

玉米种子中 4 种可溶性糖含量 UPLC-ELSD 测定方法的优化及其应用

李瑞芳, 何娟娟, 尹广鹏, 辛霞, 卢新雄

(中国农业科学院作物科学研究所/国家种质库, 北京 100081)

摘要:对比了 HPLC-RID 法和 UPLC-ELSD 法对果糖、葡萄糖、蔗糖和麦芽糖 4 种可溶性糖的检测。结果表明:UPLC-ELSD 法的分离效果、重复性、灵敏度等比 HPLC-RID 法好,确定了 UPLC-ELSD 法测定 4 种糖含量的技术参数,即流动相为 0.2% (w/v) 三乙胺溶于 75% (v/v) 乙腈,流速为 0.2 mL/min,柱温为 35 °C,上样量为 2 μ L,在 6 min 内可以灵敏、快速地检测出果糖等 4 种可溶性糖。利用 UPLC-ELSD 法测定玉米种子吸胀过程中蔗糖、麦芽糖、葡萄糖和果糖 4 种可溶性糖的含量,结果表明:胚乳在吸胀之前,仅检出蔗糖、葡萄糖和果糖,其中蔗糖含量最高,随着种子吸胀,蔗糖含量先下降后上升,而葡萄糖和果糖逐渐增加,吸胀 48 h 时检出麦芽糖。胚在吸胀之前,4 种可溶性糖均可以检测到,且含量均显著高于胚乳,在吸胀过程中 4 种糖的变化规律与胚乳相似。因此,在玉米种子吸胀过程中,可能先动员蔗糖分解成葡萄糖和果糖,再动员贮藏物质合成蔗糖、麦芽糖、葡萄糖和果糖,为种子萌发生长提供能量和中间物质。

关键词:UPLC-ELSD; 玉米种子; 可溶性糖

Simultaneous Separation and Determination of Fructose, Glucose, Sucrose and Maltose in Maize Seed by UPLC-ELSD

LI Rui-fang, HE Juan-juan, YIN Guang-kun, XIN Xia, LU Xin-xiong

(National Genebank of China/Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: UPLC-ELSD was carried out to simultaneous determination of fructose, glucose, sucrose and maltose in maize seed. UPLC-ELSD was utilized with a mobile phase with 75% (v/v) acetonitrile containing 0.2% (w/v) triethylamine. In addition, the flow rate of mobile phase was 0.2 mL/min and the column temperature was set to 35 °C. The proposed UPLC-ELSD method was validated for quantification of fructose, glucose, sucrose and maltose in maize endosperm and embryo during imbibition. The results showed that the content of four sugars various in both organs. In endosperm, the content of sucrose reached a minimum at 48 h imbibitions. The contents of fructose and glucose showed similar, displaying a steady rise during imbibition. However, maltose could be detected in 48 h. In dry embryos, the contents of four sugars could be detected and more than in endosperm. During imbibition, the contents of sugars in embryos showed very similar profiles to in endosperms. Taken together, these results might suggest that sucrose degraded to glucose and fructose in the beginning of imbibitions. Prolong with imbibition, reserve substance degraded into sucrose, maltose, glucose and fructose, providing carbon source for the maize seed germination.

Key words: UPLC-ELSD; maize seed; soluble sugar

可溶性糖是玉米等淀粉类种子吸胀萌发过程中能量和中间物质的主要供体。目前,关于种子

中糖的研究,多数报道是总糖和/或还原糖^[1-3],且测定方法较为传统,如蒽酮比色法、二硝基水杨酸

收稿日期:2015-02-02 修回日期:2015-03-12 网络出版日期:2015-11-12

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20151112.1445.002.html>

基金项目:国家“十二五”科技支撑计划(2013BAD01B01);中国农业科学院科技创新工程作物种质资源保护与共享创新团队项目(2060302-2)

第一作者研究方向为作物种质资源保存。E-mail: sxlruiufang@163.com

通信作者:卢新雄,研究方向为作物种质资源保存。E-mail: luxinxiong@caas.cn

法等^[4],但这些方法特异性差,不能区分不同类型的糖。近年来,气相色谱法(GC-MS)^[5]、高效液相色谱-示差折光检测法(HPLC-RID)^[6-8]和高效液相色谱-脉冲安倍检测法(HPLC-PAD)^[9]应用于种子中果糖、葡萄糖和蔗糖含量的测定,但是关于麦芽糖研究很少。GC-MS操作相对复杂,需要对糖类化合物进行衍生^[5,10],HPLC操作相对简单,灵敏度较高,食品^[11]、水果^[12-13]等果糖、葡萄糖、蔗糖和麦芽糖等测定普遍采用高效液相色谱-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD),但在种子中应用较少。超高效液相色谱(UPLC)是在保持了HPLC基本原理的基础上,全面提升了分离效能、灵敏度和分析速度,目前应用于种子中糖含量的测定未见报道。

本研究以玉米种子为试材,通过对比HPLC-RID法和UPLC-ELSD法对果糖、葡萄糖、蔗糖和麦芽糖标准品的检测结果,选择较优的方法,优化其测定技术参数,且应用于玉米种子吸胀萌发过程中可溶性糖含量的测定。

