

青稞穗发芽抗性测定方法的评价^{*}

赵桃^{1, 2, 3#} 刘英华^{1, 2#} 邓光兵^{1, 2} 杨宏^{1, 2} 潘志芬¹ 龙海¹ 余懋群^{1**}

(¹中国科学院成都生物研究所 成都 610041)

(²中国科学院研究生院 北京 100049; ³上海工程技术大学 上海 201620)

摘要 穗发芽是导致粮食品质和产量降低的主要因素, 选育强穗发芽抗性的材料已经成为育种工作的迫切任务之一。我国青稞资源丰富, 但其收获季节恰逢雨季来临, 穗发芽现象较为严重。青稞穗发芽研究起步晚, 也尚未建立合理的评价指标和体系, 从而影响抗穗发芽青稞的筛选和选育。本试验以来自于我国青藏高原地区的34份青稞为材料, 分别在马尔康和成都进行种植, 并对其穗发芽指数(SI)、穗发芽率(SR)、籽粒发芽指数(GI)和 α -淀粉酶活性(AA)进行测定和分析, 以期寻找一种简便、有效和稳定的穗发芽评价方法。结果发现, 4个供试参数均受基因型×栽培地点的极显著影响, 且具有一定相关性。GI由于其变异系数较低, 在不同栽培地点稳定性好, 且操作简便, 是较可靠和理想的穗发芽评价参数。SI可作为辅助参数, 区别籽粒休眠性相似的材料(基因型)或全面评价材料(基因型)的穗发芽抗性特征。AA稳定性较差, 并且检测方法复杂, 因此不建议在育种及大量材料筛选和评价时使用。此外, 青稞穗发芽抗性受环境影响较大, 评价时应考虑到尽可能多的抗性影响因素及其在不同栽培条件下的变异。图1 表4 参24

关键词 穗发芽; 青稞; 休眠性; α -淀粉酶; 测试方法

CLC S512.303.4

Assessment of Methods Used in Testing Preharvest Sprouting Resistance in Hulless Barley^{*}

ZHAO Tao^{1, 2, 3#}, LIU Yinghua^{1, 2#}, DENG Guangbing^{1, 2}, YANG Hong^{1, 2}, PAN Zhifen¹, LONG Hai¹ & YU Maoqun^{1**}

(Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China)

(²Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; ³Shanghai University of Engineering Science, Shanghai 201620, China)

Abstract Due to the great decrease in quantity and quality of grain caused by preharvest sprouting (PHS), breeding of the cultivars with high PHS resistance has became an urgent task. There are abundance hulless barley resources in China. However, few investigations have been made so far on their PHS resistance. In order to lay a foundation for breeding of resistance to PHS, evaluation index systems are needed. In this study, we evaluated the differences in sprouting index (SI), sprouting rate (SR), germination index (GI) and α -amylase activity (AA) of 34 accessions of hulless barley obtained from the Qinghai-Tibetan Plateau, which were cultivated in Maerkang and Chengdu, China, respectively. These PHS sprouting parameters were significantly affected by accession×location, and they had correlation among each others. GI was the most reliable parameter because of its low CV value, good repeatability and simple operation. SI could assist in differentiation of the accessions of similar dormancy or overall evaluation of the resistance. AA was bad in repeatability and more difficult to be tested, and it, therefore, not appropriate for breeding, evaluating and screening PHS resistant materials. Besides, since PHS resistance of hulless barley was greatly influenced by its growth environment, its influence factors and variations under different cultivation conditions should be specially considered. Fig 1, Tab 4, Ref 24

Keywords preharvest sprouting; hulless barley; dormancy; α -amylase; testing method

CLC S512.303.4

青稞(裸大麦, *Hordeum vulgare* ssp. *vulgare*)广泛种植于我国西藏、青海、甘肃、四川和云南等青藏高原地区, 是藏区农牧民的主要食粮, 也是酿酒、保健品以及牲畜饲料、的重要原料。在青藏高原发展青稞具有重要的经济和生态意义^[1, 2]。近

年来, 由于青稞丰富的营养成分、特有的保健品质以及在燃料工业中的潜力, 在发达国家日趋受到重视, 掀起了综合研究利用的热潮^[3~7]。我国拥有占全世界2/3以上的青稞资源, 具有发展青稞产业的得天独厚的条件。

