

无芒雀麦种质资源数据质量控制规范

1 范围

本规范规定了无芒雀麦种质资源数据采集过程中质量控制的内容和方法。

本规范适用于无芒雀麦种质资源的整理、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，但是，鼓励根据本规范达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本规范。

ISO 3166 Codes for the Representation of Names of Countries

GB/T 2659 世界各国和地区名称代码

GB/T 2260 中华人民共和国行政区划代码

GB/T 12404 单位隶属关系代码

GB/T 3543—1995 农作物种子检验规程

GB/T 2930.1~11—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 6432—1994 饲料中粗蛋白测定方法

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 6435—1986 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—1992 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—土壤有机质测定法

ISTA 1999 国际种子检验规程

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无芒雀麦植株的正常生长及其性状的正常表达。

3.1.2 田间设计

确定播种期要因地制宜，春播、夏播、或早秋播均可。主要取决于气温、土壤墒情、无芒雀麦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。西北较寒冷的地区多行春播，也可夏播。兰州地区在3月下旬到4月上旬播种，内蒙古春季干旱、风沙大、气温低、墒情差以夏播为宜，通常在7月中旬或下旬播种。在华北、华中等地区以7月中上旬播种为宜，或是在10月中旬播种生长最好。其他地区，按当地生产习惯适期播种。

试验小区为 10m^2 ($2\text{m}\times 5\text{m}$)，随机区组排列，条播，行距15—30cm，3次重复。试验地周围应设保护行或保护区。

3.1.3 田间管理

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

3.2 数据采集

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

3.3 试验数据统计分析和校验

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

4 基本信息

4.1 全国统一编号

全国统一编号由“CF”加6位顺序号组成的8位字符串，如“CF003748”。其中“CF”代表China Forage，后6位数字代表具体牧草种质的编号。全国统一编号具有惟一性。

4.2 种质库编号

种质库编号是由“I7B”加5位顺序号组成的8位字符串，如“I7B01388”。其中“I”代表国家农作物种质资源长期库中的牧草类种质，“7B”代表牧草，后五位为顺序号，从“00001”到“99999”，代表具体牧草种质的编号。只有已进入国家农作物种质资源长期库保存的种质才有种质库编号。每份种质具有惟一的种质库编号。

4.3 种质圃编号

种质在国家多年生和无性繁殖圃的编号。牧草种质圃编号为8位字符串，如“GPMC0011”，前4位“GPMC”为国家赋予牧草圃的代号，后4位为顺序号，代表具体牧草种质的编号。每份种质具有惟一的种质圃编号。

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“19980029”，前4位表示种质从境外引进年份，后4位为顺序号。每份引进种质具有惟一的引种号。

4.5 采集号

种质在野外采集时赋予的编号，采集号一般由年份加4位顺序号组成的8位字符串，如“20030168”。前4位“2003”表示年份，后四位为顺序号，从“0001”到“9999”。

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

4.7 种质外文名

国外引进种质的外文名和国内种质的汉语拼音名。每个汉字的汉语拼音之间

空一格，每个汉字汉语拼音的首字母大写，如“Carlton”。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的科名。由拉丁名加英文括号内的中文名组成，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的属名。由拉丁名加英文括号内的中文名组成，*Bromus* L.(雀麦属)”。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 (Species) 的学名 (Latin name 或 Scientific name)。由拉丁名加英文括号内的中文名组成，*Bromus inermis* Leyss.(无芒雀麦)。学名首先应以《中国植物志》为准，其次以地方植物志为准。凡《中国植物志》及地方植物志中未包含的种，以国际植物学界的权威性专著或专论中所用的名称为准，如没有中文名，直接填写拉丁名。

4.11 原产国

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 3166-1 和 GB/T2659，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。

4.13 原产地

国内种质的原产县、乡、村名称。县名参照 GB /T 2260。

4.14 海拔

无芒雀麦种质原产地的海拔高度。单位为 m。

4.15 经度

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。东经为正值，西经为负值，例如，“12528”代表东经 125° 28'，“-10107”代表西经 101° 7'。

4.16 纬度

种质原产地的纬度，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，“3009”代表北纬30°9′，“-2632”代表南纬26°32′。

4.17 来源地

国内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

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

4.19 保存单位编号

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唯一性。

4.20 系谱

无芒雀麦选育品种（系）的亲缘关系。

4.21 选育单位

选育品种（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

品种（系）培育成功的年份。例如“1982”、“2001”等。

4.23 选育方法

品种（系）的育种方法。例如“系选”、“杂交”、“辐射”等。

4.24 种质类型

无芒雀麦种质资源的类型可分为：

- 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

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“I7B01388-1.jpg; I7B01388-2.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

