

# Friabilin 蛋白表达量与小麦籽粒硬度的关系

郭世华<sup>1 2 5</sup>, 何中虎<sup>1 3</sup>, 王洪刚<sup>2</sup>, 夏兰芹<sup>1</sup>, 张庆祝<sup>1</sup>, 张岐军<sup>1</sup>, 于亚雄<sup>4</sup>

(<sup>1</sup> 中国农业科学院作物育种栽培研究所/国家小麦改良中心, 北京 100081; <sup>2</sup> 山东农业大学农学院, 泰安 271018; <sup>3</sup> 国际玉米小麦改良中心中国办事处, 北京 100081; <sup>4</sup> 云南农科院粮食作物研究所, 昆明 650205; <sup>5</sup> 内蒙古农业大学农学院, 呼和浩特 010019)

**摘要:** 籽粒硬度是决定小麦 (*Triticum aestivum* L.) 品质的重要性状, 水洗淀粉表面的 friabilin 蛋白, 分子量约 15 kDa, 是这一性状的生化基础。用单粒谷物特性仪 (SKCS) 和改进的聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分析了中优 9507 穗系 34 份和国内外冬小麦品种 (系) 104 份的籽粒硬度和 friabilin 表达水平。结果表明, friabilin 谱带相对表达量与籽粒硬度显著相关, 即 friabilin 谱带强, 籽粒硬度数值低; friabilin 谱带弱, 籽粒硬度数值高。用 friabilin 蛋白表达量判断籽粒软硬的准确率分别为 85.3% 和 86.5%, 其相关系数分别为 -0.68 和 -0.66, 均达到 1% 的显著水平。因此, friabilin 蛋白 SDS-PAGE 改进的技术可用于小麦籽粒硬度生化标记的辅助选择。

**关键词:** 普通小麦; 籽粒硬度; Friabilin; SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳

## Association Between Friabilin Protein and Grain Hardness in Common Wheat

GUO Shi-hua<sup>1 2 5</sup>, HE Zhong-hu<sup>1 3</sup>, WANG Hong-gang<sup>2</sup>, XIA Lan-qin<sup>1</sup>,  
ZHANG Qing-zhu<sup>1</sup>, ZHANG Qi-jun<sup>1</sup>, YU Ya-xiong<sup>4</sup>

(<sup>1</sup> Institute of Crop Breeding and Cultivation/National Wheat Improvement Center, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081;

<sup>2</sup> Agricultural College, Shandong Agricultural University, Taian 271018; <sup>3</sup> CIMMYT China Office, Beijing 100081; <sup>4</sup> Grain Crop Institute,

Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205; <sup>5</sup> Agricultural College, Inner Mongolia Agriculture University, Huhhot 010019)

**Abstract:** Grain hardness determines the utilization and marketing of common wheat (*Triticum aestivum* L.). A starch surface associated protein, friabilin (Mr15 kDa), is a putative marker for softness. Thirty four reselected lines from Zhongyou 9507 and 104 varieties were used to measure kernel hardness by Single Kernel Characteristic System (SKCS) and friabilin level by improved SDS-PAGE. The results show that high level of friabilin protein is presented in soft wheat and relatively lower level in hard wheat. The accuracy rate is 85.3% and 86.5%, and the correlation coefficient between friabilin protein and grain hardness is -0.68 and -0.66 for the two groups of tested materials, respectively.

**Key words:** Common wheat; Grain hardness; Friabilin; SDS-PAGE

籽粒硬度是国际上通用的小麦 (*Triticum aestivum* L.) 分类指标之一, 是决定磨粉和食品品质的主要因素<sup>[1]</sup>。硬质小麦硬度高, 蛋白质含量高, 面筋强度大, 适宜制作面包; 软质小麦硬度低, 蛋白质含量低, 面筋强度弱, 适宜做糕点和饼干。一般认为, 籽粒组织结构的软和硬由单个主基因 (*Ha*) 决定, 并定位于 5DS<sup>[2-4]</sup>。但 Sourdille 等指出, 籽粒硬度由多

基因控制, 其中 1 个主效基因 (*Ha*) 位于 5DS A 个微效基因分别位于 2A、2D、5B、6D, 另外 3 个微效基因分别位于 5A、6D、7A<sup>[5]</sup>。

