

小麦 - 中间偃麦草 6J^S/6B 代换系的分子细胞学鉴定

罗小军¹, 乔麟轶², 李 欣², 李光蓉³, 郭慧娟², 阎晓涛², 张树伟²,
常利芳², 闫金龙⁴, 畅志坚², 张晓军²

(¹ 山西大学生物工程学院, 太原 030006; ² 山西农业大学农学院 / 作物遗传与分子改良山西省重点实验室 / 农业部黄土高原作物基因资源与种质创制重点实验室, 太原 030031; ³ 电子科技大学生命科学与技术学院, 成都 610054; ⁴ 山西省农业科学院谷子研究所, 长治 046011)

摘要: 将近缘植物的抗病基因导入小麦是改良小麦抗病性的重要途径之一, 对其外源染色体进行准确鉴定能够提高外源基因的选择与利用效率。本研究分别利用小麦白粉病、条锈病菌生理小种接种、荧光原位杂交和分子标记的方法对来源于中间偃麦草的部分双二倍体 TAI7047 为中间亲本创制的新种质 CH357 进行了鉴定分析。结果显示, CH357 是一个小麦 - 中间偃麦草 6J^S/6B 代换系, 兼抗小麦白粉病、条锈病 2 种病害, 其抗性可能来源于中间偃麦草的 6J^S 染色体, 可以作为一个小麦白粉病和条锈病新抗源进行小麦抗性遗传改良。基于中间偃麦草第 6 同源群 Contig 序列开发了 160 个 STS 标记, 其中 8 个可作为识别小麦 - 中间偃麦草异代换系 CH357 中 6J^S 染色体 / 片段的特异标记, 为中间偃麦草 6J^S 染色体 / 片段的鉴定提供较为经济和方便的检测手段。

关键词: 中间偃麦草; 代换系; 染色体; STS; 分子标记

Molecular and Cytogenetic Identification of Wheat-*T. intermedium* 6J^S/6B Substitution Line

LUO Xiao-jun¹, QIAO Lin-yi², LI Xin², LI Guang-rong³, GUO Hui-juan², YAN Xiao-tao²,
ZHANG Shu-wei², CHANG Li-fang², YAN Jin-long⁴, CHANG Zhi-jian², ZHANG Xiao-jun²

(¹ College of Bio-engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006; ² College of Agronomy, Shanxi Agricultural University/Shanxi Key Laboratory of Crop Genetics and Molecular Improvement/Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement on Loess Plateau of Ministry of Agriculture, Taiyuan 030031;
³ College of Life Science and Technology, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 610054;
⁴ Millet Research Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Changzhi 046011)

Abstract: Transforming resistance genes of wild relatives into elite cultivars is an effective approach to improve the wheat disease resistance. Identification of the alien chromosomes by deployment of a rapid and precise method becomes important in order to simplify the process on selection and utilization of the favorable genes. In this study, CH357, a new wheat germplasm resource which was derived from wheat-*Thinopyrum intermedium* (Host) Barkworth & D. R. Dewey partial amphiploid TAI7047, was subjected for tests upon infections of Powdery mildew and Stripe rust, as well as the evaluation by fluorescent in situ hybridization (FISH) and molecular markers detection. The results showed that CH357 contained a wheat-*T. intermedium* (Host) Barkworth

收稿日期: 2019-10-10 修回日期: 2019-10-31 网络出版日期: 2019-12-18

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20191010003>

第一作者主要从事小麦遗传改良与种质创新研究, E-mail: lxjanm1314@163.com

通信作者: 张晓军, 研究方向为植物染色体工程与小麦分子育种, E-mail: zxjemail@163.com

基金项目: 国家重点研发计划 (2016YFD0102004); 山西省重点研发计划 (201803D221018-5, 201703D211007, 201803D421020); 山西省农业科学院项目 (YGG17123, YCX2018D2YS01); 山西省重点科技创新平台 (201605D151002)

Foundation project: National Key R&D Program of China (2016YFD0102004), The Key R&D Program of Shanxi Province (201803D221018-5, 201703D211007, 201803D421020), Shanxi Academy of Agricultural Sciences (YGG17123, YCX2018D2YS01), The Key Scientific and Technological Innovation Platform (201605D151002)

& D. R. Dewey 6J^S/6B chromosome substitution. This genotype was tested to be resistant against wheat powdery mildew and stripe rust, and the resistances were likely caused by 6J^S chromosome of *T. Intermedium* (Host) Barkworth & D. R. Dewey, thus raising a potential for wheat resistance breeding. Furthermore, 160 STS markers were developed based on the Contigs sequences of *T. intermedium* (Host) Barkworth & D. R. Dewey group 6 genome. Out of that, eight markers were found to specifically amplify the alien chromosome of CH357. The PCR-based assay will provide a user-friendly method for identifying the 6J^S chromosome or fragments of *T. intermedium* (Host) Barkworth & D. R. Dewey in wheat.