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“内蒙古和林县”。

5 形态特征和生物学特性

5.1 根系长

在植株的开花期，以整个试验小区的植株为观测对象，随机选择 3 个植株的根系，测定其最长根系的长度，单位为 cm。

5.2 根系密度

成熟期用目测法判断。在试验小区随机取样 3 株（丛），根据模式图及有关说明确定根系的生长密度。

- 1 稀疏（须根稀疏）
- 2 中等（介于两者之间）
- 3 稠密（须根密集）

5.3 根系分层比

在植株的开花期，以整个试验小区的植株为观测对象，随机选择 3 个植株的根系，测定其不同土壤层根系的重量占总根系重量的百分比。土壤层可分为：

- 1 0—20cm
- 2 20—40cm
- 3 40—60cm
- 4 60—80cm
- 5 80—100cm

根系重量比用公式 $X = \frac{W_a}{W} \times 100\%$ 计算

式中： X 表示不同土壤层根系百分比

W_a 表示不同土壤层根系重量

W 表示根系总重量

5.4 根系入土深度

在植株的结实期，以整个试验小区的植株为观测对象，随机选择 3 个植株，测定其根系的入土垂直深度。单位为 cm。

5.5 根茎长

根茎系匍匐生长于土壤中，多少变态的地下茎。有明显的节和节间，叶退化为膜质鳞片状，顶芽和腋芽明显并可发育成地上枝，节上产生不定根。

在植株的结实期，以整个试验小区的植株为观测对象，随机选择 3 个植株，测定其最长根茎的长度。单位为 cm。

5.6 根茎入土深度

在结实期，根茎入土深度。

在植株的结实期，以整个试验小区的植株为观测对象，随机选择 3 个植株，测定其根茎的入土垂直深度。单位为 cm。

5.7 根茎与根量比

在植株的结实期，以整个试验小区的植株为观测对象，随机选择 3 个植株，测定其根茎与根量的重量比，以%表示。

根茎与根量比用公式 $X = \frac{W_{g_j}}{W} \times 100\%$ 计算

式中： X 表示根茎与根量比

W_{g_j} 表示根茎重量

W 表示总根量

5.8 根茎密度

成熟期用目测法判断。用 5.2 样本，根据模式图及有关说明观察根茎的密度。

- 1 稀疏（须根稀疏）
- 2 中等（介于两者之间）
- 3 稠密（须根密集）

5.9 根茎粗

在植株的结实期，以整个试验小区的植株为观测对象，随机选择 3 个植株，测定其一级根茎横切面的直径。单位为 mm。

5.10 秆形态

植株在生长过程中表现出的状态。以整个试验小区的植株为观察对象，目测植株的生长状态。

根据模式图及有关说明，确定秆形态。

- 1 直立（主茎垂直于地面生长，整个株型呈直立状）
- 2 斜生（由根颈处产生的枝条穿出地面后，先贴地生长一段后再向上直立生长）

5.11 秆节数

花期测定。在试验小区内随机抽取开花的植株 5 株，观测其茎秆节数。自地面开始第一节数至花序以下的最末节，单位为节，保留整位数。

5.12 秆被毛

秆表面光滑与否。以整个试验小区的植株为观测对象，随机抽取植株 10 株，目测秆表面被毛状况。

- 1 无毛
- 2 节下具倒毛

5.13 叶鞘被毛

叶鞘表面光滑与否。以整个试验小区的植株为观测对象，随机抽取植株 10 株，目测叶鞘表面被毛状况。

- 1 光滑
- 2 被茸毛

5.14 叶片长

在植株的开花期，以整个试验小区的植株为观测对象，随机选择 5 片叶，测定其长度，单位为 cm。

5.15 叶片宽

以整个试验小区的植株为观测对象，随机选择 5 片叶，测定其宽度，单位为 mm。

5.16 叶片数

在结实期，以整个试验小区的植株为观测对象，随机选择 5 个植株，观察记录叶片数。

5.17 叶片形态

开花期目测法判断。在试验小区内随机抽取开花的植株 10 株，观察茎中部的叶片形态。因禾本科植物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。根据模式图及有关说明，以相同叶形态的植株达到 70% 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，但未成针状或细筒状）
- 3 内卷（叶片明显内卷或旋卷成针状或细筒状）

5.18 叶片颜色

开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植株中部叶片正面的颜色。以相同叶色的植株达到 70% 为准。

- 1 黄绿
- 2 浅绿
- 3 绿
- 4 深绿

5.19 叶片被毛

叶片表面光滑与否。以整个试验小区的植株为观测对象，随机抽取植株 10 株，目测叶片表面被毛状况。

- 1 无毛
- 2 下表面疏生毛
- 3 边缘疏生纤毛

5.20 圆锥花序长

在结实期，以整个试验小区的植株为观测对象，随机选择 5 个植株，测定其圆锥花序的长度。单位为 cm。

5.21 圆锥花序宽

在结实期，以整个试验小区的植株为观测对象，随机选择 5 个植株，测定其圆锥花序最宽处的距离。单位为 cm。

5.22 圆锥花序形态

开花期采用目测法判断。以全小区为调查对象，根据模式图及有关说明，以相同圆锥花序形态的植株达到 70% 为准。

- 1 松散
- 2 舒展
- 3 紧缩

5.23 花序分枝状况

开花期采用目测法判断。以整个试验小区的植株为观测对象，随机选择 5 个植株，观察圆锥花序的分枝状况。单位为分枝/节，记录最小值到最大值，如每节具 2~5 分枝。

5.24 小穗数

在结实期，以整个试验小区的植株为观测对象，随机选择 5 个植株，测定其花序分枝上着生小穗数。单位为枚，记录最小值到最大值，如每枝生 1~5 枚小穗。

5.25 基部分枝长

在开花期，以整个试验小区的植株为观测对象，随机选择 5 个植株，测定其圆锥花序基部节一级分枝的分枝长度。单位为 cm。

5.26 小穗长

在结实期，以整个试验小区的植株为观测对象，随机选择 5 个植株，测定其小穗的长度。单位为 mm。

5.27 小穗宽

在结实期，以整个试验小区的植株为观测对象，随机选择 5 个植株，测定其小穗最宽处的距离。单位为 mm。

5.28 小花数

在开花期，以整个试验小区的植株为观察对象，随机选择 5 枚小穗，观察小穗上着生的可孕小花数。单位枚/小穗。记录最小值到最大值，如小穗含 7~10 小花。

5.29 第一颖长

在结实期，以整个试验小区的植株为观测对象，随机选择 5 个小穗，测定

其第一颖的长度。单位为 mm，精确到整位数。

5.30 第二颖长

在结实期，以 5.29 采集的 5 个小穗为观测对象，测定其第二颖的长度，单位为 mm，精确到整位数。

5.31 外稃顶端形态

在结实期，以 5.29 采集的 5 个小穗为观察对象，观察其外稃顶端形态。

- 1 浅凹
- 2 微钝
- 3 具短尖头
- 4 具短芒(1-2mm)

