

# 黑龙江省小麦品种 HMW-GS 的 RP-HPLC 分析及其方法研究

张欣欣<sup>1,2</sup>, 张延滨<sup>1,2</sup>, 赵海滨<sup>2</sup>, 李集临<sup>1</sup>, 金海涛<sup>3</sup>, 张晓波<sup>3</sup>

(1. 哈尔滨师范大学 生命科学与技术学院, 黑龙江 哈尔滨 150025; 2. 黑龙江省农业科学院 作物育种研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 3. 农业部谷物及制品质量监督检验测试中心, 黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘要:**为了分析黑龙江省小麦主要栽培品种是否含有超量表达的优质亚基, 利用 SDS-PAGE 和 RP-HPLC 在 2009 年和 2011 年分析了 48 份黑龙江省小麦主要栽培品种(系)。研究中共使用了同一厂家生产的同一型号不同批次的 3 个色谱柱, 由于批次不同它们在分离 8\* 亚基时所需柱温是不一致的。其中一个色谱柱在 60℃ 时可以将各 HMW-GS 有效分离, 另两个在 60℃ 时 8\* 亚基淹没在 2 或 5 亚基的峰中, 只有在柱温提高到 70℃ 时各 HMW-GS 才取得了较好的分离效果。因此, 在应用 RP-HPLC 对小麦贮藏蛋白分析时, 要充分考虑色谱柱性能指标的差异来确定最适柱温才能取得较好的分离效果。结果表明: 黑龙江省小麦品种(系)中超量表达的亚基仅限于来自加拿大超强筋小麦 Glenlea 的 Bx7<sup>oe</sup> 亚基。在具有 5 个 HMW-GS 的不同品系中, 该亚基相对含量(单个亚基 RP-HPLC 曲线峰面积占全部 HMW-GS 曲线峰面积的百分比)的平均值为 46% (变化范围为 43%~49%), 其它 *Glu-B1x* 位点亚基相对含量的平均值为 31% (变化范围为 26%~35%)。因此在强筋小麦育种及生产中利用 Bx7<sup>oe</sup> 亚基可以有效地改善小麦品质。

**关键词:** 小麦; 反相高效液相色谱; Bx7<sup>oe</sup> 亚基; 遗传育种

**中图分类号:** S512

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1002-2767(2013)05-0001-05

小麦贮藏蛋白由麦谷蛋白和醇溶蛋白组成, 前者使面团具有强度和弹性, 后者使面团具有延展性, 两者共同作用决定了小麦的面筋强度和烘烤品质<sup>[1-2]</sup>。麦谷蛋白根据其分子量和在十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)中迁移率的不同, 被分为高分子量麦谷蛋白亚基(HMW-GS)和低分子量麦谷蛋白亚基(LMW-GS)。国内外大量研究表明 HMW-GS 对面团强度和麦加工品质具有重要贡献, *Glu-A1* 编码的 1 和 2\* 亚基, *Glu-D1* 编码的 5+10 亚基, 对小麦品质均起着显著的正向作用<sup>[3-9]</sup>。Lukow 等<sup>[10]</sup>发现加拿大超强筋小麦品种 Glenlea 的 7+8 亚基是超量表达的, 认为 7+8 亚基的超量表达与 Glenlea 超强的面筋强度密切相关, 该亚基及编码该亚基的基因被命名为 7+8\* 和 *Glu-*

*Blal*<sup>[11]</sup>, 近年来多用 7<sup>oe</sup>+8\* 表示该亚基<sup>[12-13]</sup>。Raja Ragupathy 等<sup>[14]</sup>发现 7 亚基的超量表达是由于编码 7 亚基的基因插入了一个长末端重复序列逆转录元件(Retroelement/duplication genomic structure LTR)引起基因加倍。近年来的研究表明 Bx7<sup>oe</sup> 亚基对强筋小麦的品质有较大的正向效应<sup>[12, 15-16]</sup>, 引进及应用其改良我国小麦品种的面筋强度对育种工作具有重要作用。

