

# 冰草种质资源数据质量控制规范

## 1 范围

本标准规定了冰草种质资源数据采集过程中的质量控制内容和方法。

本标准适用于冰草种质资源的整理、整合和共享。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准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,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些标准的最新版本。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 1999       | 国际种子检验规程                                           |
| GB 3543         | 农作物种子检验规程                                          |
| GB/T 2930       | 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 6432—1994  | 饲料中粗蛋白质测定方法                                        |
| GB/T 6433—1994  | 饲料粗脂肪测定方法                                          |
| GB/T 6434—1994  | 饲料中粗纤维测定方法                                         |
| GB/T 6438—1992  | 饲料中粗灰分的测定方法                                        |
| GB/T 6437—2002  | 饲料中总磷的测定 分光光度法                                     |
| GB/T 6436—2002  | 饲料中钙的测定方法                                          |
| GB/T 18246—2000 | 饲料中氨基酸的测定                                          |
| GB/T 6435—1986  | 饲料水分的测定方法                                          |
| GB/T 8170~1987  | 数值修约规则                                             |

## 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冰草植株的正常生长及其性状的正常表达。

### 3.1.2 田间设计

冰草在春、夏、秋都可以播种。试验小区为  $10\text{m}^2$  ( $2\text{m}\times 5\text{m}$ )，随机区组排列，条播，行距 20~45 cm，播种不宜过深，以 3~4 cm 为宜。播种量为每公顷 15~22.5kg。重复 3 次，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

试验地土质应有当地代表性，肥力均匀，试验地要远离污染、无人畜侵扰、附近无高大建筑物。试验地的栽培管理与大田生产基本相同，采用相同水肥管理，及时防治病虫害，保证幼苗和植株的正常生长，要注意中耕除草，要适时进行灌溉，夏末松土结合施肥。种子收获不宜过迟。

## 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冰草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

冰草种质资源的全国统一编号由“CF”加 6 位顺序号组成的 8 位字符串，如“CF000777”。其中“CF”代表 China Forage，后 6 位数字代表冰草种质的具体编号。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“I7B00778”。其中 I7B 代表国家农作物种质资源长期库中的牧草种质，后 5 位为顺序号，从“00001”到“99999”，代表冰草种质的具体编号。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的编号。牧草圃编号为 8 位字符串，如“GPMC0152”，前 4 位“GPMC”为国家给牧草圃的代码，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“19940024”，前 4 位表示种质从境外引进年份，后 4 位为顺序号，从“0001”到“9999”。每份引进种质具有唯一的引种号。

#### 4.5 采集号

冰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

国内种质的原始名称和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“Bing Cao”。国外引进种质的外文名应注意大小写和空格。

#### 4.8 科名

科名由拉丁名加英文括号内的中文名组成，如“Gramineae (禾本科)”。

#### 4.9 属名

属名由拉丁名加英文括号内的中文名组成，如“*Agropyron* Gaertn. (冰草属)”。

#### 4.10 学名

学名由拉丁名加英文括号内的中文名组成，如“*Agropyron cristatum* (L.) Gaertn. (扁穗冰草)”。

#### 4.11 原产国

冰草种质原产国家名称、地区名称或国际组织名称。国家和地区名称参照

ISO 3166 和 GB/T2659, 如该国家名称已不存在, 应在原国家名称前加“原”, 如“原苏联”。国家组织名称用该组织的英文缩写, 如“IPGRI”(国际植物遗传资源研究所)。

#### 4.12 原产省

冰草种质原产省份, 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

冰草种质的原产县(县级市、区)、乡(镇)、村名称。县(县级市)名参照 GB/T 2260。

#### 4.14 海拔

冰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

冰草种质原产地的经度, 单位为度和分。格式为 DDDFF, 其中 DDD 为度, FF 为分; 东经以正数表示, 西经以负数表示。例如, “12125”代表东经 121° 25', “-10229”代表西经 102° 29'。

#### 4.16 纬度

冰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

国内冰草种质的来源省和县名称, 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

冰草种质提交国家农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“中国农业科学院北京畜牧兽医研究所”。

#### 4.19 保存单位编号

冰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

冰草选育品种(系)的亲缘关系。

#### 4.21 选育单位

选育冰草品种（系）的单位名称或个人。单位名称应写全称，例如“中国农业科学院北京畜牧兽医研究所”。

#### 4.22 育成年份

冰草品种（系）培育成功的年份。例如“1980”、“2002”等。

#### 4.23 选育方法

冰草品种（系）的育种方法。例如“系选”、“杂交”、“辐射”等。

#### 4.24 种质类型

冰草种质资源的类型，分为6类。

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

#### 4.25 种质保存类型

冰草种质保存类型包括以下4类。

- 1 种子
- 2 植株
- 3 花粉
- 4 DNA

#### 4.26 图像

冰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、穗、种子、特异性状等。图像要清晰，对象要突出。

#### 4.27 观测地点

冰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“河南安阳”。

### 5 形态特征和生物学特性.

### 5.1 根系入土深度

试验结束时测定。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，采用土层剖面法，测量由土表到根系末端的深度。单位为 cm，精确到 0.1 cm。

### 5.2 根茎

花期测定。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，观测冰草根茎有无。

0 无

1 有

### 5.3 茎形态

花期用目测法判断。以全小区为调查对象，以相同茎秆形态的植株达到 70% 为准。

1 直立（茎秆垂直于地面生长）

2 基部呈膝曲状（茎秆倾斜生长；或基部偏斜生长）

### 5.4 基生叶

花期用目测法判断。以全小区为调查对象，调查植株基部着生叶（或不着生叶）的植株达到 70% 为准。

0 无

1 有

### 5.5 叶片延伸方向

花期用目测法判断。以全小区为调查对象，以相同叶片延伸方向的植株达到 70% 为准。

1 水平

2 向上倾斜

### 5.6 叶色

花期用标准色卡目测判断。以全小区为调查对象，在正常一致的光照条件下观测叶片颜色。以相同叶片颜色的植株达到 70% 为准。

1 绿色

2 灰绿色

3 灰色

4 灰蓝色

5 蓝色



### 5.7 叶长

花期测定。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，分别测量每一株中部叶片从叶基至叶尖的绝对长度。单位为 cm，精确到 0.1cm。

### 5.8 叶宽

花期测定。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，分别测量每一株中部叶片最宽处的绝对长度。内卷或反卷的叶片要展开测量。单位为 cm，精确到 0.1cm。

### 5.9 叶形态

花期用目测法判断。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，观测茎中部的叶片形态。因冰草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。以相同叶形态的植株达到 70% 为准。

- 1 卷曲（叶片明显内卷或边缘向下反卷）
- 2 扁平（叶片完全平展）

### 5.10 叶沟

花期用目测法判断。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，观测叶片表面由于叶脉强烈隆起而形成叶沟的有无。

