, 每一侧枝顶端也只形成一朵花)
- 11 多歧聚伞花序(顶芽形成一朵花后, 其下数个侧芽发育成数个侧枝, 顶端每生一花, 花梗长短不一, 节间极短, 外形上类似伞形花序)
- 12 轮伞花序(聚伞花序着生在对生叶的叶腋, 花序轴及花梗极短, 呈轮状排列)
- 13 隐头花序(花序轴顶端膨大, 中央凹陷, 单性花着生在其中并完全被花序轴包被成囊状)

### 5.13 果实类型

在植株的结实期, 以整个试验小区的植株为观测对象, 采用目测法观察果实。参照模式图及下列说明确定果实类型。

- 1 聚合果(由单花的许多离生雌蕊形成的一簇或一组小型肉质果)
- 2 聚花果(由聚集在单个花轴上的几个分离花形成的果实)
- 3 蓇葖果(由单个心皮形成的沿一侧开裂的干果)
- 4 荚果(由单个心皮形成的通常沿两条缝开裂的干果)
- 5 长角果(果长大于二倍果宽, 两个心皮瓣片从宿存的胎座和隔膜处分开)
- 6 短角果(果长小于二倍果宽, 两个心皮瓣片从宿存的胎座和隔膜处分开)

- 7 蒴果(由两个或多个心皮形成的开裂干果)
- 8 瘦果(单室、单种子的不开裂小干果, 种子仅在一点与子房壁相连)
- 9 颖果(种皮和果皮愈合, 具一枚种子的不开裂干果)
- 10 翅果(具翅的不开裂的干果)
- 11 浆果(由单枚雌蕊发育成的肉质果实, 具有几个或多个种子)
- 12 双悬果(花托在心皮之间的细长延伸, 作为中轴)
- 13 小坚果(小的坚果, 某些植物成熟子房的裂瓣之一)
- 14 胞果(果皮薄, 含单个种子多少呈膀胱状膨胀的小的果实)

#### 5.14 分蘖(分枝)类型

在植株的开花期, 以整个试验小区的植株为观测对象, 随机选择 3 个植株, 观测其分蘖(分枝)方式, 根据下列说明确定其类型。

- 1 根茎型(地下分蘖节长出与主枝垂直的横走根茎)
- 2 根蘖型草类(地下具有横走的根, 其上具有不定芽, 萌发生长形成地上枝)
- 3 疏丛型(其分蘖节处于 1~5cm 的土层中, 侧枝与主枝成锐角方向发出, 发育完全的侧枝又形成新的侧枝, 形成不很紧密的株丛)
- 4 密丛型(分蘖节位于土壤表面或接近地面。节间很短, 嫩枝自分蘖节发生后, 彼此紧贴母枝, 平行向上生长, 形成紧密的小丘状株丛, 株丛中央是最老的部分)
- 5 根茎—疏丛型(由短根茎把许多疏丛型株丛连在一起, 形成稠密网状, 其分蘖节位于土表下 2~3cm 处)
- 6 匍匐型(由母株莲座状株丛的叶腋向各个方向生出匍匐茎, 横卧地面向前生长。匍匐茎的节向下产生不定根, 节部的腋芽向上产生枝)
- 7 鳞茎型(在土壤中 5~20cm 处形成鳞茎)
- 8 根颈丛生(具有较粗, 入土较深的主根, 常形成膨大的根颈, 从此处分枝丛生。每个分枝上常分生侧枝, 形成较发达的株丛)

- 9 无茎莲座状(其叶直接从根颈长出,形成莲座状的叶丛,植株不形成茎,花果着生在直接从根颈发出的花梗上)

### 5.15 叶层类型

在植株的开花期,以整个试验小区的植株为观测对象,随机选择3个植株,观测其茎叶发育状况,根据下列说明确定其类型。

- 1 上繁草(株高在50~100cm以上,株丛多由生殖枝和长营养枝组成,叶子和枝条多分布在株体1/3以上部位,株型呈倒锥形)
- 2 下繁草(株高不超过50cm,生殖枝和长营养枝不多,株丛组成以短营养枝为主,叶子和枝条多集中于株体下部,距地面7cm以内的茎叶重量占整个株丛重量的40%以上)
- 3 莲座状草(无茎生叶或茎生叶很少,株丛以根出叶形成叶簇状,植株低矮,产量较低)

### 5.16 染色体倍性

牧草细胞染色体镜检是鉴别牧草种质资源染色体倍性的主要方法,在染色体镜检中,多采用挤压制片法,样品选取,一般选择细胞分裂旺盛、组织幼嫩的部位,例如,根尖和胚根、幼叶、花粉囊等。

染色体制片(推荐采用植物根尖压片法)

将待牧草种子萌发后幼根长至1.0~1.5cm时,取下幼根放入0.002M8-羟基喹啉水溶液中预处理1~4h,再放入卡诺液中固定2~24h,然后放入1N盐酸中室温(18~20℃)下解离50~70min(60℃恒温下解离8min);幼根在4%的硫酸铁铵水溶液中媒染4h。然后在0.5%苏木色精水溶液中染色2h以上,再在45%乙酸中软化0.5~1h;在洁净的载玻片上切取根尖1mm左右,加1滴45%乙酸,加盖玻片,用解剖刀柄轻击盖玻片,使根尖细胞散开,用拇指挤压盖玻片、室温干燥,二甲苯中透明5min,晾干后用加拿大树胶封片。

注意:在前一步处理转入下一步处理之前,幼根一定要用清水反复冲洗,洗净多余药物,否则影响制片效果。

染色体镜检

在显微镜下直接观测染色体数目,一般以植物体细胞染色体数目为准。统计的细胞数目30个以上,其中要求85%以上的细胞具有恒定一致的染色体数目。



如果观察的植物为混倍体，则如实记录其染色体数目的变异范围和各类细胞的数目或百分比。

- 1 二倍体
- 2 四倍体
- 3 多倍体

#### 5.17 播种期

记录牧草播种日期，以“年月日”表示，格式为“YYYYMMDD”。

#### 5.18 出苗期

用目测法，鉴定的标准是播种小区内 50% 展开了子叶（真叶）的幼苗露出地面时为出苗期。如果观察小区面积大，对小区的 1/2 或 1/4 的地段进行观察，在这一发育阶段（时期）来到之前及其通过之时，每天进行观察。

#### 5.19 返青期

用目测法，鉴定的标准是播种小区内 50% 的植株返青时为返青期。如果观察小区面积大，对小区的 1/2 或 1/4 的地段进行观察，在这一发育阶段（时期）来到之前及其通过之时，每天进行观察。

#### 5.20 分蘖期

用目测法，鉴定的标准是，50% 的幼苗从其基部分蘖节产生侧芽，并形成新枝即为分蘖期。如果观察小区面积大，对小区的 1/2 或 1/4 的地段进行观察，在这一发育阶段（时期）来到之前及其通过之时，每天进行观察。