籽粒硬度的分子基础研究与 friabilin 蛋白的发现有关<sup>[6]</sup>。它至少由 3 种肽组成, 2 种主要肽 puroindoline α (pinA) 和 puroindoline β (pinB) 60% 氨基酸序列相同, 都含 10 个胱氨酸残基<sup>[7,8]</sup>, 二者的等电

收稿日期: 2002-12-25

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目 (2002CB111300), 国家自然科学基金项目 (30260061), 天津市自然科学基金 (023614311) 和“863”重大专项项目 (2002AA207003) 资助

作者简介: 郭世华 (1963-) 男, 内蒙古清水河人, 主要从事作物遗传育种研究。何中虎为通讯作者, Tel: 010-68918547; E-mail: zhhhe@public3.

点几乎相等<sup>[9-12]</sup>,第三种独立成分 GSP-1( Grain softness protien)与 puroindoline 有 40%同源序列,3种肽都存在于软麦和硬麦中,但与淀粉结合的程度因基因型而异<sup>[11,12]</sup>。编码这些蛋白的基因与硬度基因(*Ha*)紧密连锁<sup>[5,13]</sup>,其中编码 *pinA* 和 *pinB* 的基因位于染色体 5DS,编码 GSP-1 的基因位于染色体 5A、5B 和 5D,其基因序列已克隆<sup>[10,12]</sup>。成熟小麦种子 puroindoline 存在于淀粉胚乳的糊粉细胞中,软麦中含量高,硬麦中含量低,硬粒小麦中没有<sup>[1,10,14,15]</sup>。Friabilin 按硬度等位基因剂量呈加性遗传,即软麦(*HaHaHa*)富含 friabilin,硬麦(*hahaha*)含少量 friabilin,杂合胚乳(*HaHaha*,*Hahaha*)呈中间型的 friabilin 和硬度<sup>[16]</sup>。研究 friabilin 的作用机理表明,色氨酸区  $\alpha$ -螺旋间形成的膜固着环与淀粉表面双分子极性脂紧密结合,软麦淀粉表面束缚态极性脂(糖脂和磷脂)含量明显高于硬麦中的<sup>[17]</sup>。

鉴于小麦硬度对加工品质的重要性,笔者拟对中国小麦的硬度进行系统深入的研究,先前已对我国主要小麦品种的硬度分布进行了调查<sup>[18]</sup>,并分离克隆了京 411 软质小麦的 *Pina* 和 *Pinb* 基因<sup>[19]</sup>。本

研究以中优 9507 穗系 34 份和国内外品种(系)104 份为材料,提取单籽粒淀粉 friabilin 蛋白,用改进的 SDS-PAGE 分析 friabilin 谱带表达量的差异及其与籽粒硬度的关系,目的是为小麦品质生化和分子标记辅助育种提供理论和方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验 I 所用材料为 1998 年从北京收获的中优 9507 穗系 34 份,编号见表 1。中优 9507 于 1995~1996 年度首次参加鉴定试验,为了进一步改良该品种,笔者在田间选择了 80 个穗。经第 2 年田间淘汰,在 1998 年收获的 34 份穗系之间其农艺性状和部分品质性状十分相似(曾在北京和安阳种植,并测定蛋白质含量、沉降值等品质性状详细数据略),但硬度差异较大,即出现了硬度的分离现象,比例接近 1:1。试验 II 所用材料包括国内品种品系 96 份,国外品种 8 份,来源于 2002 年从北京收获的种子,品种名称见表 2。

表 1 中优 9507 穗系硬度与 friabilin 蛋白相对表达量的关系

Table 1 Relationship between friabilin and SKHD in selected lines from Zhongyou9507

来源号 Code	硬度值 SKHD	表达量 Expression level (%)	来源号 Code	硬度值 SKHD	表达量 Expression level (%)	来源号 Code	硬度值 SKHD	表达量 Expression level (%)
1	27	65.0	13	80	19.3	24	23	28.5
2	65	2.83	14	22	72.8	25	25	16.4
3	27	43.4	15	19	76.8	26	21	83.9
4	76	7.6	16	21	68.6	27	24	42.3
5	24	116.8	17	22	50.8	28	78	29.8
6	60	50.3	18	17	71.3	29	22	51.8
7	19	105.3	19	76	17.6	30	27	127.7
8	21	94.6	20	72	88.3	31	74	32.8
9	26	68.7	21	81	35.2	32	73	35.6
10	27	68.6	22	20	61.8	33	76	29.6
11	24	168.4	23	26	76.9	中优 9507	28	159.8
12	74	26.0				Zhongyou 9507		

