

UDC 633.1/.8.001.4 : 631.531
B 00



中华人民共和国国家标准

GB/T 35435—1995

GB/T 3543.5—1995

农作物种子检验规程 真实性和品种纯度鉴定

Rules for agricultural seed testing
—Verification of genuineness and cultivar

中华人民共和国
国家标准
农作物种子检验规程
真实性和品种纯度鉴定
GB/T 3543.5—1995

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)
网址 www.spc.net.cn
总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 18 千字
2015年7月第二版 2015年7月第一次印刷

*

书号: 155066·1-23490 定价 16.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



GB/T 3543.5—1995

1995-08-18 发布

1996-06-01 实施

国家技术监督局 发布

A3.3 凝胶制备

从冰箱中取出凝胶溶液和过氧化氢溶液,吸取 10 mL 凝胶溶液,加 1 滴 0.6% 过氧化氢,摇匀后迅速倒入封口处,稍加晃动,使整条缝口充满胶液,让其在 5~10 min 聚合封好。

吸取 45 mL 凝胶溶液,加 3 滴 0.6% 过氧化氢,迅速摇匀,倒入凝胶板之间,马上插好样品梳,让其在 5~10 min 内聚合。

A3.4 进样

小心抽出样品梳,将玻璃板夹在电泳槽上,用滤纸或注射器吸去样品槽中多余的水分,然后用微量进样器吸取 10~20 μ L 样品加入样品槽中。

A3.5 电泳

在前后槽注入电极液,前槽接正极,后槽接负极。然后打开电源,逐渐将电压增加到 500V。电泳时,要求在 15~20℃ 温度下进行。电泳时间一般为 60~80 min,具体时间可按甲基绿迁移时间来推算,电泳时间为甲基绿移至前沿所需时间的 2~2.5 倍。

A3.6 染色

将胶板小心地取下,在染色液中染色 1~2 d。一般情况不需要脱色,但为使谱带清晰,可用清水冲洗。

A3.7 鉴定

谱带命名可采用相对迁移率法或电泳程式法。根据醇溶蛋白谱带的组成和带型的一致性,并与标准样品电泳图谱相比较,鉴定种子真实性以及测定品种纯度。

附加说明:

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国农作物种子标准化技术委员会归口。

本标准由全国种子总站、浙江农业大学、四川省、黑龙江省、天津市种子(站)、南京农业大学、北京市、湖南省种子(站)负责起草。

本标准主要起草人支巨振、毕辛华、杜克敏、常秀兰、杨淑惠、任淑萍、吴志行、李仁凤、赵菊英。

本标准首次发布于 1983 年 3 月。

本标准参照采用国际种子检验规程(ISTA,1993 版)第八部分 种及栽培品种的鉴定。

中华人民共和国国家标准**农作物种子检验规程
真实性和品种纯度鉴定**

**Rules for agricultural seed testing
—Verification of genuineness and cultivar**

GB/T 3543.5—1995

代替 GB 3543—83

1 主题内容与适用范围

本标准规定了测定种子真实性和品种纯度的方法。
本标准适用于农作物种子质量的检测。

2 引用标准

GB/T 3543.2 农作物种子检验规程 扦样
GB/T 3543.4 农作物种子检验规程 发芽试验

3 术语**3.1 种子真实性 genuineness of seed**

供检品种与文件记录(如标签等)是否相符。

3.2 品种纯度 varietal purity

品种在特征特性方面典型一致的程度,用本品种的种子数占供检本作物样品种子数的百分率表示。

3.3 变异株 off-type

一个或多个性状(特征特性)与原品种育成者所描述的性状明显不同的植株。

3.4 育种家种子 breeder seed

育种家育成的遗传性状稳定的品种或亲本种子的最初一批种子,用于进一步繁殖原种种子。

3.5 原种 basic seed

用育种家种子繁殖的第一代至第三代,或按原种生产技术规程生产的达到原种质量标准的种子,用于进一步繁殖良种种子。

3.6 良种 certified seed

用常规种原种繁殖的第一代至第三代和杂交种达到良种质量标准的种子,用于大田生产。

4 试剂

苯酚、愈创木酚、过氧化氢、氢氧化钾、氢氧化钠、氯化氢。

5 仪器和设备

其仪器设备也随方法的差异而不同。

a. 在实验室中测定

国家技术监督局 1995-08-18 批准

1996-06-01 实施

配备适宜的仪器(如体视显微镜、扩大镜、解剖镜)与试剂,以供种子形态、生理及细胞学的检查、化学测定及种子发芽之用。

b. 在温室和培养室中测定

配备能调节环境条件的设备(如生长箱),以利诱导鉴别性状的发育。

c. 在田间小区里鉴定

需具有能使鉴定性状正常发育的气候、土壤及栽培条件,并对防治病虫害有相对的保护措施。

6 测定程序

6.1 送验样品的重量

品种纯度测定的送验样品的最小重量应符合表 1 的规定。

表 1 品种纯度测定的送验样品重量

g

种 类	限于实验室测定	田间小区及实验室测定
豌豆属、菜豆属、蚕豆属、玉米属、大豆属及种子大小类似的其他属	1 000	2 000
水稻属、大麦属、燕麦属、小麦属、黑麦属及种子大小类似的其他属	500	1 000
甜菜属及种子大小类似的其他属	250	500
所有其他属	100	250