然而, 由于青稞收获期间恰逢青藏高原雨季来临, 常有穗发芽灾害发生, 使青稞生产损失巨大。穗发芽是指作物在收获前遇到阴雨或潮湿的环境, 出现籽粒在麦穗上提前发芽的现象, 是作物生产中一种严重的自然灾害。受灾后籽粒内部 α -淀粉酶等水解酶活性升高, 导致籽粒内部贮藏物质提前分解, 籽粒的品质受到严重影响^[8, 9]。因此, 选育低穗发芽风险的品种、提高品质是当前育种工作中面临的一个重要任务。目前

收稿日期: 2008-05-05 接受日期: 2008-06-18

*中国科学院“西部之光”人才培养计划项目, 科技部基础性专项(No. 2006BAD13B02-13)和四川省作物育种攻关项目(No. 2006FY110700)资助 Supported by the “West Light” Foundation of the Chinese Academy of Sciences, the Special Funds for Basic Research of Ministry of Science and Technology of China (No. 2006BAD13B02-13) and the Key Project for Crop Breeding of Sichuan, China (No. 2006FY110700)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: Yumq@cib.ac.cn)

#并列第一作者 Both the first authors

适用于育种的穗发芽抗性材料相对缺乏,亟需挖掘更多新的抗穗发芽种质资源。建立有效而可靠的青稞穗发芽抗性的评价指标和体系,是科学合理利用青稞资源的前提和依据。

目前在小麦、大麦等作物中,穗发芽抗性的测定方法及其参数已有不少报道^[9~12],主要可分为以下3种:完整穗发芽试验、脱粒种子发芽试验和分析种子内 α -淀粉酶活性的试验。但在青稞中,对各种穗发芽抗性测定方法适用性的评述还未见报道。本试验通过对分别种植于马尔康和成都的青稞材料(基因型)的穗发芽指数(Sprouting index, SI)、穗发芽率(Sprouting rate, SR)、籽粒发芽指数(Germination index, GI)和 α -淀粉酶活性(α -amylase activity, AA)等参数的测定和相关性分析,研究了它们在不同基因型和生长环境中对青稞穗发芽抗性评价的稳定性和重复性,以期探索简便、有效和稳定的青稞穗发芽抗性的评价体系,并为青稞穗发芽抗性资源筛选奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料准备与处理

供试的34份青稞(*H. vulgare* ssp. *vulgare*)材料中, Z45、

Z66、Z94来自西藏,Z847来自云南迪庆,其余均来自四川甘孜阿坝地区,现由中国科学院成都生物所保存(表1)。供试材料分别种植于马尔康试验基地(2006年5~9月)和成都试验基地(2006年11月~2007年5月)。

在青稞接近蜡熟期时,即茎和颖壳变黄且第一茎节开始枯萎时,于田间随机选取20~30穗,于37℃、72 h烘干至籽粒水分含量为12%左右,然后手工脱粒,以避免机械损伤。穗与籽粒存放于-20℃冰箱以保持休眠性,用时以1% NaClO表面消毒10 min,然后用ddH₂O彻底清洗4次。发芽试验均在黑暗中,于人工气候箱内进行(15℃, 相对湿度95%)。所有实验均设置3次重复。实验数据用SPSS11.5进行分析。

1.2 方法

1.2.1 完整穗的发芽试验 采用湿纸巾包裹保湿法进行完整穗发芽试验^[10]。各品种取5个带有10 cm麦秆的完整穗用吸水纸卷成筒状,直立于塑料盒中。该塑料盒保持5 cm水深,使得纸巾不断吸水,为麦穗提供湿润环境。于d 7,各品种随机取两穗,计算穗发芽指数SI。SI为5个麦穗种子发芽程度的均值,发芽程度从1(无发芽迹象)到10(胚芽鞘长度>40 mm)进行