- 0 无
- 1 有

### 5.11 叶片被毛

花期用目测法判断。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，观测叶片是否有被毛及被毛类型。

- 0 无毛
- 1 短绒毛
- 2 茸毛

### 5.12 叶鞘毛

花期用目测法判断。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，观测植株中部叶鞘是否有被毛。

- 0 无
- 1 有

### 5.13 花序长度

花期测定。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，分别测量每一株花序从穗轴最基部至花序顶端的自然长度。单位为 cm，精确到 0.1 cm。

#### 5.14 花序宽度

花期测定。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，分别测量每一株花序最宽处的自然长度。单位为 cm，精确到 0.1 cm。

#### 5.15 花序形态

花期用目测法判断。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，观测每一株花序整穗的形态。以相同花序形态的植株达到 70% 为准。

- 1 矩圆状
- 2 长椭圆状

#### 5.16 穗轴下部绒毛

花期观测。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，分别观测每一株花序轴下方 3cm 以内着生绒毛的有无。

- 0 无
- 1 有

#### 5.17 小穗数

花期测定。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，分别测量每一株单穗（花序）的小穗数。单位为个/花序。

#### 5.18 小穗长

花期测定。在试验小区内随即抽取开花的植株 10 株，分别测量每一株花序中部小穗的长度。单位为 mm，精确到 0.1mm。

#### 5.19 小穗宽

花期测定。在试验小区内随即抽取开花的植株 10 株，分别测量每一株花序中部小穗的宽度。单位为 mm，精确到 0.1mm。

#### 5.20 小穗颜色

花期用标准色卡目测判断。以全小区为调查对象，在正常一致的光照条件下观测穗状花序中部小穗的颜色。以相同小穗颜色的植株达到 70% 为准。

- 1 灰绿色
- 2 略紫色

#### 5.21 小穗密度

花期测定。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，测量每一株花序中单



位主穗轴长度上所着生的小穗数量。单位为个/cm。

### 5.22 小花数

花期测定。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，计数每一株花序中部小穗所含有小花的数量。单位为枚/小穗。

### 5.23 小花长

花期测定。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，测量每一株花序中部小穗第一小花的长度。单位为 mm，精确到 0.1mm。

### 5.24 小穗排列方式

花期采用目测法测定。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，观察每一株花序上各小穗排列的方式。以相同小穗形态的植株达到 70% 为准。参照模式图及上述说明确定种质的小穗排列方式。

- 1 篲齿状
- 2 覆瓦状

### 5.25 颖长

花期测定。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，测量每一株花序中部小穗第一颖的长度。单位为 mm，精确到 0.1mm。

### 5.26 颖脉数

花期测定。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，计数每一株花序中部小穗第一颖所具脉的数量。单位为条。

### 5.27 颖被毛

花期观测。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，目测每一株花序中部小穗第一颖背部被毛情况。

- 0 无
- 1 长柔毛

### 5.28 颖芒

花期测定。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，观测每一株花序中部小穗第一颖是否有芒及芒的状况。

- 0 无
- 1 芒尖
- 2 短芒

### 5.29 外稃被毛

花期观测。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，目测每一株花序中部小穗第一外稃背部的被毛情况。

- 0 无
- 1 短刺毛
- 2 长柔毛

### 5.30 外稃长度

花期测定。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，测量每一株花序中部小穗第一外稃的长度。单位为 mm，精确到 0.1mm。

### 5.31 外稃芒长

花期测定。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，测量每一株花序中部小穗第一外稃上芒的长度。单位为 mm，精确到 0.1mm。

### 5.32 内稃被毛

花期观测。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，目测每一株花序中部小穗第一内稃背部的被毛状况。

- 1 纤毛
- 2 长纤毛

### 5.33 内外稃长度比

花期观测。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，观测每一株花序中部小穗第一内稃长度与第一外稃长度的比例。

- 1 等于 1（内外稃等长）
- 2 大于 1（内稃略长于外稃）
- 3 小于 1（内稃略短于外稃）

### 5.34 种子长

收获后，每份种质材料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。

### 5.35 种子宽

收获后，每份种质材料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。

### 5.36 形态一致性

在冰草种质生活第二、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。根据不同生育期观测的主要形态性状的表现，结合下列说明，确定种质形态一致性。

- 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）

### 5.37 播种期

记录冰草播种日期，以“年 月 日”表示，格式为“YYYYMMDD”。

### 5.38 出苗期

指冰草种子萌发出土的日期。用目测法，鉴定的标准是在播种小区内有 50% 的幼苗露出地面时为出苗期。如果观察小区面积大，对小区内的 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。以“年 月 日”表示，格式“YYYYMMDD”。

### 5.39 返青期

指冰草越冬或越夏以后的植株重新生长的日期。用目测法，鉴定的标准是播种小区内有 50% 的植株返青时为返青期。如果观察小区面积大，对小区内的 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。以“年 月 日”表示，格式“YYYYMMDD”。

### 5.40 分蘖期

指冰草从分蘖节产生侧枝的日期。用目测法，鉴定的标准是，小区内 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，对小区内的 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。以“年 月 日”表示，格式“YYYYMMDD”。

### 5.41 拔节期

指冰草在地面出现第一个茎节时的日期。用目测法，鉴定的标准是以小区内 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，对小区内的 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。以“年 月 日”表示，格式“YYYYMMDD”。

### 5.42 抽穗期

用目测法，鉴定的标准是小区内 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，对小区内的 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。以“年 月 日”表示，格式“YYYYMMDD”。

#### 5.43 开花期

用目测法，鉴定的标准是小区内 50%的植株开花叫开花期。如果观察小区面积大，对小区内的 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。以“年 月 日”表示，格式“YYYYMMDD”。

#### 5.44 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”。

#### 5.45 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”。

#### 5.46 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”。

#### 5.47 分蘖数

开花期采用随机取样法，在小区内选取具有代表性的地段 3~5 处，每处选 5~8 株，调查冰草的分蘖数。单位为个，精确到整数位。

#### 5.48 生育天数

记录冰草从出苗（或返青）到成熟期所经历的天数。单位为 d，精确到整数位。

#### 5.49 枯黄期

用目测法，鉴定的标准是小区内 50%的植株茎叶枯黄或者失去生活机能的日期，如果观察小区面积大，对小区内的 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。以“年 月 日”表示，格式“YYYYMMDD”。