6.2 种子鉴定

6.2.1 形态鉴定法

随机从送验样品中数取 400 粒种子,鉴定时须设重复,每个重复不超过 100 粒种子。

根据种子的形态特征,必要时可借助扩大镜等进行逐粒观察,必须备有标准样品或鉴定图片和有关资料。

水稻种子根据谷粒形状、长宽比、大小、稃壳和稃尖色、稃毛长短、稀密、柱头夹持率等;大麦种子根据籽粒形状、外稃基部皱褶、籽粒颜色、腹沟基刺、腹沟展开程度、外稃侧背脉纹齿状物及脉色、外稃基部稃壳皱褶凹陷、小穗轴茸毛多少、鳞被(浆片)形状及茸毛稀密等;大豆种子可根据种子大小、形状、颜色、光泽、光滑度、蜡粉多少及种脐形状颜色等;葱类可根据种子大小、形状、颜色、表面构造及脐部特征等。

6.2.2 快速测定法

随机从送验样品中数取 400 粒种子,鉴定时须设重复,每个重复不超过 100 粒种子。

a. 苯酚染色法

小麦、大麦、燕麦:将种子浸入清水中经 18~24 h,用滤纸吸干表面水分,放入垫有已经 1%苯酚溶液湿润滤纸的培养皿内(腹沟朝下)。在室温下,小麦保持 4 h,燕麦 2 h,大麦 24 h 后即可鉴定染色深浅。小麦观察颖果染色情况,大麦、燕麦评价种子内外稃染色情况。通常颜色分为五级即浅色、淡褐色、褐色、深褐色和黑色。将与基本颜色不同的种子取出作为异品种。

水稻:将种子浸入清水中经 6 h,倒去清水,注入 1%(*m/V*)苯酚溶液,室温下浸 12 h 取出用清水洗涤,放在滤纸上经 24 h,观察谷粒或米粒染色程度。谷粒染色分为不染色、淡茶褐色、茶褐色、黑褐色和黑色五级;米粒染色分不染色、淡茶褐色、褐色或紫色三级。

b. 大豆种皮愈创木酚染色法

将每粒大豆种子的种皮剥下,分别放入小试管内,然后注入 1 mL 蒸馏水,在 30℃下浸提 1 h,再在每支试管中加入 10 滴 0.5%愈创木酚溶液,10 min 后,每支试管加入 1 滴 0.1%过氧化氢溶液。1 min 后,计数试管内种皮浸出液呈现红棕色的种子数与浸出液呈无色的种子数。

c. 高粱种子氢氧化钾-漂白粉测定法

附 录 A

聚丙烯酰胺电泳法测定大麦、小麦种子纯度

(参考件)

A1 原理

从种子中提取的醇溶蛋白在凝胶的分子筛效应和电泳分离的电荷效应作用下得到良好的分离,通过显色显示蛋白质谱带类型。不同品种由于遗传组成不同,种子内所含的蛋白质种类有差异,这种差异可利用电泳图谱加以鉴别,从而对品种真实性和纯度进行鉴定。

A2 仪器和试剂

A2.1 仪器

电泳仪(满足稳压 500 V),离心机,垂直板电泳槽,钳子,5 mL、10 mL 移液管,微量进样器,聚丙烯离心管。

A2.2 试剂

尿素、乙醇、甘氨酸、甲基绿、三氯乙酸、冰乙酸、过氧化氢、硫酸亚铁、抗坏血酸、 α -巯基乙醇、丙烯酰胺、考马斯亮蓝 R-250,甲叉双丙烯酰胺、 α -氯乙醇。

A3 程序

A3.1 药剂配制

A3.1.1 蛋白质提取液

小麦:0.05 g 甲基绿溶于 25 mL α -氯乙醇中,加蒸馏水至 100 mL。低温保存。

大麦:0.05 g 甲基绿溶于 20 mL α -氯乙醇中,加入 18 g 尿素,再加入 1 mL α -巯基乙醇,加蒸馏水至 100 mL。低温保存。

A3.1.2 电极缓冲液

0.4 g 甘氨酸加蒸馏水溶解,加 4 mL 冰乙酸,加蒸馏水至 1 000 mL。低温保存。

A3.1.3 凝胶缓冲液

1.0 g 甘氨酸加蒸馏水溶解,加入 20 mL 冰乙酸,定容至 1 000 mL。低温保存。

A3.1.4 0.6%过氧化氢

30%过氧化氢 2 mL 加蒸馏水定容至 100 mL。低温保存。

A3.1.5 染色液

0.25 g 考马斯亮蓝加 25 mL 无水乙醇溶解,加入 50 g 三氯乙酸,加水至 500 mL。

A3.1.6 凝胶液

丙烯酰胺 20 g,甲叉双丙烯酰胺 0.8 g,尿素 12 g,硫酸亚铁 0.01 g,抗坏血酸 0.2 g,用凝胶缓冲液溶解并定容至 200 mL。低温保存。

A3.2 样品提取

一般每个样品测定 100 粒种子,若更准确地估测品种纯度,则需更多的种子。如果分析结果要与某一纯度标准值比较,可采用顺次测定法(sequential testing)来确定,即 50 粒作为一组,必要时可连续测定数组,以减少工作量。如果只鉴定真实性,可用 50 粒。

取小麦或大麦种子,用钳子逐粒夹碎(夹种子时,最好垫上小片清洁的纸,以便于清理钳头和防止样品之间的污染),置 1.5 mL 离心管中,加入蛋白质提取液(小麦 0.2 mL,大麦 0.3 mL),充分摇动混合,在室温下提取 24 h,然后在 18 000×g 条件下离心 15 min。取其上清液用于电泳。