

老芒麦种质资源数据质量控制规范

1 范围

本规范规定了老芒麦种质资源数据采集过程中的质量控制内容和方法。
本规范适用于老芒麦种质资源的整理、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,然而,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

ISTA—1993 International Rules for Seed Testing

ISTA—1996 Amendment to International Rules for Seed Testing

ISTA—1996 国际种子检验规程

GB 3543—1995 农作物种子检验规程

GB/T 2930.1~2930.11—2001 牧草种子检验规程

GB/T 6142—1985 禾本科主要栽培牧草种子质量分级

GB/T 4407 经济作物种子

GB/T 7415 主要农作物种子贮藏

GB/T 6432—94 饲料中粗蛋白测定方法

GB/T 6433—94 饲料粗脂肪测定方法

GB/T 6434—94 饲料中粗纤维测定方法

GB/T 6435—86 饲料水分的测定方法

GB/T 6436—2002 饲料中钙的测定方法

- GB/T 6437—2002 饲料中总磷的测定 分光光度法
GB/T 6438—92 饲料中粗灰分的测定方法
GB/T 18246—2000 饲料中氨基酸的测定
NY/T 85—1988 土壤有机质测定方法

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老芒麦植株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，老芒麦种质以夏季（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，3次重复。采用条播时，行距30cm，播深2-3cm。种子量少的种质可采用穴播或育苗移栽，株距20cm，播深2-3cm。

形态特征和生物学特性观测试验应设置对照品种，试验地周围应设保护行或保护区。

3.1.3 栽培环境条件控制

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。采用一致的水肥管理条件，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。根据每年3次重复、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。全国统一编号具有唯一性。

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。每份种质具有唯一的种质库编号。

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”为国家牧草圃代码，后4位为顺序号，代表具体牧草种质的编号。每份种质具有唯一的圃编号。

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。每份引进种质具有唯一的引种号。

4.5 采集号

老芒麦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

国内种质的原始名称，登记品种的品种名称或国外引进种质的中文译名，如果有多个名称，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“Si Chuan Lao Mang Mai”。国外引进种质的外文名应注意大小写和空格。

4.8 科名

种质在植物分类学上所属的科名。由拉丁名加英文括号内的中文名组成，如“Gramineae(禾本科)”。如没有中文名，直接填写拉丁名。

4.9 属名

种质在植物分类学上所属的属名。由拉丁名加英文括号内的中文名组成，如“*Elymus* Linn. (披碱草属)”。如没有中文名，直接填写拉丁名。

4.10 学名

种质在植物分类学上的种、亚种或变种的名。由拉丁名加英文括号内的中文名组成，如“*Elymus sibiricus* Linn.(老芒麦)”。如没有中文名，直接填写拉丁名。

4.11 原产国

老芒麦种质原产国家名称、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。如该国家已不存在，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

国内老芒麦种质原产省份名称，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。有的种质在国外引种历史较长久，并被许多国家从多种渠道多次引入，已无从考证最初原产国的省份，填表时可空缺。

4.13 原产地

国内老芒麦种质原产县（县级市、区）、乡（镇）、村名称。县（县级市）名参照 GB/T 2260。

4.14 海拔

老芒麦种质原产地的海拔高度。单位为 m。低于海平面以负数表示。

4.15 经度

老芒麦种质原产地的经度，单位为(°)、(')和(")，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

老芒麦种质原产地的纬度，单位为(°)、(') 和(")。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

国内老芒麦种质的来源省、县名称；国外引进种质的来源国家、地区或国际组织名称。国家、地区和国际组织名称参照 ISO 3166 和 GB/T 2659，省和县名称参照 GB /T 2260。

4.18 保存单位

老芒麦种质提交国家种质资源长期库前的原保存单位名称。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

老芒麦种质原保存单位赋予的种质编号。保存单位编号在同一保存单位应具有惟一性。

4.20 系谱

老芒麦培育品种（系）的亲缘关系。

4.21 选育单位

培育老芒麦品种（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

老芒麦品种（系）培育成功的年份。例如“1990”、“2004”等。

4.23 选育方法

老芒麦品种（系）的育种方法。例如“系选”、“杂交”、“辐射”等。

4.24 种质类型

老芒麦种质类型分为：

- 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

老芒麦种质的图像文件名，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“CF000888-1.jpg; CF000888-2.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

老芒麦种质形态特征和生物学特性观测地点的名称，记录到省和县名，如“内蒙古多伦县”。

5 形态特征和生物学特性

5.1 种根出现天数

单独安排试验进行不同种质种根、侧根性状的测定。试验可采用三种不同育苗方法：①试验地育苗：将各供试种质播种在试验地内。播深 2-3cm，行距 30cm，适度浇水，保持土壤湿润。②花盆育苗：将各供试种质分别播种在装有砂壤土的花盆内，播深 2-3cm。③塑料袋育苗：塑料袋可选用塑料布加工而成，其长度为 18 cm，直径为 12 cm，且不封底，装入掺少量腐熟锯末的砂壤质土壤。将各供试种质分别播种在其内，播深 2-3cm。播种后整齐排放在温室或室外试验地内（土面与地面平行），出苗后进行间苗定植，每袋内只留正常健壮幼苗一株。花盆与塑料袋每天适量浇水一次，保持土壤湿润。所有育苗均不施肥。播种后每两天取样一次，30 天时结束。取样时用大铁锹和小铁铲将试验地中或花盆内的供试材料幼苗连根挖起，塑料袋内的供试材料幼苗整袋挖起即可。然后用细孔土壤筛在水中轻轻冲洗干净，用滤纸将多余水分吸干，在室内观察测量各种质单株从播种到第一条种根出现的天数。单位为 d，保留整数位数。取样时，每个种质、每次取样 3 株，并设 2 次重复。根据取样需要，不论采取哪种育苗方法，每份种质每个重复栽植不少于 50 株。

5.2 种根生长速度

按 5.1 的方法播种和取样处理后，测定老芒麦种质单株第一条种根，自出现至播后 30 天之间的平均日生长长度。单位为 mm/d，精确到 0.1mm。

5.3 侧根出现天数

按 5.1 的方法播种和取样处理后，测定老芒麦种质自播种至单株第一条种根上长出侧根的天数。单位为 d，保留整数位数。

5.4 苗期根重

按 5.1 的方法播种和取样处理后，测定老芒麦种质在播后 30 天时，单株根系的平均重量。单位 g，精确到 0.01g。

5.5 当年根长

老芒麦种质播种当年秋季停止生长之前，在每一个试验小区随机抽样 5 株，用大铁锹和小铁铲将供试的植株连根挖起。然后用细孔土壤筛在水中轻轻冲洗干净，用滤纸将多余水分吸干，在室内观察测量单株根系的长度，计算单株根系的平均长度。单位为 cm，精确到 0.01cm。

5.6 当年根重

老芒麦种质播种当年秋季停止生长之前，在每一个试验小区随机抽样 5 株，用大铁锹和小铁铲将供试的植株连根挖起。然后用细孔土壤筛在水中轻轻冲洗干净，用滤纸将多余水分吸干，在室内观察测量每株根系的重量，计算单株根系的平均重量。单位为 g，精确到 0.01g。

5.7 根系深度

老芒麦种质生活第二、三年开花期，在每一个试验小区随机抽样 5 株（丛），用大铁锹和小铁铲将供试材料的植株连根挖起。然后用细孔土壤筛在水中轻轻冲洗干净，用滤纸将多余水分吸干，在室内观察测量每株根系在土壤中的分布深度，计算单株根系的平均深度。单位为 cm，精确到 0.1cm。

5.8 根系密度

生活第二、三年开花期，在每一个试验小区随机抽样 5 株（丛），用大铁锹和小铁铲将供试材料的植株连根挖起。用目测法判断老芒麦种质地下须根的相对生长密度。

- 1 稀疏（须根稀疏）
- 2 中等（须根中等）
- 3 稠密（须根密集）

5.9 根系重量

生活第二、三年开花期，在每一个试验小区随机抽样 5 株（丛），用大铁锹

和小铁铲将供试材料的植株连根挖起。然后用细孔土壤筛在水中轻轻冲洗干净，用滤纸将多余水分吸干，在室内观察测量老芒麦种质单株地下须根的重量，计算平均值。单位为 g，精确到 0.1g。

5.10 茎秆形态

生活第二、三年开花期，以试验小区全部植株为调查对象，用目测法判断植株的茎秆形态。以 70%以上植株的茎秆形态为准。

- 1 直立（茎秆与地面垂直线的夹角小于或等于 30° ）
- 2 半直立（茎基部倾斜生长，茎秆与地面垂直线的夹角大于 30° ）

5.11 生殖枝长

生活第二、三年开花期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型生殖枝，观测老芒麦种质生殖枝自地面至穗尖部的绝对长度，计算平均值。单位 cm，保留整位数。

5.12 茎秆节数

生活第二、三年开花期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型生殖枝，观测种质生殖枝自地面开始第一节至花序以下的最末节的茎秆节数，计算平均值。单位为节，保留整位数。

5.13 节间长

生活第二、三年开花期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型生殖枝，观测种质生殖枝自地面至花序基部的茎秆绝对长度和节间数。然后计算老芒麦种质生殖枝节间的平均长度。单位 cm，精确到 0.1cm。

5.14 茎秆粗

生活第二、三年开花期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型生殖枝，测量生殖枝的横径，计算平均值。单位为 mm，精确到 0.1mm。

5.15 叶鞘毛

生活第二、三年开花期，以试验小区的植株为调查对象，采用目测的方法，观测植株茎秆叶鞘上毛的有或无。

- 0 无
- 1 有

5.16 叶鞘长

生活第二、三年开花期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上

取一典型生殖枝，测量生殖枝中部叶鞘的长度，计算平均值。单位为 cm，精确到 0.1cm。

5.17 叶鞘与节间比

生活第二、三年开花期，以试验小区的植株为调查对象，采用目测的方法，观测植株中部叶鞘与节间的长度关系。

- 1 短于节间（叶鞘比其包裹的第一节间短）
- 2 长于节间（叶鞘比其包裹的第一节间长）

5.18 叶舌长

生活第二、三年开花期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型生殖枝，测量生殖枝中部叶的叶舌长度，计算平均值。单位为 mm，精确到 0.1mm。

5.19 叶片形态

生活第二、三年开花期，以试验小区的植株为调查对象，采用目测的方法，观测植株中部叶的叶片形态。因老芒麦的叶片形态随着环境湿度、温度和光照条件发生变化，所以观测时环境条件应一致，选择晴朗干燥的天气。以 70%以上植株的叶形态为准。

- 1 扁平（叶片完全平展）
- 2 稍内卷（叶片边缘向上轻微卷起）
- 3 内卷（叶片明显内卷或旋卷成近筒状）

5.20 旗叶长

生活第二、三年开花期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型生殖枝，测量旗叶叶片的绝对长度，计算平均值。单位为 cm，精确到 0.1cm。

5.21 旗叶宽

生活第二、三年开花期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型生殖枝，测量旗叶最宽处的绝对宽度，计算平均值。单位为 mm，精确到 0.1mm。

5.22 倒 2 叶长

生活第二、三年开花期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上

取一典型生殖枝，按叶部位从下向上的顺序测量其第 2 个叶叶片（不包括叶鞘）的绝对长度，计算平均值。单位为 cm，精确到 0.1cm。

5.23 倒 2 叶宽

生活第二、三年开花期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型生殖枝，按叶部位从下向上的顺序测量其第 2 个叶叶片最宽处的绝对宽度，计算平均值。单位为 mm，精确到 0.1mm。

5.24 叶片颜色

生活第二、三年开花期，以试验小区的植株为调查对象，采用目测的方法，在正常一致的光照条件下观测植株中部叶片正面的颜色。

根据观测结果，并与标准色卡上相应代码的颜色进行比较，按照最大相似原则，确定种质的叶片颜色。以 70%以上植株的叶片颜色为准。

- 1 黄绿
- 2 灰绿
- 3 绿
- 4 深绿
- 5 紫色

上述没有列出的其他叶色，需要另外给予详细的描述和说明。

5.25 叶背光滑度

生活第二、三年开花期，以试验小区的植株为调查对象，采用目测的方法结合手感，测定植株中部叶片背面的光滑程度。

- 1 平滑
- 2 粗糙

5.26 叶毛密度

生活第二、三年开花期，以试验小区的植株为调查对象，采用目测的方法，观测植株中部叶片正面毛的密度。

- 0 无毛
- 1 疏（疏被毛）
- 2 中（被毛程度介于疏密之间）
- 3 密（密被毛）

5.27 旗叶至穗基部长

生活第二、三年开花期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型生殖枝，测量其旗叶叶枕至穗基部的绝对长度，计算平均值。单位为 cm，精确到 0.1cm。

5.28 花序形态

生活第二、三年开花期，以试验小区的植株为调查对象，采用目测的方法，观测植株花序的形态。

1 穗状

2 穗形总状变异（有些穗状花序发生变异，出现反祖现象，其花序呈穗形

总状，即在原正常穗状花序上长出分支穗）

5.29 穗长

生活第二、三年乳熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，测量穗基部至顶端的绝对长度（包括芒），计算平均值。单位为 cm，精确到 0.1cm。

5.30 穗宽

生活第二、三年乳熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，测量穗最宽处的绝对宽度，计算平均值。单位为 mm，精确到 0.1mm。

5.31 穗颜色

生活第二、三年开花期，以试验小区的植株为调查对象，采用目测的方法，在正常一致的光照条件下观测植株穗的颜色。

根据观测结果，并与标准色卡上相应代码的颜色进行比较，按照最大相似原则，确定种质穗的颜色。以 70%以上植株穗的颜色为准。

1 黄绿

2 灰绿

3 绿

4 深绿

5 紫色

上述没有列出的其他穗颜色，需要另外给予详细的描述和说明。

5.32 穗轴节数

生活第二、三年乳熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，测量其穗轴节数，计算平均值。单位为节，保留整数位数。

5.33 穗轴节间长

生活第二、三年乳熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，测量其穗轴的第一节间长，计算平均值。单位为 mm，精确到 0.1mm。

5.34 穗轴边缘毛

生活第二、三年乳熟期，以试验小区的植株为调查对象，采用目测的方法测定穗轴的边缘是否有毛。

- | | |
|---|---|
| 0 | 无 |
| 1 | 有 |

5.35 穗轴小穗总数

生活第二、三年乳熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，观测其穗轴上着生的小穗总数，计算平均值。单位为枚。

5.36 穗轴每节小穗数

生活第二、三年乳熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，观测其穗轴上每节着生的小穗数目，计算平均值。单位为枚，保留整数位数。

5.37 小穗长

生活第二、三年乳熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，测量其穗轴中部小穗的绝对长度（包括芒），计算平均值。单位为 cm，精确到 0.1cm。

5.38 小穗宽

生活第二、三年乳熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，测量其穗轴中部小穗的最宽处的宽度，计算平均值。单位为 mm，精确到 0.1mm。