Key words: *T. intermedium* (Host) Barkworth & D. R. Dewey; substitution line; chromosome; STS; molecular marker

小麦 (*Tritium aestivum* L., $2n=6x=42$, AABBDD) 的近缘植物中含有许多对小麦品种改良有用的抗病、抗逆、优质等基因,通过远缘杂交等方法将其优异性状基因导入小麦是进行小麦遗传改良的重要途径^[1]。中间偃麦草 (*Thinopyrum intermedium* (Host) Barkworth & D. R. Dewey, $2n=6x=42$, E^cE^cE^bE^bStSt 或 JJJ^SJ^SSS)^[2] 是禾本科偃麦草属的多年生野生植物,具有抗旱、耐寒、耐盐碱等多种优良性状,同时高抗白粉、三锈、黄矮、赤霉等多种病害,是小麦遗传改良中重要的三级基因源^[3]。

国内外学者已利用中间偃麦草改良小麦进行了广泛研究,培育出了许多有价值的双二倍体、附加系、代换系和易位系等新种质^[4]。1966 年法国育种家 Cauderon^[5] 利用回交法育成的小麦 - 中间偃麦草部分双二倍体 TAF46, 对小麦黄矮病、条纹花叶病具有优良抗性,并以 TAF46 为中间亲本创造了一系列种质资源。20 世纪 70-80 年代,孙善澄^[6] 育成了中 1、中 2、中 3、中 4、中 5 等中字号系列八倍体小偃麦,具有高抗条锈病、叶锈病、秆锈病等优良性状,其中中 4、中 5 高抗小麦黄矮病。Liu 等^[7]、Bao 等^[8] 综合利用形态学、细胞学、基因组原位杂交和抗病性鉴定等技术,从普通小麦与中间偃麦草杂种后代中选育出了 E990256、山农 TE253 和 TE257 等 11 个 TE 系列八倍体小偃麦,且这些八倍体小偃麦的外源染色体中,可能携带有不同的抗条锈病或抗白粉病基因。许多学者利用上述材料作为亲本与小麦进行杂交或回交,创制出了许多抗病、抗旱、优质的小麦 - 中间偃麦草优良种质系^[9-10]。即便如此,创制更多的小麦 - 中间偃麦草染色体系仍非常必要,其不仅可以丰富小麦的遗传资源,也是中间偃麦草有用基因向小麦转移的重要载体。

本试验利用普通小麦与八倍体小偃麦 TAI7047 杂交,再用普通小麦回交后代中选育出的高代品系 CH357,利用中间偃麦草特异的分子标记,结合多聚核苷酸荧光原位杂交对其进行了分子细胞学鉴定,

并在山西太原和四川成都进行了白粉病、条锈病的接种鉴定,为后续利用该小麦近缘种质资源提供重要信息。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料 TAI7047、CH357 由本实验室选育,其中 TAI7047 为来源于中间偃麦草的部分双二倍体小偃麦,TAI7047 的系谱为太原 768/ 中间偃麦草 // 系 76 (64); CH357 为普通小麦晋太 170 与 TAI7047 杂交的 BC₁F₈ 代稳定品系。晋太 170 为国审优质强筋小麦品种^[11],由山西省农业科学院作物科学研究所提供。太原 768 和系 76 (64) 为小麦高代品系,中间偃麦草为野生资源,均保存于本实验室。中国春和 SY95-71 由电子科技大学提供,川育 12 由四川省农业科学院作物研究所提供。

1.2 抗病性鉴定

供试材料 CH357 及其亲本 TAI7047、晋太 170 以及 TAI7047 的亲本中间偃麦草、太原 768 和系 76 (64) 的抗病鉴定于 2018 年和 2019 年分别在山西太原和四川成都同时进行成株期鉴定。抗白粉病鉴定所用白粉菌为我国强毒力菌株 E09,在山西省农业科学院作物科学研究所创新基地日光温室进行,感病对照品种为 SY95-71; 抗条锈病鉴定所用条锈菌为我国条锈菌优势小种 CYR32、CYR33 和 CYR34^[12] 的混合菌,在四川省农业科学院新都创新基地进行,感病对照品种为川育 12。两种病害的接种方式、发病条件和抗病统计方法分别参照文献 [13-14] 进行。