### 1.2 籽粒硬度测定

利用单粒谷物特性仪(SKCS 4100)测定。

### 1.3 Friabilin 蛋白的提取、灌胶、电泳和银染

Friabilin 蛋白的提取参照 Bettge 等方法进行<sup>[16]</sup>。使用双垂直板 Bio-Rad 电泳槽,玻璃板尺寸 10.1 cm × 8.3 cm(宽 × 高),垫片厚度 0.75 mm。分离胶(T = 13.5%, C = 2.6%),浓缩胶(T = 4%, C = 2.6%)。每孔点样 5  $\mu$ l,电泳 1.5 h。银染参照潘志芬的方法进行<sup>[20]</sup>。

### 1.4 凝胶扫描

利用凝胶成像系统 Gene Tools 软件,以低分子量标准蛋白 Marker 确定 friabilin 蛋白的位置,以图 1(左)Marker 的第 6 谱带(14.4 kDa)为准,标定 friabilin 蛋白相对表达量。

## 2 结果与分析

将中优 9507 穗系的编号、籽粒硬度值和 friabilin 蛋白相对表达量列于表 1,部分穗系的 friabilin 蛋白

表 2 冬小麦品种(系)硬度与 friabilin 蛋白相对表达量的关系

Table 2 Relationship between friabilin and SKHD in winter wheat varieties

品种(系) Variety	硬度值 SKHD	表达量 (%)	品种(系) Variety	硬度值 SKHD	表达量 (%)	品种(系) Variety	硬度值 SKHD	表达量 (%)	品种(系) Variety	硬度值 SKHD	表达量 (%)
北京 837 Beijing 837	69	17.5	冀 5066 Ji 5066	85	106.7	济麦 19 Jimai 19	104	9.0	陕 623 Shan 623	76	44.3
CA 8686	75	21.7	冀 5219 Ji 5219	70	14.3	山东 955159 Shandong 955159	91	65.6	小偃 6 号 Xiaoyan 6	60	26.5
CA 9532	69	21.6	冀 95-6023 Ji 95-6023	28	38.1	鲁 95(6)161 Lu 95(6)161	43	160.2	扬麦 5 号 Yangmai 5	36	21.7
CA 9550	62	51.1	冀 Z76 Ji Z76	78	39.6	鲁麦 21 Lumai 21	43	20.1	扬麦 158 Yangmai 158	74	18.2
CA 9553	71	31.9	冀麦 24 Jimai 24	32	48.5	鲁麦 22 Lumai 22	63	54.6	安农 98005 Anong 98005	45	92.2
CA 9632	70	25.3	冀麦 38 Jimai 38	72	33.8	白玉 149 Baiyu 149	73	21.2	皖麦 18 Wanmai 18	79	80.5
CA9641	22	110.1	藁城 8901 Gaocheng 8901	84	23.9	PH85-1-1	34	201.4	皖麦 19 Wanmai 19	31	130.6
CA 9648	70	28.7	高优 503 Gaoyou 503	100	16.0	山农 1355 Shannong 1355	34	144.9	鄂 66378 E 66378	37	141.1
CA 9722	34	44.7	沧核 030 Canhe 030	79	18.9	山农 413863 Shannong 413863	33	149.4	鄂 81027 E 81027	27	140.2
农大 152 Nongda 152	61	19.2	中育 5 号 Zhongyu 5	68	81.9	山农 617 Shannong 617	85	49.8	鄂 86642 E 86642	65	43.4
农大 3213 Nongda 3213	73	35.1	中育 415 Zhongyu 415	27	103.7	山农 664 Shannong 664	35	77.3	川 89-114 Chuan 89-114	33	40.3
京农 8318 Jingnong 8318	60	63	豫麦 18 Yumai 18	22	79.7	烟辐 188 Yanfu 188	33	51.1	绵阳 26 Mianyang 26	26	39.1
京农 97-86 Jingnong 97-86	59	31	豫麦 2 号 Yumai 2	21	41.6	烟农 18 Yannong 18	80	57.0	绵阳 98-17 Mianyang 98-17	29	91
京农 98-100 Jingnong 98-100	64	13.5	豫麦 21 Yumai 21	66	30.4	烟优 361 Yanyou 361	80	20.1	绵阳 960107 Mianyang 960107	28	67.7
京冬 10 号 Jingdong 10	67	11.8	豫麦 25 Yumai 25	38	93.0	济麦 1 号 Jimai 1	65	56.4	绵阳 980127 Mianyang 980127	29	56.9
京 411 Jing 411	28	11.5	豫麦 34 Yumai 34	75	25.0	运 97169 Yun 97169	18	53.3	硬粒小麦 Drum wheat	89	3.2
京 9428 Jing 9428	18	82.2	豫麦 35 Yumai 35	21	116.4	运丰早 898 Yunfengzao 898	78	171.3	风麦 24 Fengmai 24	27	87.3
晋麦 45 Jimai 45	74	29.1	豫麦 47 Yumai 47	83	11.4	运丰早 101 Yunfengzao 101	87	45.6	德麦 4 号 Demai 4	19	76.0
晋麦 50 Jimai 50	67	72.7	豫麦 49 Yumai 49	38	51.0	临汾 127 Linfen 127	63	106.4	Y10-8	27	56.9
晋麦 60 Jimai 60	41	85.8	豫麦 50 Yumai 50	19	109.4	临汾 137 Linfen 137	78	117.5	Agseco 7853	59	86.2
晋麦 61 Jimai 60	81	60.4	豫麦 54 Yumai 54	68	52.2	临汾 138 Linfen 138	76	52.0	Karl 92	70	23.5
晋农 207 Jinnong 207	62	39.8	豫麦 57 Yumai 57	28	135.3	临汾 139 Linfen 139	75	53.0	Dollarbird	86	16.9
晋农 215 Jinnong 215	34	73.9	豫麦 62 Yumai 62	80	31.5	临汾 98-6269 Linfen 98-6269	74	107.2	Sunstate	76	32.1
河农 2552 Henong 2552	25	82.3	豫麦 69 Yumai 69	45	60.1	临旱 205 Linhan 205	46	30.3	Hartog	85	20.5
河北农大 341 Hebeinongda 341	71	53.2	周麦 13 Zhoumai 13	87	45.4	陕 354 Shan 354	75	9.8	Eradu	54	41.0
冀 3475 Ji 3475	61	72.0	济南 17 Jinan 17	88	27.8	陕 229 Shan 229	88	10.3	Gamenya	28	31.2