5.39 小穗含小花数

生活第二、三年开花期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，观测其小穗所含小花数，计算平均值。单位为枚，保留整数位数。

5.40 变异花序分支数

生活第二、三年乳熟期，以试验小区的植株为调查对象，采用目测的方法，观测具穗形总状变异花序种质，花序主穗上的分支穗数目。

5.41 变异花序分支长

生活第二、三年乳熟期，从每一试验小区内随机抽取穗形总状变异花序 10 个，测量每一花序主穗上各分支穗的长度，计算分支穗的平均长度。单位为 cm，精确到 0.1cm。

5.42 第一颖长

生活第二、三年完熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，测量穗中部小穗第一颖的长度（不包括芒长），计算平均值。单位为 mm，精确到 0.1mm。

5.43 第一颖宽

生活第二、三年完熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，测量穗中部小穗第一颖的宽度，计算平均值。单位为 mm，精确到 0.1mm。

5.44 第一颖脉数

生活第二、三年完熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，观察记录穗中部小穗第一颖背部的脉数，计算平均值。单位为条，保留整数位数。

5.45 第一颖芒长

生活第二、三年完熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，测量穗中部小穗第一颖芒的绝对长度（不包括颖片长），计算平均值。单位为 mm，精确到 0.1mm。

5.46 第二颖长

生活第二、三年完熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，测量穗中部小穗第二颖的长度（不包括芒长），计算平均值。单位为 mm，精确到 0.1mm。

5.47 第二颖宽

生活第二、三年完熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上

取一典型穗，测量穗中部小穗第二颖的宽度，计算平均值。单位为 mm，精确到 0.1mm。

5.48 第二颖脉数

生活第二、三年完熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，观察记录穗中部小穗第二颖背部的脉数，计算平均值。单位为条，保留整数位数。

5.49 第二颖芒长

生活第二、三年完熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，测量穗中部小穗第二颖芒的绝对长度（不包括颖片长），计算平均值。单位为 mm，精确到 0.1mm。

5.50 外稃长

生活第二、三年完熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，测量穗中部小穗第一小花外稃的长度（不包括芒长），计算平均值。单位为 mm，精确到 0.1mm。

5.51 外稃宽

生活第二、三年完熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，测量穗中部小穗第一小花外稃的宽度，计算平均值。单位为 mm，精确到 0.1mm。

5.52 外稃脉数

生活第二、三年完熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，观察记录穗中部小穗第一小花外稃背部的脉数，计算平均值。单位为条，保留整数位数。

5.53 外稃芒长

生活第二、三年完熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，测量穗中部小穗第一小花外稃芒的绝对长度（不包括稃片长），计算平均值。单位为 mm，精确到 0.1mm。

5.54 外稃毛密度

生活第二、三年完熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，采用目测的方法测定穗中部小穗第一小花外稃背部、边缘、先端或

基部是否被毛及被毛密度。

- 0 无（通体无毛）
- 1 疏（通体或某一部位被稀疏的毛）
- 2 中（通体或某一部位被毛程度在疏密之间）
- 3 密（通体或某一部位被毛稠密）

5.55 外稃被毛部位

生活第二、三年完熟期，在每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，采用目测的方法观察穗中部小穗第一小花外稃被毛的部位。

- 1 通体
- 2 背部
- 3 先端
- 4 边缘
- 5 基部

5.56 内稃长

生活第二、三年完熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，测量穗中部小穗第一小花内稃的长度，计算平均值。单位为 mm，精确到 0.1mm。

5.57 内稃宽

生活第二、三年完熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，测量穗中部小穗第一小花内稃的宽度，计算平均值。单位为 mm，精确到 0.1mm。

5.58 内稃毛密度

生活第二、三年完熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，采用目测的方法测定穗中部小穗第一小花内稃背部、边缘、先端或基部是否被毛及被毛密度。

- 0 无（通体无毛）
- 1 疏（通体或某一部位被稀疏的毛）
- 2 中（通体或某一部位被毛程度在疏密之间）
- 3 密（通体或某一部位被毛稠密）

5.59 内稃被毛部位

生活第二、三年完熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，在每一植株上取一典型穗，采用目测的方法测定穗中部小穗第一小花内稃被毛的部位。

- 1 通体
- 2 背部
- 3 先端
- 4 边缘
- 5 基部

5.60 种子长

收获后，每份种质随机测量有代表性的成熟种子（颖果）20 粒，利用放大投影仪或微标卡尺测量种子最长处的长度。单位为 mm，精确到 0.1mm。3 次重复，计算平均数。

5.61 种子宽

收获后，每份种质随机测量有代表性的成熟种子 20 粒，利用放大投影仪或微标卡尺测量种子最宽处的宽度。单位为 mm，精确到 0.1mm。3 次重复，计算平均数。

5.62 形态一致性

在老芒麦种质生活第二、三年生长发育的不同时期，用目测法观测群体内主要形态性状。根据不同生育期主要形态性状的表现，将其形态一致性分为 3 类。

- 1 一致（大多数形态性状基本一致）
- 2 较一致（主要形态性状上存在差异，但差异较小，不容易清楚地区分）
- 3 不一致（主要形态性状差异较大，而且能明显区分开来）

5.63 播种期

种子播种的日期。以“年月日”表示，格式“YYYYMMDD”。如“20040612”，表示 2004 年 6 月 12 日播种。

5.64 出苗期

种子萌发出土的日期。以全小区为调查对象，记录小区内 50% 的幼苗露出地面的日期。以“年月日”表示，格式“YYYYMMDD”。

5.65 返青期

生活第二、三年，以全小区为调查对象，记录小区内 50%的植株返青的日期。以“年月日”表示，格式“YYYYMMDD”。

5.66 分蘖期

生活第二、三年，以全小区为调查对象，记录小区内 50%的幼苗从其基部分蘖节产生侧芽，并形成新枝的日期。以“年月日”表示，格式“YYYYMMDD”。

5.67 拔节期

生活第二、三年，以全小区为调查对象，记录小区内 50%的植株第一个节露出地面 1-2cm 的日期。以“年月日”表示，格式“YYYYMMDD”。

5.68 孕穗期

生活第二、三年，以全小区为调查对象，记录小区内 50%的植株达到孕穗的日期。以“年月日”表示，格式“YYYYMMDD”。

5.69 抽穗期

生活第二、三年，以全小区为调查对象，记录小区内 50%的植株达到抽穗的日期。以“年月日”表示，格式“YYYYMMDD”。

5.70 开花期

生活第二、三年，以全小区为调查对象，记录小区内 50%的植株开花的日期。以“年月日”表示，格式“YYYYMMDD”。

5.71 开花期一致性

生活第二、三年，以试验小区的植株为调查对象，采用目测法观测，从 20%的植株开花算起，至 80%的植株开花止。持续时间越短一致性越好。分为 3 类。

- 1 一致 (种质群体内，各单株几乎同步开花，种质开花持续时间 \leq 7 天)
- 2 较一致 (种质群体内，大多数单株同步开花，种质开花持续时间在 7~10 天之间)
- 3 不一致 (种质群体内，各单株开花不同步，种质开花持续时间 \geq 10 天)

5.72 乳熟期

生活第二、三年，以全小区为调查对象，记录小区内 50%的植株达到乳熟的日期。以“年月日”表示，格式“YYYYMMDD”。

5.73 蜡熟期

生活第二、三年，以全小区为调查对象，记录小区内 50%的植株达到蜡熟的日期。以“年月日”表示，格式“YYYYMMDD”。

5.74 完熟期

生活第二、三年，以全小区为调查对象，记录小区内 50%的植株达到完熟的日期。以“年月日”表示，格式“YYYYMMDD”。

5.75 果后营养期

生活第二、三年，以全小区为调查对象，记录观测小区内种质种子成熟至 50%的植株枯黄停止生长的日期之间的天数。单位为 d。老芒麦部分种质没有果后营养期，结实后植株地上部分直接进入枯黄期。

5.76 枯黄期

北方地区的枯黄期一般在秋霜或冬寒后出现。生活第二、三年，以全小区为调查对象，用目测法观测小区内 50%的植株达到枯黄的日期。以“年月日”表示，格式“YYYYMMDD”。

5.77 叶层高度

生活第二、三年开花期，从老芒麦种质每一试验小区内随机抽样 10 株，测量每一植株自地面起至叶层分布最高点的自然高度。单位为 cm，精确到 0.1cm。

5.78 生育天数

生活第二、三年的老芒麦种质，由返青期到种子完熟期之间的总生长天数。单位为 d。

5.79 熟性

根据生活第二、三年老芒麦种质的生育天数，分为 3 类。

- 1 早熟（生育天数较短， ≤ 95 天；一般较早进入完熟期）
- 2 中熟（生育天数居中，在 95-115 天之间；一般进入完熟期的日期居中）
- 3 晚熟（生育天数较长， ≥ 115 天；一般进入完熟期的日期较晚）

5.80 生长天数

生活第二、三年老芒麦种质，从返青期到枯黄期之间的总生长天数。单位为 d。

5.81 再生性

以再生速度和再生草产量来衡量。

测定方法：在生活第二、三年植株初花期，从每一试验小区内随机抽样 10 株进行刈割，第一次刈割后间隔适当时间（因地区而异）进行第二次刈割。第二次刈割前先测定单株株高(cm)，刈割后测定单株的刈割草重量（干重）。计算单株第一次刈割至第二次刈割之间的再生速度（cm/d）。各种质的再生速度取单株的平均值，精确到 0.01 cm。各种质的再生草产量按 10 株的占地面积换算为 kg/hm²，精确到 0.1kg。

- 1 良好（再生速度快，再生草产量高）
- 2 中等（再生速度中等，再生草产量中等）
- 3 较差（再生速度慢，再生草产量低）

5.82 落粒性

在植株蜡熟期至完熟期，以试验小区的植株为调查对象，采用目测的方法，判定种子从植株上散落的程度。

- 1 脱落（有外力或阳光暴晒时部分种子脱落）
- 2 易脱落（有外力或阳光暴晒时大部分种子脱落）
- 3 极易脱落（稍有外力或阳光暴晒时种子边熟边落）

5.83 茎叶比

在种质生活第二、三年开花期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，将单株齐地刈割后，迅速将茎秆（包括叶鞘）与叶（包括穗）分离，分别称取茎、叶鲜重。单位为 g，精确到 0.1g。然后用下列公式计算单株的茎叶比。表示为：1:X，X 精确到 0.01。

$$X = \frac{W_l}{W_s}$$

式中：X ——叶重与茎重的比值；

W_s ——茎重，g。

W_l ——叶重，g；

5.84 鲜草产量

在生活的第二、三年进行。一般首次刈割在初花期，然后根据试验小区所在的气候带自行确定不同的刈割次数。测产时在每个试验小区内设4个样方，样方面积为 $0.25\text{m}^2(0.5\text{m} \times 0.5\text{m})$ 。设样方时注意避开小区边缘地段。刈割时留茬高度为4~6cm，刈割后马上称重。最初测出的单位为 g/m^2 ，精确到0.1g。换算为 kg/hm^2 ，精确到0.1kg。

5.85 干草产量

按5.84的方法，将鲜草测产样品自然风干后称重。换算为 kg/hm^2 ，精确到0.1kg。

5.86 干鲜比

单位面积牧草风干后的重量与其青鲜时的重量之比。由5.85和5.84所测得的数据计算得出。以%表示，精确到0.1%。计算公式为：

$$X(\%) = \frac{W_h}{W_f} \times 100$$

式中：X ——干鲜比，%；

W_f ——鲜重，g；

W_h ——风干后的重量，g。

5.87 种子产量

在生活的第二、三年种子蜡熟至完熟期进行。测种子产量时在每个试验小区内随机设4个样方，样方面积为 $0.25\text{m}^2(0.5\text{m} \times 0.5\text{m})$ 。设样方时注意避开小区边缘地段和测过鲜草产量的地段。最初测出的单位为 g/m^2 ，精确到0.1g。换算为 kg/hm^2 ，精确到0.1kg。

5.88 分蘖数

在生活的第二、三年枯黄期，从每一试验小区内随机抽样10株，调查每一植株的分蘖枝条数。计算平均数，保留整数位数。

5.89 单株重

在生活的第二、三年开花期，从每一试验小区内随机抽样10株，测量每一植株地上部分的鲜（干）重，计算平均数。单位为g，精确到0.1g。

5.90 单株种子重

在生活的第二、三年蜡熟至完熟期，从每一试验小区内随机抽样 10 株，测量每一植株收获的种子重，计算平均数。单位为 g，精确到 0.1g。注意种子收获应尽量把握最佳时期，既要保证种子成熟，又要防止落粒。

5.91 越冬率

在播种当年枯黄期之前采用随机取样法进行调查。

条播小区的调查方法：避开边缘地段，在每个小区株行内随机选取 3 个样段，每个样段长为 1m，调查每一样段内的植株数。翌年植物返青后调查原样段内返青的植株数。

单株或穴播小区的调查方法：避开边缘地段，在每个小区内随机选取 10 株，定株。翌年植物返青后，调查所定植株内的返青植株数。计算越冬率。以%表示，精确到 0.1%。

$$WR(\%) = \frac{N_1}{N} \times 100$$

式中：WR——越冬率，%

N ——越冬前的株（丛）数

N_1 ——返青的株（丛）数

5.92 观测年龄

观测时，老芒麦种质在田间小区种植后的生长年龄。单位为 a。

5.93 生长寿命

从老芒麦种质播种当年算起，记录田间株丛存活率高于 30%的总年限。单位为 a。

5.94 千粒重

在蜡熟至完熟期收获种子。参照 GB/T 2930.9—2001 牧草种子检验规程 重量测定，从新鲜、风干并经过清选的试验样品（种子）中随机数取 8 个重复，每个重复 100 粒种子，用 1/10000 的电子天平分别称重。单位为 g，精确到 0.0001g。有芒种子不做去芒处理。

称重后，按下列公式计算方差、标准差和变异系数。

$$S^2 = \frac{n(\sum X^2) - (\sum X)^2}{n(n-1)}$$

$$S = \sqrt{S^2}$$

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} \times 100$$

式中： S^2 ——方差

S ——标准差

X ——每个重复的重量，g

\bar{X} ——100粒种子的平均重量，g

n ——重复次数

CV——变异系数

根据8个重复的各重复100粒的重量，换算为1000粒种子的平均重量。单位为g，精确到0.01g。

$$\text{千粒重} = \bar{X} \times 10$$

允许差：老芒麦属带稃壳的牧草种子，变异系数不超过6.0时，则可计算测定的结果。如变异系数超过上述限度，则应再测定8个重复，并计算16个重复的标准差；将与平均数之差超过两倍标准差的重复略去，根据其余重复计算测定结果。

5.95 后熟期

取刚收获的新种子400粒，每重复100粒，在25℃恒温条件下进行发芽试验，每隔2天记载发芽种子数。当4次重复平均发芽率达到85%时，则可认为种子通过后熟期。从置床至达到85%发芽率的期限为该种质样品的后熟期。单位为d。

