

生物技术在小麦品质改良上的应用

兰 静

(黑龙江省农业科学院农产品质量检验中心, 哈尔滨 150086)

摘要: 小麦是世界上最主要的粮食作物之一。品质改良是小麦育种的重要目标。概述了体细胞无性系变异、转基因、分子标记与分子标记辅助选择在小麦品质改良上的研究进展, 并对存在问题和 directions 进行了讨论。
关键词: 小麦品质改良; 体细胞无性系变异; 转基因; 分子标记与辅助选择
中图分类号: S512.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-2767(2008)05-0007-05

Application of Bio-technique in the Improvement of Wheat Quality Traits

LAN Jing

(Center of Agricultural Products Testing of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086)

Abstract: Wheat is one the most important crops in the world. Wheat qualitative traits are important breeding objective. This paper reviewed research status of somaclonal variation, transgenic, molecular markers and marker assisted selection on wheat qualitative traits. Problem in current research and developmental direction also were discussed.
Key words: improvement of wheat quality traits; somaclonal variation; transgenic; molecular marker; marker assisted selection (MAS)

小麦是世界上重要的粮食作物,也是人们重要的植物蛋白质来源。小麦生产在满足人们的膳食需求和保证粮食安全上具有重要作用。高产、优质、抗病是小麦育种的主要目标。国外在很早以前已经把小麦的品质改良列为重要的育种目标,并取得了重大成就。我国小麦品质育种起步较晚,在 20 世纪 80 年代以前,为解决粮食匮乏问题,始终把产量作为最主要的育种目标,直到 90 年代初随着经济的发展和人们生活水平的提高,对小麦品质的要求也愈来愈高,在市场的拉动下,小麦品质改良被列为重要育种目标。尽管近 20 年来我国在小麦品质育种上已取得了许多重要成果,但与市场需求并和国外品种相比仍有很大差距,小麦品质改良任重而道远。

在小麦品质改良上主要采取的方法仍然是杂交育种,但杂交育种周期长,效率低,经多次回交转育很难在短时期内选出优质又高产的新品种。随着生物技术的不断完善,尤其是分子生物学和基因组学

研究的迅速发展,为小麦品质改良开辟了一条崭新的途径。国内外在这方面已开展了大量研究,并取得了重大进展,生物技术在改良小麦外观品质、加工品质和营养品质等方面已显示出了巨大潜力。

1 体细胞无性系变异在小麦品质改良上的应用

20 世纪 80 年代初, Larkin 和 Scowcroft^[1] 首次提出“体细胞无性系”一词来表述由体细胞分化形成的再生植株(系),并把再生植株出现的变异称为体细胞无性系变异(Somaclonal variation)。小麦的幼穗、穗胚、成熟胚、胚轴和叶片等外植体在组织培养中经脱分化和再分化过程形成的再生植株会出现各种变异,其中包括大量品质性状变异,这就为小麦品质改良提供了广阔的选择空间。

小麦籽粒蛋白质含量是衡量小麦品质的主要指标之一,它不仅关系到小麦的营养品质,而且关系到小麦的加工品质。胡尚莲等^[2]和 Ryan 等^[3]的研究表明,小麦体细胞无性系籽粒的蛋白质含量出现较大变异,获得了蛋白质含量明显高于亲本的无性系。朱至清等的研究认为,无性系后代不仅蛋白质含量发生变化,而且氨基酸含量也发生了变化。王培

收稿日期: 2008-06-17
作者简介: 兰静(1968-),女,哈尔滨人,硕士,副研究员,主要从事小麦及制品品质研究。 Tel: 0451-86617248, 15004681709; E-mail: lanjing1968@163.com.

等^[5]在不同外植体的组织培养中发现了许多蛋白质含量上的变异,而这些变异多出现在早代,同时从单倍体的幼穗无性系中获得了 5 个高蛋白冬麦新品系。刘锦红等^[6]的研究表明,小麦体细胞无性系后代的籽粒蛋白质含量与亲本明显不同,蛋白质含量超过亲本的株系占分析株系的 40% 以上,有的株系蛋白质含量超过 16%,而且高蛋白特性能稳定遗传。刘景松等^[7]从中筋小麦纯系克 87-187 的无性系后代中选出了优质小麦新品系龙辐 91B569,该品系蛋白质含量 16.25%,湿面筋含量 38.2%,沉降值 68.1 mL,稳定时间 8.0 min,各项品质指标超过了亲本克 87-187。1995 年龙辐 91B569 曾评为全国优质面包麦,并获得了全国农博会银奖,1998 年被审定命名为龙辐麦 10 号。王培等^[8]和张怀刚等^[9]也分别从小麦体细胞无性系后代中选出了高蛋白和高沉降值的突变系。