由于 7<sup>oe</sup> 的超量表达, 7<sup>oe</sup>+8\* 亚基对中 7<sup>oe</sup> 亚基在 SDS-PAGE 图谱中通常染色较深, 但要正确的辨认 7<sup>oe</sup>+8\* 亚基与其相近的 7+8、7\*+8 和 7\*+8\* 亚基则需要利用功能性分子标记<sup>[9]</sup>和反相高效液相色谱(Reverse phase high performance liquid chromatography RP-HPLC)等方法。RP-HPLC 可以通过计算不同亚基的峰面积准确地分析某一亚基的相对含量, 是确定超量表达亚基较准确、较直接的方法。现利用 SDS-PAGE 和 RP-HPLC 在 2009 年和 2011 年对 48 份黑龙江小麦主要栽培品种(系)进行检测, 以便了解黑龙江省小麦 HMW-GS 超量表达亚基的分布状况, 为黑龙江省强筋及超强筋小麦品质育种工作提供基础数据。

收稿日期: 2013-03-18

基金项目: 黑龙江省自然科学基金资助项目(C2007-35)

第一作者简介: 张欣欣(1987-), 女, 黑龙江省巴彦县人, 在读硕士, 从事小麦品质及遗传育种研究。

通讯作者: 张延滨(1957-), 男, 江苏省仪征市人, 硕士, 研究员, 从事小麦品质遗传及育种研究。E-mail: yanbin\_zhang@163.com。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 小麦材料 48份供试材料全部来自黑龙江省农业科学院作物育种研究所小麦研究室,分别为克丰2号、克丰3号(2\*,7+8,3+12)及克丰3号的3个近等基因系(2\*,7+8\*,3+12克丰3号;2\*,17+18,5+10克丰3号;2\*,14+15,5+10克丰3号)、克丰4号、克丰6号及克丰6号的5个近等基因系(1,7+8\*,2+12克丰6号;1,7+8\*,5+10克丰6号;1,17+18,2+12克丰6号;1,17+18,5+10克丰6号;1,14+15,5+10克丰6号)、克丰10号、克丰12、克早6号、克早8号、克早13、新克9号、龙麦12、龙麦19及龙麦19的4个近等基因系(2+12/*Glu-A3e*的龙麦19;5+10/*Glu-A3e*的龙麦19;2+12/*Glu-A3c*的龙麦19;5+10/*Glu-A3c*的龙麦19),龙麦20(1,7+8,2+12)及龙麦20的3个近等基因系(1,7+8\*,5+10龙麦20;1,17+18,5+10龙麦20;1,14+15,5+10龙麦20)、龙麦26、龙麦29、龙麦30、龙麦32、龙麦33、龙辐2号、龙辐3号(N,7+8,5+10)及龙辐3号的2个近等基因系(1,7+8,5+10龙辐3号;2\*,7+8,5+10龙辐3号)、龙辐7号、垦大4号的2+12及5+10亚基近等基因系、垦九10号、垦红14、东农7742、小冰33的2+12及5+10亚基近等基因系、龙94-4081、龙97-586的7和7+8亚基近等基因系。近等基因系均为通过选择性回交得到的。

1.1.2 试验仪器与试剂 色谱仪为岛津2010A-LCMS液相色谱质谱联用仪,乙腈(Fisher)、乙醇(Tedia)、正丙醇(Tedia)和三氟乙酸(Tedia)均为HPLC级。尿素(Sigma)、二硫苏糖醇(Sigma)、4-乙烯吡啶(Alfa Aesar)、Tris(Amersco)和盐酸(Amersco)均为超纯级。纯水系统为Milli-Q Gradient A10。

### 1.2 方法

按张平等<sup>[13]</sup>报道的方法进行反相高效液相色谱(RP-HPLC),使用同一厂家生产的型号相同但生产批次不同的3个色谱柱,反相分析柱为Vydac218TP104 C18(250 mm×4.6 mm,粒径10 μm,孔径300 Å),预柱为Vydac 218GP104 C18,柱1来自黑龙江省农业科学院作物育种研究所小麦研究室,柱2和柱3来自中国农业科学

院作物科学研究所国家小麦改良中心。根据该方法在分析同一样品时,用同一厂家生产的同一型号不同批次的色谱柱,会存在某些峰是否出现等问题,通过调整温度(60、70、79℃ 3个梯度),研究了不同柱温对分离效果的影响。

根据RP-HPLC洗脱曲线中HMW-GS单个亚基峰面积占全部HMW-GS峰面积的百分比计算相对含量,即相对含量/%=(各亚基峰面积/HMW-GS总面积)×100。参考Butow等<sup>[17]</sup>和任妍等<sup>[18]</sup>的研究,当Bx7亚基的相对含量大于39%时认为Bx7亚基超量表达。