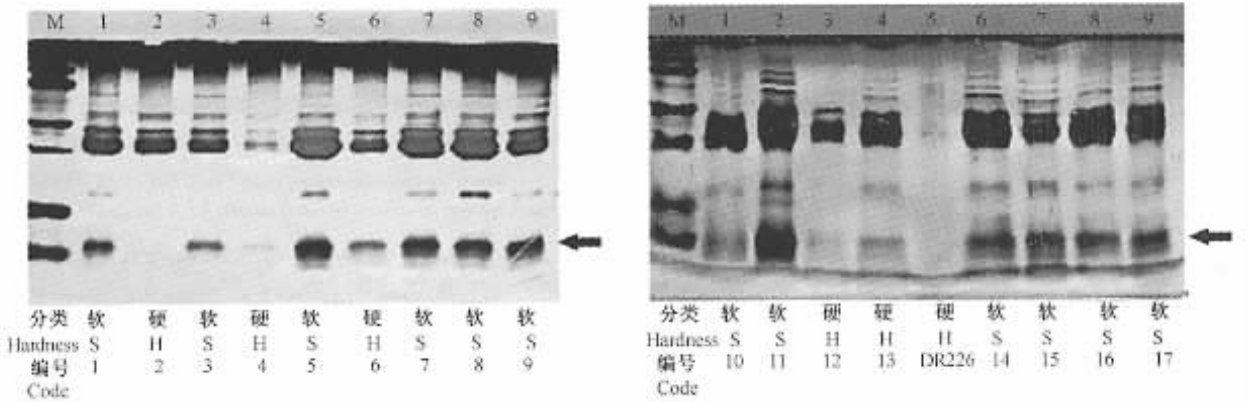


图 1 中优 9507 穗系 friabilin 蛋白 SDS-PAGE 图谱 ,M 为低分子量标准蛋白 marker ,依次为 97.4、66.2、43.0、31.0、20.1 和 14.4 kDa