1.3 细胞学鉴定

根尖有丝分裂中期染色体制备参考 Han 等^[15] 的方法。制片完全干燥后在相差显微镜镜下观察中期染色体分裂相,选择细胞染色体完整且分散均匀的片子,标记后备用。以来自黑麦和普通小麦的多聚核苷酸探针 Oligo-pSc119.2-1 和 Oligo-pTa535-1^[16] 进行双

色荧光原位杂交 (FISH), 杂交程序参考 Lang 等^[17]的方法。杂交探针由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。用 Leica DM2 荧光显微镜进行镜检, DFC500 CCD 拍照。

1.4 分子标记鉴定

试验材料剪根后栽种于花盆内, 生长至三叶期时取其细嫩的叶片, 利用 CTAB 法提取总 DNA^[18]。

利用从 NCBI 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/>) 获取中间偃麦草 Contig 序列开发的 160 个中间偃麦草第 6 同源群特异 STS 标记^[19], 对试验材料进行 PCR 扩增。PCR 反应体系为 10 μ L, 包括 5.0 μ L Taq PCR Mix 预混液 (上海生工, Order NO. B639295), 1.5 μ L 模板 DNA (50 ng/ μ L), 1.0 μ L Primers (50 ng/ μ L, 上海生工合成), 2.5 μ L ddH₂O。PCR 扩增程序为: 95 $^{\circ}$ C 5 min; 95 $^{\circ}$ C 30 S, 55~65 $^{\circ}$ C 45 S, 72 $^{\circ}$ C 30 S, 共 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min。扩增产物加 2 μ L Loading Buffer 后用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测, 电泳条件为恒压 220 V, 50 min。

2 结果与分析

2.1 CH357 对白粉病和条锈病的抗性

抗病鉴定结果显示, CH357 及其野生亲本 TAI7047 和中间偃麦草对白粉病和条锈病均表现为免疫, 其小麦亲本晋太 170 及 TAI7047 的小麦亲本太原 768、系 76 (64) 对 2 种病害均表现为高感 (表 1)。表明 CH357 对白粉菌菌株 E09 和条锈菌小种 CYR32、CYR33 和 CYR34 的抗性可能来源于中间偃麦草。

2.2 CH357 的 FISH 鉴定

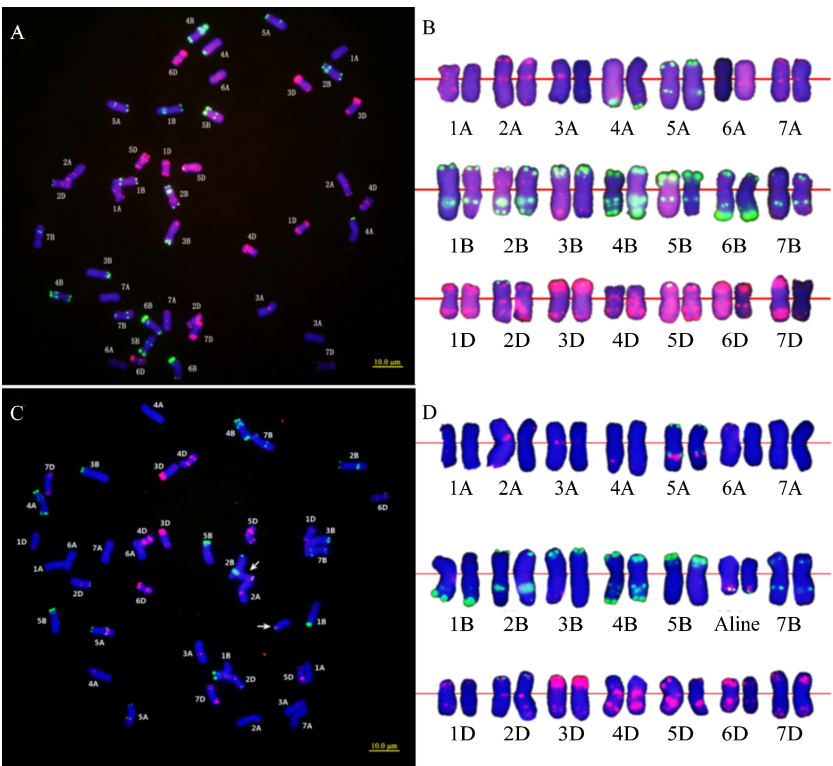
根尖有丝分裂中期染色体统计表明, CH357 的染色体数目为 $2n=42$, 经探针双色 FISH 表明 (图 1), 其中有 40 条与小麦亲本晋太 170 一致, 另外 1 对染色体的杂交信号和长短臂比例与 Cui 等^[20]鉴定的中间偃麦草的 J^S-6 基本一致, 因此认为 CH357 中含有 1 对 J^S-6 染色体。通过与晋太 170 和 Tang 等^[16]报道的中国春的信号相比, CH357 中缺少了 1 对 6B 染色体, 表明 CH357 中有 1 对中间偃麦草的 J^S 染色体代换了小麦 6B 染色体, 因此推测, CH357 是一个小麦 - 中间偃麦草二体代换系。