## 2 结果与分析

### 2.1 HMW-GS超量表达优质亚基的结果分析

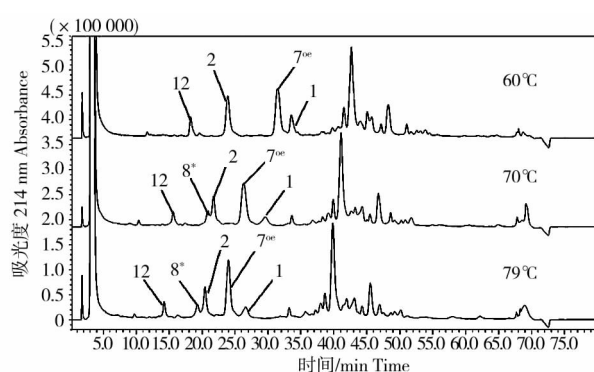
SDS-PAGE和RP-HPLC分析表明,48份供试材料中含有超量表达HMW-GS的品系有4个,其超量表达亚基均为Bx7<sup>oe</sup>亚基。该亚基相对含量变化范围为43%~49%,其它*Glu-B1x*位点亚基的相对含量范围为26%~35%。含有Bx7<sup>oe</sup>亚基的4个品系均是通过本地主栽品种与加拿大超强筋小麦品种Glenlea经6次的选择性回交育成的,分别为1,7<sup>oe</sup>+8\*,2+12克丰6号、1,7<sup>oe</sup>+8\*,5+10克丰6号、1,7<sup>oe</sup>+8\*,5+10龙麦20和2\*,7<sup>oe</sup>+8\*,3+12克丰3号。

### 2.2 柱温对分离效果的影响

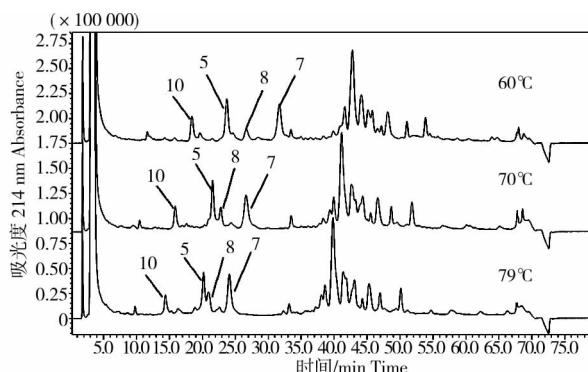
张平等<sup>[13]</sup>对贮藏蛋白RP-HPLC分析体系研究中,60℃为最适分离温度。2009年试验柱温设定为60℃,使用柱1、柱3两个色谱柱,结果柱3各亚基的分离效果好,而柱1中8\*亚基未能分离出现。2011年使用柱1、柱2,并研究了柱温对分离效果的影响,图1为柱1在不同柱温条件下1,7<sup>oe</sup>+8\*,2+12克丰6号和龙辐3号(N,7+8,5+10)麦谷蛋白各组分离图谱,由图1可知,不同温度条件下2个品种的HMW-GS不同亚基的保留时间和分离效果明显不同,随着温度的升高各亚基保留时间缩短,出峰时间明显提前,但提前程度不同。1,7<sup>oe</sup>+8\*,2+12克丰6号分离图谱显示在60℃时,8\*亚基与2或5亚基相互重叠成1个峰,温度提高到70℃后,8\*亚基与2或5亚基开始分离,分离效果显著提高,当达到79℃时,8\*亚基与2或5亚基得到了更好的分离。但从龙辐3号的分离图谱可见8亚基与5亚基的分离效果在60℃时最佳,随着温度的提高分离效果

逐渐变差。柱 2 与柱 1 的分离结果相同,因此用柱 1 和柱 2 来分离 HMW-GS 时 70℃ 是分离的最

适温度,温度升高对 LMW-GS 的分离效果和出峰时间也有一定的影响。



克丰 6 号 (1,7<sup>oe</sup>+8<sup>\*</sup>,2+12)



龙辐 3 号 (N,7+8,5+10)

图 1 克丰 6 号和龙辐 3 号不同温度下使用柱 1 的麦谷蛋白分离图谱

Fig. 1 The elution profiles glutenins of Kefeng 6 and Longfu 3 with different temperature using the column 1