表1 供试青稞材料
Table 1 The tested accessions of hulless barley

材料 Accession	棱形 Row	芒型 Awn type	籽粒颜色 Grain color	株高(h/cm) Plant height	百粒重(m/g) Hundred grain weight
地方品种 Landrace					
Z45	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黑 Black	117.8	3.42
Z46	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黑 Black	107.8	2.29
Z88	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黑 Black	110.0	3.40
Z94	六棱 Six-rowed	勾芒 Curved	黄 Yellow	80.0	4.43
Z102	六棱 Six-rowed	勾芒 Curved	黄 Yellow	116.0	4.12
Z107	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黑 Black	144.0	3.75
Z840	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黑 Black	65.0	2.76
Z841	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黑 Black	88.5	3.37
Z847	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黑 Black	81.5	3.66
Z848	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	100.5	3.46
Z851	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黑 Black	115.8	3.37
栽培品种 Cultivar					
Z641	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	81.5	3.50
Z681	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	89.0	2.77
Z691	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	-	3.37
Z768	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	89.5	2.41
Z771	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	90.5	3.03
Z774	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	113.8	4.16
Z775	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	91.8	3.25
Z778	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	103.5	4.03
Z781	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	98.5	2.76
Z784	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	111.3	2.33
Z786	二棱 Two-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	86.8	4.50
Z791	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	107.8	3.22
Z800	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	99.3	3.82
Z802	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	104.8	3.08
Z806	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	84.0	3.92
Z807	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	108.8	2.56
Z810	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	94.8	4.09
Z813	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	69.5	2.00
Z828	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	89.8	2.92
Z833	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	77.5	3.72
Z834	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	74.8	3.80
Z835	六棱 Six-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	73.0	3.31
Z843	二棱 Two-rowed	直芒 Straight	黄 Yellow	-	2.88

表2 供试青稞在两个栽培地点的穗发芽参数平均值
Table 2 Mean sprouting parameters of the tested accessions in two cultivated sites

材料	穗发芽指数	穗发芽率	籽粒发芽指数	α -淀粉酶活性
Accession	SI	SR	GI	AA
Z45	4.81	0.52	0.68***	0.99***
Z46	1.99	0.12	0.53	0.72**
Z88	3.73	0.41*	0.54***	0.72**
Z94	4.73***	0.45***	0.78***	1.10***
Z102	2.94	0.27	0.30	0.93*
Z107	1.34	0.06	0.25	0.54*
Z641	1.88	0.14	0.61	0.51*
Z681	5.28***	0.56**	0.64***	1.23***
Z691	3.56**	0.39*	0.62**	0.70**
Z768	8.37***	0.89	0.90	1.56**
Z771	4.05	0.37	0.82	1.78
Z774	3.92	0.41	0.65	1.30***
Z775	2.09	0.23	0.71	1.29
Z778	2.27	0.22	0.70*	1.13*
Z781	1.76	0.20*	0.39	1.41*
Z784	4.49***	0.46*	0.68**	0.80***
Z786	3.09	0.39	0.66***	1.33***
Z791	3.20***	0.39**	0.68*	1.01**
Z800	2.56	0.25	0.62	1.21
Z802	3.59***	0.36***	0.63**	0.71**
Z806	7.94	0.79	0.89**	1.79**
Z807	4.80**	0.51**	0.85	1.15***
Z810	4.05	0.40	0.78	1.79
Z813	6.16***	0.62***	0.70***	1.47*
Z828	1.77	0.14	0.63***	1.42
Z833	5.03*	0.54*	0.75***	1.01
Z834	2.81	0.32	0.79	1.45
Z835	3.91	0.40	0.84	1.78***
Z840	4.70**	0.47*	0.73***	1.30
Z841	2.41**	0.19**	0.46***	1.42
Z843	6.96***	0.81*	0.81*	1.75*
Z847	4.48*	0.43*	0.71**	0.95***
Z848	3.36*	0.43*	0.37**	1.28**
Z851	4.09	0.46**	0.63***	0.80*
平均值 Mean	3.88	0.40	0.66	1.19
LSD (0.05)	1.588	0.173	0.085	0.397
材料 Accession	26.974***	20.114***	98.758***	25.667***
地点 Location	354.587***	188.602***	336.613***	374.787***
材料×地点 Accession×Location	7.479***	5.714***	11.973***	13.385***