#### 5.50 生长天数

记录冰草从返青期到枯黄期所经历的天数。单位为 d，精确到整数位。

### 5.51 再生性

观测被刈割或放牧利用后重新恢复绿色株丛的能力。根据再生速度、再生次数和再生草产量及下列说明，确定种质的再生性。

- 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，再生产量低）

### 5.52 落粒性

种子从其母株上散落的特性。在种子近成熟期，目测种子散落情况。

- 1 不脱落（有外力或阳光暴晒时不落粒）
- 2 稍脱落（有外力或阳光暴晒时少量种子脱落）
- 3 脱落（稍有外力脱落或自然状态下边熟边落粒）

### 5.53 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，即种质的千粒重。

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。

### 5.54 发芽势

发芽势的数据采集是在进行种子发芽率检测初期进行，参照GB/T2930.2标准所规定的天数，记录正常发芽的种子数占供试种子的百分比。以%表示，精确到0.1%。发芽势的计算公式如下：

$$\text{发芽势}(\%) = \frac{\text{规定天数内全部正常发芽种子数}}{\text{供试种子数}} \times 100\%$$

### 5.55 发芽率

按照GB/T2930.2的规定操作，随机分取400粒种子，每100粒为1次重复，置于垫铺滤纸的培养皿中。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，使种子充分吸水。盖好培养皿上盖，置于发芽箱中进行恒温或变温发芽，发芽床要始终保持湿润。不同冰草种子有不同的恒温或变温要求，根据“GB/T2930.1~2930.11-2001”中发芽试验技术规



定，对变温处理时间、光照及破除休眠方法进行。

发芽观测时间一般为 2 周，首次计数在第 5 天开始，以后应每隔 1~2d 计数一次，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计数。末次计数时，分别记录所有正常种苗、不正常种苗、新鲜未发芽种子和死种子数。正常种苗的百分率为发芽率。然后计算 4 次重复的平均数，以 % 表示，精确到 0.1%。如果 4 次重复的数值之间均未超出 ISTA 规定的最大容许误差，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上述规定，数值修约按照 GB/T 8170-1987 进行。发芽率计算公式如下：

$$\text{发芽率}(\%) = \frac{\text{发芽终期全部正常发芽种子数}}{\text{供试种子数}} \times 100\%$$

### 5.56 种子生活力

冰草种子生活力的测定，按照 GB/T 2930.5-2001 所规定的种子活力生物化学（四唑）测定方法进行，首先按 GB/T 2930.2 净度分析方法，从充分混合的净种子中，随机数取 100 粒种子，4 个重复，然后将种子完全浸入水中，进行染色前的预湿处理，然后染色，如果在 GB/T 2930.5-2001 规定的染色浓度和时间内染色不完全，可延长染色时间，以便证实染色不理想是由于四唑盐类吸收缓慢，而不是由于种子内部缺陷所致，染色结束后立即进行鉴定。分别统计各重复中有活力的种子，计算平均值，以 % 表示，重复间最大容许误差不得超过 GB/T 2930.4-2001 中表 B1 的规定，平均百分率按 GB/T 8170 修约至最接近的整数。

### 5.57 种子寿命

在一定环境条件下冰草种子生活力保持的期限。单位为 a。

### 5.58 熟性

根据冰草抽穗期和成熟期的早晚，将冰草熟性分为 2 类。

- 1 早熟型
- 2 晚熟型

### 5.59 株高

在冰草的开花期进行。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进行测高。测量时自地面量至植株的最高部位（不包括芒），单位为 cm，精确到 0.1 cm。

### 5.60 鲜草产量



在抽穗期至初花期测定，选择有代表性的测产小区，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>。测产面积为 1m<sup>2</sup>，采用样方法，重复 3 次，样方应避开边行及密度不正常的地段。为防止水分散失，边割边称重。单位为 kg/hm<sup>2</sup>，精确到 0.1 kg。

### 5.61 干草产量

在抽穗期至初花期测定，选择有代表性的测产小区，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>。测产面积为 1m<sup>2</sup>，采用样方法，重复 3 次，样方应避开边行及密度不正常的地段。将测定完鲜草产量的冰草分别装入布袋，待阴干后称其风干重。单位为 kg/hm<sup>2</sup>，精确到 0.1 kg。

### 5.62 种子产量

在成熟期测定，选择有代表性的测产小区，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>。测产面积为 1m<sup>2</sup>，采用样方法，重复 3 次，避开边行及密度不正常的地段测产。单位为 kg/hm<sup>2</sup>，精确到 0.1 kg。

### 5.63 单株产量

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/株，精确到 0.1g。

### 5.64 茎叶比

开花期测定。在试验小区内随机抽取抽穗的植株 10 株（丛），分别齐地面剪下，将茎（含叶鞘）、叶（含花序）分开，待风干后分别称重，单位为 g，精确到 0.1g。称重后用以下公式计算单株（丛）牧草的茎叶比，取平均数。表示方法为 1: X，精确到 0.01。

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

式中：X—叶重与茎重的比值

W<sub>s</sub>—茎重，g

W<sub>l</sub>—叶重，g

### 5.65 干鲜比

单位面积冰草风干后的重量与其青鲜时的重量之比。由 5.61 和 5.60 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。

## 5.66 观测年龄

观测时，冰草种质材料在田间小区种植后的生长年龄。单位为 a 。

## 5.67 生长寿命

从冰草种质材料播种当年算起，记录田间株丛存活率高于 30% 的总年限。单位为 a 。

# 6 品质特性

## 6.1 水分含量

抽穗期或某个生育期采样。按照 GB/T 6435—1986 饲料水分的测定方法。以 % 表示，精确到 0.01%。

### ① 仪器设备

实验室用样品粉碎机或研钵；

分样筛（孔径 0.45 mm(40 目)）；

分析天平（感量为 0.0001 g）；

电热式恒温烘箱（可控制温度为  $105 \pm 2^\circ\text{C}$ ）；

称样皿（玻璃或铝质，直径 40 mm 以上，高 25 mm 以下）；

干燥器（用氯化钙(干燥试剂)或变色硅胶作干燥剂)。

### ② 样品的选取和制备：

选取有代表性的样品，其原始样量应在 1000 g 以上。用四分法将原始样品缩至 500 g，风干后粉碎至 40 目，再用四分法缩至 200 g，装入密封容器，放阴凉干燥处保存。如样品是多汁的鲜样，或无法粉碎时，应预先干燥处理，称取样品 200~300 g，在  $105^\circ\text{C}$  烘箱中烘 15 min，然后立即降至  $65^\circ\text{C}$ ，烘干 5~6 h。取出后，在室内空气中冷却 4 h，称重，即得风干样品。如果按此步骤进行过预干处理，应按下式计算原来样品中所含水分总量：

原样品总水分(%) = 预干燥减重(%) + [100 - 预干燥减重(%)] × 风干样品水

分(%)

③测定步骤:

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 30 min, 称准至 0.0002 g, 再烘干 30 min, 同样冷却, 称重, 直至两次重量之差小于 0.0005 g 为恒重。用已恒重称样皿称取两份平行样品, 每份 2~5 g (含水重 0.1 g 以上, 样品厚度 4 mm 以下)。准确至 0.0002 g, 不盖称样皿盖, 在  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  烘箱中烘 3 h (以温度到达  $105^\circ\text{C}$  开始计时), 取出, 盖好称样皿盖, 在干燥器中冷却 30 min, 称重。再同样烘干 1h, 冷却, 称重, 直至两次称重之重量差小于 0.002 g。

④计算公式

$$W(\%) = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100\%$$

式中: W—水分含量, %

$W_1$ — $105^\circ\text{C}$  烘干前样品及称样皿重, g

$W_2$ — $105^\circ\text{C}$  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大于 0.2%, 否则重做。