#### 5.21 分枝期

用目测法，鉴定的标准是 50% 的幼苗从其叶腋产生侧芽，并形成新枝即为分枝期。如果观察小区面积大，对小区的 1/2 或 1/4 的地段进行观察，在这一发育阶段（时期）来到之前及其通过之时，每天进行观察。

#### 5.22 拔节期

用目测法，鉴定的标准是以 50% 的植株第一个节露出地面 1~2cm 即为拔节期。如果观察小区面积大，对小区的 1/2 或 1/4 的地段进行观察，在这一发育阶段（时期）来到之前及其通过之时，每天进行观察。

#### 5.23 抽穗期

用目测法，鉴定的标准是 50% 的花序从顶部叶鞘伸出 1cm 时称抽穗期。如果



观察小区面积大，对小区的 1/2 或 1/4 的地段进行观察，在这一发育阶段（时期）来到之前及其通过之时，每天进行观察。

#### 5.24 现蕾期

用目测法，鉴定的标准是 50% 植株形成花蕾之时为现蕾期。如果观察小区面积大，对小区的 1/2 或 1/4 的地段进行观察，在这一发育阶段（时期）来到之前及其通过之时，每天进行观察。

#### 5.25 开花期

用目测法，鉴定的标准是禾本科牧草 50% 的植株开花，豆科及杂类草以 20% 的植株开花为初期，80% 的植株开花为盛花期。如果观察小区面积大，对小区的 1/2 或 1/4 的地段进行观察，在这一发育阶段（时期）来到之前及其通过之时，每天进行观察。

其他有关数据质量控制的说明

属于无限花序的牧草要记载开花持续期，从开始开花至大多数植株不再有花出现的时候。

#### 5.26 成熟期

用目测法，鉴定的标准是 50% 植株种子完全成熟之时为成熟期。禾本科牧草结实期又分为乳熟、蜡熟、完熟等 3 个时期，鉴定标准一般是以 50% 以上的籽粒内充满乳汁并接近正常大小叫乳熟期；80% 以上的种子内含物变干，呈蜡质状为蜡熟期；80% 的种子变坚硬，常开始脱落为完熟期。

#### 5.27 生育天数

从播种后开始记录从出苗期到成熟期的天数。单位为 d，精确到整数位。

#### 5.28 果后营养期

用目测法，鉴定的标准是 50% 植株在结实后，产生夏秋分蘖之时为果后营养期。如果观察小区面积大，对小区的 1/2 或 1/4 的地段进行观察，在这一发育阶段（时期）来到之前及其通过之时，每天进行观察。

#### 5.29 枯黄期

用目测法，鉴定的标准是 50% 植株茎叶枯黄或失去生活机能的时期，如果观察小区面积大，对小区的 1/2 或 1/4 的地段进行观察，在这一发育阶段（时期）来到之前及其通过之时，每天进行观察。

### 5.30 生长天数

记录牧草从返青期到枯黄期的天数。单位为 d，精确到整数位。

### 5.31 生活型

依据牧草寿命和发育速度不同和下列描述确定生活型。

- 1 一年生(这类牧草的生长期限只有一个生活周期，一般春季播种，夏秋季开花结实，随后枯死)
- 2 二年生(这类牧草生长年限为两年，播种当年仅进行营养生长，第二年返青后迅速生长，并开花结实，随后枯死)
- 3 多年生(这类牧草生长年限在两年以上，一般第二年就能开花结实，一次播种可多年利用，其显著特点是根量远高于一、二年生牧草，大多数牧草属于此类)

### 5.32 再生性

衡量标准一般是以再生速度、再生次数和再生草产量等 3 个指标来测定的。

- 1 良好(再生速度快，再生次数多，再生草产量高)
- 2 中等(在两者之间)
- 3 较差(再生速度慢，再生次数少，再生草产量低)

### 5.33 落粒性

在牧草成熟期目测种子从其植株上散落的情况，分 4 级。

- 1 不落粒(有外力或阳光暴晒时不落粒或不裂荚)
- 2 稍易落粒(有外力或阳光暴晒时少量种子落粒或裂荚)
- 3 落粒(有外力或阳光暴晒时多数种子落粒或裂荚)
- 4 极易落粒(稍有外力落粒或边熟边落粒或裂荚)

### 5.34 千粒重

在待测样品中进行随机取样，8 个重复，每个重复 100 粒种子，然后用感量为 0.0001g 的电子天平进行测定，单位为 g，小数的位数应符合 GB/T2930.2-2001 中表 1 的规定，将 8 个重复 100 粒的重量换算成 1000 粒种子的平均重量。

待测样品应为新鲜的风干种子；种子不应有去芒去皮处理；样品数量控制在小粒种子 150g、中粒种子 500g、大粒种子 5000g 以上。

### 5.35 草层高

采用随机取样法，在小区内选取具有代表性的地段 3~5 处，每处选 10 株，分别以随机取样的方法（忌带主观性）进行测高。禾本科自地面量至植株的最高部位；豆科自地面量至生长点，单位为 cm，精确到 0.1cm，在牧草的成熟期进行。

当随机取样法遇到小区边缘取样时，在边缘取样不能超过 3 株。

### 5.36 株高

采用随机取样法，在小区内选取具有代表性的地段 3~5 处，每处选 10 株，分别以随机取样的方法（忌带主观性）进行测高。禾本科自地面量至植株的最高部位；豆科自地面量至生长点，单位为 cm，精确到 0.1cm，在牧草的成熟期进行。

当随机取样法遇到小区边缘取样时，在边缘取样不能超过 3 株。

### 5.37 鲜草产量

在盛花期测定，测产小区应注意代表性，通常按随机排列法排列测产小区，测产小区面积通常 10m<sup>2</sup>。测产面积 1m<sup>2</sup>，采用样方法，重复 3 次，严防在边行及密度不正常的地段测产。为防止水分散失，边割边称重量。单位为 kg/hm<sup>2</sup>，精确到 0.1kg/hm<sup>2</sup>。

### 5.38 干草产量

在盛花期测定，测产小区应注意代表性，通常按随机排列法排列测产小区，测产小区面积通常 10m<sup>2</sup>。测产面积 1m<sup>2</sup>，采用样方法，重复 3 次，严防在边行及密度不正常的地段测产。将测产牧草（或测定完鲜草产量的牧草）分别装入布袋，待阴干后称其风干重。单位为 kg/hm<sup>2</sup>，精确到 0.1kg/hm<sup>2</sup>。

### 5.39 种子产量

在成熟期测定，测产小区应注意代表性，通常按随机排列法排列测产小区，测产小区面积通常 10m<sup>2</sup>。测产面积 1m<sup>2</sup>，采用样方法，重复 3 次，严防在边行及密度不正常的地段测产。单位为 kg/hm<sup>2</sup>，精确到 0.1kg/hm<sup>2</sup>。

### 5.40 茎叶比

采用随机取样法，在小区内选取具有代表性的地段 3~5 处，每处选 3 株，齐地面剪下，迅速分出茎 S<sub>g</sub>、叶 L<sub>g</sub> 各部，分别称其鲜重，单位 g，精确到 0.1g。