5.96 发芽势

在蜡熟至完熟期收获的正常风干并经过清选的净种子。参照GB/T 2930.4--2001 牧草种子检验规程和GB 3543—1995 农作物种子检验规程，随机取样，4次重复，每个重复100粒种子，恒温25℃条件下发芽，观测在发芽初期（规定日期内，老芒麦种质一般是在第5天）正常发芽种子数占供试种子数的百分率。以%表示。发芽势高，则表明种子活力强、发芽整齐、出苗一致、增产潜力大。

$$GE(\%) = \frac{N_1}{N} \times 100$$

式中：GE ——发芽势，%

N ——供试种子数

N_1 ——规定天数内全部正常发芽的种子数

5.97 发芽率

在蜡熟至完熟期收获种子。在实验室控制及标准条件下对种子发芽率进行检测，参照 GB/T 2930.4—2001 牧草种子检验规程 进行发芽率测定。以%表示，精确到 0.1%。

样品分取：选净种子，充分混匀，随机分取 400 粒种子，每 100 粒为 1 次重复，共 4 次重复。

发芽：发芽床、温度和光照条件，参照 GB/T 2930.4—2001 中的表 1。将种子置于垫铺滤纸（TP）的培养皿中。每粒种子应保持一定距离，以减少相邻种子对种苗发育的影响和病菌的相互感染。注水一致，使种子吸水良好。盖好培养皿上盖，置于发芽箱中恒温 25℃ 条件下发芽。光照条件为每日 16h 光照，8h 黑暗。发芽床要始终保持湿润。

观测记录：参照 GB/T 2930.4—2001 中的表 1 规定的发芽观测时间，在发芽实验开始第 5 天首次记数后，每隔 1~2 天记数一次，记录符合规程标准的正常种苗。将明显死亡的腐烂种子取出并记数。末次记数时(第 12 天)，分别记录所有正常种苗、不正常种苗、硬实种子、新鲜未发芽种子和死种子数。复粒种子单位产生一株以上的正常种苗，仅记录一株种苗。

结果计算：末次观察结束后，计算每一重复的正常种苗、不正常种苗、硬实种子、新鲜未发芽种子和死种子分别占供试种子的百分率。其中正常种苗的百分率为发芽率。然后计算 4 次重复的平均数。

$$GI(\%) = \frac{N_1}{N} \times 100$$

式中：GI ——发芽率，%

N ——供试种子数

N_1 ——发芽终期全部正常发芽的种子数

允许差：参照 GB/T 2930.4—2001 中的表 B1，如果 4 次重复的数值之间均未超出最大容许差距则结果是可靠的，4 次重复的平均数即为该样品的发芽率。如果 4 次重复的数值之间超出最大容许差距，则应进行再次试验。如果两次试验结果未超出最大容许差距，则两次结果的平均数为该样品的发芽率。如果两次结果超出最大容许差距，则应用同样的方法进行第三次试验。记录相符合的两次结果的平均数。

5.98 种子生活力

取蜡熟至完熟期收获的正常风干净种子。参照 GB/T 2930.5-2001 牧草种子检验规程 生活力的生物化学（四唑）测定。以%表示，精确到 0.1%。

测定方法

试剂及染色液配制：使用 2, 3, 5-三苯基氯化四唑或溴化四唑的 1.0% 水溶液。水的 pH 值应在 6.5~7.5 之间。

如过用蒸馏水配制的溶液 PH 值不能保持在 6.5~7.5 范围内，则采用磷酸缓冲溶液配制。缓冲溶液配制如下：

溶液 I：在 1 000 mL 水中溶解 9.078 g 磷酸二氢钾 (KH_2PO_4)；

溶液 II：在 1 000 mL 水中溶解 9.472 g 磷酸氢二钠 (Na_2HPO_4)，或在 1 000 mL 水中溶解 11.876g 含两个结晶水的磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)。

取母液 I 2 份和母液 II 3 份混合而得缓冲溶液。

称 1g 三苯基氯化四唑或溴化四唑，溶解在 100 mL 缓冲液中。配制成的溶液保存在黑暗处或棕色瓶里。染色反应在黑暗条件下进行。

试验样品：从净种子中数取 400 粒种子，分成 4 个重复，每一重复 100 粒。

种子预湿：老芒麦种子在染色前必须进行预先湿润。预湿后吸胀的种子不易破碎，容易切开。另外，染成的颜色更为均匀，利于鉴定。为避免稃壳妨碍吸胀，须除去稃壳。预湿可采用下列方法之一。

缓慢润湿：在 20℃ 恒温条件下，将种子置于纸间 (BP) 吸湿 16 小时。此法用于那些直接浸在水中容易破裂的种子、陈种子或干燥种子。

水中浸渍法 (W)：在 20℃ 恒温条件下，将种子全部浸泡在水里，让其达到充分吸胀。老芒麦种子浸泡 3 小时即可。具体预湿时间和方法参照 GB/T 2930.5—2001 中的表 1。

染色前的准备:

①去颖, 在胚附近横切

②纵切胚及 3/4 胚乳

染色: 按 GB/T 2930.5—2001 中的表 1 规定的染色浓度(1%)、温度(30℃)和时间(BP, 18h; W, 2h)将准备好的种子或胚完全浸入四唑溶液, 移置黑暗或弱光下染色。染色结束后, 倒去四唑溶液, 用清水冲洗后即可观察鉴定。

鉴定: 在立体解剖镜下进行观察鉴定, 根据种胚主要结构的染色情况辨别有生活力和无生活力的种子。通常, 胚的全部或主要结构染成鲜红色的, 为有生活力的种子。染色不正常或染成浅色斑点者为无生活力的种子。老芒麦凡胚根不染色, 柔软或坏死的面积在 1/3 以上者, 为无生活力的种子。

结果计算:

$$SV(\%) = \frac{N_1}{N} \times 100$$

式中: SV——种子生活力, %

N ——供试种子数

N_1 ——全部正常染色的种子数

允许差: 参照 GB/T 2930.4—2001 中的表 B1, 如果 4 次重复的数值之间均未超出最大容许差距, 则结果是可靠的, 4 次重复的平均数即为该样品的生活力。如果 4 次重复的数值之间超出最大容许差距, 则应进行再次试验。如果两次试验结果未超出最大容许差距, 则两次结果的平均数为该样品的生活力。如果两次结果超出最大容许差距, 则应用同样的方法进行第三次试验, 记录相符合的两次结果的平均数。

5.99 种子寿命

通过对室内常温条件下保存种质的种子发芽率的测定, 确定其种子寿命。单位为 a。

6 品质特性

6.1 水分含量

开花期采样。按照 GB/T 6435—86 饲料水分的测定方法进行。以%表示, 精

确到 0.01%。

仪器设备

- ①实验室用样品粉碎机或研钵；
- ②分样筛：孔径 0.45 mm(40 目)；
- ③分析天平：感量为 0.0001g；
- ④电热式恒温烘箱：可控制温度为 $105 \pm 2^\circ\text{C}$ ；
- ⑤称样皿：玻璃或铝质，直径 40mm 以上，高 25mm 以下；
- ⑥干燥器：用氯化钙(干燥试剂)或变色硅胶作干燥剂。

样品的选取和制备

- ①选取有代表性的样品，其原始样量应在 1000g 以上；
- ②用四分法将原始样品缩至 500g，风干后粉碎至 40 目，再用四分法缩至 200g，装入密封容器，放阴凉干燥处保存。

测定步骤

①洁净称样皿，在 $105 \pm 2^\circ\text{C}$ 烘箱中烘 1h，取出，在干燥器中冷却 30min，称准至 0.0002g，再烘干 30min，同样冷却，称重，直至两次重量之差小于 0.0005g 为恒重；

②用已恒重称样皿称取两份平行样品，每份 2~5g(含水重 0.1g 以上，样品厚度 4mm 以下)。准确至 0.0002g，不盖称样皿盖，在 $105 \pm 2^\circ\text{C}$ 烘箱中烘 3h(以温度到达 105°C 开始计时)，取出，盖好称样皿盖，在干燥器中冷却 30min，称重；

③再同样烘干 1h，冷却，称重，直至两次称重之重量差小于 0.002g。

结果计算

$$W(\%) = \frac{w_1 - w_2}{w_1 - w_0} \times 100$$

式中：W——水分含量，%

w_1 —— 105°C 烘干前样品及称样皿重，g

w_2 —— 105°C 烘干后样品及称样皿重，g

w_0 ——已恒重的称样皿重，g

允许差：每个样品应取两个平行样进行测定，以其算术平均值为结果。两个平行样测定值相差不得超过 0.2%，否则重做。

6.2 粗蛋白质含量

开花期采样。采用凯氏定氮法，按照 GB/T 6432—94 饲料中粗蛋白测定方法进行测定。以%表示，精确到 0.01%。

试剂

- ①硫酸 (GB 625): 化学纯, 含量为 98%, 无氮;
- ②混合催化剂: 0.4 g 硫酸铜, 5 个结晶水 (GB 665), 6 g 硫酸钾 (HG3—920) 或硫酸钠 (HG3—908), 均为化学纯, 磨碎混匀;
- ③氢氧化钠 (GB 629): 化学纯, 40%水溶液 (M/V);
- ④硼酸 (GB 628): 化学纯, 2%水溶液 (M/V);
- ⑤混合指示剂: 甲基红 (HG3—958) 0.1%乙醇溶液, 溴甲酚绿 (HG 3—1220) 0.5%乙醇溶液, 两溶液等体积混合, 在阴凉处保存期为三个月;
- ⑥盐酸标准溶液: 邻苯二甲酸氢钾法标定, 按 GB601 制备:
0.1 mol/L 盐酸 (HCl) 标准溶液: 8.3mL 盐酸 (GB 622), 分析纯, 注入 1 000mL 蒸馏水中);
0.02 mol/L 盐酸 (HCl) 标准溶液: 1.67mL 盐酸 (GB 622), 分析纯, 注入 1 000mL 蒸馏水中;
- ⑦蔗糖 (HG 3—1001): 分析纯;
- ⑧硫酸铵 (GB 1396): 分析纯, 干燥;
- ⑨硼酸吸收液: 1%硼酸水溶液 1 000mL, 加入 0.1%溴甲酚绿乙醇溶液 10 mL, 0.1%甲基红乙醇溶液 7 mL, 4%氢氧化钠水溶液 0.5 mL, 混合, 置阴凉处保存期为一个月 (全自动程序用)。

仪器设备

- ①实验室用样品粉碎机或研钵;
- ②分样筛: 孔径 0.45 mm (40 目);
- ③分析天平: 感量 0.0001g;
- ④消煮炉或电炉;
- ⑤滴定管: 酸式, 10、25 mL;
- ⑥凯氏烧瓶: 250 mL;
- ⑦凯氏蒸馏装置: 常量直接蒸馏式或半微量水蒸气蒸馏式;

⑧锥形瓶：150、250 mL；容量瓶：100 mL；

⑨消煮管：250 mL；

⑩定氮仪：以凯氏原理制造的各种类型半自动，全自动蛋白质测定仪。

样品的选取和制备

选取具有代表性的样品用四分法缩减至 200 g，粉碎后全部通过 40 目筛，装于密封容器中，防止样品成分的变化。

分析步骤

①仲裁法

样品的消煮：称取样品 0.5~1 g(含氮量 5~80 mg)准确至 0.0002 g，放入凯氏烧瓶中，加入 6.4 g 混合催化剂，与样品混合均匀，再加入 12 mL 硫酸和 2 粒玻璃珠，将凯氏烧瓶置于电炉上加热，开始小火，待样品焦化，泡沫消失后，再加强火力(360~410℃)直至呈透明的蓝绿色，然后再继续加热，至少 2 h。

氨的蒸馏(蒸馏步骤的检验见 GB/T 6432-94 附录 A)：

常量蒸馏法：将样品消煮液冷却，加入 60~100 mL 蒸馏水，摇匀，冷却。将蒸馏装置的冷凝管末端浸入装有 25 mL 硼酸吸收液和 2 滴混合指示剂的锥形瓶内。然后小心地向凯氏烧瓶中加入 50 mL 氢氧化钠溶液，轻轻摇动凯氏烧瓶，使溶液混匀后再加热蒸馏，直至流出液体积为 100 mL。降下锥形瓶，使冷凝管末端离开液面，继续蒸馏 1~2 min，并用蒸馏水冲洗冷凝管末端，洗液均需流入锥形瓶内，然后停止蒸馏。

半微量蒸馏法：将样品消煮液冷却，加入 20 mL 蒸馏水，转入 100 mL 容量瓶中，冷却后用水稀释至刻度，摇匀，做为样品分解液。将半微量蒸馏装置的冷凝管末端浸入装有 20 mL 硼酸吸收液和 2 滴混合指示剂的锥形瓶内。蒸汽发生器的水中应加入甲基红指示剂数滴，硫酸数滴，在蒸馏过程中保持此液为橙红色，否则需补加硫酸。准确移取样品分解液 10~20 mL 注入蒸馏装置的反应室中，用少量蒸馏水冲洗进样入口，塞好入口玻璃塞，再加 10 mL 氢氧化钠溶液，小心提起玻璃塞使之流入反应室，将玻璃塞塞好，且在入口处加水密封，防止漏气。蒸馏 4 min 降下锥形瓶使冷凝管末端离开吸收液面，再蒸馏 1 min，用蒸馏水冲洗

冷凝管末端，洗液均流入锥形瓶内，然后停止蒸馏。

(注：上述两种蒸馏法测定结果相近，可任选一种。)

蒸馏步骤的检验：精确称取 0.2 g 硫酸铵，代替样品，按常量蒸馏法或半微量蒸馏法步骤进行操作，测得硫酸铵含氮量为 $21.19 \pm 0.2\%$ ，否则应检查加碱、蒸馏和滴定各步骤是否正确。

滴定：用常量蒸馏法或半微量蒸馏法蒸馏后的吸收液立即用 0.1 mol/L 或 0.02 mol/L 盐酸标准溶液滴定，溶液由蓝绿色变成灰红色为终点。

②推荐法

样品的消煮：称取 0.5~1 g 样品(含氮量 5~80 mg)准确至 0.0002 g，放入消化管中，加 2 片消化片(仪器自备)或 6.4g 混合催化剂，12 mL 硫酸，于 420℃ 下在消煮炉上消化 1 h。取出放凉后加入 30 mL 蒸馏水。

氨的蒸馏：

采用全自动定氮仪时，按仪器本身常量程序进行测定。

采用半自动定氮仪时，将带消化液的管子插在蒸馏装置上，以 25 mL 硼酸为吸收液，加入 2 滴混合指示剂，蒸馏装置的冷凝管末端要浸入装有吸收液的锥形瓶内，然后向消煮管中加入 50 mL 氢氧化钠溶液进行蒸馏。蒸馏时间以吸收液体积达到 100mL 时为宜。降下锥形瓶，用蒸馏水冲洗冷凝管末端，洗液均需流入锥形瓶内。