在小麦体细胞无性系变异中还出现了许多籽粒外观形态上的变异。陆维忠等^[10]对 87 个杨麦 8 号第 3 代无性系后代的籽粒性状进行了考察,结果发现,其中 13 个株系的籽粒性状发生了变异,角质率、粒型、饱满度等的变异占 16.6%。在重点考察的 12 个株系中,有 6 个株系的籽粒为角质,有 5 个株系的籽粒为半角质,而亲本籽粒则为粉质。

2 基因遗传转化在小麦品质改良上的应用

小麦高分子量麦谷蛋白亚基(HMW-GS)的类型和数量直接关系到面筋的弹性和强度,从而影响面粉的烘烤品质。编码小麦高分子量麦谷蛋白亚基的 1Dx5、1Dy10 和 1Ax1 基因是决定小麦加工品质的主效基因^[11-13]。许多研究者利用基因枪法、农杆菌转化法和花粉管通道法将编码高分子量麦谷蛋白优质亚基的基因导入小麦,获得了转基因系,成功地改善了小麦品质。Barro 等^[11]利用基因枪法将 P^{AHC25} 和 P^{HMW} 1Ax1 转化到小麦 L88-31 上,获得 1Ax1 基因超表达的转基因品系 B102-1-2。Altpe-ter 等^[14]也利用基因枪法将编码 HMW-GS 的 1Ax1 基因转化到春小麦, Bobwhite 的幼胚中,经筛选有 9 个株系 1Ax1 基因得到表达。在不同株系中 1Ax1 编码的蛋白质占总蛋白含量的 0.6% ~ 2.3%,从而使总 MMW 麦谷蛋白增加 70%。Blechl 和 Anderson^[15]利用天然 HMW-GS 启动子,获得转基因小麦株系,测定表明,导入 HMW-GS 基因后,显著提高 HMW-GS 的累积量。Alvarez 等^[16]对获得的 1Ax1 和 1Dx5 转基因系进行了揉混仪和 SDS 沉降值测定,从中选出了一个 1Dx5 超量表达、和面时间延长 2 倍、面团强度显著改善的株系。Popineau^[17]利用 2 个近等基因系研究了转

1Ax1 和 1Dx5 基因的效果,转化株系的转基因过量表达占 MNW-GS 的 50% ~ 70%。由于 1Ax1 和 1Dx5 的过量表达,改变了麦谷蛋白的聚合性,形成了很强的面筋。Rooke 等^[18]发现转基因株系 1Dx5 基因过量表达,使其转基因株系的面团强度急剧增加。He 等^[19]将 HMW-GS 基因导入硬粒小麦,得到了 3 个转基因株系,品质分析表明面团弹性和稳定时间都有所增加。Vasil 等^[20]对获得的 HMW-GS 1Ax1 转基因小麦进行了系统的品质测试,结果表明,转基因小麦的和面时间、面包体积和吸水量等指标都有所改善。HMW-GS 1Ax1 的整合与表达使小麦胚乳中出现了 6 个 HMW-GS 亚基,既没有引起任何基因沉默,也没有对产量、蛋白质组成及面粉质量产生显著影响。陈梁鸿等^[21]以小麦幼穗和幼胚为转化受体,用草甘膦 EPSPS 基因作为选择标记,利用基因枪法将编码 HMW-GS 的 1Dx5 和 1Dy10 基因导入小麦,获得转基因再生株。张晓东等^[22]利用编码除草剂 PPT 抗性的 *bar* 基因为选择标记,构建了含有优质 HMW-GS 5+10 基因的表达载体,用基因枪法导入京花 1 号、京 411 和京冬 6 号的幼胚和胚穗,获得了转基因的后代株系,并研究了基因的遗传稳定性,进行了品质分析。研究表明,有 5 个株系的 Zeleny 沉降值为 44.2 ~ 49.0 mL,比受体提高 59.6% ~ 64.3%。T₅ 代株系的稳定时间大幅度延长(3 ~ 7 min),转基因株系 TG5-23b 的稳定时间为 16 min, TG1-28d、TG3-76b、TG5-98 和 TG5-99 的稳定时间高达 30 min 以上。