5.32 种子形状

禾本科牧草的种子大多数被果皮紧密包裹，不易分离，所以一般所说的无芒雀麦种子实际上是颖果。完熟期以植株上饱满的颖果为观察对象，观察种子（颖果）的形状。

- 1 椭圆形
- 2 长椭圆形
- 3 矩圆形
- 4 矩形

5.33 种子长度

完熟期随机抽取结实植株的饱满种子（颖果）10 个，测量种子（颖果）最长处的距离（不含芒）。单位为 mm，保留整位数。

5.34 种子宽度

完熟期以 5.33 随机取样的 10 个饱满种子（颖果）为观测对象，测量种子（颖果）最宽处的距离。单位为 mm，保留整位数。

5.35 形态一致性

在开花期观察种质表现形态的一致性，以整个试验小区为观察对象，观察种质群体内单株间的形态一致性，可分为：

- 1 一致
- 2 不一致

5.36 播种期

种子播种日期,表示方法为“年月日”,格式为“YYYYMMDD”。如“20050428”,表示2005年4月28日播种。

5.37 出苗期

用目测法,以试验小区全部植株为调查对象,鉴定的标准是在播种小区内50%种子萌发后的幼芽露出地面时为出苗期,如果观察小区面积大,对小区的1/2或1/4的地段进行观察,在这一发育阶段(时期)来到之前及其通过之时,每天进行观察。表示方法和格式同5.36。

5.38 返青期

用目测法,以试验小区全部植株为调查对象,鉴定的标准是播种小区内50%的植株返青时为返青期。如果观察小区面积大,对小区的1/2或1/4的地段进行观察,在这一发育阶段(时期)来到之前及其通过之时,每天进行观察。表示方法和格式同5.36。

5.39 分蘖期

用目测法,以试验小区全部植株为调查对象,鉴定的标准是,50%的幼苗从其基部分蘖节产生侧芽,并形成新枝即为分蘖期。如果观察小区面积大,对小区的1/2或1/4的地段进行观察,在这一发育阶段(时期)来到之前及其通过之时,每天进行观察。表示方法和格式同5.36。

5.40 拔节期

用目测法,以试验小区全部植株为调查对象,鉴定的标准是以50%的植株第一个节露出地面1~2cm即为拔节期。如果观察小区面积大,对小区的1/2或1/4的地段进行观察,在这一发育阶段(时期)来到之前及其通过之时,每天进行观察。表示方法和格式同5.36。

5.41 抽穗期

用目测法,以试验小区全部植株为调查对象,鉴定的标准是50%的花序从顶部叶鞘伸出1cm时称抽穗期。如果观察小区面积大,对小区的1/2或1/4的地段进行观察,在这一发育阶段(时期)来到之前及其通过之时,每天进行观察。表示方法和格式同5.36。

5.42 开花期

用目测法，以试验小区全部植株为调查对象，鉴定的标准是 50%的植株开花。如果观察小区面积大，对小区的 1/2 或 1/4 的地段进行观察，在这一发育阶段（时期）来到之前及其通过之时，每天进行观察。表示方法和格式同 5.36。

5.43 乳熟期

种子发育早期，胚乳为乳状时期并已接近正常大小叫乳熟期。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。表示方法和格式同 5.36。

5.44 蜡熟期

种子完全发育，胚乳呈蜡质状。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。表示方法和格式同 5.36。

5.45 完熟期

种子变坚硬，并开始脱落的时期，此时叶由绿到黄褐色。以全小区为调查对象，记录小区内 80%的植株达到完熟的日期。表示方法和格式同 5.36。

5.46 生育天数

观察记录从出苗期或返青期到种子成熟期的天数。单位为 d。

5.47 熟性

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，观测 50%的植株进入完熟期的日期。

- 1 早熟（生育天数较短，一般 85d-90d）
- 2 中熟（生育天数居中，一般 90d-110d）
- 3 晚熟（生育天数较长，一般>110d）

5.48 果后营养期

植株在种子成熟后，继续进行营养生长到停止生长时期。以全小区为调查对象，记录观测小区内 50%的植株开始进行营养生长的日期。表示方法和格式同 5.36。

5.49 枯黄期

用目测法，以试验小区全部植株为调查对象，鉴定的标准是 50%植株茎叶枯黄或失去生活机能的日期，如果观察小区面积大，对小区的 1/2 或 1/4 的地段进行观察，在这一发育阶段（时期）来到之前及其通过之时，每天进行观察。表示方法和格式同 5.36。

5.50 生长天数

观察记录从出苗期或返青期到枯黄期的天数。单位为 d。

5.51 越冬率

在枯黄期之前采用随机取样法进行调查。以%表示。

单株小区的调查方法：避开边缘地段，在小区内随机选取 10 株（丛），定株。翌年牧草返青后，调查所定株丛的返青株（丛）数。

条播小区的调查方法：避开边缘地段，在小区株行内随机选取 4 个样段，每个样段长为 1m，调查每一样段内的株（丛）数。如果是丛生植物，记录时只记母株数，不记分蘖枝数。翌年植物返青后调查原样段内返青的株（丛）数。

撒播小区的调查方法：避开边缘地段，在小区内随机选取 4 个样方，每个样方为 0.25m²，调查每一样方内的株（丛）数。如果是丛生植物，记录时只记母株数，不记分蘖枝数。翌年植物返青后调查原样方内返青的株（丛）数。