滴定：用 0.1 mol/L 的标准盐酸溶液滴定吸收液，溶液由蓝绿色变成灰红色为终点。

空白测定

称取蔗糖 0.5 g，代替样品，进行空白测定，消耗 0.1 mol/L 盐酸标准溶液的体积不得超过 0.2mL。消耗 0.02 mol/L 盐酸标准溶液的体积不得超过 0.3 mL。

结果计算：

$$P(\%) = \frac{(V_2 - V_1) \times C \times 0.0140 \times 6.25}{m \times \frac{V'}{V}} \times 100$$

式中：P——粗蛋白质，%

V_2 ——滴定样品时所需标准酸溶液体积，mL

V_1 ——滴定空白时所需标准酸溶液体积，mL

C ——盐酸标准溶液浓度, mol/L

m ——样品质量, g

V ——样品分解液总体积, mL

V' ——样品分解液蒸馏用体积, mL

0.0140——每毫克当量氮的克数

6.25——氮换算成蛋白质的平均系数

允许差: 每个样品取两个平行样进行测定, 以其算术平均值为结果。当粗蛋白质含量在 25%以上时, 允许相对偏差为 1%; 当粗蛋白质含量在 10%~25%之间时, 允许相对偏差为 2%; 当粗蛋白质含量在 10%以下时, 允许相对偏差为 3%。

6.3 粗脂肪含量

开花期采样。测定采用索氏浸提法, 按照 BG/T 6433—94 饲料粗脂肪测定方法进行。以%表示, 精确到 0.01%。

试剂

无水乙醚(分析纯)。

仪器设备

- ①实验室用样品粉碎机或研钵;
- ②分样筛: 孔径 0.45mm;
- ③分析天平: 感量 0.0001g;
- ④电热恒温水浴锅: 室温~100℃;
- ⑤恒温烘箱: 50~200℃;
- ⑥索氏脂肪提取器(带球形冷凝管): 100 或 150mL;
- ⑦索氏脂肪提取仪;
- ⑧滤纸或滤纸筒: 中速, 脱脂;
- ⑨干燥器: 用氯化钙(干燥级)或变色硅胶为干燥剂。

样品的制备

选取有代表性的样品, 用四分法将样品缩减至 500g, 粉碎至 40 目, 再用四分法缩减至 200g, 于密封容器中保存。

分析步骤

- ①仲裁法: 使用索氏脂肪提取器测定。

索氏提取器(6.3.2.6)应干燥无水。抽提瓶(内有沸石数粒)在 $105\pm 2^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烘干60min,干燥器中冷却30min,称重。再烘干30min,同样冷却称重,两次重量之差小于0.0008g为恒重。

称取样品1~5g(准确至0.0002g),于滤纸筒中,或用滤纸包好,放入 105°C 烘箱中,烘干120min(或称测水分后的干样品,折算成风干样重),滤纸筒应高于提取器虹吸管的高度,滤纸包长度应以可全部浸泡于乙醚中为准。将滤纸筒或包放入抽提管,在抽提瓶中加入无水乙醚60~100mL,在 $60\sim 75^{\circ}\text{C}$ 的水浴(用蒸馏水)上加热,使乙醚回流,控制乙醚回流次数为每小时约10次,共回流约50次或检查抽提管流出的乙醚挥发后不留下油迹为抽提终点。

取出样品,仍用原提取器回收乙醚直至抽提瓶全部收完,取下抽提瓶,在水浴上蒸去残余乙醚。擦净瓶外壁。将抽提瓶放入 $105\pm 2^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烘干120min,干燥器中冷却30min,称重,再烘干30min,同样冷却称重,两次重量之差小于0.001g为恒重。

②推荐法:使用脂肪提取仪测定。依各仪器操作说明书进行测定。

结果计算:

$$F(\%) = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100$$

式中:F——粗脂肪,%

m ——风干样品重量,g

m_1 ——已恒重的抽提瓶重量,g

m_2 ——已恒重的盛有脂肪的抽提瓶重量,g

允许差:每个样品取两平行样进行测定,以其算术平均值为结果。粗脂肪含量在10%以上(含10%)时,允许相对偏差为3%;粗脂肪含量在10%以下时,允许相对偏差为5%。

6.4 粗纤维含量

开花期采样。测定采用酸、碱分次水解法,按照GB/T 6434—94 饲料中粗纤维测定方法进行。以%表示,精确到0.01%。

试剂

本方法试剂使用分析纯,水为蒸馏水。标准溶液按GB 601制备。

- ①硫酸(GB 625)溶液 0.128 ± 0.005 mol/L;
氢氧化钠标准溶液标定, GB 601;
- ②氢氧化钠(GB 629)溶液, 0.313 ± 0.005 mol/L;
邻苯二甲酸氢钾法标定 GB 601;
- ③酸洗石棉 HG 3—1062;
- ④95%乙醇(GB 679);
- ⑤乙醚(HG 3—1002);
- ⑥正辛醇(防泡剂)。

仪器设备

- ①实验室用样品粉碎机;
- ②分样筛: 孔径 1mm, (18 目);
- ③分析天平(感量 0.0001g);
- ④电加热器(电炉, 可调节温度); 电热恒温箱(烘箱, 可控制温度在 130°C);
- ⑤高温炉: 有高温计可控制温度在 $500\sim 600^{\circ}\text{C}$;
- ⑥消煮器: 有冷凝球的 600 mL 高型烧杯或有冷凝管的锥形瓶;
- ⑦抽滤装置: 抽真空装置, 吸滤瓶和漏斗。滤器使用 200 目不锈钢网或尼龙滤布;
- ⑧古氏坩埚: 30 mL, 预先加入酸洗石棉悬浮液 30 mL (内含酸洗石棉 0.2~0.3 g) 再抽干, 以石棉厚度均匀, 不透光为宜。上下铺两层玻璃纤维有助于过滤;
- ⑨干燥器(以氯化钙或变色硅胶为干燥剂);
- ⑩粗纤维测定仪器: 国内外生产的符合本标准测定原理, 且测定结果一致的仪器。

样品制备

将样品用四分法缩减至 200 g, 粉碎, 全部通过 1 mm 筛, 放入密封容器。

分析步骤

①仲裁法

称取 1~2g 样品, 准确至 0.0002g, 用乙醚脱脂(含脂肪小于 10%可不脱脂), 放入消煮器, 加浓度准确且已沸腾的硫酸溶液 200 mL 和 1 滴正辛醇, 立即

加热,应使其在 2min 内沸腾,调整加热器,使溶液保持微沸,且连续微沸 30min,注意保持硫酸浓度不变。样品不应离开溶液沾到瓶壁上。随后抽滤,残渣用沸蒸馏水洗至中性后抽干。用浓度准确且已沸腾的氢氧化钠溶液将残渣转移至原容器中并加至 200mL,同样准确微沸 30min,立即在铺有石棉的古氏坩埚上过滤,先用 25mL 硫酸溶液洗涤,残渣无损失地转移到坩埚中,用沸蒸馏水洗至中性,再用 15mL 乙醇洗涤,抽干。将坩埚放入烘箱,于 $130 \pm 2^\circ\text{C}$ 下烘干 2h,取出后在干燥器中冷却至室温,称重,再于 $550 \pm 25^\circ\text{C}$ 高温炉中灼烧 30min,取出后于干燥器中冷却至室温后称重。

②推荐法

称 1~2g 样品(脱脂步骤同手工方法)于 G_2 玻璃沙漏斗中,用坩埚夹将漏斗插入热萃取器;从顶部加入预先煮沸的硫酸溶液 200 mL 和两滴正辛醇,将加热旋钮开到最大位置,待溶液沸腾后,将旋钮调到合适位置,使溶液保持微沸 30min,抽滤,用沸蒸馏水洗至中性,加入预先煮沸的氢氧化钠溶液 200mL,同样准确微沸 30 min,抽滤,用沸蒸馏水洗至中性,将坩埚转移至冷萃取器,加入 25 mL 95%乙醇,抽干,将漏斗转移到烘箱,于 $130 \pm 2^\circ\text{C}$ 下烘干 2h,取出后在干燥器中冷却至室温,称重。再放入 $500 \pm 25^\circ\text{C}$ 高温炉中灼烧 1h,干燥器中冷却至室温后称重。型号不同的仪器具体操作步骤见该仪器使用说明书。

结果计算:

$$F(\%) = \frac{m_1 - m_2}{m} \times 100$$

式中: F——粗纤维, %

m_1 —— 130°C 烘干后坩埚及样品残渣重, g

m_2 —— 550°C (或 500°C) 灼烧后坩埚及样品残渣重, g

m ——试样(未脱脂)质量, g

允许差: 每个样品取两平行样进行测定,以算术平均值为结果。粗纤维含量在 10%以下,绝对值相差 0.4;粗纤维含量在 10%以上,相对偏差为 4%。

6.5 无氮浸出物含量

开花期采样。种质样品中无氮浸出物含量的计算方法为:从 100%的干物质中分别减去水分的百分含量、粗蛋白质的百分含量、粗脂肪的百分含量、粗纤

维的百分含量以及粗灰分的百分含量，剩余的值即为无氮浸出物含量。以%表示，精确到 0.01%。

6.6 粗灰分含量

开花期采样，按照 GB/T 6438—92 饲料中粗灰分的测定方法进行。以%表示，精确到 0.01%。

仪器与设备

- ①实验室用样品粉碎机或研钵；
- ②分样筛：孔径 0.45 mm(40 目)；
- ③分析天平：分度值 0.0001 g；
- ④高温炉：有高温计且可控制炉温在 $550 \pm 20^\circ\text{C}$ ；
- ⑤坩埚（瓷质）：容积 50 mL；
- ⑥干燥器：用氯化钙（干燥试剂）或变色硅胶作干燥剂；

样品的选取和制备

取具有代表性样品，粉碎至 40 目。用四分法缩减至 200 g，装于密封容器。防止样品的成分变化或变质。

测定步骤

将干净坩埚放入高温炉，在 $550 \pm 20^\circ\text{C}$ 下灼烧 30 min。取出，在空气中冷却约 1 min，放入干燥器冷却 30 min，称其质量。再重复灼烧，冷却、称量，直至两次质量之差小于 0.0005 g 为恒质。

在已恒质的坩埚中称取 2~5 g 试料(灰分质量 0.05 g 以上)，准确至 0.0002 g，在电炉上小心炭化，在炭化过程中，应将试料在较低温度状态加热灼烧至无烟，尔后升温灼烧至样品无炭粒，再放入高温炉，于 $550 \pm 20^\circ\text{C}$ 下灼烧 3 h。取出，在空气中冷却约 1 min，放入干燥器中冷却至 30 min，称取质量。再同样灼烧 1 h，冷却，称量，直至两次质量之差小于 0.001 g 为恒质。

结果计算：

$$A(\%) = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

式中：A——粗灰分，%

m_0 ——为恒质空坩埚质量，g

m_1 ——为坩埚加样品的质量，g

m_2 ——为灰化后坩埚加灰分的质量，g

允许差：每个样品应分两份进行测定，以其算术平均值为分析结果。粗灰分含量在 5%以上，允许相对偏差为 1%；粗灰分含量在 5%以下，允许相对偏差为 5%。

6.7 钙含量

开花期采样。测定采用高锰酸钾法（仲裁法）或乙二胺四乙酸二钠络合滴定法，按照国家标准 GB/T 6436—2002 饲料中钙的测定进行，以%表示，精确到 0.01%。

高锰酸钾法（仲裁法）

试剂和溶液

实验用水应符合 GB/T 6682 中三级用水规格，使用试剂除特殊规定外均为分析纯。

①硝酸；

②高氯酸：70%~72%；

③盐酸溶液：1+3；

④硫酸溶液：1+3；

⑤氨水溶液：1+1；

⑥草酸铵水溶液(42g/L)：称取 4.2g 草酸铵溶于 100 mL 水中；

⑦高锰酸钾标准溶液 [$c(1/5 \text{ KMnO}_4)=0.05 \text{ mol/L}$] 的配制按 GB/T 601 规定；

⑧甲基红指示剂(1g/L)：称取 0.1g 甲基红溶于 100 mL 95%乙醇中。

仪器和设备：

①实验室用样品粉碎机或研钵；

②分析筛：孔径 0.42 mm(40 目)；

③分析天平：感量 0.0001g；

④高温炉：电加热，可控温度在 $550 \pm 20^\circ\text{C}$ ；坩埚（瓷质）；

⑤容量瓶：100mL；滴定管：酸式，25mL 或 50mL；

⑥玻璃漏斗：直径 6cm；

⑦定量滤纸：中速，7cm~9cm；

⑧移液管：10，20mL；

⑨烧杯：200mL；

⑩凯氏烧瓶：250mL 或 500mL。

样品制备

取具有代表性样品至少 2Kg，用四分法缩减至 250 g，粉碎过 0.42mm 孔筛，混匀，装入样品瓶中，密闭，保存备用。

测定步骤

①样品分解：

干法：称取样品 2g~5g 于坩埚中，精确到 0.0002g，在电炉上小心炭化，再放入高温炉于 550℃ 下灼烧 3h（或测定粗灰分后连续进行），在盛灰坩埚中加入盐酸溶液 10mL 和浓硝酸数滴，小心煮沸，将此溶液转入 100mL 容量瓶中，冷却至室温，用蒸馏水稀释至刻度，摇匀，为样品分解液。

湿法：称取样品 2g~5g 于 250mL 凯氏烧瓶中，精确到 0.0002g，加入硝酸 10mL，加热煮沸，至二氧化氮黄烟逸尽，冷却后加入高氯酸 10mL，小心煮沸至溶液无色，不得蒸干（危险），冷却后加蒸馏水 50mL，且煮沸驱逐二氧化氮，冷却后移入 100mL 容量瓶中，用蒸馏水稀释至刻度，摇匀，为样品分解液。

②样品的测定：准确移取样品液 10mL~20mL（含钙量 20mg 左右）于 200mL 烧杯中，加蒸馏水 100mL，甲基红指示剂 2 滴，滴加氨水溶液至溶液呈橙色，若滴加过量，可加盐酸溶液调至橙色，再多加 2 滴使其呈粉红色（pH 2.5~3.0），小心煮沸，慢慢滴加热草酸铵溶液 10mL，且不断搅拌，如溶液变橙色，则应加补盐酸溶液使其呈红色，煮沸数分钟，放置过夜使沉淀陈化（或在水浴上加热 2h）。用定量滤纸过滤，1+50 的氨水溶液洗沉淀 6~8 次，至无草酸根离子（接滤液数毫升加硫酸溶液数滴，加热至 80℃，再加高锰酸钾溶液 1 滴，呈微红色，且半分钟不退色）。将沉淀和滤纸转入原烧杯中，加硫酸溶液 10mL，蒸馏水 50mL，加热至 75~80℃，用高锰酸钾标准溶液滴定，溶液呈粉红色，且半分钟不退色为终点。