茎叶比=1: L<sub>g</sub>/S<sub>g</sub>

分离叶片时不带其叶鞘。

### 5.41 分枝数

采用随机取样法,在小区内选取具有代表性的地段3~5处,每处选5~8株,在枯黄期调查分枝数。

长根茎型豆科牧草如塔落岩黄芪,以及有疏松根蘖的牧草如野豌豆等等,其根茎、根蘖走向不定,不好确定每株的分蘖能力。测定时必须定株观测。单位为个,精确到整数位。

### 5.42 分蘖数

采用随机取样法,在小区内选取具有代表性的地段3~5处,每处选5~8株,在枯黄期调查分蘖数。单位为个,精确到整数位。

长根茎型禾草如羊草其根茎、根蘖走向不定,不好确定每株的分蘖能力。测定时必须定株观测。

## 6 品质特性

### 6.1 粗蛋白质含量

粗蛋白质含量以%表示,精确到0.01%。

试剂

① 45%氢氧化钠(NaOH)溶液:称NaOH 450g溶解于1000ml蒸馏水中即可。

② 2%硼酸(H<sub>3</sub>B<sub>3</sub>O<sub>3</sub>)溶液:称取H<sub>3</sub>B<sub>3</sub>O<sub>3</sub>20g溶解于1000ml蒸馏水中(可微微加热助溶)。

③ 甲基红-溴甲酚绿混合指示剂:称取溴甲酚绿0.5g、甲基红0.1g,溶解于100ml95%乙醇溶液中(分析纯),用0.1N的NaOH或0.1N的HCl调节其pH值为4.5,此时混合指示剂为淡紫红色。

④ 混合催化剂:将K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O=10:1混合后研细,通过80网眼的筛子,贮于瓶中备用。

⑤ H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:比重1.84(化学纯无氮)。

⑥ 0.05N的HCl标准溶液:准确取12N(比重1.19)的HCl4.3ml,用1000ml容量瓶加水稀释,定溶到1000ml,用硼砂或无水碳酸钠标定。

操作步骤

① 准确称取风干样0.5g,放入干燥的100ml凯氏烧瓶底部,加入混合催化

剂 1.5g，再加比重 1.84 的浓  $H_2SO_4$  10ml，摇匀。

② 消化：将上述装好样品的凯氏瓶放在毒气橱内的万用电炉上，打开开关，小火徐徐加热，此时释放出大量白色的烟雾，待烟雾过后，在凯氏烧瓶口上加入一小漏斗，并加大火力，使凯氏瓶中的酸液沸腾，此时  $H_2SO_4$  在瓶内回流量度以高达瓶颈的 1/3 为好。否则表示加热温度过高或过低。待瓶内消煮液呈淡蓝色澄清液后，将火力减少再继续消化 30min 即可。总起来大约需 3h 左右。

③ 定容：从电炉上取下消煮好的消化液稍冷后，用少量蒸馏水将消煮液小心全部转移到 100 ml 的容量瓶中。待容量瓶完全冷却后，加水至刻度线定容，摇匀备用。

④ 蒸馏：用移液管吸 10ml 消煮液，放入半微量定氮仪的蒸馏瓶内。另备 100ml 三角瓶，内加 2%的  $H_3BO_3$  吸收液 15ml，加 1 滴混合指示剂（用 0.1N 的 NaOH 或 0.1N 的 HCl 调节，此时吸收液 pH 为 4.5）。将此三角瓶置于半微量蒸馏仪冷凝管的下端，使管口淹没在  $H_3BO_3$  吸收液内，然后从蒸馏瓶上口的小漏斗处往蒸馏瓶内加 45%NaOH10ml，用蒸馏水冲洗三角漏斗，关闭蒸馏器瓶塞，在小漏斗内加少量蒸馏水，以免从蒸馏器漏气。此时即可通气进行蒸馏。在整个蒸馏过程中，应注意冷凝管中的冷却水流不要中断。待承接三角瓶中吸收液从淡紫红色变为蓝绿色时，计时 3min。之后，使三角瓶离开冷凝管下端，再继续蒸馏 1min，用蒸馏水冲洗承接管下端取下三角瓶即可。

⑤ 滴定：在半微量滴定管中加入 0.05N HCl 标准溶液，将吸收液由蓝绿色滴定变成淡粉红色为止。记下所用 HCl 的毫升数。

⑥ 按上述方法同时做一个空白。

计算公式

$$P = \frac{(V_1 - V_0) \times N \times 0.014 \times 6.25}{W \left( \frac{100 - r}{100} \right)} \times \frac{V_2}{V_3} \times 100$$

式中：P—粗蛋白质，%

$V_0$ —空白滴定用 HCl 毫升数，ml

$V_1$ —样品滴定用 HCl 毫升数，ml

$V_2$ —消化液定容的体积，100ml

$V_3$ —蒸馏时吸取消化液的体积，10ml



W—风干样品重

r—吸附水含量

0.014—氮的毫克当量数

6.25—氮换算成粗蛋白质的系数

$\frac{(100-r)}{100}$  —风干样换算成烘干样的系数

## 6.2 粗脂肪含量

粗脂肪含量以%表示，精确到 0.01%。

### 操作步骤

准确称取 2.0000g 风干样品，小心装入事先叠好的滤纸包内，包严密，编号。将此滤纸包放在 100~105℃烘箱内烘 3h，使之水分全部除掉。取出放入干燥器内，冷却。将此包放入浸提器的抽脂腔内，加入无水乙醚。一般用量为刚好泡过滤纸包，而不产生回流为准（这一步最好在晚上下班前做，使样品在乙醚中浸泡一夜，加快提取脂肪的速度）。第二天上班打开水浴锅电源开关和温度调节器，使水浴锅内的温度维持在 75~80℃，这时抽脂腔内的乙醚经虹吸管流入脂肪接收瓶内产生回流，大约需 8h，绝大多数样品的脂肪都能被浸提完毕，个别样品经检查没有浸提完全可再延长时间，取下脂肪接收瓶，用绸布将脂肪瓶外部擦干净，待乙醚挥发干净后，将脂肪瓶放入 100~105℃烘箱内，烘 1~2h，取出后放在干燥器内冷却至室温（约 30min），称重。再放入烘箱中烘 30min，取出冷却，称重。直至恒重为止（前后两次重量之差不超过 1mg）。