## 6.2 粗蛋白质含量

抽穗期或某个生育期采样。采用凯氏定氮法, 按照 GB/T 6432—1994 饲料中粗蛋白质测定方法。以%表示, 精确到 0.01%。

①试剂

硫酸 (GB 625, 化学纯, 含量为 98%, 无氮);

混合催化剂 (0.4 g 5 水硫酸铜 (GB 665), 6 g 硫酸钾 (HG3—920) 或硫酸钠 (HG3—908), 均为化学纯, 磨碎混匀);

氢氧化钠 (GB 629, 化学纯, 40% 水溶液 (M/V));

硼酸 (GB 628, 化学纯, 2% 水溶液 (M/V));

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);

盐酸标准溶液 (邻苯二甲酸氢钾法标定, 按 GB 601 制备): 0.1 mol/l 盐酸 (HCl) 标准溶液 (8.3mL 盐酸 (GB 622), 分析纯, 注入 1000mL 蒸馏水中), 0.02

mol/l 盐酸(HCl)标准溶液 (1.67 ml 盐酸(GB 622), 分析纯, 注入 1000ml 蒸馏水中);

蔗糖(HG 3—1001, 分析纯);

硫酸铵(GB 1396, 分析纯, 干燥);

硼酸吸收液(1% 硼酸水溶液 1000ml, 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))。

## ②仪器设备

实验室用样品粉碎机或研钵;

分样筛 (孔径 0.45 mm(40 目));

分析天平 (感量 0.0001g);

消煮炉或电炉;

滴定管 (酸式, 10、25 ml);

凯氏烧瓶 (250 ml);

凯氏蒸馏装置 (常量直接蒸馏式或半微量水蒸气蒸馏式);

锥形瓶 (150、250 ml);

容量瓶 (100 ml);

消煮管 (250 ml);

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)。

## ③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, 防止样品成分的这化。

## ④分析步骤

### 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.

推荐法

样品的消煮: 称取 0.5~1g 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 1h. 取出放凉后加入 30ml 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，按 6.2.4 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。

⑤计算公式：

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

式中：CP—粗蛋白质含量，%

$V_2$ —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 粗脂肪的含量

抽穗期或某个生育期采样。采用索氏浸提法，按照 BG/T 6433—1994 饲料粗脂肪测定方法。以%表示，精确到 0.01%。

①试剂：无水乙醚(分析纯)

②仪器设备：

实验室用样品粉碎机或研钵；



分样筛（孔径 0.45mm）；  
分析天平（感量 0.0001g）；  
电热恒温水浴锅（室温~100℃）；  
恒温烘箱（50~200℃）；  
索氏脂肪提取器（带球形冷凝管，100 或 150ml）；  
索氏脂肪提取仪；  
滤纸或滤纸筒（中速，脱脂）；  
干燥器（用氯化钙或变色硅胶为干燥剂）。

### ③样品的制备：

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

### ④分析步骤

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±2℃烘箱中烘干 60 min，干燥器中冷却 30 min，称重。再烘干 30 min，同样冷却称重，两次重量之差小于 0.0008 g 为恒重。称取样品 1~5 g(准确至 0.0002 g)，于滤纸筒中，或用滤纸包好，放入 105℃烘箱中，烘干 120 min(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，在抽提瓶中加无水乙醚 60~100 ml，在 60~75℃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±2℃烘箱中烘干 120 min，干燥器中冷却 30 min 称重，再烘干 30 min，同样冷却称重，两次重量之差小于 0.001 g 为恒重。

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。

### ⑤计算公式：

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

式中：EE—粗脂肪含量，%

$m$ —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

抽穗期或某个生育期采样。采用酸、碱分次水解法, 按照 GB/T 6434—1994 饲料中粗纤维测定方法。以%表示, 精确到 0.01%。

##### ①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。

硫酸(GB 625)溶液 0.128 ± 0.005 mol/l;

氢氧化钠标准溶液标定 (GB 601);

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);

酸洗石棉 HG 3—1062;

95%乙醇(GB 679);

乙醚(HG 3—1002);

正辛醇(防泡剂)。

##### ②仪器设备

实验室用样品粉碎机;

分样筛(孔径 1mm, (18 目));

分析天平(感量 0.0001g);

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℃);

高温炉(有高温计可控制温度在 500~600℃);

消煮器(有冷凝球的 600 ml 高型烧杯或有冷凝管的锥形瓶);

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);

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）;

干燥器（以氯化钙或变色硅胶为干燥剂）;

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）。

### ③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。

### ④分析步骤

仲裁法: 称取 1~2 g 样品, 准确至 0.0002 g, 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 2 min 内沸腾, 调整加热器, 使溶液保持微沸, 且连续微沸 30 min, 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 200 ml, 同样准确微沸 30 min, 立即在铺有石棉的古氏坩埚上过滤, 先用 25 ml 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 15 ml 乙醇洗涤, 抽干。将坩埚放入烘箱, 于  $130 \pm 2^\circ\text{C}$  下烘干 2 h, 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 30 min, 取出后于干燥器中冷却至室温后称重。

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 30 min, 抽滤, 用沸蒸馏水洗至中性, 加入预先煮沸的氢氧化钠溶液 200 ml, 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, 将坩埚转移到烘箱, 于  $130 \pm 2^\circ\text{C}$  下烘干 2 h, 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 1 h, 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。

### ⑤计算公式:

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

式中：CF—粗纤维含量，%

$m_1$ —130℃烘干后坩埚及样品残渣重，g

$m_2$ —550℃(或 500℃)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

冰草样品中无氮浸出物含量的计算方法为：从 100% 的干物质中减去粗蛋白质、粗脂肪、粗纤维、粗灰分的百分含量之和。以%表示，精确到 0.01%。

## 6.6 粗灰分含量

抽穗期或某个生育期采样。按照 GB/T 6438—1992 饲料中粗灰分的测定方法。以%表示，精确到 0.01%。

### ①仪器与设备：

实验室用样品粉碎机或研钵；

分样筛（孔径 0.45 mm(40 目)）；

分析天平（分度值 0.0001 g）；

高温炉（有高温计且可控制炉温在  $550 \pm 20^\circ\text{C}$ ）；

坩埚（瓷质，容积 50 ml）；

干燥器（用氯化钙或变色硅胶作干燥剂）。

### ②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。

③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，称重。再重复灼烧，冷却、称重，直至两次质量之差小于 0.0005 g 为恒重。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，称重。再同样灼烧 1 h，冷却，称重，直至两次质量之差

小于 0.001 g 为恒重。

④计算公式:

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

式中: ASH—粗灰分含量, %

$m_0$ —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 磷含量

抽穗期或某个生育期采样。按照国家标准 GB/T 6437—2002 饲料中总磷的测定分光光度法。以%表示, 精确到 0.01%。

①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。

盐酸溶液 (1+1);

硝酸;

高氯酸;

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(6.8.1.2), 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);