同时进行空白溶液的测定。

结果计算：

$$\text{Ca}(\%) = \frac{(V - V_0) \times c \times 0.02}{m \times \frac{V'}{100}} \times 100 = \frac{(V - V_0) \times c \times 200}{m \times V'}$$

式中：Ca——含钙量，%

V ——样品消耗高锰酸钾标准溶液的体积，mL

V_0 ——空白消耗高锰酸钾标准溶液的体积，mL

C ——高锰酸钾标准溶液的浓度，mol/L

V' ——滴定时移取样品分解液体积，mL

m ——样品质量，g

0.02——与1.00mL高锰酸钾标准溶液 [$c(1/5 \text{ KMnO}_4) = 1.000 \text{ mol/L}$]

相当的以克表示的钙的质量

允许差：每个样品取两个平行样进行测定，以其算术平均值为结果。含钙量10%以上，允许相对偏差2%；含钙量在5%~10%时，允许相对偏差3%；含钙量1%~5%时，允许相对偏差5%；含钙量1%以下，允许相对偏差10%。

乙二胺四乙酸二钠络合滴定法

用乙二胺四乙酸二钠标准溶液络合滴定钙，可快速测定钙的含量。

试剂和溶液

实验用水应符合 GB/T 6682 中三级用水规格，使用试剂除特殊规定外均为分析纯。

①盐酸羟胺；

②三乙醇胺；

③乙二胺；

④盐酸水溶液：1+3；

⑤氢氧化钾溶液(200g/L)：称取20g氢氧化钾溶于100mL水中；

⑥淀粉溶液(10g/L)：称取1g可溶性淀粉入200mL烧杯中，加5mL水润湿，加95mL沸水搅拌，煮沸，冷却备用(现用现配)；

⑦孔雀石绿水溶液(1g/L)；

⑧钙黄绿素—甲基百里香草酚蓝指示剂：0.10g钙黄绿素与0.10g甲基麝香草酚蓝与0.03g百里香草酚酞、5g氯化钾研细混匀，贮存于磨口瓶中备用；

⑨钙标准溶液(0.0010g/mL)：称取2.4974g于105℃~110℃干燥3h的基

准物碳酸钙，溶于 40 mL 盐酸中，加热赶除二氧化碳，冷却，用水移至 1 000 mL 容量瓶中，稀释至刻度；

⑩乙二胺四乙酸二钠(EDTA)标准滴定溶液：称取 3.8 g EDTA 入 200mL 烧杯中，加 200 mL 水，加热溶解冷却后转至 1 000mL 容量瓶中，用水稀释至刻度；

EDTA 标准滴定溶液的标定：准确吸取钙标准溶液 10.0 mL 按样品测定法进行滴定)；

EDTA 滴定溶液对钙的滴定度按下式计算： $T = \frac{\rho \times V}{V_0}$

式中： T ——EDTA 标准滴定溶液对钙的滴定度，g/mL

ρ ——钙标准溶液的质量浓度，g/mL

V ——所取钙标准溶液的体积，mL

V_0 ——EDTA 标准滴定溶液的消耗体积，mL

所得结果应表示至 0.0001 g/mL

仪器和设备：同高锰酸钾法。

测定步骤

①样品分解：同高锰酸钾法。

②测定：准确移取样品分解液 5 mL~25 mL(含钙量 2 mg~25 mg)。加水 50mL，加淀粉溶液 10 mL、三乙醇胺 2 mL、乙二胺 1 mL、1 滴孔雀石绿，滴加氢氧化钾溶液至无色，再过量 10 mL，加 0.1 g 盐酸羟胺（每加一种试剂都须摇匀），加钙黄绿素少许，在黑色背景下立即用 EDTA 标准滴定溶液滴定至绿色荧光消失呈现紫红色为滴定终点。同时做空白实验。

结果计算：

$$\text{Ca}(\%) = \frac{T \times V_2}{m \times \frac{V_1}{V_0}} \times 100 = \frac{T \times V_2 \times V_0}{m \times V_1} \times 100$$

式中： Ca ——含钙量，%

T ——EDTA 标准滴定溶液对钙的滴定度，g/mL

V_0 ——样品分解液的总体积，mL

V_1 ——取样品分解液的体积，mL

V_2 ——样品实际消耗 EDTA 标准滴定溶液的体积，mL

m ——样品的质量, g

允许差: 每个样品取两个平行样进行测定, 以其算术平均值为结果。含钙量 10%以上, 允许相对偏差 2%; 含钙量在 5%~10%时, 允许相对偏差 3%; 含钙量 1%~5%时, 允许相对偏差 5%; 含钙量 1%以下, 允许相对偏差 10%。

6.8 磷含量

开花期采样。按照国家标准 GB/T 6437—2002 饲料中总磷的测定分光光度法进行。以%表示, 精确到 0.01%。

试剂

实验室用水应符合 GB/T 6682 中三级水的规格。本标准中所用试剂, 除特殊说明外, 均为分析纯。

①盐酸溶液: 1+1;

②硝酸;

③高氯酸;

④钒钼酸铵显色剂: 称取偏钒酸铵 1.25 g, 加水 200 mL 加热溶解, 冷却后再加入 250 mL 硝酸, 另称取钼酸铵 25 g, 加水 400 mL 加热溶解, 在冷却的条件下, 将两种溶液混合, 用水定容至 1000 mL, 避光保存, 若生成沉淀, 则不能继续使用;

⑤磷标准液 (将磷酸二氢钾在 105℃干燥 1h, 在干燥器中冷却后称取 0.2195 g 溶解于水, 定量转入 1 000 mL 容量瓶中, 加硝酸 3 mL, 用水稀释至刻度, 摇匀。即为 50 μ g/mL 的磷标准液。)

仪器和设备:

①实验室用样品粉碎机或研钵;

②分样筛: 孔径 0.42 mm(40 目);

③分析天平: 感量 0.0001g;

④分光光度计: 可在 400nm 下测定吸光度;

⑤比色皿: 1 cm;

⑥高温炉: 可控温度在 550 \pm 20℃; 瓷坩埚: 50 mL;

⑦容量瓶: 50、100、1 000 mL;

⑧移液管 (1.0、2.0、5.0、10.0 mL); 三角瓶: 200 mL;

⑨凯氏烧瓶：125、250 mL；

⑩可调温电炉：1000 W。

样品制备

取具有代表性样品 2 Kg，用四分法缩分至 250 g，粉碎过 0.42mm 孔筛，装入样品瓶中，密封保存备用。

测定步骤

①样品分解：

干法：称取样品 2g~5g（精确至 0.0002g）于坩埚中，在电炉上小心炭化，再放入高温炉，于 550℃ 下灼烧 3h（或测定粗灰分后继续进行），取出冷却，加入 10mL 盐酸溶液和硝酸数滴，小心煮沸约 10min，冷却后转入 100mL 容量瓶中，用蒸馏水稀释至刻度，摇匀，为样品分解液。

湿法：称取样品 0.5g~5g（精确至 0.0002g）于凯氏烧瓶中，加入硝酸 30mL，小心加热煮沸至黄烟逸尽，稍冷，加入高氯酸 10mL，继续加热至高氯酸冒白烟（不得蒸干），溶液基本无色，冷却，加蒸馏水 30mL，加热煮沸，冷却后，用水转移入 100mL 容量瓶中，并稀释至刻度，摇匀，为样品分解液。

②工作曲线的绘制：准确移取磷标准液 0.0、1.0、2.0、4.0、8.0、16.0mL 于 50mL 容量瓶中，各加钒钼酸铵显色剂 10mL，用水稀释到刻度，摇匀，常温下放置 10min 以上，以 0.0 mL 溶液为参比，用 1cm 比色皿，在 400nm 波长下用分光光度计测各溶液的吸光度。以磷含量为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制工作曲线。

③样品的测定：准确移取样品分解液 1.0mL~10.0mL（含磷量 50 μg~750 μg）于 50mL 容量瓶中，加入钒钼酸铵显色剂 10mL，用蒸馏水稀释到刻度，摇匀，常温下放置 10min 以上，用 1cm 比色皿在 400nm 波长下测定样品分解液的吸光度，在工作曲线上查得样品分解液的磷含量。

结果计算：

$$P(\%) = \frac{m_1 \times V}{m \times V_1 \times 10^6} \times 100 = \frac{m_1 \times V}{m \times V_1 \times 10^4}$$

式中：P——磷含量，%

m_1 ——由工作曲线查得样品分解液磷含量，μg

V ——样品分解液的总体积, mL

m ——样品的质量, g

V_1 ——样品测定时移取样品分解液体积, mL

允许差: 每个样品称取两个平行样进行测定, 以其算术平均值为测定结果。
含磷量 0.5%以下, 允许相对偏差 10%; 含磷量 0.5%以上, 允许相对偏差 3%。

6.9 天门冬氨酸含量

开花期采样。按照 GB/T 18246—2000 饲料中氨基酸的测定 进行 6.9~6.26 各类氨基酸含量的测定。以%表示, 精确到 0.01%。

仪器、设备

- ①实验室用样品粉碎机;
- ②样品筛: 孔径 0.25 mm;
- ③分析天平: 感量 0.0001 g;
- ④真空泵与真空规;
- ⑤喷灯或熔焊机;
- ⑥恒温箱或水解炉;
- ⑦旋转蒸发器或浓缩器: 可在室温至 65℃间调温, 控温精度±1℃, 真空度可低至 3.3×10^3 Pa (25 mm 汞柱);
- ⑧氨基酸自动分析仪: 茚三酮柱后衍生离子交换色谱仪, 要求各氨基酸的分辨率大于 90%。

试剂和材料

除特别注明者外, 所有试剂均为分析纯, 水为去离子水, 电导率小于 1 S/m。

①酸水解法:

常规水解:

酸解剂——盐酸溶液, $c(\text{HCl})=6 \text{ mol/L}$: 将优级纯盐酸与水等体积混合;
液氮或干冰-乙醇(丙酮);

稀释上机用柠檬酸钠缓冲液, pH2.2, $c(\text{Na}^+)=0.2 \text{ mol/L}$: 称取柠檬酸三钠 19.6 g, 用水溶解后加入优级纯盐酸 16.5 mL, 硫二甘醇 5.0 mL, 苯酚 1 g, 加水定容至 1 000 mL, 摇匀, 用 G4 垂熔玻璃砂芯漏斗过滤, 备用;

不同 pH 和离子强度的洗脱用柠檬酸钠缓冲液：按仪器说明书配制；

茛三酮溶液：按仪器说明书配制；

氨基酸混合标准储备液：含 L-天门冬氨酸、L-苏氨酸等 17 种常规蛋白水解液分析用层析纯氨基酸，各组分浓度 $c(\text{氨基酸})=2.50$ (或 2.00) $\mu\text{mol/mL}$ ；

混合氨基酸标准工作液：吸取一定量的氨基酸混合标准储备液置于 50 mL 容量瓶中，以稀释上机用柠檬酸钠缓冲液定容，混匀，使各氨基酸组分浓度 $c(\text{氨基酸})=100$ nmol/mL。

氧化水解：按 GB/T 15399—1994 中 7.1 氧化水解步骤操作。

②碱水解法：

碱解剂——氢氧化锂溶液 $c(\text{LiOH})=4$ mol/L：称取一水合氢氧化锂 167.8 g，用水溶解并稀释至 1 000 mL，使用前取适量超声或通氮脱气；

液氮或干冰-乙醇(丙酮)；

盐酸溶液， $c(\text{HCl})=6$ mol/L：将优级纯盐酸与水等体积混合；

稀释上机用柠檬酸钠缓冲液，pH4.3， $c(\text{Na}^+)=0.2$ mol/L：称取柠檬酸三钠 14.71 g、氯化钠 2.92 g 和柠檬酸 10.50 g，溶于 500 mL 水，加入硫二甘醇 5 mL 和辛酸 0.1 mL，最后定容至 1 000 mL；

不同 pH 和离子强度的洗脱用柠檬酸钠缓冲液与茛三酮溶液（按仪器说明书配制）；

L-色氨酸标准储备液：准确称取层析纯 L-色氨酸 102.0 mg。加少许水和数滴 0.1 mol/L 氢氧化钠，使之溶解，定量地转移至 100 mL 容量瓶中，加水至刻度。 $c(\text{色氨酸})=5.00$ $\mu\text{mol/mL}$ ；

氨基酸混合标准储备液：含 L-天门冬氨酸、L-苏氨酸等 17 种常规蛋白水解液分析用层析纯氨基酸，各组分浓度 $c(\text{氨基酸})=2.50$ (或 2.00) $\mu\text{mol/mL}$ ；

混合氨基酸标准工作液：准确吸取 2.00 mL L-色氨酸标准储备液和适量的氨基酸混合标准储备液，置于 50 mL 容量瓶中并用 pH4.3 稀释上机用柠檬酸钠缓冲液定容。该液色氨酸浓度为 200 nmol/mL，而其他氨基酸浓度为 100 nmol/mL。

③酸提取法：

提取剂——盐酸溶液， $c(\text{HCl})=0.1$ mol/L：取 8.3 mL 优级纯盐酸，用水定容至 1 000 mL，混匀；

不同 pH 和离子强度的洗脱用柠檬酸钠缓冲液：按仪器说明书配制；

茚三酮溶液：按仪器说明书配制；

蛋氨酸、赖氨酸和苏氨酸标准储备液：于三只 100 mL 烧杯中，分别称取蛋氨酸 93.3 mg、赖氨酸盐酸盐 114.2 mg 和苏氨酸 74.4 mg，加水约 50 mL 和数滴盐酸溶解，定量地转移至各自的 250 mL 容量瓶中，并用水定容。该液各氨基酸浓度 $c(\text{氨基酸})=2.50 \mu\text{mol/mL}$ ；

混合氨基酸标准工作液：分别吸取蛋氨酸、赖氨酸和苏氨酸标准储备液各 1.00 mL 于同一 25mL 容量瓶中，用水稀释至刻度。该液各氨基酸的浓度 $c(\text{氨基酸})=100\text{nmol/mL}$ 。

样品

取具有代表性样品，用四分法缩减分取 25 g 左右，粉碎并过 0.25 mm 孔径 (60 目) 筛，充分混匀后装入磨口瓶中备用；

酸水解样品按 GB/T 6432 测定蛋白质含量；

碱水解样品按 GB/T 6433 测定粗脂肪含量；

对于粗脂肪含量大于、等于 5% 的样品，需将脱脂后的样品风干、混匀，装入密闭容器中备用。而对粗脂肪小于 5% 的样品，则可直接称用未脱脂样品。

分析步骤

①样品前处理：

酸水解法：

常规水解法：称取含蛋白 7.5~25 mg 的试样（约 50~100 mg，准确至 0.1 mg）于 20 mL 安瓿中，加 10.00 mL 酸解剂，置液氮或干冰（丙酮）中冷冻，然后，抽真空至 7 Pa ($\leq 5 \times 10^{-2}$ mm 汞柱) 后封口。将水解管放在 $110 \pm 1^\circ\text{C}$ 恒温干燥箱中，水解 22~24 h。冷却，混匀，开管，过滤，用移液管吸取适量的滤液，置旋转蒸发器或浓缩器中， 60°C ，抽真空，蒸发至干，必要时，加少许水，重复蒸干 1~2 次。加入 3~5 mL pH2.2 稀释上机用柠檬酸钠缓冲液，使样液中氨基酸浓度达 50~250 nmol/mL，摇匀，过滤或离心。取上清液上机测定。