1 材料与方 法

1.1 材 料

试验所用材料是玉米品种大白头种子,在25℃条件下吸胀0 h、24 h、48 h、72 h后,将胚和胚乳分离,然后在液氮中研磨成粉末,分装后于-80℃保存备用。

1.2 试验方 法

1.2.1 标准样品检测 分别称取果糖、葡萄糖、蔗糖和麦芽糖15 mg, ddH₂O配置成15 mg/mL的混合标准品,上样体积20 μL,进行HPLC检测,色谱柱YMC Packpolymine II (4.6 × 250 mm, 5 μm),柱温35℃,流动相为75% (v/v)乙腈,流速1.0 mL/min。

分别称取果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖20 mg, ddH₂O配置成20 mg/mL的混合标准品,然后稀释为2 μg/μL、1 μg/μL、0.5 μg/μL、0.25 μg/μL,上样体积2 μL,进行UPLC法检测,色谱柱ACQUITY UPLC BEH Amide (2.1 × 100 mm, 1.7 μm),柱温35℃,流动相0.2% (w/v)三乙胺溶于75% (v/v)乙腈,流速0.2 mL/min,以果糖、葡萄糖、蔗糖和麦芽糖的峰面积对数为纵坐标,糖浓度的对数为横坐标,绘制标准曲线。

1.2.2 UPLC-ELSD 参数优化 混合标准品用ACQUITY UPLC BEH Amide (2.1 × 100 mm, 1.7 μm)色谱柱,设置不同比例的流动相(乙腈和水

的体积比分别为60:40、75:25、85:15,其中均含有0.2% (w/v)三乙胺)、流速(0.1 mL/min、0.2 mL/min、0.3 mL/min)、柱温(20℃、25℃、35℃)对4种糖的分离效果及保留时间进行分析。ELSD检测器漂移管温度为50℃,载气为氮气,气体压力276 kPa (40 Psi)。优化建立种子中灵敏、快速的可溶性糖测定方法。

1.2.3 玉米种子中糖的提取及检测 取50 mg胚(150 mg胚乳)粉末,加入1 mL 80%乙醇,50℃水浴30 min,50℃超声萃取30 min,离心15 min,沉淀反复提取2次,合并3次提取的上清液,45℃真空蒸干,然后用50℃预热的超纯水溶解后,过预先活化好的C₁₈萃取小柱(小柱活化方式:先用3 mL甲醇,再用10 mL超纯水自由流出),45℃浓缩定容,待测。样品过0.45 μm滤膜后,取80 μL上HPLC测定;过0.22 μm滤膜后,取2 μL上UPLC测定分析。