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

式中：WR——越冬率，%

N——越冬前的株（丛）数

N₁——返青的株（丛）数

5.52 观测年龄

无芒雀麦种质观测当年在小区建植的年龄。单位为年。

5.53 生长寿命

从牧草播种当年算起，至田间株丛建植（存活）率低于 30%的年份止。

- 1 短寿（建植期 < 5 年）
- 2 中寿（建植期 5~10 年）
- 3 长寿（建植期 > 10 年）

5.54 再生性

衡量标准一般是以再生速度、再生次数和再生草产量等 3 个指标来测定的。可分为 3 类。

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

5.55 耐刈割性

每年可刈割的次数及刈割对再生性的影响程度，分为3级。

- 1 好（刈割次数多，持久性好）
- 2 中（介于二者之间）
- 3 差（刈割次数少，持久性差）

5.56 落粒性

完熟期用目测法判定。在试验小区内随机抽取结实植株10株，观察种子从植株上散落的程度。

- 1 不落粒（有外力或阳光暴晒时不落粒）
- 2 稍落粒（有外力或阳光暴晒时部分种子脱落）
- 3 落粒（有外力或阳光暴晒时大多数种子脱落）

5.57 千粒重

参照 GB/T 2930.9—2001 牧草种子检验规程 重量测定，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，单位用“g”表示，小数的位数应符合 GB/T 2930.2—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。

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：

$$\text{千粒重} = \bar{X} \times 10$$

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。

5.58 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，在规定的天数内，记数正常发芽的种子数占供试种子数的百分比。以%表示，精确到 0.1%。

以 GB/T 2930.4—2001 牧草种子检验规程 发芽试验中的表 1 规定的初次记数天数为准。

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

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

5.59 发芽率

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 发芽试验。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。

发芽条件：不同的牧草种子对发芽床、温度和光照条件要求不同，参照 GB/T 2930.4—2001 中的表 1。将种子置于垫铺滤纸的培养皿或砂(土壤)床中。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，置于发芽箱中进行恒温或变温发芽。有的种子需要变温时，通常保持低温 16h。根据需要调节光照条件，一般为每日 16h 光照，8h 黑暗。如果已知待测种子的萌发受光照抑制，应采取避光措施。发芽床要始终保持湿润。

观测记录：发芽观测时间一般为 2~4 周，参照 GB/T 2930.4—2001 中的表 1。首次记数后，应每隔 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，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。

5.60 种子生活力

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 0.1%和 1.0% 水溶液。水的 pH 值应在 6.5~7.5 之间，最好为 7.0。通常 0.1%溶液用于切开的种子，1.0%溶液用于整粒种子。

高浓度(1.0%)溶液须使用缓冲溶液。配制方法：母液 I，称取 9.078 g 无水磷酸二氧钾(KH_2PO_4)溶于 1000 mL 蒸馏水；母液 II，称取 9.472 g 无水磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)或 11.876g 含两个结晶水的磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)溶于 1000 ml 蒸馏水。母液 I 与母液 II 以 2 : 3 混合。称 1g 三苯基氯化四唑，将该缓冲液定溶至 100 mL。其他浓度的三苯基氯化四唑溶液也可由该母液稀释。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：多数牧草种子在染色前必须进行预先湿润。吸湿种子有利于进行

切刺处理，不致于严重损伤种子器官或组织，并使染色更为均匀，有利于鉴定。如果种皮妨碍吸胀，须除去稃壳或刺破种皮。预湿处理有两种方法：慢湿法，按标准发芽试验的方法将种子置于纸间(BP)吸湿，此法用于那些直接浸在水中容易破裂的种子、陈种子和干燥种子。浸渍法，将种子全部浸泡在水里，使其达到充分吸胀。浸泡时间超过 24 h，应进行换水。各种牧草预湿方法及时间参照 GB/T 2930.5—2001 中的表 1。

切刺方式：

穿刺：用解剖针或锋利解剖刀，把经过预湿处理的种子或硬实种子进行穿刺。

纵切：体积较大的种子沿胚中轴的中部纵向切开，切口长度为胚乳长的 3/4。

横切：紧靠胚的上部横切，将含胚一端浸入四唑溶液。

横剖：可代替横切，切开但未切断。适用于小粒种子。

离胚：用解剖针在盾片上部稍偏中心处刺穿胚乳，从胚乳中挑出带有盾片的胚，随即移入四唑溶液。

剥去种皮：对不适合刺切的种子，采用剥去全部种皮的方法。

染色：按 GB/T 2930.5—2001 中的表 1 规定的染色浓度、温度和时间将经过预湿和切刺处理的种子完全浸入四唑溶液，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。对种子的胚芽、胚根、胚轴和盾片等部位进行仔细的观察。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（染色最大面积大于 GB/T 2930.5—2001 中的表 1 规定）；不符合上述要求，染色不正常或染成浅色斑点者为无生活力的种子。

对带有稃壳的牧草种子，需用乳酸苯酚透明剂使稃壳、胚乳或种皮变为透明，以便观察种胚的染色情况，正确判断种子的死活。乳酸苯酚透明剂由 20 mL 乳酸、20 mL 苯酚、40 mL 甘油和 20 mL 水混合配制成。四唑反应结束后，去除溶液，用滤纸吸去残液，将种子集中起来加入 2~4 滴乳酸苯酚，适当摇晃，使透明剂与种子充分接触，然后置于 38℃ 恒温箱 30~60 min，取出培养皿后可鉴定。

