

崔燕娇, 刘 丹, 赵子龙, 等. 谷子单籽粒醇溶蛋白提取方法的建立及其在杂交种纯度鉴定中的应用[J]. 江苏农业学报, 2022, 38( 4 ): 1149-1152.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2022.04.035

# 谷子单籽粒醇溶蛋白提取方法的建立及其在杂交种纯度鉴定中的应用

崔燕娇<sup>1</sup>, 刘 丹<sup>2</sup>, 赵子龙<sup>1</sup>, 李素英<sup>1</sup>, 张 静<sup>1</sup>, 刘正理<sup>1</sup>

(1. 唐山师范学院生命科学系, 河北 唐山 063000; 2. 天津市农业科学院农作物研究所, 天津市农作物遗传育种重点实验室, 天津 300384)

**关键词:** 谷子; 杂交种纯度鉴定; 醇溶蛋白; 单粒种子; A-PAGE

**中图分类号:** S515.01 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2022)04-1149-04

## A method for prolamins extraction from single grain of foxtail millet and its application in purity identification of hybrids

CUI Yan-jiao<sup>1</sup>, LIU Dan<sup>2</sup>, ZHAO Zi-long<sup>1</sup>, LI Su-ying<sup>1</sup>, ZHANG Jing<sup>1</sup>, LIU Zheng-li<sup>1</sup>

(1. Department of Life Sciences, Tangshan Normal University, Tangshan 063000, China; 2. Tianjin Key Laboratory of Crop Genetics and Breeding, Institute of Crop, Tianjin Academy of Agricultural Sciences, Tianjin 300384, China)

**Key words:** foxtail millet; purity identification of hybrids; prolamins; single seed; acidic polyacrylamide gel electrophoresis

谷子[ *Setaria italica* (L.) P. Beauv ]是起源于中国的一种古老作物,营养价值高,富含人体所需的多种维生素、氨基酸和矿物质,具有抗旱、耐瘠薄、抗逆性强的特点,尤其适合在北方干旱和半干旱地区种植。杂种优势利用已经成为提高作物产量的有效途径,在谷子杂交种应用方面已经获得了一定突破<sup>[1-2]</sup>。谷子杂交种是由不育系母本和恢复系父本配组育成的两系杂交种,且母本具有 5% 左右的自交结实率,因此在制种过程中不可避免地会导致杂交种中混杂一定的不育系自交种。此外,由于授粉时杂株花粉的污染、收获时的机械混杂以及收获后的处理程序等原因,也会导致杂交种中

混有恢复系和其他假杂交种,从而严重影响谷子杂交种的纯度<sup>[3-4]</sup>。这些假杂种或者几乎没有产量,或者产量明显低于真杂交种,它们的存在必然导致杂交种增产潜力得不到充分发挥。因此,如何有效地鉴定谷子杂交种的纯度,成为保证杂交种增产效果的重要一环。

目前,杂交种纯度的鉴定方法仍以田间小区种植鉴定为主,该方法主要是基于杂交种和亲本的形态特征和生理特性,如幼苗颜色和除草剂抗性等。20 世纪 90 年代以前,通常以苗色较深的谷子恢复系做父本,苗色较浅的不育系做母本,以此来区别混杂在杂交种中的母本。20 世纪 90 年代末,随着抗烯禾啶除草剂恢复系的培育和应用,通过对谷子苗进行除草剂喷施处理,可以鉴别和去除混杂在杂交种中的不抗烯禾啶的不育系。然而,这 2 种方法均不能辨别出杂交种中混入的恢复系和其他假杂种,并且这些形态和生理指标易受环境条件影响,杂交种纯度难以准确鉴定。

近年来,随着功能基因组学的不断发展,分子标记在种子纯度鉴定方面的应用日益广泛。这一方法不受环境影响、结果准确可靠,但是要求引物应达到一定数量、且多态性好,成本较高,操作也比较复杂,因而不适于进行大规模的杂交

收稿日期: 2022-01-07

基金项目: 河北省重点研发项目( 19227687D );唐山市重点研发项目( 19150229E );唐山市应用基础研究计划项目( 20130218-b );唐山师范学院科学研究基金项目( 2020A06 )

作者简介: 崔燕娇( 1989- ),女,河北唐山人,博士,讲师,主要从事谷子杂种优势利用研究。( E-mail ) cuiyj189@ 163.com ;刘丹同为第一作者。