1.2.4 统计分析 采用SPSS 18.0软件的One-Way ANOVA进行方差分析。

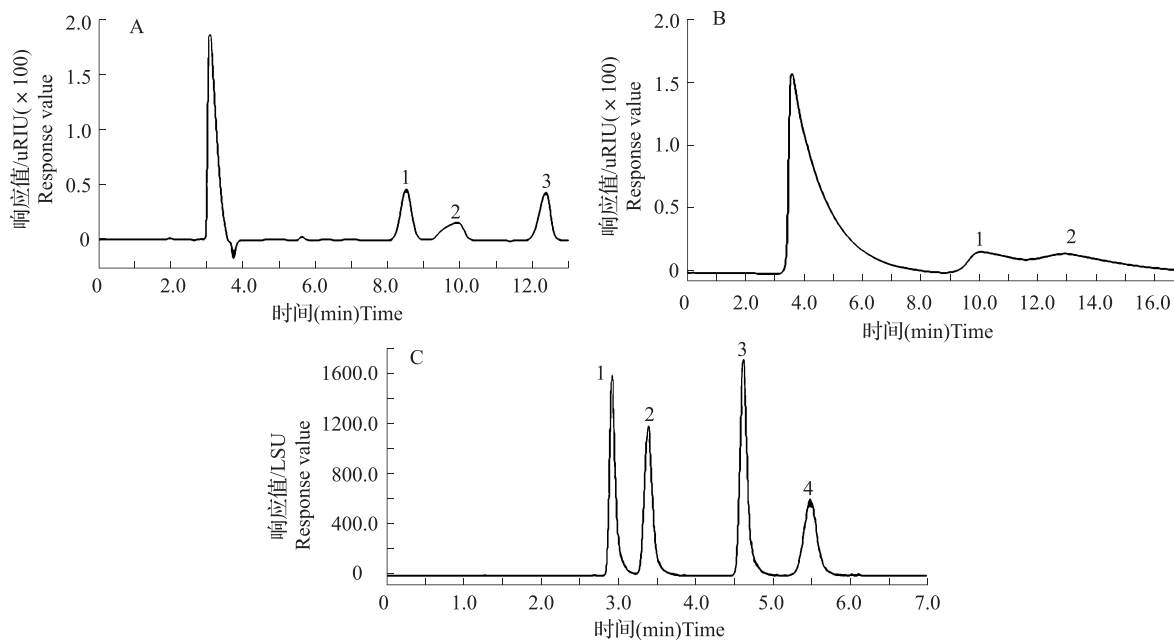
2 结果与分析

2.1 对比 HPLC-RID 和 UPLC-ELSD 对标准品检测结果

利用HPLC-RID法测定果糖、葡萄糖、蔗糖和麦芽糖等4种糖的标准品,图1中A和B所示为4种糖标准品HPLC-RID法2次重复分离色谱图,上样量为300 μg,但是2次的分离效果重复性差,第1次检测出果糖、葡萄糖和蔗糖,而第2次只检测到果糖和葡萄糖,2次都没有检测到麦芽糖;同时,样品间分离效果欠佳,尤其第2次重复,果糖和葡萄糖间存在明显交叠。利用UPLC-ELSD法测定了4种糖的标准品,图1中C所示为4种糖的分离色谱图,上样量为4 μg,4种糖均可以检测到,分离效果较好,并且对4种糖的标准品进行6次测定后重复性很好(表1)。由此表明:UPLC-ELSD法的分离效果较HPLC-RID法好,检出灵敏度较高,重复性好。因此,选择UPLC-ELSD法作为玉米种子中果糖等4种可溶性糖含量的测定方法。

2.2 UPLC-ELSD 法参数的优化

2.2.1 流动相的比例 流动相的比例是影响4种糖分离效果和保留时间的重要因素。将乙腈和水的体积比分别设为60:40、75:25、85:15,且均加入0.2% (w/v)三乙胺,得到混合标准样品色谱图(图2)。结果表明:流动相中水的比例越大,



1:果糖;2:葡萄糖;3:蔗糖;4:麦芽糖;A和B为HPLC两次重复测定结果,C为UPLC测定结果

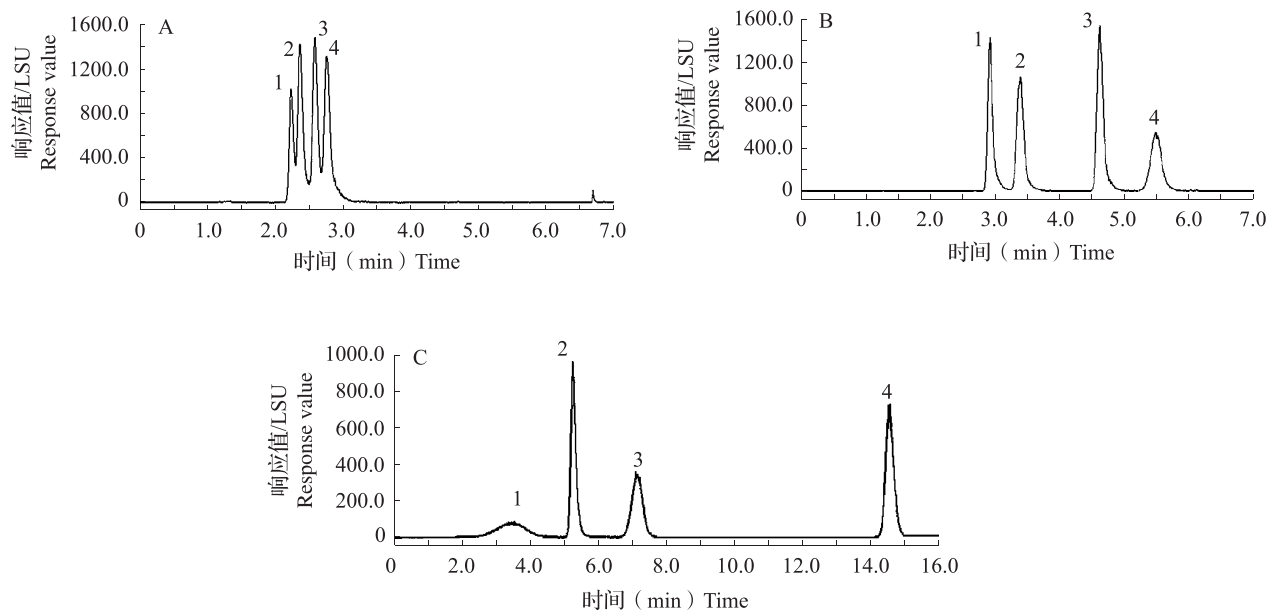
1: Fructose, 2: Glucose, 3: Sucrose, 4: Maltose, A and B were the results of two repeated HPLC test respectively, C was the result of UPLC test

图1 4种糖的标准品HPLC-RID与UPLC-ELSD分离色谱图

Fig. 1 HPLC-RID and UPLC-ELSD chromatogram of four types of sugar standard sample

4种糖的保留时间越短,当水的比例为40%,4种糖的保留时间为3 min,但相互间存在交叉,未达到基线分离。当流动相水的比例为25%,4种糖的保留时间为

6 min,且达到基线完全分离。而当水的比例减小到15%时,保留时间达到15 min,时间较长。因此,选择0.2% (w/v)三乙胺75% (v/v)乙腈作为流动相。



1:果糖;2:葡萄糖;3:蔗糖;4:麦芽糖;