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。

5.61 种子寿命

在室内常温条件下种子生活力保持的期限。单位为年。

5.62 叶层高

成熟期测定。采用随机取样法，在小区内随机选取具有代表性的地段 5 处，分别测量高度，自地面量至叶层的最高部位，单位为 cm，保留 1 位小数。

5.63 株高

成熟期测定。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 2 株，分别测高，自地面量至植株的最高部位，单位为 cm，保留 1 位小数。

当随机取样法遇到小区边缘时，在边缘取样不能超过 3 株。

5.64 鲜草产量

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

5.65 干草产量

抽穗期测定，用 5.64 的鲜草样品，将测定完鲜草产量的牧草分别装入布袋，待阴干后称其风干重。单位为 kg/hm^2 ，保留 1 位小数。

5.66 干鲜比

由干重和鲜重所测得的数据计算得出。以%表示，精确到 0.01%。

$$X = \frac{W_h}{W_f} \times 100$$

试中：X ——干重占鲜重的百分比，%

W_f ——牧草鲜重，g

W_h ——牧草风干后的重量，g

5.67 单株产量

在抽穗期测定，在测产小区内随机选择5个单株，测定其重量，以g表示，保留一位小数。严防在边行及密度不正常的地段测产。为防止水分散失，边割边称重量。

5.68 种子产量

在完熟期测定，测产小区应注意代表性，通常按随机排列法排列测产小区，测产小区面积通常10m²。测产面积1m²，采用样方法，重复3次，严防在边行及密度不正常的地段测产。单位为kg/hm²，保留1位小数。

5.69 茎叶比

一株（丛）植株的茎风干重与叶风干重之比。采用随机取样法，在小区内选取具有代表性的地段3~5处，每处选2株，齐地面剪下，迅速分出茎叶各部，待风干后分别称其重量，单位g，保留一位小数。表示方法为：1 : X，精确到0.1。

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

试中：X ——叶风干重与茎风干重的比值

W_s ——茎风干重，g

W_l ——叶风干重，g

分离叶片时不带其叶鞘。

5.70 分蘖数

在牧草分蘖期之前，在小区内随机设样方，样方面积为0.25m² (0.5m X 0.5m)，3次重复，调查样方内的母株数。待牧草枯黄后再调查同样方内的总株数。计算方法如下：

$$X = N - N_1$$

试中：X ——根茎型禾草分蘖数；

N ——总株数；

N_1 ——母株数。

5.71 抽穗率

在结实期采用随机取样法调查抽穗率，在小区内随机设样方，样方面积为 1m^2 ，3 次重复，调查样方内抽穗植株占全部植株的百分率，以 % 表示。

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

试中：X ——抽穗率，%

N ——植株总数

N_1 ——抽穗植株数

5.72 结实率

蜡熟期测定。在试验小区内随机抽取结实植株 5 株，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。用以下公式计算单株（丛）牧草的结实率，取平均数。以 % 表示。

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

试中：X ——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

6 品质特性

6.1 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(无刺无毛，手抓青草或干草时柔软而无扎手感觉，茎叶细嫩柔软，为优等)

2 中等(感官测试居于二者中间者，茎叶柔软一般，为中等)

3 粗糙(秆硬叶糙，植物体多被粗硬毛或具刺，手抓或触及时有扎手或刺痛

感，用手折断其茎秆和枝叶时难度大，茎叶质粗硬，为低等)

6.2 适口性

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，牧草种类及植株部位等。采用直接观察与访问调查方法。

根据采食状况，将牧草分 4 个等级。

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

对分析所得的资料还要查阅、参考前人的工作。

6.3 水分含量

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

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（用氯化钙或变色硅胶作干燥剂）。

样品的选取和制备：选取有代表性的样品，其原始样量应在 1000g 以上。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。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 200~300g，在 105°C 烘箱中烘 15min，立即降至 65°C ，烘干 5~6h。取出后，在室内空气中冷却 4h，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

(%)

测定步骤：洗净称样皿，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。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 开始记时)，取出，盖好称样皿盖，在干燥器中冷却 30min，称重。再同样烘干 1h，冷却，称重，直至两次称重之重量差小于 0.002g。

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小于 0.2%，否则重做。

6.4 粗蛋白含量

抽穗期采样。采用凯氏定氮法，按照 GB/T 6432—1994 饲料中粗蛋白测定方法。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，在阴凉处保存期三个月)；

⑥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 (1.67mL 盐酸, GB 622, 分析纯, 注入 1000mL 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 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))。

仪器设备

①实验室用样品粉碎机或研钵; 分样筛(孔径 0.45 mm, 40 目);

②分析天平(感量 0.0001g);

③消煮炉或电炉; 滴定管(酸式, 10、25 mL); 凯氏烧瓶(250 mL);

④凯氏蒸馏装置(常量直接蒸馏式或半微量水蒸气蒸馏式);

⑤锥形瓶(150、250 mL); 容量瓶(100 mL); 消煮管(250 mL);

⑥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

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 0.5~1 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，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。

结果计算：

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

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。当粗蛋白含量在 25%以上时，允许相对偏差为 1%；当粗蛋白含量在 10%~25%之间时，允许相对偏差为 2%；当粗蛋白含量在 10%以下时，允许相对偏差为 3%。

6.5 粗脂肪含量

抽穗期采样。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%。

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；分样筛（孔径 0.45mm）；
- ②分析天平（感量 0.0001g）；
- ③电热恒温水浴锅（室温~100℃）；恒温烘箱（50~200℃）；
- ④索氏脂肪提取器(带球形冷凝管，100 或 150mL)；
- ⑤索氏脂肪提取仪；

⑥滤纸或滤纸筒（中速，脱脂）；

⑦干燥器（用氯化钙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

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 120 min，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。

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：

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

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%。

6.6 粗纤维含量

抽穗期采样。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%。

试剂

①本方法试剂使用分析纯，水为蒸馏水。标准溶液按 GB 601 制备。

②硫酸(GB 625)溶液 0.128 ± 0.005 mol/L;