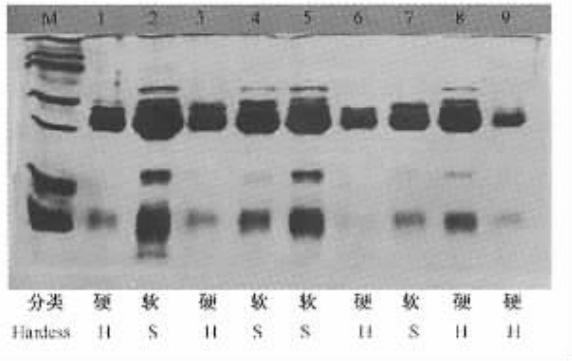
Fig. 1 Friabilin SDS-PAGE profiles of Zhongyou 9507 selected lines , M presents lower molecular weight protein marker , indicate 97.4 , 66.2 , 43.0 , 31.0 , 20.1 and 14.4 kDa , respectively

电泳结果见图 1。可以看出,根据籽粒硬度大小,中优 9507 穗系明显地分为软质(硬度小于 28)和硬质(硬度大于 60),22 个软质系按硬度值由小到大的序号,其编号依次为 18、7、15、22、8、16、26、14、17、29、24、11、5、27、25、9、23、1、10、3、30 和中优 9507,其

中 20 份穗系的 friabilin 蛋白谱带(约 15 kDa)表达量较多,而 24、25 号表达量较少。按 SKHD 由小到大 12 个硬质系的编号依次为 6、2、20、32、12、31、4、33、19、28、13 和 21,其中 9 份穗系的 friabilin 蛋白谱带表达量较少,但 6、13 和 20 号谱带表达量较多,四倍体硬

粒小麦 DR226 的硬度值为 89, 在 15 kDa 处未出现带(图 1 右第 5 泳道)。用 friabilin 蛋白谱带表达量判断软硬准确率为 85.3%, 二者的相关系数为  $-0.68$ , 达 1% 显著水平。

104 份品种(系)的名称、硬度值及 friabilin 蛋白谱带相对表达量见表 2, 其中 9 份品种的 friabilin 蛋白电泳图谱见图 2。总体来说, 软质籽粒 friabilin 蛋白表达量高, 硬质籽粒 friabilin 蛋白表达量低, 例如软质品种(系)CA9722、品种豫麦 18、冀麦 24 和绵阳 98-17 谱带强, 硬度值分别为 34、22、32 和 29; 豫麦 54(硬质)谱带较强, 硬度值为 68, 硬质品种(系)农大 3213、豫麦 34 号、济麦 19 和冀麦 38 谱带较弱, 硬度值分别是 73、75、104 和 72, 用 friabilin 蛋白表达量判断籽粒软硬的准确率为 86.5%, 相关系数为  $-0.66$ , 达 1% 的显著水平; 但也有例外, 如硬质麦运丰早 898、晋麦 50、晋麦 61、临汾 127、临汾 137、鲁麦 22、冀 3475、冀 5066 和中育 5 号 friabilin 蛋白表达量较高, 软质麦京 411、临汾 98-6269、冀 95-6023、鲁麦 21 和扬麦 5 号表达量较低。



1. 农大 3213, 2. 豫麦 18, 3. 冀麦 38, 4. 冀麦 24, 5. 绵阳 98-17, 6. 济麦 19, 7. CA9722, 8. 豫麦 54, 9. 豫麦 34

1. Nongda 3213, 2. Yumai 18, 3. Jimai 38, 4. Jimai 24, 5. Mianyang 98-17, 6. Jimai 19, 7. CA 9722, 8. Yumai 54, 9. Yumai 34

图 2 品种(系) friabilin 蛋白 SDS-PAGE 图谱

Fig. 2 Friabilin SDS-PAGE profiles of winter wheat varieties

### 3 讨论

检测籽粒硬度的方法包括粒度指数法、研磨时间法和近红外仪测定法等<sup>[1]</sup>, 由于样品用量大, 育种早代选择受到限制。美国谷物市场研究室和瑞典 Perten 仪器公司建立的单粒谷物特性系统(SKCS 4100)<sup>[3]</sup>, 可快速测定单粒及 300 粒以下种子的含水量、粒重、籽粒宽度和硬度指数及其平均值, 但由于硬度亦受测试条件的影响及对籽粒的破坏性, 也有