王广金等^[23]利用花粉管通道法将编码优质 HMW-GS 5+10 的基因导入小麦,获得了品质较受体显著改善的转基因系。梁静静等^[24]以豫麦 18 和豫麦 21 的幼胚为受体,利用基因枪法将重组质粒 P^{CAM BA 1301-sbu5+10} 导入小麦,分别获得了 18 株和 20 株再生植株,经 PCR 检测分别有 7 株和 10 株同时扩增到了 1Dx5 和 1Dy10 基因片段,表明优质亚基基因已整合到受体小麦中。施农农等^[25]利用基因枪法,将优质 HMW-GS 基因 1Ax1、1Dx5+1Dy10 导入鄂恩 1 号、鄂恩 11 和鄂恩 12 等 3 个小麦品种,获得了转基因株系,导入的外源优质亚基基因在籽粒胚乳中得到特异性表达。陈军营等^[26]利用农杆菌转化法,将编码 HMW-GS 5+10 基因转化到豫麦 18 的幼胚愈伤组织,获得的再生株中有 2 株的基因组中含有 5 亚基基因,其中 1 株的基因组中还含有 10 亚基基因。

孟超敏等^[27]构建了高赖氨酸含量基因(*wblrp*)和赖氨酸合成关键酶(*dapA*)基因的植物载体 P^{BPC102},利用基因枪将其导入京花 1 号、京 411、优 889 和烟农 15 等品种的幼穗和幼胚,获得了 100 多

株植株(T₀)和后代株系(T₁—T₂),经 PCR 和 PCR-Southern 杂交检测表明,外源基因已稳定整合转化到受体的基因组中。用 RNA 分子杂交法对高赖氨酸基因的表达和调控水平进行的研究表明,外源基因在 T₂代不同株系中都得到表达。同时对转基因后代植株叶片游离赖氨酸(Lys)和种子结合态赖氨酸(Lys)含量进行了测定,结果表明,有 9 个转基因株系叶片的游离赖氨酸含量提高 2~3 倍,小麦的营养品质得到了显著改善。

苏明杰等^[28]利用离子束介导外源 DNA 转化法将大豆的全 DNA 导入豫麦 52 和兰考 906 等小麦,利用近红外蛋白分析仪对转化株籽粒进行的分析表明,转化后代植株籽粒蛋白质含有不同程度的提高,最高达到 18.38%;同时籽粒容重和湿面筋含量也明显提高。马华平等^[29]利用离子束介导外源 DNA 转化法将大豆的全长 DNA 和 DNA 片段导入豫麦 69-155 小麦,第一代(M₁)获得蛋白质含量 18%以上的单株 183 个,第二代(M₂)获得蛋白质含量 18%以上的单株 33 个,第三代(M₃)获得蛋白质含量超过 18%以上的单株 35 个。转化后代的部分单株和株系籽粒变为角质(受体籽粒为粉质),容重也相应提高,这些优良性状还可稳定遗传。

3 分子标记及其辅助选择(MAS)在小麦品质改良上的应用

分子标记是建立在 DNA 基础上的一种遗传标记,它与其它标记相比具有不受环境影响,在作物的任何发育阶段及其用任何器官材料都可进行检测的优点,同时还具有标记数目多、种类广、多态性强等特点,已逐渐成为遗传物质检测、分子标记辅助选择育种与分子设计聚合育种的必要手段。在小麦品质改良上应用较为广泛的是 RAPD、RFLP、AFLP、SSR、SCAR 和 STS 等分子标记技术。小麦的品质特性多为数量性状,一般用 QTL(quantitative trait loci,数量性状位点)标记。QTL 的遗传定位分析可检测分子标记与 QTL 的连锁关系,并可估计 QTL 的表型效应。