### 计算公式

$$F = \frac{W_2 - W_1}{W \left( \frac{100 - r}{100} \right)} \times 100$$

式中：F—粗脂肪，%

W—风干样品重

W<sub>1</sub>—脂肪瓶重

W<sub>2</sub>—脂肪瓶加粗脂肪重

r—吸附水含量

$\frac{100-r}{100}$  —为风干样重换算成烘干样系数



### 6.3 粗纤维含量

粗纤维含量以%表示，精确到 0.01%。

试剂

① 1.25%的  $H_2SO_4$  溶液：取化学纯比重为 1.84 的  $H_2SO_4$  7ml，溶于 1000ml 蒸馏水中。

② 1.25 的 NaOH 溶液：取化学纯 NaOH 12.5g 溶解于 1000ml 蒸馏水中。

③ 5%的 NaOH 溶液：取化学纯 NaOH 50g 溶于 1000ml 蒸馏水中。

④ 乙醚、96%乙醇、石蕊试纸。

⑤ 酸洗石棉，化学纯。

操作步骤

① 准确称取风干样 2.0000g，包成滤纸包，放在盛有乙醚的容器内进行脱脂。

② 将已脱脂的风干样放在 500ml 的烧杯中，加入预热的 1.25%  $H_2SO_4$  溶液 200ml，在杯口盖上表面皿，在液面处划一标记，置于电沙浴上加热，使之尽快在 1~3min 沸腾，从开始沸腾时计时，保持微沸 30min，不断用沸蒸馏水补充挥发的水分，使液面保持在标记处（不使  $H_2SO_4$  的浓度改变）。

③ 30min 后立即取下烧杯，用绢纺绸布蒙住小三角漏斗口，将此三角漏斗口向下插入酸解过的烧杯中，三角漏斗另一端连接抽气机，开动抽气机，将酸解过的酸液吸掉，再用沸蒸馏水反复洗涤滤渣，直至滤液不使石蕊试纸变色为止（用蓝石蕊试纸检查）。这一步必须在 10min 内完成。

④ 在上述烧杯内，加入 5%的 NaOH 50ml，再用蒸馏水稀释到 200ml 标记线处（此时 NaOH 浓度为 1.25%），将此烧杯口盖上表面皿，置于电沙浴上，于 1~3min 内煮沸，并不断补充沸蒸馏水，使液面保持在标记线处，煮沸 30min 取下，同前述进行抽气过滤，将滤渣洗到中性为止。之后将滤渣无损的全部转移到已铺好中性石棉的古氏坩埚内，将水抽干。

⑤ 将古氏坩埚置于 100~105℃ 烘箱内烘 4h，取出置于干燥器内冷却到室温（约 30min），称重。再放入烘箱中烘 1h，取出冷却称至恒重（两次重量之差不超过 1mg）。

⑥ 将两次恒重的古氏坩埚放在 600℃ 的马福炉内灼烧 1h 取出，放在石棉板

上, 稍冷后, 放入干燥器内, 冷却至室温 (约 30min) 称重。之后再灼烧 30min, 取出冷却, 称至恒重 (两次重复之差不超过 1mg)。

计算公式

$$F = \frac{W_1 - W_2}{W \left( \frac{100 - r}{100} \right)} \times 100$$

式中: F—粗纤维, %

W—风干样重

$W_1$ —100℃烘干的坩锅加样品重

$W_2$ —600℃灼烧后坩锅加样品重

r—吸附水含量

$\frac{100 - r}{100}$ —风干样换算成烘干样重的系数

#### 6.4 粗灰分含量

粗灰分含量以%表示, 精确到 0.01%。

试剂

① 3% $H_2O_2$ : 取 1 份 30%  $H_2O_2$  加 9 份水。

② 1: 4HCl: 取 1 份 HCl 加 4 份水。

操作步骤

① 洗净坩锅, 用 1% $FeCl_3$  溶液写上编号。用 1: 4HCl 将瓷坩锅煮沸洗净。在 600℃ 马福炉内灼烧 3min, 等炉温降到 200℃ 以下时将坩锅从炉内移入干燥器中, 冷却至室温, 称重 (用万分之一天平)。再灼烧 30min, 冷却称重, 至恒重为止, 记下坩锅重量。

② 准确称取风干样 2.0000g, 放入已恒重的坩锅内, 在电炉上小心灰化到无烟为止 (不能起明火)。再移入马福炉内, 温度控制在 550~600℃ 之间灼烧 2h, 等炉温降到 200℃ 以下时, 取出坩锅放在干燥器内冷却至室温, 称重。在相同的温度下再灼烧 30min, 冷却, 称重, 直至恒重为止。若灰化不完全, 在第一次灼烧后可滴加 1~2ml 蒸馏水或 3%  $H_2O_2$ , 于通风干燥箱内烘干, 再进行第二次灼烧。

计算公式

$$A = (W_1 - W_2) * 100 / [W(100 - r) / 100]$$

式中：A—粗灰分，%  
W—风干样品重  
W<sub>1</sub>—坩锅加粗灰分重  
W<sub>2</sub>—坩锅重  
r—吸附水含量

## 6.5 磷含量

磷含量以%表示，精确到 0.001%。

试剂

① 0.6%钼、锑抗试剂：称 6 g 研细的钼酸铵，0.15g 酒石酸锑钾溶于 500ml 约 60℃蒸馏水中，冷却后，缓缓加入 74ml 浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>，然后用蒸馏水稀释成 1000ml，贮于棕色瓶中备用。临用前，每 100ml 加 1.5g 抗坏血酸使之溶解。

② 2N 的 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>：100ml 水中加 10.6g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶解。

③ 2, 6-二硝基酚：0.2g 2, 6-二硝基酚溶于 100ml 水中。

④ 1N 的 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>：100ml 水中约加 3ml 浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>。

⑤ 磷的标准溶液：将 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 在 105℃烘箱中烘干，放入干燥器内冷却后，准确称取 0.2194g，以少量水溶解，转移到 1000ml 容量瓶中，加水至刻度摇匀。此液含磷为 50μg/ml 的标准贮备液。再将此液在容量瓶中稀释 10 倍，为 5μg/ml 的贮备液。

分别吸取 5μg/ml 的标准磷贮备液 2、4、6、8、10ml，分别放入 100ml 的容量瓶中，用蒸馏水稀释定容，它们的含磷量分别为 10μg、20μg、30μg、40μg、50μg。用此来绘制工作曲线。

操作步骤

准确吸取消化液 2ml 于 100ml 容量瓶中，加水大约 10ml，然后加 2, 6-二硝基酚指示剂 1 滴，用 2M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 中和至淡黄色，如果黄色太深可用 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 调回。准确加入 0.6%硫酸钼锑抗试剂 16ml，摇匀，加水至刻度，使用前再摇匀。放置 30min 后在 721 型分光光度计上用 660nm 比色。工作曲线绘制的测定步骤与测定样品相同。

计算公式

$$P = \frac{\text{查得的微克数}}{(1 \times 10^6) \times W_g} \times 100$$

式中：P—磷含量，%

Wg—吸液相当于样本重的克数

( $1 \times 10^6$ )—把 1g 换算成微克 ( $\mu\text{g}$ )

## 6.6 钙含量

钙含量以%表示，精确到 0.01%。

试剂配制

① 三乙醇胺 (1:4)：1 份三乙醇胺与 4 份水混合

② 20%氢氧化钾：20gKOH 溶于 100ml 水中。

③ 钙试剂羧酸钠盐：用 1g 钙试剂羧酸钠盐与 99gK<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 研成细粉末混合而成。