2.3 中间偃麦草特异分子标记的鉴定

根据中间偃麦草第 6 同源群 Contig 序列开发了 160 个 STS 标记, 位于 Group 6-Chr1、Group 6-Chr2、Group 6-Chr3 染色体的 STS 标记分别为 58 个、59 个和 43 个。利用这些 STS 标记对中间偃麦草、中国春、晋太 170、CH357 和 TAI7047 进行 PCR 扩增, 结果显示, 位于 Group 6-Chr1、Group 6-Chr2 染色体的标记在中间偃麦草、TAI7047 和 CH357 中均扩增出与目标片段一致的条带, 而在晋太 170 和中国春中未扩增出该条带的标记数目分别为 8 个和 2 个 (引物序列见表 2, 其中位于 Group 6-Chr1 染色体的 8 个标记扩增结果见图 2), 位于 Group 6-Chr3 染色体的标记则未扩增出该类型条带。由于刘淑娟等^[19]已证明 Group 6-Chr2 染色体为中间偃麦草的 6St 染色体, 而 CH357 的 FISH 结果表明其中含有 1 对 6J^S 染色体, 因此推测 G6-Chr1 为中间偃麦草的 6J^S 染色体。剩余的 Group 6-Chr3 染色体可能为中间偃麦草的 6J 染色体。

表 1 供试材料对白粉病和条锈病的抗性表现
Table 1 Tests for Resistance to powdery mildew and stripe rust

材料名称 Materials	染色体数目 Chromosome number	染色体组 Genomes	白粉病抗性反应类型 Infection type to Powdery mildew	条锈病严重度 Disease severity of Stripe rust
中间偃麦草 <i>T. intermedium</i> (Host) Barkworth & D. R. Dewey	42	SJ ^S	0	0
TAI7047 TAI7047	56	ABD+S+J ^S	0	0
太原 768 Taiyuan 768	42	ABD	4	90
系 76 (64) 76 (64) line	42	ABD	4	90
晋太 170 Jintai 170	42	ABD	4	90
CH357 CH357	42	ABD+ J ^S	0	0
SY95-71 SY95-71	42	ABD	4	90
川育 12 Chuanyu 12	42	ABD	4	80



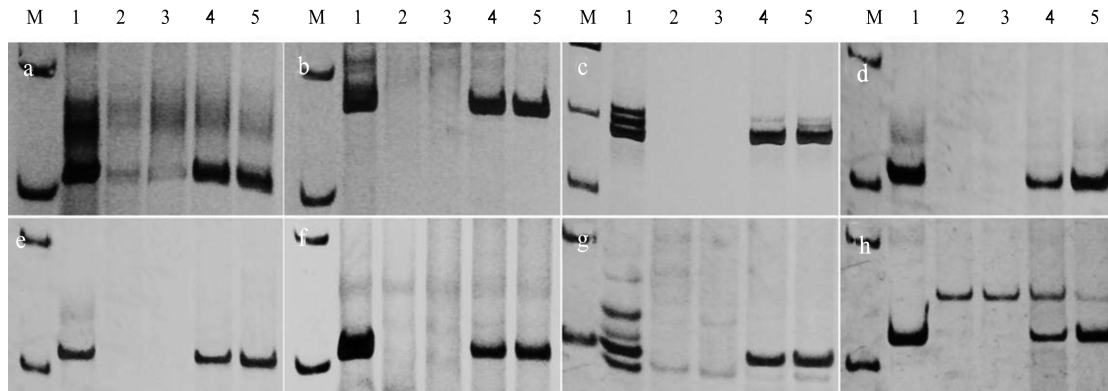
探针 Oligo-pSc119.2 和 Oligo-pTa535.1 的杂交信号分别为绿色和红色,图 A、C 分别是晋太 170 和 CH357 的双色荧光原位杂交图,图 B、D 分别是晋太 170 和 CH357 的 FISH 核型图,标尺长度为 10 μm