通讯作者: 刘正理, ( E-mail ) liuzhengli65@ 126.com

种纯度鉴定,难以适应商业化开发<sup>[5]</sup>。所以,建立一种更简便、快速、准确的杂交种纯度鉴定方法,已成为当务之急。

自 20 世纪 80 年代末以来,醇溶蛋白电泳技术成为作物品种鉴定、遗传多样性分析和杂交种纯度鉴定的有效手段,在小麦、玉米、水稻和高粱等作物中得到广泛应用。醇溶蛋白是禾本科作物种子胚乳中的一种主要贮藏蛋白,其蛋白质谱带完全受基因型控制,不受环境条件和栽培措施的影响,在品种间的多态性稳定丰富,并且在进化中更为保守,可以作为品种的“生化指纹”<sup>[6-7]</sup>。在谷子中,醇溶蛋白约占种子总蛋白的 40%~60%,相对分子质量大小在  $1.3 \times 10^4 \sim 5.5 \times 10^4$ <sup>[8-11]</sup>。过去 10 年中,研究人员曾尝试利用在小麦中广泛应用的方法从谷子籽粒中分离醇溶蛋白并检测其电泳图谱<sup>[11-13]</sup>。然而,由于谷子粒小、蛋白质含量低、醇溶蛋白相对分子质量小且存在一定差别,小麦醇溶蛋白的提取方法很难直接应用于分离谷子醇溶蛋白,更不能从单粒谷子籽粒中提取醇溶蛋白用于杂交种纯度鉴定。酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳(Acidic polyacrylamide-gel electrophoresis, A-PAGE)是国际种子检验协会推荐的用于小麦品种鉴定和纯度检测的标准方法<sup>[14]</sup>,但是将其凝胶浓度和强度应用于谷子很难获得理想的醇溶蛋白电泳图谱<sup>[11]</sup>。因此,本研究对现有的醇溶蛋白提取方法和 A-PAGE 电泳技术进行改良,建立一种快速、易操作、成本低、准确性高的谷子单籽粒醇溶蛋白提取和电泳检测方法,为谷子杂交种的纯度检测和种子管理提供一条简便、可行的技术途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

杂交谷子品种唐杂谷 56229,其母本和父本分别为谷 56A 和 HK229。2 个常规谷子品种,冀谷 31 和冀谷 32。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 醇溶蛋白提取** 谷子醇溶蛋白提取液中含有 20% *N,N*-二甲基甲酰胺(Dimethylformamide, DMF)、20% 蔗糖、50% 异丙醇和去离子水。选取饱满的单粒谷子籽粒,置于 2 ml 离心管中,利用组织研磨仪将籽粒研磨成粉末状。向离心管中加入 50  $\mu$ l 提取液,涡旋振荡混匀后置于 65  $^{\circ}$ C 烘箱中过夜。取出离心管,12 000 r/min 离心 10 min,将上清液转移至一新的 1.5 ml 离心管中,在 4  $^{\circ}$ C 冰箱中保存用于 A-PAGE 电泳。

**1.2.2 制胶** 用于 A-PAGE 电泳的酸性聚丙烯酰胺凝胶溶液中含有 15.000 0% 丙烯酰胺和甲叉丙烯酰胺(Acr/Bis = 29)、6.000 0% 尿素、0.004 0% 硫酸亚铁、0.150 0% 抗坏血酸、0.062 5% 甘氨酸、1.250 0% 冰醋酸、0.006 0% 过氧化氢。

**1.2.3 电泳** 取 30  $\mu$ l 谷子籽粒醇溶蛋白提取液,加入含有 30  $\mu$ l 上样缓冲液(80.00% 甘油、0.02% 甲基绿染料和去离子水)的 1.5 ml 离心管中,12 000 r/min 离心 1 min,振荡混匀,重复离心 1 min,4  $^{\circ}$ C 冰箱保存过夜后取 10  $\mu$ l 加入点样孔,以 0.04% 甘氨酸+0.40% 冰醋酸溶液为电极液,在 500 V 电压