*、**和***分别表示各材料穗发芽指数在 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 和 $P<0.001$ 水平，在不同栽培地点差异显著；***表示不同因素在 $P<0.001$ 水平对穗发芽指数的差异影响显著。

*、** and *** show the significant differences for accession sprouting parameters between the two sites at $P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$ level, respectively; and *** the significant effects of the factors for sprouting parameters at $P<0.001$ level

计分。SR为穗发芽籽粒占全部籽粒的百分率。

1.2.2 穗粒的发芽试验 各品种取50粒表面消毒的籽粒，置于双层滤纸的培养皿(直径9 cm)中，盾片向上，直接进行发芽试验。每皿加入6 mL ddH₂O。将培养皿放入15 ℃人工气候箱中，于黑暗条件下培养7 d，湿度为95%。每天检查各皿中的发芽情况，将胚根大于2 mm及果皮破裂的籽粒记为发芽并弃去。根据Reddy等的方法^[13]计算发芽指数GI: GI= $(7 \times n_1 + 6 \times n_2 + \dots + 1 \times n_7) / 7 \times N$ 。公式中， n_1, n_2, \dots, n_7 代表d 1、d 2...d 7发芽籽

粒的数量；7、6...1为d 7、d 6...d 1发芽数的权重，N代表发芽实验的籽粒总数。

1.2.3 α -淀粉酶活性的测定 测定方法为凝胶扩散法^[14, 15]。将20粒青稞种子于培养皿中发芽4 d，然后去胚根和胚芽，于液氮中磨成粉。加入2倍体积 α -淀粉酶提取液(20 mmol/L NaAc, pH 5.5, 含1 mmol/L CaCl₂)，混匀后于4 ℃摇动培养2 h, 12 000 r/min离心15 min。取10 μL上清液加入含1%淀粉的1.2%琼脂糖凝胶表面的6 mmol/L双层圆形滤纸上。于10 ℃反应24 h后，用5%碘试剂染色5 min，加入1/7 (V/V)冰醋酸终止反应，用ddH₂O彻底清洗，然后测定透明圈直径，并根据标准曲线，求出样品的 α -淀粉酶活性。

表3 供试青稞两个栽培地点的穗发芽参数描述性统计

Table 3 Descriptive statistics for sprouting parameters in two cultivated sites

地点	参数	变幅	平均值	标准变异	变异系数
Location	Parameter	Range	Mean	S.D.	CV%
马尔康	SI	1.04~7.89	2.84	1.51	18.74
	SR	0.01~0.84	0.30	0.18	38.02
	GI	0.21~0.89	0.61	0.18	5.08
	AA	0.19~1.82	0.95	0.48	17.89
成都	SI	1.57~8.86	4.96	2.26	21.42
	SR	0.09~0.93	0.50	0.25	31.53
	GI	0.29~0.97	0.71	0.16	4.68
	AA	0.29~2.24	1.43	0.42	10.87

***在 $P<0.001$ 水平差异极显著 *** shows the significant difference at $P<0.001$ level

2 结果

分别栽种于马尔康和成都的34份供试青稞材料(基因型)的SI、SR、GI和AA平均值间存在着较大差异(表2)。经方差分析(One-way ANOVA)，供试材料的各穗发芽参数受材料(基因型)、栽种地点以及材料(基因型)与地点互作的极显著影响($P<0.001$)。栽种地点对供试青稞品种的穗发芽参数影响最大(F 值最大)。不同青稞材料(基因型)的SI、SR、GI和AA受地点的影响不同。其中，Z771、Z775、Z800、Z810、Z834的穗发芽参数在地点间差异不显著；Z94、Z681、Z691、Z784、Z791、Z802、Z813、Z843、Z847、Z848的4个穗发芽参数在地点间差异均显著；其余材料(基因型)有部分穗发芽参数在地点间差异显著。

表3展示了34份供试青稞材料分别在马尔康和成都栽种时穗发芽参数的描述性统计结果。总体来看，栽种于马尔康的供试青稞，其SI、SR、GI和AA的平均值均显著低于成都，即其穗发芽抗性强于成都，但个别基因型的穗发芽参数在马尔康栽种时较成都低，包括Z641 (AA)、Z781 (SR, AA)、Z807 (AA)、Z828 (GI)以及Z843 (GI)。各穗发芽参数3次重复间的变异系数(CV%)分析显示，GI在品种内(各单株之间)的变异最小，重复性最好，AA次之，而SI和SR的变异最大。