小麦 *HMW-GS* 基因位于小麦第一同源染色体长臂上,对面团弹性、湿面筋含量、沉降值等具有重要作用。随着麦谷蛋白质分子标记研究的深入,已获得了许多 *HMW-GS* 基因的分子标记。Smith 等^[30]设计了一对引物可有效区分 1Dx5 和 1Dx2 亚基。O' Dvidio 等^[31]设计了一个 *HMW-GS* 1Dx5 的特异引物可以区分 *HMW-GS* 1Dx2、1Dx3、1Dx4、1Dx2.2 和 1Dx2.2*,并被用于小麦的早代选择。De Bustos 等^[31-32]根据 7 个 *HMW-GS* 基因编码区序列,设计了 6 个 *HMW-GS* 特异引物,能分别检测出 *HMW-GS* 基因 1Ax1、1Ax2*,1Ax Null、1Dx5、

1Dy10、1Dx2 和 1Dy12,并在品质育种上得到应用。

小麦低分子量麦谷蛋白亚基(LMW-GS)是由位于第一同源群短臂上的 *Glu-A3*、*Glu-B3* 和 *Glu-D3* 基因编码的,它与 *HMW-GS* 一起构建成麦谷蛋白基本框架,对小麦品质同样具有重要作用。小麦醇溶蛋白是由位于第六同源群短臂上的 *Gli-1*、*Gli-2*、*Gli-3* 基因编码的,它和麦谷蛋白构成了小麦蛋白主体,对小麦面团也有重要影响。Zhang 等^[33]通过研究 i-型 *HMW-GS* 的基因序列获得了一个 *Glu-A3* 位点的分子标记,该标记能很好地区分 *Glu-B3*、*Glu-D3* 位点。另外,Zhang 等^[34]还获得了一个 γ -醇溶蛋白的分子标记。张宏纪等^[35]在研究航天诱变育成小麦品种龙辐麦 18 的品质特性时,获得了一个与面团优良品质相关的 *LMW-GS* 基因的 SSR 标记。

籽粒的蛋白质含量是小麦主要的品质性状之一。Prasad 等^[35]利用 STMS 标记在染色体 2DL 上定位了一个籽粒高蛋白 QTL 位点,与标记 *Xwmc41* 紧密连锁,该 QTL 可解释亲本间蛋白质含量差异的 18.73%。其后在多种环境条件验证了 2DL 上的主效 QTL,发现了一个比 *Xwmc41* 标记更紧密连锁的 *Xgwm1264* 标记,同时获得了另外 4 个较为稳定的 QTL 已被用于辅助选择育种^[36]。

籽粒硬度决定小麦的商业价值,是小麦重要的品质分类指标之一。籽粒质地是由位于 5DS 上的 *Ha* 位点控制,脂结合蛋白 *PINA* 和 *PINB* 决定硬度差异,由与 *Ha* 位点紧密连锁的 *Pina-D1* 和 *Pinb-D1* 基因编码,任何一个基因的变化都会影响小麦籽粒质地的变化^[37-39]。Zgrejas 等^[40]对硬度、*PINA* 和 *PINB* 进行了 QTL 定位,发现硬度与 *PINA* 和 *PINB* 含量在年度间有差异。三个性状在 5DS 和 5DL 上定位了两个主效 QTL,5DS 上的 QTL 效应值较大,能分别解释硬度、*PINA*、*PINB* 的 63%~77%、72%~77%和 25%~45%的表型变异。Campbell 等^[41]和 perretant 等^[42]确定了控制籽粒硬度的微效基因及其标记,为硬度的辅助选择提供了依据。Parker 等^[43]对出粉率进行了 QTL 定位,找到了分别位于 3A、5A 和 5D 上的 3 个 QTL,各占出粉率变异的 22%、19%和 19%。

小麦籽粒的淀粉含量占胚乳的 70%左右,对小麦品质尤其是蒸煮品质有重要影响。小麦直链淀粉合成酶(GBSS)又称为糯蛋白,它是由位于 7AL、7DS 和 4AL 的 *Wx-A1*、*WxD1* 和 *WxB1* 三个基因编码的^[44-45]。缺少 1 个或几个 GBSS 蛋白的突变称为糯性突变体,单个或多个基因的突变影响小麦淀粉中直链淀粉的含量,进而影响小麦品质。针对不同的糯蛋白基因开发了多种基于 PCR 技术的分子

