

网络出版日期: 2014-08-06

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.7606/j.issn.1004-1389.2014.08.007.html>

## 西藏小麦品种籽粒硬度遗传多样性

李善富<sup>1,2,3,4</sup>, 李建民<sup>2</sup>, 王雪玲<sup>2</sup>, 魏乐<sup>2</sup>, 李红琴<sup>1</sup>, 刘宝龙<sup>1,3,4</sup>, 张怀刚<sup>1,3,4</sup>

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001; 2. 青海师范大学生命与地理科学学院, 西宁 810001;  
3. 中国科学院高原生物适应与进化重点实验室, 西宁 810001; 4. 青海省作物分子育种重点实验室, 西宁 810001)

**摘要** 籽粒硬度是影响小麦磨粉品质和食品品质的重要因素。利用单粒谷物特性测定仪、PCR扩增和核苷酸测序技术,对121份西藏地方品种进行籽粒硬度性状遗传多样性研究。结果表明:西藏品种籽粒硬度平均值为43.73%,硬度值大于60%的品种有43种,占35.5%;混合麦22个,占18.2%;软质麦56个,比例为46.3%。符合优质饼干硬度特性的品种有42种,达到34.7%。有5种硬度基因组合类型:野生型、*Pina-D1b*、*Pinb-D1b*、*Pinb-D1c*、*Pinb-D1p*。野生型比例最高,占51.22%。*Pinb-D1c*次之,占21.31%,其余依次为*Pinb-D1b*、*Pina-D1b*、*Pinb-D1p*。各种组合类型的SKCS硬度值*Pinb-D1c*>*Pina-D1b*>*Pinb-D1b*>*Pinb-D1p*>野生型。西藏小麦品种籽粒硬度性状遗传多样性的研究将为青藏高原以及其他地区的育种提供种质资源和理论依据。

**关键词** 小麦;籽粒硬度;Puroindoline;遗传多样性;西藏

中图分类号 S512.1

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2014)08-0040-05

## Genetic Variation of Grain Hardness of Wheat Cultivars in Tibet

LI Shanfu<sup>1,2,3,4</sup>, LI Jianmin<sup>2</sup>, WANG Xueling<sup>2</sup>, WEI Le<sup>2</sup>,  
LI Hongqin<sup>1</sup>, LIU Baolong<sup>1,3,4</sup> and ZHANG Huaigang<sup>1,3,4</sup>

(1. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China; 2. College of Biologic and Geographic Sciences, Qinghai Normal University, Xining 810001, China; 3. Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biota, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China;  
4. Qinghai Province Key Laboratory of Crop Molecular Breeding, Xining 810001, China)

**Abstract** Grain hardness was a key factor deciding wheat milling quantity and end-used food quantity. In this study, single kernel characterization system (SKCS), PCR and nucleotide sequencing were employed for lighting genetic diversity of grain hardness of Tibet wheat cultivars. Average hardness index of all cultivars was 43.73%. 43 cultivars had hardness index greater than 60%, accounting for 35.5% of total cultivars; 22 cultivars were mixed wheat, accounting for 18.2%, and 56 cultivars were soft wheat, accounting for 46.3%. 42 cultivars had hardness index less than 30, which means they can be good candidates for biscuit. Five genotypes of puroindoline gene combinations existed in these cultivars. They were wild type, *Pina-D1b*, *Pinb-D1b*, *Pinb-D1c* and *Pinb-D1p*. The proportion of wild type was the highest, and reached 51.22%, *Pinb-D1c* was the second, and reached 21.31%, while *Pinb-D1b*, *Pina-D1b* and *Pinb-D1p* followed. The order of SKCS value of these genotypes was *Pinb-D1c*>*Pina-D1b*>*Pinb-D1b*>*Pinb-D1p*> wild type. These results could provide materials and

收稿日期 2013-09-22 修回日期 2013-12-11

基金项目 青海省高原作物种质资源创新与利用国家重点实验室培育基地开放课题(2011-07);中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-EW-N-02);国家自然科学基金地区基金(31260322)。

第一作者 李善富,男,硕士研究生,研究方向为植物生物技术。E-mail: ddd\_463043656@qq.com

通信作者 李建民,男,教授,硕士生导师,研究方向为植物生物技术。E-mail: beyond\_3862740@163.com

theoretical base for wheat breeding in Tibet and other provinces.