其局限性; 与淀粉结合的 friabilin 蛋白, 是分子量约为 15 kDa 的蛋白复合体, 可作为硬度的标记蛋白<sup>[6]</sup>。

笔者的研究表明, 就总体而言, 在供试的两组共 138 份品种品系中, friabilin 蛋白表达量与籽粒硬度密切相关, 但其中 19 份材料例外, 这可能与 friabilin 蛋白亚基含量和亚基变异等有关, 其原因有待进一步研究。Jolly 曾报道, 软麦和硬麦 friabilin 含量接近, 并用 puroidoline 蛋白两个高度保守的突变作了解释<sup>[15, 21]</sup>。

国外分离小麦籽粒与淀粉结合的 friabilin 蛋白用氯化铯<sup>[14]</sup>、1% SDS 和异丙醇/氯化铯<sup>[16]</sup>。本试验采用改良的单籽粒 friabilin 蛋白 SDS-PAGE 分离法, 对小麦 friabilin 蛋白的提取和胶片的银染方法进行了改良, 将面粉提取改为单粒提取, 将 Morris 的乙酸/甲醇固定和 Bettge 等三氯乙酸/甲醇固定系统改为甲醇/甲醛固定, 采用快速银染法代替了常用的银染法, 染色效果好, 省时, 快速。在实际应用中, 单籽粒 friabilin 蛋白 SDS-PAGE 分离法可用于分析籽粒硬度类型, 测定种子的均一性, 研究大量混合籽粒的遗传特性, 鉴定软 × 硬或硬 × 软正反交  $F_1$  杂种的基因型差异<sup>[16]</sup>。在小麦杂交育种的早代(如  $F_2$ ) 用几粒种子进行电泳分析, 淘汰不符合育种目标(软或硬)的单株或株行。

### References

- [1] Pomeranz Y, Williams P C. Wheat hardness: Its genetic, structure and biochemical background, measurement and significance. In: *Advances in Cereal Chemistry*. St. Paul, MN, USA, AACC, 1990: 471-548.
- [2] Campbell K G, Bergman C J, Gualberto D G, Anderson J A, Giroux M J, Harelend G, Fulcher R G, Sorrells M E, Finney P L. Quantitative trait loci associated with kernel traits in a soft × hard wheat cross. *Crop Science*, 1999, 39: 184-195.
- [3] Law C N, Young C F, Brown J W S, Snape J W, Worland J W. The study of grain-protein control in wheat using whole-chromosome substitution lines. In: *Seed Protein Improvement by Nuclear Techniques*. International Atomic Energy Agency, Vienna, 1978: 483-502.
- [4] Mattern P J, Morris R, Schmidt J W, Johnson V A. Locations of genes for kernel properties in the wheat variety 'Cheyenne' using chromosome substitution lines. In: Sears E R, Sears L M S. *Proc. Int. Wheat Genet. Symp.* 4th, Columbia, MO, 6-11 Aug. 1973. Columbia: University of Missouri, MO, 1973: 703-707.
- [5] Sourdille P, Perretet M R, Charmet G, Leroy P, Gautier M F, Joudrier P, Nelson J C, Sorrells M E, Bernard M. Linkage between RFLP markers and genes affecting kernel hardness in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 1996, 93: 580-586.