A:乙腈:水=60:40;B:乙腈:水=75:25;C:乙腈:水=85:15

1: Fructose, 2: Glucose, 3: Sucrose, 4: Maltose,

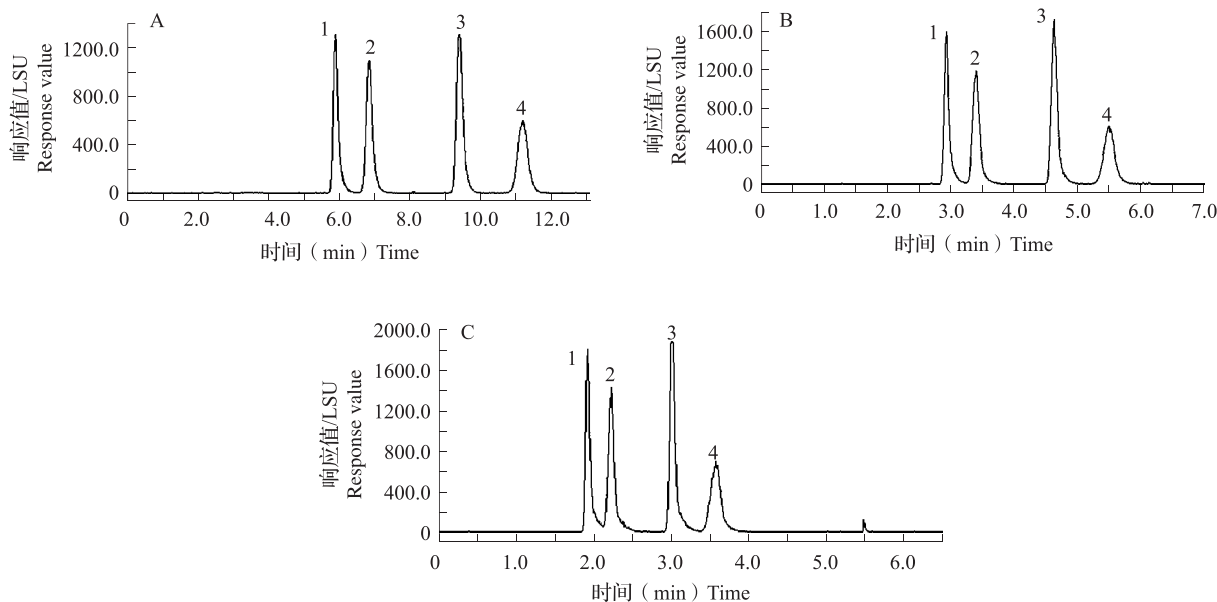
A: C₂H₅N: H₂O = 60: 40, B: C₂H₅N: H₂O = 75: 25, C: C₂H₅N: H₂O = 85: 15

图2 乙腈和水不同体积比的4种糖色谱图

Fig. 2 Chromatogram of four types of sugar in different volume ratio of C₂H₅N and H₂O

2.2.2 流动相的流速 对比了 0.1、0.2 和 0.3 mL/min 流速对 4 种糖的分离效果和保留时间的影响。如图 3 所示,流速为 0.1 mL/min 时,4 种糖的保留时间为 5~12 min;流速为 0.2 mL/min 时,

6 min 可以将 4 种糖完全分离,保留时间比 0.1 mL/min 减少一半;流速为 0.3 mL/min 时,保留时间为 4 min,但果糖和葡萄糖没有达到基线完全分离。因此,本试验的流动相流速选择 0.2 mL/min。



1: 果糖; 2: 葡萄糖; 3: 蔗糖; 4: 麦芽糖; A: 0.1 mL/min; B: 0.2 mL/min; C: 0.3 mL/min
1: Fructose, 2: Glucose, 3: Sucrose, 4: Maltose

图 3 不同流速的 4 种糖的色谱图

Fig. 3 Chromatogram of four types of sugar in different of flow rate

2.2.3 柱温 对比了 20 °C 和 35 °C 柱温对 4 种糖的分离效果。结果显示柱温升高会缩短保留时间。当柱温为 20 °C 时,7 min 可将 4 种糖分离,但是麦芽糖的峰拖尾;升高柱温到 35 °C,保留时间缩短到 6 min,并且分离效果很好。因此,本试验选择 35 °C 的柱温。

综合上述,本试验选择 UPLC-ELSD 法检测果糖等 4 种可溶性糖的参数:流动相是 0.2% (w/v) 三乙胺溶于 75% 乙腈,流速是 0.2 mL/min,柱温是 35 °C。

2.3 UPLC-ELSD 法的稳定性

利用标准样品通过分析重复检测结果的一致性,检验 UPLC-ELSD 法的稳定性。通过 6 次重复测定,果糖、葡萄糖、蔗糖和麦芽糖所对应的保留时间及峰面积的标准相对偏差 (RSD) 见表 1,分析表明,6 次保留时间稳定,且峰面积的 RSD < 15%。