### 2.3 同一型号不同批次的色谱柱的分离效果

2011 年试验比较了同一厂家生产的同一型号不同批次的柱 1、柱 2 两个色谱柱的分离效果,图 2 为 70℃ 时 1,7<sup>oe</sup>+8<sup>\*</sup>,2+12 克丰 6 号麦谷蛋白在不同色谱柱下各组分分离图谱。由图 2 可知,两个色谱柱都能有效分离各 HMW-GS,但存在一定的差别。柱 2 的分离效果好且出峰时间提前,柱 1 的基线较平稳,这可能与色谱柱使用的较少有关,基线的平稳度对于准确计算麦谷蛋白总含量和各亚基的含量十分重要,因为平稳的基线会减少计算结果的误差。

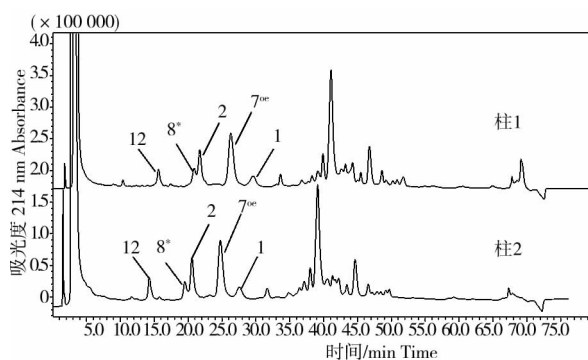


图 2 克丰 6 号 (1,7<sup>oe</sup>+8<sup>\*</sup>,2+12)

在 70℃ 下不同色谱柱的麦谷蛋白分离图谱

Fig. 2 The elution profiles glutenins of Kefeng 6 (1,7<sup>oe</sup>+8<sup>\*</sup>,2+12) with different column at 70℃

### 3 结论与讨论

SDS-PAGE 是目前小麦品质育种最常用的电泳方法,主要依据蛋白质的分子量进行分离,是

分离谷物蛋白组份的经典方法<sup>[19]</sup>。SDS-PAGE 可对小麦蛋白组分进行定性分析,明确各品种的高、低分子量麦谷蛋白亚基类型,但定量分析不准确。RP-HPLC 可以通过计算不同亚基的峰面积准确地分析某一亚基的绝对表达量和相对表达量,有效弥补前者的不足<sup>[20-22]</sup>。

在 RP-HPLC 中,柱温对于控制峰的保留和选择有重要作用,增加柱温将会减少流动相的粘稠度,提高大分子的扩散率以及改善峰形等<sup>[23]</sup>。通过 RP-HPLC 分离小麦贮藏蛋白,不同试验对柱温影响的研究结果不一致,有研究表明分离醇溶蛋白时将温度从 50℃ 提高到 70℃ 分离效果好<sup>[24]</sup>,而 Marchylo<sup>[25]</sup> 等研究认为 50℃ 与 70℃ 的分离效果无明显差异。RP-HPLC 对麦谷蛋白进行分离时,有研究表明 65℃ 为最适温度<sup>[26]</sup>,也有学者研究表明 60℃ 时分离效果更佳<sup>[13]</sup>,该试验使用同一厂家生产的同一型号不同批次的 3 个色谱柱,结果表明柱 3 在 60℃ 条件下分离效果好,而柱 1、柱 2 在 70℃ 时分离效果最佳。这一结果表明即使是同一厂家生产的同一型号的色谱柱也可能因生产批次不同而存在差异。因此,在应用 RP-HPLC 对小麦贮藏蛋白分析时,不应硬性设定某一温度为最适温度,而是要充分考虑色谱柱性能指标的差异来确定最适温度才能取得较好的分离效果。

近年来大量研究表明由 *Glu-B1a1* 基因编码的 Bx7<sup>oe</sup> 亚基对小麦加工品质有较强的正向影响<sup>[3-9]</sup>。含有 Bx7<sup>oe</sup> 亚基的品种表现出较高的

HMW-GS 含量、较强的面筋强度。任妍等<sup>[18]</sup>对 163 份来自 CIMMYT 和中国的材料进行检测,在中国材料中有 4 份含有 Bx7<sup>oe</sup>亚基,分别是来自黑龙江省农业科学院的 3 份材料和德麦 3 号。时晓伟等<sup>[27]</sup>对津强 1 号、辽春 10 号及其杂交育成的 5 个品种进行检测发现有 4 个品种含有 Bx7<sup>oe</sup>亚基,含有的 Bx7<sup>oe</sup>亚基均来自津强 1 号。在国外如阿根廷小麦、加拿大小麦、以色列小麦和墨西哥小麦等含有该亚基的品种较多<sup>[15-16,28]</sup>。而我国含有超量表达基因 Bx7<sup>oe</sup>亚基的品种非常少,因此应该加强含有 Bx7<sup>oe</sup>亚基亲本品种的引进,提高我国含 Bx7<sup>oe</sup>亚基小麦品种(系)的比例,有利于选育强筋或超强筋的小麦品种。