标记,并被用于糯性小麦的分子标记辅助选择^[46]。梁荣奇等^[47]利用“中国春”及其缺体—四体对 *WxB1* 基因进行了 STS 标记,采用该 STS 标记和其它方法结合,从江苏火麦×关东 107 的 F₂分离群体中选出了 8 个 *Wx* 基因型。同时利用 *WxB1* 基因的 STS 标记和显微镜检测,经 3 代转育获得了含 *Wx-B1b* 接近京 411 的 4A 单体代换系,为优质面条专用小麦的选育提供了种质材料。另外,梁荣奇等^[48]还建立了细胞和个体水平、蛋白质水平和 DNA 水平等三个水平相结合的糯性小麦辅助选择体系。利用花粉和籽粒染色、*Wx* 蛋白电泳、*Wx* 基因的 STS 和 SSR 标记选出了一批糯性小麦株系。

4 展望

植物体细胞无性系变异是一种普遍存在的变异现象。研究涉及的作物种类十分广泛,产生的变异种类繁多,其中包括农艺性状、品质、抗性、生理生化特性、染色体数目和结构以及基因突变等。这些变异为种质创新和新品种选育提供了广阔的选择空间。体细胞无性系变异具有变异类型多、稳定快、育种周期短等特点,在包括品质育种在内的小麦品种改良上有很大的发展潜力和广阔的应用前景。随着组织培养技术的进一步完善、组培技术和其它诱变技术的完美结合,蛋白质分子和 DNA 分子检测技术的广泛应用,小麦体细胞无性系变异必将在小麦品质改良上发挥出更大作用。目前小麦体细胞无性系变异育种中存在的主要问题是组织培养的基因型障碍,使得许多农艺性状优异而需品质改良的试材,因在组培过程中得不到大量再生植株而影响了育种成效。因此深入研究基因型障碍的遗传性质、相关基因的调控机制以及与外界条件的关系,找出打破组培基因型障碍的措施,优化组培体系,开展组培苗的规模化生产是提高小麦体细胞无性系变异育种效果的重要课题。

近几年来,小麦转基因研究已取得长足进展,以基因枪法为代表的转基因体系已基本建立,农杆菌介导法基因转化获得突破,花粉管通道转基因取得实际效果,小麦转基因研究已经由体系建立和优化向品种改良发展,随着转基因技术的进一步完善和功能基因组学研究的深入以及优异基因的克隆,基因转化将在小麦品种改良中发挥更大作用。但从目前来看,在遗传转化中有转基因整合的不确定性,并经常存在转基因植株中转基因的沉默现象,转化个体也会出现目的性状以外的变异,同时遗传转化率也比较低,这些问题都需要深入研究解决。

随着小麦结构和功能基因组学的迅速发展,已构建了多种标记的高密度分子连锁图谱,为分子标记辅助选择奠定了坚实的基础。小麦主要特性遗传

模型的建立和生物统计软件的开发,使分子标记逐步由数量性状转向质量性状,包括品质性状在内的重要农艺性状 QTL 的深入研究,促进了 MAS 在育种实践中的应用。品质性状的 MAS 在国内外刚刚起步,但由于具有快速、样品广泛、用量小、适于早代选择等特点,应用前景广阔。目前小麦许多性状的标记多限于 RFLP、SSR、RAPD、AFLP 等,基本属于多态扩增的分子标记,这对目的基因检测增加了一定困难,另外 QTL 标记的鉴定工作量大,筛选成本高,这些问题都需进一步研究解决。

参考文献:

[1] Larkin S, Scowcraft. Somaclonal variation a novel source of variability for cell cultures for plant improvement [J]. TAG, 1981, 60: 197-214.

[2] 胡尚莲, 曾寒冰. 小麦单细胞培养的研究——再生植株后代主要农艺性状变异及遗传稳定性[J]. 东北农业大学学报, 1996, 27(1): 1-8.

[3] Ryan. Somaclonal variation in some agrinomic and quality characters in wheat [J]. TAG, 1987, 74: 77-84.

[4] 朱至清, 桑建利, 王历秀, 等. 体细胞无性系变异培育高蛋白种质[J]. 植物学报, 1992, 34(12): 912-918.

[5] 王培, 朱至清. 冬小麦体细胞无性系种子蛋白质含量的遗传 [J]. 华北农学报, 1995, 10(3): 6-9.

[6] 刘锦红, 胡尚莲, 曾寒冰. 体细胞无性系变异改良小麦品质的研究——第 7 和第 8 代系籽粒蛋白质和面筋含量分析[J]. 东北农业大学学报, 1997, 28(4): 334-339.