下电泳 90 min。

**1.2.4 染色与脱色** 电泳后将凝胶置于含有 0.1% 考马斯亮蓝 R-250、25.0% 异丙醇、10.0% 冰醋酸的溶液中染色 10~20 min,漂洗后照相。

**1.2.5 烯禾啉除草剂处理** 唐杂谷 56229 杂交种和其父本 HK229 对烯禾啉除草剂具有抗性,而母本谷 56A 不抗烯禾啉除草剂,因此可以利用苗期除草剂喷施处理去除杂交种中混杂的母本,鉴定杂交种纯度。取 200 粒唐杂谷 56229 的种子播种于土壤中,在 4 叶期喷施烯禾啉除草剂,在处理前和处理后 7 d 分别观察谷子苗的生长和存活情况,并拍照记录表型。为确保结果的准确性和可靠性,进行 3 次生物学重复试验。

## 2 结果与分析

### 2.1 适于谷子单籽粒醇溶蛋白提取方法的建立

与玉米、小麦、高粱、水稻等作物相比,谷子的籽粒更小,其醇溶蛋白含量低,且相对分子质量小<sup>[11]</sup>,而进行杂交种纯度鉴定必须以单粒种子为样品。因此,对于利用谷子醇溶蛋白的多态性进行杂交种纯度鉴定来说,提高醇溶蛋白的溶解性和提取效率至关重要,而这又与蛋白质提取所用的有机溶剂种类密切相关。在前人的研究中,异丙醇、DMF、乙醇、叔丁醇等溶剂曾用于谷子<sup>[12,15]</sup>、大麦<sup>[16-17]</sup>、小麦<sup>[6,18-22]</sup>、玉米<sup>[23]</sup>、珍珠稷<sup>[24]</sup>、黍<sup>[25]</sup>等作物籽粒醇溶蛋白的提取。在本研究中,为了建立适于谷子单籽粒醇溶蛋白提取的方法,我们在前人以异丙醇为有机溶剂提取谷子醇溶蛋白的基础上,尝试在提取液中加入 DMF,利用含有不同种类和不同浓度溶剂的提取液进行醇溶蛋白提取,并通过 A-PAGE 进行电泳分离。结果表明,当提取液中只含有 DMF 或异丙醇一种溶剂时,醇溶蛋白溶解度较低,提取效率不高。相比之下,同时含有 DMF 和异丙醇的提取液能够从单粒谷子籽粒中提取出更多的、相对分子质量分布范围广的醇溶蛋白,并且 DMF 和异丙醇的最适浓度分别为 20% 和 50%。此外,为了增加提取液和谷子籽粒的接触面积、促进醇溶蛋白的溶解,我们将谷子籽粒与提取液加入离心管后首先通过涡旋振荡的方法使二者充分接触、混合均匀,然后置于 65  $^{\circ}$ C 烘箱中过夜,在高温下促进醇溶蛋白与提取液的反应。结果表明,这些操作均有助于从单粒谷子籽粒中提取出醇溶蛋白。

### 2.2 醇溶蛋白多态性分析

除了醇溶蛋白的提取效率之外,A-PAGE 电泳的条件,如上样量、凝胶浓度、催化剂的用量等,也影响着最终的电泳效果。在本研究中,为了确保提取的籽粒醇溶蛋白尽可能多地沉积到点样孔中,我们在 A-PAGE 电泳前向醇溶蛋白样品中首先加入适宜剂量(30  $\mu$ l)的含有 80.00% 甘油和 0.02% 甲基绿的上样缓冲液。其次,将凝胶浓度由前人应用的 12.5%<sup>[12,15]</sup>提高至 15.0%,以获得尽可能多的不同相对分子质量大小的醇溶蛋白清晰谱带,充分反映供试样品醇溶蛋白的多态性。有研究结果表明,抗坏血酸、硫酸亚铁和过氧化

氢等凝胶催化剂的用量是影响凝胶强度、聚合时间、形成网眼的孔径大小等的关键因素,而这些因素进一步又影响着醇溶蛋白电泳谱带的分辨率<sup>[26]</sup>。因此,在本研究中,我们以0.004%的硫酸亚铁和0.006%的过氧化氢作为催化剂,通过提高催化剂的用量来增强凝胶强度,以获得更高的醇溶蛋白谱带分辨率和更明显的电泳分离效果。此外,凝胶强度的提高也使凝胶与玻璃板更易分离,从而降低起板时的凝胶损伤率,维持凝胶的完整性。