致谢:感谢中国农业科学院作物科学研究所国家小麦改良中心夏先春研究员、任妍、申小勇等提供的 RP-HPLC 色谱柱以及在该试验中给予的支持和帮助。

#### 参考文献:

- [1] Payne P I. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality[J]. Annual Review of Plant Physiology, 1987, 38: 141-153.
- [2] Gianibelli M C, Larroque O R, MacRitchie F, et al. Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat endosperm proteins[J/OL]. [2013-03-18]. <http://www.aaccnet.org/cerealchemistry/freearticle/gianibelli.pdf>.
- [3] Payne P I, Nightingale M A, Krattiger, A F, et al. The relationship between HMW gluten in subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1987, 40(1): 51-65.
- [4] Branlard G, Dardevet M. Diversity of grain protein and bread wheat quality. II. Correlation between high molecular subunits of glutenin and flour quality characteristics[J]. J. Cereal Sci., 1985, 3: 345-354.
- [5] 刘丽, 于亚雄, 胡银星, 等. 高低分子量麦谷蛋白亚基构成及其对小麦烘烤品质的效应分析[J]. 西南农业学报, 2004, 17(5): 552-557.
- [6] 毛沛, 李宗智, 卢少源. 小麦遗传资源 HMW 麦谷蛋白亚基组成及其与面包烘烤品质关系的研究[J]. 中国农业科学, 1995, 28(S1): 22-27.
- [7] 刘伟, 张延滨, 张宝石, 等. 小麦 Glu-A1 位点 1 和 2 亚基近等基因系间品质差异的研究[J]. 麦类作物学报, 2005, 25(6): 47-50.
- [8] 张延滨, 孙连发, 辛文利, 等. 主栽小麦品种中 5+10 亚基对品质改良的影响[J]. 中国农业科学, 2003, 36(3): 242-247.
- [9] 任妍, 张平平, 何中虎, 等. 中国和 CIMMYT 小麦品种 Bx7 亚基超量表达基因 (Bx7<sup>oe</sup>) 的分子检测[J]. 作物学报, 2009, 35(3): 403-411.
- [10] Lukow O M, Forsyth S A, Payne P I. Over-production of HMW glutenin subunits coded on chromosome 1B in common wheat, *Triticum aestivum* [J]. Journal of Genetics and Breeding, 1992, 46(2): 187-191.
- [11] Marchylo B A, Lukow O M, Kruger J E. Quantitative variation in high molecular weight glutenin subunit 7 in some Canadian wheats[J]. Journal of Cereal Science, 1992, 15: 29-37.
- [12] 张延滨, 赵海滨, 宋庆杰, 等. 龙麦 20 小麦品种中 7+8\* 亚基和 17+18 亚基近等基因系间的品质差异[J]. 中国农业科学, 2008, 41(5): 1536-1541.
- [13] 张平平, 张勇, 何中虎, 等. 小麦贮藏蛋白反相高效液相色谱分析体系研究[J]. 中国农业科学, 2007, 40(5): 1002-1009.
- [14] Ragupathy R, Naeem H A, Reimer E, et al. Evolutionary origin of the segmental duplication encompassing the wheat GLU-B1 locus encoding the overexpressed Bx7(Bx7<sup>oe</sup>) high molecular weight glutenin subunit[J]. Theor. Appl. Genet., 2008, 116(2): 283-296.
- [15] Vawser M J, Cornish G B. Over-expression of HMW glutenin subunit Glu-B1 7x in hexaploid wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) [J]. Australian Journal of Agricultural Research, 2004, 55: 577-588.
- [16] D'Ovidio R, Masci S, Porceddu E, et al. Duplication of the Bx7 high-molecular-weight glutenin subunit gene in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar 'Red River 68' [J]. Plant Breed, 1997, 116: 525-531.
- [17] Butow B J, Gale K R, Ikea J, et al. Dissemination of the highly expressed Bx7 glutenin subunit (*Glu-B1a* allele) in wheat as revealed by novel PCR markers and RP-HPLC [J]. Theor. Appl. Genet., 2004, 109: 1525-1535.
- [18] 任妍. 中国和 CIMMYT 小麦品种 Bx7<sup>oe</sup> 基因的分子检测及小麦遗传连锁图谱的构建[D]. 雅安: 四川农业大学, 2009: 1-62.
- [19] 郭尧君. 蛋白质电泳实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2003, 1-348.
- [20] Kawka A, Ng P K W, Bushuk W. Equivalence of high molecular weight glutenin subunits prepared by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography and Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis [J]. Cereal Chem., 1992, 69(1): 92-96.
- [21] Hocine Sadoukia, Roland Cazalisb, Belkacem Azzout. Fractionation of Algerian common wheat proteins by HPLC and sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis; relationship with technological quality [J]. LWT-Food Science and Technology, 2005, 38: 829-841.
- [22] 张平平, 张岐军, 刘丽, 等. *Glu-B1* 位点亚基色谱鉴定及 7<sup>oe</sup> 对面团强度的影响 [J]. 作物学报, 2007, 33(10): 1575-1581.