③氢氧化钠标准溶液标定 (GB 601);

④氢氧化钠(GB 629)溶液, 0.313 ± 0.005 mol/L;

⑤邻苯二甲酸氢钾法标定 (GB 601);

⑥酸洗石棉 HG 3—1062;

⑦95%乙醇(GB 679);

⑧乙醚(HG 3—1002);

⑨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); 分析天平 (感量 0.0001g);

③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℃);

④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);

⑤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);

⑥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);

⑦干燥器 (以氯化钙或变色硅胶为干燥剂);

⑧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

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。

推荐法：称 1~2g 样品（脱脂步骤同手工方法）于 G₂ 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：

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

式中：CF——粗纤维含量，%

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%。

6.7 无氮浸出物含量

植物样品中无氮浸出物含量的计算方法为：从 100% 的干物质中减去水份含

量、粗蛋白、粗脂肪、粗纤维、粗灰分的百分含量之和。精确到 0.01%。

计算公式：

$$NFE = 1 - W - CP - EE - CF - CA$$

式中：NFE——无氮浸出物

1——干物质总量

W——水份含量

CP——粗蛋白含量

EE——粗脂肪含量

CF——粗纤维含量

CA——粗灰分含量

6.8 粗灰分含量

抽穗期采样。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%。

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：

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

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%。

6.9 磷含量

抽穗期采样。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%。

试剂

①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；

②盐酸溶液 (1+1)；硝酸；高氯酸；

③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)；

④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 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)。

仪器和设备

①实验室用样品粉碎机或研钵；分样筛 (孔径 0.42 mm，40 目)；

②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)；

③高温炉 (可控温度在 550±20℃)；瓷坩埚 (50 mL)；

- ④容量瓶（50、100、1000 mL）；移液管（1.0、2.0、5.0、10.0 mL）；
- ⑤三角瓶（200 mL）；凯氏烧瓶（125、250 mL）；
- ⑥可调温电炉（1000 W）。

样品制备：取具有代表性样品 2Kg，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

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。

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 0.0mL 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。

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%。

6.10 钙含量

抽穗期采样。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)

试剂和溶液:

①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;

②硝酸; 高氯酸 (70%~72%); 盐酸溶液 (1+3);

③硫酸溶液 (1+3); 氨水溶液 (1+1);

④草酸铵水溶液 (42g/L: 称取 4.2g 草酸铵溶于 100 mL 水中);

⑤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);

⑥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; 分析筛 (孔径 0.42 mm (40 目));

②分析天平 (感量 0.0001g);

③高温炉 (电加热, 可控温度在 $550 \pm 20^\circ\text{C}$); 坩埚 (瓷质);

④容量瓶 (100mL); 滴定管 (酸式, 25mL 或 50mL); 玻璃漏斗 (直径 6cm);

⑤定量滤纸 (中速, 7cm~9cm); 移液管 (10.20mL);

⑥烧杯 (200mL); 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

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。

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：

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

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 100mL 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：

①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。

②盐酸羟胺；三乙醇胺；乙二胺；盐酸水溶液（1+3）；

③氢氧化钾溶液（200g/L：称取 20 g 氢氧化钾溶于 100 mL 水中）；

④淀粉溶液（10g/L：称取 1 g 可溶性淀粉入 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（1g/L）；

⑤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 百里香酚酞、5 g 氯化钾研细混匀，贮存于磨口瓶中备用；

⑥钙标准溶液（0.0010g/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 1 000 mL 容量瓶中，稀释至刻度；

⑦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 1000mL 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

样品分解：同高锰酸钾法。

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——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%。

6.11 天门冬氨酸含量

用氨基酸自动分析仪可以测出 18 种氨基酸的含量，即天门冬氨酸、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、精氨酸和色氨酸。其中前 17 种氨基酸可以同时测出，色氨酸需要单独测定。抽穗期采样。测定方法按照 GB/T 18246—2000 饲料中氨基酸的测定。以%表示，精确到 0.01%。

前 17 种氨基酸的测定方法如下：

仪器和设备：

①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%）；

- ②实验室用样品粉碎机；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；喷灯或熔焊机；恒温箱或水解炉；
- ⑤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)）。

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。

酸水解法

常规水解：

- ①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；
- ②液氮或干冰-乙醇(丙酮)；
- ③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 1000 mL，摇匀，用 G4 垂熔玻璃砂芯漏斗过滤，备用；
- ④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）；
- ⑤茚三酮溶液（按仪器说明书配制）；
- ⑥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) $\mu\text{mol/mL}$)；
- ⑦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。

碱水解法

- ①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 1000 mL。使用前取适量超声或通氮脱气；
- ②液氮或干冰-乙醇(丙酮)；
- ③盐酸溶液， $c(\text{HCl})=6 \text{ mol/L}$ ：将优级纯盐酸与水等体积混合；
- ④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、氰化钠 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 1000 mL；

⑤不同 pH 和离子强度的洗脱用柠檬酸钠缓冲液与茚三酮溶液（按仪器说明书配制）；

⑥L-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。 $c(\text{色氨酸}) = 5.00 \mu\text{mol/mL}$ ；

⑦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) $\mu\text{mol/mL}$ ；

⑧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。

酸提取法

①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 1000 mL，混匀；

②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）；

③茚三酮溶液（按仪器说明书配制）；

④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 $c(\text{氨基酸}) = 2.50 \mu\text{mol/mL}$ ；

⑤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 25 mL 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

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 pH 2.2 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 的饲料试样 (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璃管, 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 μm 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 饲料试样 (蛋氨酸含量 ≤ 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)。