磷标准液 (将磷酸二氢钾在 105℃干燥 1 h, 在干燥器中冷却后称取 0.2195 g 溶解于水, 定量转入 1000 ml 容量瓶中, 加硝酸 3 ml, 用水稀释至刻度, 摇匀。即为 50 μg/ml 的磷标准液)。

②仪器和设备:

实验室用样品粉碎机或研钵;

分样筛 (孔径 0.42 mm(40 目));

分析天平 (感量 0.0001g);



分光光度计（可在 400nm 下测定吸光度）；

比色皿（1 cm）；

高温炉（可控温度在  $550 \pm 20^\circ\text{C}$ ）；

瓷坩埚（50 ml）；

容量瓶（50、100、1000 ml）；

移液管（1.0、2.0、5.0、10.0 ml）；

三角瓶（200 ml）；

凯氏烧瓶（125、250 ml）；

可调温电炉（1000 W）。

### ③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 0.42 mm 孔筛，装入样品瓶中，密封保存备用。

### ④测定步骤：

#### 样品分解：

干法：称取样品 2~5 g（精确至 0.0002 g）于坩埚中，在电炉上小心炭化，再放入高温炉，于  $550^\circ\text{C}$  下灼烧 3 h（或测定粗灰分后继续进行），取出冷却，加入 10 ml 盐酸溶液和硝酸数滴，小心煮沸约 10 min，冷却后转入 100 ml 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 0.5~5 g（精确至 0.0002 g）于凯氏烧瓶中，加入硝酸 30 ml，小心加热煮沸至黄烟逸尽，稍冷，加入高氯酸 10 ml，继续加热至高氯酸冒白烟（不得蒸干），溶液基本无色，冷却，加水 30 ml，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。

工作曲线的绘制：准确移取磷标准液 0、1.0、2.0、4.0、8.0、16.0 ml 于 50 ml 容量瓶中，各加钒钼酸铵显色剂 10 ml，用水稀释至刻度，摇匀，常温下放置 10 min 以上，以 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，吸光度值为纵坐标，绘制工作曲线。

样品的测定：准确移取样品分解液 1.0~10.0 ml（含磷量  $50 \mu\text{g}$ ~ $750 \mu\text{g}$ ）于 50 ml 容量瓶中，加入钒钼酸铵显色剂 10ml，用水稀释至刻度，摇匀，常温



下放置 10 min 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。

⑤计算公式：

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

式中：P—磷含量，%

$m_1$ —由工作曲线查得样品分解液磷含量， $\mu\text{g}$

$V$ —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%。

## 6.8 钙含量

抽穗期或某个生育期采样。采用高锰酸钾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，以%表示，精确到 0.01%。

高锰酸钾法(仲裁法)

①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。

硝酸；

高氯酸（70%~72%）；

盐酸溶液（1+3）；

硫酸溶液（1+3）；

氨水溶液（1+1）；

草酸铵水溶液（42g/l：称取 4.2g 草酸铵溶于 100 ml 水中）；

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）；

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

②仪器和设备：

实验室用样品粉碎机或研钵；

分析筛（孔径 0.42 mm(40 目)）；

分析天平（感量 0.0001 g）；  
高温炉（电加热，可控温度在  $550 \pm 20^\circ\text{C}$ ）；  
坩埚（瓷质）；  
容量瓶（100 ml）；  
滴定管（酸式，25 ml 或 50 ml）；  
玻璃漏斗（直径 6 cm）；  
定量滤纸（中速，7~9 cm）；  
移液管（10 ml、20 ml）。  
烧杯（200 ml）；  
凯氏烧瓶（250 ml 或 500 ml）。

### ③样品制备：

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

### ④测定步骤

#### 样品分解：

干法：称取样品 2~5 g 于坩埚中，精确到 0.0002 g，在电炉上小心炭化，再放入高温炉于  $550^\circ\text{C}$  下灼烧 3 h（或测定粗灰分后连续进行），在盛灰坩埚中加入盐酸溶液 10 ml 和浓硝酸数滴，小心煮沸，将此溶液转入 100 ml 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 2~5 g 于 250 ml 凯氏烧瓶中，精确到 0.0002 g，加入硝酸 10 ml，加热煮沸，至二氧化氮黄烟逸尽，冷却后加入高氯酸 10 ml，小心煮沸至溶液无色，不得蒸干（危险），冷却后加蒸馏水 50 ml，且煮沸驱逐二氧化氮，冷却后移入 100 ml 容量瓶中，用蒸馏水稀释至刻度，摇匀，为样品分解液。

样品的测定：准确移取样品液 10~20 ml（含钙量 20 mg 左右）于 200 ml 烧杯中，加蒸馏水 100 ml，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 10 ml，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 2 h）。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 10 ml，蒸馏水 50 ml，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。

⑤计算公式：

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

式中：Ca—钙含量，%

$V$ —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 100 ml 高锰酸钾标准溶液 [ $c(1/5 \text{ KMnO}_4) = 1.000 \text{ mol/l}$ ] 相当的以 g 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。

①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。

盐酸羟胺；

三乙醇胺；

乙二胺；

盐酸水溶液 (1+3)；

氢氧化钾溶液 (200 g/l：称取 20 g 氢氧化钾溶于 100 ml 水中)；

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

孔雀石绿水溶液(1 g/l);

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

钙标准溶液(0.0010 g/ml): 称取 2.4974 g 于 105℃~110℃干燥 3 h 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 1000 ml 容量瓶中, 稀释至刻度;

乙二胺四乙酸二钠(EDTA)标准滴定溶液: 称取 3.8 g EDTA 于 200 ml 烧杯中, 加 200 ml 水, 加热溶解冷却后转至 1000 ml 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

$\rho$ —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

②仪器和设备: 同高锰酸钾法。

③测定步骤

样品分解: 同高锰酸钾法。

测定: 准确移取样品分解液 5~25 ml(含钙量 2~25 mg)。加水 50 ml, 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。

④计算公式:

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

式中：Ca—钙含量，%；

$T$ —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%。

## 6.9 氨基酸含量

开花期采样。按照 GB/T 18246—2000 饲料中氨基酸的测定 进行 6.9~6.27 的氨基酸总量及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  $3.3 \times 10^3 \text{ Pa}$  (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 1s/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， $\text{pH}2.2$ ， $c(\text{Na}^+)=0.2 \text{ mol/l}$ ：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  $c(\text{氨基酸})=100 \text{ nmol/ml}$ 。

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  $c(\text{LiOH})=4 \text{ mol/l}$ ：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， $c(\text{HCl})=6 \text{ mol/l}$ ：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， $\text{pH}4.3$ ， $c(\text{Na}^+)=0.2 \text{ mol/l}$ ：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， $c(\text{HCl})=0.1 \text{ mol/l}$ ：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， $60^\circ\text{C}$ ，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  $\leq 4$  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:  $\omega_{1i}$ ——用未脱脂试样测定的某氨基酸的含量, %