在本研究中,我们利用同时含有20% DMF和50%异丙醇的提取液,从唐杂谷56229杂交种和其母本谷56A、父本HK229单粒籽粒中提取醇溶蛋白,以上述经过改良的A-PAGE条件进行电泳检测。结果显示,获得的醇溶蛋白谱带丰富,带型清晰、明显,且杂交种和亲本间带型表现出明显的差异,具有较高的醇溶蛋白多态性和谱带分辨率,表明通过单籽粒醇溶蛋白提取和A-PAGE电泳的方法可以对谷子品种进行有效的鉴定。

### 2.3 基于醇溶蛋白多态性的谷子杂交种纯度鉴定

为了将建立的新方法应用于谷子杂交种纯度鉴定,分别选取297粒和298粒来自于河北省邢台市柏乡县上京村和白楼村的唐杂谷56229籽粒作为供试样本,以来自于唐山师范学院迁西谷子科研实验站的母本谷56A和父本HK229籽粒作为对照,提取单粒醇溶蛋白,通过A-PAGE电泳进行杂交种纯度鉴定。通过将供试杂交种材料的醇溶蛋白谱带与对照进行比较,发现来自于上京村和白楼村的供试样本中分别有18.52%和32.55%的籽粒醇溶蛋白具有唐杂谷56229的特异谱带,表明其为真杂交种;供试样本中分别有70.71%和54.7%的籽粒醇溶蛋白谱带与母本谷56A对照一致,表明其为样本中混杂的母本;供试样本中分别有10.77%和12.75%的籽粒醇溶蛋白谱带与父本HK229相同,表明其为样本中混杂的父本。从总体看,在所有供试杂交种材料中,平均真杂交种纯度为25.55%,假杂种百分率为74.45%,包括混杂的母本(平均62.69%)和父本(平均11.76%)种子。

### 2.4 基于除草剂处理的谷子杂交种纯度鉴定

为了对上述杂交种鉴定结果进行验证,对相同来源的唐杂谷56229杂交种材料进行除草剂喷施处理,通过田间鉴定方法进行杂交种纯度检测。结果表明,喷施烯禾啉除草剂7d后,来自于上京村和白楼村的杂交种供试材料中,分别有77.36%和55.63%的幼苗生长明显受到了抑制,平均为66.50%,表明这些材料对烯禾啉除草剂没有抗性,是混入杂交种中的母本,这一结果与基于籽粒醇溶蛋白多态性的鉴定结果(62.69%)基本一致,证明我们建立的醇溶蛋白提取和A-PAGE电泳方法用于谷子杂交种纯度鉴定是可行且可靠的。在2份供试杂交种材料中,分别有22.64%(上京村)和44.37%(白楼村)的幼苗在喷施烯禾啉除草剂后仍然能够正常生长,平均为33.51%。这一结果与基于籽粒醇溶蛋白多态性的鉴定结果(25.55%)存在一定偏差,主要原因在于该方法不能区分杂交种和恢复系等抗烯禾啉除草剂的假杂种,由此也证明通过籽粒醇溶蛋白的多态性进行谷子杂交种纯

度鉴定的结果更为准确。

## 3 讨论

张杂谷5号和唐杂谷5695的高产纪录表明杂种优势是提高谷子产量的有效途径<sup>[1-2]</sup>,但是,杂交种中不育系、恢复系以及其他假杂种的混杂严重限制了杂交种的增产潜力及其推广应用<sup>[3-4]</sup>。因此,要保证杂交种的增产效果,就必须鉴定杂交种纯度,从而准确计算杂交种的适宜播种量。醇溶蛋白的A-PAGE电泳技术已经在小麦等作物的杂交种纯度鉴定中得到应用,但是由于谷子粒小、蛋白含量低、醇溶蛋白相对分子质量小等特点,现有方法很难适用于谷子籽粒醇溶蛋白的提取和电泳分离。尽管一些研究人员曾尝试将小麦醇溶蛋白电泳技术应用于谷子品种鉴定和遗传多样性分析,但是均需要10粒以上的种子才能够提取到足够的醇溶蛋白<sup>[12,15]</sup>,显然这无法满足杂交种纯度鉴定必须以单粒种子为样本的要求。本研究建立了一种适用于谷子的单籽粒醇溶蛋白提取方法和相应的A-PAGE电泳技术,并利用醇溶蛋白多态性鉴定谷子杂交种纯度。在2019年和2020年,利用这一方法对河北丰苑种业有限公司生产的唐谷杂56229杂交种进行纯度鉴定,结果分别为22.83%和25.55%。2020年,对河北衡研种业有限公司生产的唐杂谷5695杂交种进行纯度鉴定,结果为22.93%。据此设计两杂交种的播种量为7.5 kg/hm<sup>2</sup>,预计真杂交种出苗数约为1 hm<sup>2</sup> 4.6×10<sup>5</sup>~5.1×10<sup>5</sup>株,通过田间喷施间苗剂去除假杂种后,均可以达到1 hm<sup>2</sup> 4.5×10<sup>5</sup>~5.2×10<sup>5</sup>株的大田留苗密度。利用这一方法可以准确鉴定种子纯度,从而维持谷子杂交种的增产效果,促进谷子杂种优势利用。