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, 使各氨基酸分解率 $\geq 85\%$, 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。

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

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

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%。

色氨酸的测定方法：采用反相高效液相色谱相（RP-HPLC）法，所用仪器、缓冲液和测定条件与上述方法稍有不同，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 μL 。

其他所用设备及试剂、样品前处理等均同上述 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。结果计算和允许差同上。

6.12 苏氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.11。

6.13 丝氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.11。

6.14 谷氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.11。

6.15 脯氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.11。

6.16 甘氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.11。

6.17 丙氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.11。

6.18 缬氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.11。

6.19 胱氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.11。

6.20 蛋氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.11。

6.21 异亮氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.11。

6.22 亮氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.11。

6.23 酪氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.11。

6.24 苯丙氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.11。

6.25 赖氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.11。

6.26 组氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.11。

6.27 精氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.11。

6.28 色氨酸含量

数据质量控制规范，同 6.11。

7 抗逆性

7.1 抗旱性

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

试验材料

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

田间直接鉴定(牧草品种比较试验法)

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

盆栽直接鉴定

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

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

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

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

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

⑥ 一般每次干旱处理约为 10~20d。

⑦ 在第一次停水后，连续干旱，观察不同时期萎蔫和死亡情况。

观察和测定各项指标

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

目测法

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

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

为 2 分)

5 最弱 (全部植株萎蔫, 小区内 30%植株死亡, 为 1 分)

试验结果的分析 and 评价

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

7.2 耐热性

牧草耐热性鉴定主要进行芽期和苗期耐热性鉴定(参考方法)。

芽期耐热性鉴定:

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

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

式中: GR——发芽率, %

N_0 ——发芽终期全部正常发芽的种子数

N——供试种子数

$$GI=\sum Gt/Dt$$

式中: GI——发芽指数

Gt——日发芽数

Dt——发芽天数

苗期耐热性鉴定:

采用人工模拟气候鉴定法。供试种子待胚根长至 0.5 cm 时, 将其播于塑料育苗钵内, 播种基质为经过消毒的蛭石草炭营养土 (3: 1), 每钵 4 粒, 定苗 2 株, 每份种质 3 次重复, 每重复 12 株, 随机区组排列。幼苗在人工光照培养箱中培养。设耐热性强、中、弱三品种作对照品种。出苗前温度为 25℃, 无光照。

出苗后，每周浇营养液 1 次，白天 28℃，晚间 20℃，每天光照 16h。幼苗 4 叶 1 心后，置于每天 8h 光照、30℃ 18h/40℃ 6h 条件下胁迫 72h。调查幼苗的热害症状，热害级别根据热害症状分为 5 级。

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

根据热害级别计算热害指数，计算公式为：

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

式中：HI——热害指数

N_i ——各级株数

M——最高级数

N——总株数

i——热害级别

耐热性鉴定结果的统计分析和校验参照 3.3。

牧草种质的耐热性根据芽期发芽率或发芽指数以及苗期热害指数分为 3 级。

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

7.3 抗寒性

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

试验材料

牧草种类繁多，组成复杂，不同类型的牧草抗寒性的形态特征和生理特性不同，抗寒性的途径和方式不完全一样，其机理也不尽相同。因此，为了提高牧草

种质资源抗寒性差异和程度的可比性，在试验材料对比和组合上，最好同科、同属内不同种，同一种内不同品种或生态型进行组合试验。

试验方法及指标

田间直接鉴定（牧草品种比较试验法）：

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

观察记载

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

实验室间接鉴定（电导法）：

幼苗培养——采用沙基培养。试验种子用 5% 的 NaCl 消毒，播种在塑料培养筛（ $35\text{cm} \times 25\text{cm} \times 15\text{cm}$ ，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 $22/18 \pm 1^\circ\text{C}$ ，相对湿度为 $70 \pm 10\%$ ，光强为 $8000 \sim 85000\text{lX}$ ，光期 12h。

此外，育苗也可采用塑料棚内塑料箱育苗，也可在田间育苗。

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

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

相对电导率及拐点温度指标测定——将低温处理的幼苗用无离子水冲洗 3 次，放入试管中，每管装上 5ml 无离子水，用玻璃棒压住，真空抽气 15min，振

荡 10min, 1h 后测定初电导率。然后, 把试管放入沸水中煮 10min (加塞), 冷却到室温后, 测定煮沸电导率。细胞膜透性变化用相对电导率表示:

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

式中: K——相对电导率, %

k_0 ——初电导率

k_1 ——煮沸电导率

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

7.4 耐霜冻性

采用田间耐霜冻性测定方法, 选择有代表性小区, 重复二次, 目测受冻害状况, 结合下列说明确定种质耐霜冻性。

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

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

7.5 耐盐性

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

牧草种子发芽期耐盐鉴定方法

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

②在口径为 120mm 的培养器内放入 5g 用自来水反复冲洗后干燥的锯末亦可用适量脱脂棉代替, 上盖一层滤纸, 然后在每个培养器中加入 40ml 盐溶液 (液面与锯末持平), 再放入 100 粒经消毒处理的种子, 置于温箱中, 在变温条件下 18℃16h 和 28℃8h 后进行培养 (发芽床光照温度等条件可根据牧草种子检验规程的规定依不同草种而定), 逐日观察记载发芽种子数并补充所蒸发的水分, 使各处理盐浓度维持不变。发芽 10d 后 (不同草种可按牧草种子检验规程而定),