- [ 6 ] Greenwell P , Schofield J D . A starch granule protein associated with endosperm softness in wheat . *Cereal Chemistry* , 1986 , 63 : 379 - 380 .
- [ 7 ] Gautier M F , Alay R , Lullien V , Joudrier P . Nucleotide sequence of a Cdna encoding the wheat ( *Triticum durum* Desf . ) CM2 protein . *Plant Molecular Biology* , 1991 , 16 : 333 - 334 .
- [ 8 ] Lullien V , Alary R , Guirao A , Joudrier , Gautier M F . Isolation and nucleotide sequence of a cDNA clone encoding the bread wheat ( *Triticum aestivum* L . ) CM17 protein . *Plant Molecular Biology* , 1991 , 17 : 1 081 - 1 082 .
- [ 9 ] Blochet J E , Chevalier C , Forest E , Pebay-Peyroula E , Gautier M F , Joudrier P , Pzolet M M , Marion D . Compoete amino acid sequence of puroindoline , a new and cycteine-rich protein with a unique tryptoph-rich domain isolated from wheat endosperm by Triton X-114 phase partitioning . *FEBS Letter* , 1993 , 329 : 336 - 340 .
- [ 10 ] Gautier M F , Aleman M E , Guirao A , Marion D , Joudrier P . *Triticum aestivum* puroindolins , two basic cystine rich seed proteins : cDNA analysis and developmental genes expressin . *Plant Molecular Biology* , 1994 , 25 : 43 - 57 .
- [ 11 ] Jolly C J , Rahman S , Kortt A A , Higgins T J V . Characterization of the wheat Mr 15000 ' grain-softness pritein ' and analysis of the relationship between its accumulation in the whole seed and grain softness . *Theoretical and Applied Genetics* , 1993 , 86 : 589 - 597 .
- [ 12 ] Rahman S , Jolly C J , Skerritt J H , Walloscheck A . Cloning of a wheat 15-kDa grian softness protein ( GSP ) . GSP is a mixture of puroindoline-like polypeptides . *Europe Journal of Biochemistry* , 1994 , 223 : 917 - 925 .
- [ 13 ] Jolly C J , Glenn G M , Rahman S . *Gsp-1* genes are linked to the grain hardness locus ( *Ha* ) on wheat chromosome 5D . *Proceedings of the National Academy of Science USA* , 1996 , 93 : 2 408 - 2 413 .
- [ 14 ] Morrison W R , Greenwell P , Law C N , Sulaiman B D . Occurrence of friabilin , a low molecular weight protein associated with grain softness , on starch granules isolated from some wheats and related species . *Journal of Cereal Science* , 1992 , 15 : 143 - 149 .
- [ 15 ] Giroux M J , Morris C F . A glycine to serine change in puroindoline b is associated with wheat grain hardness and low levels of starch-surface friabilin . *Theoretical and Applied Genetics* , 1997 , 95 : 857 - 864 .
- [ 16 ] Bettge A D , Morris C F , Greenblatt G A . Assessing genotypic softness in single wheat kernels using starch granule-associated friabilin as a biochemical marker . *Euphytica* , 1995 , 86 : 65 - 72 .
- [ 17 ] Greenblatt G A , Bettge A D , Morris C F . The relationship among endosperm texture , friabilin occurrence , and bound pollar lipids on wheat starch . *Cereal Chemistry* , 1995 , 72 : 172 - 176 .
- [ 18 ] 周艳华 , 何中虎 , 阎 俊 , 张 艳 , 王德森 , 周桂英 . 中国小麦硬度分布及遗传分析 . *中国农业科学* , 2002 , 35( 10 ) : 1 177 - 1 185 .  
Zhou Y H , He Z H , Yan J , Zhang Y , Wang D S , Zhou G Y . Distribution of grain hardness in Chinese wheat and genetic analysis . *Scientia Agricultura Sinica* , 2002 , 35( 10 ) ; 1 177 - 1 185 . ( in Chinese )
- [ 19 ] 夏兰芹 , 何中虎 , 陈新民 , 张庆祝 . 小麦硬度主效基因 *Pina* 和 *Pinb* 的克隆和序列分析 . *作物学报* , 2003 , 29( 1 ) : 25 - 30 .  
Xia L Q , He Z H , Chen X M , Zhang Q Z . Clone and sequece analysis of majar gene *Pina* and *Pinb* in wheat . *Acta Agronomica Sinica* , 2003 , 29( 1 ) : 25 - 30 . ( in Chinese )
- [ 20 ] 潘志芬 , 邓光兵 , 王 涛 , 余懋群 . 小麦 waxy 蛋白亚基 1D-SDS-PAGE 分离方法改良 . *应用与环境生物学报* , 2000 , 6( 5 ) : 487 - 489 .  
Pan Z F , Deng G B , Wang T , Yu M Q . An improned 1D-SDS-PAGE method for identification of wheat waxy protein . *China Journal of Applied Environmental Biology* , 2000 , 6( 5 ) : 487 - 489 . ( in Chinese )
- [ 21 ] Giroux M J , Morris C F . Wheat grain hardness results from highly conserved mutations in friabilin components puroindoline a and b . *Proceedings of the National Academy of Science USA* , 1998 , 95 : 6 262 - 6 266 .

( 责任编辑 孙雷心 )