醇溶蛋白因其溶于醇类而得名<sup>[27]</sup>,乙醇、异丙醇、叔丁醇等醇类曾用于多种作物籽粒醇溶蛋白的提取<sup>[6,16-17,21-25]</sup>。有研究表明,对谷子醇溶蛋白提取来说,异丙醇是比2-氯乙醇更适合的溶剂<sup>[15]</sup>,但仍很难从单粒籽粒中提取高浓度的醇溶蛋白用于多态性检测。DMF可以增加蛋白质溶解度,也曾是一些研究中用于小麦醇溶蛋白的提取。因此,本研究以含有20% DMF和50%异丙醇2种溶剂的提取液进行谷子醇溶蛋白提取,发现获得的醇溶蛋白浓度更高、谱带更丰富。此外,醇类物质通常会吸收凝胶中的水分而导致胶孔弯曲、电泳条带不整齐,而本研究建立的方法可以很好地解决这一问题,使醇溶蛋白谱带更易观察、多态性更易分析。

醇溶蛋白图谱由遗传因子决定,不受外界环境的影响,且在品种间存在差异,因而是遗传多样性分析和品种鉴定的理想“指纹”和遗传标记<sup>[6]</sup>。本研究发现谷子杂交种的醇溶蛋白图谱中呈现出不同于亲本的特异谱带,表明利用醇溶蛋白多态性可以区别混杂于杂交种中的亲本,从而鉴定种子纯度。在本研究中,利用醇溶蛋白多态性鉴定杂交种中混入的母本百分率与通过特定除草剂处理检测的杂交种中混入的母本百分率相似,证明我们建立的谷子杂交种纯度鉴定方法是可靠、有效的。根据谷子苗对除草剂处理的耐受性只能鉴



别出杂交种中混杂的母本,而无法去除同样具有除草剂抗性的父本材料,根据醇溶蛋白多态性则可以同时将杂交种中混杂的父本和母本材料鉴别出来,因此鉴定结果更为精确。此外,除草剂处理等田间鉴定方法往往周期较长,需要经历育苗过程,且结果易受出苗率的影响。而基于醇溶蛋白多态性的鉴定方法只需以种子为样本,在短短几天内即可完成检测,且结果不受温度、土壤水分等环境和栽培条件的影响。因此,本研究建立的谷子单籽粒醇溶蛋白提取方法和 A-PAGE 电泳分离技术为谷子和其他作物的杂交种纯度鉴定提供了一种更为简便易行、快速精确的有力工具,有助于提高杂交种的增产潜力,促进杂交种的推广应用。