氧化水解法：按 GB/T 15399—1994 中 7.1 规定操作。

碱水解法：称取 50~100mg 的试样（准确至 0.1 mg），置于聚四氟乙烯衬管中，加 1.50 mL 碱解剂，于液氮或干冰乙醇（丙酮）中冷冻，而后将衬管插入水解玻管，抽真空至 7 Pa ($\leq 5 \times 10^{-2}$ mm 汞柱)，或充氮（至少 5min），封管。然

后，将水解管放入 $110 \pm 1^\circ\text{C}$ 恒温干燥箱，水解 20h。取出水解管，冷至室温，开管，用稀释上机用柠檬酸钠缓冲液将水解液定量地转移到 10 mL 或 25 mL 容量瓶中，加入盐酸溶液约 1.00mL 中和，并用上述缓冲液定容。离心或用 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤后，取清液贮于冰箱中，供上机测定使用。

酸提取法：称取 1~2 g 试样（蛋氨酸含量 $\leq 4 \text{ mg}$ ，赖氨酸可略高），加 0.1 mol/L 盐酸提取剂 30 mL，搅拌提取 15 min，沉放片刻。将上清液过滤到 100 mL 容量瓶中，残渣加水 25 mL，搅拌 3 min，重复提取两次，再将上清液过滤到上述容量瓶中，用水冲洗提取瓶和滤纸上的残渣，并定容。摇匀，清液供上机测定。若试样提取过程中，过滤太慢，也可离心 10 min (4000 r/min)。

②测定

用相应的混合氨基酸标准工作液按仪器说明书，调整仪器操作参数和（或）洗脱用柠檬酸钠缓冲液的 pH，使各氨基酸分辨率 $\geq 85\%$ ，注入制备好的试样水解液和相应的氨基酸混合标准工作液，进行分析测定。酸解液每 10 个单样为一组，碱解液和酸提取液每 6 个单样为一组，组间插入混合氨基酸标准工作液进行校准。

结果计算：分别用式 (1) 和式 (2) 计算氨基酸在试样中的质量百分比。

$$\omega_{1i} (\%) = \frac{A_{1i}}{m} \times 10^{-6} \times D \times 100 \quad (1)$$

$$\omega_2 (\%) = \frac{A_2}{m} \times (1 - F) \times 10^{-6} \times D \times 100 \quad (2)$$

式中： ω_{1i} ——用未脱脂试样测定的某氨基酸的含量，%

ω_2 ——用脱脂试样测定的某氨基酸的含量，%

A_{1i} ——每毫升上机水解液中氨基酸的含量，ng

A_2 ——每毫升上机液中色氨酸的含量，ng

m ——试样质量，mg

D ——试样稀释倍数

F ——样品中的脂肪含量，%

允许差：以两个平行试样测定结果的算术平均值为结果。对于酸解或酸提取液测定的氨基酸，当含量小于或等于 0.5% 时，两个平行试样测定值的相对偏

差不大于 5%；含量大于 0.5%时，相对偏差不大于 4%。对于色氨酸，当含量小于 0.2%时，两个平行试样测定值相对偏差不大于 0.03%；含量大于、等于 0.2%时，相对偏差不大于 5%。

用上述方法可以同时测出如下 17 种氨基酸的含量：天门冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、胱氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、组氨酸、精氨酸。

色氨酸的测定方法与上述 17 种氨基酸的测定有所不同，采用反相高效液相色谱（RP-HPLC）法。仪器、缓冲液和测定条件做如下变换：

反相液相色谱仪：具适当内径、长度和柱材粒度的 C18 柱、紫外（UV）或荧光检测仪。

流动相：乙酸钠缓冲液 [c(Na⁺)=0.0085mol/L 的乙酸钠溶液用乙酸调节 pH 至 4.0，用 0.45 μm 的滤膜过滤]+甲醇=95+5。

测定

条件：柱温为室温；流动相流速为 1.5mL/min；

检测：紫外检测波长为 280nm；

荧光检测：激发波长为 283nm；发射波长为 343nm；

进样量：15 μL。

其他所用设备及试剂、样品前处理、结果计算和允许差等均同上述 17 种氨基酸的测定方法。先从混合氨基酸标准工作液开始分析，每 6 个水解液为一组，组间插入氨基酸标准工作液进行校准。

6.10 苏氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.9。

6.11 丝氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.9。

6.12 谷氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.9。

6.13 脯氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.9。

6.14 甘氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.9。

6.15 丙氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

6.16 胱氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

6.17 缬氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

6.18 蛋氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

6.19 异亮氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

6.20 亮氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

6.21 酪氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

6.22 苯丙氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

6.23 赖氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

6.24 组氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

6.25 精氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

6.26 色氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

6.27 中性洗涤纤维

开花期采样。以%表示, 精确到 0.01%。测定方法如下。

仪器: 恒温干燥箱、马福炉、干燥器、古氏坩埚、抽滤装置、回流装置(250mL 圆底烧瓶、30cm 冷凝管)。

中性洗涤剂: 将 18.61g 乙二胺四乙酸二钠(EDTA)和 6.81g 硼砂放入烧杯中, 加水 500mL, 加热使之溶解; 在另一烧杯中放入 30g 十二烷基硫酸钠和 10mL

乙二醇单乙醚溶液，用 400mL 水加热溶解。将溶液混合，调节 pH6.9~7.1，转入 1 000mL 容量瓶中，加水定容。

操作步骤：

准确称取样品 1g，倒入 250mL 烧瓶底部，加入 100mL 中性洗涤剂，2mL 十氢化萘、0.5g 亚硫酸钠。在 5~10min 内煮沸，在微沸状态下回流 60min。

将古氏坩埚铺好酸洗石棉，置于 105℃ 烘箱中烘 3h，然后取出放入干燥器中冷却 30min，称重，直至恒重。将回流完毕的溶液用已称至恒重的古氏坩埚过滤，用热蒸馏水洗涤残留物 3~4 次，然后用丙酮洗 2 次。将古氏坩埚取下，置于 100℃ 烘箱中烘 8h，然后取出放入干燥器中冷却 30min，称重，直至恒重。

如果分析无灰中性洗涤纤维，则须将古氏坩埚放入 550~600℃ 马福炉中灼烧 3h，稍冷后放入干燥器中冷却 30min，称重，直至恒重。

结果计算：

$$\text{NDF}(\%) = \frac{w_2 - w_1}{w} \times 100$$

$$\text{无灰中性洗涤纤维 NDF}(\%) = \frac{w_2 - w_3}{w} \times 100$$

式中：NDF——中性洗涤纤维含量，%

w_1 ——空坩埚重，g

w_2 ——空坩埚重+中性洗涤纤维重，g

w_3 ——空坩埚重+灰分重，g

w ——样品重，g

注意事项：由于中性洗涤剂对蛋白质和淀粉的提取率不高，因而有少量混杂于中性洗涤纤维中，使测定结果偏高。

改进方法：将中性洗涤剂 pH 由 6.9~7.1 调整到 3.5 左右，或在中性洗涤剂处理之前，对于高蛋白质样品先用蛋白酶处理样品，对于高淀粉样品可先用 α -淀粉酶处理，再用中性洗涤剂处理。

6.28 酸性洗涤纤维

开花期采样。以%表示，精确到 0.01%。测定方法如下。

仪器和试剂：恒温干燥箱、马福炉、干燥器、砂芯玻璃坩埚(20m1)、古氏坩埚(30~50m1)、抽滤装置、回流装置(250m1 圆底烧瓶、30cm 冷凝管)，丙酮、十氢萘。

酸性洗涤剂: 将 10g 十六烷基三甲基溴化铵溶于标定过的 1 000mL 0.500mol / L 硫酸溶液。

酸性石棉: 将 20g 石棉放入盛有 170ml 蒸馏水的烧杯中, 加 280ml 浓硫酸, 混匀, 放置 2h, 冷却后用砂芯玻璃坩埚过滤, 用水洗涤至中性, 取出置于烘箱中干燥, 在 550~600℃ 马福炉中灼烧 16h, 冷却备用。

操作步骤:

准确称取样品 1g, 加 100mL 酸性洗涤剂和 2mL 十氢化萘, 装上冷凝管, 置于电炉上, 在 5~10min 内加热至沸, 从沸腾算起回流 60min。

将酸洗石棉放于 100mL 烧杯中, 加约 30mL 蒸馏水, 搅拌均匀, 倒入古氏坩埚中, 待水流尽, 放入 105℃ 烘箱中烘 3h, 取出置于干燥器中冷却 30min, 称重直至恒重。将回流完毕的溶液连同残渣倒入已称至恒重的古氏坩埚中, 抽滤, 用热蒸馏水洗至近中性, 再用丙酮洗涤至滤液无色。

将古氏坩埚取下, 置于 100~105℃ 烘箱中烘 3h, 然后取出放入干燥器中冷却 30min, 称重, 直至恒重。

如果分析无灰酸性洗涤纤维, 则须将古氏坩埚放入 550~600℃ 马福炉中灼烧 2h, 稍冷后放入干燥器中冷却 30min, 称重, 直至恒重。

结果计算:

$$\text{ADF}(\%) = \frac{w_2 - w_1}{w} \times 100$$

无灰酸性洗涤纤维 $\text{ADF}(\%) = \frac{w_2 - w_3}{w} \times 100$

式中: ADF——酸性洗涤纤维含量, %

w_1 ——空坩埚重, g

w_2 ——空坩埚重(g)+酸性洗涤纤维重, g

w_3 ——空坩埚重(g)+灰分重, g

w ——样品重, g

6.29 样品分析单位

样品分析单位名称的全名。

6.30 茎叶质地

茎、叶的柔软性。在青鲜时用感官测试, 分 3 级。

1 柔软(植物体硅质化程度轻, 茎叶柔软, 手抓青草时柔软而无扎

手感

觉)

2 中等(植物体硅质化程度居中,茎叶柔软度中等,感观测试居于1与2

之间)

3 略粗糙(植物体硅质化程度相对较重,茎叶略糙硬,手抓或触及时有扎

手感,用手折断其茎叶时难度稍大)

6.31 适口性

老芒麦种质牧草适口性的优劣是由多种因素所决定,如化学成份、发育时期、形态特点、家畜种类、种质类型及植株部位等。采用直接观察与访问调查方法。

根据采食状况,将老芒麦种质适口性分4个等级。

1 嗜食(家畜特别喜食,在任何情况下都挑选采食,表现很贪食)

2 喜食(家畜喜食,一般情况下家畜都吃,但不专门从草群中挑选着吃)

3 乐食(家畜经常采食,但不贪食喜爱)

4 采食(家畜不太喜食,只有在上述植物被吃掉后,才肯采食)

6.32 利用年限

牧草在田间建植后,地上部分可利用的年限。利用期限从牧草地上部分年产量达到最高年度产量40%的年份算起,至地上部分年产量降低到最高年度产量40%的年份止。单位为a。

7 抗逆性

7.1 抗旱性

老芒麦种质抗旱性鉴定的方法和指标很多,有田间目测法、苗期人工干旱胁迫法、生理指标测定法(电导法、脯氨酸测定法)等等。但在大量的实际鉴定中,田间目测法、苗期人工干旱胁迫法、电导法是通常采用的方法和指标,其特点是操作方便,测定结果更接近实际。故本标准推荐采用上述三种方法和指标。

田间目测法

田间条件下，在自然干旱季节或人工干旱条件下观察种质的抗旱性表现。实验小区面积至少 10m²，采用目测法调查植株萎蔫和受害情况，调查时间为下午 2~4 点，每个种质设 3 次重复（3 个小区）。根据植株抗旱性的强弱，一般分为 5 级，分级标准如下：

- 1 强（干旱期间植株能正常生长，出现萎蔫的植株少于 5%，为 5 分）
- 2 较强（5%~20%的植株茎叶呈现萎蔫状态，但仍能生长，为 4 分）
- 3 中等（21%~50%的植株茎叶呈现萎蔫状态，但植株并未停止生长，为 3 分）
- 4 弱（51%~80%以上植株呈现萎蔫状态且停止生长，并有少数植株死亡，为 2 分）
- 5 最弱（全部植株呈现萎蔫状态并停止生长，小区内有 30%以上植株死亡，为 1 分）

苗期人工干旱胁迫法（反复干旱胁迫法）

用消毒的草炭和蛭石 3: 1 混合作为基质，育苗盘大小为 32×45×15cm，每份种质设 3 次重复，每个重复 20~30 株苗，株距 2.5cm，行距 6cm。在幼苗生长到 3~4 叶期或分蘖期之前正常管理，保持土壤湿润。于 3~4 叶期后停止供水，当供试植株 75%表现萎蔫症状时，浇水并恢复正常管理，以此类推重复 2 次之后，调查所有供试种质的恢复生长情况，比较不同种质在两次干旱处理后的成活率，以此评价不同种质的抗旱性。根据植株的存活率，将抗旱性分为 5 级：

- 1 强（干旱后最终存活率在 81%以上，为 5 分）
- 2 较强（干旱后最终存活率在 61%~80%，为 4 分）
- 3 中等（干旱后最终存活率在 41%~60%，为 3 分）
- 4 弱（干旱后最终存活率在 21%~40%以下，为 2 分）
- 5 最弱（干旱后最终存活率在 20%以下，为 1 分）

电导法

采用苗期人工干旱胁迫下的膜相对电导率进行评价。

采用盆栽法育苗，每份种质设 3 次重复（即 3 盆），每个重复 20~30 株苗，株距 2.5cm，行距 6cm。于 3~4 叶期后停止供水，干旱胁迫到鉴定材料幼苗 50%

出现严重萎焉、部分叶子出现叶烧伤、叶边缘变黄或个别叶出现枯死时，进行不同种质细胞膜相对透性的测定。即每份种质取样 1g，无离子水冲洗两次后，滤纸吸干水分，用剪刀剪成 1cm 小段放入试管中，加 8ml 无离子水。真空渗入 15 分钟，静止半小时后用电导仪测定初电导率(E1)。然后，把试管放入沸水中煮 10 分钟（加塞），冷却到室温后，测定煮沸电导率(E2)。细胞膜透性变化用相对电导率表示：

$$RCR (\%) = \frac{E1}{E2} \times 100$$

式中： RCR——相对电导率（电解质的相对外渗率），%

E1——初电导率

E2——煮沸电导率

电导率测定时，每份种质每盆做 2 次重复，3 盆共计 6 次重复。根据相对电导率的大小，将老芒麦种质的抗旱性分为 5 级：

- 1 强（相对电导率最低，为 5 分）
- 2 较强（相对电导率较低，为 4 分）
- 3 中等（相对电导率居中，为 3 分）
- 4 弱（相对电导率较高，为 2 分）
- 5 最弱（相对电导率最高，为 1 分）