对供试青稞在两地栽种时的4个穗发芽参数进行比较，结果如图1所示。其中，GI在不同栽种地点稳定性最好($R^2=0.625$)，SI ($R^2=0.370$)和SR ($R^2=0.341$)次之，AA在不同地点间的差异最大，稳定性最差($R^2=0.104$)。

对同一栽种地点的各个穗发芽参数进行皮尔逊相关性分析(Pearson correlation analysis)，结果如表4所示。同一种植

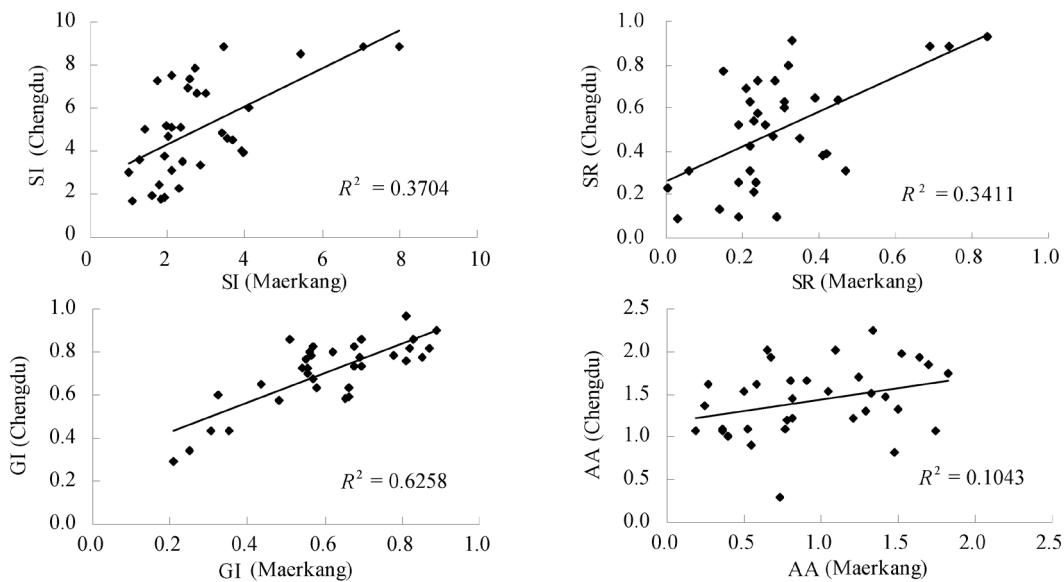


图1 供试青稞穗发芽参数在马尔康和成都时的变化关系
Fig. 1 Comparison of the sprouting parameters between Maerkang and Chengdu

表4 供试青稞两个栽培地点的穗发芽参数皮尔逊相关性分析
Table 4 Pearson correlation coefficients for sprouting parameters in two cultivated sites

	SR		GI		AA	
	Maerkang	Chengdu	Maerkang	Chengdu	Maerkang	Chengdu
SI	0.931**	0.982**	0.603**	0.673**	0.315	0.392*
SR			0.591**	0.659**	0.347*	0.398*
GI					0.482**	0.430*

*和**在 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 水平显著相关 * and ** show the correlations are significant at $P<0.05$ and $P<0.01$ level

地点, SI和SR高度相关($R=0.931\sim0.982$, $P<0.01$); GI与SI和SR均具有较高的相关性($R=0.591\sim0.673$, $P<0.01$); AA与其他3个参数的相关性较低($R=0.315\sim0.482$), 且在马尔康时与SI不显著相关。