$\omega_2$  ——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报告结果。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 [ $c(\text{Na}^+) = 0.0085 \text{ mol/l}$  的乙酸钠溶液用乙酸调节 pH 至 4.0, 用  $0.45 \mu\text{m}$  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:  $15 \mu\text{l}$ 。

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 天门冬氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

### 6.11 苏氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

### 6.12 丝氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

### 6.13 谷氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

### 6.14 脯氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

### 6.15 甘氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

### 6.16 丙氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

### 6.17 胱氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

### 6.18 缬氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

### 6.19 蛋氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

### 6.20 异亮氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

### 6.21 亮氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

### 6.22 酪氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

### 6.23 苯丙氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

### 6.24 赖氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

### 6.25 组氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

### 6.26 精氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

### 6.27 色氨酸含量

数据质量控制规范, 同 6.9。

## 6.28 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1000ml 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



a—淀粉酶处理，再用中性洗涤剂处理。

## 6.29 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(20ml)、古氏坩埚(30~50ml)、抽滤装置、回流装置(250ml 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1000ml 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：

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

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

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

### 6.30 样品分析单位

样品分析单位名称的全名。

### 6.31 茎叶质地

采用感官测试方法，目测和手摸冰草茎叶的细嫩或细软，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的感觉）
- 2 中等（感官测试居于柔嫩和粗硬二者之间）
- 3 粗硬（秆硬叶糙，用手折断其茎秆和枝叶时难度大）

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

### 6.32 适口性

根据牲畜采食状况和下列说明，确定冰草种质适口性等级。

- 1 嗜食（特别喜食，在任何情况下，家畜都挑选其采食，表现很贪食，适口性优等）
- 2 喜食（一般情况下家畜都吃，但不专门在草丛中挑选其采食，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，只有在上述植物没有的情况下才肯采食，适口性中下等）
- 5 少食（不愿采食的植物，一般情况很少采食，适口性下等）

## 7 抗逆性

### 7.1 抗旱性（参考方法）

冰草忍耐或抵抗干旱胁迫的能力。冰草种质材料抗旱性采用田间目测法和苗期鉴定法。

田间目测法

每个观察材料要设3次重复，每重复小区面积为20m<sup>2</sup>，在自然干旱或人工干旱条件下观察冰草的抗旱表现。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，自然生长正常，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并有黄叶黄尖现象，但并未停止生长，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，为2分）
- 5 最弱（全部植株萎蔫，小区内有30%以上植株死亡，为1分）

#### 苗期鉴定法—复水法

①将冰草种子播于装有15 cm厚的中等肥力壤土的塑料箱（60 cm×40 cm×20 cm）内。每个处理三次重复，每个重复50株苗（行距6 cm，株距5 cm），覆土2 cm，灌水至田间持水量的85%±5%。在20℃±5℃的温室条件下，每天日照8~12 h。

#### ②第一次干旱胁迫-复水处理

幼苗长至三叶时停止供水，开始进行干旱胁迫。当土壤含水量降至田间持水量的20%~15%时复水，使土壤水分达到田间持水量的80%±5%。复水120 h后调查存活苗数，以叶片变成鲜绿色者为存活。

#### ③第二次干旱胁迫-复水处理

第一次复水后即停止供水，进行第二次干旱胁迫。当土壤含水量降至田间持水量的20%~15%时，第二次复水，使土壤水分达到田间持水量的80%±5%。120 h后调查存活苗数，以叶片变成鲜绿色者为存活。

#### ④幼苗干旱存活率的实测值

计算公式：

$$DS = \frac{DS1 + DS2}{2} = \left( \frac{XDS1}{XTT} \times 100 + \frac{XDS2}{XTT} \times 100 \right) \times \frac{1}{2}$$

式中：DS—干旱存活率的实测值

DS1—第一次干旱存活率

DS2—第二次干旱存活率

XTT—第一次干旱前三次重复总苗数的平均值

XDS1—第一次复水后三次重复存活苗数的平均值

XDS2—第二次复水后三次重复存活苗数的平均值

#### ⑤苗期抗旱性判定规则

根据反复干旱下苗期干旱存活率将冰草种质抗旱性分为 5 级。分级标准如下：

- 1 强（干旱存活率 $\geq 70.0\%$ ）
- 2 较强（干旱存活率 60.0%~69.9%）
- 3 中等（干旱存活率 50.0%~59.9%）
- 4 弱（干旱存活率 40.0%~49.9%）
- 5 最弱（干旱存活率 $\leq 39.9\%$ ）

## 7.2 抗寒性（参考方法）

冰草忍受或抵抗低温危害的性能。冰草抗寒性鉴定的方法和指标可采用田间目测法、盆栽幼苗冷冻法和电导法。

### 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 20 m<sup>2</sup>，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 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 90%，为 5 分）
- 2 较强（越冬率为 75%~90%，为 4 分）
- 3 中等（越冬率为 50%~74%，为 3 分）
- 4 弱（越冬率为 30%~49%，为 2 分）
- 5 最弱（越冬率小于 30%，为 1 分）

### 盆栽幼苗冷冻法

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 cm×45 cm×15 cm，每份种质材料设 3 次重复，每个重复 20~30 株苗，株距 2.5 cm，行距 6 cm。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 7~10 d。观察幼苗的冷害症状，比较不同材料在冷害处理后的植株的存活率，以此评价不同材料的抗寒性。根据植株存活率，将抗寒性分为 5 级：

- 1 强（存活率大于 81%，为 5 分）

- 2 较强（存活率为 61%~80%，为 4 分）
- 3 中等（存活率为 41%~60%，为 3 分）
- 4 弱（存活率为 20%~40%，为 2 分）
- 5 最弱（存活率小于 20%，为 1 分）

电导法：

植株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，表明植株抗寒性越弱，反之，越强。

①幼苗培养—采用沙基培养。试验种子用 5% NaCl 消毒，播种在塑料培养筛（35 cm×25 cm×15 cm，下有排水孔）中，播种深度 2 cm，喷适量自来水，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 8000-85000 lx，光期 12 h。

②低温处理—待幼苗长出 6~7 片叶后，采取整株幼苗 1~2 g，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 h。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 h）处理，至少 6 次重复。采用控温仪器监控温度，温度波动范围±1℃。低温处理后的幼苗再冻 1 h 后，进行细胞膜相对透性的测定。低温处理的材料，也可采取 90 d 苗龄，同龄、同位、同色的叶片做试验处理。

③相对电导率及拐点温度指标测定—将低温处理的幼苗用去离子水冲洗 3 次，放入试管中，每管装上 5ml 去离子水，用玻璃棒压住，真空抽气 15 min，震荡 10 min，1 h 后测定初电导率。细胞膜透性变化用相对电导率表示：

$$K = \frac{K_0}{K_1} \times 100$$

式中：K—相对电导率，%

K<sub>0</sub>—初电导率

K<sub>1</sub>—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，即组织半致死温度（LT<sub>50</sub>），表示种质的抗寒力。