**Key words** Wheat; Grain hardness; Puroindoline; Genetic variation; Tibet

小麦籽粒硬度是国内外小麦市场分级和定价的重要依据。硬度值小的小麦磨制的面粉颗粒度较小,破损淀粉质量分数低,吸水能力较弱,适合于制作饼干和糕点。硬度值大的小麦磨制的面粉颗粒度大,破损淀粉质量分数高,具有较强的吸水能力,适合于制作面包<sup>[1-2]</sup>。小麦的籽粒硬度性状主要由位于小麦 5D 染色体短臂上的 *Puroindoline a* (*Pina*) 和 *Puroindoline b* (*Pinb*) 基因调节<sup>[3]</sup>。*Pina* 和 *Pinb* 基因都处于野生状态时,籽粒表现为软质;当 *Pina* 或 *Pinb* 任一基因缺失或突变时,籽粒表现为硬质;当缺乏 D 组染色体时,籽粒硬度最大,称为杜伦麦<sup>[4-5]</sup>。Greenwell 等<sup>[3]</sup>首先发现了小麦的硬度基因 *pina* 和 *pinb*,并确认 *Pinb* 基因中 223 位点的鸟嘌呤(G)突变为腺嘌呤(A),使得氨基酸序列中第 46 位点的甘氨酸(Glycine, Gly)突变为丝氨酸(Serine, Ser),能导致小麦籽粒变硬,并命名为 *Pinb-D1b*。随后发现 PINA 蛋白缺失的突变类型 *Pina-D1b* 也导致小麦的籽粒变硬<sup>[6]</sup>。至今为止,研究者已经发现了 *Pinb-D1c*、*Pinb-D1e*、*Pinb-D1f* 等不同等位变异不少于 28 个。小麦硬度基因的不同突变类型对小麦籽粒硬度的影响有所差异。如 *Pinb-D1c* 突变类型的硬度值  $> Pina-D1b > Pinb-D1b$ <sup>[3]</sup>。对硬度基因遗传多样性的研究,将有利于利用硬度基因的不同等位变异开展小麦籽粒硬度性状的改良工作。

西藏地区位于中国西南边陲,青藏高原的西南部,平均海拔 4 000 m 以上,南隔喜马拉雅山脉,与印度、尼泊尔、锡金、不丹、缅甸等国接壤。北部和东部与青海、四川、云南等省区为邻。生态环境变化丰富,并能形成较为明显的生殖隔离,孕育了丰富的植物生态类型<sup>[7]</sup>。由于西藏地区地理位置和交通等方面的原因,对西藏地区小麦种质资源的收集和研究较少。在本研究中,从西藏收集到小麦种质资源 121 份,对其进行籽粒硬度性状的遗传多样性研究,以期对小麦的籽粒硬度性状改良提供理论基础和种质资源。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以 121 份西藏地方品种为试验材料。该材料

于 2010 年和 2011 年种植在中科院西北高原生物研究所下红庄生态农业试验站。

### 1.2 试验方法

1.2.1 籽粒硬度的测定 籽粒硬度测定时,小麦籽粒的含水量控制在 11%~13%。利用 Per-ten 4100 型单粒谷物硬度仪 (Single Kernel Characterization System, SKCS) 测定,每个品系测定 300 粒样品,根据仪器显示的测定结果,分别记录籽粒千粒质量 (mg)、直径 (mm)、硬度指数 (HI) 和含水量 (%) 及其标准偏差。样品的籽粒硬度指数、千粒质量、直径和含水量均用 300 粒小麦相关指数的平均值来表示,硬度指数值小于 40 为软质麦,大于 60 为硬质麦,介于二者之间为混合麦<sup>[8]</sup>。

1.2.2 基因组 DNA 的提取 每个品系选取 3 粒种子,充分研磨,将粉末放入灭菌的 1.5 mL Eppendorf 管中,按照陈锋等<sup>[9]</sup>的 CTAB 法提取基因组 DNA。

1.2.3 PCR 反应和琼脂糖凝胶电泳 分别用 *Pina* 基因全长引物和 *Pinb* 基因全长引物对 121 份材料进行 *Pina* 和 *Pinb* 全长扩增。*Pina* 基因全长引物,扩增一个包含有 *Pina* 基因全长、长度为 524 bp 的片段,上游引物 5'-CATCTAT-TCATCTCCACCTGC-3';下游引物 5'-GTGACAGTTTATTAGCTAGTC-3'。*Pinb* 基因全长引物,扩增一个包含有 *Pinb* 基因全长、长度为 597 bp 片段,上游引物 5'-GTGAGCATTAGC-CAAAGC-3';下游引物 5'-CAGATCAATATA-CAAGGGTG-3'。以上所有引物均由北京六合华大基因科技股份有限公司合成。PCR 反应体系与扩增程序、琼脂糖凝胶电泳均按照陈锋等<sup>[9]</sup>的方法进行。