2.4 玉米种子萌发过程中果糖等 4 种糖含量的变化

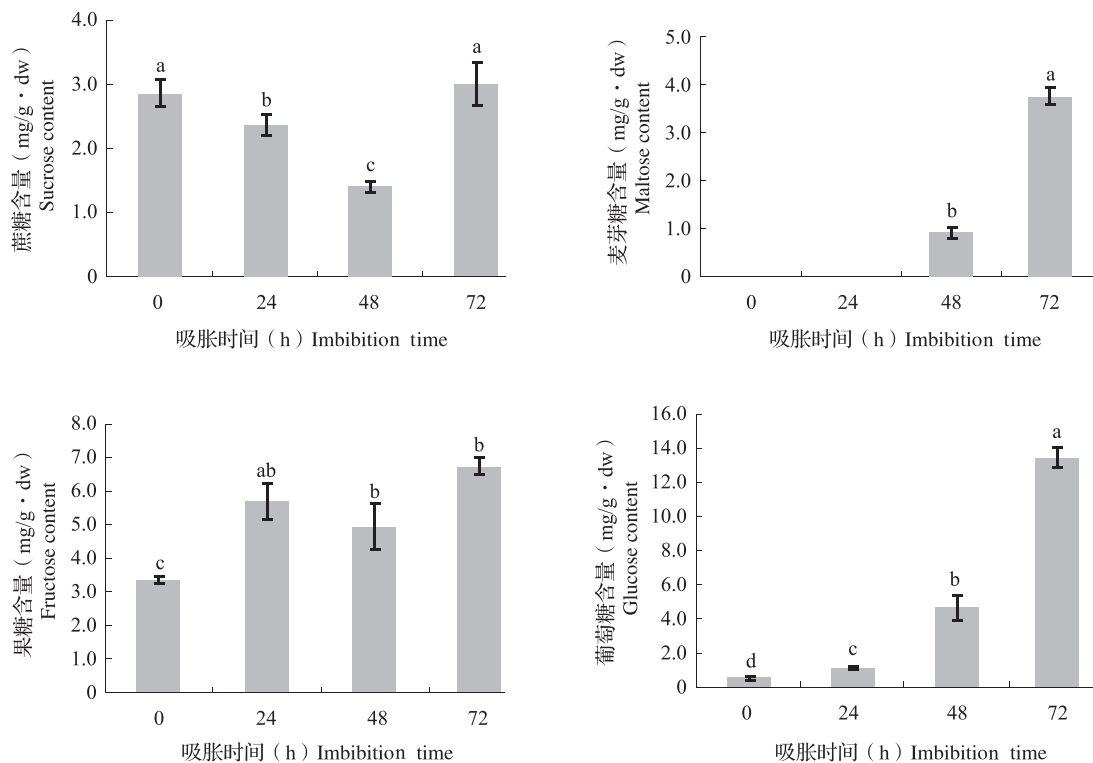
通过优化明确了玉米种子中果糖等 4 种可溶性糖 UPLC-ELSD 法测定的关键技术参数为流动相是 0.2% 三乙胺溶于 75% 乙腈,流速是 0.2 mL/min,柱温是 35 °C。利用该技术参数检测玉米种子吸胀萌发过程中果糖等 4 种糖含量的变化。

表 1 4 种糖混合标准品的保留时间、峰面积的标准相对偏差 (RSD)

Table 1 The retention time and relative standard deviation (RSD) of four type of sugar standard sample determined by UPLC-ELSD

组分 Component	保留时间 (min; N = 6) Retention time	峰面积的 RSD (%; N = 6) RSD of peak area
果糖 Fructose	2.99 ± 0.03	5.1
葡萄糖 Glucose	3.50 ± 0.05	5.1
蔗糖 Sucrose	4.80 ± 0.09	5.3
麦芽糖 Maltose	5.75 ± 0.12	8.0

胚乳中果糖等 4 种糖含量的变化如图 4 所示,结果表明:吸胀之前,仅检出蔗糖、葡萄糖和果糖,其中蔗糖含量最高,随着种子吸胀,蔗糖含量先下降后上升,而葡萄糖和果糖则逐渐增加,吸胀 48 h 时检出麦芽糖。吸胀 48 h 之前,蔗糖含量显著下降,下降了 50.9%,吸胀 48 h 之后,蔗糖含量又显著增加,并且 72 h 的蔗糖含量是 48 h 的 2.14 倍。麦芽糖在吸胀 48 h 时才被检测到,随着吸胀时间的延长,麦芽糖含量显著增加。葡萄糖和果糖随着吸胀时间的延长,均显著增加。



不同字母表示存在显著差异, $P < 0.05$, 下同

Different letters mean significant difference, $P < 0.05$, the same as below

图4 玉米种子萌发过程中胚乳4种糖含量的变化

Fig. 4 The content of sugar in imbibed maize endosperms

胚中果糖等4种糖含量的变化,如图5所示:吸胀之前,4种糖均可检测到,且其含量显著高于胚乳,其中蔗糖是胚乳中的31.3倍。随着吸胀,4种糖的变化规律与胚乳相似。吸胀0 h到48 h蔗糖含量下降了32%,麦芽糖含量无显著性变化,果糖、葡萄糖在吸胀24 h后达到显著增加,吸胀48 h比干种子分别增加了4.68和6.74倍;吸胀48 h之后,4种糖含量显著增加,吸胀72 h时,胚中蔗糖、麦芽糖、果糖和葡萄糖含量分别是吸胀48 h的1.7、1.8、3.84和7.06倍。因此,种子中蔗糖主要贮藏于胚中。吸胀48 h之前,胚和胚乳中蔗糖可能降解为果糖和葡萄糖,也可能胚乳中蔗糖向胚中转运,吸胀48 h之后,胚乳中淀粉可能代谢成糖类物质向胚中转运。