### 参考文献:

- [1] 黄学芳,黄明镜,刘化涛,等. 覆膜穴播条件下降水年型和群体密度对张杂谷 5 号分蘖成穗及产量的影响[J]. 作物杂志, 2018(4): 106-113.
- [2] 李素英,刘 丹,李 强,等. 冀杂谷 5 号的选育及配套轻简化栽培技术研究[J]. 唐山师范学院学报, 2018, 40(3): 54-58.
- [3] CAI H, LU Y, LIU G, et al. Genetic diversity analysis of hybrid rice parental lines and genetic purity assessment of hybrid seeds of China[J]. Journal of Agricultural Science, 2020, 12(5): 37.
- [4] BEN ROMDHANE M, RIAHI L, JARDAK R, et al. Fingerprinting and genetic purity assessment of  $F_1$  barley hybrids and their salt-tolerant parental lines using nSSR molecular markers[J]. Biotech, 2018, 8(1): 57.
- [5] YAN M. Genetic purity testing of pumpkin hybrid seed by ultrathin-layer isoelectric focusing[J]. Crop Breeding and Applied Biotechnology, 2013, 13: 200-202.
- [6] NOVOSELSKAYA-DRAGOVICH A Y, BESPALOVA L A, SHISHKINA A A, et al. Genetic diversity of common wheat varieties at the gliadin-coding loci[J]. Russian Journal of Genetics, 2015, 51(3): 262-271.
- [7] KONAREV V, GAVRILJUK I, GUBAREVA N. Storage protein in the identification of species, cultivars and lines[J]. Seed Science Technology, 1987, 15: 675-678.
- [8] MONTEIRO P V, VIRUPAKSHA T K, RAO D R. Proteins of Italian millet: Amino acid composition, solubility fractionation and electrophoresis of protein fractions[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1982, 33(11): 1072-1079.
- [9] KUMAR K K, PARAMESWARAN K P. Characterisation of storage protein from selected varieties of foxtail millet (*Setaria italica* (L) Beauv)[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1998, 77(4): 535-542.
- [10] PARAMESWARAN K P, THAYUMANAVAN B. Homologies between prolamins of different minor millets[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 1995, 48(2): 119-126.
- [11] 杨延兵,王海莲,秦 岭,等. 利用 SDS-PAGE 鉴定不同地区谷子籽粒醇溶蛋白差异[J]. 华北农学报, 2010, 25(6): 87-91.
- [12] 杨延兵,张华文,秦 岭,等. 利用 A-PAGE 研究谷子籽粒蛋白质多态性[J]. 作物学报, 2009, 35(7): 1374-1378.
- [13] 杨天育,沈裕琥,黄相国,等. 用 A-PAGE 鉴定谷子遗传多样性[J]. 作物学报, 2005, 31(1): 131-133.
- [14] DRAPER S R. ISTA variety committee report of the working group for biochemical tests for cultivar identification 1983-1986[J]. Seed Science and Technology, 1987, 15: 431-434.
- [15] 杨延兵,管延安,秦 岭,等. 谷子籽粒醇溶蛋白提取条件及 A-PAGE 方法研究[J]. 种子, 2010, 29(1): 8-10,14.
- [16] BRANDT A B. *In vivo* incorporation of [ $^{14}$ C]lysine into the endosperm proteins of wild type and high-lysine barley[J]. FEBS Letters, 1975, 52(2): 288-291.
- [17] BRANDT A. Endosperm protein formation during kernel development of wild type and a high-lysine barley mutant[J]. Cereal Chemistry, 1976, 53(6): 890-901.
- [18] LAFIANDRA D, KASARDA D D. One- and two-dimensional (two-pH) polyacrylamide gel electrophoresis in a single gel: Separation of wheat proteins[J]. International Journal for Numerical Methods in Engineering, 1985, 50(2): 273-298.
- [19] DE PACE C, SNIDARO D, CIAFFI M, et al. Introgression of *Dasypyrum villosum* chromatin into common wheat improves grain protein quality[J]. Euphytica, 2001, 117(1): 67-75.
- [20] KUMAR A, GARG M, KAUR N, et al. Rapid development and characterization of chromosome specific translocation line of *Thinopyrum elongatum* with improved dough strength[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 1593.
- [21] GIL-HUMANES J, PISTON F, TOLLEFSEN S, et al. Effective shutdown in the expression of celiac disease-related wheat gliadin T-cell epitopes by RNA interference[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010, 107(39): 17023-17028.
- [22] WAGA J, SKOCZOWSKI A. Development and characteristics of  $\omega$ -gliadin-free wheat genotypes[J]. Euphytica, 2014, 195(1): 105-116.
- [23] RIGHETTI P G, GIANAZZA E, SOAVE A V. Heterogeneity of storage proteins in maize[J]. Planta, 1977, 136(2): 115-123.
- [24] BADI S M, HOSENEY R C, CASADY A J. Pearlmillet, 1: Characterization by SEM [scanning electron microscopy], amino acid analysis, lipid composition, and prolamine solubility[J]. Cereal Chemistry, 1976, 53: 478-487.
- [25] JONES R W, BECKWITH A C, KHOO U, et al. Protein composition of proso millet[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1970, 18(1): 37.
- [26] KHAN K, HAMADA A S, PATEK J. Polyacrylamide gel electrophoresis for wheat variety identification: Effect of variables on gel properties[J]. Cereal Chemistry, 1985, 62(5): 310-313.
- [27] SUGIMOTO T, TANAKA K, KASAI Z. Improved extraction of rice prolamins[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 2014, 50(9): 2409-2411.

(责任编辑:张震林)