1.2.4 测序鉴定 将上述经琼脂糖凝胶电泳检测到目标条带的 *Pina* 和 *Pinb* 基因的 50  $\mu$ L PCR 扩增产物送样测序, DNA 测序由北京六合华大基因科技股份有限公司完成。

1.2.5 软件分析 用 SPSS 软件对籽粒 SKCS 硬度指数、千粒质量及粒径的平均值、标准差和变幅等基本量进行统计,并用 LSD (Least significant difference) 法进行多样本平均数的差异显著性比较。用 Vector NTI Advance10 软件完成序

列比对和分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 籽粒硬度分布规律

西藏品种籽粒硬度偏低,平均值为 43.73, 变幅为 2.34~79.02。供试材料中硬度值大于 60 的品种有 43 个,占总材料中的 35.5%;混合麦 22 个,占 18.2%;软质麦 56 个,比例为 46.3%。有 42 个品种硬度值低于 30,达到 34.7%(表 1),可以用作优异饼干小麦的种质资源。本研究还发现有 2 个材料的硬度值极低,其籽粒硬度仅为 2.34 和 5.35,分别为 Y1777 和 Y1859。

### 2.2 Puroindoline 基因变异类型的分布

用 *Pina* 和 *Pinb* 的全长引物将 121 个品种中的 *Pina* 和 *Pinb* 基因编码区扩增后,由北京华大基因公司测序。通过 Vector NTI Advance10 软件进行序列比对和分析后发现 121 份西藏小麦品种中,除了野生型外有 4 种突变类型,分别为 *Pina-D1b*、*Pinb-D1b*、*Pinb-D1c* 和 *Pinb-D1p*。*Pina-D1b* 突变类型为基因组中缺失 *Pina* 基因,所以在突变类型序列比较图中未将其标出(图 1)。而 *Pinb-D1b*、*Pinb-D1c*、*Pinb-D1p* 与野生型 *Pinb-D1a* 核苷酸序列之间均只有一个碱基的差异。*Pinb-D1b* 突变类型是 223 位点的鸟嘌呤(G)突变为腺嘌呤(A)<sup>[10]</sup>,*Pinb-D1c* 突变类型是 266 位点的胸

腺嘧啶(T)突变为胞嘧啶(C)<sup>[5]</sup>。*Pinb-D1p* 是 213 位点腺嘌呤核苷酸(A)缺失,发生了移码突变<sup>[11]</sup>(图 1)。121 个小麦品种中,26 份材料为 *Pinb-D1c* 类型,占 21.31%,17 份为 *Pinb-D1b* 类型,占 13.93%,12 份为 *Pina-D1b* 类型,占 9.84%,5 份为 *Pinb-D1p* 类型,占 4.10%,其余 61 份为野生型,占 51.22%(表 2)。出现 *Pina-D1b* 突变类型时,*Pinb* 基因均为野生型。

### 2.3 不同 Puroindoline 基因等位变异类型对籽粒硬度的影响

由表 3 可知,*Pinb-D1c* 类型与 *Pina-D1b* 类型的 SKCS 硬度值分别为 68.80、65.74,显著高于 *Pinb-D1b*、*Pinb-D1p* 及野生型的 56.66、47.53、24.79。类型 *Pinb-D1c* 与类型 *Pina-D1b* 的 SKCS 硬度值之间差异不显著,而 *Pinb-D1b* 和 *Pinb-D1p* 类型之间的 SKCS 硬度值存 5% 的显著差异。千粒质量最高的类型为野生型,为 43.60 g,其次分