### 7.3 耐热性



冰草忍受或抵抗高温危害的性能。冰草耐热性鉴定的方法和指标可采用田间目测法和盆栽法。

#### 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 20 m<sup>2</sup>，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 91%，为 5 分）
- 2 较强（越夏存活率 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，育苗盘大小约为 32 cm×45 cm×15 cm，每份种质材料设 3 次重复，每个重复 20~30 株苗，株距 2.5 cm，行距 6 cm。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 16 h，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出现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，根据热害症状将种质的抗热性分为 5 级：

- 1 强（无热害症状或 10% 以下的叶变黄，为 5 分）
- 2 较强（热害症状不明显，10%~30% 的叶片变黄，为 4 分）
- 3 中等（热害症状较为明显，30%~60% 的叶片变黄，为 3 分）
- 4 弱（热害症状极为明显，60% 以上叶片变黄，少数叶片萎蔫枯死，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）

### 7.4 耐盐性（参考方法）

冰草对土壤中盐碱类物质的忍受能力。采用苗期耐盐性鉴定法。

①播种及育苗：取大田土壤（非盐碱地）过筛，用无孔塑料花盆（12.5 cm×

12 cm×15.5 cm), 每盆装大田土 1.5 kg, 装土时, 取样测定土壤中含盐及含水量。每盆播种 20~30 粒种子, 出苗后间苗, 2 叶期之前定苗, 每盆保留生长健壮整齐一致的幼苗 10 株。

②盐处理: 按照土壤干重的百分比加化学纯 NaCl 进行盐处理, 处理浓度依次为 0 (CK)、0.4%、0.6%、0.8%、1.0% NaCl (分析纯), 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。盐处理后及时补充所蒸发的水分, 使土壤含水量保持不变。

### ③耐盐性评价:

盐处理 30d 时结束试验, 调查各处理的存活苗数, 以相对于对照的百分率表示。根据耐盐性级别标准 (参考 Díaz de LeónJ 等的方法制定) 对参试冰草种质资源的耐盐性进行评价 (具体评价标准见表 1)。

表 1 冰草苗期耐盐性评价标准

| 浓度   | 存活率 (%) |       |         |         |     |
|------|---------|-------|---------|---------|-----|
|      | 5 分     | 4 分   | 3 分     | 2 分     | 1 分 |
| 0.4% | >90.0   | 90~65 | 64.9~35 | 34.9~20 | <20 |
| 0.6% | >75.0   | 75~50 | 49.9~25 | 24.9~15 | <15 |
| 0.8% | >55.0   | 55~35 | 34.9~15 | 14.9~5  | <5  |
| 1.0% | >35.0   | 35~20 | 19.9~5  | 4.9~3   | <3  |

根据冰草在不同盐浓度下得分的总和, 可将冰草种质的耐盐性分为 5 级:

- 1 强 (总得分>16)
- 2 较强 (总得分 13~16)
- 3 中等 (总得分 9~12)
- 4 弱 (总得分 5~8)
- 5 最弱 (总得分<5)

## 8 抗病性

### 8.1 黑粉病抗性

采用田间自然发病法。在黑粉病发生较严重的季节调查冰草植株黑粉病的发生情况。同时记载, 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40~50分蘖枝，进行病情等级的评价，病情分级标准如下：

| 病级 | 病情                |
|----|-------------------|
| 0  | 植株上无黑粉孢子          |
| 1  | 黑粉孢子堆占分蘖枝的10%以下   |
| 2  | 黑粉孢子堆占分蘖枝的10%~30% |
| 3  | 黑粉孢子堆占分蘖枝的31%~50% |
| 4  | 黑粉孢子堆占分蘖枝的50%以上   |

病情指数计算公式为：

$$DI = \frac{\sum (n_i \times S_i)}{4 \times N} \times 100$$

式中：DI—病情指数

$S_i$ —发病级别

$n_i$ —相应发病级别的株数

$i$ —病情分级的各个级别

$N$ —调查总株数

根据田间病情指数，确定种质黑粉病抗性。

|   |         |                   |
|---|---------|-------------------|
| 1 | 高抗 (HR) | $0 < DI \leq 10$  |
| 3 | 抗病 (R)  | $10 < DI \leq 20$ |
| 5 | 中抗 (MR) | $20 < DI \leq 30$ |
| 7 | 感病 (S)  | $30 < DI \leq 40$ |
| 9 | 高感 (HS) | $40 < DI$         |

## 8.2 麦角病抗性

采用田间自然发病法。在麦角病发生较严重的季节调查冰草植株麦角病的发生情况。同时记载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40~50穗，进行病情等级的评价，病情分级标准如下：

| 病级 | 病情        |
|----|-----------|
| 0  | 穗上无麦角     |
| 1  | 穗上有1~2个麦角 |
| 2  | 穗上有3~5个麦角 |
| 3  | 穗上有6~8麦角  |

4 穗上有8个以上麦角

病情指数计算公式为：

$$DI = \frac{\sum (n_i \times S_i)}{4 \times N} \times 100$$

式中：DI—病情指数

$S_i$ —发病级别

$n_i$ —相应发病级别的株数

$i$ —病情分级的各个级别

N—调查总株数

根据田间病情指数，确定种质麦角病抗性。

|           |                   |
|-----------|-------------------|
| 1 高抗 (HR) | $0 < DI \leq 5$   |
| 3 抗病 (R)  | $5 < DI \leq 10$  |
| 5 中抗 (MR) | $10 < DI \leq 20$ |
| 7 感病 (S)  | $20 < DI \leq 30$ |
| 9 高感 (HS) | $30 < DI$         |

### 8.3 锈病抗性

冰草锈病鉴定采用苗期人工接种鉴定法。

鉴定材料的准备

#### ①播种育苗

将冰草种子播于装有混合物（土壤：草炭：蛭石=1：1：1）的育苗盘内。每个处理最少要有3个重复，每个重复有30株材料。在20~25℃、每天日照12 h的生长箱或温室中培育试验材料。

#### ②接种体的培养和保存

从感病的冰草植株上摇下或刷下新鲜的夏孢子用来接种，也可用冰箱或液氮中保存的夏孢子做为接种源。夏孢子可在4℃的冰箱中保存几周，但是萌发率会略有下降。夏孢子可在液氮中保存几年，且不会丧失其生活力。为了保证夏孢子的质量，最好用感病的活体植株保存夏孢子。

接种方法

待冰草长至2叶1心期接种病菌。用蒸馏水加吐温（Tween-20）配成0.1%水溶液，再用毛笔沾取夏孢子放入吐温的水溶液中，充分搅匀，即成孢子悬浮液。孢子悬浮液浓度为 $2 \times 10^5$ 个孢子/ml。接种前将混合后的孢子悬浮液离心20 min，以使孢子分散均匀，随后将悬浮液喷在植株上。将接种后的植株保持在相对湿度

100%、10℃以下的暗室中保湿24 h，以利于病原菌的侵染。也可以将植株放在湿润箱、塑料盒子或塑料袋中保湿。然后移入温室内，在20℃的条件下，每天日照16 h。