- [23] Chen H, Horvath Cs. High-speed high-performance chromatography of peptides and proteins[J]. Journal of Chromatography, 1995, 705: 3-20.
- [24] Bietz J A, Cobb L A. Improved procedures for rapid wheat varietal identification by reversed-phase high performance liquid chromatography of gliadin[J]. Cereal Chemistry, 1985, 62, 332-339.
- [25] Marchylo B A, Hatcher D W, Kruger J E, et al. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic analysis of wheat proteins using a new, highly stable column[J]. Cereal Chemistry, 1992, 69: 371-378.
- [26] Naeem H A, Sapirstein H D. Ultra-fast separation of wheat glutenin subunits by reversed-phase HPLC using a superficially porous silica-based column[J]. Journal of Cereal Science, 2007, 46: 157-168.
- [27] 时晓伟, 梁丹, 王建贺, 等. 小麦 Bx7<sup>oe</sup> 亚基过量表达基因(Bx7<sup>oe</sup>)分子检测及对小麦品质影响[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(14): 8208-8209, 8236.
- [28] Gianibelli M C, Echaide M, Larroque O R, et al. Biochemical and molecular characterization of *Glu-1* loci in Argentinean wheat cultivars[J]. Euphytica, 2002, 128: 61-73.

## Study on RP-HPLC Analysis on HMW-GS Wheat Cultivars in Heilongjiang Province and Its Method

ZHANG Xin-xin<sup>1,2</sup>, ZHANG Yan-bin<sup>1,2</sup>, ZHAO Hai-bin<sup>2</sup>, LI Ji-lin<sup>1</sup>, JIN Hai-tao<sup>3</sup>, ZHANG Xiao-bo<sup>3</sup>

(1. College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin, Heilongjiang 150025; 2. Crop Breeding Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086; 3. Inspection and Testing Center for Quality of Cereals and Their Products Ministry of Agriculture, Harbin, Heilongjiang 150086)

**Abstract:** To investigate the HMW-GS over-expression of main wheat cultivars and advanced lines in the Heilongjiang province, 48 wheat cultivars/lines were analyzed by SDS-PAGE and Reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) in 2009 and 2011. Three HPLC columns from the same manufacturer and same Part No but different packing lots were used. The columns from different lots required inconsistent temperatures in separation of 8\* subunit. Each HMW-GS could be effectively separated at a column temperature of 60°C for one column, but 8\* subunit submerged in the peak of 2 or 5 subunits at a column temperature of 60°C for other two columns, and could only be effectively separated at a column temperature of 70°C. Therefore, in the analysis of wheat storage protein in the application of RP-HPLC, full account should be taken on the differences in column performance to determine the optimum column temperature in order to achieve better separation effect. The results indicated that over-expression subunit was limited to Bx7<sup>oe</sup> subunit in wheat cultivars/lines developed in Heilongjiang province and the Bx7<sup>oe</sup> subunit were from Canada Western Extra strong wheat cultivar Glenlea. In the different cultivars/lines with five HMW-GSs, the mean of relative content (single subunit peak area/total HMW-GS peak area × 100) of Bx7<sup>oe</sup> subunit was 46% (range 43% ~ 49%), other *Glu-B1x* subunit was 31% (range 26% ~ 35%). Therefore, Bx7<sup>oe</sup> subunit was useful in wheat breeding and production for strong gluten or extra strong gluten.

**Key words:** wheat (*Triticum aestivum* L.); reversed phase high performance liquid chromatography; Bx7<sup>oe</sup> subunit; genetic breeding

(该文作者还有宋维富、宋庆杰、张春利、辛文利和肖志敏, 单位同第三作者)