老芒麦种质抗旱性推荐采用上述三种参考方法和指标进行测定，而后依据三种方法和指标的鉴定得分，综合排序出：强、较强、中等、弱、最弱。

7.2 抗寒性

老芒麦种质抗寒性测定方法和指标很多，有田间目测法、盆栽幼苗冷冻法、电导法、根系可溶性糖浓度测定等等。但在大量的实际鉴定中，田间目测法、盆栽幼苗冷冻法、电导法是通常采用的方法和指标，其特点是操作方便，测定结果更接近实际。故本标准推荐采用上述三种参考方法和指标。

田间目测法

在初冬及早春季节调查植株冻害及越冬率。实验小区面积至少 10m²，采用目测法调查植株的越冬率。每个观察材料设 3 次重复（3 个小区），各小区采用 5 点取样法，每点随机取 20~30 株，计算越冬率。根据植株越冬率，将抗寒性分为 5 级，分级标准如下：

- 1 强（越冬率大于 81%，为 5 分）
- 2 较强（越冬率在 61%~80%，为 4 分）

- 3 中等（越冬率在 41%~60%，为 3 分）
- 4 弱（越冬率在 20%~40%，为 2 分）
- 5 最弱（越冬率小于 20%，为 1 分）

盆栽幼苗冷冻法

属耐寒性的苗期鉴定法。将种子播在装有草炭和蛭石（3：1）的育苗盘内，育苗盘大小为 32×45×15cm，每份种质设 3 次重复，每个重复 20~30 株苗，株距 2.5cm，行距 6cm。置于人工气候室内育苗。出苗前温度 25℃，出苗后温度为白天 25~28℃，晚间 15~20℃，每天光照 16h，正常浇水。幼苗生长到 3~4 叶期或分蘖期时，置于 5~15℃，低温条件下胁迫 7~10d。观察幼苗的冷害症状，比较不同材料在冷害处理后的植株存活率，以此评价不同材料的抗寒性。根据植株的存活率，将抗寒性分为 5 级：

- 1 强（存活率在 81%以上，为 5 分）
- 2 较强（存活率在 61%~80%，为 4 分）
- 3 中等（存活率在 41%~60%，为 3 分）
- 4 弱（存活率在 20%~40%，为 2 分）
- 5 最弱（存活率在 20%以下，为 1 分）

电导法（离体叶低温处理）

参考全国畜牧兽医总站“牧站（草）[2003]2 号文件”中的《牧草抗寒性鉴定方法》执行。

植物组织逐步受到零下低温胁迫后，细胞质膜受害逐步加重，透性发生变化，细胞内含物外渗，使浸提液电导率增高。活组织受害越重，离子外渗量越大，电导率也越高，表明植物抗寒性越弱，反之，则越强。

①幼苗培养——采用沙基培养。试验种子用 5%的 NaCl 消毒，播种在塑料培养箱（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 8000-8500lx，光期 12 小时。

此外，育苗也可采用塑料棚内塑料箱育苗，也可在田间育苗。

②低温处理——待幼苗长出 6-7 片叶后，每一种质采取幼苗 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 2 小时。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、5 小时) 处理, 至少 6 次重复。采用控温仪监控温度, 温度波动范围 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。低温处理后的幼苗在 5°C 下放置 1 小时后, 进行细胞膜相对透性的测定。

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

③相对电导率——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 15 分钟, 振荡 10 分钟, 1 小时后测定初电导率 (E1)。然后, 把试管放入沸水中煮 10 分钟 (加塞), 冷却到室温后, 测定煮沸电导率 (E2)。细胞膜透性变化用相对电导率表示:

$$\text{RCR} (\%) = \frac{E1}{E2} \times 100$$

式中: RCR——相对电导率 (电解质的相对外渗率), %

E1——初电导率

E2——煮沸电导率

根据相对电导率的大小, 将老芒麦种质的抗寒性分为 5 级:

- 1 强 (相对电导率最低, 为 5 分)
- 2 较强 (相对电导率较低, 为 4 分)
- 3 中等 (相对电导率居中, 为 3 分)
- 4 弱 (相对电导率较高, 为 2 分)
- 5 最弱 (相对电导率最高, 为 1 分)

老芒麦种质抗寒性推荐采用上述 3 种参考方法测定, 而后综合排序出: 强、较强、中等、弱、最弱。

7.3 耐盐性

耐盐性可采用芽期鉴定法、盆栽法和生理测定法等。可参考全国畜牧兽医总站“牧站(草)[2003]2 号文通知”中的《牧草耐盐性鉴定方法(试行)》测得牧草耐盐性。

种子发芽期耐盐鉴定方法

①用化学纯 NaCl 配成 0%(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。

②在口径为 120mm 的培养器内, 放入 5 克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,

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℃ 16 个小时和 28℃ 8 个小时进行培养，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 10 天后，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。

$$GR(\%) = \frac{GR_1}{GR_2} \times 100$$

试中：GR——相对发芽率，%

GR₁——某一含盐量处理发芽率；%

GR₂——对照发芽率，%

③每份鉴定材料 4 个重复，每个重复 100 粒种子，共 400 粒种子。

④依据不同种质的发芽率及相对发芽率评定其种子发芽期的耐盐性（以半致死浓度为临界值）。并将种质耐盐性分为 5 级：

- 1 强（能耐 1.5% 以上 NaCl 含量的浓度，为 5 分）
- 2 较强（能耐 1.1%~1.5% NaCl 含量的浓度，为 4 分）
- 3 中等（能耐 0.7%~1.0% NaCl 含量的浓度，为 3 分）
- 4 弱（能耐 0.3%~0.6% NaCl 含量的浓度，为 2 分）
- 5 最弱（对 NaCl 盐的耐性在 0.3% 浓度以下，为 1 分）

苗期盆栽耐盐性鉴定方法

①盆土准备：取大田土壤过筛，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：试验要防止雨淋影响。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）、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%、1.2%、1.6%、2.0% 9 种不同处理的 NaCl 溶液进行处理，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 盆。

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 30 天时结束试验，观测

记载各处理的存活苗数，株高及植株干重。

⑤结果分析：根据各个种质不同处理存活苗数，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：

$$H(W)(\%) = \frac{H_{ck}(W_{ck}) - H_1(W_1)}{H_{ck}(W_{ck})} \times 100$$

式中：H——平均相对株高，%

H_{ck} ——对照平均株高

H_1 ——处理平均株高

W——平均相对干重，%

W_{ck} ——对照平均干重

W_1 ——处理平均干重

根据试验数据资料，可将种质耐盐性分为5级：

- 1 强（可耐 1.5%以上 NaCl 含量的浓度，为 5 分）
- 2 较强（可耐 1.1%~1.5%NaCl 含量的浓度，为 4 分）
- 3 中等（可耐 0.7%~1%NaCl 含量的浓度，为 3 分）
- 4 弱（可耐 0.3%~0.6%NaCl 含量的浓度，为 2 分）
- 5 最弱（对 NaCl 盐的耐性在 0.3%浓度以下，为 1 分）

电导法

按“苗期盆栽耐盐性鉴定方法”进行盆土准备、播种定苗和加盐处理，在处理 30 天之内，定期称取测试种质的叶（或根）0.3~0.5g，用去离子水洗净，以每分钟 2 000 转离心 10min，如此 3 次，然后加入 10ml 去离子水，真空抽气 10min 后在室温下间隔振荡 30min。

用电导仪测量外渗液的电导率值 T_1 ，将上述材料于沸水浴中加热 10min，冷却至室温后再次测定外渗液的电导率值 T_2 ，重复 3 次。细胞质膜透性用不同盐浓度处理下相对电导率（电解质相对外渗率）的平均值表示，按下式进行计算：

$$RCR(\%) = \frac{T_1}{T_2} \times 100$$

式中：RCR——相对电导率（电解质的相对外渗率），%

T_1 ——初电导率

T₂——煮沸电导率

伤害率按下式进行计算：

$$D(\%) = \left(\frac{T_1}{T_2} - \frac{T_{ck1}}{T_{ck2}} \right) \times 100$$

式中：D——伤害率，%

T₁——处理初电导率

T₂——处理煮沸电导率

T_{ck1}——对照初电导率

T_{ck2}——对照煮沸电导率

根据伤害率大小，将种质耐盐性分为5级：

- 1 强（伤害率最小，为5分）
- 2 较强（伤害率较小，为4分）
- 3 中等（伤害率居中，为3分）
- 4 弱（伤害率较高，为2分）
- 5 最弱（伤害率最高，为1分）

老芒麦种质耐盐性推荐采用上述三种参考方法进行测定，而后综合排序出：强、较强、中等、弱、最弱。

7.4 耐霜冻性

老芒麦种质的耐霜冻性是在一个地区的晚霜期或早霜期，选择有代表性小区，重复二次，目测种质受冻害状况。也可以采用田间直接鉴定的霜期种质受冻害状况指标，结合实验室间接鉴定的霜期种质相对电导率指标进行综合分析评价，确定参试材料耐霜冻性差异及其程度。老芒麦种质的耐霜冻性一般分5级：

- 1 强（在霜冻期，无受冻害迹象，为5分）
- 2 较强（在霜冻期，植物体少数受冻，但无死亡，为4分）
- 3 中等（在霜冻期，植物体部分受冻，个别死亡，为3分）
- 4 弱（在霜冻期，地上植株体受冻，部分死亡，为2分）
- 5 最弱（在霜冻期，地上植株体受冻，大部分死亡，为1分）

7.5 耐涝性

耐涝性具体测定的参考方法为：

①设置防雨设施或简易塑料箱（长×宽×高为 67cm×48cm×16cm）、塑料盆或花盆，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（胚根刚露出）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，3 次重复。

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。当幼苗生长到三叶期或分蘖期时，即可移入防雨设施内（上部进行防水处理），往土壤中灌水，使材料始终保持在水淹状态。待出现涝害时，对种质进行涝害调查。一般分为 5 级：

- 1 强（20%以下叶片受害，为 5 分）
- 2 较强（20%~40%叶片受害，为 4 分）
- 3 中（41%~60%叶片受害，为 3 分）
- 4 弱（61%~80%叶片受害，为 2 分）
- 5 最弱（80%以上叶片受害，为 1 分）

7.6 耐热性

耐热性可参考目测法和盆栽法进行测定。

目测法

在自然条件下最炎热的季节之后调查植株越夏存活率。实验小区面积至少 10m²，并记载小区栽培管理状况。用目测法调查植株越夏存活率，每个观察材料设 3 次重复（3 个小区），采用 5 点取样法，每点随机取 20~30 株，统计植株的越夏率。根据越夏率，将植株的耐热性分为 5 级，分级标准如下：

- 1 强（越夏存活率大于 90%，为 5 分）
- 2 较强（越夏存活率在 76%~90%，为 4 分）
- 3 中等（越夏存活率 51%~75%，为 3 分）
- 4 弱（越夏存活率 30%~50%，为 2 分）
- 5 最弱（越夏存活率小于 30%，为 1 分）

盆栽法

采用苗期盆栽耐热性鉴定。将种子播在装有草炭和蛭石（3:1）的育苗盘内，

育苗盘大小为 32×45×15cm，每份种质设 3 次重复，每个重复 20~30 株苗，株距 2.5cm，行距 6cm。置于人工气候室内育苗。出苗前温度 25℃，出苗后温度为白天 25~28℃，晚间 15~20℃，每天光照 16h，定期浇水。幼苗生长到 3~4 叶期或分蘖期时，进行高温处理，温度设为 35℃~40℃，处理到部分鉴定材料整株叶片呈现萎蔫枯死时停止处理，处理期间正常浇水。热胁迫结束后调查幼苗的热害症状，根据热害症状，将老芒麦种质的抗热性分为 5 级：

- 1 强（无热害症状或 10%以下的叶片变黄，为 5 分）
- 2 较强（热害症状较轻，10%~30%的叶片变黄，为 4 分）
- 3 中等（热害症状中等，31%~60%的叶片变黄，为 3 分）
- 4 弱（热害症状较为明显，60%以上叶片变黄，部分叶片枯死，为 2 分）
- 5 最弱（热害症状极为严重，整株叶片萎蔫枯死，为 1 分）

7.7 抗倒伏性

以整个试验小区为对象，小区面积至少 10m²，每个观察种质设 3 次重复（3 个小区）。采用田间目测法将种质抗倒伏性分为 5 级：

- 1 强（全年不见倒伏，为 5 分）
- 2 较强（偶见个别植株倒伏，倒伏植株在 10%以下，为 4 分）
- 3 中等（遇到大风、大雨等时，10%~30%的植株倒伏，为 3 分）
- 4 弱（遇大风、大雨等时，31%~50%的植株倒伏，为 2 分）
- 5 最弱（遇大风、大雨等时，50%以上的植株倒伏，为 1 分）

7.8 耐酸性

在自然或人为提供的酸性土壤上种植后，根据长势和存活状况用目测法分 5 级：

- 1 强（能正常生长，为 5 分）
- 2 较强（生长较为正常，为 4 分）
- 3 中等（生长状况一般，为 3 分）
- 4 弱（生长状况较差，为 2 分）
- 5 最弱（生长状况极差，为 1 分）

7.9 耐贫瘠性

在贫瘠土壤上播种后，用目测法分 5 级：

- 1 强（能正常生长，为5分）
- 2 较强（生长较为正常，为4分）
- 3 中等（生长状况一般，为3分）
- 4 弱（生长状况较差，为2分）
- 5 最弱（生长状况极差，为1分）

7.10 耐践踏

人为施加模拟践踏处理或动物践踏后。用目测法分5级：

- 1 强（能正常生长，为5分）
- 2 较强（生长较为正常，为4分）
- 3 中等（生长状况一般，为3分）
- 4 弱（生长状况较差，为2分）
- 5 最弱（生长状况极差，为1分）

7.11 抗风沙

对我国北方多风沙地区，以建植第二年的试验小区为观测对象。春季记录小区内返青牧草的株丛盖度（基部盖度），以%表示，精确到整位数。待风沙季节过去后，调查小区内存活牧草的株丛盖度（基部盖度）。以%表示，精确到整位数。两个盖度的比值为牧草经历风沙后的当年建植率。计算方法如下：

$$PS(\%) = \frac{C_2}{C_1} \times 100$$

式中： PS ——当年建植率，%

C_1 ——返青牧草的株丛盖度，%

C_2 ——风沙季节过后存活牧草的株丛盖度，%

以建植率判定该牧草抗风沙的能力，分5级。

- 1 强（建植率 $>90\%$ ，为5分）
- 2 较强（建植率为 $71\% \sim 90\%$ ，为4分）
- 3 中等（建植率为 $51\% \sim 70\%$ ，为3分）
- 4 弱（建植率为 $30\% \sim 50\%$ ，为2分）
- 5 最弱（建植率 $<30\%$ ，为1分）