3 讨论

谷物穗发芽抗性主要由种子休眠性决定^[16]。种子的休眠性是复杂的数量性状, 其强弱水平主要受基因型和环境因素影响(包括母体植株和籽粒成熟时所经历的温度、光周期、湿度、土壤等条件)^[17\sim20]。另外, 穗发芽抗性也受到穗部形态如颖壳形态、穗的大小、疏密程度、芒的长短以及颖壳中的发芽抑制物等因素的影响^[21, 22]。根据本试验结果, 供试青稞材料的整穗发芽抗性(即SI和SR)、籽粒休眠性(即GI)及发芽时胚的生理状态(即AA), 受材料(基因型)、栽培地点以及材料×栽培地点的极显著影响。平均来看, 青稞材料在马尔康栽培时的穗发芽抗性显著强于成都, 这可能由于其在两地的生长周期(分别是2006年5~9月和2006年11月~2007年5月)、生长环境(如土壤、海拔等)以及气候条件的巨大差异所造成。据文献报道, 作物灌浆期间较高的温度将导致其穗发芽抗性减低, 尤其是籽粒休眠性减弱^[19, 23]。Rodriguez等在大麦中建立了温度与籽粒休眠性关系的数学模型, 通过此模型可由灌浆期间的温度预测籽粒成熟后的穗发芽抗性水平^[24]。2006年青稞在马尔康的灌浆期为8月, 平均气温明显低于2007年成都灌浆期4月, 可能是导致其总体穗发芽抗性较强的主要原因之一。要进一步对导致两地穗发芽抗性产生差异的原因进

行研究, 需要大规模、系统地取样、筛选和分析。同时, 对青稞穗发芽抗性的准确评价, 应考虑到尽可能多的抗性影响因素以及其抗性在不同栽培条件下的变异性。

根据在小麦中的研究结果^[10, 12], 我们认为, 一个可靠的穗发芽参数至少应满足以下3个条件: 第一, 在某一特定的环境中, 能够在不同的材料和栽培环境间显示出显著性差异($P<0.05$); 第二, 在材料中具有较低的变异系数, 即CV%值; 第三, 在不同的栽培环境之间, 拥有较好的稳定性。本试验中, 测试的4个参数均能满足第一个条件; 对于CV%值来说, SR和SI较高, 这可能是由于完整穗发芽试验中, 籽粒在颖壳的小环境中的湿度、温度等条件难以统一所造成的; GI在马尔康和成都两地具有最高的稳定性。总体来看, 由完整穗试验得到的SI和SR, 能够更真实地反映田间降雨时麦穗的发芽情况。SI和SR在不同的地点其相关性很高, 而相对于SR、SI的测定需要检测发芽种子胚芽及根的生长状况, 工作量大, 但其具有较小的CV%值, 更加准确。AA直接检测胚的生理状况, 反映胚乳的质量, 但由于其在不同生长环境间稳定性较差, 并且检测方法复杂, 因此不建议在育种中, 尤其是大量材料筛选和评价时使用。而GI由籽粒发芽试验得到, 主要反映种子自身的休眠性水平, 还具有操作简便等优点。同时, GI在不同的地点与其它3个参数均呈显著或极显著相关, 即GI可以较好地反映完整穗穗发芽抗性和种子内部合成 α -淀粉酶状况。这与Shorter在小麦中的研究结果^[11]较为一致。综合来看, GI是较可靠、较理想的穗发芽评价参数, 而SI可作为辅助参数, 区别籽粒休眠性相似的材料(基因型), 或者

用于全面评价材料(基因型)的穗发芽抗性特征.