表 1 西藏小麦品种籽粒硬度值

Table 1 Hardness index of wheat cultivar in Tibet

级别 Class	硬度指数 Hardness index	品种数 No. of sample	百分比/% Percentage
硬质 Hard	>60	43	35.5
混合 Mixed	40~60	22	18.2
软质 Soft	<40	56	46.3

```

Pinb-D1a (201) CTGGCCACAAAATGGTGGAAAGGCGGCTGTGAGCATGAGGTTCTGGGAGAAGTGCTGCAAGCAGCTGAGC
Pinb-D1b (201) CTGGCCACAAAATGGTGGAAAGGCGGCTGTGAGCATGAGGTTCTGGGAGAAGTGCTGCAAGCAGCTGAGC
Pinb-D1c (201) CTGGCCACAAAATGGTGGAAAGGCGGCTGTGAGCATGAGGTTCTGGGAGAAGTGCTGCAAGCAGCTGAGC
Pinb-D1p (201) CTGGCCACAAAATGGTGGAAAGGCGGCTGTGAGCATGAGGTTCTGGGAGAAGTGCTGCAAGCAGCGGAGC

```

下划线表示核苷酸序列有差异的位点 Underlined sites represented different sites in the nucleotide sequences

图 1 不同 Puroindoline b 变异类型核苷酸序列比对图

Fig. 1 Alignment of nucleotide sequences of Puroindoline b

表 2 Puroindoline 基因突变类型的统计分析

Table 2 The statistical analysis of Puroindoline type

<i>Puroindoline a</i>	<i>Puroindoline b</i>	品种数 No. of sample	比例 Percentage	代表品种 Cultivars
<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	17	13.93%	Y1916, Y1869, Y1908, Y1907, Y1876, Y1-XZW75, Y1891, Y1888
	<i>Pinb-D1c</i>	26	21.31%	Y1895, Y1898, Y1875, Y1883, Y1889, Y1892, Y1878, Y1887
	<i>Pinb-D1b</i>	17	13.93%	Y1916, Y1869, Y1908, Y1907, Y1876, Y1-XZW75, Y1891, Y1888
	<i>Pinb-D1p</i>	5	4.10%	Y1915, Y1912, Y1904, Y1913, Y1829
	<i>Pinb-D1a</i>	61	51.22%	Y1879, Y1886, Y1885, Y1896, Y1903, Y1900, Y1893, Y1884
<i>Pina-D1b</i>		12	9.84%	Y1851, Y1867, Y1901, Y1852, Y1866, Y1917, Y1914, Y1773

别为 *Pinb-D1p*、*Pinb-D1b* 和 *Pinb-D1c*。除野生型和 *Pinb-D1p* 与 *Pinb-D1c* 类型的千粒质量之间差异显著外,其余各种类型的千粒质量之间差异均

未达到显著水平。5 种类型的粒径为 2.91~2.97 mm,差异不显著。

表 3 不同 Puroindoline 变异类型籽粒硬度、千粒质量和粒径比较  
Table 3 The relation between puroindoline genotype and grain character

Puroindoline a	Puroindoline b	样品数 No. of sample	硬度指数 Hardness index			千粒质量/g Thousands grain mass	粒径/mm Grain diameter
			平均值 Average	标准差 Standard deviation	变幅 Range		
<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	17	56.66 b	7.64	43.49~67.92	40.11 ab	2.93
	<i>Pinb-D1c</i>	26	68.80 a	4.43	60.70~79.02	38.41 b	2.91
	<i>Pinb-D1p</i>	5	47.53 c	2.93	44.06~52.12	42.70 a	2.97
	<i>Pinb-D1a</i>	61	24.79 d	10.98	2.34~59.76	43.50 a	2.92
<i>Pina-D1b</i>		12	65.74 ab	6.43	55.76~75.66	41.75 ab	2.97

注:同列不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

Note: Values followed by different letters within a line are significantly different between types( $P < 0.05$ ).

### 3 讨论

西藏品种籽粒硬度平均值为 43.73,属于小麦籽粒硬度值偏低的地区<sup>[12]</sup>。丛花等<sup>[13]</sup>研究的 105 份新疆小麦地方品种平均值为 63.5,而陈锋等<sup>[9]</sup>测得 140 份中国春小麦品种的籽粒平均硬度值为 50。青藏高原春麦区,小麦单产居全国首位,但品质较差,表现为小麦蛋白质质量分数低,面筋的延伸性、粘弹性差,加工的面条、饺子等水煮制品,耐煮性和口感均不好,易断条、糊汤,馒头起发性差,无弹性、粘牙<sup>[14]</sup>。不适合于进行以面包为制作食品的强筋小麦的培育<sup>[15]</sup>,但是需要低蛋白质含量的优质饼干和糕点小麦品种的候选基地,被划分中国弱筋小麦三大亚区之一<sup>[16]</sup>。而优质饼干和糕点小麦另一重要指标是籽粒硬度低于 30 的小麦品种。121 份种质资源中 56 个小麦的籽粒硬度值小于 40,比例达到 46.3%,并且有 42 个材料的硬度值低于 30,还有 2 个籽粒硬度只有 2.34 和 5.35 的材料。西藏小麦发现的这一系列籽粒偏软的种质资源,很可能为该地区的小麦籽粒硬度改良提供良好的支撑,促使该地区真正成为优质饼干小麦的生产基地。