④ 0.018M EDTA 溶液：取 EDTA 二钠盐 16.50g，溶于 2500ml 无 CO<sub>2</sub> 的蒸馏水中，这一 EDTA 溶液的浓度用标准的 Ca 溶液标定。

⑤ 标准钙溶液：准确称取干燥的 CaCO<sub>3</sub> (分析纯) 0.4200g，溶于 25ml 0.5N HCl 中，并煮沸以驱除 CO<sub>2</sub>，然后注入 500ml 量瓶中，用不含 CO<sub>2</sub> 的水稀释至刻度。这一标准液含 Ca 为 0.336mg/ml。

⑥ EDTA 溶液浓度的标定：吸取 20mlCa 标准液，有 EDTA 滴定，消耗的 EDTAm1 数为 V，根据  $MV=M_1V_1$  来计算标准溶液 EDTA 的浓度 (指示剂用钙试剂羧酸钠盐混合指示剂)。

EDTA 浓度的计算：

$$M_{EDTA} = \frac{V_{Ca} \times 0.336}{V_{EDTA} \times 40.08}$$

$$M = \frac{M_1V_1}{V} = \frac{0.00838 \times 20}{V_{EDTA}}$$

$$\text{Ca 标准液: } 0.336\text{mg/ml} = 0.336\text{g/L} = \frac{0.336}{40.08} = 0.00838\text{M/L}$$

操作步骤

准确吸取消化液 10ml (视样品含钙量而定) 于 200ml 或 250ml 三角瓶中加水 10ml，加 1:4 的三乙醇胺 10ml，加 20%的 KOH 10ml 摇匀，使其 pH 为 12~14。加钙试剂 0.01g 左右 (不可过量)，用 EDTA 滴定，由紫红色到蓝色为止。

计算公式

$$Ca = \frac{(V - V_0) \times M \times 0.04008}{W} \times 100$$

式中：Ca——钙含量，%

V——消耗的 EDTA 体积的毫升数，ml

$V_0$ ——空白消耗 EDTA 体积的毫升数，ml

M——EDTA 的摩尔浓度

W——吸取样本溶液相当于风干样重，g

$$Ca(\%) = \frac{\frac{(V - V_0) \times 40.08}{1000} \times M \times V_{(1)}}{V_{(2)} \times W} \times 100 = \frac{(V - V_0) \times 40.08 \times M}{V_{(2)} \times W}$$

式中：Ca——钙含量，%

V——滴定钙时用 EDTA 的毫升数，ml

$V_0$ ——滴定空白溶液时用 EDTA 的毫升数，ml

$V_{(1)}$ ——消化液定容总体积毫升数，ml

$V_{(2)}$ ——滴定钙时吸收消化液体积毫升数，ml

W——称取风干样重，g

M——EDTA 的摩尔浓度

## 6.7 氨基酸含量

氨基酸含量以%表示，精确到 0.01%。

测定方法

① 采用日立 835-50 型氨基酸自动分析仪，可直接同时测出 18 种氨基酸的含量。

② 所需药品及本仪器操作请看日立 835-50 型氨基酸自动分析仪使用说明书。

③ 上机前样品的前处理（盐酸水解法）

操作步骤

① 在感量为万分之一的分析天平上精确称取风干样 30mg，置于干燥的 180×18mm 试管底部。

② 加入 6N 盐酸 15ml 左右（要根据样品中含粗蛋白质含量的多少而定）。加

入去泡剂（异辛醇）一滴。在距试管口 1~2cm 处用喷火头加热，并拉细成直径为 2mm 左右。

③ 在有真空泵设备下，对上述试管进行抽空作用（抽至试管内无气泡发生为止）。在这种真空下（或充氮气）进行封管，在封管时注意转动试管，以防试管破裂。

④ 将封好的装有样品的试管，用试管架装好，置于  $110^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  的干燥箱内，连续水解 24h。

⑤ 取出试管，冷却后，切开试管口，将水解液过滤到 50ml 容量瓶中，并反复用去离子水冲洗试管和滤纸，将冲洗液全部过滤到容量瓶中，然后定容至刻度。

⑥ 取滤液 1ml 于 5ml 平底小烧瓶中，在减压情况下用  $40\sim 50^{\circ}\text{C}$  温度蒸干。残留物再用约 1ml 去离子水溶解后再蒸干，此步骤要反复进行 2~3 次。

⑦ 最后一次蒸干后，将此 5ml 平底小烧瓶连同样品一起放入  $4^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存，待上机分析用。

⑧ 上机测试前，往 5ml 平底小烧瓶中加入 0.02N 盐酸 0.5~2ml（根据样品中蛋白质含量的多少而定）。这个样品上机后即可测出 17 种氨基酸的含量。由测定仪本身的打字机直接打出结果。

⑨ 由于上述方法不能测出胱氨酸和半胱氨酸的理想值，故必须对待测样品作如下处理。另取酸水解液 1ml 于 5ml 平底烧瓶中，加入 0.1ml 过甲酸试剂，注意加盖。室温下放置 3h，于  $40^{\circ}\text{C}\sim 50^{\circ}\text{C}$  下减压蒸干，加水 1ml 蒸干，反复 2~3 次。残留物用 pH2.2 的 HCl (0.02N) 定量溶解后，上机即可测出胱氨酸和半胱氨酸的含量（甲酸 9ml 加 1ml 过氧化氢，室温放置 3h）。

## 6.8 水分含量

水分含量以%表示，精确到 0.01%。

### 操作步骤

① 先将洗净的铝盒放入  $100\sim 105^{\circ}\text{C}$  烘箱内烘 1h，取出放入干燥器内，冷却至室温（约 30min），称重。再将此铝盒放入  $100\sim 105^{\circ}\text{C}$  的烘箱内烘 1h，取出冷却至室温，再称重。直至恒重为止。

② 在分析天平上准确称样（风干样品）200g，放入已恒重的铝盒内。

③ 将装有样品的铝盒，盒盖半开，放入  $100\sim 105^{\circ}\text{C}$  烘箱内，烘 8~10h 左



右取出，盖好盒盖，放入干燥器内，冷却至室温（约 30min），称重。再将此盒盖半开，放入 100~105℃烘箱中，烘 4h，取出，盖好盒盖，放入干燥器中，冷却至室温，称重，直至恒重为止。前后两次重量之差不大于 1mg 为准。取最低值进行计算。

计算公式

$$W_a = \frac{w - w_2}{w - w_1} \times 100\%$$

式中： $W_a$ ——水分含量，%

$W$ ——为铝盒加风干样品重

$W_1$ ——为铝盒重

$W_2$ ——为铝盒加烘干样品重

## 6.9 茎叶质地

采用感观测试方法，目测牧草柔嫩或细软，结合下列标准确定质地级别。

- 1 柔嫩(无刺无毛，手抓青草或干草时柔软而无扎手感觉，为茎叶细嫩柔软，为优等)
- 2 中等(感观测试居于上述二者中间者，为茎叶柔软一般，为中等)
- 3 粗硬(秆硬叶糙，植物体多被粗硬毛或具刺，手抓或触及时有扎手或刺痛感，用手折断其茎秆和枝叶时难度大，为茎叶质粗硬，为低等)