[7] 刘景松, 宋天君, 孙岩, 等. 小麦体细胞无性系 91B569 的变异分析[J]. 黑龙江农业科学, 2006(5): 17-19.

[8] 王培, 范光年, 方仁, 等. 幼穗无性系变异在育种上的应用[J]. 作物学报, 1992, 18(5): 391-396.

[9] 张怀刚, 陈集贤, 胡含. 小麦体细胞无性系变异 SDS 沉降值的变异[J]. 西北农学报, 1998, 7(2): 1-5.

[10] 陆维忠, 姚金宝. 体细胞无性系变异与小麦赤霉病抗性改良 [M] //陆维忠, 郑企成. 植物细胞工程与分子育种技术研究. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2003: 39-47.

[11] Barro F, Rooke L, Bekes F. Transformation of wheat with high molecular weight subunit genes results in improved functional properties [J]. Nature Biotechnology, 1997, 15: 1295-1299.

[12] Halford N G, Fried J M, Blair H, et al. Analysis of HMW glutenin subunits encoded by chromosome 1 of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) indicates quantitative effects on grain quality [J]. Theor Appl. Genet, 1992, 83: 373-378.

[13] Payne P L, Nightingale M A, Krattinger A F, et al. The relationship between HMW gluten subunit composition and the bread making quality of British grown wheat varieties [J]. J Sci Food Agric 1987, 40: 51-56.

[14] Altpeter F, Vasil V, Srivastava V, et al. integration and expression of the high-molecular-weight glutenin subunit 1Ax1 gene into wheat [J]. Nat Biotechnol. 1996, 14(9): 1155-1159.

[15] Blechl A E, Anderson O D. Expression of a novel high-molecular-weight glutenin subunit gene in transgenic wheat [J]. Nature Biotechnol. 1996, 14: 875-879.