计算发芽率和相对发芽率。相对发芽率是以不含盐的对照发芽率作为 100%时，不同含盐的发芽率与对照发芽率之比。

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

式中：GR——相对发芽率，%

GR_1 ——某一含盐量处理发芽率

GR_{CK} ——对照发芽率

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

④依据不同牧草材料的发芽率及相对发芽率评定其种子发芽期的耐盐性。

牧草苗期盆栽耐盐性鉴定方法

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

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

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

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

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

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

式中：H——平均相对株高（干重）

H_{CK} ——对照平均相对株高（干重）

H_1 ——处理平均相对株高（干重）

根据试验数据，进行聚类分析，对参试材料进行综合评价，可分为耐盐、中等耐

盐、中等敏感、敏感（不耐盐）4类。

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

结果分析和评价：根据试验资料和下列标准确定种质耐盐性等级。

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

8 抗病虫性

8.1 无芒雀麦穗肿病抗性

牧草病害测试有田间直接测试鉴定和人工接种测试鉴定。田间直接测试鉴定简便易行。在病害发生地区和病害发生时期对供试材料选取代表性小区，重复 2 次，观察其受病害状况，根据受害情况，分为 5 级。

- 1 高抗（观察小区内未发现病原体）
- 2 抗病（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）
- 3 中抗（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）
- 4 感病（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）
- 5 高感（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）

8.2 雀麦黑穗病抗性

牧草病害测试有田间直接测试鉴定和人工接种测试鉴定。田间直接测试鉴定简便易行。在病害发生地区和病害发生时期对供试材料选取代表性小区，重复 2

次，观察其受病害状况，根据受害情况，分为5级。

- 1 高抗（观察小区内未发现病原体）
- 2 抗病（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）
- 3 中抗（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）
- 4 感病（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）
- 5 高感（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）

8.3 麦秆蝇抗性

在受害地区选取代表小区，10m²，重复2次，目测法确定受害程度。

- 1 高（观察地区未发现其害虫的成虫、幼虫、卵，为5分）
- 2 较高（虫害没有影响到植株生长，为4分）
- 3 中（虫害开始影响到植株生长，为3分）
- 4 低（影响到植株生长，为2分）
- 5 极低（严重影响到植株生长，甚至造成死亡，为1分）

8.4 瑞典秆蝇抗性

在受害地区选取代表小区10m²，重复2次，目测法确定受害程度。

- 1 高（观察地区未发现其害虫的成虫、幼虫、卵，为5分）
- 2 较高（虫害没有影响到植株生长，为4分）
- 3 中（虫害开始影响到植株生长，为3分）
- 4 低（影响到植株生长，为2分）
- 5 极低（严重影响到植株生长，甚至造成死亡，为1分）

9 其他特征特性

9.1 保护等级

根据《中华人民共和国野生植物保护条例》，牧草受保护的种质资源分为3级。没列入保护条例的种质不填此栏。

- 1 一级（一级保护植物）
- 2 二级（二级保护植物）
- 3 三级（一、二级以外的植物）

9.2 交换等级

根据国家种质资源交换原则，牧草种质交换等级分为3类。

- 1 一类（不可交换的种质）
- 2 二类（有条件交换的种质）
- 3 三类（可以交换的种质）

9.3 种质用途

无芒雀麦种质资源具有广泛的用途，主要用途有以下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、护坡固堤、草地植被恢复等）
- 3 育种（培育牧草新品种原始材料）

9.4 实物状态

无芒雀麦种质资源保存的实物状态（种子）可分为4类。

- 1 好（发芽率在80%以上）
- 2 中（发芽率在50%—80%）
- 3 差（发芽率在50%以下）
- 4 无实物（已无种质材料）

9.5 利用方式

无芒雀麦是世界著名的高产优质栽培最有前途的优良牧草之一，其利用方式多种多样。可以直接利用新鲜牧草饲喂家畜，也可将牧草加工成草产品或青贮饲料饲喂。

利用方式可分为3大类。

- 1 放牧（草食家畜直接在天然草地上放牧，获得各种营养物质）
- 2 青饲（将新鲜的植株刈割后舍饲家畜）
- 3 青贮（是在厌氧条件下，经过乳酸菌发酵调制保存的青绿多汁饲料）
- 4 干草（是反刍动物的主要饲草，由青绿植物干燥而成，水分低于15%，

能安全贮存而不腐烂)

9.6 利用期限

记录种质利用年数。

9.7 染色体数目

采用石碳酸一品红染色法，对所提交的种质材料进行染色体数目鉴定。以植物的体细胞数目为准。统计的细胞数应在 30 个以上，其中 85%以上的细胞具有恒定一致的染色体数目。

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 2-5mL 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。

步骤：

①取材：将种质材料种子放入培养皿中，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 0.002M8-羟基喹啉水溶液中，一般预处理 1~4h。

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

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

⑤软化：解离后的材料用蒸馏水冲洗，转入 45%乙酸中软化 0.5h 至 1h。

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℃）一般染色 0.5h 至 4h。

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 15min 左右，取出晾干，加拿大树胶封片，制成永久片待用。

9.8 染色体倍性

牧草细胞染色体镜检是鉴别牧草种质资源染色体倍性的主要方法。

用 9.7 的永久片在显微镜下直接观测染色体数目，一般以植物体细胞染色体数目为准。统计的细胞数目 30 个以上，其中要求 85%以上的细胞具有恒定一致的染色体数目。如果观察的植物为混倍体，则如实记录其染色体数目的变异范围和各类细胞的数目或百分比。

通过镜检测得染色体数目再除以（一套）基本染色体数即得染色体倍性。

9.9 核型

采用细胞学遗传学方法对染色体的数目、大小、形态和结构进行鉴定。以核型公式表示，如， $2n=4x=28=22m(2SAT)+6sm(2SAT)$ 。

9.10 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。

9.11 备注

无芒雀麦种质特殊描述符或特殊代码的具体说明。