3 讨论

3.1 UPLC-ELSD 法的优点

传统的蒽酮比色法、二硝基水杨酸法等^[4]测定糖含量,只能测定总糖和(或)还原糖,不能测定各种糖的含量。近年来气相色谱和液相色谱被广泛应用于糖含量的测定。本试验通过对比 HPLC-RID 法和 UPLC-ELSD 法对果糖等4种可溶性糖的测定效

果,发现 HPLC-RID 法测定结果重复性差,测定时间较长。F. A. Hoekstra 等^[7]、A. Lehner 等^[8]、C. Goyoaga 等^[6]采用 HPLC-RID 法在流动相 70% ~ 75% 乙腈,流速 1.0 mL/min 的条件下分别测定了花椰菜种子、小麦种子、蚕豆种子中的果糖、葡萄糖、蔗糖等多种可溶性糖的含量,但均没有测定麦芽糖的含量。朱群英等^[11]测定饮料、奶粉和蜂蜜等食品中果糖、葡萄糖、蔗糖和麦芽糖等需要 30 min;宋晓辉等^[12]测定梨果实中糖的含量需要 17 min。今后对 HPLC-RID 法可以从流动相、流动相流速、柱温等方面进行优化,找到分离效果较好的检测条件,也可能较好地用于可溶性糖的测定。UPLC 是在保持了 HPLC 基本原理的基础上,全面提升了分离效能,灵敏度和分析速度,孔兰芬等^[14]、曹静亚等^[15]、J. H. Zhou 等^[16]先后应用 UPLC-ELSD 法测定了烟草、枸杞子、蜂蜜中果糖、葡萄糖、蔗糖和麦芽糖等糖含量,分离效果及峰型都很好,并且保留时间都在 10 min 之内,但未见在种子中的报道。本试验通过优化确定 UPLC-ELSD 法测定果糖等4种糖的流动相、流速、柱温最佳技术参数条件下,6min 就可以将4种糖全部检出,并且分离效果和重复性很好(表1);检

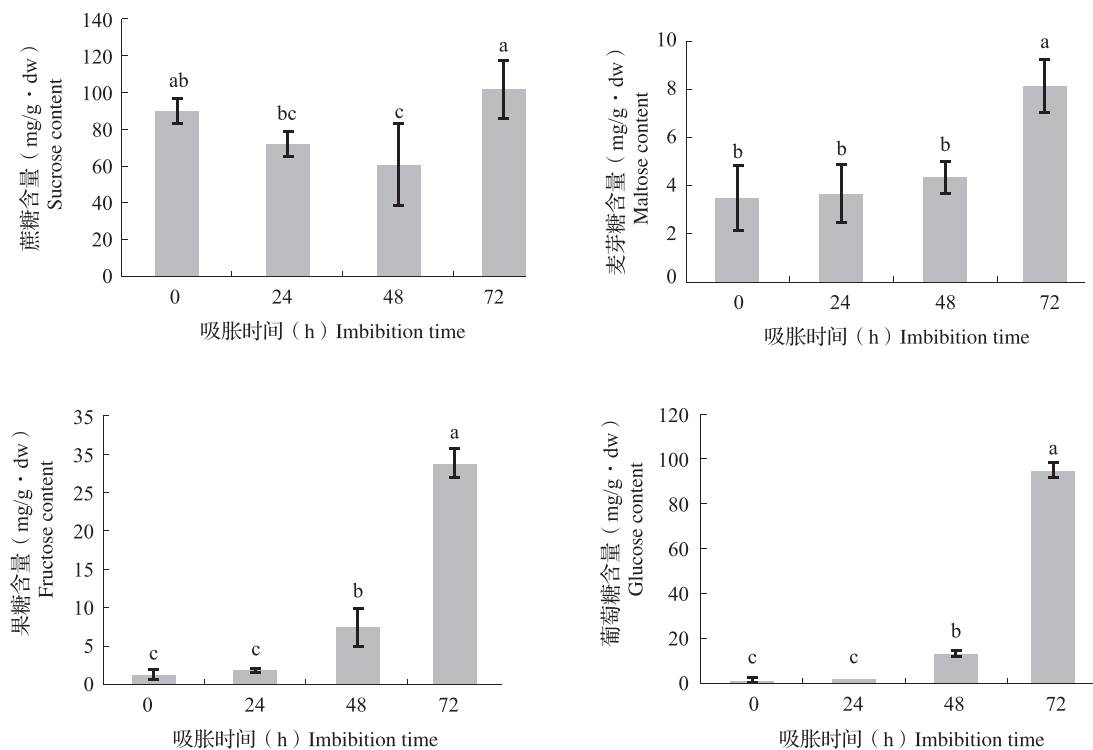


图5 玉米种子萌发过程中胚4种糖含量的变化

Fig. 5 The content of sugar in imbibed maize embryos

测玉米种子糖含量,所有样品均可检测到,且进样量较少。因此,UPLC-ELSD用于测定种子中糖含量灵敏度高,重复性好,并且检测时间短,加速了批量样品的测定,减少了测定过程中样品降解带来的误差。