[16] Alvarez M L, Gomez M, Carrillo T M, et al. Analysis of daugh

- functionality of flours from transgenic wheat [J]. Molecular Breeding, 2001, 8(1): 103-108.
- [17] Popineau Y, Deshayes G, Lefehvre J, et al. Prolamin aggregation, gluten viscoelasticity, and mixing properties of transgenic wheat lines expressing 1Ax and 1Dx high molecular weight glutenin subunit transgenes [J]. Journal of Agricultural and Food chemistry, 2001, 49(1): 395-401.
- [18] Rooke L, Bekes F, Fido R, et al. Overexpression of a gluten protein in transgenic wheat results in greatly increased dough strength [J]. Journal of Cereal Science, 1999, 30: 115-120.
- [19] He G Y, Rooke L, Steete S, et al. Transformation of pasta wheat (*Triticum turgidum* L. Var *durum*) with high-molecular-weight glutenin subunit genes and modification of dough functionality [J]. Molecular Breeding, 1999, 5: 377-386.
- [20] Vasil Z K, Bean S, Zhao J M, et al. Evaluation of baking properties and gluten protein composition of field grown transgenic wheat lines expressing high molecular weight glutenin gene 1Ax 1 [J]. J. plant physiol, 2001, 158: 521-528.
- [21] 陈梁鸿, 王新望, 张晓东, 等. 小麦编码高分子量谷蛋白亚基基因转化 [J]. 作物学报, 1999, 25(4): 437-440.
- [22] 张晓东, 梁荣奇, 陈绪清, 等. 优质 HMW-GS 谷蛋白亚基转基因小麦的获得及其遗传稳定性和品质性状分析 [J]. 科学通报, 2003, 48(5): 474-479.
- [23] 王广金, 李忠杰, 张晓东, 等. 利用花粉管通道法将编码优质 HMW-GS 基因导入小麦进行品质改良的研究 [J]. 黑龙江农业科学, 2002(6): 1-3.
- [24] 梁静静, 吕德彬, 陈军营, 等. 小麦 5+ 10 亚基基因转化研究 [J]. 麦类作物学报, 2004, 24(3): 5-8.
- [25] 施农农, 何光源, 李克秀, 等. 基因枪法获得优质亚基基因表达的转基因小麦 [J]. 中国农业科学, 2005, 38(5): 874-881.
- [26] 陈军营, 义付善, 程西永, 等. 农杆菌介导小麦 HMW-GS(5+10) 基因转化研究 [J]. 河南农业大学学报, 2006, 40(5): 459-463.
- [27] 孟超敏, 陈绪清, 梁奇荣, 等. 高赖氨酸含量基因在转基因小麦的表达及其赖氨酸含量分析 [J]. 科学通报, 2004, 49(7): 1731-1735.
- [28] 苏明玉, 王雪表, 张艳锋, 等. 转大豆 DNA 获得小麦高蛋白材料及品质分析 [J]. 郑州大学学报 (理学版), 2002, 34(3): 46-49.
- [29] 马华平, 赵宗武, 蒋忠凯, 等. 离子束介导转大豆 DNA 小麦后代品质和农艺性状分析 [J]. 河南农业科学, 2003(7): 4-6.
- [30] Smith H A, Bariana H S, Ogonnaya F C, et al. Implementation of markers in Australian wheat breeding [J]. Australian Journal of Agricultural Research, 2001, 52: 1349-1356.
- [31] De Bustos A, Rubio P, Soler C, et al. Marker-assisted selection to improve HMW-GS-glutenins in wheat [J]. Euphytica, 2001, 119: 69-73.
- [32] De bustos A, rubio P, Jouve N. Molecular characterization of the inactive allele of gen Glu-A1 and the development of a set of AS-PCK markers for HMW glutenin of wheat [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 100: 1085-1094.
- [33] Zhang W, Gianibelli M C, Rampling L, et al. characterization and marker development for low molecular weight glutenin genes from Glu-A3 alleles of bread wheat [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 108: 1409-1419.
- [34] Zhang W, Gianibelli M C, Ma W, et al. Identification of SNPs and development allele-specific PCR markers for gliadin alleles in *Triticum aestivum* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 107: 130-138.
- [35] Prasad M, Varshney R K, Kumar A, et al. A microsatellite marker-associated with a QTL for grain protein content on chromosome 6A of bread wheat [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1999, 99: 341-345.
- [36] Prasad M, Kumar N, Kulwal P L, et al. QTL analysis for grain protein content using SSR markers and validation studies using NILs in bread wheat [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 106(4): 659-667.
- [37] Girout M J, Morris C F. A glycine to serine change in pyroindoline b is associated with wheat grain hardness and low levels of starch surface friabilin [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1997, 95: 857-864.
- [38] Morris G F. Puroindolines: the molecular genetic basis of wheat grain hardness [J]. plant molecular Biology, 2002, 48: 633-647.
- [39] Morris G F, Lillemo M, Somerville M C, et al. prevalence of puroindolines grain hardness genotypes among historically significant north American spring and winter wheats [J]. Crop Science, 2001, 41: 218-228.
- [40] Igrejas G, Leroy P, Charmet G, et al. Mapping QTLs for grain hardness and puroindoline content in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2002, 106(1): 19-27.
- [41] Campbell K G, Bergman C J, Gualberto D G, et al. Quantitative traits loci associated with kernel traits in a soft and times hard wheat cross [J]. Crop Science, 1999, 95: 622-628.
- [42] Perretant M R, Cadalen T, Charmet G, et al. QTL analysis of bread making quality in wheat using a doubled haploid population [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 100: 1167-1173.
- [43] Parker G D, Chalmers K J, Rathjen A J, et al. Mapping loci associated with milling yield in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Molecular Breeding, 1999, 5: 561-568.
- [44] Ainsworth C C, Clark J R, Bolsdon J. Expression, organization and structure of the genes encoding the waxy protein (granule-bound starch synthase) in wheat [J]. Plant Molecular Biology, 1993, 22: 67-82.
- [45] Chao S, Sharp P J, Worland, et al. RFLP-based genetic maps of wheat homeologous group T chromosomes [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1989, 78: 495-504.
- [46] Nakamura T, Vrinten P, Sato M, et al. Rapid Classification of partial waxy wheats using PCK-based markers [J]. Genome, 2002, 45(6): 1150-1156.
- [47] 梁荣奇, 张义荣, 唐晓晖, 等. 利用 *Wx* 基因分子标记辅助选择培养面条专用优质小麦 [J]. 农业生物技术学报, 2001, 9(13): 269-273.
- [48] 梁荣奇, 张义荣, 姚大年, 等. 小麦淀粉品质改良的综合标记辅助选择体系的建立 [J]. 中国农业大学学报, 2002, 35(33): 245-249.