因牧草在新鲜与干燥情况下其茎、叶软硬的差异大，因此记载时说明测试样品的鲜、干状态。

## 6.10 适口性

采用直接观察与访问调查方法。为了获得较可靠的资料应在每个居民点详细讯问几个人（放牧员、饲养员、挤奶员），查明什么植物、何种牲畜、在什么情况下，嗜食程度如何。因为同一种植物有不同的当地名称，所以在询问时一定要指明所询问的是腊叶标本还是专门采集的植物。询问的资料登记在表格上。

在放牧地或饲养地直接观察的方法可得到有关植物对牲畜适口性的更详细的资料。在同一个放牧地或饲养场上在一昼内（早晨、中午、午休前后、晚上等）对许多牲畜进行系统的若干次观察。对牧草的不同生育期、不同季节都要进行观

察。观察的资料登记在表格上。

根据采食状况和下列说明，确定种质适口性等级。

- 1 嗜食（特别喜食的植物，在任何情况下，家畜都挑选采食，表现很贪食，适口性属优等）
- 2 喜食（喜食的植物，一般情况下家畜都吃，但不专门从草丛中挑选着吃，适口性良好）
- 3 乐食（家畜经常采食，但不像前 2 类那样贪食喜爱，适口性中等）
- 4 采食（可以吃，但不太喜食的植物，只有在上述植物被吃掉后，才肯采食的牧草，适口性中下等）
- 5 少食（不愿采食的植物，只有在某一时期才采食的植物，一般情况很少采食，适口性下等）
- 6 不食（不采食的植物，适口性劣等）

牧草适口性的优劣是由多种因素所决定的，分析所得的资料时还要查阅、参考前人的工作。

## 7 抗逆性

### 7.1 抗旱性

按全国畜牧兽医总站“牧站（草）[2003]2 号文通知”中的《牧草抗旱性鉴定方法（试行）》鉴定牧草抗旱性。

#### 试验材料

一般以同科、同属中不同品种或生态型之间进行组合，为抗旱性鉴定的盆栽幼苗材料。也可根据研究目的进行不同科、属种的不同材料的鉴定比较。一年生、多年生和灌木分别组合和比较，提高试验的可比性和可靠性。

#### 田间直接鉴定（牧草品种比较试验法）

这种方法是在田间直接鉴定，观察和测定抗旱指标。具体操作技术按《牧草育种学》中的品种比较试验方法，观察记载项目及标准进行。由于是以抗旱性试验为主，因此，在小区试验材料出苗后，停止灌溉，并定株观察。在自然状态下测定干旱胁迫后的抗旱性指标。定株观察和测量植株的生长速度，萎蔫状况，死亡率和存活率，根系生长状况等。测定小区干草产量和种子产量。为提高本试验

的准确性和可靠性，最好在多点和多年份重复鉴定。

#### 盆栽直接鉴定

① 设置抗旱棚或简易塑料箱（长×宽×高为 67cm×48cm×16cm）、塑料盆（高 15cm，长 63cm，宽 44cm）或花盆（高 40cm，内径 25cm），内装试验田土壤，并拌入适量腐熟有机肥。

② 种子用培养皿发芽后（芽尖刚露出）点播在塑料箱（盆）土中，条播行距 5cm，株距 4cm，每行 10 株，为保证苗齐，点播时每穴可点播 2 粒种子，出苗后每穴保留 1 株。每份材料 1 行，不设重复，每个塑料箱可播种 12 份材料。试验设置处理组和对照组，处理组各重复 3 次，在露天育苗。

③ 播后浇水，保持湿润，出苗后加强管理，及时除草和浇水，齐苗后及时定苗。每盆每种选定长势一致的幼苗 10 株和做出标记，观察生长情况。当幼苗生长到三叶期或分枝（分蘖）期时，即可移入旱棚进行干旱处理。

④ 幼苗移入旱棚后停止浇水。为第一次干旱处理。当供试植株 50%表现萎蔫症状时进行灌水，一周后（南方高温期 3d 后）调查其成活率。依此类推重复两次之后，比较不同材料在每次干旱处理的成活率，即可评定不同材料的抗旱性。对照组正常浇水。

⑤ 旱处理期间注意观测气温、相对湿度及风速的变化，幼苗萎蔫时应同时测定土壤含水量，供结果分析比较时参考。

⑥ 一般每次干旱处理约为 10~20d。

⑦ 在第一次停水后，连续干旱，观察不同时期萎蔫和死亡情况。

#### 观察和测定各项指标

存活率指标：一组反复干旱，每次干旱停水 7d（南方高温期 3d 后）的当日，观察植株萎蔫状况，立即复水后的第 3 天观测存活植株，这样反复干旱 3 次，观测每次的存活植株数。另一组停止供水，连续干旱 12d，分别于停水的当日和停水的第 3、6、9、12 天及复水后的第 2 天采样测定幼苗细胞膜相对透性，6 次重复。方法同抗寒性测定的电导法。

#### 目测法

每个观察材料要设 3 次重复，在自然干旱或人工干旱条件下观察牧草的抗旱表现。目测法估计干旱发生的程度，一般可分为五级。

- 1 强（干旱期间无旱害征象，为 5 分）
- 2 较强（植株上个别叶子发生轻度的萎蔫，为 4 分）
- 3 中等（大部分植株的茎叶呈现萎蔫状态，但并未停止生长者，为 3 分）
- 4 弱（大部分植株呈现萎蔫状态，停止生长，并有少量植株死亡者，为 2 分）
- 5 最弱（全部植株萎蔫，小区内 30%植株死亡，为 1 分）

#### 试验结果的分析 and 评价

对观察测定的数据和资料进行统计和整理。对统计和整理出的数据进行方差分析，提高其可靠性。分析和比较同一指标不同试验材料抗旱性差异及其程度，并排序。若做田间直接鉴定，以种或品种比较试验指标的评价结果为主，与盆栽直接鉴定指标相结合，进行综合评价，确定参试材料抗旱性的差异及其程度。

## 7.2 抗寒性

按全国畜牧兽医总站“牧站（草）[2003]2 号文通知”中的《牧草抗寒性鉴定方法（试行）》测得牧草抗寒性。

#### 试验材料

牧草种类繁多，组成复杂，不同类型的牧草抗寒性的形态特征和生理特性不同，抗寒性的途径和方式不完全一样，其机理也不尽相同。因此，为了提高牧草种质资源抗寒性差异和程度的可比性，在试验材料对比和组合上，最好同科、同属内不同种，同一种内不同品种或生态型进行组合试验。