3.2 玉米种子萌发过程中糖动员

干种子中普遍存在的糖类物质包括果糖、葡萄糖和麦芽糖等,但其含量较低,在玉米和小麦种子中蔗糖是贮藏最多的可溶性糖类物质^[5,17-18]。本试验通过测定玉米种子胚和胚乳中4种可溶性糖类物质显示蔗糖主要贮藏于胚中。S. Leonova等^[19]研究发现燕麦种子萌发几天后葡萄糖和蔗糖在胚和胚乳中均有积累,而果糖主要在胚中积累;C. Goyoaga等^[6]指出蚕豆种子吸胀2~3d子叶中蔗糖含量下降可能是由于转化酶活性提高将蔗糖降解,也可能是蔗糖从子叶向胚轴中快速动员。本试验将玉米种子吸胀,分别对胚和胚乳中4种可溶性糖进行研究,结果显示:吸胀24h胚中果糖和葡萄糖含量无显著变化,蔗糖含量快速降低。L. Sánchez-Linare等^[20]研究表明在玉米胚吸胀24h果糖和葡萄糖的含量无显著变化,蔗糖被快速动员消耗。因此,在吸胀早期,蔗糖可能是为种子提供能量来源的主要糖类物质。随着吸胀时间延长,胚和胚乳中蔗糖含量先下

降后上升,果糖、葡萄糖和麦芽糖逐渐增加,这可能是贮藏的蔗糖降解后,为保持蔗糖库充足的糖源,胚乳中淀粉开始动员。因为麦芽糖主要来自淀粉的降解,麦芽糖可能转化成己糖,然后再合成蔗糖运输到胚中^[21];并且可能转化酶活性提高,将蔗糖降解为葡萄糖和果糖。糖含量的增加为种子提供萌发所需的能量物质。

综上所述,玉米种子中果糖等4种糖含量的测定采用UPLC-ELSD法,参数为:流动相为0.2%(w/v)三乙胺溶于75%乙腈,流速为0.2 mL/min,柱温为35℃。玉米种子吸胀过程中,可能是先动员分解种子中贮藏的蔗糖为葡萄糖和果糖,再动员贮藏物质合成蔗糖、麦芽糖、葡萄糖和果糖,为种子萌发生长提供能量和中间物质。

参考文献

- [1] 冯波,董树亭,高荣歧,等. 高温对玉米种苗转化过程中贮藏物质降解的影响[J]. 山东农业科学,2004(1):28-30
- [2] 王磊,周青. 酸雨胁迫对大豆萌发种子糖代谢影响初探[J]. 大豆科学,2010,29(1):171-173
- [3] 王国华,时培玲,石长德. 樟子松种子萌发过程中碳水化合物代谢变化规律[J]. 防护林科技,2011(2):32-33
- [4] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000:194-201
- [5] Bernal-Lugo I, Leopold A C. Changes in soluble carbohydrates during seed storage[J]. Plant Physiol,1992,98:1207-1210
- [6] Goyoaga C, Burbano C, Cuadrado C, et al. Content and distribu-

- tion of protein, sugars and inositol phosphates during the germination and seedling growth of two cultivars of *Vicia faba*[J]. J Food Compos Anal, 2011, 24:391-397
- [7] Hoekstra F A, Haigh A M, Tetteroo F A A, et al. changes in soluble sugars in relation to desiccation tolerance in cauliflower seeds [J]. Seed Sci Res, 1994, 4:143-147
- [8] Lehner A, Mamadou N, Poels P, et al. Changes in soluble carbohydrates, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the embryo during ageing in wheat grains[J]. J Cereal Sci, 2008, 47:555-565
- [9] Dirk L M A, Krol A R, Vreugdenhil D, et al. Galactomannan, soluble sugar and starch mobilization following germination of *Trigonella foenum-graecum* seeds[J]. Plant Physiol Biochem, 1999, 37(1):41-50
- [10] Brokl M, Soria A C, Sanz M L. Gas chromatographic-mass spectrometric characterization of tri- and tetrasaccharides in honey [J]. Food Chem, 2010, 20(2):637-642
- [11] 朱群英, 江勇, 甘钰. HPLC-ELSD 法同时测定食品中 5 种糖 [J]. 食品科学, 2008, 29(12):503-506
- [12] 宋晓辉, 谢凯, 李艳丽, 等. HPLC-ELSD 法测定梨果实中不同种类可溶性糖含量 [J]. 南京农业大学学报, 2012, 35(2):87-91
- [13] Ma C M, Zhen S, Chen C B, et al. Simultaneous separation and determination of fructose, sorbitol, glucose and sucrose in fruits by HPLC-ELSD [J]. Food Chem, 2014, 145:784-788
- [14] 孔兰芬, 杨式华, 杨玉标, 等. UPLC-ELSD 法测定烟草中的水溶性糖 [J]. 云南化工, 2012, 39(3):35-37
- [15] 曹静亚, 迟晓峰, 谭亮, 等. UPLC-ELSD 法测定柴达木栽培和野生枸杞子中水溶性糖含量 [J]. 天然产物研究与开发, 2014(26):233-237
- [16] Zhou J H, Qi Y T, Ritho J, et al. Analysis of maltooligosaccharides in honey samples by ultra-performance liquid chromatography coupled with evaporative light scattering detection [J]. Food Res Int, 2014, 56:260-265
- [17] Black M, Corbineau F, Grzesik M, et al. Carbohydrate metabolism in the developing and maturing wheat embryo in relation to its desiccation tolerance [J]. J Exp Bot, 1996, 47:161-169
- [18] Harrigan G G, Stork L G, Riordan S G, et al. Impact of genetics and environment on nutritional and metabolite components of maize grain [J]. J Agr Food Chem, 2007, 55:6177-6185
- [19] Leonova S, Grimberg Å, Marttila S, et al. Mobilization of lipid reserves during germination of oat (*Avena sativa* L.), a cereal rich in endosperm oil [J]. J Exp Bot, 2010, 61:3089-3099
- [20] Sánchez-Linares L, Gavilanes-Ruiz M, Díaz-pontones D. Early carbon mobilization and radical protrusion in maize germination [J]. J Exp Bot, 2012, 63:4513-4526
- [21] Aoki N, Scofield G N, Wang X D, et al. Pathway of sugar transport in germinating wheat seeds [J]. Plant Physiol, 2006, 141:1255-1263