西藏地方品种硬度基因的等位变异中 *Pinb-D1c* 有 26 份,占到所有材料的 21.31%。而 *Pinb-D1b* 只有 17 份。*Pinb-D1c* 要远多于 *Pinb-D1b*。Lillemo 等<sup>[17]</sup>研究认为 *Puroindoline b* 基因变异类型中 *Pinb-D1b* 突变是最为常见的类型。*Pinb-D1b* 也是中国黄淮麦区和春小麦的主要突变类型,分别占到 86.5% 和 51.5%<sup>[18-19]</sup>。*Pinb-D1c* 在

其他的研究报告中是相对较少见到的<sup>[20]</sup>。陈锋等<sup>[18]</sup>对 140 份春小麦仅发现 5 份材料是 *Pinb-D1c*,其中 4 份材料来源于青海。西藏和青海是比邻地区,同属于青藏高原。*Pinb-D1c* 在西藏地方品种中出现的频率非常高,很有可能意味着 *Pinb-D1c* 起源于西藏,或者青藏高原。

西藏地方品种中, *Pinb-D1c* 类型与 *Pina-D1b* 类型的 SKCS 硬度值显著高于 *Pinb-D1b*、*Pinb-D1p* 和野生型,而 *Pinb-D1c* 类型与 *Pina-D1b* 类型 SKCS 硬度值之间差异不显著, *Pinb-D1b* 和 *Pinb-D1p* 类型之间的 SKCS 硬度值也存在 5% 的显著差异,且 *Pinb-D1b* 和 *Pinb-D1p* 类型的 SKCS 硬度值也显著高于野生型,这与前人研究<sup>[21]</sup>的结果一致。

### 4 结论

西藏 121 份地方品种籽粒硬度平均值为 43.73,硬度值大于 60% 的品种有 43 个,占总材料中的 35.5%;混合麦 22 个,占 18.2%;软质麦 56 个,比例为 46.3%。符合优质饼干硬度特性的品种有 42 种,达到 34.7%。有 2 个材料的硬度值极低,其籽粒硬度仅为 2.34 和 5.35,分别为 Y1777 和 Y1859。*Pina* 和 *Pinb* 基因有 5 种等位变异组合类型:野生型、*Pina-D1b*、*Pinb-D1b*、*Pinb-D1c*、*Pinb-D1p*。野生型比例最高,占 51.22%,26 份材料为 *Pinb-D1c* 类型,占 21.31%,17 份为 *Pinb-D1b* 类型,占 13.93%,12 份为 *Pina-D1b* 类型,占 9.84%,5 份为 *Pinb-D1p* 类型,占 4.10%。各种组合类型的 SKCS 硬度值顺序为