FISH signals of Oligo-pSc119.2-1 and Oligo-pTa535-1 are shown in green and red, respectively. Figures A, C are the double-color FISH results of Jintai170 and CH357, respectively. Figures B, D are the FISH karyotype of Jintai170 and CH357, respectively. Scale bars=10 μm

图 1 晋太 170 和 CH357 的 FISH 鉴定结果
Fig.1 FISH identification results of Jintai170 and CH357

表 2 中间偃麦草第 6 同源群部分特异分子标记
Table 2 The molecular markers that specifically amplified the sixth homo-group of *Th.intermedium*

标记名称 Marker name	染色体位置 Chromosomal location	引物上链 Forward primer (5'-3')	引物下链 Reverse primer (5'-3')	产物长度 (bp) Product size	退火温度 (℃) Annealing temperature
LD16-22	Group 6-Chr1	TGCGCTGCTTCCAAAAGTAGT	GTTCATCTGACCTTCGTTCTG	106	62
LD16-24	Group 6-Chr1	GGGTTTTGGAGGATTTGGCG	ATGGTAACCGGAGATGTGCC	174	60
LD16-52	Group 6-Chr1	AGGCAGCAGCAGTACGTAAG	CTCACAGGCAAATGCACGAC	279	60
LD16-65	Group 6-Chr1	CGACAAGGAGGACAAGCTCC	GAAATTCGCCAGACGGAGGA	111	60
LD16-70	Group 6-Chr1	AGCATGCAGCCATCTACGAA	CCGAGGCACTGAAACCAAGA	118	60
LD16-114	Group 6-Chr1	CCAAGGTGAGAACTAGGCCG	ACCAAGCGATCGGAAGGTTT	116	60
LD16-126	Group 6-Chr1	TGAGCCGCCCCCGTG	GAGGCGGCGCTCGGA	102	58
LD16-145	Group 6-Chr1	CACGTACGTACCCACGCAT	GCCTAGGCTGTGTTGCACTA	136	60
LD17-72	Group 6-Chr2	TACCATGCGGGCTCAATTA	ACCATGACCGGTTGATTGCT	136	60
LD17-100	Group 6-Chr2	GGGGTGATTGCTTCTGACCT	TTTGGTGTGTCATACACGGA	110	60



M: 对照; 1: 中间偃麦草; 2: 中国春; 3: 晋太 170; 4: CH357; 5: TAI7047

M: Marker, 1: *T. intermedium* (Host) Barkworth & D. R. Dewey, 2: Chinese spring, 3: Jintai 170, 4: CH357, 5: TAI7047, a: LD16-22, b: LD16-24, c: LD16-52, d: LD16-65, e: LD16-70, f: LD16-114, g: LD16-126, h: LD16-145

图 2 中间偃麦草 Group 6-Chr1 染色体特异分子标记扩增结果

Fig.2 Amplification results of *T.intermedium* (Host) Barkworth & D. R. Dewey Group 6-Chr1 chromosomal specific markers

3 讨论

中间偃麦草是小麦外源基因利用较早也较成功的物种之一,自 Tsitsin^[21]最早通过远缘杂交育成首批小麦-中间偃麦草部分双二倍体以来,大量的附加系、代换系和易位系也随之创制出来,但中间偃麦草外源染色体鉴定一直以细胞学手段包括 C-带、N-带、GISH、FISH 等为主,这些技术可以较直观地鉴定小麦背景中的外源染色体,却难以追踪较小的外源片段,尤其无法准确鉴定隐形易位系^[22]中的外源片段,而含有目的基因的小片段易位系或渗入系才是利用外源基因的最佳途径。分子标记技术的发展为其分子鉴定提供了新的发展方向,但迄今为止,中间偃麦草的全基因组数据尚未公布,其特异分子标记的筛选主要来自二倍体长穗偃麦草和拟鹅冠草^[23-24],以及部分利用 PLUG 标记转化的 EST-STS 或 SCAR 标记^[25-26],对鉴定材料中中间偃麦草染色体或片段存在较大的局限性。