8 抗病虫性

8.1 白粉病抗性

老芒麦种质对白粉病抗性鉴定的参考方法有田间直接鉴定和人工接种鉴定。

田间直接鉴定

在病害发生较严重的季节调查种质病害发生情况。每个观察材料设 3 次重复 (3 个小区)，各小区采用 5 点取样法，每点随机调查 20~40 株 (枝)，计算发病率，根据病害的严重程度和发病率，将种质的抗病性分为 5 级，分级标准如下：

1 高抗 (HR) (观察小区内未发现病原体，或发现病原体但发病率在 5%

以下，为 5 分)

3 抗病 (R) (发病率在 5%~10%，为 4 分)

5 中抗 (MR) (发病率在 11%~20%，为 3 分)

7 感病 (S) (发病率在 21%~50%，为 2 分)

9 高感 (HS) (发病率在 50%以上，为 1 分)

发病率计算公式为：

$$DR (\%) = \frac{P_d}{P} \times 100$$

式中：DR——发病率，%

P ——调查总株 (枝) 数

P_d ——发病株 (枝) 数

人工接种鉴定法

具体步骤如下：

①播种基质的准备：用草炭和蛭石作为基质，并按 3:1 比例混合均匀，然后于 121℃ 下高压灭菌 2 h。

②育苗：将消毒处理后的种子播在装有草炭和蛭石 (3: 1) 的塑料花盆内，育苗盘大小为 32×45×15cm，每份种质设 3 次重复，每个重复 20~30 株苗，株距 2.5cm，行距 6cm。置于 20~25℃ 温室内育苗。

③接种液的制备：从田间采集自然发病的早期病叶上的孢子或菌丝体制备接种液，或用培养基纯化培养后的菌种制备接种液。接种液的浓度按不同病害的接种要求确定。一般白粉病孢子悬浮液的浓度为 $10^5 \sim 4 \times 10^5$ 。

④接种方法:

接种方法应根据病害发生的特点确定,一般采用喷雾法,接种时根据病菌对环境条件的要求确定接种温度和湿度。

⑤病害调查与评价

接种后直到病害发生时调查发病情况。记录病株数和病情,比较不同种质在接种后植株的发病率,以此评价不同种质的抗病性。根据植株的发病率(必要时,可结合病情指数),将抗病性分为5级:

- 1 高抗(HR)(发病率在30%以下)
- 3 抗病(R)(发病率在30%~49%)
- 5 中抗(MR)(发病率在50%~74%)
- 7 感病(S)(发病率在75%~90%)
- 9 高感(HS)(发病率在90%以上)

发病率计算公式为:

$$DR(\%) = \frac{P_d}{P} \times 100$$

式中:DR——发病率, %

P ——调查总株(枝)数

P_d ——发病株(枝)数

若用两种方法鉴定,则根据两种鉴定结果,将不同种质的抗病性强弱进行综合排序,分为5级:高抗(HR)、抗病(R)、中抗(MR)、感病(S)和高感(HS)。

8.2 锈病抗性

锈病鉴定的参考方法有田间直接鉴定和人工接种鉴定。

田间直接鉴定:

在不同种质病害发生时期选取代表性小区,重复3次,观察其受病害状况,根据受害情况分为5级。

- 1 高抗(HR)(观察小区内未发现病原体)
- 3 抗病(R)(观察小区内感染植株在5%以下,个别植株的部分叶片、

茎、果实或花序出现病原体，但还没有影响到植株生长)

5 中抗 (MR) (在观察小区内 5%-10%植株感染病原体，影响到植株生长)

长)

7 感病 (S) (在观察小区内 10%-15%植株被感染病原体，影响植株生长较

严重)

9 高感 (HS) (在观察小区内 15%以上的植株都被感染，甚至停止生

长)

人工接种鉴定:

可参考 8.1 的方法。

8.3 麦角病抗性

麦角病鉴定的参考方法有田间直接鉴定和人工接种鉴定。但由于麦角菌侵染的是穗部花器，田间直接鉴定更易操作。

田间直接鉴定

在不同种质病害发生时期选取代表性小区，重复 3 次，观察其受病害状况，根据受害情况分为 5 级。

1 高抗 (HR) (观察小区内未发现病原体)

3 抗病 (R) (观察小区内感染植株在 5%以下，感病植株的部分花序出

现病原体)

5 中抗 (MR) (在观察小区内 5%-10%植株感染病原体，感病植株的大部

分花序出现病原体)

7 感病 (S) (在观察小区内 10%-15%植株被感染病原体，感病植株的大部

分花序出现病原体)

9 高感 (HS) (在观察小区内 15%以上的植株都被感染，感病植株

的全

部花序出现病原体)

人工接种鉴定:

在开花期,取提前培养好的麦角菌子囊孢子进行接种。注意观察各种质的感病时间,接种后 10 天调查供试材料的发病情况,按不同病级记载病穗数并计算病情指数。种质群体对麦角病的抗性依开花期病情指数分 5 级。即高抗(HR)、抗病(R)、中抗(MR)、感病(S)、高感(HS)。

必要时,计算相对病指,用以比较不同批次试验材料的抗病性。

8.4 根腐病抗性

老芒麦种质植株对根腐病的抗性强弱。参考方法有田间直接鉴定。

田间直接鉴定:

在不同种质病害发生时期选取代表性小区,重复 3 次,观察其受病害状况,根据受害情况分为 5 级。

- 1 高抗(HR)(观察小区内未发现病原体)
- 3 抗病(R)(观察小区内感染植株在 5%以下,但还没有影响到植株生长)
- 5 中抗(MR)(在观察小区内 5%-10%植株感染病原体,影响到植株生长)
- 7 感病(S)(在观察小区内 10%-15%植株被感染病原体,影响植株生长较严重)
- 9 高感(HS)(在观察小区内 15%以上的植株都被感染,甚至停止生长)

8.5 粘虫抗性

老芒麦种质对粘虫的抗性和受害程度以目测方法判断。

- 1 高抗(HR)(观察区内未发现粘虫的成虫、幼虫、卵或发现粘虫,

但

很少)

- 3 抗 (R) (观察区内发现粘虫, 但虫害还没有影响到植株生长)
- 5 中抗 (MR) (观察区内发现粘虫, 虫害影响植株生长程度较轻)
- 7 低抗 (S) (观察区内虫害影响到植株生长)
- 9 不抗 (HS) (观察区内虫害严重影响到植株生长, 甚至造成死亡)

8.6 麦穗夜蛾抗性

老芒麦种质对麦穗夜蛾的抗性和受害程度以目测方法判断。

- 穗
- 1 高抗 (HR) (观察区内未发现麦穗夜蛾的成虫、幼虫、卵或发现麦穗夜蛾, 但很少)
 - 3 抗 (R) (观察区内发现麦穗夜蛾, 但虫害还没有影响到植株生长)
 - 5 中抗 (MR) (观察区内发现麦穗夜蛾, 虫害影响植株生长程度较轻)
 - 7 低抗 (S) (观察区内虫害影响到植株生长)
 - 9 不抗 (HS) (观察区内虫害严重影响到植株生长, 甚至造成死亡)

8.7 草地秆蝇类抗性

老芒麦种质对草地秆蝇类的抗性和受害程度以目测方法判断。

- 草
- 1 高抗 (HR) (观察区内未发现草地秆蝇类的成虫、幼虫、卵或发现草地秆蝇类, 但很少)
 - 3 抗 (R) (观察区内发现草地秆蝇类, 但虫害还没有影响到植株生长)
 - 5 中抗 (MR) (观察区内发现草地秆蝇类, 虫害影响植株生长程度较轻)
 - 7 低抗 (S) (观察区内虫害影响到植株生长)
 - 9 不抗 (HS) (观察区内虫害严重影响到植株生长, 甚至造成死亡)

8.8 蚜虫类抗性

老芒麦种质对蚜虫类的抗性和受害程度以目测方法判断。

1 高抗(HR)(观察区内未发现蚜虫的成虫、若虫、卵或发现蚜虫,但

很少)

3 抗(R)(观察区内发现蚜虫,但虫害还没有影响到植株生长)

5 中抗(MR)(观察区内发现蚜虫,虫害影响植株生长程度较轻)

7 低抗(S)(观察区内虫害影响到植株生长)

9 不抗(HS)(观察区内虫害严重影响到植株生长,甚至造成死亡)

以上老芒麦种质抗虫性鉴定方法为参考方法,还需要在抗虫性鉴定工作的实践中不断修正和完善。老芒麦种质抗虫性鉴定亦可采用:在虫害发生较严重的季节日测植物受害的情况,同时记载虫害的种类,危害时期,寄主的生育期,及气候条件(温度和湿度)。每个观察材料设3次重复(3个小区),各小区采用5点取样法,每点随机调查20~40株(枝),统计虫口数量及植株的受害情况,计算植株受害率,根据植物受害率,将植物的抗虫性分为5级。

9 其他特征特性

9.1 结实率

蜡熟期,从每一试验小区内随机抽样10株,从每株上小心剪下一个有代表性的结实穗,分别测定每一花序的小花总数(包括不孕小花)和结实的小花数。用以下公式计算结实率,取平均数。以%表示,精确到0.1%。

$$SSR = \frac{N_1}{N} \times 100\%$$

式中:SSR ——结实率, %

N ——每一花序的小花总数

N_1 ——每一花序结实的小花数

9.2 染色体倍性

正常老芒麦种质体细胞染色体倍性为 $2n=4X=28$,四倍体,染色体基数为7。但若保存种质为由花粉等未经受精的性细胞培育而来的单倍体材料时,则为二倍体;若保存种质为经过辐射诱变等特殊处理的材料,或采自高山等特殊地理生境

中的材料时，可能会有非整倍体。老芒麦种质所含染色体倍性鉴定是根据 9.3 鉴定出的染色体数目，以染色体基数为 7 来比较确定。有条件的个人或单位，也可采用流式细胞仪技术测定。

- 1 四倍体（染色体数目是染色体基数的 4 倍）
- 2 二倍体（染色体数目是染色体基数的 2 倍）
- 3 非整倍体（染色体数目不是染色体基数的整数倍数）

9.3 染色体数

正常老芒麦种质体细胞染色体数目为 $2n=4X=28$ 。但是，由于大部分老芒麦种质为野生种，严酷的生长环境可能导致染色体数目发生变异，某些育种材料，由于辐射、诱变等措施的应用，可能导致染色体数目发生变异，因此，对老芒麦种质进行染色体数目的鉴定很有必要。

方法

采用石碳酸一品红染色法，对所提交老芒麦种质进行染色体数目鉴定。

步骤

①取材：将老芒麦种质种子放入培养皿中，加适量水置于 25℃ 恒温箱内发芽（也可利用盆栽植物长出的幼根）。

②预处理：待幼根长 1.0-1.5cm 时，取下幼根放入 0.002M 8-羟基喹啉水溶液中，一般预处理 1-4 小时。

③固定：将幼根放入卡诺液（Carnoy）（无水乙醇：冰乙酸=3:1）中固定 2-24 小时。

④解离：将幼根放入 1N 盐酸中，在室温（18-20℃）下解离 50-70 分钟（60℃ 恒温下解离 8 分钟）。

⑤软化：解离后的材料用蒸馏水冲洗，转入 45% 乙酸中软化半小时至 1 小时。

⑥染色：软化后的材料用蒸馏水冲洗，在石碳酸一品红染色液中染色。在室温下（18-20℃ 左右）一般染色半小时至 4 小时。

⑦压片、镜检、封片：在洁净的载片上切取根尖，加一滴 45% 的乙酸，按常规方法压片。镜检后冰冻分离盖片，室温晾干。二甲苯中透明 15 分钟左右，取出晾干，加拿大树胶封片，制成永久片待用。

石碳酸一品红染色液的配置方法

配方 I:

原液 A: 称取 3g 碱性品红溶于 100ml 70%酒精中 (此液可无限期保存)

原液 B: 取 10ml 原液 A 加入 90ml 5%的石碳酸 (苯酚) 水溶液中 (两周内使用)。

染色液: 55ml 原液 B 加 6ml 冰乙酸和 6ml 37%甲醛 (福尔马林)。

此染色液适用于植物细胞原生质培养中的细胞核和核分裂的染色。因其中含有较多的甲醛, 可以使原生质硬化而保持其固有的园球状的完整形态。但是, 不能使组织软化, 不适合一般植物组织染色体压片的染色。在此基础上改进的配方 II, 可普遍适用于一般的植物组织染色体压片的染色。

配方 II:

取配方 I 中的染色液 2-10ml 加 90-98ml 45%乙酸和 1.8g(C₆H₁₄O₆)。

此染色液配置后为淡品红色, 如果立即使用, 染色较淡, 放置 2 周后染色能力显著增强, 放置时间越久, 染色效果越好。在室温下存放此液, 2 年内染色液保持稳定, 无沉淀, 也不褪色。

9.4 核型

首先采用同 9.3 的方法确定染色体数目, 然后采用细胞遗传学的方法对染色体的大小、形态和结构进行分析。以核型公式表示, 如, $2n=4x=28=24m+4sm$ 。

9.5 生化标记

对进行过生化指纹图谱分析或重要性状同工酶标记、等位酶标记和种子贮藏蛋白标记的老芒麦种质, 记录指纹图谱或标记的方法, 并注明特征带的分子大小及其特征参数等。

9.6 分子标记

对进行过分子水平指纹图谱分析或重要性状分子标记的老芒麦种质, 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。

9.7 种质保存类型

老芒麦种质被保存的类型, 分 6 类。

- 1 种子
- 2 植株
- 3 花粉
- 4 培养物
- 5 DNA

9.8 实物状态

参考 GB/ T6142—1985 禾本科主要栽培牧草种子质量分级标准，将老芒麦种质以种子形式保存的实物状态分为以下 3 级。对于种质被保存的其他类型，如植株、花粉、培养物，则需鉴定其活性。若为 DNA，还需鉴定 DNA 的完整性。

- 1 好（供种时的最低净度为 90%；最低发芽率为 90%；其他种子最高粒数为 1 000/kg；最高水分为 11%）
- 2 中（供种时的最低净度为 85%；最低发芽率为 80%；其他种子最高粒数为 2000/kg；最高水分为 11%）
- 3 差（供种时的最低净度为 75%；最低发芽率为 75%；其他种子最高粒数为 4 000/kg；最高水分为 11%）

9.9 种质用途

老芒麦种质资源具有广泛的用途，一种种质可以有多种用途，主要用途为以下 3 类。

- 1 饲用（家畜或野生动物的饲草料）
- 2 生态（用于水土保持，防风固沙，草地植被恢复等）
- 3 遗传育种（牧草育种及农作物育种利用）

9.10 备注

老芒麦种质特殊描述符或特殊代码的具体说明。