#### 病害评价

接种后的14~17 d就可以进行病害等级的评价。病级分级标准如下：

| 病级 | 病情              |
|----|-----------------|
| 0  | 无感病症状           |
| 1  | 夏孢子堆占叶面积1%~5%   |
| 2  | 夏孢子堆占叶面积6%~10%  |
| 3  | 夏孢子堆占叶面积11%~20% |
| 4  | 夏孢子堆占叶面积20%以上   |

病情指数计算公式为：

$$DI = \frac{\sum (n_i \times S_i)}{4 \times N} \times 100$$

式中：DI—病情指数

$S_i$ —发病级别

$n_i$ —相应发病级别的株数

$i$ —病情分级的各个级别

$N$ —调查总株数

根据苗期病情指数，确定种质锈病抗性。

|   |         |                   |
|---|---------|-------------------|
| 1 | 高抗 (HR) | $0 < DI \leq 5$   |
| 3 | 抗病 (R)  | $5 < DI \leq 10$  |
| 5 | 中抗 (MR) | $10 < DI \leq 20$ |
| 7 | 感病 (S)  | $20 < DI \leq 30$ |
| 9 | 高感 (HS) | $30 < DI$         |

## 8.4 白粉病抗性

冰草白粉病鉴定采用苗期人工接种鉴定法。

鉴定材料的准备

#### ①播种育苗

将冰草种子播于装有混合物（土壤：草炭：蛭石=1：1：1）的育苗盘内。每个处理最少要有3个重复，每个重复有30株材料。在20~25℃、每天日照12 h的生长箱或温室中培育试验材料。



## ②接种体的培养和保存

从感病的冰草上采集闭囊壳，放入2~5℃冰箱中保存，也可在温室内活体植株上保存病菌。

### 接种方法

待冰草长至2叶1心期接种病菌。从田间自然发病的植株上采集分生孢子。用毛笔刷取叶片上长出的新鲜孢子，然后放入盛有无菌水的烧杯中，再滴加Tween-20（每100ml加入2滴Tween-20），搅拌均匀即得孢子悬浮液。用血球计数板计数分生孢子数。接种浓度为 $1.6\sim 3\times 10^5$ 个孢子/mL。采用喷雾接种法。用小型手持喷雾器将上述接种液均匀地喷于植物叶片上。接种后置于19℃温室内黑暗保湿16 h。后转入18~25℃温室内进行正常管理。

### 病害评价

接种后10 d调查发病情况。记录病株数及病级。病情分级标准如下：

| 病级 | 病情                      |
|----|-------------------------|
| 0  | 无病症                     |
| 1  | 病斑面积占叶面积的1/3以下，白粉模糊不清   |
| 2  | 病斑面积占叶面积的1/3~2/3，白粉较为明显 |
| 3  | 白粉层浓厚，叶片开始变黄、坏死         |
| 4  | 叶片坏死斑面积占叶面积的2/3以上       |

计算病情指数，公式为：

$$DI = \frac{\sum (n_i \times S_i)}{4 \times N} \times 100$$

式中：DI—病情指数

$S_i$ —发病级别

$n_i$ —相应发病级别的株数

i—病情分级的各个级别

N—调查总株数

依苗期病情指数，确定冰草种质白粉病抗性。

|           |                   |
|-----------|-------------------|
| 1 高抗 (HR) | $0 < DI \leq 25$  |
| 3 抗病 (R)  | $25 < DI \leq 45$ |
| 5 中抗 (MR) | $45 < DI \leq 65$ |
| 7 感病 (S)  | $65 < DI \leq 80$ |
| 9 高感 (HS) | $80 < DI$         |

## 8.5 禾草全蚀病抗性

禾草全蚀病鉴定采用苗期人工接种鉴定法。

接种体的培养和保存

病菌在PDA培养基上培养8~10 d，然后挑取菌种接种在灭过菌的玉米粉沙培养基中，25℃培养20 d左右，晾干备用。

播种育苗与接种

采用改良的Penrose人工接种法。在播种盘内先装入混合沙土，将玉米粉沙培养基培养扩繁后的菌种平铺于沙土层，然后将用消毒后的种子（用0.1%升汞溶液消毒）播入播种盘中，用带菌土复盖，每个处理3个重复，每盘30株，置于16~18℃下培养。

病害评价

接种后1个月调查病害的发生情况，记录病株数及病级。病情分级标准如下：

| 病级 | 病情                   |
|----|----------------------|
| 0  | 无病                   |
| 1  | 变黑根面积占根总面积的10%以下     |
| 2  | 变黑根面积占根总面积的10%~20%   |
| 3  | 变黑根面积占根总面积的21%~30%以下 |
| 4  | 变黑根面积占根总面积的30%以上     |

计算病情指数，公式为：

$$DI = \frac{\sum (n_i \times S_i)}{4 \times N} \times 100$$

式中：DI—病情指数

$S_i$ —发病级别

$n_i$ —相应发病级别的株数

$i$ —病情分级的各个级别

$N$ —调查总株数

依苗期病情指数，确定冰草种质禾草全蚀病抗性。

|   |         |                   |
|---|---------|-------------------|
| 1 | 高抗 (HR) | $0 < DI \leq 10$  |
| 3 | 抗病 (R)  | $10 < DI \leq 20$ |
| 5 | 中抗 (MR) | $20 < DI \leq 35$ |
| 7 | 感病 (S)  | $35 < DI \leq 50$ |
| 9 | 高感 (HS) | $50 < DI$         |

## 9 其他特征特性

### 9.1 种质用途

冰草种质有多种用途，主要用途可分为如下 3 类。

- 1 饲用（家畜或野生动物的饲草料）
- 2 遗传育种（作物和牧草的育种材料）
- 3 生态（用于植被恢复）

## 9.2 染色体倍性

冰草细胞染色体镜检是鉴别冰草种质资源染色体倍性的主要方法，在染色体镜检中，多采用挤压法，所用染色剂多为醋酸系列染色剂；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、幼叶等。

根尖和幼叶的染色体镜检步骤如下：

待冰草种子萌发幼根长至 1 cm 左右时，从其尖端取一段作为样品。用醋酸乙醇固定剂中固定半小时以上，移入软化剂（错酸、盐酸、硫酸软化剂）中软化 3~5 min（见样品由白色变为半透明为止），将样品自软化剂中取出，放到载玻片上，加上盖玻片，并在盖玻片上加压，将样品压薄，再用针尖将盖玻片挑开一个缝隙，用滴管沿缝隙加一滴染色剂（1% 醋酸地衣红或 1% 醋酸酚蓝），染色 3 min 后将针取去，挤去多余的染色剂，进行镜检，挑选处于四分体阶段的小孢子母细胞进行染色体计数，即可确定该样品染色体倍性。

## 9.3 核型

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

## 9.4 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冰草种质，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。

## 9.5 备注

冰草种质特殊描述符或特殊代码的具体说明。