本研究基于中间偃麦草第 6 同源群 Contig 序列开发了 160 个的 STS (sequence-tagged site) 标记,其中 107 个与小麦部分同源,可分别在中间偃麦草与小麦中扩增出不同片段大小的条带,53 个仅在中间偃麦草中扩增出条带,为中间偃麦草特异标记。利用这些标记对试验材料进行扩增,在中间偃麦草、TAI7047 和 CH357 中均扩增出特异条带的标记数量为 10 个,其中有 2 个标记属于 Group 6-Chr2 染色体,8 个属于 Group 6-Chr1 染色体。G6-Chr2 已被证实为 6St 染色体,结合 CH357 的 FISH 结果,推测 G6-Chr1 为中间偃麦草的 6J^S 染色体。由于

LD16-22、LD16-24、LD16-52、LD16-65、LD16-70、LD16-114、LD16-126 和 LD16-145 8 个标记均未在 6St/6D 代换系 F881 和中间偃麦草 J 染色体的供体种百萨偃麦草 (*T. bessarabicum* (Sävil. & Rayss) Á. Löve, 2n=2x=14, J^bJ^b) 中扩增出目标条带^[19],因此推测上述 8 个标记为中间偃麦草 6J^S 染色体的特异标记,可用于鉴定小麦-中间偃麦草异染色体系中 6J^S 染色体/片段。而 LD17-72、LD17-100 两个标记在 F881 和 CH357 中均可以扩增出目标条带,可能是因为中间偃麦草的 St 基因组和 J^S 基因组具有较高的同源性^[27]。

中间偃麦草对小麦多种病害具有较强的抗性,其对小麦抗病性的改良一直是人们研究的重点。Cauderon^[5]选育的八倍体小偃麦 TAF46 对小麦黄矮病、条纹花叶病具有优良抗性;孙善澄^[6]育成的中 4、中 5 高抗小麦黄矮病;Stoutjesdijk 等^[28]定位了一个来源于中间偃麦草 7Ai-1 染色体长臂上的抗小麦黄矮病基因 *Bdv2*;Luo 等^[29]和 He 等^[30]发现并定位了抗白粉病基因 *Pm40* 和 *Pm43*;Liu 等^[31]利用小偃麦渗入系 CH223 定位了来源于中间偃麦草的抗条锈病基因 *Yr50*,其表现出了对小麦条锈病极为广谱的抗性。本研究发现以来源于中间偃麦草的部分双二倍体 TAI7047 为桥梁亲本创制的 6J^S/6B 代换系 CH357 对白粉菌株 E09 和条锈菌 CYR32、CYR33 和 CYR34 混合生理小种具有良好抗性,其小麦亲本晋太 170、太原 768 和系 76(64)对 2 种病害均无抗性,表明 CH357 对 2 种病害的抗性来源于中间偃麦草的 6J^S 染色体,因此推测中间偃麦草