#### 试验方法及指标

田间直接鉴定（牧草品种比较试验法）：

小区面积  $2 \times 3\text{m}^2$ ，3 次重复，随机区组排列。热带牧草春播，温带牧草秋播，可采用穴播或条播，在气候寒冷的地区亦可夏播或春播。出苗后加强田间管理，穴播的及时间苗，每穴保留 1 株，试验期一般不灌溉。根据当地生产条件，也可适当灌溉，同时记载灌水量。这种方法宜在多点多年进行，并对多种自然因素进行分析，提高试验的准确性和可靠性。

#### 观察记载

物候期、株高、秋季枯黄期、越冬返青期、越冬死亡率、返青率、越冬返青

后的生长表现及产草量以及田间管理等。结合冬季气象观测资料及降雪、降雨状况分析其越冬适应性。越冬存活率及死亡率应根据越冬前、后成活或死亡株数计算。亦可根据小区目测调查估算，但应注明调查估算方法。

实验室间接鉴定（电导法）：

幼苗培养——采用沙基培养。试验种子用 5% 的 NaCl 消毒，播种在塑料培养筛（35cm×25cm×15cm，下有排水孔）中，播种深度 2cm，喷适度的自来水，移入培养箱中，出苗后改用 Hong-land 营养液培养。生长箱内昼夜温度为 22/18±1℃，相对湿度为 70±10%，光强为 8000~85000lx，光期 12h。

此外，育苗也可采用塑料棚内塑料箱育苗，也可在田间育苗。

低温处理——待幼苗长出 6~7 片叶后，每一种采取整株幼苗 1~2g，用自来水冲洗 3 次，用滤纸吸干水分，放入冰箱，在 5℃ 下放置 2h。对每种鉴定材料在生长箱进行不同温度（-5℃，-10℃，-15℃，-20℃，-25℃，-32℃）和不同时间（1、2、3、4、5h）处理，至少 6 次重复。采用控温仪监控温度，温度波动范围±1℃。低温处理后的幼苗再冻 1h 后，进行细胞膜相对透性的测定。

低温处理的材料，也可以采取 90d 苗龄，同龄、同位、同色的叶片作试验处理。

相对电导率及拐点温度指标测定——将低温处理的幼苗用无离子水冲洗 3 次，放入试管中，每管装上 5ml 无离子水，用玻璃棒压住，真空抽气 15min，振荡 10min，1h 后测定初电导率。然后，把试管放入沸水中煮 10min（加塞），冷却到室温后，测定煮沸电导率。细胞膜透性变化用相对电导率表示：

$$K=K_0/K_1 \times 100$$

式中：K——相对电导率，%

$k_0$ ——初电导率

$k_1$ ——煮沸电导率

根据测得的相对电导率，配以 Logistic 方程， $Y = \frac{K}{1 + e^{-bx}}$  计算出拐点温度，即组织半致死（LT<sub>50</sub>），表示植物的抗寒力。

### 7.3 耐霜冻性

采用田间抗寒性测定方法，选择有代表性小区，重复二次，目测受冻害状况，结合下列说明确定种质抗寒性级别。



- 1 耐霜冻(在霜期, 无受冻害迹象, 为3分)
- 2 稍耐(在霜期, 植物体部分受冻, 但无死亡, 为2分)
- 3 不耐(在霜冻期, 地上植株体受冻, 并死亡, 为1分)

对田间直接鉴定的越冬率指标, 与实验室间接鉴定的相对电导率和组织半致死温度指标进行综合分析和评价。确定参试材料抗寒性差异及其程度。

#### 7.4 耐热性

牧草耐热性鉴定主要进行芽期和苗期耐热性鉴定(参考方法)。

芽期耐热性鉴定:

主要以发芽率和发芽指数为指标。选用贮藏年限相同、饱满一致的牧草种子, 经5%次氯酸钠溶液消毒10 min后, 用清水冲洗, 放入垫有两层滤纸的培养皿中, 浸种8h后, 吸去多余的水分, 然后于恒温培养箱中42℃无光照催芽。每份种质3次重复, 每重复100粒种子。以胚根突破种皮2 mm为准, 第7天统计并计算发芽率和发芽指数。

$$GR=N_0/N\times 100$$

式中: GR——发芽率, %

$N_0$ ——发芽终期全部正常发芽的种子数

N——供试种子数

$$GI=\sum Gt/Dt$$

式中: GI——发芽指数

Gt——日发芽数

Dt——发芽天数

苗期耐热性鉴定:

采用人工模拟气候鉴定法。供试种子待胚根长至0.5 cm时, 将其播于塑料育苗钵内, 播种基质为经过消毒的蛭石草炭营养土(3: 1), 每钵4粒, 定苗2株, 每份种质3次重复, 每重复12株, 随机区组排列。幼苗在人工光照培养箱中培养。设耐热性强、中、弱三品种作对照品种。出苗前温度为25℃, 无光照。出苗后, 每周浇营养液1次, 白天28℃, 晚间20℃, 每天光照16h。幼苗4叶1心后, 置于每天8h光照、30℃18h/40℃6h条件下胁迫72h。调查幼苗的热害症状, 热害级别根据热害症状分为5级。



级别	热害症状
0	无热害症状
1	1~2 片叶变黄
2	全部叶片变黄
3	1~2 片叶萎蔫
4	整株叶片萎蔫枯死

根据热害级别计算热害指数，计算公式为：

$$HI = \sum N_i / (M \times N) \times 100$$

式中：HI——热害指数

$N_i$ ——各级株数

M——最高级数

N——总株数

i——热害级别

耐热性鉴定结果的统计分析和校验参照 3.3。

牧草种质的耐热性根据芽期发芽率或发芽指数以及苗期热害指数分为 3 级。

- |   |                                                                                         |
|---|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | 强（热害指数 $\leq 35.0$ ；发芽率 $\geq 60\%$ ，发芽指数 $\geq 40$ ）                                   |
| 2 | 中（ $35.0 < \text{热害指数} < 65.0$ ； $30\% < \text{发芽率} < 60\%$ ， $20 < \text{发芽指数} < 40$ ） |
| 3 | 弱（ $65.0 < \text{热害指数}$ ；发芽率 $< 30\%$ ，发芽指数 $< 20$ ）。                                   |

## 7.5 耐盐性

按全国畜牧兽医总站“牧站（草）[2003]2 号文通知”中的《牧草耐盐性鉴定方法（试行）》鉴定牧草耐盐性。

牧草种子发芽期耐盐鉴定方法

①用化学纯 NaCl 配成 0%（即对照）、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%、1.2%、1.6%、2.0% 9 种不同处理的盐溶液（可在预备试验后根据不同牧草的耐盐性增加或减少处理数）。