(上接第 62 页)

- [6] 刘天鹏, 董孔军, 何继红, 等. 糜子育成品种芽期抗旱性鉴定与评价研究 [J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15(4):746-752
- [7] 冯方剑, 宋敏, 陈全家, 等. 棉花苗期抗旱相关指标的主成分分析及综合评价 [J]. 新疆农业大学学报, 2011, 34(3):211-217
- [8] 王贺正, 李艳, 马均, 等. 水稻苗期抗旱性指标的筛选 [J]. 作物学报, 2007, 33(9):1523-1529
- [9] 史加亮, 李凤瑞, 张东楼, 等. 抗虫棉品种(系)主要农艺性状配合力与遗传力分析 [J]. 山东农业科学, 2014, 46(1):23-26
- [10] 罗俊杰, 欧巧明, 叶春雷, 等. 重要胡麻栽培品种的抗旱性综合评价及指标筛选 [J]. 作物学报, 2014, 40(7):1259-1273
- [11] 兰巨生. 农作物综合抗旱性评价方法的研究 [J]. 西北农业学报, 1998(3):92-94
- [12] 王绘艳, 史雨刚, 马翔翔, 等. 30 份春小麦品系主要农艺性状的聚类分析 [J]. 中国农学通报, 2014, 30(18):60-64
- [13] 罗俊杰, 石有太, 陈玉梁, 等. 甘肃不同色彩陆地棉抗旱指标筛选及评价研究 [J]. 核农学报, 2012, 26(6):952-959
- [14] 谢小玉, 张霞, 张兵. 油菜苗期抗旱性评价及抗旱相关指标变化分析 [J]. 中国农业科学, 2013, 46(3):476-485
- [15] 孟庆立, 关周博, 冯佰利, 等. 谷子抗旱相关性状的主成分与模糊聚类分析 [J]. 中国农业科学, 2009, 42(8):2667-2675
- [16] 尹利, 逯晓萍, 傅晓峰, 等. 高丹草杂交种灰色关联分析与评判 [J]. 中国草地学报, 2006(3):21-25, 43
- [17] 李志博, 林海荣, 魏亦农, 等. 新疆主栽棉花抗旱性生育期差异评价及鉴定体系的初步建立 [J]. 干旱地区农业研究, 2011, 29(3):84-90
- [18] 肖俊夫, 刘祖贵, 孙景生, 等. 不同生育期干旱对棉花生长发育及产量的影响 [J]. 灌溉排水, 1999(1):24-28
- [19] 程林梅, 张原根, 阎继耀, 等. 土壤干旱对棉花生理特性与产量的影响 [J]. 棉花学报, 1995(4):233-237
- [20] 雷成霞, 王振华, 魏闯, 等. 新疆地下滴灌无膜移栽棉花干物质积累与需水量关系 [J]. 灌溉排水学报, 2012, 31(6):94-97, 102
- [21] 王俊娟. 陆地棉种质资源的抗旱性评价及遗传研究 [D]. 北京:中国农业科学院, 2011
- [22] 陈玉梁, 石有太, 罗俊杰, 等. 甘肃彩色棉花抗旱性农艺性状指标的筛选鉴定 [J]. 作物学报, 2012, 38(9):1680-1687
- [23] Li S J, Chen L, Peng S D, et al. Screening of drought-tolerant *Brassica napus* L. varieties and analysis on their physiologic and biochemical variations under drought stress [J]. Agric Sci Technol, 2014, 15(4):596-604, 615
- [24] 张丽英, 张正斌, 徐萍, 等. 黄淮小麦农艺性状进化及对产量性状调控机理的分析 [J]. 中国农业科学, 2014, 47(5):1013-1028
- [25] 汤复跃, 梁江, 陈渊, 等. 广西春大豆品种抗旱性评价及抗旱鉴定指标初步研究 [J]. 南方农业学报, 2011, 42(1):50-53