References

- 1 Chen LH (陈丽华), Li GY (李高原). Identification and appraisal of hulless barley germplasm resources in Qinghai. *Qinghai Agric Forest Sci Technol* (青海农林科技), 2001, **3**: 17
- 2 Ma DQ (马得泉), Yang JH (杨金华), Luosang GD (洛桑更堆). Quality assessment of wild barley germplasm resources in Tibet. *Southwest China Agric J* (西南农业学报), 2000, **13**: 31~37
- 3 Nima ZX (尼玛扎西). The food guarantee of hulless barley in the highland area: Advantage and functions. *Tibet Agric Sci Technol* (西藏农业科技), 1998, **20**: 20~25
- 4 Liu CT, Wessenberg DM, Hunt CW, Branen AL, Robertson LD, Burrup DE, Dempster KL, Haggerty RJ. Hulless barley: A new look for barley in Idaho. Available online at <http://info.ag.uidaho.edu/resources/> (verified 01/04/2008)
- 5 Oscarsson M, Andersson R, Salomonsson AC, Aman P. Chemical composition of barley samples focusing on dietary fiber components. *J Cereal Sci*, 1996, **24**: 161~170
- 6 Ehrenbergerova J, Belcrediava N, Pryma J, Vaculova K, Newman CW. Effect of cultivar, year grown, and cropping system on the content of tocopherols and tocotrienols in grains of hulled and hulless barley. *Plant Foods Human Nutr*, 2006, **61**: 145~150
- 7 Thomas KC, Dhas A, Rossnagel BG, Ingledew WM. Production of fuel alcohol from hull-less barley by very high gravity technology. *Cereal Chem*, 1995, **72**: 360~364
- 8 Bewley J, Black M. Seeds: Physiology of Development and Germination. New York, USA: Plenum Press, 1994
- 9 Schwarz P, Henson C, Horsley R, McNamara H. Preharvest sprouting in the 2002 Midwestern barley crop: Occurrence and assessment of methodology. *J Am Soc Brew Chemist*, 2004, **62**: 147~154
- 10 Hagemann MG, Ciha AJ. Evaluation of methods used in testing winter-wheat susceptibility to preharvest sprouting. *Crop Sci*, 1984, **24**: 249~254
- 11 Shorter SC, Munro CA, Hodgkinson J. Predicting pre-harvest sprouting susceptibility in New Zealand wheat cultivars. *Euphytica*, 2005, **143**: 309~312
- 12 Yanagisawa A, Nishimura T, Amano Y, Torada A, Shibata S. Development of winter wheat with excellent resistance to pre-harvest sprouting and rain damage. *Euphytica*, 2005, **143**: 313~318
- 13 Reddy LV, Metzger RJ, Ching TM. Effect of temperature on seed dormancy of wheat. *Crop Sci*, 1985, **25**: 455~458
- 14 Masojé P, Larsson-Ražnikiewicz M. Genetic-variation of alpha-amylase levels among rye (secale-cereale l) kernels, tested by gel-diffusion technique. *Swed J Agr Res*, 1991, **21**: 141~145
- 15 Ouyang XR (欧阳西荣). Gel diffusion and tissue printing methods for determining α -amylase activity. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), 2004, **40**: 78~80
- 16 Gafford KT, Hearnden P, Ogbonnaya F, Eastwood RF, Halloran GM. Novel resistance to pre-harvest sprouting in Australian wheat from the wild relative *Triticum tauschii*. *Euphytica*, 2002, **126**: 67~76
- 17 Buraas T, Skinnes H. Development of seed dormancy in barley, wheat and triticale under controlled conditions. *Acta Agr Scand*, 1985, **35**: 233~244
- 18 Strand E. Studies on seed dormancy in small grain species. I. Barley. *Norw J Agr Sci*, 1989, **5**: 39~43
- 19 Fenner M. The effects of the parent environment on seed germinability. *Seed Sci Res*, 1991, **1**: 75~84
- 20 Cochrane M. Effects of temperature during grain development on the germinability of barley grains. *Aspects Appl Biol*, 1993, **36**: 103~113
- 21 Liu DC, Lan XJ, Wang ZR, Zheng YL, Zhou YH, Yang JL, Yen C. Evaluation of *Aegilops tauschii* Cosson for preharvest sprouting tolerance. *Genet Resour Crop Evolution*, 1998, **45**: 495~498
- 22 Xiao SH (肖世和), Yan CS (闫长生), Zhang HP (张海萍), Sun GZ (孙果忠). The Study on Preharvest Sprouting of Wheat. Beijing, China (北京): China Agricultural Sciences and Technology Press, 2004
- 23 Lunn GD, Kettlewell PS, Major BJ, Scott RK. Variation in dormancy duration of the UK wheat cultivar Hornet due to environmental conditions during grain development. *Euphytica*, 2002, **126**: 89~97
- 24 Rodriguez MV, Margineda M, Gonzalez-Martin JF, Insausti P, Benech-Arnold RL. Predicting preharvest sprouting susceptibility in barley: A model based on temperature during grain filling. *Agron J*, 2001, **93**: 1071~1079