②在口径为 120mm 的培养器内放入 5g 用自来水反复冲洗后干燥的锯末亦可用适量脱脂棉代替，上盖一层滤纸，然后在每个培养器中加入 40ml 盐溶液（液

面与锯末持平)，再放入 100 粒经消毒处理的种子，置于温箱中，在变温条件下 18℃16h 和 28℃8h 后进行培养（发芽床光照温度等条件可根据牧草种子检验规程的规定依不同草种而定），逐日观察记载发芽种子数并补充所蒸发的水分，使各处理盐浓度维持不变。发芽 10d 后（不同草种可按牧草种子检验规程而定），计算发芽率和相对发芽率。相对发芽率是以不含盐的对照发芽率作为 100%时，不同含盐的发芽率与对照发芽率之比。

$$GR=GR_1/GR_{ck} \times 100$$

式中：GR——相对发芽率，%

GR<sub>1</sub>——某一含盐量处理发芽率

GR<sub>ck</sub>——对照发芽率

③每份鉴定材料应 4 个重复，每个重复 100 粒种子，共 400 粒种子。

④依据不同牧草材料的发芽率及相对发芽率评定其种子发芽期的耐盐性。

#### 牧草苗期盆栽耐盐性鉴定方法

①盆土准备：取大田土壤（非盐碱地）过筛，用无孔塑料花盆（高 12.5cm，底径 12cm，口径 15.5cm）每盆装大田土 1.5kg，装土时，取样测定含水率以确定实际装入干土重。

②播种定苗：秋季在温室播种，春播要在有遮雨条件的可透光棚架下播种，以防雨淋影响试验。根据种子发芽率每盆播种 20~30 粒种子，出苗后间苗，2 叶期之前定苗，每盆留生长整齐一致，分布均匀的 10 棵苗。

③加盐处理：按每盆土样干重的 0%（对照）、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.8%、1.0%加化学纯的 NaCl 进行盐处理[经过预备试验，不同草种盐处理浓度可以改变，如苜蓿盐处理可以改为 0%（对照）、0.3%、0.4%和 0.5%]，将盐溶解在一定量的自来水中，使盐处理后的土壤含水率为最大持水量的 70%，加等量的自来水作对照，重复 3 次，即每个处理 3 个盆。经测定大田土含盐低，可忽略不计。

④管理和观测记载：盐处理后注意观察，及时补充所蒸发的水分，使土壤含水量保持不变，记录幼苗生长变化，盐害表现，盐处理 30d 结束试验，观测记载各处理的存活苗数，株高及植株干重。

⑤结果分析：根据各个牧草材料不同处理存活苗数，平均相对株高及平均相对植株干重，比较不同材料的耐盐性，相对株高（干重）的计算公式如下：

$$H = [(H_{CK} - H_1) / H_{CK}] \times 100$$

式中：H——平均相对株高（干重）

$H_{CK}$ ——对照平均相对株高（干重）

$H_1$ ——处理平均相对株高（干重）

根据试验数据，进行聚类分析，对参试材料进行综合评价，可分为耐盐、中等耐

盐、中等敏感、敏感（不耐盐）4类。

⑥在前人已有试验基础上，可以选定耐盐、中等耐盐、中等敏感、敏感的材料作为对照，同时进行盆栽耐盐试验鉴定试验，可以更好地评价鉴定材料的耐盐性。

结果分析和评价：根据试验资料和下列标准确定种质耐盐性等级。

- 1 耐盐（能耐土壤中 1%以上 NaCl 含量的浓度，为 4 分）
- 2 中等耐盐（能耐土壤中 0.6%~1%NaCl 含量的浓度，为 3 分）
- 3 中等敏感（能耐 0.3%~0.6%NaCl 含量的浓度，为 2 分）
- 4 敏感（不耐 0.3%NaCl 含盐量，为 1 分）

## 8 抗病虫性

### 8.1 抗虫性

牧草的主要害虫

- 1 草地蝗虫
- 2 草原毛虫
- 3 草地螟
- 4 蚜虫
- 5 叶甲类
- 6 芜菁类
- 7 蓟马
- 8 苜蓿籽蜂
- 9 苜蓿籽象甲
- 10 柠条豆象

## 11 豆荚螟

### 牧草抗虫害性测试方法

在受害区选取代表小区，10m<sup>2</sup>，重复2次，以目测法确定受害程度。

- 0 无害（观察地区未发现其害虫的成虫、幼虫、卵，为4分）
- 1 轻（即虫害还没有影响到植株生长，为3分）
- 2 重（影响到植株生长，为2分）
- 3 最重（严重的影响到植株生长，甚至造成死亡者，为1分）

## 8.2 抗病性

### 牧草主要病害

- 1 禾草锈病
- 2 禾草黑粉病
- 3 禾草白粉病
- 4 禾草麦角病
- 5 禾草赤霉病
- 6 禾草霜霉病
- 7 禾草细菌性黑颖病
- 8 禾草粒线虫病
- 9 豆科牧草锈病
- 10 豆科牧草白粉病
- 11 豆科牧草霜霉病
- 12 豆科牧草炭疽病
- 13 豆科牧草黄萎病
- 14 苜蓿及三叶草褐斑病
- 15 豆科牧草匍柄霉叶斑病

### 牧草病害的测试方法

牧草病害测试有田间直接测试鉴定和人工接种测试鉴定。因牧草种类多，田间直接测试鉴定简便易行。在不同牧草的不同病害发生时期选取代表性小区，重复2次，观察其受病害状况，根据受害情况，分为四级。

- 1 高抗（观察小区内未发现病原体，为4分）

- 2 低抗(观察小区感染植株在 5%以下,个别植株的部分叶片、茎秆、果实  
或花序上出现病原体,但还没有影响到植株生长,为 3 分)
- 3 感病(在观察小区内 5%~10%的植株都被感染病原体,并影响到植物生长,为 2 分)
- 4 高感(在观察小区内 10%以上植株都被感染,并停止生长,为 1 分)

## 9 其他特征特性

### 9.1 利用方式

牧草作为家畜的营养来源,其利用方式多种多样。可以直接利用新鲜牧草饲喂家畜,也可将牧草加工成草产品或青贮饲料饲喂。

通过查阅资料和访问有经验的牧工相结合的方法,了解牧草的利用方式。利用方式可分为 3 大类。

- 1 鲜草(一种是草食家畜直接在天然草地上放牧,采食可食牧草,获得各种营养物质;另一种是将新鲜的草本植物刈割后舍饲家畜)
- 2 干草(是反刍动物的主要饲草,由青绿饲用植物干燥而成,其水分低于 15%,能安全贮存而不腐烂)
- 3 青贮(是在厌氧条件下,经过乳酸菌发酵调制保存的青绿多汁饲料)

### 9.2 核型

采用细胞学方法对染色体的数目、大小、形态和结构进行鉴定。以核型公式表示,如, $2n=4x=28=26m(6SAT)+2sm$ 。

### 9.3 指纹图谱与分子标记

对进行过指纹图谱分析或重要性状分子标记的牧草种质,记录指纹图谱或分子标记的方法,并注明所用引物、特征带的分子大小或序列以及标记的性状和连锁距离。



#### 9.4 备注

牧草种质特殊描述符或特殊代码的具体说明。