的 6J^S 染色体含有抗白粉病和条锈病基因, CH357 可作为一个小麦白粉病和条锈病新抗源加以开发利用。

参考文献

- [1] 安调过, 许红星, 许云峰. 小麦远缘杂交种质资源创新. 中国生态农业学报, 2011, 19(5): 1011-1019
An D G, Xu H X, Xu Y F. Enhancement of wheat distant hybridization germplasm. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2011, 19(5): 1011-1019
- [2] 杨世湖, 徐利远, 刘大钧. 中间偃麦草染色体组型研究. 作物学报, 1988, 14(4): 279-283
Yang S H, Xu L Y, Liu D J. A study on genome constitution of *Elytrigia Intermedia* (Host) Nevski. Acta Agronomica Sinica, 1988, 14(4): 279-283
- [3] 董玉琛. 小麦的基因源. 麦类作物学报, 2000, 20(3): 78-81
Dong Y C. Genepools of common wheat. Journal of Triticeae Crops, 2000, 20(3): 78-81
- [4] 王洪刚, 刘树兵, 亓增军, 孔凡晶, 高居荣. 中间偃麦草在小麦遗传改良中的应用研究. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2000, 31(3): 333-336
Wang H G, Liu S B, Qi Z J, Kong F J, Gao J R. Application studies of *Elytrigia intermedium* in hereditary improvement of wheat. Journal of Shandong Agricultural University: Natural Science, 2000, 31(3): 333-336
- [5] Cauderon Y. Genome analysis in the genus *Agropyron*. Hereditas, 1966, 2: 218-234
- [6] 孙善澄. 小麦与偃麦草远缘杂交的研究. 华北农学报, 1987, 2(1): 7-12
Sun S C. A study on the distant cross of wheat and *Agropyron*. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 1987, 2(1): 7-12
- [7] Liu S B, Wang H G, Zhang X Y, Li X F, Li D Y, Duan X Y, Zhou Y L. Molecular Cytogenetic identification of a wheat-*Thinopyrum intermedium* (Host) Barkworth & DR Dewey partial amphiploid resistant to powdery mildew. Journal of Integrative Plant Biology, 2005, 47(6): 726-733
- [8] Bao Y G, Li X F, Liu S B, Cui F, Wang H G. Molecular cytogenetic characterization of a new wheat-*Thinopyrum intermedium* partial amphiploid resistant to powdery mildew and stripe rust. Cytogenetic and Genome Research, 2009, 126(4): 390-395
- [9] 罗小军, 李欣, 乔麟轶, 郭慧娟, 贾举庆, 张树伟, 梅超, 畅志坚, 张晓军. 偃麦草属植物对小麦的遗传改良研究进展. 山西农业科学, 2019, 47(3): 482-485, 490
Luo X J, Li X, Qiao L Y, Guo H J, Jia J Q, Zhang S W, Mei C, Chang Z J, Zhang X J. Research progress of wheat genetic improvement derived from *Elytrigia*. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2019, 47(3): 482-485, 490
- [10] 李小军, 李淦, 胡铁柱, 胡喜贵, 孙玉, 茹振钢, 宋杰, 张立琳. 小麦 - 中间偃麦草衍生材料农艺性状、HMW-GS 及 GISH 鉴定. 植物遗传资源学报, 2016, 17(1): 126-131
Li X J, Li G, Hu T Z, Hu X G, Sun Y, Ru Z G, Song J, Zhang L L. Agronomic traits and HMW-GS of 143 wheat-*Thinopyrum intermedium* derivatives and their GISH identification. Journal of Plant Genetic Resources, 2016, 17(1): 126-131
- [11] 温辉芹, 张立生, 程天灵, 李生海. 国审小麦新品种晋太 170 的选育实践与体会. 山西农业科学, 2008, 36(9): 15-20
Wen H Q, Zhang L S, Cheng T L, Li S H. Breeding practice and experience of the new strong gluten wheat variety of national authorized Jiantai170. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2008, 36(9): 15-20
- [12] 曹世勤, 贾秋珍, 宋建荣, 张耀辉, 王万军, 岳维云, 孙振宇, 黄瑾, 张勃, 王晓明. 甘肃省冬小麦抗条锈菌 CYR34 育种策略. 植物遗传资源学报, 2019, 20(5): 1129-1133
Cao S Q, Jia Q Z, Song J R, Zhang Y H, Wang W J, Yue W Y, Sun Z Y, Huang J, Zhang B, Wang X M. Strategies on breeding for winter wheat resistance to *Puccinia striiformis* f.sp. tritici CYR34 in Gansu province. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(5): 1129-1133
- [13] Liu C, Li G R, Gong W P, Han R, Li H S, Song J M, Liu A F, Cao X Y, Chu X S, Yang Z J, Huang C Y, Zhao Z D, Liu J J. Molecular and cytogenetic characterization of a powdery mildew-resistant wheat-*Aegilops mutica* partial amphiploid and addition line. Cytogenetic & Genome Research, 2016, 147(2-3): 186-194
- [14] Hu L J, Li G R, Zeng Z X, Chang Z J, Liu C, Zhou J P, Yang Z J. Molecular cytogenetic identification of a new wheat-*Thinopyrum* substitution line with stripe rust resistance. Euphytica, 2011, 177(2): 169-177
- [15] Han F P, Lamb J C, Birchler J A. High frequency of centromere inactivation resulting in stable dicentric chromosomes of maize. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 2006, 103(9): 3238-3243
- [16] Tang Z X, Yang Z J, Fu S L. Oligonucleotides replacing the roles of repetitive sequences pAs1, pSc119.2, pTa-535, pTa71, CCS1, and pAWRC.1 for FISH analysis. Journal of Applied Genetics, 2014, 55(3): 313-318
- [17] Lang T, Li G R, Wang H J, Yu Z H, Chen Q H, Yang E N, Fu S L, Tang Z X, Yang Z J. Physical location of tandem repeats in the wheat genome and application for chromosome identification. Planta, 2019, 249(3): 663-675
- [18] Stewart C N, Via L E. A rapid CTAB DNA isolation technique useful for RAPD fingerprinting and other PCR amplifications. Biotechniques, 1993, 14(5): 748-750
- [19] 刘淑娟, 张晓军, 李欣, 刘成, 白建荣, 任永康, 郑军, 李世姣, 郭慧娟, 梅超, 张树伟, 畅志坚, 乔麟轶. 中间偃麦草第 6 同源群特异 STS 标记开发. 草业学报, 2019, 28(4): 139-145
Liu S J, Zhang X J, Li X, Liu C, Bai J R, Ren Y K, Zheng J, Li S J, Guo H J, Mei C, Zhang S W, Chang Z J, Qiao L Y. Development of specific STS markers for the sixth homologous group of *Thinopyrum intermedium*. Acta Prataculturae Sinica, 2019, 28(4): 139-145
- [20] Cui Y, Zhang Y P, Qi J, Wang H G, Wang R R C, Bao Y G, Li X F. Identification of chromosomes in *Thinopyrum intermedium* and wheat *Th. intermedium* amphiploids based on multiplex oligonucleotide probes. Genome, 2018, 61(7): 515-521
- [21] Tsitsis N V. Remote hybridisation as a method of creating new species and varieties of plants. Euphytica, 1965, 14(3): 326-330
- [22] Kuraparthi V, Chhuneja P, Dhaliwal H S, Kaur S, Bowden R L, Gill B S. Characterization and mapping of cryptic alien introgression from *Aegilops geniculata* with new leaf rust and stripe rust resistance genes *Lr57* and *Yr40* in wheat. Theoretical