*Pinb-D1c*>*Pina-D1b*>*Pinb-D1b*>*Pinb-D1p*>野生型。

#### Reference (参考文献):

- [1] Sourdille P, Perretant M R, Charmet G, *et al.* Linkage between RSLP markers and genes affecting kernel hardness in wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1996, 93(4): 580-586.
- [2] Ohm J B, Chung O K, Deyoe C W. Single-kernel characteristics of hard winter wheats in relation to milling and baking quality [J]. *Cereal Chemistry*, 1998, 75(1): 156-161.
- [3] Greenwell P, Schofield J D. A Starch Granule Protein Associated with Endosperm Softness in Wheat [J]. *Cereal Chemistry*, 1986, 63(4): 379-380.
- [4] GUO Shihua(郭世华), HE Zhonghu(何中虎), MA Qing(马庆), *et al.* Wheat Grain Hardness Review[J]. *Journal of Triticeae Crops(麦类作物学报)*, 2005, 25(2): 107-111 (in Chinese with English abstract).
- [5] Morris C F. Puroindolines: the molecular genetic basis of wheat grain hardness [J]. *Plant Molecular Biology*, 2002, 48(5): 633-647.
- [6] Giroux M J, Morris C F. Wheat grain hardness results from highly conserved mutations in the friabilin components puroindoline a and b [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95(11): 6262-6266.
- [7] WU Yuhu(吴玉虎). A Floristic Study of Flora of Seed Plants of the Chaqia-Gonghe Basin and Its Contiguous Zone in Qinghai, China[J]. *Acta Botanica Yunnanica(云南植物研究)*, 2007, 29(3): 265-276 (in Chinese with English abstract).
- [8] Gaines C S, Finney P F, Fleege L M, *et al.* Predicting a hardness measurement using the single-kernel characterization system [J]. *Cereal Chemistry*, 1996, 73(2): 278-283.
- [9] CHEN Feng(陈锋), HE Zhonghu(何中虎), XIA Xianchun(夏先春). Detection of Allelic Variation for Grain Hardness in CIMMYT Common Wheats [J]. *Acta Agronomica Sinica(作物学报)*, 2005, 31(10): 1277-1283 (in Chinese with English abstract).
- [10] Jolly C J, Glenn G M, Rahman S. GSP-1 genes are linked to the grain hardness locus (H alpha) on wheat chromosome 5D [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1996, 93(6): 2408-2413.
- [11] Chang C, Zhang H P, Xu J, *et al.* Identification of allelic variations of puroindoline genes controlling grain hardness in wheat using a modified denaturing PAGE [J]. *Euphytica*, 2006, 152(2): 225-234.
- [12] XIANG Jishan(相吉山), MU Peiyuan(穆培源), SANG Wei(桑伟), *et al.* Analysis and Evaluation of the Grain Traits and Milling Qualities of Xinjiang Wheat Variety Resources [J]. *Xinjiang Agricultural Sciences(新疆农业科学)*, 2013, 50(6): 1032-1039 (in Chinese with English abstract).
- [13] CONG Hua(丛花), WANG Hongfei(王宏飞), ZHANG Yanfeng(章艳凤), *et al.* Identification of the Allelic Variation of Puroindoline Alleles in Xinjiang Wheat Landraces [J]. *Xinjiang Agricultural Sciences(新疆农业科学)*, 2011, 48(6): 1056-1063 (in Chinese with English abstract).
- [14] ZHANG Huaigang(张怀刚), Lukow O M, Czarnecki E. Comparative Study of Spring Wheat Cultivars in Canada and China [J]. *Biological Plateau Sinica(高原生物学集刊)*, 1992(11): 151-162 (in Chinese with English abstract).
- [15] ZHANG Qijun(张岐军). Cookie Quality Evaluation of Soft Wheat Cultivars [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences(中国农业科学院), 2004 (in Chinese with English abstract).
- [16] HE Zhonghu(何中虎), LIN Zuoji(林作楫), WANG Longjun(王龙俊), *et al.* Classification on Chinese Wheat Regions Based on Quality[J]. *Scientia Agricultura Sinica(中国农业科学)*, 2002, 35(4): 359-364 (in Chinese with English abstract).
- [17] Lillemo M, Morris C F. A leucine to proline mutation in puroindoline b is frequently present in hard wheats from Northern Europe [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100(7): 1100-1107.
- [18] CHEN Feng(陈锋), HE Zhonghu(何中虎), CHEN Dongsheng(陈东升), *et al.* Allelic Variation of Puroindoline Genes in Chinese Spring Wheats [J]. *Scientia Agricultura Sinica(中国农业科学)*, 2007, 40(2): 217-224 (in Chinese with English abstract).
- [19] ZHANG Fuyan(张福彦), CHEN Feng(陈锋), DONG Zhongdong(董中东), *et al.* Molecular Identification of Hardness-related Genes of Bread Wheat New Lines in Huanghuai Wheat Region and Their Influence on Yield Characters[J]. *Scientia Agricultura Sinica(中国农业科学)*, 2011, 44(16): 3289-3296 (in Chinese with English abstract).
- [20] Xia L Q, Chen F, He Z H, *et al.* Occurrence of puroindoline alleles in Chinese winter wheats [J]. *Cereal Chemistry*, 2005, 82(1): 38-43.
- [21] CHEN Feng(陈锋). Molecular Characterization of Puroindoline Alleles in Chinese and CIMMYT Common Wheats and Their Effect on Processing Quality [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences(中国农业科学院), 2006 (in Chinese with English abstract).