- and Applied Genetics, 2007, 114(8): 1379-1389
- [23] 葛江燕, 陈士强, 高营营, 高勇, 朱雪, 黄泽峰, 陈建民. 基于抑制消减杂交开发长穗偃麦草 (*Lophopyrum elongatum*) 特异分子标记. 作物学报, 2012, 38(10): 1818-1826
- Ge J Y, Chen S Q, Gao Y Y, Gao Y, Zhu X, Huang Z F, Chen J M. Development of genome-specific molecular markers for *Lophopyrum elongatum* based on suppression subtractive hybridization. Acta Agronomica Sinica, 2012, 38(10): 1818-1826
- [24] 刘成, 杨足君, 刘畅, 李光蓉, 任正隆. 小麦族中含 St 染色体组物种的特异分子标记的建立. 遗传, 2007, 29(10): 1271-1279
- Liu C, Yang Z J, Liu C, Li G R, Ren Z L. Analysis of St-chromosome-containing triticeae polyploids using specific molecular markers. Hereditas, 2007, 29(10): 1271-1279
- [25] Hu L J, Liu C, Zeng Z X, Li G R, Song X J, Yang Z J. Genomic rearrangement between wheat and *Thinopyrum elongatum* revealed by mapped functional molecular markers. Genes & Genomics, 2012, 34(1): 67-75
- [26] Zhan H X, Zhang X J, Li G R, Pan Z H, Hu J, Li X, Qiao L Y, Jia J Q, Guo H J, Chang Z J, Yang Z J. Molecular characterization of a new wheat-*Thinopyrum intermedium* translocation line with resistance to powdery mildew and stripe rust. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(1): 2162-2173
- [27] Chen Q, Conner R L, Laroche A, Thomas J B. Genome analysis of *Thinopyrum intermedium* and *Thinopyrum ponticum* using genomic in situ hybridization. Genome, 1998, 41(4): 580-586
- [28] Stoutjesdijk P, Kammholz S J, Kleven S, Matsay S, Banks P M, Larkin P J. PCR-based molecular marker for the *Bdv2* *Thinopyrum intermedium* source of barley yellow dwarf virus resistance in wheat. Australian Journal of Agricultural Research, 2001, 52(12): 1383-1388
- [29] Luo P G, Luo H Y, Chang Z J, Zhang H Y, Zhang M, Ren Z L. Characterization and chromosomal location of *Pm40* in common wheat: a new gene for resistance to powdery mildew derived from *Elytrigia intermedium*. Theoretical and Applied Genetics, 2009, 118(6): 1059-1064
- [30] He R L, Chang Z J, Yang Z J, Zhan H X, Zhang X J, Liu J X. Inheritance and mapping of powdery mildew resistance gene *Pm43* introgressed from *Thinopyrum intermedium* into wheat. Theoretical and Applied Genetics, 2009, 118(6): 1173-1180
- [31] Liu J, Chang Z J, Zhang X J, Yang Z J, Li X, Jia J Q, Zhan H X, Guo H J, Wang J M. Putative *Thinopyrum intermedium*-derived stripe rust resistance gene *Yr50*, maps on wheat chromosome arm 4BL. Theoretical and Applied Genetics, 2013, 126(1): 265-274